

MARIA WILHELMINA BARBOSA DE OLIVEIRA PIL

**DIVERSIDADE MORFOLÓGICA DE POPULAÇÕES DE *Miconia sellowiana*
NAUDIN (MELASTOMATACEAE): ADAPTAÇÃO GENÉTICA OU
PLASTICIDADE FENOTÍPICA?**

**Monografia apresentada à disciplina
Estágio em Botânica como requisito
parcial à conclusão do curso de
Ciências Biológicas, Setor de Ciências
Biológicas, Universidade Federal do
Paraná.**

Orientadora:

**Prof.^a. Dr.^a. Maria Regina Torres
Boeger**

Co-orientadores:

Prof. Dr. Walter Boeger

Prof. Dr. Renato Goldenberg

CURITIBA

2006

Dedico à minha mãe,
Zenaide Barbosa, razão do
que sou e do que ainda hei
de ser.

AGRADECIMENTOS

Agradeço mais do que tudo a minha mãe, Zenaide Barbosa, por ser exemplo de força e perseverança, por ter me dado tantas oportunidades na vida e por priorizar minha educação. Além de ser um exemplo único de mãe. Não há no mundo quem se compare a você.

Agradeço a Maria Regina Boeger, não apenas pela sempre presente orientação, oportunidades oferecidas e confiança no meu potencial, como pelo apoio em todos os momentos difíceis, acadêmicos e pessoais. Minha tutora. Ao Walter Boeger por uma infinidade de coisas, pela disponibilização do laboratório e material, pelas conversas esclarecedoras, e principalmente, por dividir comigo tanto conhecimento. Meu tutor.

Ao Renato Goldenberg pela confiança no meu desempenho e compartilhamento de seu conhecimento sobre Melastomataceae. Ao Márcio Pie pela eterna boa vontade de ajudar em todas as dificuldades que encontrei. Obrigado por compartilhar seu extenso conhecimento e pelos agradabilíssimos almoços sempre cheios de risadas.

Aos meus colegas do Laboratório de Ecologia Molecular, Zé, Luciana, Raphael, Rogério, Flávio, Guilherme, Marcos, Renan, Diogo e Marcel pelo apoio, incentivo e ajuda nos momentos em que tudo dava errado, pelas gargalhadas e por me agüentarem ocupando tão disputado espaço.

Agradeço com todas as minhas forças aos meus colegas de faculdade, Beatriz Essenfelder, Danillo Augusto, Reginaldo Sene e Tânia Amaro, formamos o melhor quinteto do mundo. As conversas, trabalhos, festas e a nossa mesa de estudo no meio do shopping tornaram os quatro anos da faculdade inesquecíveis. Bibs, o que serão dos meus futuros trabalhos sem você? E à Letícia Larcher, por compartilhar a vida dentro e fora do laboratório com a sua maneira maravilhosa de ser. Minha companheira de muitas risadas e cantorias embaraçosas. Quando ninguém mais agüentava me ouvir cantar:

“Eu sei que vou te amar

Por toda a minha vida eu vou te amar

Em cada despedida eu vou te amar

Desesperadamente, eu sei que vou te amar”. (Tom Jobim)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	4
3 RESULTADOS.....	9
4 DISCUSSÃO.....	12
REFERÊNCIAS.....	15
ANEXO 1.....	18
ANEXO 2.....	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DESCRIÇÃO DAS FORMAÇÕES VEGETACIONAIS ONDE FORAM COLETADAS FOLHAS DOS INDIVÍDUOS DE <i>Miconia sellowiana</i> E SUAS RESPECTIVAS LOCALIZAÇÕES COORDENADAS E NÚMERO DE INDIVÍDUOS.....	4
TABELA 2 – <i>PRIMERS</i> UTILIZADOS NO ESTUDO.....	7
TABELA 3 – RESUMO DOS VALORES DOS PARÂMETROS GENÉTICOS CALCULADOS.....	10
TABELA 4 – RESULTADO DA AMOVA PARA TODAS AS POPULAÇÕES AMOSTRADAS DE <i>M. selowiana</i> (P<0,001).....	10
TABELA 5 - AMOVA PAREADA ENTRE AS POPULAÇÕES ESTUDADAS E RESPECTIVOS VALORES DE NM.....	11

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – IMAGEM DE SATÉLITE DAS QUATRO REGIÕES DE COLETA.....	5
FIGURA 2 – INDIVÍDUOS DE <i>M. sellowiana</i> DAS QUATRO FORMAÇÕES VEGETACIONAIS.....	6
FIGURA 3 – FOTOGRAFIA DE GEL DE AGAROSE MOSTRANDO PADRÃO DE BANDAS DAS QUATRO POPULAÇÕES OBTIDO COM OPA 10.....	9
FIGURA 4 – DENDOGRAMAS DE SEMELHANÇA GENÉTICA (EM VERMELHO) E MORFOLÓGICA (EM PRETO) PARA AS QUATRO POPULAÇÕES DE <i>M. sellowiana</i>	11

RESUMO

Plasticidade fenotípica retrata a habilidade de um organismo de alterar sua fisiologia e/ou morfologia em decorrência de sua interação com o ambiente. A evolução em ambientes heterogêneos pode levar a duas alternativas: adaptação especializada a um determinado ambiente ou adaptação generalizada a uma ampla gama de ambientes (plasticidade fenotípica). Estudos prévios sobre a morfoanatomia foliar de *Miconia sellowiana* em diferentes formações vegetacionais (Estepe Gramíneo-Lenhosa, Floresta Ombrófila Densa Montana, Floresta Ombrófila Densa Alto-Montana e Floresta Ombrófila Mista), no estado do Paraná, Brasil, indicam que esta espécie possui uma grande variação fenotípica. Como a variabilidade detectada pode resultar tanto da plasticidade fenotípica quanto de adaptação genética, a estruturação da metapopulação estudada foi avaliada utilizando-se um marcador genético dominante (RAPD – Random Amplification of Polymorphic DNA). O DNA foi extraído de folhas de plantas das diferentes formações vegetacionais e submetidos a RAPD utilizando-se 10 *primers*. A análise resultou na detecção de 96,55% de loci polimórficos e $Gst = 0,1446$. O número médio estimado de migrantes por geração (N_m) foi de 2,96, sugerindo reduzido fluxo gênico entre as subpopulações estudadas. AMOVA suporta a existência de estruturação genética ($P < 0,001$) das quatro subpopulações. Dendogramas de dados genéticos e morfológicos mostraram o mesmo agrupamento das subpopulações de *Miconia sellowiana* estudadas, sugerindo que as diferenças morfológicas observadas podem ser resultado de adaptação genética local.

Palavras-chave: *Miconia sellowiana*, plasticidade fenotípica, seleção local, RAPD.

ABSTRACT

Phenotypic plasticity is the ability of an organism to alter its physiology and/or morphology due to its interactions with the environment. The evolution in heterogeneous environments may lead to two alternatives: specialized adaptation to a peculiar environment or generalized adaptation to a wide range of environments (phenotypic plasticity). Previous studies on the foliar morphology and anatomy of *Miconia sellowiana* in different types of vegetation (“Estepe Gramíneo-Lenhosa”, “Floresta Ombrófila Densa Montana”, “Floresta Ombrófila Densa Alto-Montana” and “Floresta Ombrófila Mista”), in Paraná State, Brazil, indicated that this species has a great phenotypic variation. As this variability may result from phenotypic plasticity or from genetic adaptation, the structure of the metapopulation studied was analyzed using a dominant genetic marker (RAPD – Random Amplification of Polymorphic DNA). The DNA extracted from the plants’ leaves from the four types of vegetation was amplified by RAPD using 10 primers. The analysis resulted in the detection of 96,55% of polymorphic loci and $Gst = 0,1446$. The number of estimated migrants per generation (Nm) was 2,96, suggesting reduced gene flow between the subpopulations studied. AMOVA bears the existence of genetic structure of the four subpopulations ($P < 0,001$). The subpopulations of *Miconia sellowiana* were grouped together the same way in genetic and morphological dendograms, suggesting that the morphological differences observed may be the result of local genetic adaptation.

Key words: *Miconia sellowiana*, phenotypic plasticity, local selection, RAPD.

1 INTRODUÇÃO

Plasticidade fenotípica retrata a habilidade de um organismo de alterar sua fisiologia e/ou morfologia em decorrência de sua interação com o ambiente (CARDOSO e LOMÔNACO, 2003). Conseqüentemente, um único genótipo pode produzir diferentes fenótipos em diferentes ambientes (SULTAN, 2000). Plasticidade fenotípica tem sido mais intensamente estudada em plantas que tipicamente mostram diferenças marcantes no crescimento e desenvolvimento em ambientes distintos. A definição de plasticidade fenotípica não implica que tais respostas sejam necessariamente adaptativas. A resposta ao ambiente tem que ser apropriada para ser adaptativa. Por exemplo, plantas que reduzem área foliar em condições de sombra com certeza estão respondendo ao ambiente, mas provavelmente sua aptidão não é incrementada (SCHLICHTING, 1986). Esta plasticidade fenotípica é chamada não-adaptativa e é conseqüência da falta de recursos do ambiente (SULTAN, 2003).

A evolução em ambientes heterogêneos pode levar a duas alternativas: adaptação especializada a um determinado ambiente ou adaptação generalizada a uma ampla gama de ambientes (BRADSHAW, 1965). A composição genética da população pode ser afetada pelo fluxo gênico com outras populações de composição diferente ou por deriva, se o tamanho da população for pequeno (CONNER e HARTL, 2004).

Análises da variabilidade e divergência genética permitem especulações sobre a estrutura das populações, interação genótipo/ambiente, processos evolutivos, relações taxonômicas, entre outros (FREITAS e BERED, 2003). Usando diferentes técnicas moleculares, alguns trabalhos tratam da relação entre plasticidade fenotípica em populações e sua variabilidade genética (CARDOSO e LOMÔNACO, 2003; LEHMANN e REBELE, 2005; LU *et al.*, 2005), mas a maioria utiliza essas ferramentas apenas para determinar a variabilidade genética da espécie ou de populações de uma determinada espécie (FERRER *et al.*, 2004, GE *et al.*, 2005; GONZÁLES-ASTORGA *et al.*, 2005; KANG *et al.*, 2005; ORTÍZ-DORDA *et al.*, 2005; PHARMAWATI *et al.*, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2005).

“Random Amplification of Polymorphic DNA” (RAPD) é uma dessas ferramentas. RAPD é baseada na técnica de PCR (“Polymerase Chain Reaction”), a qual utiliza um *primer* de cerca de dez nucleotídeos de seqüência arbitrária para amplificar diferentes regiões do genoma do indivíduo (FREITAS e BERED, 2003). A utilização de *primers* de seqüências arbitrárias garante a detecção de polimorfismos na ausência de informações sobre a seqüência de nucleotídeos que compõem o DNA a ser analisado. Os segmentos de DNA amplificados podem ser visualizados em gel de agarose por eletroforese e coloração com brometo de etídio em luz ultravioleta (FREITAS e BERED, 2003). Indivíduos com padrões de bandas diferentes no gel apresentam diferenças nas regiões onde o *primer* pôde se anelar, detectando polimorfismos na população. Conseqüentemente, a técnica possibilita a medida de variação genotípica entre os indivíduos analisados, o que permite estudar a estruturação de uma metapopulação a partir das diferentes subpopulações.

Miconia pertence a Melastomataceae, uma família com cerca de 4.570 espécies que se distribuem principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (GOLDENBERG, 2004). As espécies de *Miconia* ocorrem desde o sul do México até o Uruguai e o norte da Argentina (GOLDENBERG, 2004). *Miconia sellowiana* tem distribuição ampla, podendo ocorrer em diferentes formações vegetacionais, o que parece influenciar na sua grande variação morfológica (GOLDENBERG, 2000). Estudos prévios sobre as diferenças morfológicas e anatômicas de folhas de *M. sellowiana* em diferentes formações vegetacionais (Estepe Gramíneo-Lenhosa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Ombrófila Densa Montana e Floresta Ombrófila Alto-Montana), no estado do Paraná, indicaram que essa espécie possui uma grande variação fenotípica (GLUZEZAK, 2005; PIL, dados não publicados). Os resultados das análises das variáveis morfoanatômicas, como área foliar, massa seca, densidade estomática e espessura total do mesofilo, indicaram diferenças significativas entre as folhas de indivíduos destas formações vegetacionais. As diferenças significativas para essas variáveis foram consideradas respostas às condições ambientais diferenciadas principalmente entre as folhas da Floresta Ombrófila Densa Alto Montana e da Estepe Gramíneo-Lenhosa em relação às folhas

das Florestas Ombrófila Densa Montana e Ombrófila Mista. Utilizando as variáveis estudadas, observou-se um gradiente de xeromorfia para mesofilia das folhas das quatro formações vegetacionais estudadas no seguinte sentido: Floresta Ombrófila Densa Alto Montana, Estepe Gramíneo-Lenhosa, Floresta Ombrófila Densa Montana, Floresta Ombrófila Mista. As variações na morfologia e anatomia desta espécie parecem ser adaptações ecológicas importantes, relacionadas às condições de luminosidade, disponibilidade de água e condições de solo, que são semelhantes entre as populações estudadas de Floresta Ombrófila Densa Alto Montana e Estepe Gramíneo-Lenhosa e entre as da Floresta Ombrófila Mista e Floresta Ombrófila Densa Montana (GLUZEZAK, 2005 e PIL, dados não publicados). As variações entre essas populações se estende a outras características além das foliares, como a altura dos indivíduos. Na população da Floresta Ombrófila Mista e da Floresta Ombrófila Densa Montana, os indivíduos chegam a medir 6m. No entanto, nas populações da Floresta Ombrófila Densa Alto Montana, os indivíduos não passam de 2m e na Estepe Gramíneo-Lenhosa, eles medem apenas cerca de 1m.

Nesse contexto, o presente estudo utiliza o método RAPD-PCR com o objetivo de testar a hipótese sobre a origem da variabilidade morfoanatômica detectada entre essas quatro populações de *M. sellowiana*. A hipótese do trabalho é de que as diferenças morfoanatômicas encontradas entre as quatro diferentes populações de *M. sellowiana* são consequência não da sua capacidade de plasticidade fenotípica, mas sim de diferenças na composição genética entre os grupos. Para isso é utilizado um teste de estruturação das populações e então realizada uma análise sobre o relacionamento entre essas populações, caso sejam estruturadas. A construção de um dendograma a partir dos dados genéticos e dos dados morfoanatômicos da espécie permite comparar a similaridade entre o genótipo e o fenótipo, a fim de se testar a procedência das variações morfoanatômicas encontradas para a espécie nas quatro populações.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de dez indivíduos de *M. sellowiana* foram coletadas em cada uma das quatro diferentes formações vegetacionais descritas na Tabela 1, exceto para Floresta Ombrófila Densa Montana, onde só foi possível a coleta de folhas de sete indivíduos. A localização de cada ponto de coleta é apresentada na Figura 1 e um indivíduo de cada local é apresentado na Figura 2. O material coletado foi fixado em etanol absoluto e congelado a -20°C . A extração foi feita seguindo o protocolo do kit utilizado, DNeasy Plant Mini[®] (Qiagen). Os extratos foram preservados em tampão AE, que acompanha o kit de extração, e congelados a -20°C .

TABELA 1 - Formações vegetacionais e respectivas localizações e coordenadas geográficas nas quais foram coletadas folhas dos indivíduos de *M. sellowiana*.

FORMAÇÃO VEGETACIONAL	LOCALIZAÇÃO	COORDENADAS
Estepe Gramíneo-Lenhosa	Buraco do Padre Município de Ponta Grossa, PR	25° 10'S 49° 58'W
Floresta Ombrófila Densa Montana	Parque Estadual dos Mananciais da Serra, Piraquara, PR	25° 29'S 49° 59'W
Floresta Ombrófila Densa Alto-Montana	Morro do Canal Município de Piraquara, PR	25° 30'S 48° 59'W
Floresta Ombrófila Mista	Fazenda Experimental do Canguiri, Pinhais, PR	25° 30'S 49° 50'W



FIGURA 1 – Imagem de satélite das quatro regiões de coleta. Barra: 10Km.

A caracterização genética dos indivíduos foi realizada através da técnica de RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA). A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi realizada em 30 μ l de solução final, contendo: 0,83mM de DNTP (Biotools[®]), tampão 1X sem Magnésio, 3,33mM de MgCl₂, 0,08 u/ μ l de Taq DNA Polimerase *Platinum* (Invitrogen[®]), 0,33 μ M de *primer* e 5 μ g/ μ l de BSA (Bovine Serum Albumin). O termociclador (Personal Cycler, Eppendorf) foi programado com o seguinte ciclo de temperaturas: 94 $^{\circ}$ C por 3 minutos (ativação da enzima e desnaturação inicial), 35 ciclos de 94 $^{\circ}$ C por 15 segundos (desnaturação), 35 $^{\circ}$ C por 30 segundos (anelamento), 72 $^{\circ}$ C por 1 minuto (extensão) e temperatura final de 72 $^{\circ}$ C por 4 minutos (extensão final).

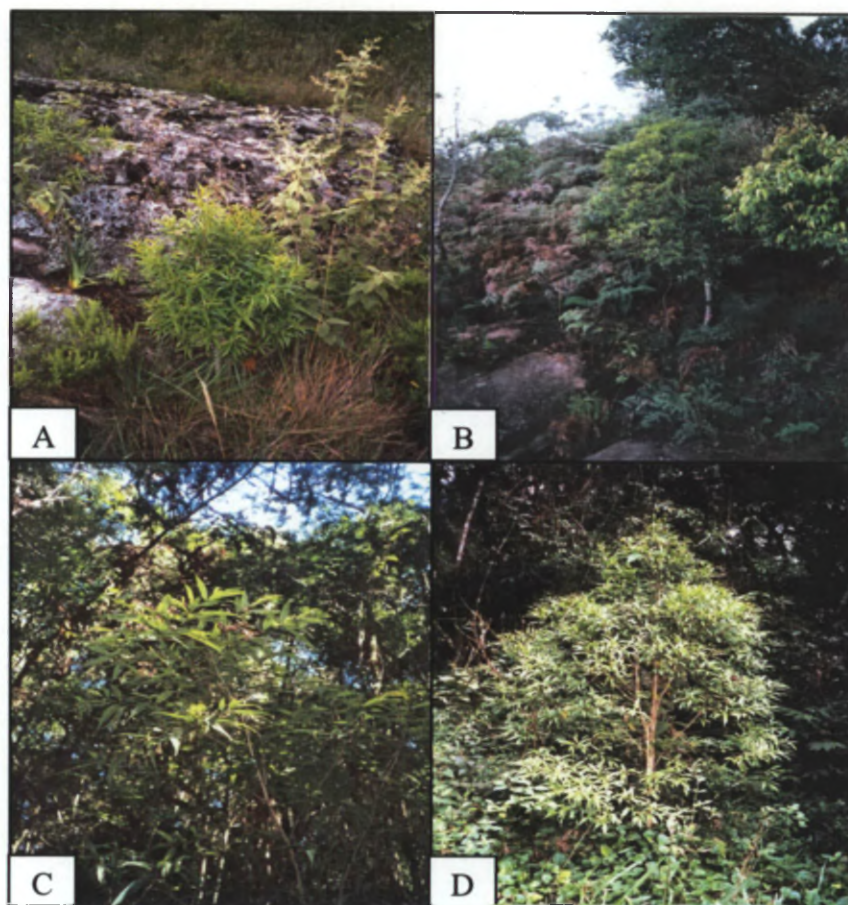


FIGURA 2 – Indivíduos de *M. sellowiana* das quatro formações vegetacionais. A. Estepe Gramíneo-Lenhosa. B. Floresta Ombrófila Densa Alto Montana. C. Floresta Ombrófila Mista. D. Floresta Ombrófila Densa Montana.

Para definição do protocolo de RAPD foram testadas diferentes concentrações de DNA, sendo a concentração de $10\mu\text{g}/\mu\text{l}$ a que produziu melhores resultados. As concentrações foram medidas com o auxílio de espectrofotômetro Gene Quant Pro[®], da Amersham Biosciences. Vinte *primers* da série 1 da OPERON[®] foram testados para avaliação de polimorfismos e dez (vide Tabela 2) foram escolhidos como mais adequados e utilizados para todos os indivíduos coletados. Para esse teste foram utilizados dois indivíduos de cada local, escolhidos aleatoriamente, com os quais foi realizado RAPD-PCR com todos os vinte *primers* disponíveis. As bandas foram visualizadas em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio. Os *primers* que não geraram polimorfismo ou que produziram bandas em excesso (dificultando sua identificação) não foram utilizados.

TABELA 2 – *Primers* utilizados no estudo.

<i>Primers</i>	Seqüência
OPA-01	CAGGCCCTTC
OPA-07	GAAACGGGTG
OPA-08	GTGACGTAGG
OPA-09	GGGTAACGCC
OPA-10	GTGATCGCAG
OPA-11	CAATCGCCGT
OPA-12	TCGGCGATAG
OPA-13	CAGCACCCAC
OPA-15	TTCCGAACCC
OPA-18	AGGTGACCGT

O gel analisado de cada *primer* continha o produto da PCR-RAPD de todos os indivíduos, intercalados entre populações, de modo que um indivíduo não ficasse ao lado de outro da mesma população. Esta estratégia tinha como objetivo evitar a indução de erro por proximidade na análise das bandas desse gel. As fotografias dos géis foram realizadas com equipamento de fotodocumentação Vilber Loumart[®]. As bandas foram detectadas por indivíduo e codificadas como presente (1) ou ausente (0) em uma matriz de dados com o auxílio de um programa de análise, Gel Pro Analyzer[®]. A similaridade entre as bandas foi analisada através da comparação com o padrão de bandas de ladder 1kb e, para todos os *primers*, um controle negativo foi utilizado em cada reação de PCR a fim de verificar possível contaminação nas reações.

A matriz com os 37 indivíduos (Anexo 1) foi analisada com o programa POPGENE[®], versão 1.30. Os parâmetros analisados com esse programa foram: diversidade gênica, através do cálculo de h (NEI, 1973); índice de Shannon (1949), através do cálculo de I ; diferenciação populacional, através do cálculo de G_{st} e N_m (fluxo gênico) (SLATKIN e BARTON, 1989); e distância genética (NEI, 1978). A estruturação entre populações foi testada com o método de Análise Molecular de Variância (AMOVA) utilizando a aplicação disponível no *site* “The Dyer Laboratory of Populations Genetics” (<http://www.dyer2.bio.vcu.edu>). AMOVA cria uma matriz entre as amostras a fim de medir a estruturação genética da população da qual provieram as amostras. Em termos estatísticos, AMOVA é um procedimento de teste

baseado em análise permutacional. Nesta análise, Φ_{st} (ou F_{st}) mede a redução proporcional na heteroziguidade de uma metapopulação devido à diferenciação entre subpopulações.

Se as populações não se mostrarem geneticamente estruturadas, a hipótese de plasticidade fenotípica deve ser mantida. Entretanto, se os valores de diversidade genética resultarem na detecção de estruturação populacional, as relações genéticas entre essas populações devem ser analisadas. A hipótese de adaptação local pode ser aceita caso haja congruência entre as relações populacionais conforme morfologia e proximidade genética.

A relação genética entre as populações foi construída baseada nas distâncias genéticas de Nei (1978) através do método UPGMA modificado do procedimento NEIGHBOR de PHYLIP versão 3.5 utilizando o programa POPGENE[®]. A relação morfológica entre as populações foi construída da análise de *cluster* baseada em distâncias Euclidianas, realizada no programa STATISTICA[®]. Para esta análise foram utilizadas as médias das variáveis como valor representativo para cada população. Essas variáveis morfológicas foram aquelas que mostraram plasticidade fenotípica entre as quatro populações de *M. sellowiana* estudadas: área foliar, massa foliar, densidade estomática e espessura total do mesofilo. Os valores médios dessas variáveis estão descritos no Anexo 2, onde também é mostrado se os valores entre as populações são estatisticamente diferentes entre si (Análise de Variância).

3 RESULTADOS

As amplificações dos 37 indivíduos com os 10 *primers* de RAPD utilizados produziram um total de 203 bandas, das quais 196 são polimórficas (96,55%). O padrão de bandas obtido detectou diferenças entre as populações e entre os indivíduos da mesma população (Figura 3). Das bandas detectadas, 22 são específicas para uma determinada população. A população da Floresta Ombrófila Mista apresentou três bandas específicas, a população da Floresta Ombrófila Densa Montana apresentou quatro, a população da Floresta Ombrófila Densa Alta Montana apresentou sete e a da Estepe Gramíneo-Lenhosa, oito.

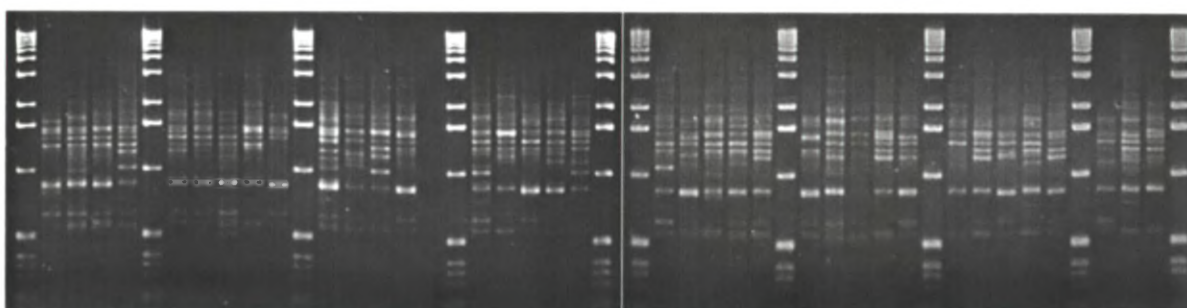


FIGURA 3 - Fotografia de gel de agarose mostrando padrão de bandas das quatro populações obtido com OPA 10. Indivíduos se apresentam intercalados entre populações.

Os valores dos parâmetros genéticos calculados para cada um dos *primers* separadamente e para o conjunto deles estão sumarizados na Tabela 3.

A Análise Molecular de Variância (Tabela 4) para todos os *primers* agrupados indica que as populações são geneticamente estruturadas ($P < 0,001$). Entretanto, analisados separadamente, três dos dez *primers* utilizados não mostraram essa estruturação, sendo eles: OPA 7, OPA 8 e OPA 12 (Tabela 3). O valor de Φ_{st} obtido para o *primer* OPA 1 se destacou por ter sido bastante superior aos demais (Tabela 3).

TABELA 3 - Resumo dos valores dos parâmetros genéticos calculados e da Análise Molecular de Variância.

Primers	Diversidade gênica	Índice de Shannon	Gst	Nm	AMOVA	
					Φ_{st}	P
OPA 1	0.3539	0.5328	0.2525	1.4800	0.27078	< 0.000001
OPA 7	0.2499	0.3940	0.0855	5,3505	0.02085	0.185000
OPA 8	0.1659	0.2883	0.0519	9.1320	0.02012	0.234000
OPA 9	0.2080	0.3261	0.1066	4.1917	0.10092	< 0.000001
OPA 10	0.2539	0.3960	0.1674	2.4876	0.08835	< 0.000001
OPA 11	0.2916	0.4462	0.1571	2.6823	0.10983	< 0.000001
OPA 12	0.1845	0.3005	0.1054	4.2453	0.02957	0.190000
OPA 13	0.2263	0.3661	0.1443	2.9653	0.08968	< 0.000001
OPA 15	0.1676	0.2862	0.1203	3.6559	0.07909	< 0.000001
OPA 18	0.2835	0.4328	0.1776	2.3152	0.11490	< 0.000001
TODOS	0.2390	0.3783	0.1446	2.9585	0.09645	< 0.000001

TABELA 4 - Resultado da Análise Molecular de Variância para todas as populações amostradas de *M. sellowiana* (P<0,001).

Fonte	df	SS	MS
Entre populações	3	151.934	50.645
Dentro da população	33	843.714	25.567
Total	36	995.649	

AMOVA foi realizada ainda para pares de populações (Tabela 5). Valores pareados de Nm são apresentados na Tabela 5. Todas as populações mostraram-se geneticamente e estatisticamente distintas umas das outras. A população da formação vegetacional Estepe Gramíneo-Lenhosa tem maior fluxo gênico estimado (menor valor de Φ_{st} e maior Nm) com a população da Floresta Ombrófila Densa Alto Montana,

enquanto a população da Floresta Ombrófila Mista tem maior intercâmbio gênico com a população da Floresta Ombrófila Densa Montana (Tabela 5). No entanto, as Florestas Ombrófila Densa Alto Montana e Ombrófila Densa Montana têm maior fluxo gênico entre si do que com as outras populações.

TABELA 5 - AMOVA pareada entre as populações estudadas e respectivos valores de Nm.

	Fl. Ombrófila Mista	Fl. Ombrófila Densa Montana	Fl. Ombrófila Densa Alto Montana
Estepe Gramíneo-Lenhosa	$\Phi_{st} = 0,12934$ Nm = 3,9490 P < 0.000001	$\Phi_{st} = 0,13151$ Nm = 3,8365 P < 0.000001	$\Phi_{st} = 0,07322$ Nm = 5,7693 P < 0.000001
Fl. Ombrófila Densa Alto Montana	$\Phi_{st} = 0,09451$ Nm = 4,5506 P < 0.000001	$\Phi_{st} = 0,05739$ Nm = 4,7318 P < 0.000001	
Fl. Ombrófila Densa Montana	$\Phi_{st} = 0,08707$ Nm = 4,2604 P < 0.000001		

Os dendogramas de similaridade genética e morfológica são estritamente congruentes (Figura 4). Ambos indicam que a população da formação vegetacional Estepe Gramíneo-Lenhosa está mais proximamente relacionada com a população da Floresta Ombrófila Densa Alto Montana, enquanto a população da Floresta Ombrófila Mista está mais proximamente relacionada com a população da Floresta Ombrófila Densa Montana.

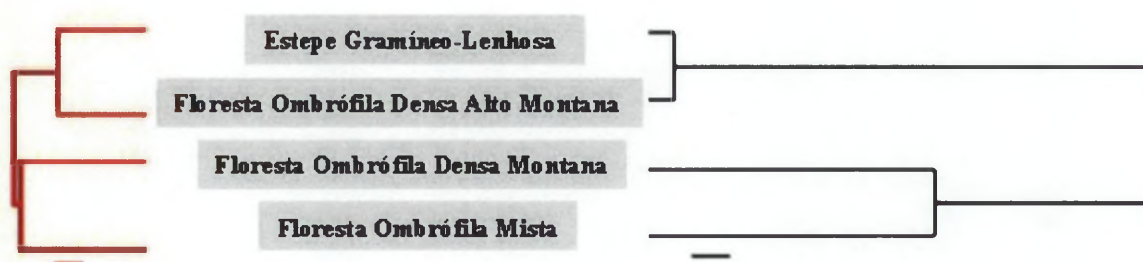


FIGURA 4 – Dendogramas de semelhança genética (em vermelho) e morfológica (em preto) para as quatro populações de *M. sellowiana*. Barras: distância genética de Nei: 1,00 e distância euclidiana: 10.

4 DISCUSSÃO

A AMOVA e demais medidas de diferenciação entre populações (G_{st} , N_m) obtidas indicam que há estruturação populacional ($P < 0,001$). Segundo o critério de WRIGHT (1951), valores de Φ_{st} de 0,05 a 0,15 indicam diferenciação moderada, de 0,15 a 0,25 grande diferenciação e de 0,25 em diante a diferenciação é muito grande (CONNER e HARTL, 2004). Com o valor obtido de $\Phi_{st} = 0,096$, a diferenciação entre as populações de *M. sellowiana* estudadas é considerada moderada mas estatisticamente significativa.

A análise de agrupamento dos dados morfológicos e das distâncias genéticas (Figura 4) resultaram em topologias de similaridade coincidentes entre as populações. Esse resultado indica fortemente que os eventos que causaram as divergências observadas entre as populações são os mesmos para a composição genética e a estruturação foliar dos indivíduos. Essa coincidência parece evidenciar que as diferenças morfoanatômicas são consequência da diferenciação genética entre as populações, mais do que uma habilidade em expressar diferentes fenótipos a partir do mesmo genótipo.

RAPD é considerado um marcador neutro porque teoricamente amplifica apenas regiões não codificadoras do genoma (BEEBEE e ROWE, 2004). Supostamente, as regiões amplificadas não incluem genes que estejam sob efeito de seleção. Na maioria dos casos, porém, isso é mais uma suposição do que um fato demonstrado (BEEBEE e ROWE, 2004). Loci amplificados por RAPD e Amplified Length Polimorfism (AFLP) podem incluir pelo menos algumas seqüências codificadoras, apesar da proporção delas ser pequena em eucariotos, onde a maior parte do DNA é não-codificadora (BEEBEE e ROWE, 2004). Além disso, loci amplificados podem não estar sob seleção direta, mas estarem ligados à outros que estejam (BEEBEE e ROWE, 2004).

O *primer* OPA 1 resultou em valores de Φ_{st} muito maiores do que os demais *primers*, o que poderia indicar que tenha amplificado loci sob seleção. Se vários loci amplificados resultarem em valores de Φ_{st} similares, isso sugere que não exista

seleção afetando a diferenciação entre as populações. Entretanto, loci com valores de Φ_{st} substancialmente maiores do que os dos outros sugere que eles estejam submetidos a seleção (CONNER e HARTL, 2004).

A seleção age diretamente no fenótipo e a maioria das características fenotípicas é afetada por mais de um locus e pelo ambiente (CONNER e HARTL, 2004). Assim, aliada a esta observação, a estruturação detectada entre as populações estudadas pode estar associada à seleção genética das características fenotípicas localmente adaptadas e ao fluxo gênico moderado entre essas populações.

As proximidades das populações mostradas pelo dendograma corroboram com os dados morfoanatômicos que indicam as folhas das Florestas Ombrófila Mista e Ombrófila Densa Montana como mais mesomórficas e as da Floresta Ombrófila Densa Alto Montana e Estepe Gramíneo-Lenhosa com maior grau de esclerofilia (GLUZEZAK, 2005; PIL, dados não publicados). Os valores pareados de fluxo gênico entre as populações mostram que a população da Estepe Gramíneo-Lenhosa tem maior interação gênica com a população com a qual compartilha características ambientais mais parecidas, a Floresta Ombrófila Densa Alto Montana. A população da Floresta Ombrófila Mista também tem maior interação gênica com a população com a qual compartilha características mais parecidas, a Floresta Ombrófila Densa Montana. No entanto, o fluxo gênico da população da Floresta Ombrófila Densa Alto Montana é maior com o da população da Floresta Ombrófila Densa Montana. Há uma maior proximidade geográfica entre essas duas populações (Figura 1), o que pode explicar esse maior número de migrantes efetivos, além de ter que se considerar que esses valores podem representar uma migração ancestral.

Um estudo com *Atriplex halimus* (ORTÍZ-DORDA *et al.*, 2005) também mostrou dados de diferenciação populacional resultantes do uso da técnica de RAPD que corroboraram com as diferenças morfológicas das populações. KNIGHT *et al.* (2006) encontraram genes específicos para duas populações de *Boechera holboellii* usando AFLP. Essas populações possuíam diferente disponibilidade de água, sendo uma bem irrigada e a outra mais xérica. O transplante recíproco das plantas resultou

em baixa ou nenhuma taxa de sobrevivência, sugerindo adaptação local baseada na diferenciação genética.

Outros trabalhos, no entanto, não encontraram essa relação. GARDNER e LATTA (2006), por exemplo, encontraram alelos sob seleção em populações de *Avena barbata* através da técnica de QTL (Quantitative Trait Loci). Entretanto, esses alelos estavam sob seleção nos dois ambientes estudados, indicando que não eram os responsáveis pelas divergências morfológicas dos indivíduos daquelas populações.

A congruência encontrada entre os dendogramas dos dados morfoanatômicos e o dos dados genéticos das populações de *M. sellowiana* desse estudo indica que as divergências observadas podem ser causadas por adaptação local ou por deriva genética. Essa congruência evidencia a coincidência dos eventos de divergência morfoanatômica e genética entre as populações. O pressuposto desta análise é que se os eventos aconteceram juntos, eles devem estar estritamente relacionados. Uma análise morfoanatômica de indivíduos transplantados de uma população para outra (transplante recíproco) seria capaz de testar a hipótese que as diferenças morfológicas observadas são associadas a diferentes composições genéticas e não à plasticidade fenotípica da espécie.

REFERÊNCIAS

- BEEBEE, T. J. C.; ROWE, G. **An introduction to molecular ecology**. New York: Oxford University Press, 2004.
- BRADSHAW, A. D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. **Advanced Genetics**, [S.I.], v. 13, p. 115-155, 1965.
- CARDOSO, G. L.; LOMÔNACO, C. Variações fenotípicas e potencial plástico de *Eugenia calycina* Cambess. (Myrtaceae) em uma área de transição cerrado-vereda. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 131-140, 2003.
- CONNER, J. K.; HARTL, D. L. **A primer of ecological genetics**. [S.I.]: Sinauer Associates, 2004.
- FERRER, M. M.; EGUIARTE, L. E.; MONTAÑA, C. Genetic structure and outcrossing rates in *Flourensia cernua* (Asteraceae) growing at different densities in the South-western Chihuahuan Desert. **Annals of Botany**, London, v. 94, p. 419-426, 2004.
- FREITAS, L. B.; BERED, F. (orgs.). **Genética e Evolução Vegetal**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.
- GARDNER, K. M.; LATTA, R. G. Identifying loci under selection across contrasting environments in *Avena barbata* using quantitative trait locus mapping. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 15, n. 5, p. 1321-1333, 2006.
- GE, X.; YU, Y.; YUAN, Y.; HUANG, H.; YAN, C. Genetic diversity and geographic differentiation in endangered *Ammopiptanthus* (Leguminosae) populations in desert regions of Northwest China as revealed by ISSR analysis. **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 843-851, 2005.
- GLUZEZAK, R. M. **Morfo-anatomia foliar de *Miconia sellowiana* Naudin (Melastomataceae) em diferentes formações vegetacionais no estado do Paraná, Brasil**. Curitiba, 2005. 62f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- GOLDENBERG, R. **O Gênero *Miconia* Ruiz & Pav.(Melastomataceae): I. Listagens analíticas, II. Revisão Taxonômica da seção *Hypoxanthus* (Rich. Ex DC.) Hook.F**. Campinas, 2000. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- GOLDENBERG, R. O gênero *Miconia* (Melastomataceae) no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 18, n.4, p. 927-947, 2004.
- GONZALÉS-ASTORGA, J.; VOVIDES, A. P.; CRUZ-ANGON, A.; OCTAVIO-AGUILAR, P.; IGLESIAS, C. Allozyme variation in the three extant populations of

the narrowly endemic cycad *Dioon angustifolium* Miq. (Zamiaceae) from North-eastern Mexico. **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 999-1007, 2005.

KANG, M. JIANG, M.; HUANG, H. Genetic diversity in fragmented populations of *Berchemiella wilsonii* var. *pubipetiolata* (Rhamnaceae). **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 1145-1151, 2005.

KNIGHT, C. A.; VOGEL, H.; KROYMANN, J.; SHUMATE, A.; WITSENBOER, H.; MITCHELL-OLDS, T. Expression profiling and local adaptation of *Boechera holboellii* populations for water use efficiency across a naturally occurring water stress gradient. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 15, n. 5, p. 1229-1237, 2006.

LEHMANN, C.; REBELE, F. Phenotypic plasticity in *Calamagrostis epigejos* (Poaceae): response capacities of genotypes from different populations of contrasting habitats to a range of soil fertility. **Acta Oecologica**, Paris, v. 28, n. 2, p. 127-140, 2005.

LU, Y.; WALLER, D. M.; DAVID, P. Genetic variability is correlated with population size and reproduction in American wild-rice (*Zizania palustris* var. *palustris*, Poaceae) populations. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n. 6, p. 990-997, 2005.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Science**, [S.I.], vol. 70, p.3321-3323, 1973.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, [S.I.], v. 89, p. 583-590, 1978.

ORTÍZ-DORDA, J.; MARTINEZ-MORA, C.; CORREAL, E.; SIMON, B.; CENIS, J. L. Genetic structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean Basin. **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 827-834, 2005.

PHARMAWATI, M.; YAN, G.; FINNEGAN, P. M. Molecular variation and fingerprinting of *Leucadendron* cultivars (Proteaceae) by ISSR markers. **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 1163-1170, 2005.

RIBEIRO, R. A.; RAMOS, A. C. S.; FILHO, J. P. DE L.; LOVATO, M. B. Genetic variation in remnant populations of *Dalbergia nigra* (Palpilionoideae), an endangered tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 1171-1177, 2005.

SCHLICHTING, C. D. The evolution of phenotypic plasticity in plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, California, v. 17, p. 667-693, 1986.

SHANNON, C.E.; WEAVER, W. **The mathematical theory of communication**. Urbana: University of Illinois Press, 1949.

SLATKIN, M.; BARTON, N.H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, [S.I.], v. 43, p. 1349-1368, 1989.

SULTAN, S. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 5, n. 12, p. 537-542, 2000.

SULTAN, S. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution & Development**, [S.I.], v. 5, n. 1, p. 25-33, 2003.

WRIGHT, S. The genetic structure of populations. **Annual of Eugenetics**, [S.I.], v. 15, p. 323-345, 1951.

ANEXO 1

grupos	id	locus-1-1	locus-1-2	locus-1-3	locus-1-4	locus-1-5	locus-1-6	locus-1-7	locus-1-8	locus-1-9	locus-1-10	locus-1-11	locus-1-12	locus-1-13
a	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0
a	2	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0
a	3	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0
a	4	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0
a	5	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1
a	6	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0
a	7	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0
a	8	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1
a	9	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1
a	10	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0
b	11	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1
b	12	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0
b	13	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0
b	14	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0
b	15	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0
b	16	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0
b	17	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1
c	18	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0
c	19	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1
c	20	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1
c	21	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0
c	22	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1
c	23	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
c	24	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9
c	25	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
c	26	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0
c	27	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1
d	28	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0
d	29	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0
d	30	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0
d	31	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0
d	32	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
d	33	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0
d	34	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
d	35	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0
d	36	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
d	37	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0

locus-1-14	locus-1-15	locus-1-16	locus-1-17	locus-1-18	locus-1-19	locus-7-1	locus-7-2	locus-7-3	locus-7-4	locus-7-5	locus-7-6	locus-7-7	locus-7-8	locus-7-9
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0
1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0
1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0
0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<hr/>														
0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<hr/>														
1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1
0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0
0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
-9	-9	-9	-9	-9	-9	1	1	1	1	0	0	1	1	0
0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
<hr/>														
0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1
0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0
0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0

locus-7-10	locus-7-11	locus-7-12	locus-7-13	locus-7-14	locus-7-15	locus-7-16	locus-7-17	locus-7-18	locus-7-19	locus-7-20	locus-7-21	locus-7-22	locus-7-23	locus-7-24
0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0
1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1
0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1
1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1
1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1
1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1
0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0
1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1
1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1
1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0
0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1
1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1
1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0

locus-7-25	locus-7-26	locus-7-27	locus-7-28	locus-7-29	locus-7-30	locus-7-31	locus-8-1	locus-8-2	locus-8-3	locus-8-4	locus-8-5	locus-8-6	locus-8-7	locus-8-8
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0
1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0

locus-8-9	locus-8-10	locus-8-11	locus-8-12	locus-8-13	locus-8-14	locus-8-15	locus-8-16	locus-8-17	locus-8-18	locus-8-19	locus-8-20	locus-8-21	locus-8-22	locus-8-23
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<hr/>														
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<hr/>														
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<hr/>														
0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0
0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0
0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1
0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0

locus-9-1	locus-9-2	locus-9-3	locus-9-4	locus-9-5	locus-9-6	locus-9-7	locus-9-8	locus-9-9	locus-9-10	locus-9-11	locus-9-12	locus-10-1	locus-10-2	locus-10-3
1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	-9	0	0	1	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0
1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0
1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0
1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0

locus-10-4	locus-10-5	locus-10-6	locus-10-7	locus-10-8	locus-10-9	locus-10-10	locus-10-11	locus-10-12	locus-10-13	locus-10-14	locus-10-15	locus-10-16	locus-10-17
0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1
1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	-9
1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1
1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1
0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1
1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0
1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	-9
1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1
-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1
1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1
1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1
-9	-9	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1
1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	-9	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1
1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	-9	1
1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1
1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
-9	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	-9	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1
1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	-9	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1
1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	-9	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1
0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1

locus-10-18	locus 11-1	locus 11-2	locus 11-3	locus 11-4	locus 11-5	locus 11-6	locus 11-7	locus 11-8	locus 11-9	locus 11-10	locus 11-11	locus 11-12	locus 11-13
0	0	0	0	0	1	-9	1	1	1	1	0	0	0
0	0	0	0	1	1	-9	1	1	1	1	1	0	0
0	0	0	0	0	1	-9	1	1	1	0	0	0	0
0	0	-9	-9	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
0	0	-9	-9	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0
0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
0	0	0	0	0	1	0	1	-9	1	1	0	0	0
0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
<hr/>													
0	0	0	0	-9	1	-9	1	1	1	1	0	0	0
0	0	1	0	1	1	-9	1	-9	1	1	1	0	1
0	0	1	1	1	1	-9	1	1	1	0	1	1	1
-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9
0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	-9
0	0	0	1	0	1	-9	1	0	1	1	1	0	0
<hr/>													
0	0	0	0	1	1	-9	1	0	1	1	0	0	0
0	0	0	0	1	1	-9	1	0	1	1	1	0	1
0	0	-9	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1
0	0	1	-9	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0
0	0	1	-9	0	1	1	1	-9	1	1	0	1	0
0	0	-9	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	1	1	1	-9	1	0	1	1	0
0	0	1	1	0	1	1	1	-9	1	1	0	1	0
0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1
<hr/>													
0	0	0	0	1	1	-9	1	1	1	1	1	0	1
1	0	1	0	0	1	-9	1	1	1	1	0	1	0
0	0	1	-9	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	-9	0
0	0	-9	-9	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1
0	0	0	-9	0	1	1	1	-9	1	1	1	0	0
0	0	1	0	0	1	1	-9	1	1	1	1	0	0
0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
0	0	1	-9	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0
0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0

locus 11-14	locus 11-15	locus 11-16	locus 11-17	locus 11-18	locus 11-19	locus 11-20	locus 11-21	locus 12-1	locus 12-2	locus 12-3	locus 12-4	locus 12-5	locus 12-6
0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0
0	0	1	0	0	0	1	0	-9	-9	-9	-9	-9	-9
0	0	1	0	0	1	1	0	-9	-9	-9	-9	-9	-9
0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	1	-9	0	0	1	1	0	1	0
0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1
-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	0	1	1	0	0	0
0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1
1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	1	0	0	0	-9	1	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0
0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0
0	1	0	0	0	-9	1	0	1	0	0	0	0	1
0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0
0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0

locus 12-7	locus 12-8	locus 12-9	locus 12-10	locus 12-11	locus 12-12	locus 12-13	locus 12-14	locus 12-15	locus 13-1	locus 13-2	locus 13-3	locus 13-4	locus 13-5
0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	0	1	0	0	1
-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1
0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
0	1	1	0	0	0	0	0	0	-9	-9	-9	-9	-9
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1

locus 13-6	locus 13-7	locus 13-8	locus 13-9	locus 13-10	locus 13-11	locus 13-12	locus 13-13	locus 13-14	locus 13-15	locus 13-16	locus 13-17	locus-15-1	locus-15-2
0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0
1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
<hr/>													
0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1
0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1
0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
<hr/>													
0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	-9	0	0
0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
<hr/>													
0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0
0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0

locus-15-3	locus-15-4	locus-15-5	locus-15-6	locus-15-7	locus-15-8	locus-15-9	locus-15-10	locus-15-11	locus-15-12	locus-15-13	locus-15-14	locus-15-15	locus-15-16
0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0
<hr/>													
0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0
0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1
<hr/>													
0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0
0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0

locus-15-17	locus-15-18	locus-15-19	locus-15-20	locus-15-21	locus-15-22	locus-15-23	locus-15-24	locus-15-25	locus-18-1	locus-18-2	locus-18-3	locus-18-4	locus-18-5
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1
<hr/>													
1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
<hr/>													
0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<hr/>													
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0
0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1

locus-18-6	locus-18-7	locus-18-8	locus-18-9	locus-18-10	locus-18-11	locus-18-12	locus-18-13	locus-18-14	locus-18-15	locus-18-16	locus-18-17	locus-18-18	locus-18-19
0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1
1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1
1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1
1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1
1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1
1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1
1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1
0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1
0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1
0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1
1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1
0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1
0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1
0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1
0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1
1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1
1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1
1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1

locus-18-20 locus-18-21 locus-18-22

0	1	0
0	1	1
0	1	0
1	1	1
0	1	0
0	1	1
1	1	1
0	1	1
1	1	1
1	1	0
<hr/>		
0	1	0
1	1	0
0	1	0
0	1	1
0	1	0
1	1	1
1	1	1
<hr/>		
1	1	0
0	1	0
0	1	0
0	1	0
0	1	0
1	1	0
0	1	0
0	1	0
1	1	0
1	1	0
<hr/>		
1	0	1
0	1	1
1	1	1
1	1	0
0	1	0
1	1	0
1	1	0
0	1	1
0	1	1
0	0	1

ANEXO 2

Valores médios e erros padrão (entre parênteses) das variáveis morfológicas (n = 96) das folhas de *M. sellowiana* nas diferentes formações vegetacionais. Letras diferentes para a mesma variável representam valores estatisticamente diferentes (p< 0,05). Fonte: GLUZEZAK, 2005 e PIL, dados não publicados.

Variáveis morfológicas	Floresta Ombrófila Densa Alto Montana	Estepe Gramíneo-Lenhosa	Floresta Ombrófila Densa Montana	Floresta Ombrófila Mista
Área foliar (cm²)	3,51 (0,09) d	4,33 (0,14) c	7,55 (0,24) b	10,77 (0,46) a
Massa foliar (g)	0,05 (0) d	0,06 (0) c	0,07 (0) b	0,08 (0) a
Densidade estomática (n°.mm⁻²)	1383,64 (26,92) a	1133,2 (11,64) b	769,54 (11,71) c	556,34 (9,87) d
Espessura total da lâmina (µm)	163,92 (12,23) a	161,63 (4,25) a	116,87 (6,25) b	76,63 (2,06) c