



Onderzoek naar de indeling van herkomstgebieden voor *Frangula alnus* en *Alnus glutinosa* op basis van genomische en fenotypische data

Hanne De Kort, Kristine Vander Mijnsbrugge, Katrien Vandepitte,
Olivier Honnay en Joachim Mergeay

Auteurs:

De Kort H, Vander Mijnsbrugge K, Vandepitte K, Honnay O, Mergeay J (2014). Onderzoek naar de indeling van herkomstgebieden voor *Frangula alnus* en *Alnus glutinosa* op basis van genomische en fenotypische data.

Het Instituut voor Natuur-en Bosonderzoek (INBO) is het Vlaams Onderzoeks- en kenniscentrum voor natuur en het duurzame beheer en gebruik ervan. Het INBO verricht onderzoek en levert kennis aan al wie het beleid voorbereidt, uitvoert of erin geïnteresseerd is.

Vestiging:

INBO Geraardsbergen
Gaverstraat 4, 9500 Geraardsbergen
www.inbo.be

e-mail:

joachim.mergeay@inbo.be

Wijze van citeren:

De Kort H, Vander Mijnsbrugge K, Vandepitte K, Honnay O, Mergeay J (2014). Onderzoek naar de indeling van herkomstgebieden voor *Frangula alnus* en *Alnus glutinosa* op basis van genomische en fenotypische data. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2014 (INBO.R.2014.3200085). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.

**INBO.R.2014.3200085
D/2014/3241/250**

Verantwoordelijke uitgever:

Jurgen Tack

Druk:

Managementondersteunende Diensten van de Vlaamse Overheid

Foto cover:

Hanne De Kort

Onderzoek naar de indeling in herkomstgebieden voor *Frangula alnus* en *Alnus glutinosa* op basis van genomische en fenotypische data

Hanne De Kort¹, Kristine Vander Mijnsbrugge², Katrien
Vandepitte¹, Olivier Honnay¹, Joachim Mergeay²

¹Laboratorium voor Plantendiversiteit en Populatiebiologie, Kasteelpark Arenberg 31, PB
2345, B-3001 Leuven

²Instituut voor Natuur-en Bosonderzoek, Gaverstraat 4, 9500 Geraardsbergen

Dankwoord

Dit werk kon enkel tot stand komen dankzij de steun van, en samenwerking met, onderstaande partijen.

- **ANB:** Inge Serbruyns, Tom Neels, Wouter Huygens, Wim De Maeyer
- **KULeuven:** Gregory Maes, Tobias Ceulemans, Kasper Van Acker, Filip Volckaert
- **INBO:** Stefaan Moreels, Serge Goossens, Karen Cox, Arthur De Haecq, Sabrina Neyrinck
- **Buitenlandse onderzoekers:** Hans Henrik Kehlet Bruun (Denemarken), Jonsson Bengt-Gunnar (Zweden), Simona Maccherini, Marco Landi, Sandro Piazzini, Antonio Gabellini, Paolo Castagnini, Andrea Donati (Italië), Guillaume Decocq en Déborah Klosset-Kopp (Frankrijk).
- **Natuurpunt:** Kevin Lambeets, Iwan Lewylle, Jaak Geebelen, Pieter Abts
- **IWT-Vlaanderen**

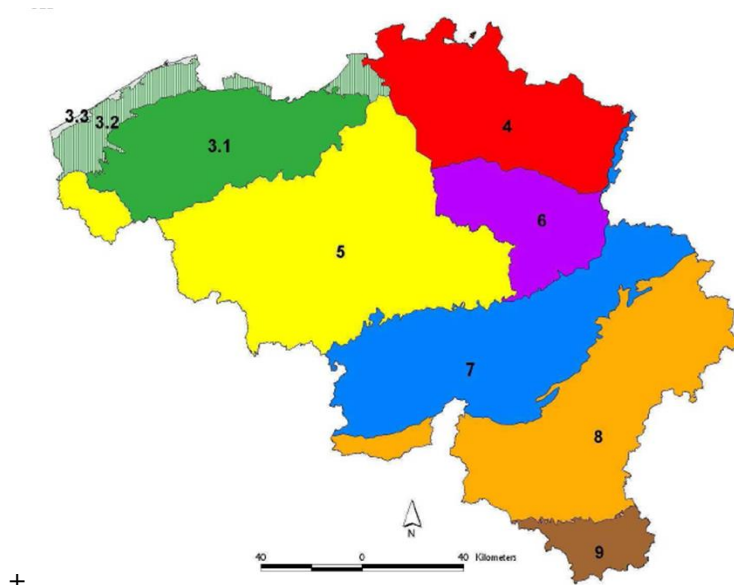
Inhoudstafel

1	Inleiding.....	6
1.1	Herkomstgebieden en lokale adaptatie	6
1.2	Adaptatievermogen en klimaatsverandering.....	7
2	Beknopt tijdschema.....	8
3	Geografische opzet en omgevingsvariabelen.....	9
3.1	Staalnameplaatsen	9
3.2	Omgevingsvariabelen.....	9
4	Gemeenschappelijke proeftuin (INBO Geraardsbergen)	12
4.1	Doelstellingen	12
4.2	Materiaal en methoden.....	12
4.3	Resultaten en discussie	13
5	Reciproke transplantatie experimenten (INBO, ANB, Natuurpunt)	17
5.1	Doelstellingen	17
5.2	Materiaal en methoden.....	17
5.3	Resultaten en discussie	18
6	Genomics (ANB, INBO, KULeuven)	19
6.1	Doelstellingen	19
6.2	Materiaal en methoden.....	19
6.2.1	Sporkehout.....	19
6.2.2	Zwarte els	19
6.2.3	Populatie- en landschapsgenomica.....	19
6.3	Resultaten en discussie	20
6.3.1	Resultaten sporkehout	20
6.3.2	Resultaten zwarte els.....	22
7	Discussie in het kader van de indeling van België in herkomstgebieden.....	24

1 Inleiding

1.1 Herkomstgebieden en lokale adaptatie

In België werden in uitvoering van de regionale regelgeving omtrent het in handel brengen van bosbouwkundig teeltmateriaal **zeven herkomstgebieden voor houtige gewassen** afgebakend (Fig. 1). De impliciete veronderstelling is dat lokale genotypes optimaal aangepast zijn aan de lokale milieu-omstandigheden en daarom op korte en lange termijn de hoogste leefbaarheid hebben. **Lokale adaptatie** is het gevolg van het feit dat natuurlijke selectie niet overal identiek verloopt en dat lokale populaties kenmerken ontwikkelen die hen voordeel bieden onder de heersende lokale milieu-omstandigheden. Gebruik van zaden uit de juiste herkomstgebieden wordt daarom aangemoedigd. Deze indeling in herkomstgebieden steunt echter op beperkte wetenschappelijke kennis, en genetisch onderzoek kan uitsluitel bieden voor een ecologisch relevante indeling van België in herkomstregio's obv de mate van lokale adaptatie. Hierbij worden klassieke **proeftuin- en transplantie-experimenten** met *Alnus glutinosa* herkomsten gecombineerd met **genomics** in *Alnus glutinosa* (windbestoven) en *Frangula alnus* (insectbestoven). Om een realistisch beeld te krijgen van de ruimtelijke adaptatiepatronen zijn ook Europese herkomsten buiten België betrokken in het project. Omdat grotere omgevingsverschillen heersen tussen Europese regio's dan binnen België verwachten we immers (nog) meer adaptatie op Europese schaal dan op Belgische schaal. De inclusie van deze Europese regio's dient dus om de gebruikte methoden te valideren.



Figuur 1 De zeven Belgische herkomstgebieden voor het in handel brengen van herkomstgebonden bosbouwkundig teeltmateriaal. Een eerste indeling verdeelt België in twee herkomstgebieden (niet aangeduid op kaartje): ten noorden van Samber en Maas (1) en ten zuiden van Samber en Maas (2). Deze indeling geldt voor niet-inheemse soorten en soorten met beperkte genetische diversiteit. De tweede indeling geldt voor de meeste autochtone boomsoorten en omvat de Zandstreek (3), Kempen (4), Brabants District West (5), Brabants District Oost (6), Laag Maasplateau (7), Ardennen (8), en Lotharingen (9).

1.2 Adaptatievermogen en klimaatsverandering

Voor het verkrijgen van erkend teeltmateriaal wordt momenteel beroep gedaan op een beperkt aantal zaadbronnen per herkomstgebied. Dit verhoogt de kans dat de **genetische diversiteit** in onze aangeplante bosbestanden afneemt door genetische drift en inteelt. Op korte termijn kan dit aanleiding geven tot meer ziekten en een verminderde **leefbaarheid** van het nageslacht. Op lange termijn en in het kader van global change vermindert het **adaptatievermogen** door een beperkte genetische diversiteit beschikbaar voor lokale adaptatie. Minder potentieel voordelinge genetische varianten zijn dan immers aanwezig in de genenpoel. Ook dreigen parasieten zich makkelijker te verbreiden in een warmer klimaat, wat ziekte en sterfte in genetisch verarmde bosbestanden bewerkstelligt wegens het gebrek aan variatie in resistentiegenen.

2 Beknopt tijdschema

Okt-Dec 2010	Aanvraag IWT beurs
Winter 2010	Literatuurstudie & Meta-analyse over lokale adaptatie
Lente-Zomer 2011	Staalnames & zaaien common garden <i>F. alnus</i> , Meta-analyse
Herfst 2011	Staalnames & zaaien common garden <i>A. glutinosa</i> ; ba-student
Winter 2011	DNA extracties <i>F. alnus</i> (600) & Meta-analyse
Lente-Zomer 2012	Opzet common garden <i>A. glutinosa</i> en <i>F. alnus</i> Opzet transplantatie experiment <i>A. glutinosa</i> SNP discovery <i>F. alnus</i> 2 ba-studenten
Herfst 2012-Zomer 2013	Opvolgen common garden & Transplantaties <i>A. glutinosa</i> DNA extracties <i>A. glutinosa</i> Genomics <i>F. alnus</i> & <i>A. glutinosa</i> Thesisstudent Data verwerken & Schrijven
Herfst 2013-Zomer 2014	Laatste metingen proeftuinen verwerken SNP data <i>A. glutinosa</i> verwerken Thesisstudent Plasticiteitsexperiment Artikels en doctoraatsthesis schrijven

3 Geografische opzet en omgevingsvariabelen

3.1 Staalnameplaatsen

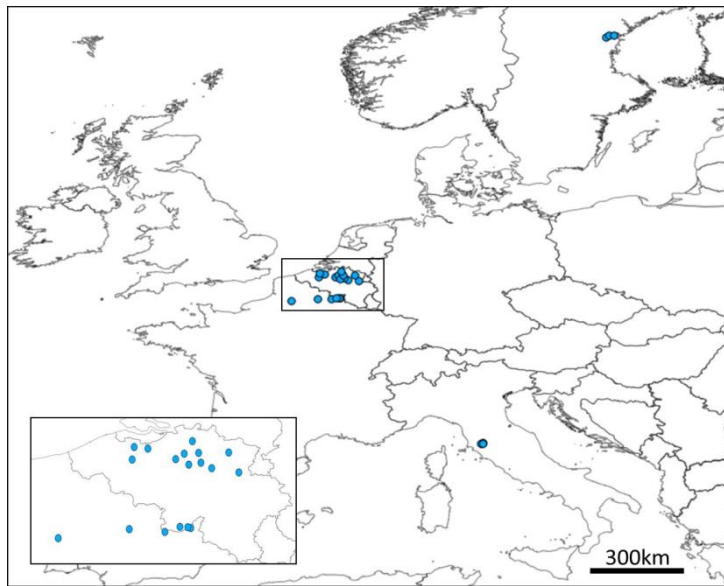
Per soort werden stalen (zaden en bladeren) verzameld in 8 regio's (Tabel 1, Fig. 2 - 3): 4 **Vlaamse** herkomstgebieden (Kempen, Brabants District Oost, Brabants District West, en de Zandstreek), 1 **Waa**ls herkomstgebied (Ardennen), 1 **Franse** regio (Picardië), 1 Noord-Europese regio (in **Denemarken** voor *A. glutinosa* en **Zweden** voor *F. alnus*), en 1 Zuid-Europese regio (in **Italië**). Er werden willekeurig 3-4 populaties per regio (Tabel 1) en minstens 15 moederplanten per populatie bemonsterd.

3.2 Omgevingsvariabelen

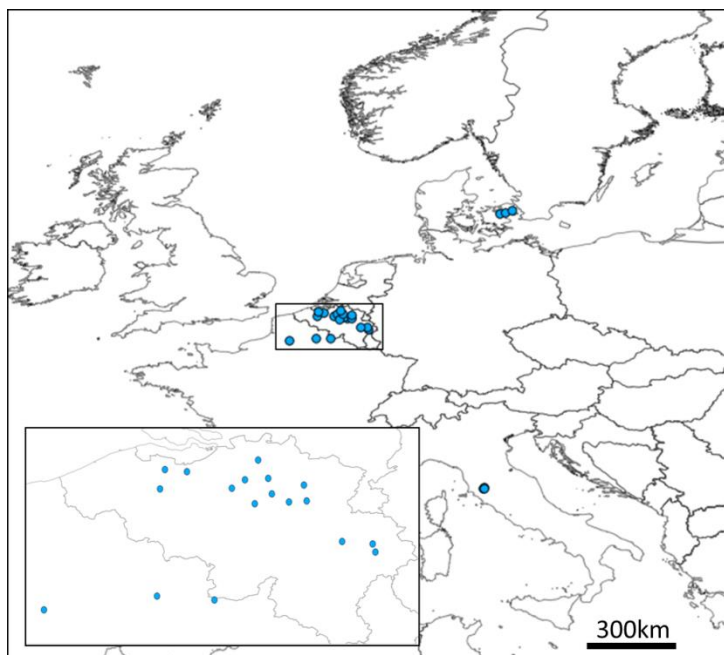
Om na te gaan welke omgevingsvariabelen lokale adaptatie in sporkehout in de hand werken, werden klimatologische data en bodemstalen verzameld voor elke populatie. De bodemstalen werden onderzocht op kationen uitwisselingscapaciteit (CEC), pH, gehalte organisch materiaal (OM) en vochtgehalte. Klimatologische data werden gedownload van www.worldclim.org en vervolgens voor elke populatie geëxtraheerd via QuantumGis. Omdat zowel bodemvariabelen als klimatologische variabelen onderling sterk gecorreleerd zijn werd een multivariate analyse uitgevoerd (PCA). Dit resulteerde in één **bodem**variabele (bevat 90% van de oorspronkelijke variatie) en 2 klimatologische variabelen: **temperatuur** en **neerslag** (bevatten 83% van de oorspronkelijke variatie). Deze abiotische data zullen gecorreleerd worden met genetische variatie om na te gaan of lokale adaptatie het gevolg is van bodem- en/of klimatologische verschillen (sectie 6.2.3. Populatie- en landschapsgenomica).

Tabel 1 Staalnameplaatsen zwarte els en sporkehout.

Populaties zwarte els	Populaties sporkehout	Regio	Land (gewest)
De Pinte	De Pinte	Zandstreek	België (Vlaanderen)
Evergem	Evergem	Zandstreek	België (Vlaanderen)
Moerbeke	Moerbeke	Zandstreek	België (Vlaanderen)
Sint-Katelijne- Bertem	Sint-Katelijne- Herent	Brabants District West	België (Vlaanderen)
Zemst	Zemst	Brabants District West	België (Vlaanderen)
Heist-op-den-Berg	Heist-op-den- Berg	Kempen	België (Vlaanderen)
Beringen	Beringen	Kempen	België (Vlaanderen)
Zoersel	Zoersel	Kempen	België (Vlaanderen)
Holsbeek	Holsbeek	Brabants District Oost	België (Vlaanderen)
Nieuwerkerken	Tongeren	Brabants District Oost	België (Vlaanderen)
Kortenaken	Kortenaken	Brabants District Oost	België (Vlaanderen)
Spa	Thiérarche	Ardennen	België (Wallonië)
Stavelot	Regniëssart	Ardennen	België (Wallonië)
Sprimont	Brûly-de- Salm	Ardennen	België (Wallonië)
Gundsømagle	Storåsmýran	Sjaelland♦ /Medelpad●	Denemarken♦ /Zweden●
Lyngby	Aborrtjärn	Sjaelland♦ /Medelpad●	Denemarken♦ /Zweden●
Borrevejle	Ottsjön	Sjaelland♦ /Medelpad●	Denemarken♦ /Zweden●
Casina Rossa	Casina Rossa	Toscane	Italië
Famelunga	Famelunga	Toscane	Italië
Tocchi	Luriano	Toscane	Italië
	Fosso Bolza	Toscane	Italië
Boves	Boves	Picardië	Frankrijk
Saint-Michel	Saint-Michel	Picardië	Frankrijk
Andignie- M	Andignie- M	Picardië	Frankrijk



Figuur 2 Staalname plaatsen *Frangula alnus*: 3 populaties per Vlaams herkomstgebied, 3 populaties in de Ardennen, 3 populaties in Picardië (Frankrijk), 3 in Medelpad (Zweden) en 4 populaties in Toscane (Italië).



Figuur 3 Staalname plaatsen *Alnus glutinosa*: 3 populaties per Vlaams herkomstgebied, 3 populaties in de Ardennen, 3 populaties in Picardië (Frankrijk), 3 in Sjælland (Denemarken) en 3 populaties in Toscane (Italië).

4 Gemeenschappelijke proeftuin (INBO Geraardsbergen)

4.1 Doelstellingen

Waargenomen **verschillen in plantenkenmerken** tussen herkomstgebieden kunnen het gevolg zijn van lokale adaptatie aan de omgevingscondities die heersen binnen de herkomstgebieden, van neutrale processen, en/of van plastische (niet-genetische) responsen op de lokale omgevingscondities (Kawecki & Ebert 2004; Gienapp *et al.* 2008). In een gemeenschappelijke proeftuin zijn de omgevingscondities voor alle zaailingen constant, zodat de geobserveerde fenotypische verschillen verondersteld worden het gevolg te zijn van genetische verschillen. Deze genetische verschillen kunnen **adaptief of neutraal** zijn. Neutrale processen omvatten hoofdzakelijk *gene flow*, de uitwisseling van genen tussen populaties, en genetische drift, het toevallig verlies van allelen uit populaties. Deze neutrale processen zijn toevalsprocessen en weerspiegelen dus geen lokale adaptatie. Genetische merkers kunnen gebruikt worden om deze neutrale genetische verschillen in te schatten. Van zodra deze neutrale genetische variatie in rekening is gebracht, kan de resterende genetische variatie in plantenkenmerken als adaptief beschouwd worden.

4.2 Materiaal en methoden

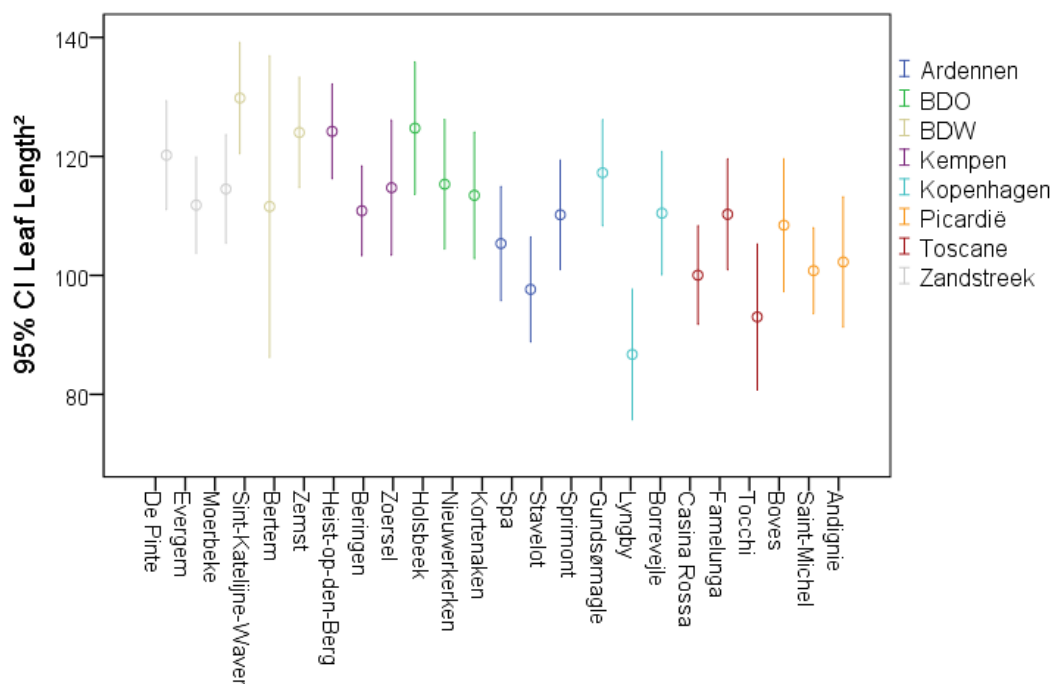
De zaden van 15 moederbomen per populatie werden uitgezaaid en drie zaailingen per moederboom werden uitgeplant in een *random block design*. Dit design laat toe microvariatie in de proeftuinomgeving in rekening te brengen. Wegens kiemfalen van sporkehout kon enkel een proeftuinexperiment voor zwarte els gestart worden. Een totaal van 8 herkomstgebieden x 3 populaties x 15 zaadfamilies (moederbomen) x 3 blokken (3 zaailingen per moederboom) = 1080 zaailingen werd als dusdanig opgekweekt in een gemeenschappelijke proeftuin in INBO Geraardsbergen, gecoördineerd door Kristine Vander Mijnsbrugge. De volgende fenotypische kenmerken werden opgemeten: snelheid van **knopzet** (wanneer de apicale knop paars kleurde en de steunblaadjes afvielen), **bladlengte** en **-breedte** van het derde bovenste blad, **lengtegroei** na 2 jaar, **stamomtrek** aan de basis na 2 jaar, en tijdstip van **knopuitloop** in het voorjaar van 2014 (wanneer de apicale bladrand zichtbaar werd).

Een algemeen lineair model (GLM) werd uitgevoerd om na te gaan of plantenkenmerken significant verschillen tussen populaties en herkomstgebieden. Omdat deze verschillen te wijten kunnen zijn aan zowel **adaptieve als neutrale** processen werd de neutrale genetische structuur als covariabele in het model gebracht. Op die manier wordt voor neutraliteit gecorrigeerd zodat de overblijvende genetische variatie in plantenkenmerken als adaptief beschouwd kan worden. De neutrale genetische structuur werd bepaald op basis van SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), een veel gebruikte merker in genetisch onderzoek (zie sectie 6 Genomics), via een Principaal Coördinaten Analyse (PCoA; GENALEX, Peakall & Smouse 2006). Deze analyse verwijdert de overvloedige informatie die voortvloeit uit autocorrelatie tussen de allelfrequenties van de SNPs, waardoor nieuwe, niet-gecorrleerde genetische variabelen tot stand komen. De eerste drie resulterende assen (de variabelen die de meeste neutrale genetische variatie verklaren) werden gebruikt als covariaten in het GLM. Daarnaast werden "herkomstgebied", "populatie genest in herkomstgebied", en "blok" als factoren in het model gebracht. Om tegemoet te komen aan de herkomstproblematiek werden in eerste instantie enkel de Belgische herkomstgebieden vergeleken. Bij wijze van validatie werden dezelfde analyses ook op Europese schaal uitgevoerd. Verschillen tussen Europese populaties worden immers verwacht groter te zijn dan tussen Belgische populaties wegens grotere omgevingsverschillen en toegenomen afstand tussen de populaties.

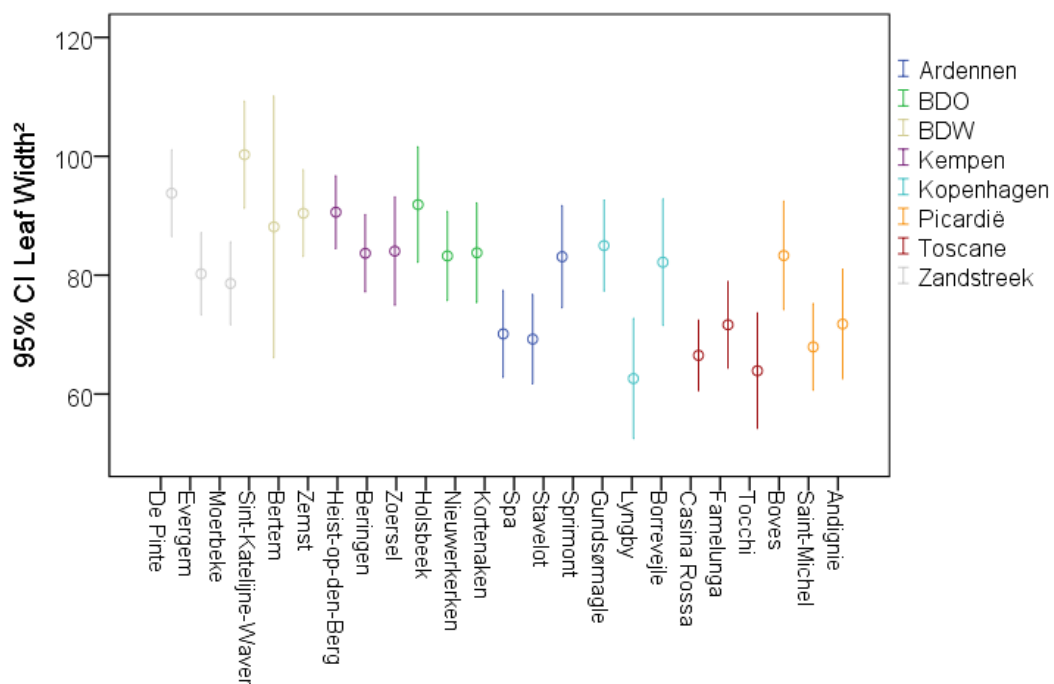
4.3 Resultaten en discussie

Slechts beperkte verschillen werden geobserveerd tussen de Belgische herkomstgebieden voor de verschillende opgemeten plantenkenmerken, hoewel de Ardennen wel uit het oog springen (Fig. 4 – 9, Bijlage 1). De zaailingen afkomstig van de Ardennen kenden kleinere bladbreedten (Fig. 5), een tragere groei (Fig. 6), en een vroegere knopzet (Fig. 8) vergeleken met de Vlaamse herkomstgebieden, wat gedeeltelijk kan verklaard worden door de lagere temperaturen in de Ardennen (wegens de hoogteligging). Geen significante verschillen werden geobserveerd tussen de Vlaamse herkomstgebieden na correctie voor neutrale genetische verschillen (Bijlage 1), wat doet vermoeden dat lokale omgevingsverschillen in Vlaanderen niet tot adaptatie leiden voor deze kenmerken. De grote betrouwbaarheidsintervallen bekomen voor Bertem (Fig. 4 - 9) zijn te wijten aan een beperkt aantal stalen omdat een deel van de stalen van deze populatie uit voorzorg verwijderd werd uit de proeftuin wegens een twijfelachtige morfologie. De waarden voor Bertem moeten dus met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd worden.

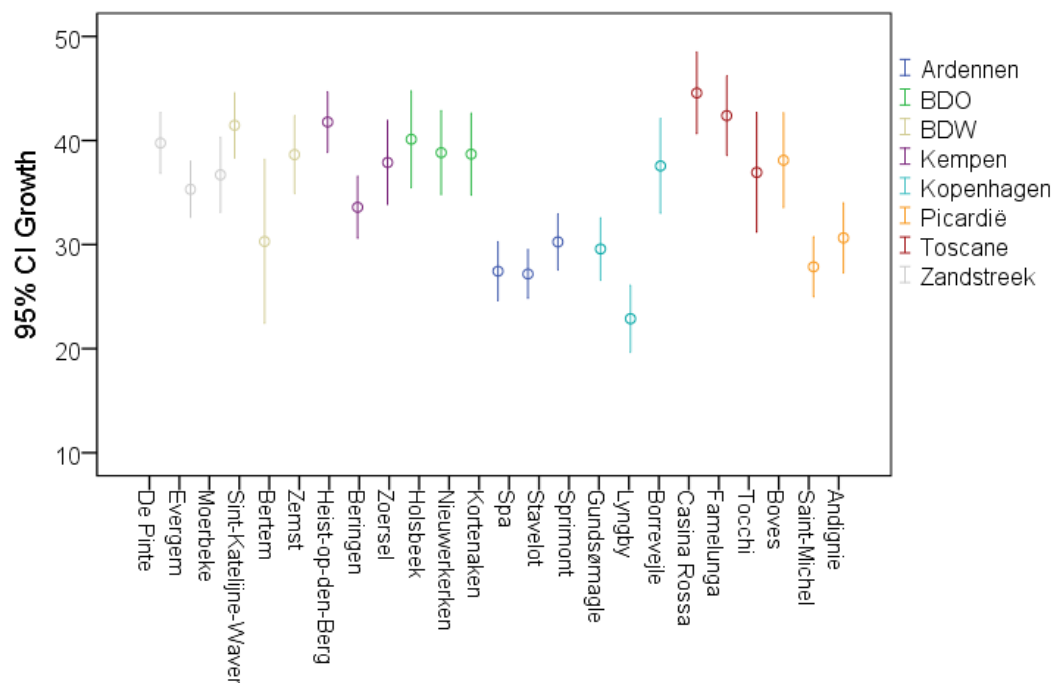
De verschillen met de buitenlandse herkomsten bleven veeleer beperkt (Fig. 4 – 8; Bijlage 1), vermoedelijk omdat plastische responsen op de proeftuinomgeving ervoor kunnen zorgen dat genetische verschillen gedeeltelijk gemaskeerd worden (Gienapp *et al.* 2008; De Kort *et al.* 2014a). Zo observeerden we na de koude en lange winter van 2012-2013 dat alle herkomsten de bladontluiking uitstelden en gezamenlijk hun groeiseizoen hervatten wanneer temperaturen eindelijk gunstig werden (begin april 2013). Zie ook De Kort *et al.* (2014a) voor een uitgebreide uiteenzetting over de proeftuinresultaten in de context van de Belgische herkomstgebieden.



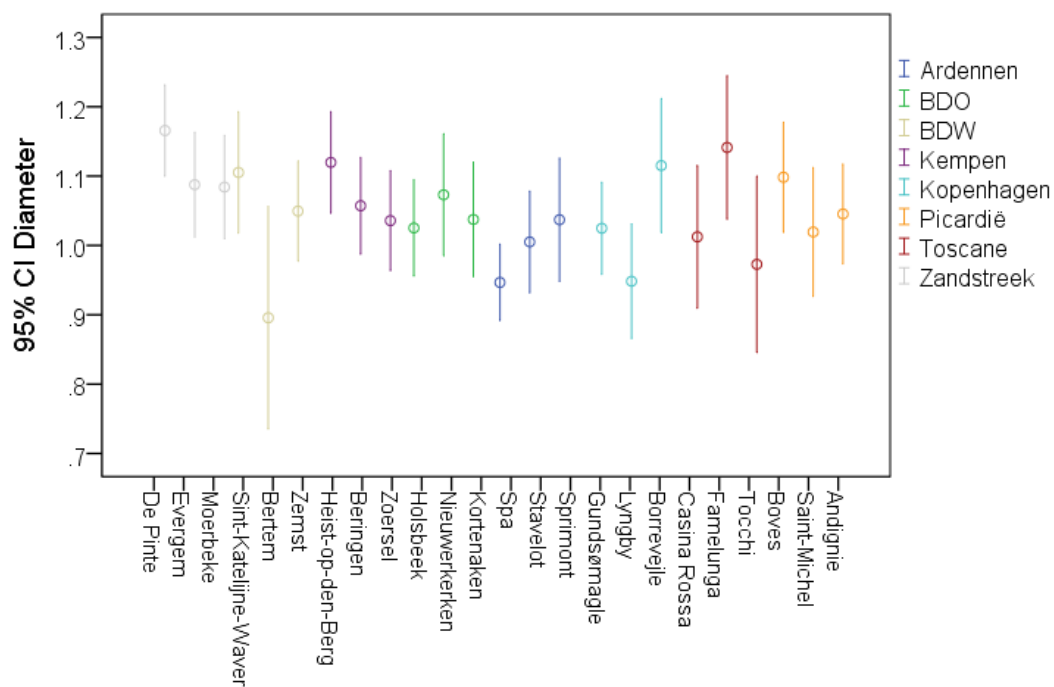
Figuur 4 Bladlengte voor elke populatie (gemiddelde en 95% betrouwbaarheidsintervallen). Bladlengte werd gekwadrateerd om aan de modelassumpties voor normaliteit en constante variatie te voldoen.



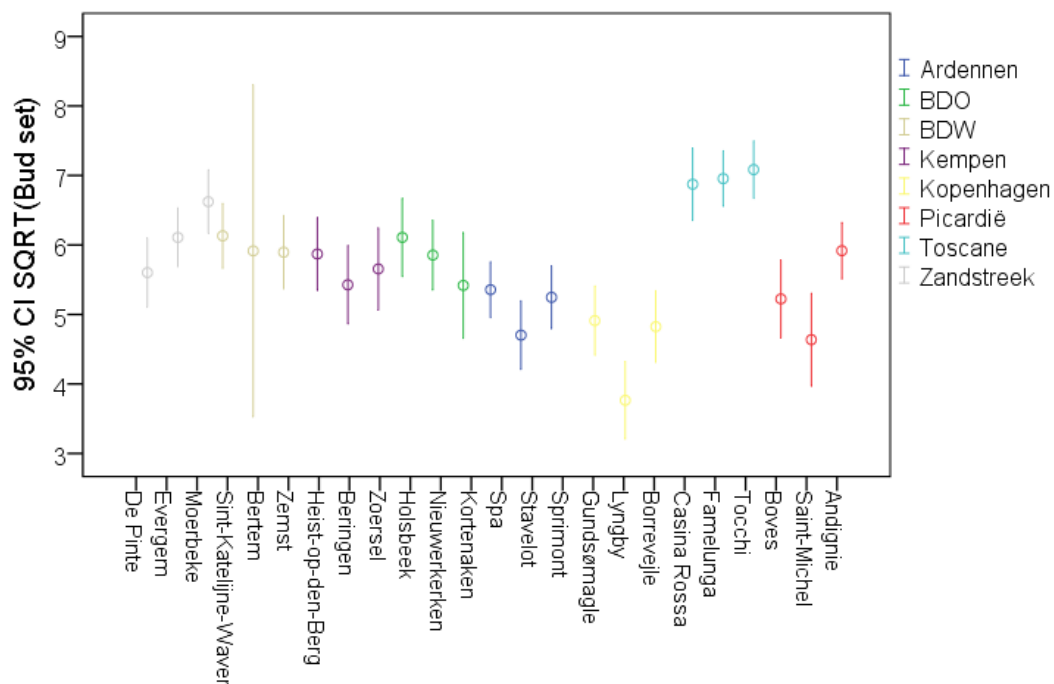
Figuur 5 Bladbreedte voor elke populatie (gemiddelde en 95% betrouwbaarheidsintervallen). Bladbreedte werd gekwadeerd om aan de modelassumpties voor normaliteit en constante varianie te voldoen.



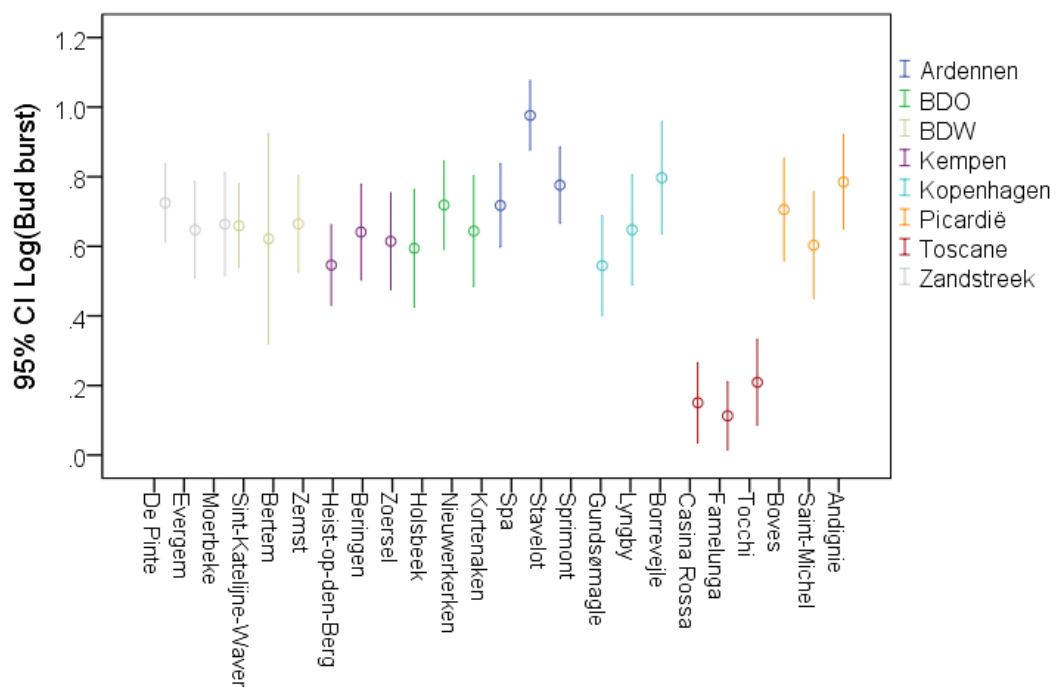
Figuur 6 Groei voor elke populatie (gemiddelde en 95% betrouwbaarheidsintervallen).



Figuur 7 Diameter stambasis voor elke populatie (gemiddelde en 95% betrouwbaarheidsintervallen).



Figuur 8 Tijdspit van knopzet voor elke populatie (gemiddelde en 95% betrouwbaarheidsintervallen). De wortel werd genomen om aan de modelassumpties voor normaliteit en constante variatie te voldoen.



Figuur 9 Tijdstip van bladontuiking voor elke populatie (gemiddelde en 95% betrouwbaarheidsintervallen). Deze variabele werd logaritmisches getransformeerd (Log10) om aan de modelassumpties voor normaliteit en constante varianie te voldoen.

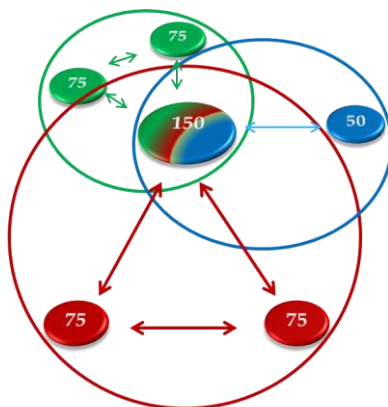
5 Reciproke transplantatie experimenten (INBO, ANB, Natuurpunt)

5.1 Doelstellingen

Door verschillende populaties samen op te kweken, en dit op verschillende lokaties, kan nagegaan worden of lokale populaties beter presteren dan vreemde populaties (i.e. populaties afkomstig van andere lokaties). Als in de transplantatielokaties de populaties van het lokaal herkomstgebied door een genotype-omgevingsinteractie inderdaad een hogere leefbaarheid vertonen dan de populaties van de andere herkomstgebieden, duidt dit op lokale adaptatie (**local vs foreign criterium**, Kawecki & Ebert 2004). Anderzijds, als zaailingen van eenzelfde herkomstgebied fenotypisch variëren tussen transplantatielokaties, dan duidt dit op fenotypische plasticiteit (**home vs away criterium**; Kawecki & Ebert 2004). Plasticiteit betekent dat eenzelfde genotype verschillende fenotypes kan aannemen naargelang de omgevingscondities en is dus niet het gevolg van lokale adaptatie.

5.2 Materiaal en methoden

De reciproke transplantatie experimenten werden op **3 geografische niveau's** opgezet: 1) tussen drie Vlaamse herkomstgebieden (lokale schaal), 2) tussen een Vlaamse en een Franse regio's (kleine schaal), en 3) tussen een Vlaamse, een Italiaanse en een Deense regio (Europese schaal) (Fig. 10). Dit geeft een totaal van zes verschillende transplantatielokaties (Kortenaken in Brabants District Oost, Sint-Katelijne-Waver in Brabants District West, Zoersel in de Kempen, Boves in Picardië, Famelunga in Toscane, en Lyngby in Sjaelland). In elke transplantatielokatie werden 25 zaailingen per herkomstgebied geplant, verdeeld over 2 plots (Fig. 10). Wegens extreme droogte in de zomer van 2012 was echter het overgrote deel van de zaailingen in Toscane afgestorven, waardoor geen Italiaanse data voor handen waren. Ook werd door toedoen van overstromingen het experiment in Boves (Picardië) vernield.



Figuur 10 Schematisch overzicht van de reciproke transplantatie experimenten. Rood: Europese schaal (Vlaams vs. Italiaans vs. Deens); Blauw: kleine schaal (Vlaams vs. Frans); Groen: lokale schaal (tussen Vlaamse herkomstgebieden). De cijfers weerspiegelen het totaal aantal zaailingen per transplantatielokatie.

Hoogte en diameter aan de stambasis werden gemeten bij de start van het experiment en na twee jaar om groei en diametertoename te bepalen. Ondanks een meter hoge omheining rondom de plots, waren de toppen van de meeste zaailingen afgegeten, waardoor groei niet statistisch geanalyseerd kon worden. Overleving werd gemeten na twee jaar. Een GLM met plot genest in lokatie, herkomstgebied, lokatie, en herkomstgebied*lokatie werd gebruikt om

na te gaan of **diametertoename** significant groter was voor lokale dan voor vreemde herkomsten in elke lokatie. Een veralgemeend lineair model met dezelfde factoren werd toegepast voor **overleving**.

5.3 Resultaten en discussie

Geen significante interactie tussen herkomstgebied en lokatie werd waargenomen voor overleving en diametertoename met betrekking tot de Vlaamse herkomstgebieden ($P > 0.05$, Tabel 2). Lokale herkomsten hadden dus geen grotere diameter en geen hogere overleving dan vreemde herkomsten, wat duidt op de afwezigheid van lokale adaptatie in de Vlaamse herkomstgebieden. Wel werd een significant omgevingseffect geobserveerd voor diameter, wat doet vermoeden dat plastische responsen belangrijker zijn dan genetische responsen op de lokale omgevingscondities. Zoals verwacht, was er wel een significante herkomst x omgevingsinteracties voor diameter tussen de Vlaamse en de Deense populaties ($P < 0.01$, Tabel 2). Voor de Europese schaal vinden we dus wel evidentie voor lokale adaptatie. De resultaten van het transplantatie-experiment alsook het belang van diameter voor de leefbaarheid van bosbestanden werden uitvoerig besproken in De Kort *et al.* (2014a).

Tabel 2 Effecten van herkomst en omgeving op overleving en diametertoename in de reciproke transplantatie van zwarte els. Wald Chi-square statistieken van het veralgemeend lineair model met overleving als responsvariabele en F-statistiek van het algemeen lineair model met diametertoename als responsvariabele. Significantie is weergegeven door * ($P < 0.05$) en ** ($P < 0.01$).

	Transplant Belgium		Transplant Denmark	
	Overleving	Diametertoename	Overleving	Diametertoename
Herkomst	$W_2=0.001$	$F_2=0.420$	$W_1=2.278$	$F_1=12.288^{**}$
Herkomst*Lokatie	$W_4=4.454$	$F_4=2.032$	$W_1=0.002$	$F_1=15.393^{**}$
Lokatie	$W_2=0.141$	$F_2=31.502^{**}$	$W_1=6.601^*$	$F_1=106.173^{**}$
Plot(Lokatie)	$W_3=17.194^{**}$	$F_3=8.685^{**}$	$W_2=3.179$	$F_2=1.057$

6 Genomics (ANB, INBO, KULeuven)

6.1 Doelstellingen

Op basis van een groot aantal genetische merkers (*Single Nucleotide Polymorphisms*; SNPs) kan de genetische structuur (neutraal en adaptief) en de relatie met fenotype en omgeving geëvalueerd worden. In eerste instantie werd de **neutrale genetische differentiatie** (F_{ST}) berekend. Deze geeft weer hoe populaties door *gene flow* en genetische drift van elkaar verschillen. SNPs die uitzonderlijke patronen van genetische diversiteit en differentiatie vertonen en dus afwijken van neutrale verwachtingen, worden **outlier SNPs** genoemd (Morin *et al.* 2004; Narum *et al.* 2013). Omdat ze afwijken van neutraliteit, kan verondersteld worden dat deze *outlier* SNPs door natuurlijke selectie adaptief gedifferentieerd zijn. Dit betekent dat het ene allel door de lokale omgevingsfactoren geprefereerd zal worden in de ene omgeving, terwijl het andere allel tot een hogere leefbaarheid leidt in de andere omgeving. Indien de Belgische herkomstgebieden lokale adaptatie reflecteren, worden dus meer *outliers* verwacht tussen de herkomstgebieden dan binnen de herkomstgebieden.

6.2 Materiaal en methoden

6.2.1 Sporkehout

In 2012 werd voor “*Restriction-site-Associated DNA*” (RAD) *sequencing* gekozen om SNPs op te sporen in sporkehout en er enkele honderden te genotyperen in 576 individuen. Hiervoor werd eerst een gepoolde set van acht stalen naar Floragenex gestuurd voor een SNP discovery. Ongeveer 7000 SNPs werden als dusdanig gevonden en 250 van deze SNPs (4.2%) kon via een BLASTx gerelateerd worden aan ecologisch relevante kenmerken zoals plantontwikkeling, respons op (a)biotische stimuli, ziekteresistentie, reproductie (De Kort *et al.* 2013). Om de kosten te beperken, werd een set van **250 SNPs** gekozen die vervolgens gegenotypeerd werd in **576 stalen** via allele-specific primer extension (LGC genomics). Het grootste deel van deze SNPs (183) werd geselecteerd obv een putatief adaptieve functie (BLASTx en SNP annotatie) om de kans op het vinden van lokale adaptatie te vergroten (zie De Kort *et al.* 2013 voor details omtrent de SNP selectie).

6.2.2 Zwarte els

In 2013 kwam DNA van zwarte els ter beschikking terwijl *Genotyping-by-sequencing* (GBS) als interessant alternatief voor RAD sequencering op de markt verscheen. We hebben van deze opportuniteit gebruik gemaakt om SNPs te genotyperen in zwarte els (Cornell University). Hierbij werd het DNA van de stalen geknipt mbv restrictie-enzymen (PstI), de fragmenten voorzien van adapters en gepoold, wat resulteerde in de simultane genotypering van **1990 SNPs** in **250 stalen** (DATASET_Black Alder_Cornell_De Kort).

6.2.3 Populatie- en landschapsgenomica

De SNP data werden gebruikt om de **neutrale genetische differentiatie** tussen populaties te bepalen (paarsgewijze F_{ST} : ARLEQUIN, Excoffier & Lischer 2010). Vervolgens werd gebruik gemaakt van een **outlier detectie** (BAYESCAN, Foll & Gaggiotti 2008) om SNPs te zoeken die uitzonderlijke patronen van genetische differentiatie herbergen. Deze patronen wijken af van neutrale verwachtingen en worden daardoor als adaptief beschouwd. De analyses werden zowel op Belgische schaal als op Europese schaal uitgevoerd.

Als meer **adaptieve SNPs (outlier loci)** gevonden worden tussen herkomstgebieden dan binnen herkomstgebieden, dan kan adaptieve differentiatie tussen herkomstgebieden verondersteld worden, en m.a.w., lokale adaptatie binnen de herkomstgebieden. Om dit te bekijken werd eerst gezocht naar *outlier* loci binnen elk paar van populaties (zowel binnen als tussen herkomstgebieden). Vervolgens werd met een gemengd lineair model (MLM) (i)

het aantal *outlier* loci tussen paren van populaties binnen herkomstgebieden vergeleken met (ii) het aantal *outliers* tussen paren van populaties van aangrenzende herkomstgebieden en (iii) het aantal *outliers* tussen paren van populaties van niet-aangrenzende herkomstgebieden. Om de robuustheid van deze aanpak te verifiëren, werden de resultaten (het aantal *outliers* binnen en tussen Belgische herkomsten) vergeleken met (iv) het aantal *outliers* tussen Belgische herkomstgebieden en Italië/Zweden (sporkehout) of Italië/Denemarken (zwarte els). Er zijn immers grotere omgevingsverschillen en dus meer adaptieve verschillen te verwachten op Europese schaal.

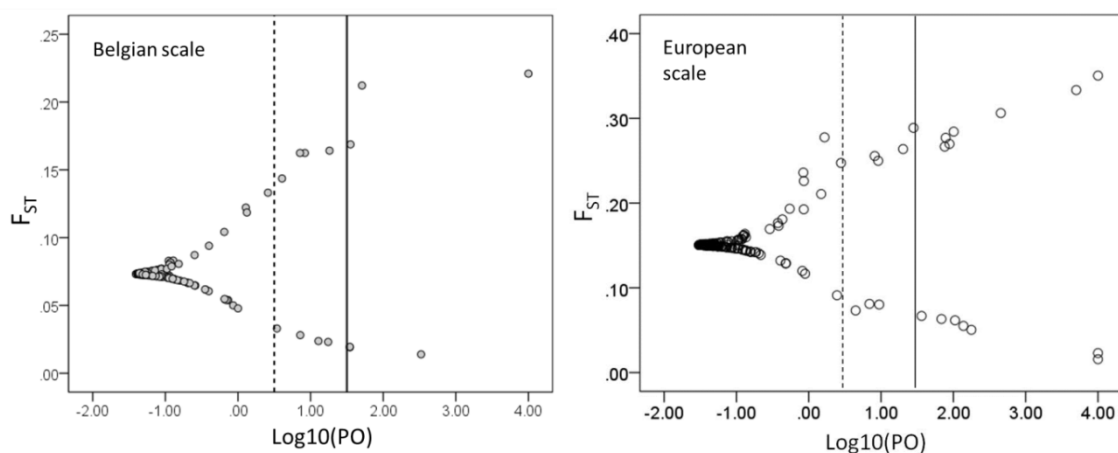
Om na te gaan welke omgevingsvariabelen gecorreleerd zijn met de allelfrequenties van de *outlier* SNPs, werd LFMM uitgevoerd (*Latent Factor Mixed Modeling*, Frichot *et al.* 2013), een **landschapsgenomica** analyse. Deze analyse zoekt naar significante associaties tussen neerslag, temperatuur en bodem terwijl rekening gehouden wordt met de neutrale genetische structuur in de populaties. P-waarden werden gecorrigeerd voor vals positieven als gevolg van herhaaldelijk testen door het bepalen van de *false discovery rate* (FDR). Een SNP effect werd als significant beschouwd bij een Q-waarde (gecorrigeerde P-waarde) $< 10^{-5}$. Een gedetailleerde uiteenzetting voor deze analyse kan teruggevonden worden in De Kort *et al.* 2014b en De Kort *et al.* *under revision*. De onderzochte omgevingsvariabelen waren latitude, longitude, temperatuur en neerslag voor beide soorten (zie 3.2. Omgevingsvariabelen). Voor sporkehout werd ook bodem in rekening gebracht.

6.3 Resultaten en discussie

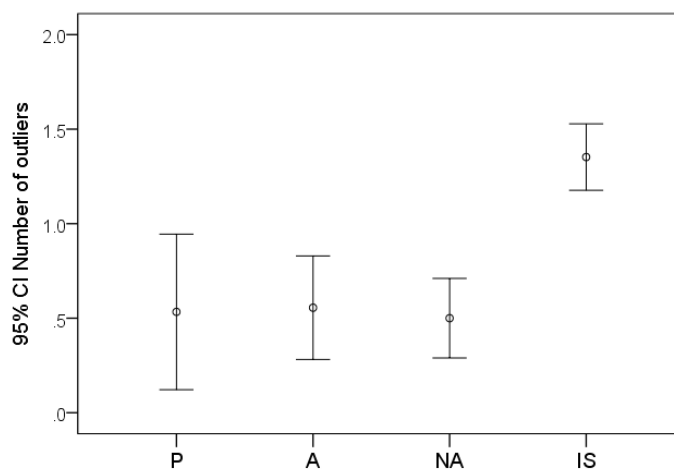
6.3.1 Resultaten sporkehout

Neutrale genetische differentiatie tussen paren van populaties varieerde tussen 0.013 (Saint Michel – Hanappes) en 0.369 (Aborrtjärn – Boves) (Bijlage 2). Deze relatief hoge waarden kunnen verklaard worden door insectestuiving; het kan inderdaad verwacht worden dat insecten aan minder efficiënte pollenverbreiding doen vergeleken met windbestuiving.

Voor sporkehout werden 7 (3.8%) *outliers* op Belgische schaal gevonden, en 12 (6.6%) op Europese schaal (Fig. 11; De Kort *et al.* *under review*). Adaptieve differentiatie vermindert dus van Europese schaal naar Belgische schaal, maar blijft in beperkte mate van belang in België. Om na te gaan of deze adaptieve patronen overeenkomen met de huidige herkomstindeling, werd het aantal *outliers* vergeleken tussen en binnen herkomsten (Fig. 12).



Figuur 11 *Outlier* detectie (BAYESCAN) in België en Europa voor sporkehout. SNPs met een Log10(PO) waarde groter dan 0.5 worden beschouwd als adaptief.



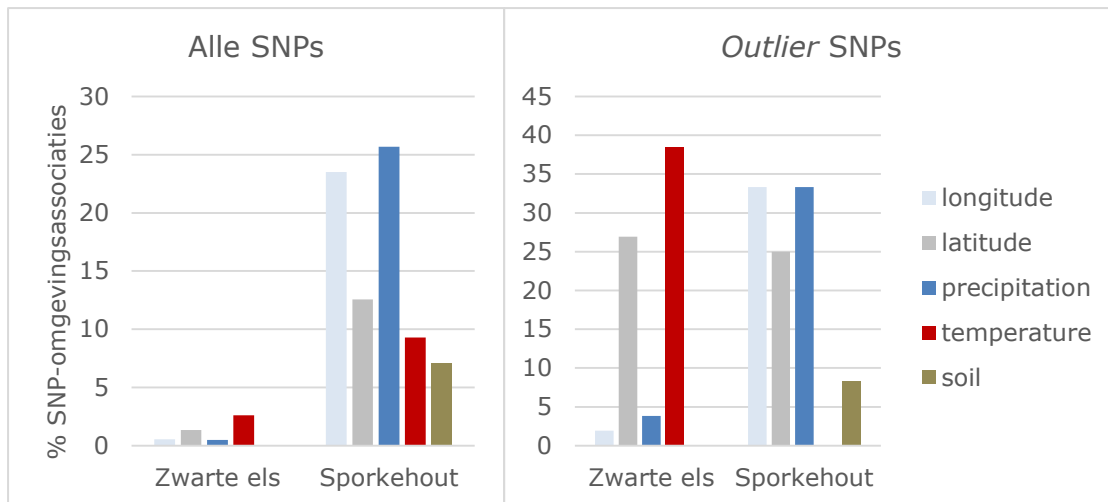
Figuur 12 Aantal *outlier* loci binnen Belgische herkomstgebieden (P), tussen aangrenzende herkomstgebieden (A), tussen niet-aangrenzende herkomstgebieden (NA), en tussen Belgische en Italiaanse/Zweedse regio's (IS) voor sporkehout.

Het aantal *outliers* was niet significant hoger tussen Belgische herkomstgebieden dan binnen herkomstgebieden (Tabel 3, Fig. 12). Zelfs tussen niet-aangrenzende herkomstgebieden lijkt niet meer adaptieve differentiatie te zijn dan binnen herkomstgebieden. Het zeer significante verschil in aantal *outliers* tussen Belgische herkomstgebieden enerzijds en tussen Belgische herkomstgebieden en de Italiaanse en Zweedse regio anderzijds, staft de verwachtingen van de analyse (Tabel 3, Fig. 12). De patronen van lokale adaptatie stemmen dus niet overeen met de huidige indeling van de Belgische herkomstgebieden. Deze resultaten zijn echter enkel van toepassing op sporkehout en dienen gestaafd te worden met bijkomend onderzoek in soorten met andere levensgeschiedenissenmerken.

Tabel 3 Het verschil in aantal outliers tussen de 3 groepen: binnen, tussen naburige, en tussen niet-naburige herkomstgebieden, schattingen gebaseerd op het MLM.

Sporkehout	Verskil	P-waarde	95% betrouwbaarheidsinterval
België			
Binnen vs. tussen naburige herkomstgebieden	0.020	0.936	-0.480,0.520
Binnen vs. niet-naburige herkomstgebieden	0.141	0.562	-0.339,0.622
Europa			
Binnen Belgische herkomstgebieden vs. tussen Belgische en Italiaanse/Zweedse regio	-0.712	0.004	-1.188,-0.235

De omgevingsvariabelen die geassocieerd waren met de geobserveerde adaptieve patronen zijn in dalende volgorde van belang neerslag, longitude, latitude, temperatuur en bodem (Fig. 13). Vooral neerslag lijkt dus aan de basis te liggen van de geobserveerde adaptieve patronen in sporkehout. Dit resultaat is in lijn met de standplaatsvereisten van sporkehout. De soort groeit namelijk op relatief variabele bodemcondities, gaande van drogere zandgronden (maar vaak grenzend aan sloten of grachten) tot moerassen. Lokale natuurlijke selectie als gevolg van heterogene vochtigheidscondities heeft waarschijnlijk geleid tot lokale adaptatie aan neerslag. Het gezamenlijk effect van de verschillende omgevingseffecten resulteert echter in complexe adaptieve patronen, en kan verklaren waarom lokale adaptatie niet volgens de huidige herkomstgebieden verloopt.

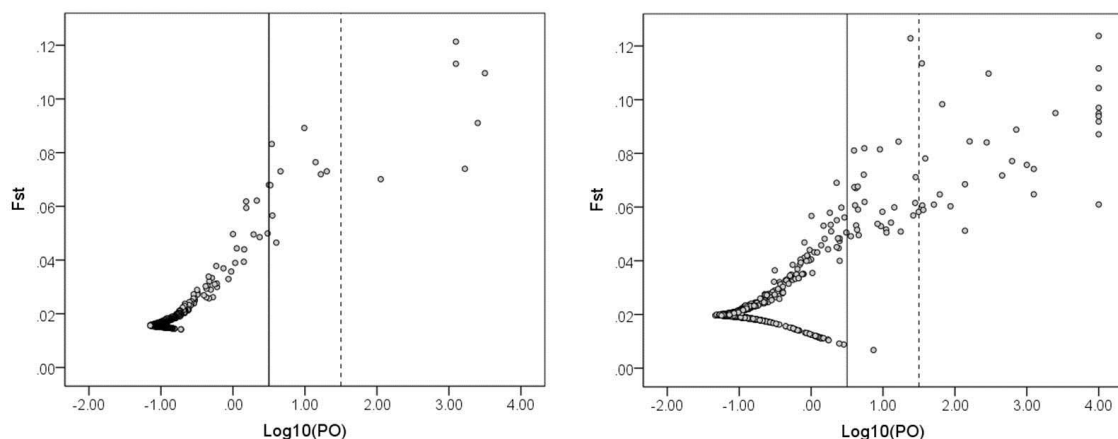


Figuur 13 Percentage significante associaties tussen SNPs en omgevingsvariabelen obv LFMM analyses voor zwarte els (tov 1990 willekeurige SNPs en 52 outliers) en sporkehout (tov 183 geselecteerde SNPs en 12 outliers). Voor elke SNP werd alleen de meest significante interactie in rekening genomen om spurieuze effecten uit te sluiten.

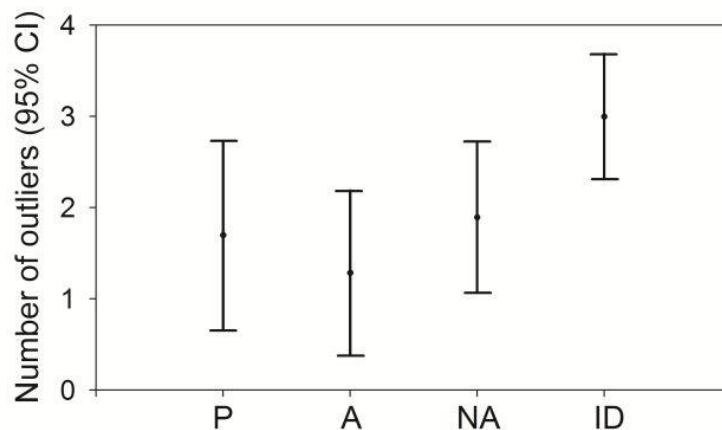
6.3.2 Resultaten zwarte els

Neutrale genetische differentiatie tussen paren van populaties varieerde tussen <0.001 (31 paren) en 0.044 (Moerbeke – Tocchi) (Bijlage 3). Deze relatief lage waarden kunnen verklaard worden door windbestuiving; het kan inderdaad verwacht worden dat wind resulteert in meer efficiënte pollenverbreiding vergeleken met insectbestuiving.

Voor zwarte els werden 16 (0.8%) *outliers* op Belgische schaal gevonden, en 57 (2.86%) op Europese schaal (Fig. 14). Adaptieve differentiatie vermindert dus ook bij deze soort van Europese schaal naar Belgische schaal, maar blijft in beperkte mate van belang in België. Om na te gaan of deze adaptieve patronen overeenkomen met de huidige herkomstindeling, werd het aantal *outliers* vergeleken tussen en binnen herkomstgebieden (Fig. 15).



Figuur 14 Outlier detectie (BAYESCAN) in België en Europa voor Zwarte els. SNPs met een $\text{Log}_{10}(\text{PO})$ waarde groter dan 0.5 worden beschouwd als adaptief.



Figuur 15 Aantal outlier loci binnen Belgische herkomstgebieden (P), tussen aangrenzende herkomstgebieden (A), tussen niet-aangrenzende herkomstgebieden (NA), en tussen Belgische en Italiaanse/Deense regio's (ID) voor zwarte els.

Het aantal *outliers* was niet significant hoger tussen Belgische herkomstgebieden dan binnen herkomstgebieden (Tabel 4, Fig. 15). Zelfs tussen niet-aangrenzende herkomstgebieden lijkt niet meer adaptieve differentiatie te zijn dan binnen herkomstgebieden. Vooral binnen de Ardennen en in mindere mate ook tussen de Ardennen en andere herkomstgebieden bleek het aantal *outliers* echter relatief hoog te zijn (Bijlage 4). Het significante verschil in aantal *outliers* tussen Belgische herkomstgebieden enerzijds en tussen Belgische herkomstgebieden en de Italiaanse en Deense regio anderzijds, volgt de verwachtingen (Tabel 4, Fig. 15). De patronen van lokale adaptatie stemmen dus niet overeen met de huidige afbakening van de herkomstgebieden.

Tabel 4 Het verschil in aantal outliers tussen de 3 groepen: binnen, tussen naburige, en tussen niet-naburige herkomstgebieden obv het MLM. Ook de vergelijking tussen de Belgische herkomstgebieden en de Europese referentiegebieden is vermeld in de tabel.

Zwarte els	Verskil	P-waarde	95% betrouwbaarheidsinterval
België			
Binnen vs. tussen naburige herkomstgebieden	0.413	0.173	-0.714,1.540
Binnen vs. niet-naburige herkomstgebieden	-0.195	0.493	-1.238,0.848
Europa			
Binnen Belgische herkomstgebieden vs. tussen Belgische en Italiaanse/Zweedse regio	-1.300	0.001	-2.389,-0.211

De omgevingsvariabelen die geassocieerd waren met de geobserveerde adaptieve patronen zijn in dalende volgorde van belang temperatuur, latitude, neerslag en longitude (Fig. 14). Vooral temperatuur lijkt dus aan de basis te liggen van de geobserveerde adaptieve patronen in zwarte els. Dit resultaat is in lijn met de standplaatsvereisten van zwarte els, waarbij verhoogde transpiratie als gevolg van hogere temperaturen kunnen leiden tot droogtestress in deze droogtegevoelige soort. De beperkte temperatuursverschillen tussen de Vlaamse herkomsten kunnen overigens het gebrek aan adaptatie binnen herkomstgebieden verklaren, en verklaart ook het iets hoger aantal *outlier* SNPs in de koudere Ardennen (Bijlage 4).

7 Discussie in het kader van de indeling van België in herkomstgebieden

De **geïntegreerde aanpak**, waarbij een transplantatie experiment, een gemeenschappelijk proeftuinexperiment en populatiegenomica werden gecombineerd, liet toe de voor- en nadelen van elke techniek te evalueren in het licht van de huidige herkomstindeling in België. Terwijl het grootschalige proeftuinexperiment in Geraardsbergen als grote voordeel had de neutrale genetische verschillen te kunnen vergelijken met adaptieve verschillen tussen herkomstgebieden, kon bij de reciproke transplantatie experimenten rekening gehouden worden met niet-genetische fenotypische plasticiteit. De grootste voordelen van de genomica omvatten tijdsefficiëntie, de beperkte personeelsbezetting en het feit dat populatiegenomica niet beïnvloed wordt door niet-genetische fenotypische plasticiteit. Een mogelijk nadeel is dat slechts een klein percentage van het hele genoom gegenotypeerd kan worden, terwijl adaptieve fenotypische kenmerken het resultaat zijn van een wisselwerking tussen tientallen genen. De prijs van de *next-generation-sequencing* voorafgaand aan de populatiegenomica was bovendien nog relatief hoog (de prijs van DNA extracties + genotypering + bio-informatica voor 1990 SNPs in zwarte els was in 2013 ca. 10,000 euro). Anderzijds kunnen verschillende synchroon verlopende genomicaprojecten volledig uitgevoerd worden binnen, en gedeeltelijk gefinancierd worden door, één doctoraatsonderzoek. Dit in tegenstelling tot proeftuinexperimenten, die minstens vijf jaar (en idealiter meer dan 10 jaar) dienen opgevolgd te worden wegens effecten van de maternale omgeving en de proeftuinomgeving (fenotypische plasticiteit).

Hoewel vervolgonderzoek aangeraden is, hebben de drie complementaire technieken in twee boomsoorten met verschillende levensgeschiedenissen kenmerken geleid tot een **relatief éénduidig besluit omtrent de afbakening van Vlaamse/Belgische herkomstgebieden**. Voor zwarte els werden geen adaptieve verschillen gevonden tussen de Vlaamse herkomstgebieden, een resultaat dat ondersteund wordt door zowel de gemeenschappelijke proeftuin, de reciproke transplantaties, als de populatiegenomica. Voor de Ardennen werden beperkte verschillen geobserveerd voor verschillende fenotypische kenmerken, en kon een hoger aantal *outlier* SNPs in het genoom gevonden worden. Voor soorten met een gelijkaardige levensgeschiedenis als zwarte els kan alsdusdanig voor een onderverdeling in een Vlaamse en een Waalse herkomstgebied geopteerd worden in plaats van de huidige zeven herkomstgebieden. Desalnietemin is **vervolgonderzoek** in een tweede windbestoven boomsoort aangeraden om generalisering toe te laten. Dit vervolgonderzoek omvat idealiter alle zeven herkomstgebieden, met minstens vijf populaties per herkomstgebied. Voor sporkehout werden zeer gelijkaardige populatiegenomische resultaten gevonden, waarbij een gelijkaardig aantal *outlier* SNPs werden gevonden binnen en tussen de Belgische herkomstgebieden. Voor soorten met een overeenkomstige levensgeschiedenis als sporkehout kan dus geopteerd worden voor één groot herkomstgebied in België, hoewel bijkomend onderzoek in de andere Waalse herkomstgebieden en met minstens één bijkomende insectbestoven boom sterk aangeraden is.

De vooropgestelde **uitbreiding van de herkomstgebieden** in Vlaanderen en België brengt **economische en ecologische voordelen** met zich mee. Niet alleen leidt een groot aantal herkomstgebieden tot een niet te onderschatten administratieve meerkost bij de boomkweek, het werkt ook het behoud van genetische variatie in aangeplante bosbestanden tegen. Variatie in genetische bronnen voorkomt niet alleen inteelt, een proces dat resulteert in een gereduceerde productiviteit, en een verminderde weerstand tegen ziekten en andere abiotische factoren, het verhoogt ook het potentieel van populaties om zich aan te passen aan toekomstige klimaatsveranderingen. Terwijl variatie in resistentiegenen gewaarborgd moet worden in zowel klein- als grootschalige aanplantingen om de effecten van pathogenen op ziekte en overleving te mitigeren, kan een gebrek aan variatie in klimaatgebonden genen dramatische effecten hebben in grootschalige restauratieprojecten. Hoe minder genetische variatie aanwezig is in de populaties en aanplantingen, hoe kleiner de kans dat genetische

varianten aanwezig zullen zijn die aangepast zijn aan het toekomstig klimaat, en hoe lager de leefbaarheid en ziekteresistentie van het aangeplante plantsoen. Om die genetische variatie te garanderen, is het echter van uitzonderlijk belang dat de kwekers van voldoende divers uitgangsmateriaal oogsten, en absoluut niet terugvallen op één of enkele zaadbomen voor alle aanplantingen in Vlaanderen en/of België. Het toekomstig beleid dient dan ook het gebruik van **genetisch gevarieerde zaadboomgaarden** te stimuleren bij de kwekers, zodat toekomstige bosbestanden op korte en lange termijn weerstand kunnen bieden tegen ziekten en klimaatsverandering.

We kunnen concluderen dat **voor zwarte els en sporkehout geen overtuigend bewijs gevonden kon worden voor het behoud van de huidige indeling in herkomstgebieden**, waarbij een uitbreiding naar één of twee Belgische herkomstgebieden voordelige economische en ecologische consequenties heeft. Desalniettemin is bijkomend onderzoek aangeraden om over te gaan tot een effectieve en algemene herziening van de huidige herkomstindeling. Bovendien dient deze aanpassing gepaard te gaan met een regelgeving omtrent het gebruik van voldoende genetisch gevarieerd oogstmateriaal.

Referenties

De Kort H, Mergeay J, Vander Mijnsbrugge K, Decocq G, Maccherini S, Bruun HH, Honnay O, Vandepitte K (2014a) An evaluation of seed zone delineation using phenotypic and population genomic data on black alder *Alnus glutinosa*. *Journal of Applied Ecology*, accepted (doi under construction).

De Kort H, Vandepitte K, Bruun HH, Closset-Kopp D, Honnay O, Mergeay J (2014b) Landscape genomics and a common garden trial reveal adaptive differentiation to temperature across Europe in the tree species *Alnus glutinosa*. *Molecular Ecology*, DOI: 10.1111/mec.12813.

De Kort H, Vandepitte K, Mergeay J, Honnay O (2013). Isolation, characterization and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the non-model tree species *Frangula alnus* (Rhamnaceae). *Conservation Genetics Resources*, doi:10.1007/s12686-013-0083-6.

De Kort H, Vandepitte K, Mergeay J, Vander Mijnsbrugge K, Honnay O. Genotyping assisted evaluation of seed provenance delineation: the population genomic signature of environmental selection in a widespread bird dispersed tree species at different geographical scales. Submitted to *Molecular Ecology*.

Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver. 3.5: a new series of programs to perform population genetics analysis under Linux and Window. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567.

Foll M, Gaggiotti O (2008) A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, 180, 977-993.

Frichot E, Schoville SD, Bouchard G, François O (2013) Testing for associations between loci and environmental gradients using latent factor mixed models. *Molecular biology and evolution*, 30, 1687-99.

Gienapp P, Teplitsky C, Alho, JS *et al.* (2008) Climate change and evolution: disentangling genetic and environmental processes. *Molecular Ecology*, 17 (1), 167-178.

Kawecki TJ, Ebert D (2004) Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, 7, 1225-1241.

Morin PA, Luikart G, Wayne RK (2004) SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 208-216.

Narum SR, Buerkle CA, Davey JW, Miller MR, Hohenlohe PA (2013) Genotyping-by-sequencing in ecological and conservation genomics. *Molecular Ecology*, 22 (11), 2841-2847.

Peakall R, Smouse PE (2006) Genalex 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.

Bijlage 1: Paarsgewijze resultaten van de proeftuin GLMs voor bladuitloop (2014), knopzet (2013), diameter (2013), groei (2013), bladbreedte (2013) en bladlengte (2013) in dalende volgorde.

Bladuitloop

(I) Herkomst	(J) Herkomst	Mean Difference (I-J)	Std. Error	df	Sig. ^e	95% Confidence Interval for Difference ^e	
						Lower Bound	Upper Bound
Ardennen	BDO	1.792 ^{b,c}	.752	825	.489	-.566	4.149
	BDW	2.744 ^{b,c}	.951	825	.112	-.235	5.723
	Kempen	2.812 ^{b,c,*}	.715	825	.003	.572	5.051
	Kopenhagen	2.088 ^{b,c}	.778	825	.207	-.349	4.524
	Picardië	1.814 ^{b,c}	.775	825	.547	-.616	4.244
	Toscane	6.693 ^{b,c,*}	1.739	825	.004	1.242	12.143
	Zandstreek	2.128 ^{b,c}	.728	825	.099	-.152	4.409
BDO	Ardennen	-1.792 ^{b,c}	.752	825	.489	-4.149	.566
	BDW	.952 ^{b,c}	.961	825	1.000	-2.058	3.963
	Kempen	1.020 ^{b,c}	.712	825	1.000	-1.211	3.251
	Kopenhagen	.296 ^{b,c}	.777	825.000	1.000	-2.141	2.732
	Picardië	.023 ^{b,c}	.780	825.000	1.000	-2.421	2.466
	Toscane	4.901 ^{b,c}	1.859	825	.239	-.925	10.727
	Zandstreek	.337 ^{b,c}	.748	825.000	1.000	-2.007	2.681
BDW	Ardennen	-2.744 ^{b,c}	.951	825	.112	-5.723	.235
	BDO	-.952 ^{b,c}	.961	825	1.000	-3.963	2.058
	Kempen	.068 ^{b,c}	.928	825	1.000	-2.840	2.975
	Kopenhagen	-.656 ^{b,c}	.980	825	1.000	-3.728	2.415
	Picardië	-.930 ^{b,c}	.970	825	1.000	-3.968	2.109
	Toscane	3.948 ^{b,c}	1.860	825	.953	-1.880	9.777
	Zandstreek	-.616 ^{b,c}	.954	825	1.000	-3.607	2.375
Kempen	Ardennen	-2.812 ^{b,c,*}	.715	825	.003	-5.051	-.572
	BDO	-1.020 ^{b,c}	.712	825	1.000	-3.251	1.211
	BDW	-.068 ^{b,c}	.928	825	1.000	-2.975	2.840
	Kopenhagen	-.724 ^{b,c}	.742	825	1.000	-3.049	1.601
	Picardië	-.997 ^{b,c}	.736	825.000	1.000	-3.304	1.309
	Toscane	3.881 ^{b,c}	1.801	825	.882	-1.765	9.527
	Zandstreek	-.683 ^{b,c}	.712	825	1.000	-2.914	1.547
Kopenhagen	Ardennen	-2.088 ^{b,c}	.778	825	.207	-4.524	.349
	BDO	-.296 ^{b,c}	.777	825.000	1.000	-2.732	2.141
	BDW	.656 ^{b,c}	.980	825	1.000	-2.415	3.728
	Kempen	.724 ^{b,c}	.742	825	1.000	-1.601	3.049
	Picardië	-.273 ^{b,c}	.803	825	1.000	-2.790	2.244
	Toscane	4.605 ^{b,c}	1.854	825	.369	-1.204	10.414
	Zandstreek	.041 ^{b,c}	.777	825	1.000	-2.395	2.477
Picardië	Ardennen	-1.814 ^{b,c}	.775	825	.547	-4.244	.616
	BDO	-.023 ^{b,c}	.780	825.000	1.000	-2.466	2.421
	BDW	.930 ^{b,c}	.970	825	1.000	-2.109	3.968
	Kempen	.997 ^{b,c}	.736	825.000	1.000	-1.309	3.304
	Kopenhagen	.273 ^{b,c}	.803	825	1.000	-2.244	2.790
	Toscane	4.878 ^{b,c}	1.747	825	.150	-.596	10.353
	Zandstreek	.314 ^{b,c}	.773	825	1.000	-2.107	2.735
Toscane	Ardennen	-6.693 ^{b,c,*}	1.739	825	.004	-12.143	-1.242
	BDO	-4.901 ^{b,c}	1.859	825	.239	-10.727	.925
	BDW	-3.948 ^{b,c}	1.860	825	.953	-9.777	1.880
	Kempen	-3.881 ^{b,c}	1.801	825	.882	-9.527	1.765
	Kopenhagen	-4.605 ^{b,c}	1.854	825	.369	-10.414	1.204
	Picardië	-4.878 ^{b,c}	1.747	825	.150	-10.353	.596
	Zandstreek	-4.564 ^{b,c}	1.790	825	.307	-10.173	1.045
Zandstreek	Ardennen	-2.128 ^{b,c}	.728	825	.099	-4.409	.152
	BDO	-.337 ^{b,c}	.748	825.000	1.000	-2.681	2.007
	BDW	.616 ^{b,c}	.954	825	1.000	-2.375	3.607
	Kempen	.683 ^{b,c}	.712	825	1.000	-1.547	2.914
	Kopenhagen	-.041 ^{b,c}	.777	825	1.000	-2.477	2.395
	Picardië	-.314 ^{b,c}	.773	825	1.000	-2.735	2.107
	Toscane	4.564 ^{b,c}	1.790	825	.307	-1.045	10.173

Pairwise Comparisons^a

(I) Herkomst	(J) Herkomst	Mean Difference (I-J)	Std. Error	df	Sig. ^e	95% Confidence Interval for Difference ^e	
						Lower Bound	Upper Bound
Ardennen	BDO	-.803 ^{*,c,d}	.203	825	.002	-1.438	-.167
	BDW	-.908 ^{*,c,d}	.256	825	.012	-1.711	-.105
	Kempen	-.649 ^{*,c,d}	.193	825	.022	-1.252	-.045
	Kopenhagen	.494 ^{c,d}	.210	825.000	.525	-.163	1.150
	Picardië	-.172 ^{c,d}	.209	825	1.000	-.827	.483
	Toscane	-.917 ^{c,d}	.469	825	1.000	-2.386	.552
	Zandstreek	-1.083 ^{*,c,d}	.196	825	.000	-1.698	-.468
BDO	Ardennen	.803 ^{*,c,d}	.203	825	.002	.167	1.438
	BDW	-.106 ^{c,d}	.259	825	1.000	-.917	.706
	Kempen	.154 ^{c,d}	.192	825	1.000	-.447	.756
	Kopenhagen	1.296 ^{*,c,d}	.210	825	.000	.639	1.953
	Picardië	.630 ^{c,d}	.210	825	.078	-.028	1.289
	Toscane	-.114 ^{c,d}	.501	825	1.000	-1.685	1.456
	Zandstreek	-.280 ^{c,d}	.202	825.000	1.000	-.912	.351
BDW	Ardennen	.908 ^{*,c,d}	.256	825	.012	.105	1.711
	BDO	.106 ^{c,d}	.259	825	1.000	-.706	.917
	Kempen	.260 ^{c,d}	.250	825	1.000	-.524	1.044
	Kopenhagen	1.402 ^{*,c,d}	.264	825	.000	.574	2.230
	Picardië	.736 ^{c,d}	.261	825	.139	-.083	1.555
	Toscane	-.009 ^{c,d}	.501	825	1.000	-1.580	1.563
	Zandstreek	-.175 ^{c,d}	.257	825	1.000	-.981	.632
Kempen	Ardennen	.649 ^{*,c,d}	.193	825	.022	.045	1.252
	BDO	-.154 ^{c,d}	.192	825	1.000	-.756	.447
	BDW	-.260 ^{c,d}	.250	825	1.000	-1.044	.524
	Kopenhagen	1.142 ^{*,c,d}	.200	825	.000	.515	1.769
	Picardië	.476 ^{c,d}	.198	825	.464	-.145	1.098
	Toscane	-.268 ^{c,d}	.486	825	1.000	-1.790	1.253
	Zandstreek	-.434 ^{c,d}	.192	825.000	.666	-1.036	.167
Kopenhagen	Ardennen	-.494 ^{c,d}	.210	825.000	.525	-1.150	.163
	BDO	-1.296 ^{*,c,d}	.210	825	.000	-1.953	-.639
	BDW	-1.402 ^{*,c,d}	.264	825	.000	-2.230	-.574
	Kempen	-1.142 ^{*,c,d}	.200	825	.000	-1.769	-.515
	Picardië	-.666 ^{c,d}	.216	825	.061	-1.344	.013
	Toscane	-1.410 ^{c,d}	.500	825	.136	-2.976	.155
	Zandstreek	-1.577 ^{*,c,d}	.210	825.000	.000	-2.233	-.920
Picardië	Ardennen	.172 ^{c,d}	.209	825	1.000	-.483	.827
	BDO	-.630 ^{c,d}	.210	825	.078	-1.289	.028
	BDW	-.736 ^{c,d}	.261	825	.139	-1.555	.083
	Kempen	-.476 ^{c,d}	.198	825	.464	-1.098	.145
	Kopenhagen	.666 ^{c,d}	.216	825	.061	-.013	1.344
	Toscane	-.745 ^{c,d}	.471	825	1.000	-2.220	.731
	Zandstreek	-.911 ^{*,c,d}	.208	825	.000	-1.563	-.258
Toscane	Ardennen	.917 ^{c,d}	.469	825	1.000	-.552	2.386
	BDO	.114 ^{c,d}	.501	825	1.000	-1.456	1.685
	BDW	.009 ^{c,d}	.501	825	1.000	-1.563	1.580
	Kempen	.268 ^{c,d}	.486	825	1.000	-1.253	1.790
	Kopenhagen	1.410 ^{c,d}	.500	825	.136	-.155	2.976
	Picardië	.745 ^{c,d}	.471	825	1.000	-.731	2.220
	Zandstreek	-.166 ^{c,d}	.482	825	1.000	-1.678	1.346
Zandstreek	Ardennen	1.083 ^{*,c,d}	.196	825	.000	.468	1.698
	BDO	.280 ^{c,d}	.202	825.000	1.000	-.351	.912
	BDW	.175 ^{c,d}	.257	825	1.000	-.632	.981
	Kempen	.434 ^{c,d}	.192	825.000	.666	-.167	1.036
	Kopenhagen	1.577 ^{*,c,d}	.210	825.000	.000	.920	2.233
	Picardië	.911 ^{*,c,d}	.208	825	.000	.258	1.563
	Toscane	.166 ^{c,d}	.482	825	1.000	-1.346	1.678

Diameter

Pairwise Comparisons^a

(I) Herkomst	(J) Herkomst	Mean Difference (I-J)	Std. Error	df	Sig. ^e	95% Confidence Interval for Difference ^e	
						Lower Bound	Upper Bound
Ardennen	BDO	-.046 ^{b,c}	.035	912	1.000	-.155	.064
	BDW	-.018 ^{b,c}	.044	912	1.000	-.157	.121
	Kempen	-.073 ^{b,c}	.033	912	.761	-.177	.031
	Kopenhagen	-.032 ^{b,c}	.034	912	1.000	-.139	.075
	Picardië	-.059 ^{b,c}	.034	912	1.000	-.166	.049
	Toscane	-.060 ^{b,c}	.077	912.000	1.000	-.302	.182
	Zandstreek	-.115 ^{b,c,*}	.032	912	.012	-.217	-.013
BDO	Ardennen	.046 ^{b,c}	.035	912	1.000	-.064	.155
	BDW	.028 ^{b,c}	.045	912	1.000	-.113	.168
	Kempen	-.028 ^{b,c}	.033	912	1.000	-.132	.076
	Kopenhagen	.014 ^{b,c}	.034	912	1.000	-.094	.121
	Picardië	-.013 ^{b,c}	.035	912	1.000	-.122	.095
	Toscane	-.015 ^{b,c}	.083	912.000	1.000	-.274	.244
	Zandstreek	-.069 ^{b,c}	.033	912	1.000	-.174	.036
BDW	Ardennen	.018 ^{b,c}	.044	912	1.000	-.121	.157
	BDO	-.028 ^{b,c}	.045	912	1.000	-.168	.113
	Kempen	-.055 ^{b,c}	.043	912	1.000	-.191	.080
	Kopenhagen	-.014 ^{b,c}	.044	912	1.000	-.153	.124
	Picardië	-.041 ^{b,c}	.044	912	1.000	-.178	.096
	Toscane	-.042 ^{b,c}	.083	912.000	1.000	-.303	.218
	Zandstreek	-.097 ^{b,c}	.043	912	.725	-.233	.039
Kempen	Ardennen	.073 ^{b,c}	.033	912	.761	-.031	.177
	BDO	.028 ^{b,c}	.033	912	1.000	-.076	.132
	BDW	.055 ^{b,c}	.043	912	1.000	-.080	.191
	Kopenhagen	.041 ^{b,c}	.033	912	1.000	-.061	.143
	Picardië	.014 ^{b,c}	.032	912	1.000	-.087	.116
	Toscane	.013 ^{b,c}	.080	912.000	1.000	-.237	.263
	Zandstreek	-.041 ^{b,c}	.032	912.000	1.000	-.141	.058
Kopenhagen	Ardennen	.032 ^{b,c}	.034	912	1.000	-.075	.139
	BDO	-.014 ^{b,c}	.034	912	1.000	-.121	.094
	BDW	.014 ^{b,c}	.044	912	1.000	-.124	.153
	Kempen	-.041 ^{b,c}	.033	912	1.000	-.143	.061
	Picardië	-.027 ^{b,c}	.034	912	1.000	-.133	.079
	Toscane	-.028 ^{b,c}	.082	912.000	1.000	-.284	.227
	Zandstreek	-.083 ^{b,c}	.033	912	.339	-.186	.020
Picardië	Ardennen	.059 ^{b,c}	.034	912	1.000	-.049	.166
	BDO	.013 ^{b,c}	.035	912	1.000	-.095	.122
	BDW	.041 ^{b,c}	.044	912	1.000	-.096	.178
	Kempen	-.014 ^{b,c}	.032	912	1.000	-.116	.087
	Kopenhagen	.027 ^{b,c}	.034	912	1.000	-.079	.133
	Toscane	-.001 ^{b,c}	.077	912.000	1.000	-.243	.240
	Zandstreek	-.056 ^{b,c}	.033	912.000	1.000	-.159	.047
Toscane	Ardennen	.060 ^{b,c}	.077	912.000	1.000	-.182	.302
	BDO	.015 ^{b,c}	.083	912.000	1.000	-.244	.274
	BDW	.042 ^{b,c}	.083	912.000	1.000	-.218	.303
	Kempen	-.013 ^{b,c}	.080	912.000	1.000	-.263	.237
	Kopenhagen	.028 ^{b,c}	.082	912.000	1.000	-.227	.284
	Picardië	.001 ^{b,c}	.077	912.000	1.000	-.240	.243
	Zandstreek	-.054 ^{b,c}	.079	912.000	1.000	-.302	.193
Zandstreek	Ardennen	.115 ^{b,c,*}	.032	912	.012	.013	.217
	BDO	.069 ^{b,c}	.033	912	1.000	-.036	.174
	BDW	.097 ^{b,c}	.043	912	.725	-.039	.233
	Kempen	.041 ^{b,c}	.032	912.000	1.000	-.058	.141
	Kopenhagen	.083 ^{b,c}	.033	912	.339	-.020	.186
	Picardië	.056 ^{b,c}	.033	912.000	1.000	-.047	.159
	Toscane	.054 ^{b,c}	.079	912.000	1.000	-.193	.302

Pairwise Comparisons^a

(I) Herkomst	(J) Herkomst	Mean Difference (I-J)	Std. Error	df	Sig. ^e	95% Confidence Interval for Difference ^e	
						Lower Bound	Upper Bound
Ardennen	BDO	-10.628 ^{*,c,d}	1.499	912	.000	-15.323	-5.933
	BDW	-8.329 ^{*,c,d}	1.898	912	.000	-14.277	-2.381
	Kempen	-9.432 ^{*,c,d}	1.421	912.000	.000	-13.885	-4.979
	Kopenhagen	-1.790 ^{c,d}	1.468	912.000	1.000	-6.389	2.809
	Picardië	-3.874 ^{c,d}	1.470	912.000	.239	-8.479	.731
	Toscane	-12.987 ^{*,c,d}	3.308	912.000	.003	-23.352	-2.622
	Zandstreek	-8.968 ^{*,c,d}	1.392	912	.000	-13.330	-4.607
BDO	Ardennen	10.628 ^{*,c,d}	1.499	912	.000	5.933	15.323
	BDW	2.299 ^{c,d}	1.919	912	1.000	-3.714	8.312
	Kempen	1.196 ^{c,d}	1.421	912	1.000	-3.256	5.648
	Kopenhagen	8.838 ^{*,c,d}	1.474	912	.000	4.221	13.455
	Picardië	6.754 ^{*,c,d}	1.481	912.000	.000	2.114	11.394
	Toscane	-2.359 ^{c,d}	3.539	912.000	1.000	-13.448	8.730
	Zandstreek	1.659 ^{c,d}	1.434	912	1.000	-2.833	6.152
BDW	Ardennen	8.329 ^{*,c,d}	1.898	912	.000	2.381	14.277
	BDO	-2.299 ^{c,d}	1.919	912	1.000	-8.312	3.714
	Kempen	-1.103 ^{c,d}	1.853	912	1.000	-6.908	4.701
	Kopenhagen	6.539 ^{*,c,d}	1.895	912	.016	.601	12.477
	Picardië	4.455 ^{c,d}	1.878	912	.501	-1.429	10.339
	Toscane	-4.658 ^{c,d}	3.560	912.000	1.000	-15.812	6.496
	Zandstreek	-.640 ^{c,d}	1.860	912.000	1.000	-6.467	5.188
Kempen	Ardennen	9.432 ^{*,c,d}	1.421	912.000	.000	4.979	13.885
	BDO	-1.196 ^{c,d}	1.421	912	1.000	-5.648	3.256
	BDW	1.103 ^{c,d}	1.853	912	1.000	-4.701	6.908
	Kopenhagen	7.642 ^{*,c,d}	1.396	912.000	.000	3.268	12.017
	Picardië	5.558 ^{*,c,d}	1.387	912.000	.002	1.213	9.904
	Toscane	-3.555 ^{c,d}	3.424	912.000	1.000	-14.281	7.171
	Zandstreek	.464 ^{c,d}	1.355	912.000	1.000	-3.782	4.709
Kopenhagen	Ardennen	1.790 ^{c,d}	1.468	912.000	1.000	-2.809	6.389
	BDO	-8.838 ^{*,c,d}	1.474	912	.000	-13.455	-4.221
	BDW	-6.539 ^{*,c,d}	1.895	912	.016	-12.477	-.601
	Kempen	-7.642 ^{*,c,d}	1.396	912.000	.000	-12.017	-3.268
	Picardië	-2.084 ^{c,d}	1.448	912	1.000	-6.621	2.453
	Toscane	-11.197 ^{*,c,d}	3.494	912.000	.039	-22.145	-.249
	Zandstreek	-7.179 ^{*,c,d}	1.410	912	.000	-11.596	-2.761
Picardië	Ardennen	3.874 ^{c,d}	1.470	912.000	.239	-.731	8.479
	BDO	-6.754 ^{*,c,d}	1.481	912.000	.000	-11.394	-2.114
	BDW	-4.455 ^{c,d}	1.878	912	.501	-10.339	1.429
	Kempen	-5.558 ^{*,c,d}	1.387	912.000	.002	-9.904	-1.213
	Kopenhagen	2.084 ^{c,d}	1.448	912	1.000	-2.453	6.621
	Toscane	-9.113 ^{c,d}	3.298	912.000	.164	-19.446	1.220
	Zandstreek	-5.095 ^{*,c,d}	1.405	912.000	.008	-9.495	-.694
Toscane	Ardennen	12.987 ^{*,c,d}	3.308	912.000	.003	2.622	23.352
	BDO	2.359 ^{c,d}	3.539	912.000	1.000	-8.730	13.448
	BDW	4.658 ^{c,d}	3.560	912.000	1.000	-6.496	15.812
	Kempen	3.555 ^{c,d}	3.424	912.000	1.000	-7.171	14.281
	Kopenhagen	11.197 ^{*,c,d}	3.494	912.000	.039	.249	22.145
	Picardië	9.113 ^{c,d}	3.298	912.000	.164	-1.220	19.446
	Zandstreek	4.019 ^{c,d}	3.380	912.000	1.000	-6.572	14.609
Zandstreek	Ardennen	8.968 ^{*,c,d}	1.392	912	.000	4.607	13.330
	BDO	-1.659 ^{c,d}	1.434	912	1.000	-6.152	2.833
	BDW	-.640 ^{c,d}	1.860	912.000	1.000	-5.188	6.467
	Kempen	-.464 ^{c,d}	1.355	912.000	1.000	-4.709	3.782
	Kopenhagen	7.179 ^{*,c,d}	1.410	912	.000	2.761	11.596
	Picardië	5.095 ^{*,c,d}	1.405	912.000	.008	.694	9.495
	Toscane	-4.019 ^{c,d}	3.380	912.000	1.000	-14.609	6.572

Pairwise Comparisons^a

(I) Herkomst	(J) Herkomst	Mean Difference (I-J)	Std. Error	df	Sig. ^e	95% Confidence Interval for Difference ^e	
						Lower Bound	Upper Bound
Ardennen	BDO	-10.895 ^{a,c,d}	3.458	901	.047	-21.729	-.061
	BDW	-18.887 ^{a,c,d}	4.385	901.000	.001	-32.624	-5.149
	Kempen	-11.649 ^{a,c,d}	3.287	901	.012	-21.947	-1.350
	Kopenhagen	-2.188 ^{c,d}	3.387	901.000	1.000	-12.800	8.424
	Picardië	-.661 ^{c,d}	3.430	901	1.000	-11.408	10.085
	Toscane	-4.680 ^{c,d}	7.671	901.000	1.000	-28.714	19.355
	Zandstreek	-9.833 ^{c,d}	3.212	901	.064	-19.896	.231
BDO	Ardennen	10.895 ^{a,c,d}	3.458	901	.047	.061	21.729
	BDW	-7.992 ^{c,d}	4.432	901	1.000	-21.878	5.894
	Kempen	-.754 ^{c,d}	3.284	901.000	1.000	-11.043	9.536
	Kopenhagen	8.707 ^{c,d}	3.400	901.000	.297	-1.945	19.359
	Picardië	10.234 ^{c,d}	3.454	901	.088	-.588	21.055
	Toscane	6.215 ^{c,d}	8.204	901.000	1.000	-19.490	31.920
	Zandstreek	1.062 ^{c,d}	3.309	901	1.000	-9.304	11.429
BDW	Ardennen	18.887 ^{a,c,d}	4.385	901.000	.001	5.149	32.624
	BDO	7.992 ^{c,d}	4.432	901	1.000	-5.894	21.878
	Kempen	7.238 ^{c,d}	4.283	901	1.000	-6.182	20.658
	Kopenhagen	16.699 ^{a,c,d}	4.376	901	.004	2.987	30.410
	Picardië	18.225 ^{a,c,d}	4.366	901	.001	4.547	31.903
	Toscane	14.207 ^{c,d}	8.251	901.000	1.000	-11.644	40.058
	Zandstreek	9.054 ^{c,d}	4.295	901.000	.988	-4.403	22.511
Kempen	Ardennen	11.649 ^{a,c,d}	3.287	901	.012	1.350	21.947
	BDO	.754 ^{c,d}	3.284	901.000	1.000	-9.536	11.043
	BDW	-7.238 ^{c,d}	4.283	901	1.000	-20.658	6.182
	Kopenhagen	9.460 ^{c,d}	3.227	901	.097	-.651	19.572
	Picardië	10.987 ^{a,c,d}	3.246	901	.021	.816	21.158
	Toscane	6.969 ^{c,d}	7.946	901.000	1.000	-17.926	31.863
	Zandstreek	1.816 ^{c,d}	3.134	901.000	1.000	-8.002	11.634
Kopenhagen	Ardennen	2.188 ^{c,d}	3.387	901.000	1.000	-8.424	12.800
	BDO	-8.707 ^{c,d}	3.400	901.000	.297	-19.359	1.945
	BDW	-16.699 ^{a,c,d}	4.376	901	.004	-30.410	-2.987
	Kempen	-9.460 ^{c,d}	3.227	901	.097	-19.572	.651
	Picardië	1.527 ^{c,d}	3.379	901.000	1.000	-9.061	12.115
	Toscane	-2.492 ^{c,d}	8.101	901.000	1.000	-27.873	22.890
	Zandstreek	-7.644 ^{c,d}	3.253	901.000	.532	-17.837	2.549
Picardië	Ardennen	.661 ^{c,d}	3.430	901	1.000	-10.085	11.408
	BDO	-10.234 ^{c,d}	3.454	901	.088	-21.055	.588
	BDW	-18.225 ^{a,c,d}	4.366	901	.001	-31.903	-4.547
	Kempen	-10.987 ^{a,c,d}	3.246	901	.021	-21.158	-.816
	Kopenhagen	-1.527 ^{c,d}	3.379	901.000	1.000	-12.115	9.061
	Toscane	-4.018 ^{c,d}	7.668	901.000	1.000	-28.042	20.005
	Zandstreek	-9.171 ^{c,d}	3.280	901	.148	-19.447	1.105
Toscane	Ardennen	4.680 ^{c,d}	7.671	901.000	1.000	-19.355	28.714
	BDO	-6.215 ^{c,d}	8.204	901.000	1.000	-31.920	19.490
	BDW	-14.207 ^{c,d}	8.251	901.000	1.000	-40.058	11.644
	Kempen	-6.969 ^{c,d}	7.946	901.000	1.000	-31.863	17.926
	Kopenhagen	2.492 ^{c,d}	8.101	901.000	1.000	-22.890	27.873
	Picardië	4.018 ^{c,d}	7.668	901.000	1.000	-20.005	28.042
	Zandstreek	-5.153 ^{c,d}	7.838	901	1.000	-29.708	19.403
Zandstreek	Ardennen	9.833 ^{c,d}	3.212	901	.064	-.231	19.896
	BDO	-1.062 ^{c,d}	3.309	901	1.000	-11.429	9.304
	BDW	-9.054 ^{c,d}	4.295	901.000	.988	-22.511	4.403
	Kempen	-1.816 ^{c,d}	3.134	901.000	1.000	-11.634	8.002
	Kopenhagen	7.644 ^{c,d}	3.253	901.000	.532	-2.549	17.837
	Picardië	9.171 ^{c,d}	3.280	901	.148	-1.105	19.447
	Toscane	5.153 ^{c,d}	7.838	901	1.000	-19.403	29.708

Pairwise Comparisons^a

(I) Herkomst	(J) Herkomst	Mean Difference (I-J)	Std. Error	df	Sig. ^e	95% Confidence Interval for Difference ^e	
						Lower Bound	Upper Bound
Ardennen	BDO	-12.160 ^{b,c}	4.136	901	.094	-25.119	.800
	BDW	-17.382 ^{b,c,*}	5.245	901.000	.027	-33.815	-.950
	Kempen	-11.794 ^{b,c}	3.932	901	.078	-24.113	.525
	Kopenhagen	-.053 ^{b,c}	4.052	901	1.000	-12.748	12.641
	Picardië	.299 ^{b,c}	4.103	901	1.000	-12.556	13.154
	Toscane	-8.338 ^{b,c}	9.176	901.000	1.000	-37.088	20.412
	Zandstreek	-10.914 ^{b,c}	3.842	901	.129	-22.952	1.124
BDO	Ardennen	12.160 ^{b,c}	4.136	901	.094	-.800	25.119
	BDW	-5.223 ^{b,c}	5.302	901	1.000	-21.833	11.388
	Kempen	.366 ^{b,c}	3.929	901	1.000	-11.943	12.674
	Kopenhagen	12.106 ^{b,c}	4.067	901.000	.084	-.636	24.848
	Picardië	12.459 ^{b,c}	4.132	901	.074	-.486	25.403
	Toscane	3.822 ^{b,c}	9.814	901.000	1.000	-26.927	34.570
	Zandstreek	1.246 ^{b,c}	3.958	901	1.000	-11.155	13.646
BDW	Ardennen	17.382 ^{b,c,*}	5.245	901.000	.027	.950	33.815
	BDO	5.223 ^{b,c}	5.302	901	1.000	-11.388	21.833
	Kempen	5.589 ^{b,c}	5.124	901	1.000	-10.465	21.642
	Kopenhagen	17.329 ^{b,c,*}	5.235	901	.027	.928	33.731
	Picardië	17.681 ^{b,c,*}	5.222	901	.021	1.319	34.043
	Toscane	9.044 ^{b,c}	9.870	901.000	1.000	-21.879	39.967
	Zandstreek	6.468 ^{b,c}	5.138	901.000	1.000	-9.629	22.566
Kempen	Ardennen	11.794 ^{b,c}	3.932	901	.078	-.525	24.113
	BDO	-.366 ^{b,c}	3.929	901	1.000	-12.674	11.943
	BDW	-5.589 ^{b,c}	5.124	901	1.000	-21.642	10.465
	Kopenhagen	11.741 ^{b,c}	3.861	901	.068	-.355	23.836
	Picardië	12.093 ^{b,c}	3.883	901	.053	-.074	24.260
	Toscane	3.456 ^{b,c}	9.505	901.000	1.000	-26.323	33.235
	Zandstreek	.880 ^{b,c}	3.748	901.000	1.000	-10.864	12.624
Kopenhagen	Ardennen	.053 ^{b,c}	4.052	901	1.000	-12.641	12.748
	BDO	-12.106 ^{b,c}	4.067	901.000	.084	-24.848	.636
	BDW	-17.329 ^{b,c,*}	5.235	901	.027	-33.731	-.928
	Kempen	-11.741 ^{b,c}	3.861	901	.068	-23.836	.355
	Picardië	.352 ^{b,c}	4.042	901.000	1.000	-12.313	13.018
	Toscane	-8.285 ^{b,c}	9.691	901.000	1.000	-38.646	22.077
	Zandstreek	-10.861 ^{b,c}	3.892	901	.150	-23.054	1.332
Picardië	Ardennen	-.299 ^{b,c}	4.103	901	1.000	-13.154	12.556
	BDO	-12.459 ^{b,c}	4.132	901	.074	-25.403	.486
	BDW	-17.681 ^{b,c,*}	5.222	901	.021	-34.043	-1.319
	Kempen	-12.093 ^{b,c}	3.883	901	.053	-24.260	.074
	Kopenhagen	-.352 ^{b,c}	4.042	901.000	1.000	-13.018	12.313
	Toscane	-8.637 ^{b,c}	9.172	901.000	1.000	-37.374	20.100
	Zandstreek	-11.213 ^{b,c}	3.923	901	.122	-23.506	1.080
Toscane	Ardennen	8.338 ^{b,c}	9.176	901.000	1.000	-20.412	37.088
	BDO	-3.822 ^{b,c}	9.814	901.000	1.000	-34.570	26.927
	BDW	-9.044 ^{b,c}	9.870	901.000	1.000	-39.967	21.879
	Kempen	-3.456 ^{b,c}	9.505	901.000	1.000	-33.235	26.323
	Kopenhagen	8.285 ^{b,c}	9.691	901.000	1.000	-22.077	38.646
	Picardië	8.637 ^{b,c}	9.172	901.000	1.000	-20.100	37.374
	Zandstreek	-2.576 ^{b,c}	9.375	901.000	1.000	-31.950	26.798
Zandstreek	Ardennen	10.914 ^{b,c}	3.842	901	.129	-1.124	22.952
	BDO	-1.246 ^{b,c}	3.958	901	1.000	-13.646	11.155
	BDW	-6.468 ^{b,c}	5.138	901.000	1.000	-22.566	9.629
	Kempen	-.880 ^{b,c}	3.748	901.000	1.000	-12.624	10.864
	Kopenhagen	10.861 ^{b,c}	3.892	901	.150	-1.332	23.054
	Picardië	11.213 ^{b,c}	3.923	901	.122	-1.080	23.506
	Toscane	2.576 ^{b,c}	9.375	901.000	1.000	-26.798	31.950

Bijlage 2: Paarsgewijze F_{ST} waarden voor sporkehout. Gekleurd: $F_{ST} > 0.20$.

	BDP	Regniëssart	Thiérarche	Holsbeek	Kortenaken	Tongeren	Herent	Katelijne	Zemst	Beringen	Heist	Zoersel
BDP	0											
Regniëssart	0.03993	0										
Thiérarche	0.01852	0.03334	0									
Holsbeek	0.06951	0.07857	0.05397	0								
Kortenaken	0.05494	0.05694	0.03769	0.0274	0							
Tongeren	0.0735	0.08151	0.05986	0.03825	0.0251	0						
Herent	0.21019	0.2134	0.18849	0.21914	0.19179	0.19756	0					
Katelijne	0.19959	0.19749	0.17408	0.21174	0.18558	0.20459	0.07233	0				
Zemst	0.18269	0.19611	0.16275	0.20763	0.18228	0.19221	0.10251	0.118	0			
Beringen	0.23567	0.24284	0.22776	0.26552	0.24017	0.26257	0.25414	0.25272	0.26805	0		
HB	0.21437	0.22606	0.20889	0.24575	0.22378	0.24593	0.25759	0.25402	0.24477	0.18489	0	
Zoersel	0.2117	0.23341	0.19989	0.24983	0.24378	0.25757	0.24155	0.23992	0.24432	0.18997	0.1637	0
Boves	0.3083	0.31612	0.30663	0.32917	0.31852	0.33999	0.34953	0.34208	0.34541	0.26659	0.12774	0.26698
Hannapes	0.0547	0.07017	0.04444	0.0657	0.05539	0.0663	0.21995	0.21423	0.2028	0.26089	0.24817	0.2562
SM	0.03732	0.05629	0.03818	0.06488	0.0375	0.05139	0.19465	0.19193	0.18156	0.23681	0.22596	0.24775
Aborrtjärn	0.07161	0.08464	0.08314	0.12624	0.09202	0.11632	0.21475	0.21666	0.20132	0.2597	0.24973	0.28076
Ottsjön	0.05704	0.06973	0.0415	0.08418	0.06171	0.07874	0.18906	0.18865	0.17553	0.24552	0.23439	0.23586
Storasmýran	0.08614	0.11481	0.07405	0.10601	0.07623	0.09564	0.20184	0.21	0.18917	0.27059	0.26095	0.27042
Casina rossa	0.06943	0.09264	0.0635	0.10913	0.07699	0.10062	0.18808	0.18994	0.16044	0.23161	0.21805	0.23253
Famelunga	0.08342	0.08898	0.0634	0.0484	0.0185	0.05146	0.19465	0.19552	0.17522	0.24468	0.21657	0.25071
Fosso	0.06756	0.07716	0.04814	0.04281	0.0206	0.05127	0.20838	0.20225	0.19766	0.24773	0.23874	0.23619
Luriano	0.13495	0.14807	0.1033	0.08729	0.06782	0.09486	0.21774	0.22665	0.21443	0.26582	0.252	0.27831
De Pinte	0.06685	0.07776	0.05402	0.03087	0.01264	0.04187	0.19407	0.1937	0.18666	0.23032	0.2261	0.24069
Evergem	0.10068	0.11108	0.08059	0.05341	0.03251	0.05396	0.1812	0.18965	0.17807	0.24142	0.23303	0.25418
Moerbeke	0.12395	0.15497	0.11737	0.08326	0.08256	0.09556	0.22515	0.22602	0.21153	0.28643	0.24062	0.29

	Boves	Hannapes	Michel	Abor	Ottsjön	Stor	Casina	Famelunga	Fosso	Luriano	De Pinte	Evergem	Moerbeke
BDP													
Regnièssart													
Thiérarche													
Holsbeek													
Kortenaken													
Tongeren													
Herent													
SKW													
Zemst													
Beringen													
Heist													
Zoersel													
Boves	0												
Hannapes	0.33214	0											
Michel	0.3567	0.01293	0										
Abor	0.3692	0.08454	0.03283	0									
Ottsjön	0.32438	0.04756	0.01686	0.06097	0								
Stor	0.36322	0.08209	0.04693	0.09474	0.03621	0							
CR	0.304	0.07071	0.0276	0.04967	0.04024	0.04372	0						
Famelunga	0.29759	0.07482	0.05037	0.11218	0.08179	0.09209	0.08637	0					
Fosso	0.31977	0.06507	0.04566	0.10524	0.06504	0.07156	0.09544	0.04289	0				
Luriano	0.33291	0.11714	0.09016	0.15361	0.12102	0.11846	0.12286	0.05607	0.07686	0			
De Pinte	0.30831	0.06297	0.0423	0.10202	0.07177	0.08707	0.08678	0.02244	0.03572	0.05076	0		
Evergem	0.32059	0.08155	0.04514	0.12316	0.08049	0.09762	0.0914	0.03669	0.05362	0.03507	0.01861	0	
Moerbeke	0.33391	0.11211	0.08773	0.15745	0.11829	0.12914	0.1231	0.07172	0.10066	0.08053	0.0642	0.05855	0

Bijlage 3: Paarsgewijze F_{ST} waarden voor zwarte els. Gekleurd: $F_{ST} > 0.01$.

	Andignie	Beringen	Bertem	Borrevejele	Boves	Casina	De Pinte	Evergem	Famelunga	Gundsømagle	Heist	Holsbeek	Kortenaken	Lyngby
Andignie	0													
Beringen	0.00394	0												
Bertem	-0.01785	-0.0029	0											
Borrevejele	0.0048	0.00605	-0.00116	0										
Boves	0.00352	0.00718	-0.00411	0.00551	0									
Casina	0.02381	0.02507	0.02268	0.03103	0.0281	0								
De Pinte	0.00205	0.0039	-0.00791	0.00329	0.00358	0.02638	0							
Evergem	0.00396	0.00031	-0.01812	0.00443	0.00444	0.02913	0.00104	0						
Famelunga	0.01934	0.02355	0.02178	0.02554	0.02592	0.00463	0.02635	0.02365	0					
Gundsømagle	0.00562	0.00922	-0.00223	0.0076	0.00912	0.02764	0.00377	0.00712	0.02415	0				
Heist	0.0101	0.00729	0.00323	0.00778	0.01041	0.03495	0.00598	0.00735	0.02717	0.01437	0			
Holsbeek	0.00143	0.00203	-0.00516	-0.0018	0.00419	0.02603	-0.00154	0.00271	0.02256	0.00308	0.00662	0		
Kortenaken	-0.00054	0.00073	-0.01715	-0.00341	0.0016	0.02274	-0.00187	0.00037	0.01986	0.00506	0.00395	-0.00236	0	
Lyngby	0.00643	0.0061	-0.00094	0.00407	0.00922	0.02651	0.00532	0.00294	0.02415	0.00893	0.00777	0.00401	0.00263	0
Moerbeke	0.00192	0.00033	0.0006	0.00321	0.00282	0.02583	0.00131	-0.00301	0.01906	0.00679	0.00521	-0.00106	-0.00214	0.00442
Nieuwerkerken	0.00781	0.00595	-0.00827	0.00935	0.00879	0.02716	0.00574	0.00778	0.02537	0.00988	0.01298	0.00566	0.0021	0.01052
Michel	0.00371	0.00617	-0.00671	0.00733	0.00506	0.02458	0.00527	0.0043	0.02068	0.00695	0.0133	0.00589	0.00355	0.00362
Katelijne	0.00408	0.00231	-0.0287	-0.00178	0.00301	0.02538	0.00329	0.00133	0.01732	0.00084	0.00624	-0.00195	-0.00589	0.00382
Spa	0.0075	0.00805	0.02822	0.00712	0.00797	0.03326	0.00692	0.00843	0.02891	0.01309	0.01374	0.00647	0.00525	0.00772
Sprimont	0.00124	0.00148	-0.00956	0.00274	0.00416	0.02358	0.00516	0.00246	0.0195	0.00537	0.00644	0.00308	-0.00209	0.00412
Stavelot	0.00652	0.00498	0.00517	0.00811	0.00692	0.03056	0.00536	0.00551	0.02572	0.0091	0.01254	0.00475	0.00465	0.00902
Tocchi	0.03163	0.0329	0.03753	0.03553	0.03449	0.01984	0.0344	0.03742	0.01279	0.03556	0.03388	0.0337	0.03359	0.03382
Zemst	0.0057	0.00299	-0.00783	0.00221	0.00724	0.02498	0.00138	0.00364	0.02491	0.00495	0.00776	0.0013	0.00119	0.00695
Zoersel	0.00473	0.00397	-0.0097	0.00107	0.00362	0.02682	0.00238	0.00033	0.02395	0.00661	0.00766	-0.00008	-0.00173	0.00452

	Moerbeke	Nieuwerkerken	Michel	Katelijne	Spa	Sprimont	Stavelot	Tocchi	Zemst	Zoersel
Andignie										
Beringen										
Bertem										
Borrevejle										
Boves										
Casina										
De Pinte										
Evergem										
Famelunga										
Gundsømagle										
Heist										
Holsbeek										
Kortenaken										
Lyngby										
Moerbeke	0									
Nieuwerkerken	0.0081	0								
Michel	0.01036	0.00986	0							
Katelijne	0.00206	0.00783	0.00385	0						
Spa	0.01243	0.01151	0.0098	0.00715	0					
Sprimont	0.00365	0.00436	0.00385	0.00211	0.00649	0				
Stavelot	0.0067	0.01215	0.00605	0.0035	0.00862	0.00628	0			
Tocchi	0.03933	0.03627	0.03198	0.03229	0.03771	0.0344	0.03447	0		
Zemst	0.00262	0.00596	0.00842	0.00209	0.01022	0.00591	0.00966	0.03388	0	
Zoersel	-0.00142	0.00626	0.00478	-0.00035	0.00366	-0.00052	0.00688	0.03327	0.00274	0

Bijlage 4: Aantal paarsgewijze outliers binnen en tussen herkomstgebieden/regio's. A=Ardennen, C=Kempen, EB=Brabants District Oost, WB=Brabants District West, S=Zandstreek, I=Italië, D=Denemarken, Z=Zweden.

	Zwarte els		Sporkehout	
	Average	StDev	Average	StDev
A	2.67	1.15	1.00	1.00
A-C	1.78	1.20	0.67	1.00
A-EB	2.22	1.86	0.11	0.33
A-WB	2.00	1.94	0.22	0.44
A-S	1.78	1.09	0.89	0.60
A-I	4.00	1.41	2.00	0.74
A-D/Z	2.00	1.79	1.22	0.83
C	1.67	0.58	1.33	0.58
C-A	1.78	1.20	0.67	1.00
C-EB	1.89	1.54	0.22	0.44
C-WB	0.56	0.73	1.00	1.12
C-S	1.33	1.00	1.11	1.05
C-I	4.78	1.39	1.00	0.85
C-D/Z	1.43	0.98	1.33	0.87
WB	0.33	0.58	0.00	0.00
WB-A	2.00	1.94	0.22	0.44
WB-C	0.56	0.73	1.00	1.12
WB-EB	1.00	1.00	0.11	0.33
WB-S	0.44	0.53	0.89	0.78
WB-I	2.78	2.39	1.92	0.79
WB-D/Z	0.57	0.79	1.78	0.97
EB	1.67	1.53	0.00	0.00
EB-A	2.22	1.86	0.11	0.33
EB-C	1.89	1.54	0.22	0.44
EB-S	1.22	1.99	0.00	0.00
EB-WB	1.00	1.00	0.11	0.33
EB-I	5.22	3.11	1.08	1.00
EB-D/Z	1.67	1.51	0.56	0.53
S	1.00	1.00	0.33	0.58
S-A	1.78	1.09	0.89	0.60
S-C	1.33	1.00	1.11	1.05
S-EB	1.22	1.99	0.00	0.00
S-WB	0.44	0.53	0.89	0.78
S-I	3.33	1.21	1.42	0.79
S-D/Z	1.33	1.03	1.00	0.87