

SILVA LUSITANA

REVISTA DA ESTAÇÃO FLORESTAL NACIONAL



SEPARATA

VOL 5, nº 2, Dezembro 1997

Contribuição para o Estudo da Relação do Polimorfismo Isoenzimático com a Qualidade da Cortiça^(*)

Filomena Nóbrega

Investigadora Auxiliar

Estação Florestal Nacional, Tapada das Necessidades, 1350 Lisboa

Sumário. Na segunda parte deste trabalho e recorrendo a métodos de taxonomia numérica, pretende-se estabelecer possíveis correlações entre as características morfológicas da cortiça, em árvores produtoras de boa e má cortiça, e os seus modelos electroforéticos das isoenzimas, para uma selecção atempada.

Palavras-chave: sobreiro; isoenzimas; taxonomia numérica; cortiça

Abstract. We have analysed the morphological characteristics of cork, with a view to explaining the correlation between isozyme banding patterns and the qualitative characteristics of the cork tissue, based on isozyme banding patterns and numerical taxonomy methods.

Key words: cork oak; isoenzymes; numerical taxonomy; cork

Resumé. Les méthodes de taxonomie numérique permettent d'établir des relations possibles entre les caractéristiques morphologiques du liège, sur les arbres qui produisent du liège de bonne et mauvaise qualité, ainsi que des modèles électrophorétiques des isoenzymes, en vue d'une sélection opportune.

Mots clés: chêne liège; isoenzymes; taxonomie numérique; liège

Introdução

Na tentativa de podermos relacionar a morfologia da cortiça com os resultados obtidos para os seis sistemas enzimáticos analisados, α, β -carboxilesterases (EC.3.1.1.1), fosfatase ácida (EC.3.1.3.2), aspartato aminotransferase (EC.2.6.1.1), fosfoglucose isomerase (EC.5.3.1.9), álcool desidrogenase (EC.1.1.1.1) e leucina aminopeptidase (EC.3.4.11.1) (NÓBREGA, 1997), utilizamos 32 características, referidas no Quadro 1, com os respectivos códigos por nós utilizados, e determinadas com base no critério de pontuação ponderada e de acordo com um referencial ou peso quanto à maior ou menor importância dos caracteres, não só quanto à forma da superfície geradora de cortiça ou ao hábito da árvore que a potencializou com maior potencial produtivo, mas também na perspectiva da principal função a ser exercida pela cortiça no engarrafamento (CARVALHO, 1992). Os valores dessas características para as 59 árvores encontram-se registados no Anexo I.

^(*) Este trabalho constitui a 2ª parte do tema da Tese de Doutoramento da autora.

Quadro 1 - Características morfológicas da cortiça

Particularidades da Barriga	Estrutura da Massa	Particularidades da Costa
COR (BC)	INCLUSÕES - tipo (MIT) - tamanho (MITA) - densidade (MID)	RELEVO - em fendimento (CRF) - em elevação (CRE)
RELEVO (BR)	CANAIS LENTICULARES - forma (MCLF) - tamanho (MCLT) - densidade (MCLD)	FIO DA CORTIÇA (CFC)
LENTÍCULAS (porosidade) - tipo (BLT) - tamanho (BLTA) - agregação (BLA) - oclusão (BLO) - densidade (BLD) - distribuição (BLDI) - densidade unitária (n°/cm^2) (DU)	EXPANSÕES - solitárias (MES) - seriadas (MESE) - multianelares (MEM) - densidade (MED)	
INCRUSTAÇÕES - densidade (BID)	CAMADAS DE CRIAÇÃO (MCC)	
	ALTERAÇÕES CROMÁTICAS - tipo (MACT) - intensidade cor (MACI)	
	VERDE - intensidade de formação (MVI) - extensão superficial (MVE) - distribuição (MVD)	
	COR (MC)	

Outras características	
ESPESSURA DA CORTIÇA (mm) (ESP)	DENSIDADE (aparente) (g/cm^3) (DA)

O critério de classificação das cortiças utilizado atribui uma pontuação geral a cada árvore, sempre penalizadora e, conseqüentemente, quanto mais alto for esse valor pior será a qualidade da cortiça. Como critério de separação de árvores em relação à qualidade da cortiça, consideram-se árvores produtoras de boa cortiça, quando os valores dessa pontuação geral são inferiores a 180, e árvores produtoras de má cortiça quando essa pontuação é superior (CARVALHO, 1992). Com base neste limite, apresentam-se no Quadro 2 os dois grupos de árvores.

Quadro 2 - Árvores produtoras de boa e má cortiça

Árvores produtoras de boa cortiça		Árvores produtoras de má cortiça	
Árvores	Pontuação total	Árvores	Pontuação total
A2	97	A3	220
A4	109	A5	323
A6	133	A7	201
A10	141	A8	213
A11	170	A9	285
A14	151	A12	194
A15	164	A13	208
A16	122	A17	262
A18	149	A19	295
A34	170	A20	275
A39	171	A21	320
A42	175	A22	330
A46	151	A23	182
A48	173	A24	190
A57	180	A25	242
A58	122	A26	267
A61	110	A35	203
A63	118	A36	345
A65	83	A37	327
A68	127	A40	216
A69	157	A43	215
		A44	251
		A45	278
		A47	230
		A49	212
		A50	252
		A51	182
		A52	287
		A53	185
		A54	201
		A55	235
		A56	329
		A59	216
		A60	356
		A62	183
		A64	260
		A66	329
		A67	294

Material e métodos

O universo de amostras sobre o qual incidiu o estudo incluiu 59 árvores, localizadas nas parcelas instaladas nos Concelhos de Ponte de Sôr, Chamusca,

Coruche, Mora, Vendas Novas, Sousel, Alcacer do Sal, Grândola e Arraiolos (NÓBREGA, 1997).

Métodos de taxonomia numérica

Para a análise das características da cortiça (dados quantitativos), preparou-se previamente a matriz de dados, com 59 linhas (OTUs) correspondentes às árvores analisados, e com 32 colunas relativas às características morfológicas da cortiça e sem valores omissos.

De seguida, fez-se a estandardização da matriz original, obtendo-se uma nova matriz de dados estandardizados, em que a média dos valores de cada característica é agora zero e a respectiva variância 1. Esta operação consistiu em calcular para cada característica a respectiva média e desvio padrão, e, em seguida, substituir cada valor original pelo quociente entre a sua diferença à média e o respectivo desvio padrão.

Para estes dados quantitativos, a semelhança calculou-se utilizando como coeficiente a distância Euclidiana média, que representa a distância entre os pontos representativos de duas amostras num espaço, que terá tantas dimensões quantas as características utilizadas. Para amostras iguais essa distância é zero, e aumenta com a dissemelhança entre amostras.

Dos vários métodos de agregação do tipo sequencial, aglomerativo, hierárquico e de não sobreposição, isto é, do tipo designado por SAHN (SNEATH e SOKAL, 1973), usou-se o método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using arithmetic Averages), resultando o clássico fenograma.

Para aquele fenograma foi calculado o coeficiente de correlação cofenética entre a matriz de valores cofenéticos que exprimem a relação de semelhança entre OTUs implícita no fenograma e a matriz de dissemelhança (ou semelhança), exprimindo esse coeficiente de correlação cofenética o grau de concordância entre aquelas duas matrizes.

Utilizou-se também, para uma melhor apreciação dos resultados e como complemento, o método de agregação da árvore de conexão mínima (MST - Minimum Spanning Tree), que consiste em ligar os diferentes OTUs (árvores) por linhas (conexões) resultando uma "rede" de ligação entre elas.

O método de ordenação usado para obter uma imagem da distribuição dos pontos representativos das 59 árvores em estudo, no espaço a n dimensões, foi a análise em componentes principais, que permite reduzir o número de dimensões iniciais, projectando as árvores num novo sistema de eixos ortogonais. Estes eixos são escolhidos de modo a que o primeiro (primeira componente principal) tenha a direcção em que se verifica a maior dispersão dos pontos, outro (segunda componente principal) numa direcção em que, sendo ortogonal à primeira, se verifica a segunda maior dispersão dos mesmos pontos, e assim sucessivamente. A análise em componentes principais obtém-se a partir da matriz de correlação entre variáveis sobre a qual são calculados os vectores próprios e os valores próprios. Com o programa PROJ que utiliza a matriz de vectores próprios e a matriz de dados estandardizados são calculadas as novas coordenadas dos OTUs, no novo sistema de eixos principais.

Foram ainda feitas as projecções das características morfológicas da cortiça nas três primeiras componentes principais, que nos permitem analisar a contribuição de

cada ca
Fi
sistema
caracte
A
quantit
matrize

Figura 1

Coruche, Mora, Vendas Novas, Sousel, Álcacer do Sal, Grândola e Arraiolos (NÓBREGA, 1997).

Métodos de taxonomia numérica

Para a análise das características da cortiça (dados quantitativos), preparou-se previamente a matriz de dados, com 59 linhas (OTUs) correspondentes às árvores analisados, e com 32 colunas relativas às características morfológicas da cortiça e sem valores omissos.

De seguida, fez-se a standardização da matriz original, obtendo-se uma nova matriz de dados standardizados, em que a média dos valores de cada característica é agora zero e a respectiva variância 1. Esta operação consistiu em calcular para cada característica a respectiva média e desvio padrão, e, em seguida, substituir cada valor original pelo quociente entre a sua diferença à média e o respectivo desvio padrão.

Para estes dados quantitativos, a semelhança calculou-se utilizando como coeficiente a distância Euclidiana média, que representa a distância entre os pontos representativos de duas amostras num espaço, que terá tantas dimensões quantas as características utilizadas. Para amostras iguais essa distância é zero, e aumenta com a dissimilaridade entre amostras.

Dos vários métodos de agregação do tipo sequencial, aglomerativo, hierárquico e de não sobreposição, isto é, do tipo designado por SAHN (SNEATH e SOKAL, 1973), usou-se o método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using arithmetic Averages), resultando o clássico fenograma.

Para aquele fenograma foi calculado o coeficiente de correlação cofenética entre a matriz de valores cofenéticos que exprimem a relação de semelhança entre OTUs implícita no fenograma e a matriz de dissimilaridade (ou semelhança), exprimindo esse coeficiente de correlação cofenética o grau de concordância entre aquelas duas matrizes.

Utilizou-se também, para uma melhor apreciação dos resultados e como complemento, o método de agregação da árvore de conexão mínima (MST - Minimum Spanning Tree), que consiste em ligar os diferentes OTUs (árvores) por linhas (conexões) resultando uma "rede" de ligação entre elas.

O método de ordenação usado para obter uma imagem da distribuição dos pontos representativos das 59 árvores em estudo, no espaço a n dimensões, foi a análise em componentes principais, que permite reduzir o número de dimensões iniciais, projectando as árvores num novo sistema de eixos ortogonais. Estes eixos são escolhidos de modo a que o primeiro (primeira componente principal) tenha a direcção em que se verifica a maior dispersão dos pontos, outro (segunda componente principal) numa direcção em que, sendo ortogonal à primeira, se verifica a segunda maior dispersão dos mesmos pontos, e assim sucessivamente. A análise em componentes principais obtém-se a partir da matriz de correlação entre variáveis sobre a qual são calculados os vectores próprios e os valores próprios. Com o programa PROJ que utiliza a matriz de vectores próprios e a matriz de dados standardizados são calculadas as novas coordenadas dos OTUs, no novo sistema de eixos principais.

Foram ainda feitas as projecções das características morfológicas da cortiça nas três primeiras componentes principais, que nos permitem analisar a contribuição de

cada característi
Finalmente
sistemas isoenz
características n
A Figura
quantitativos,
matrizes são os

cada característica na disposição espacial das árvores.

Finalmente, efectuou-se a comparação da matriz de semelhança baseada nos sistemas isoenzimáticos (NÓBREGA, 1997) com a matriz de distâncias baseada nas características morfológicas da cortiça, e determinou-se o coeficiente de correlação.

A Figura 1 mostra o fluxograma referente à análise da matriz de dados quantitativos, em que os nomes dos diferentes programas que operam sobre as matrizes são os usados no sistema de programas NTSYS (VER. 1.7) (ROHLF, 1992).

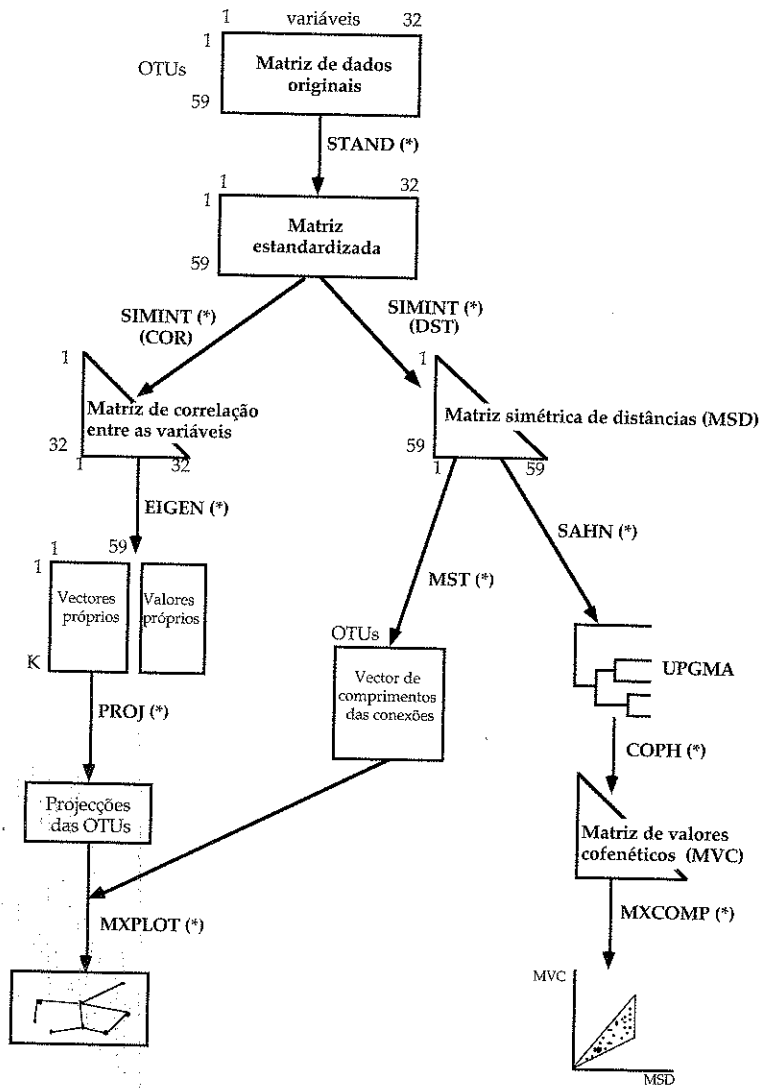


Figura 1 - Fluxograma para dados quantitativos. (*) Programas que operam sobre as matrizes usadas no sistema de programas NTSYS (VER. 1.7)

Resultados e discussão

Análise das características morfológicas da cortiça

Para a análise das características morfológicas da cortiça, preparou-se previamente a matriz de dados, apresentada no Anexo I, com 59 linhas correspondentes às árvores analisadas, e com 32 colunas relativas às características morfológicas da cortiça e sem valores omissos.

Na Figura 2 apresenta-se o fenograma de distâncias obtido a partir dos dados estandardizados. O coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,829, que indica que o fenograma é uma representação aceitável da respectiva matriz.

Da sua análise verificamos que as características morfológicas da cortiça não permitem separar as 59 árvores, não havendo portanto agrupamentos.

Na Figura 3 representa-se a árvore de conexão mínima sobreposta às projecções das 59 árvores no plano definido pela primeira e segunda componentes principais, com os valores da percentagem de variância total explicada por cada um dos eixos coordenados de 14,74 para a primeira, 13,34 para a segunda, e sendo a percentagem acumulada para as três primeiras componentes principais de 37,65, que se podem considerar um resumo bastante pobre da informação original.

Numa análise em conjunto podemos observar como as diferentes árvores se ligam entre si. Assim, verificamos que as árvores A2 e A6 são dois núcleos de ligação muito próximos, estando a A2 ligada às árvores A10, A11, A15, A39, A40, A58, A61, A63, A68, e a árvore A6 ligada às árvores A12, A14, A23, A24 e A46.

Usando, como atrás indicado, o critério da qualidade da cortiça apresentado no Quadro 2, verificamos que as árvores A12 (194), A23 (182) e A24 (190), embora já com uma pontuação total superior ao limite usado na classificação, se apresentam agrupadas com as árvores por nós consideradas de boa cortiça. Esta não concordância com o critério adoptado e os respectivos valores das suas pontuações poderá eventualmente indicar a subjectividade na classificação usada na cortiça.

A análise das projecções das características morfológicas da cortiça nas três primeiras componentes principais, mostra-nos a importância relativa de cada variável na disposição espacial das árvores. Na Figura 4 representam-se as projecções das características morfológicas da cortiça nas primeira e segunda componentes principais sobrepostas às projecções das árvores com base na morfologia da cortiça.

Verificamos que a primeira componente principal separa as árvores pela qualidade da cortiça, colocando à esquerda as produtoras de boa cortiça e à direita as de má cortiça.

A primeira componente principal é influenciada pelas características verde (MVD, MVI e MVE), alterações cromáticas (MACT e MACI) e densidade dos canais lenticulares (MCLD) da estrutura da massa, que são características com influência negativa na qualidade da cortiça. É influenciada também por algumas características da barriga, a densidade das lentículas (BLD) e densidade unitária (DU), e ainda pela espessura (ESP) e densidade aparente (DA).

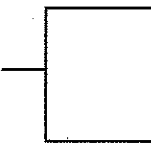


Figura 2 - Fenograma de distâncias

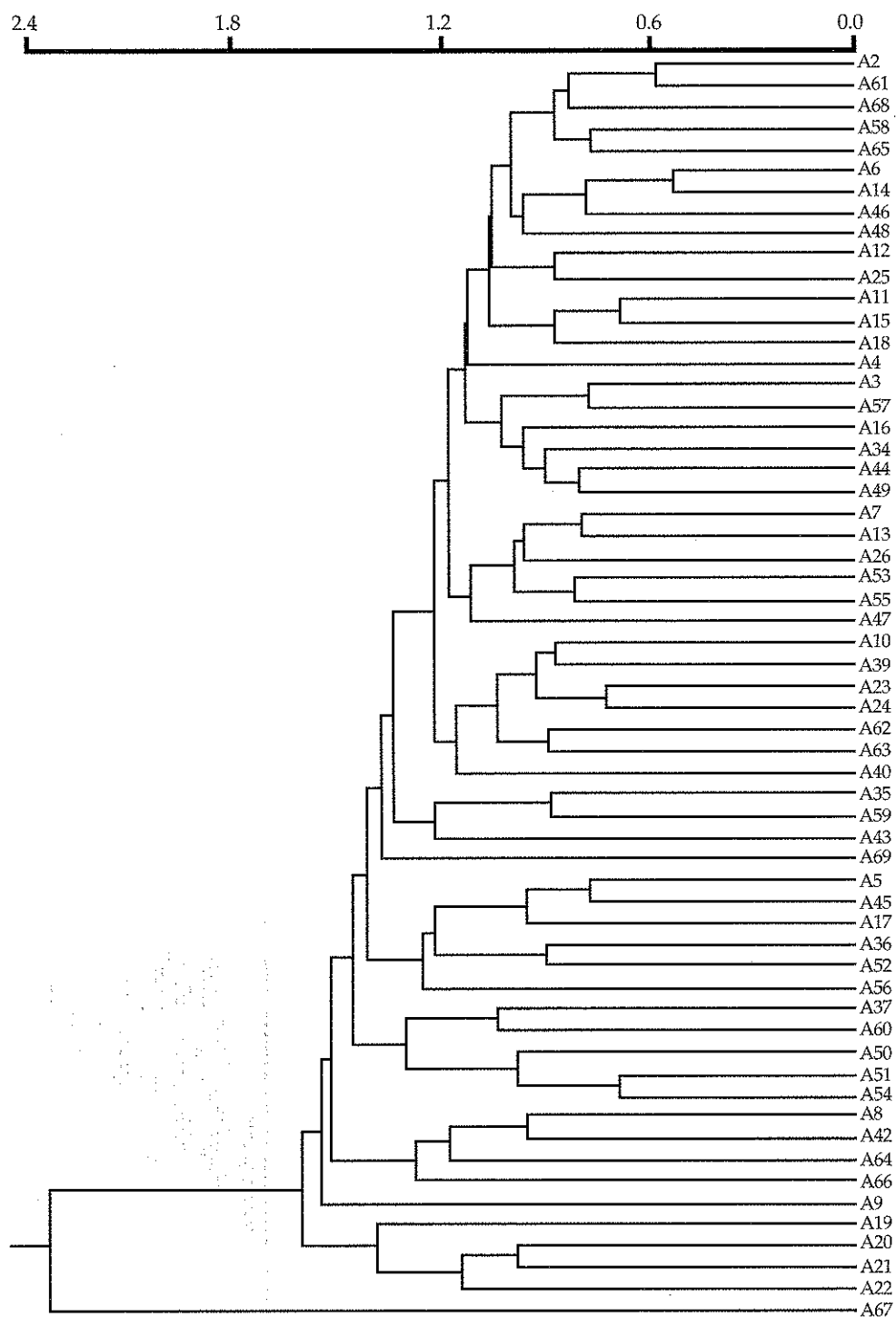


Figura 2 - Fenograma das 59 árvores baseado no método UPGMA aplicado à matriz de distâncias (coeficiente de correlação cofenética $r = 0,829$)

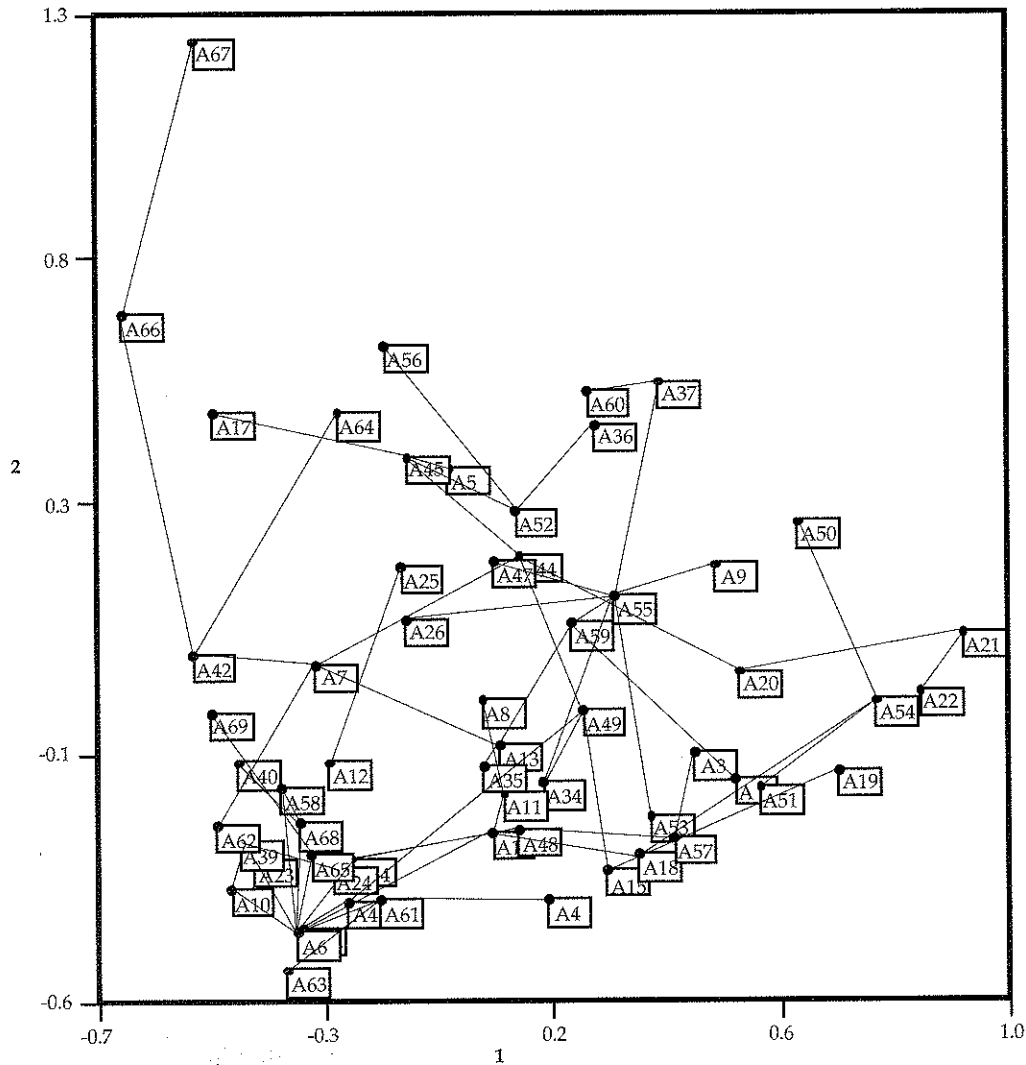


Figura 3 - Árvore de conexão mínima sobreposta à projecção das 59 árvores no plano definido pela primeira componente principal (14,74%) e pela segunda componente principal (13,34%) com base nas características morfológicas da cortiça

A segunda componente principal separa as árvores pelas características da massa: tipo, tamanho e densidade das inclusões (MIT, MITA e MID).

Em virtude da percentagem acumulada para as três primeiras componentes principais ser de 37,65, o que nos indica a pobreza da informação original, apresentamos também na Figura 5 as projecções das características morfológicas da cortiça nas primeira e terceira componentes principais sobrepostas às projecções das mesmas árvores com base na morfologia da cortiça.

Conclusões

Com este trabalho estamos a dar o nosso contributo para o aumento de conhecimento da variabilidade genética do sobreiro, através do polimorfismo isoenzimático.

Concluimos que existe uma grande diversidade isoenzimática entre árvores e entre zonas de sobreiro, demonstrada pelos índices de polimorfismo e pela análise dos sistemas isoenzimáticos (NÓBREGA, 1997) e das características da cortiça, por métodos de taxonomia numérica, e que aqueles sistemas enzimáticos não estão geneticamente correlacionados com a qualidade da cortiça, conforme era objectivo do nosso trabalho.

Operando os complexos processos e padrões de diferenciação das espécies vegetais em vários níveis, desde o nível molecular da mutação ao nível biológico da adaptação, não podemos referir nenhum deles como o mais importante, mas tentar aprofundar o conhecimento dos diversos aspectos da diferenciação, essencial para uma avaliação precisa do potencial evolutivo dum dado desenvolvimento.

Provavelmente pela complexidade dos fenómenos envolvidos, não foi possível detectar diferenças que permitissem distinguir indivíduos e populações, e estabelecer relações entre os indivíduos, através dos modelos electroforéticos das isoenzimas e a qualidade da cortiça, a serem possivelmente utilizadas como estratégia de selecção juvenil. Alguns estudos realizados por diversos autores e referidos em URBANSKA (1987), mostram que não só o processo de reprodução é importante, mas também o fluxo génico, a flexibilidade fenotípica ou a localização, o que quer dizer que não há uma separação clara entre a genética, a ecologia e o comportamento da espécie, mas que é necessário que diversas áreas da ciência da vida sejam integradas.

Agradecimentos

Ao Doutor Engenheiro Luís Carneiro, pela disponibilidade, pelo saber e conhecimentos que me pôs à disposição na execução e análise de resultados.

Bibliografia

- CARNEIRO, L.C., 1987. Aplicação de Métodos de Taxonomia Numérica à Ampelografia de *Vitis vinifera* L.. Tese de Doutoramento. ISA, Universidade Técnica de Lisboa.
- CARVALHO, A., 1992. Melhoramento da Qualidade e Produtividade do Ecosistema do Sobreiro. Relatório do Projecto Comunitário CAMAR - PL nº 900653.
- NÓBREGA, F., 1997. Polimorfismo Isoenzimático na Caracterização do Sobreiro. *Silva Lusitana* 5(1) : 29-58, Lisboa.
- ROHLF, F.J., 1992. NTSYS-*pc*. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (VER 1.7). Exeter Software. Setanket, New York.
- SNEATH, SOKAL, 1973. (Cit. Carneiro, 1987).
- URBANSKA, K.A., 1987. *Differentiation Patterns in Higher Plants*. Academic Press, London.

(Aceite para publicação em Setembro de 1997)

Anexo I

Registo das características morfológicas da cortiça para as 59 árvores
(Matriz de dados)

Árvores	BC	BR	BLT	BLTA	BLA	BLO	BLD	BLDI	BID	MIT	MITA	MID	MCLF	MCLT	MCLD	MES	MESE
A2	5	5	12	10	5	0	15	0	0	5	0	0	0	0	10	0	13
A3	10	5	34	15	20	0	0	0	0	10	5	5	0	10	20	2	4
A4	0	5	19	20	5	0	0	0	0	0	0	0	2	15	10	0	9
A5	10	10	28	22	10	0	15	0	0	10	35	25	0	15	10	3	9
A6	0	5	13	12	10	0	15	0	0	0	0	0	0	15	0	1	12
A7	5	5	19	20	5	0	30	10	0	10	10	25	0	15	10	0	7
A8	5	5	15	15	0	0	15	10	0	20	5	5	0	20	10	0	23
A9	5	5	50	20	20	0	15	10	0	20	5	5	0	30	10	0	0
A10	0	0	23	10	10	0	15	0	0	10	5	5	0	10	10	0	18
A11	5	5	24	15	0	0	15	0	0	10	2	0	0	15	10	0	29
A12	5	5	5	20	20	0	15	0	0	15	3	5	0	10	0	0	21
A13	5	5	19	20	10	0	30	0	0	20	0	0	0	15	10	8	6
A14	0	10	13	15	10	0	15	0	0	0	0	0	0	15	10	0	13
A15	5	5	13	20	10	0	15	0	0	0	0	0	0	15	10	0	21
A16	10	5	14	10	0	0	0	0	0	10	5	5	0	15	10	8	0
A17	5	15	18	18	0	0	15	0	0	20	28	45	0	10	10	0	13
A18	10	0	12	22	5	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	2	18
A19	5	5	15	15	10	0	15	0	0	10	10	25	0	15	0	15	0
A20	10	5	15	15	0	0	0	15	0	20	20	5	0	10	10	15	20
A21	10	10	25	15	5	0	0	0	0	20	20	25	0	15	10	15	20
A22	10	10	25	20	20	0	15	0	0	10	5	5	0	15	10	15	20
A23	5	5	15	12	15	0	30	0	0	10	5	5	0	5	10	1	4
A24	5	10	19	11	20	0	30	0	0	10	5	0	0	5	10	7	3
A25	5	10	29	20	20	0	15	0	0	20	10	25	0	15	0	5	4
A26	0	5	24	15	20	0	30	0	0	10	20	45	0	20	10	3	9
A34	5	5	28	20	5	0	15	0	0	10	2	5	0	5	20	5	5
A35	5	5	15	15	20	0	15	0	0	15	0	0	5	15	10	10	7
A36	5	15	25	20	20	0	15	0	0	20	20	25	0	15	0	10	0
A37	10	15	12	25	20	0	15	0	0	20	20	25	0	15	10	0	15
A39	5	5	44	12	10	0	30	0	0	10	5	5	0	0	20	0	10
A40	5	5	13	10	20	0	15	0	0	20	5	5	0	0	20	0	10
A42	5	2	15	15	0	0	15	10	0	10	5	25	0	15	20	0	10
A43	10	5	14	15	15	0	15	0	0	0	0	0	5	0	10	3	4
A44	10	10	35	20	0	0	15	10	0	20	10	25	0	15	10	1	6
A45	10	10	35	15	5	0	15	0	0	20	30	25	0	15	10	3	3
A46	0	5	23	15	0	0	15	10	0	0	0	0	0	10	10	2	6
A47	10	5	32	25	20	0	15	0	0	10	5	5	0	20	10	3	11
A48	5	5	18	15	5	0	15	0	0	10	5	5	0	15	10	2	5
A49	5	5	28	20	10	0	0	10	0	10	5	5	0	15	10	2	3
A50	10	5	45	20	0	0	0	0	0	20	20	5	0	15	0	3	18
A51	5	5	15	12	0	0	0	0	0	20	10	5	0	5	0	0	5
A52	5	10	31	15	15	0	15	0	0	20	15	45	0	10	0	0	10
A53	5	5	31	20	20	0	15	0	0	0	0	0	0	20	0	7	3
A54	10	5	31	20	0	0	0	0	0	10	5	5	0	15	0	0	12
A55	5	5	30	25	20	0	15	0	0	10	20	25	0	15	10	1	11
A56	10	10	28	25	20	0	10	0	0	20	25	45	5	15	20	3	13
A57	5	5	21	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	20	2	9
A58	10	5	22	15	15	0	15	10	0	10	0	5	0	0	10	0	10
A59	5	10	21	25	20	0	15	0	0	10	5	5	5	15	10	0	12
A60	5	10	40	15	20	0	15	0	0	20	30	45	0	15	10	2	4
A61	5	10	13	10	10	0	15	0	0	5	0	5	0	0	10	0	2
A62	5	5	10	15	20	0	30	10	0	10	5	5	0	0	10	0	3
A63	0	0	5	10	5	0	15	10	0	10	5	0	0	0	10	3	3
A64	10	0	10	25	0	0	15	10	0	10	20	45	0	20	20	0	15
A65	5	5	15	20	5	0	15	0	0	0	0	0	0	7	5	0	5
A66	5	5	15	20	5	0	15	10	7	20	20	45	0	10	20	0	10
A67	5	15	37	20	5	5	15	15	15	20	20	25	0	15	10	0	7
A68	5	0	12	15	5	0	15	0	0	10	5	5	0	5	10	0	5
A69	5	5	11	15	5	0	15	0	0	20	10	5	0	5	5	0	12

Árvores	MEM	MED	MCC	MACT	MACI	MVI	MVE	MVD	MC	CRF	CRE	CFC	ESP	DU	DA
A2	0	20	0	2	0	5	0	0	5	15	0	0	24	5,38	0,237
A3	10	35	0	15	15	10	5	10	5	15	0	0	37	4,69	0,193
A4	9	5	0	0	0	10	20	5	0	15	0	0	27	4,88	0,192
A5	11	35	0	15	10	0	0	0	5	15	0	20	18	7,38	0,293
A6	5	20	0	10	0	0	0	0	0	15	0	20	20	7,88	0,256
A7	0	35	0	10	0	10	5	0	5	15	0	0	27	11,80	0,244
A8	0	35	0	15	5	10	5	10	5	30	0	0	25	5,00	0,220
A9	50	20	0	15	5	20	5	5	5	15	0	0	45	6,10	0,233
A10	0	20	0	5	0	0	0	0	5	15	0	0	18	11,00	0,244
A11	0	35	0	10	10	10	5	0	5	15	0	0	34	7,00	0,238
A12	0	20	0	10	0	0	0	0	5	15	0	10	20	5,80	0,285
A13	0	35	0	15	5	10	5	10	5	15	0	10	35	12,00	0,213
A14	0	20	0	15	5	0	0	0	5	15	0	20	25	7,00	0,239
A15	0	20	0	15	5	10	5	0	10	15	0	0	25	5,80	0,216
A16	0	5	0	20	5	10	5	5	0	15	0	10	25	5,00	0,208
A17	0	5	0	0	0	0	0	0	5	15	0	20	20	7,50	0,369
A18	0	20	0	15	5	10	5	10	10	15	0	10	24	2,88	0,203
A19	0	0	0	35	20	20	5	35	5	15	0	20	27	6,37	0,218
A20	30	20	0	20	20	10	5	20	5	15	0	0	24	9,94	0,222
A21	45	20	0	35	20	20	5	20	0	15	0	0	26	4,31	0,206
A22	60	35	0	20	10	20	5	35	0	15	0	0	40	8,18	0,204
A23	20	5	0	15	0	0	0	0	5	15	0	20	12	11,00	0,219
A24	0	20	0	20	5	0	0	0	5	15	0	0	15	12,00	0,197
A25	14	20	0	0	0	0	0	0	5	15	0	0	22	4,00	0,296
A26	16	35	0	5	0	20	5	0	0	15	0	10	35	10,00	0,249
A34	0	5	0	15	5	20	5	10	5	15	0	10	33	8,30	0,225
A35	16	35	0	0	0	10	5	0	5	15	0	10	27	7,50	0,222
A36	10	20	0	15	10	10	5	10	5	15	35	20	28	6,56	0,277
A37	15	20	0	0	0	20	20	35	10	15	0	10	34	8,13	0,286
A39	0	5	0	10	5	0	0	0	0	15	0	0	21	11,19	0,249
A40	0	5	0	10	5	10	0	0	0	15	20	0	15	7,44	0,345
A42	0	35	5	5	0	0	0	0	10	25	0	0	22	8,00	0,278
A43	14	20	0	15	5	20	20	35	10	15	15	0	38	6,18	0,249
A44	14	20	0	10	5	10	5	0	5	15	0	10	25	7,00	0,206
A45	7	5	0	5	10	0	0	0	10	15	0	20	24	9,50	0,282
A46	5	20	0	0	0	10	5	0	0	15	0	20	25	7,00	0,198
A47	24	35	0	5	0	0	0	0	10	15	20	0	35	7,60	0,246
A48	8	20	0	10	10	10	5	0	5	0	0	20	24	6,60	0,201
A49	9	20	0	15	0	20	5	5	5	15	0	20	26	4,50	0,219
A50	6	35	0	0	0	20	20	35	10	15	0	0	25	3,44	0,243
A51	0	5	0	15	10	20	20	35	10	15	0	0	24	4,00	0,201
A52	6	5	0	10	5	20	5	10	5	10	20	20	26	7,50	0,267
A53	4	20	0	10	10	10	5	10	5	15	0	0	40	8,60	0,195
A54	3	5	0	15	10	20	25	35	10	15	0	0	26	4,00	0,215
A55	8	20	0	10	5	20	5	10	5	15	0	0	40	7,60	0,221
A56	0	5	0	5	0	5	0	0	5	10	20	20	20	8,40	0,295
A57	5	35	0	15	10	20	5	10	5	20	0	0	38	4,40	0,199
A58	0	5	5	0	0	5	0	0	5	10	0	0	24	7,80	0,245
A59	3	20	0	5	0	20	5	10	10	15	0	20	34	6,40	0,209
A60	10	20	0	5	0	20	30	5	10	15	0	10	28	8,00	0,265
A61	20	20	0	5	0	5	5	5	0	15	0	0	27	5,56	0,235
A62	20	20	0	10	5	0	0	0	0	20	0	0	28	12,60	0,268
A63	27	20	0	0	10	0	0	0	0	15	0	0	24	6,81	0,236
A64	0	35	10	0	0	10	5	0	15	25	0	10	36	6,00	0,246
A65	5	10	7	5	0	0	0	0	5	10	0	0	27	5,06	0,253
A66	0	35	2	0	10	0	0	0	15	30	0	10	16	10,00	0,349
A67	15	20	5	5	0	0	0	0	10	15	15	0	34	6,00	0,292
A68	10	5	0	0	0	0	0	0	5	10	15	10	33	7,00	0,259
A69	0	35	12	0	0	0	0	0	2	15	0	0	33	8,00	0,281