

# Estudi de comunitats de cladòcers com a paleoindicador al llac Enol



Facultat de Biologia

Autor: Rubén Gómez Bahamonde  
Departament d'ecologia  
Tutor: Narcís Prat / Miquel Alonso  
Grau de ciències ambientals

Aquest estudi va ser suggerit per la Dr. María Rieradevall. Malauradament la Dr. Rieradevall va morir a l'octubre de 2015 i no ha pogut veure el final d'aquest treball que el Dr. Narcís Prat va acceptar dirigir. Aquest treball el dedico a la memòria de la Dr. Rieradevall

## Abstract

The objective of this study is to make a first approach to cladoceran assemblages in the high mountain lake Enol (Astúries). We kick-sampled the littoral communities to identify their taxa and analysed a sediment core extracted from within the lake. The fossil cladoceran assemblages were then identified to investigate their possible value as paleolimnological indicators. We found that 3 of the cladocera species identified in the littoral were well preserved in the sediments: *Chydorus sphaericus*, *Alona affinis* and *Bosmina longirostris*. Being the first two mainly littoral and the latter exclusively planktonic, we developed a planktonic/littoral ratio to understand the relative abundance in different stages of the sediment. Previous research shows that this ratio could be understood as changes in water level in the past history of the lake. During the literature research we also discovered that 2 different morphological phenotypes exist within the *Bosmina longirostris* species: *cornuta* and *pellucida*. The *pellucida* type is shown to avoid copepod predation better than the *cornuta* morph. Also, *pellucida* communities are more stable at lower temperatures. Thus, morphological analyses of the *Bosmina* remains could provide useful information about predator-prey dynamics over the course of lake Enol's history.

## 1.Introducció

Els sediments lacustres es dipositen en ordre cronològic. Contenen una varietat de restes orgàniques i inorgàniques, l'anàlisi de les quals pot ser utilitzat per reconstruir la història dels llacs. És possible extreure informació d'una multitud de restes que es poden conservar en el sediment, en les que s'inclouen grans de pol·len, frústuls diatomees, restes de quironòmids i de cladòcers. Això resulta particularment significatiu en àrees d'estudi com la biologia o la ecologia, on processos que es desenvolupen durant períodes llargs, com processos evolutius o successions de comunitats, no poden ser analitzats per observació directa.

Com a grup, els cladòcers han estat capaços de colonitzar pràcticament tots els ambients aquàtics continentals. Apareixen tant en aigües temporals com permanents, d'escàs o gran volum, estancades, corrents i freàtiques, dolces i salades (Alonso, 1996). Els cladòcers són per tant un component dominant del zooplàncton de les aigües lacustres, on són presents tant en el litoral com en la zona pelàgica. La identificació les diferents restes de cladòcers que podem trobar en el sediment a nivell d'espècie resulta complicada. Les closques són els fragments esquelètics més freqüents, no obstant, es recomana l'anàlisi dels escuts cefàlics, ja que en ells es poden observar certs caràcters que permeten diferenciar espècies dins d'un mateix gènere amb seguretat. Malgrat aquest fet encara existeixen dificultats en la diferenciació de certes restes d'alguns quidòrids, especialment en el gènere *Alona*.

L'estudi dels cladòcers es va iniciar a finals del segle XVIII a Dinamarca, expandint-se ràpidament pels països del nord d'Europa. Els primers registres de cladòcers en restes de sediment daten de finals del segle XIX. Però no va ser fins a finals dels anys 50, amb les publicacions de David Frey, qui va sistematitzar el anàlisi, que l'estudi de cladòcers va guanyar més pes en la paleolimnologia (Korhola et al., 2001).

## 2.Objectius

L'objectiu d'aquest estudi és fer una primera aproximació sobre les comunitats de cladòcers del llac Enol (Astúries) i la seva representació en el registre sedimentari del llac. D'aquesta manera, juntament amb recerca bibliogràfica, determinar si d'aquestes restes es poden interpretar canvis en les condicions ecològiques del passat per decidir si els cladòcers tenen o no valor com a indicador paleoecològic al llac Enol.

### 3. Material i mètodes

#### Zona d'estudi

El llac Enol és un llac càrstic situat a uns 1070 metres d'altitud al massís occidental del parc nacional dels Picos de Europa ( $43^{\circ} 16' N$ ,  $4^{\circ} 59' W$ ). Té una superfície de 12,2 ha, una profunditat màxima de 22 m i la seva conca ocupa una superfície d'1,5 km<sup>2</sup>. El seu origen es situa fa 38.000 anys, a causa del retrocés de les glaceres del Pico d'Europa, encara que processos càrstics previs podrien estar implicats en la formació de la conca

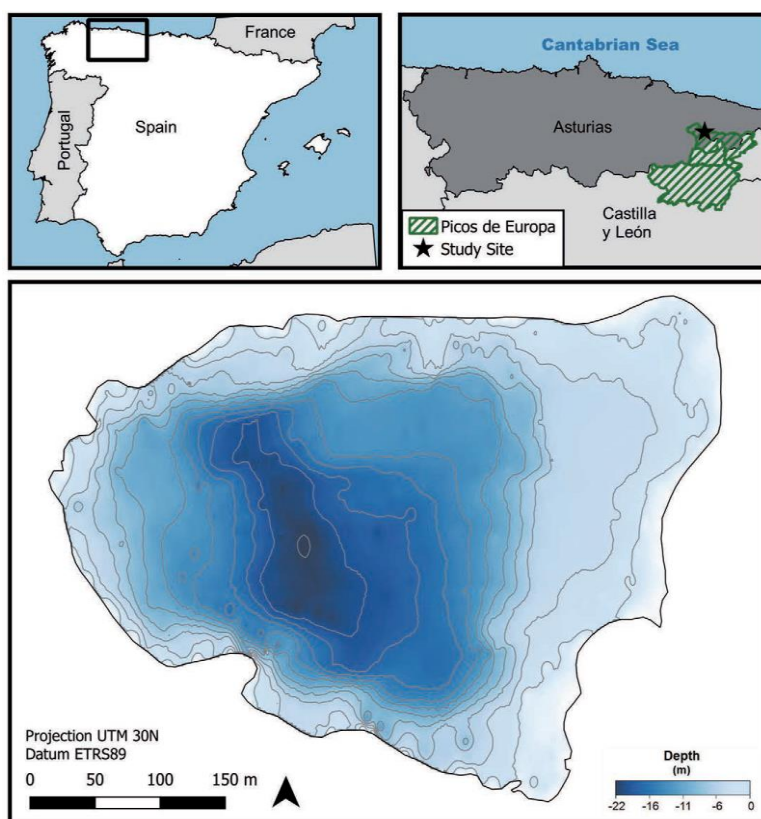


Figura 1. Localització del llac Enol, Parc nacional dels picos de Europa (Astúries) (Tarrats et al. 2016).

(Moreno *et al.*, 2011). El llac rep aigua per escorrentia i pel mantell freàtic, sense entrades permanents. Les pèrdues d'aigua es deuen per evaporació, descarregues d'aigua subterrània i una sortida d'aigua superficial situada al nord-est (Tarrats *et al.*, 2017). Dades recollides en estudis anteriors (Tarrats *et al.*, 2017; Moreno *et al.*, 2011) han permès caracteritzar Enol com un llac oligotròfic (fòsfor total  $8 \mu\text{g L}^{-1}$ , Chl<sub>a</sub>  $0,5 - 1 \mu\text{g L}^{-1}$ ), amb aigües de duresa moderada (alcalinitat  $24 \text{ meq L}^{-1}$ ;  $24 - 37 \text{ mg Ca L}^{-1}$ ) riques en carbonat i calci, una conductivitat entre  $227 \mu\text{S cm}^{-1}$  a la superfície i  $150 \mu\text{S cm}^{-1}$  al fons. És un llac monomíctic (amb una termoclina situada entre els 8 i els 12 metres entre Juliol i Novembre). La temperatura es manté relativament constant ( $7^{\circ} - 9^{\circ}$ ) durant l'època de barreja (Ortiz *et al.*, 2016). El clima de la zona d'estudi es oceànic de muntanya, amb precipitacions anuals altes (2250 mm) i una temperatura mitjana anual

de 13<sup>o</sup>. Es troba pràcticament cobert de caracies (*Chara sp*) entre els 2 i els 8 m de profunditat, amb presència de *Potamogeton natans* entre 1 i 3 m (Tarrats *et al.* 2017).

### Mostreig i anàlisi

Al Juliol del 2014 es va realitzar una campanya per mostrejar el llac Enol en la que es van realitzar el mostreig de la fauna de diferents punts del litoral i l'extracció de columnes de sediment.

La recollida de mostres del litoral es va fer en 10 punts del litoral amb l'objectiu de conèixer les comunitats de microcrustacis actuals. Aquesta tasca es va realitzar amb una xarxa de 250 µm en una superfície de mostreig d'1m<sup>2</sup>, agitant el sediment amb els peus i la vegetació de les zones de mostreig. Seguidament les mostres van ser introduïdes en pots i conservades en una solució de formaldehid al 4%. Un cop al laboratori les mostres es van rentar, substituint l'aigua amb formol per alcohol 70%. Les mostres recollides als punts 1, 3 i 7 d'aquesta campanya han estat les utilitzades per l'estudi i caracterització de les comunitats actuals de cladòcers. Degut a la transparència dels cladòcers, per l'anàlisi d'aquestes mostres ha estat necessària una lupa binocular amb il·luminació diascòpica. Per poder dur a terme el reconeixement d'espècies s'ha utilitzat la monografia Fauna Ibèrica: Crustacea, Branchiopoda de Miguel Alonso (1996), expert en branquiòpodes i col·laborador del departament d'ecologia, inventaris anteriors de microcrustacis del llac Eno.

L'extracció de columnes de sediment (cores) es va fer en un eix longitudinal i un transversal del llac amb l'ajuda d'un sondejador per gravetat i una embarcació de motor elèctric. En aquest treball hem analitzat un d'aquests cores, anomenat ENO 14-2-1B-1G (85 cm). El core es va dividir en 84 estrats (varves) d'un centímetre, que seguidament van ser dipositats en bosses de plàstic hermètiques per evitar la dessecació.

Al laboratori cada mostra ha estat introduïda en un vas de precipitats i tractada amb una petita quantitat d'àcid clorhídric (HCl) al 10%. Després d'un bon rentat amb aigua destil·lada s'hi va afegir una solució d'hidròxid de potassi (KOH) al 10% fins arribar a un volum de 150 ml. Seguidament es va escalfar a 70<sup>o</sup> durant 25 minuts mentre era homogeneïtzada amb un agitador magnètic. Es van filtrar les fraccions de 100 µm i 50 µm del sediment de cada varva i es van col·locar en vials de 14 ml, enrasant cadascun a 10ml amb aigua destil·lada, on s'hi van afegir 6 gotes de safranina i 6 de glicerina. Cada vial es va agitar suaument i es va deixar reposar unes hores per fer efectiva la tinció. Per examinar les restes dels cladòcers els muntatges es van realitzar de la

següent manera: un gota de glicerina es va col·locar en cada portaobjectes (76 x 26 mm). Cada vial es va agitar i es van extreure 75 µl amb una pipeta automàtica, que seguidament van ser transferits sobre el portaobjectes sobre el qual es van col·locar cobreobjectes de 24 x 40 mm. Aquesta metodologia està basada en un protocol previ (Nowak *et al.*, 2007). Es van analitzar un total de 300 µl de sediment de cada mostra. Es van arribar a comptar com a mínim de 100 restes identificables en cadascuna, a excepció de les mostres 18 i 46 cm, on es van identificar 92 i 84 restes respectivament, i les 22, 26, 30, 34, 38 i 42 on la presència de restes era molt escassa o nul·la.

### Tractament de dades

Les abundàncies absolutes i relatives de cladòcers obtingudes amb l'anàlisi del core ENO 14-2-1B-1G han estat representades en forma d'estratigrama (Fig.3), generat amb el software C2 (v. 1.7.7).

La zonació de les diferents bandes s'ha obtingut amb el software estadístic PAST(v. 3.16) mitjançant un anàlisi clúster, utilitzant l'algoritme UPGMA(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) amb un índex de similaritat per distàncies de Bray-Curtis, obtenint un dendrograma amb un coeficient de correlació de 0,73 (Fig.2).

## 4.Resultats

Un total de 818 cladòcers de 7 espècies diferents, corresponents a 3 famílies van ser identificats a les mostres del litorals del llac. La més diversa i abundant va ser la família Chydoridae, representada amb 4 espècies, les més abundants de les quals són *Alona affinis*, *Chydorus sphaericus* i *Disparalona leei* (Taula1).

Família	Espècie	Nº d'individus
Chydoridae	<i>Alona affinis</i>	335
	<i>Alona guttata</i>	7
	<i>Chydorus sphaericus</i>	192
	<i>Disparalona leei</i>	218
Daphniidae	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	34
	<i>Daphnia longispina</i>	8
Bosminidae	<i>Bosmina longirostris</i>	24

Taula 1.Taxonomia dels cladòcers del llac Enol mostrejats del litoral.

A l'anàlisi dels sediments del core ENO 14-2-1B-1G s'han trobat restes identificables de *Chydorus sphaericus* i *Bosmina longirostris* en forma de closques i d'escuts cefàlics.

Tanmateix, closques relatives al gènere *Alona* sp., difícilment identificables a nivell d'espècie, apareixen de forma abundant i freqüent. Malgrat la forta presència de *Disparalona leei* en les mostres de litoral, no n'hem trobat cap rastre en el registre sedimentari. Les abundàncies totals i les freqüències relatives de cadascuna de les espècies trobades es poden veure a la Fig. 3.

Segons l'anàlisi clúster per distàncies de Bray-Curtis i prenent com a referència un índex de similitudat de 0.6, hem diferenciat fins a 5 zones diferents dins del core (Fig.2):

Zona 1 (83 – 67 cm): Caracteritzada per un alt percentatge de *Bosmina longirostris*.

Zona 2 (67 – 43 cm): Forta presència de *Chydorus sphaericus* i *Alona affinis*.

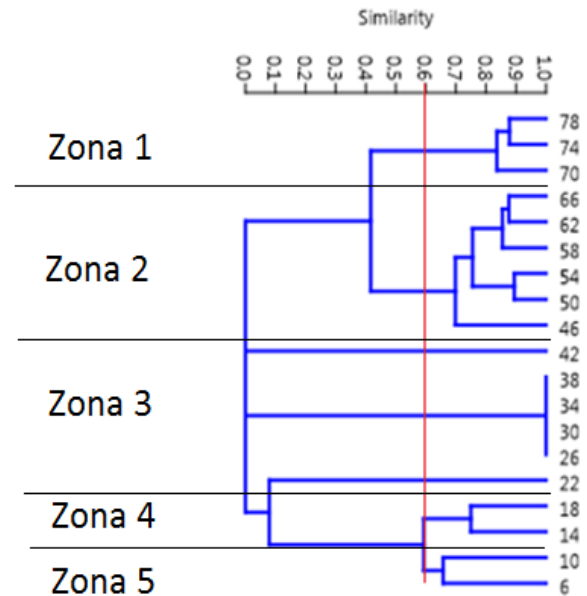


Figura 2. Dendrograma clúster per distàncies de Bray-Curtis generat a partir de les d'abundàncies absolutes de *B. longirostris*, *A. affinis* i *C. sphaericus*. Coeficient de correlació 0,73.

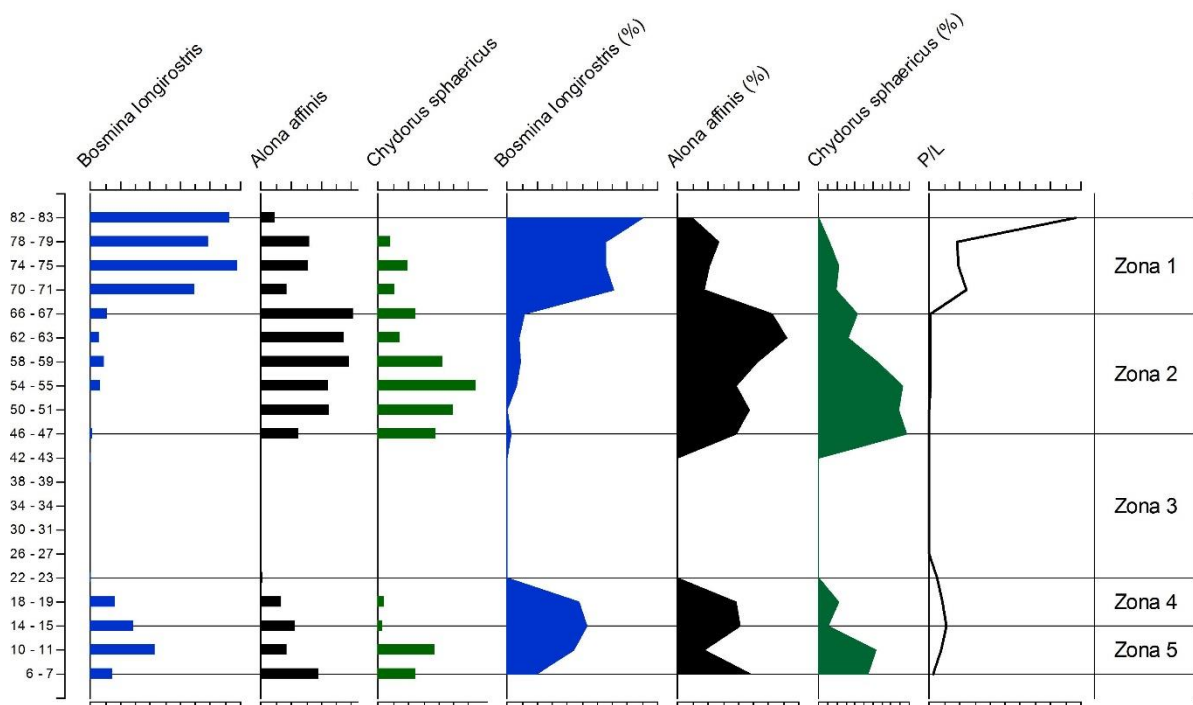


Figura 3. Estratigrama obtingut amb software C2. Abundància absoluta representada amb barres, seguida per abundàncies relatives (%) i la relació de cladòcers planctònics (*B. longirostris*)/ litorals (*A. affinis*, *C. sphaericus*)

Zona 3 (43 – 23 cm): Absència de qualsevol tipus de cladòcer.

Zona 4 (23 – 15 cm): Presència d'*Alona affinis* i *Bosmina longirostris* amb poca representació de *Chydorus sphaericus*.

Zona 5 (15 – 6 cm): Presència d'*Alona affinis*, *Bosmina longirostris* i *Chydorus sphaericus*.

## 5. Discussió

### Les espècies de microcrustacis i el seu habitat

Els resultats que es mostren a l'estratigrama obtingut mitjançant l'anàlisi de les restes de cladòcers del core ENO 14-2-1B-1G (Figura 3), juntament amb els inventaris obtinguts de les mostres del litoral (Taula 1), ens permeten plantejar qüestions sobre com es troben distribuïdes les comunitats dins del llac, i si els canvis en aquestes distribucions es poden interpretar en el registre sedimentari.

A les dades obtingudes dels mostrejors del litoral del llac (Taula 1) s'observa com les comunitats de cladòcers encaixen amb distribucions documentades anteriorment a la península ibèrica (Alonso, 1998). Els cladòcers apareixen tant en la zona pelàgica, on sobre tot dominen les famílies *Daphniidae* i *Bosminidae*, així com en zones litorals someres, on diversos membres de la família Chydoridae son més abundants (Korhola *et al.* 2001). Aquesta podria ser la raó per la qual trobem més abundància de restes de

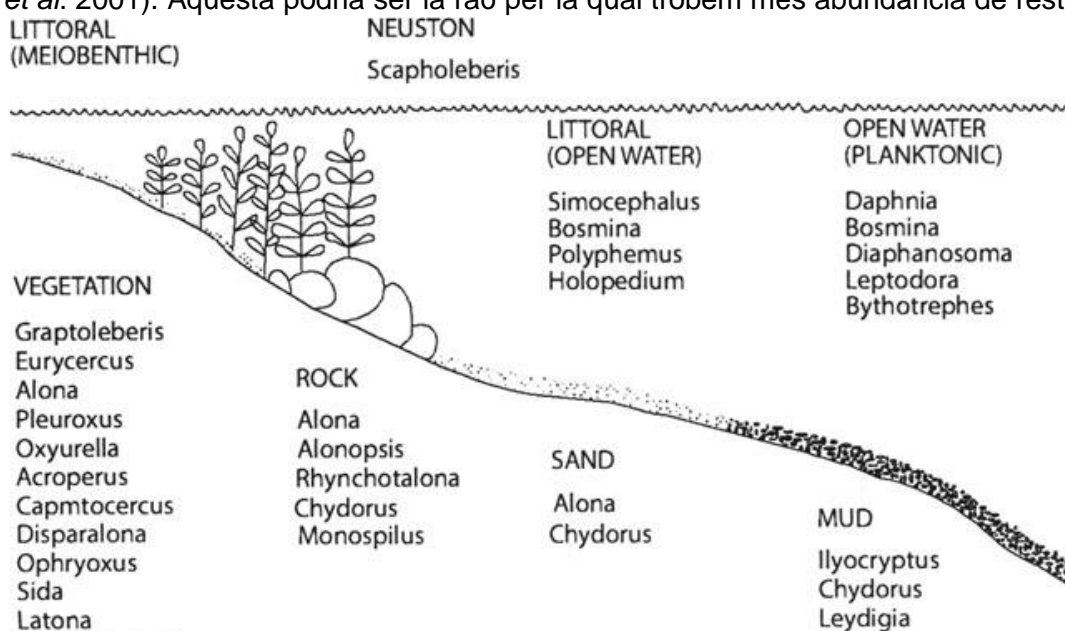


Figura 4. Nínxols ecològics majoritaris dels cladòcers en diferents microhabitats (Korhola *et al.*, 2001)



*Bosmina longirostris* en el registre sedimentari que no pas en les mostres de litoral actuals.

### Canvis en el nivell del llac

Un cop entesa la distribució de les diferents espècies en els habitats litoral i pelàgic, podríem considerar si els conjunts de quidòrids i bosminids poden aportar informació sobre alguns factors que poden canviar la presència i/o abundància relativa de les espècies. Canvis en els elements pelàgics, litorals i bentònics no proporcionen habitualment una informació rellevant per inferir de forma precisa els nivells del llac en el passat. No obstant, canvis en el nivell poden canviar les dimensions relatives dels hàbitats, i conseqüentment modificar la proporció de cada comunitat en relació a tota la fauna del llac. Per exemple, l'augment del nivell d'un llac podria resultar en un increment del volum de la zona pelàgica i en l'abundància d'organismes planctònics en relació als hàbitats litorals i bentònics (Hofmann, 1998) si el llac es profund i de parets verticals.

La relació de cladòcers planctònics/litorals ha estat utilitzada anteriorment per interpretar canvis en el volum de la zona pelàgica en relació a la zona litoral (Korhola *et al.*, 2001). D'aquesta manera, la proporció de les restes del sediment pot ser útil per indicar canvis entre àrees d'aigües someres i més profundes. Si l'àrea del litoral augmentés de forma important amb el volum de la columna d'aigua, un augment del nivell del llac s'hauria de correspondre amb un increment en els cladòcers del litoral que reflectís una expansió d'aquest tipus d'hàbitat (índex P/L).

Per tant, la successió de les comunitats de cladòcers de les seqüències de sediment del core ENO 14-2-1B-1G es podria interpretar com una dinàmica de regressió del llac després de la zona 4. Una expansió de l'hàbitat litoral posterior, corresponent a la zona 2, amb la conseqüent recolonització per part de quidòrids com *Alona affinis* i *Chydorus sphaericus*, seguit per un augment del nivell del llac a la zona 1, que explicaria la forta presència de *Bosmina longirostris*. L'absència de cladòcers a la zona 3 es podria deure a increments en la sedimentació o la tervolesa de l'aigua durant aquest període.

Alguns autors han argumentat contra l'ús d'una proporció tan simple com la de P/L per reconstruir canvis en el nivell d'algun llacs en funció de la seva batimetria (Hofmann, 1998). Per exemple, canvis dins de les comunitats planctòniques entre taxons que es conserven fàcilment, com *Bosmina*, envers taxons que no es conserven als sediments, com *Daphnia*, podrien afectar la proporció relativa de P/L al registre fòssil (Korhola *et al.*, 2001). A més, el gènere *Bosmina* és un element important tant per la

dieta de peixos plànctivors i altres invertebrats com copepodes del gènere *Acanthocyclops* (Kappes *et al.*, 2002; Sakamoto *et al.*, 2007). Canvis en la xarxa tròfica podrien influir en la relació de clàdocers P/L del registre. Per tant, cal ser prudents a l'hora d'interpretar canvis en la relació P/L només en termes de nivell del llac, ja que factors biòtics i abiòtics addicionals poden afectar a la capacitat d'espècies tant litorals com plànctoniques de desenvolupar-se.

### Morfotips de *Bosmina longirostris*

Tot i que a la figura 3 no ho hem diferenciat, *Bosmina longirostris* comprèn 2 fenotips morfològics diferents, *pellucida* i *cornuta* (Fig.5). El morfotip extrem *cornuta* presenta unes antènules corbades a diferència de la variant *pellucida*, on aquestes són rectes. Els resultats d'alguns estudis (Kappes *et al.*, 2002; Sakamoto *et al.*, 2007) suggereixen que el morfotip *pellucida* podria ser més efectiu a l'hora d'evitar la depredació per part de copepodes i altres invertebrats. Es creu

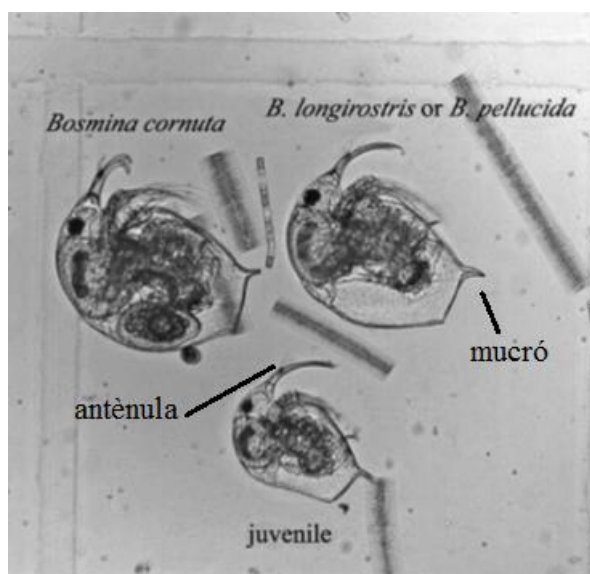


Figura 5. Individus de *Bosmina longirostris* amb els morfotips *cornuta* i *pellucida*. Modificat. (Sakamoto 2007)

que aquest efecte es deu a que tant mucrons posteroventrals, com apèndix i antènules més llargues obstaculitzarien la ingestió per part dels depredadors, reduint la seva eficiència en la captura i incrementant la probabilitat de supervivència de *Bosmina longirostris*. Sakamoto (2007) documenta com fruit de les interaccions físiques entre *Bosmina* i el copepode *Acanthocyclops* es produïa una disminució significativa de l'abundància relativa del morfotip *cornuta*.

Cal tenir en compte però, que com a organismes ectotèrmics, les mides resultants de les dinàmiques de creixement de *Bosmina* estan altament influenciades per la temperatura (Moore *et al.* 1995). Kappes (2002) va dur a terme experiments aclimatant els dos morfotips de *Bosmina* a 10<sup>o</sup>, va observar que les comunitats del morfotip *pellucida* s'adaptaven millor i eren més estables que les comunitats amb el morfotip *cornuta*, que acabaven col·lapsant.

Malgrat la complexitat present en els ecosistemes lacustres, la morfologia i la mida de *Bosmina* podrien proporcionar pistes per entendre les respostes

cicломorfogèniques a la depredació o a la temperatura. En futurs anàlisi de sediments seria interessant analitzar paràmetres morfològics de les restes de *Bosmina*, així com la mida de les closques i la dels mucrons posteroventrals. Aquesta informació ens podria ajudar a comprendre la identitat dels depredadors dominants de *Bosmina*.

## **6.Conclusions**

Es poden identificar diverses espècies de cladòcers en diferents habitats del llac Enol, on les comunitats són diferents entre les zones litorals i les planctòniques. Tanmateix, no s'ha estudiat la taxonomia dels cladòcers planctònics actuals, i per tant, podríem trobar-hi algunes espècies que no s'han registrat al sediments.

El nombre d'espècies trobades a les restes de la columna de sediment és més aviat petit. La relació entre les restes de bosmínids i quidòrids (P/L) pot proporcionar informació important sobre les diferents successions dels habitats en el curs històric del llac. No obstant, es necessiten més inventaris de cladòcers en els sediments superficials del llac per determinar si els canvis de la relació de P/L són consistents amb increments en la fondària i la distància del litoral. L'augment de l'índex P/L als darrers anys (Fig.3 zona 1) pot suggerir un increment de l'eutrofia del llac que pot ser degut al contacte amb els ramats de vaques que pasturen al voltant del llac.

Respecte al gènere *Bosmina*, aquest suposa una oportunitat important d'examinar canvis cicломorfogènics en resposta a factors ambientals, destacant l'alt grau de conservació de les closques i escuts cefàlics en el sediment. Aquesta informació podria ser útil per resoldre qüestions clau sobre com els canvis ambientals han pogut influir en les dinàmiques de depredació. La bibliografia consultada ens suggereix que les restes gènere *Bosmina* en el sediments de llacs tenen potencial per revelar nous coneixements sobre com responen els llacs a pertorbacions ambientals, poguent trobar aplicacions en la gestió de llacs i sistemes acuàtics.

## **Agraïments**

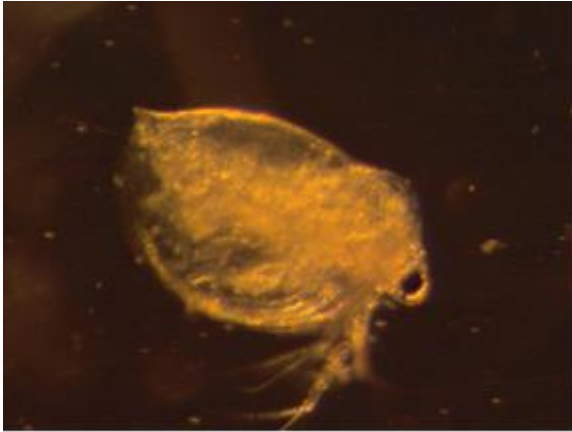
Agraeixo a la Dr. Maria Rieradevall, al Dr. Narcís Prat, al Pol Tarrats i al Pau Fortuny el suport i l'ajuda rebuda durant aquest projecte.

## 7. Bibliografía

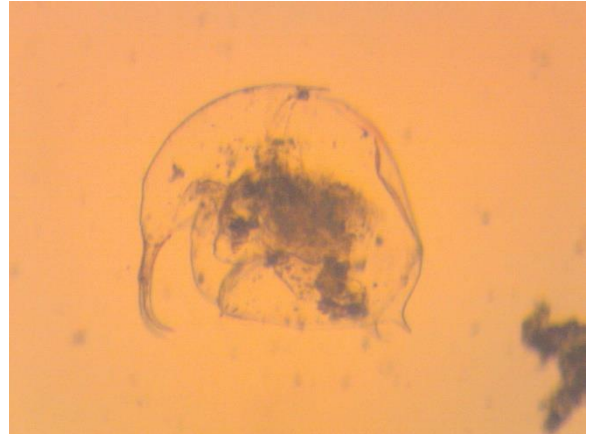
- Alonso M. (1996). *Crustace, Branchiopoda*. En: *Fauna Ibérica*, vol. 7. Ramos, M..A. *et al.* (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid. 486pp.
- Alonso M. (1998). Las lagunas de la España peninsular. *Limnética* 15:1-175
- Hofmann W. (1998). Cladocerans and chironomids as indicators of lake level changes in north temperate lakes. *J Paleolimnol* 19: 55–62
- Kappes H, Sinsch U. (2002). Temperature- and predator-induced phenotypic plasticity in *Bosmina cornuta* and *B. pellucida* (Crustacea: Cladocera). *Freshwater Biology* 47:1944-1955.
- Keerfot WC. (1978). Combat between predatory copepods and their prey: *Cyclops*, *Epischura*, and *Bosmina*.
- Korhola A, Rautio M. (2001). Cladocera and other Branchiopod Crustaceans. Smol JP, Birks HJ, William M. (Eds). *Tracking environmental change using lake sediments*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, the Netherlands. pp. 5-41.
- Moore MV, Folt CL, Stremberg RS. (1995). Consequences of elevated temperatures for zooplankton assemblages in temperate lakes. *Arch Hydrobiol* 135:289-319
- Moreno A, López-Merino L, Leira M, Marco-Barba J, González-Sampériz P, Valero-Garcés BL, López-Sáez JL, Santos L, Mata P, Ito E. (2011). Revealing the last 13,500 years of environmental history from the multiproxy record of a mountain lake (Lago Enol, northern Iberian Peninsula). *J Paleolimnol*, 46:327-349.
- Nowak A, Lis P, Radziejewska T. (2007). Sonication as an aid cleaning cladoceran remains extracted from sediment cores. *J Paleolimnol* 39(1):133-136.
- Ortiz JE, Sanchez-Palencia Y, Torres T, Domingo L, Mata MP, Vegas J, Sanchez España J, Morellón M, Blanco L. (2016). Lipid biomarkers in Lake Enol (Asturias, Northern Spain): Coupled natural and human induced environmental history. *Organic Geochemistry* 92, 70-83.
- Sakamoto M, Chang KH, Hanazato T. (2007). Plastic phenotypes of antennule shape in *Bosmina longirostris* controlled by physical stimuli of predators. *Limnol. Oceaenogr.* 2072-2078.
- Tarrats P, Cañedo-Argüelles M, Rieradevall M, Prat N. (2017). Chironomid communities as indicators of local and global changes in an oligotrophic high mountain lake (Enol Lake, Northwestern Spain). *J Limnol* 76(2):355-365.

## Annexes

Fotografies obtingudes durant la identificació de les mostres de litoral:



*Il·lustració 3. Ceriodaphnia quadrangula*



*Il·lustració 1. Bosmina longirostris-cornuta*



*Il·lustració 4. Alona Gutatta*



*Il·lustració 2. Disparalona leei*



*Il·lustració 6. Chydorus sphaericus*



*Il·lustració 5. Alona affinis*

Abundàncies absolutes i relatives dels cladòcers trobats al core ENO 14-2-1B-1G.

cm	B.		C.	B. longirostris(%) Alona sp.(%) C. sphaericus(%)		
	<i>longirostris</i>	<i>Alona sp.</i>	<i>sphaericus</i>			
82 83	91	9	0	91	9	0
78 79	65	27	7	65	27	7
74 75	66	21	13	66	21	13
70 71	71	18	11	71	18	11
66 67	11	63	26	11	63	26
62 63	8	72	20	8	72	20
58 59	9	53	39	9	53	39
54 55	6	38	55	6	38	55
50 51	0	48	53	0	48	53
46 47	2	39	59	2	39	59
42 43	100	0	0	100	0	0
38 39	0	0	0	0	0	0
34 35	0	0	0	0	0	0
30 31	0	0	0	0	0	0
26 27	0	0	0	0	0	0
22 23	33	67	0	33	67	0
18 19	48	39	14	48	39	14
14 15	53	41	6	53	41	6
10 11	44	18	38	44	18	38
6 7	19	48	32	19	48	32