



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0809836-0 B1

(22) Data do Depósito: 21/04/2008

(45) Data de Concessão: 11/04/2017



(54) Título: MÉTODO E VETOR CAPAZ DE MANIPULAR O ENVELHECIMENTO OU INTENSIFICAR A BIOMASSA NUMA PLANTA; E CÉLULA DE PLANTA TRANSGÊNICA, PLANTA, SEMENTE DE PLANTA OU OUTRA PARTE DE PLANTA

(51) Int.Cl.: C12N 15/11; A01H 3/00; C12N 15/63; A01H 1/00; A01H 5/00

(30) Prioridade Unionista: 24/04/2007 US 11/789,526

(73) Titular(es): AGRICULTURE VICTORIA SERVICES PTY LTD. LA TROBE UNIVERSITY

(72) Inventor(es): GERMAN SPANGENBERG; CARL MCDONALD RAMAGE; MELISSA ANN PALVIAINEN; ROGER W. PARISH; JOSHUA HEAZLEWOOD

**MÉTODO E VETOR CAPAZ DE MANIPULAR O ENVELHECIMENTO OU
INTENSIFICAR A BIOMASSA NUMA PLANTA; E CÉLULA DE PLANTA
TRANSGÊNICA, PLANTA, SEMENTE DE PLANTA OU OUTRA PARTE DE PLANTA**

[001] O presente pedido de patente é uma continuação em parte do pedido de patente US 10/363 723, intitulado "Manipulação de envelhecimento de plantas usando um promotor gene MYB e o gene da biossíntese da citoquinina", depositado em 5 de Março de 2003, que reivindica a prioridade do pedido de patente internacional PCT/AU01/01092, intitulado "Manipulação de envelhecimento de plantas usando um promotor gene MYB e genes da biossíntese da citoquinina", depositado em 30 de Agosto de 2001, que reivindica a prioridade do pedido de patente australiana PQ 9946, intitulado "Manipulação de envelhecimento de plantas usando um promotor gene MYB e genes da biossíntese da citoquinina", depositado em 6 de Setembro de 2000, cujos conteúdos são aqui incorporados por referência na sua totalidade.

[002] Refere-se o presente invento a métodos para manipular o envelhecimento em plantas. O presente invento também se refere a vetores úteis em tais métodos, plantas transformadas com características modificadas de envelhecimento e células, sementes e outras partes de tais plantas.

[003] O envelhecimento de folhas envolve alterações metabólicas e estruturais nas células antes da morte celular. Ele também envolve a reciclagem de nutrientes para regiões ativamente em crescimento.

[004] A regulação do envelhecimento da planta e de órgãos da planta por citoquininas tem consequências importantes para a agricultura. Níveis elevados de citoquinina em folhas tendem a retardar o envelhecimento. Vários promotores tem sido usados para regular a expressão do gene *ipt*, cujo produto (isopenteniltransferase) catalisa uma etapa chave na síntese da citoquinina. Entretanto, em geral, têm-se relatado que plantas transgênicas sobre-expressando o gene *ipt* têm um crescimento retardado de raiz e brotos, nenhuma formação de raiz, domínio apical reduzido, e área de folhas reduzida.

[005] É um objetivo do presente invento superar, ou pelo menos aliviar, uma ou mais das dificuldades ou deficiências associadas com o estado da técnica.

[006] Em um aspecto, o presente invento provê um método para manipular o

envelhecimento numa planta, dito método incluindo introduzir em dita planta uma construção genética incluindo um promotor gene *myb* modificado, ou um fragmento funcionalmente ativo ou variante deste, ligado operacionalmente a um gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citoquinina, ou a um fragmento funcionalmente ativo ou variante deste.

[007] A manipulação do envelhecimento se refere à planta e/ou a órgãos específicos da planta. O envelhecimento de órgãos diferentes da planta, tais como folhas, raízes, brotos, caules, tubérculos, flores, estolões e frutos podem ser manipulados. A manipulação do envelhecimento da planta e do órgão da planta pode ter consequências agrícolas importantes, tais como tempo de prateleira aumentado de, p.ex., frutos, flores, folhas e tubérculos em produtos de horticultura e flores cortadas, perecibilidade reduzida de colheitas de horticultura, fixação aumentada de carbono em folhas com envelhecimento retardado levando a rendimentos intensificados, produção intensificada de biomassa em plantas de folhagem, produção intensificada de sementes, etc.

[008] "Manipular o envelhecimento" geralmente se refere a atrasar o envelhecimento na planta transformada com relação a uma planta de controle não transformada. Entretanto, para algumas aplicações, pode ser desejável promover ou de outra forma modificar o envelhecimento na planta. O envelhecimento pode ser promovido ou de outra forma modificado por exemplo, pela utilização de um gene anti-senso.

[009] Uma quantidade efetiva de dita construção genética pode ser introduzida em dita planta, por qualquer técnica adequada, por exemplo por transdução, transfecção ou transformação. Por "uma quantidade efetiva" entende-se uma quantidade suficiente para resultar numa característica fenotípica identificável em dita planta, ou numa planta, semente ou outra parte de planta derivadas dela. Tais quantidades podem ser prontamente determinadas por um técnico da área, levando-se em conta o tipo de planta, a rota de administração e outros fatores relevantes. Tal pessoa será prontamente capaz de determinar uma quantidade e um método adequados de administração. Vide, por exemplo, Maniatis et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, cuja descrição integral é aqui incorporada por referência.

[010] Por "promotor gene *myb* modificado" entende-se um promotor normalmente

associado com um gene *myb*, o qual promotor é modificado para excluir ou desativar um ou mais *motifs* específicos da raiz e/ou *motifs* específicos de pólen em dito promotor.

[011] Embora o depositante não queira estar restrito pela teoria, postula-se que a exclusão ou desativação de um ou mais *motifs* específicos da raiz em dito promotor gene *myb* pode aliviar ou superar o problema de expressão sem retenção do gene que codifica uma enzima biossintética citoquinina em meristemas da planta, que pode afetar o desenvolvimento da raiz em algumas espécies de plantas. Também é postulado que a exclusão ou desativação de um ou mais *motifs* específicos do pólen em dito promotor gene *myb* pode aliviar ou superar o problema da expressão sem retenção do gene que codifica a enzima biossintética citoquinina no pólen, o que pode afetar o desenvolvimento do pólen em algumas espécies de plantas.

[012] Preferencialmente, o promotor gene *myb* é um promotor gene *myb32* modificado. Preferencialmente, o promotor gene *myb* modificado é de *Arabidopsis*, mais preferencialmente de *Arabidopsis thaliana*.

[013] Um promotor adequado que pode ser modificado de acordo com o presente invento é descrito em Li et al., *Cloning the three MYB-like genes from Arabidopsis* (PGR 99-138) *Plant Physiology* 121:313 (1999), cuja descrição integral é aqui incorporada por referência.

[014] Por um "*motif* específico de raiz" entende-se uma seqüência de 3 a 7 nucleotídeos, preferencialmente de 4 a 6 nucleotídeos, mais preferencialmente de 5 nucleotídeos, que dirige a expressão de um gene associado nas raízes de uma planta.

[015] Preferencialmente, o *motif* específico de raiz inclui uma seqüência de consenso ATATT ou AATAT.

[016] Preferencialmente, entre um e dez, mais preferencialmente entre três e oito, ainda mais preferencialmente entre cinco e sete *motifs* específicos de raiz são excluídos ou desativados, preferencialmente excluídos, em dito promotor gene *myb*.

[017] Os *motifs* específicos de raízes podem ser excluídos pela remoção de *motifs* individuais ou pela remoção de um fragmento do promotor contendo um ou mais *motifs*. Por exemplo, toda ou parte da região entre os nucleotídeos 1 e 530, preferencialmente entre os nucleotídeos 110 e 530 do promotor gene *myb* da *Arabidopsis thaliana* podem ser

excluídos.

[018] A exclusão pode ser efetuada pelo corte do ácido nucléico, por exemplo com endonucleases de restrição, e ligando as extremidades cortadas para gerar um promotor com um fragmento removido.

[019] Por exemplo, o promotor gene *myb* da *Arabidopsis thaliana* modificado pode ser preparado pela remoção de um fragmento entre o sítio XcmI nas posições 162 a 176 e o sítio SspI nas posições de 520 a 525. Isto gera um promotor gene *myb* modificado com 6 dos 7 *motifs* específicos de raiz excluídos. Alternativamente, todos os 7 *motifs* específicos de raiz podem ser excluídos, por exemplo pela exclusão da região a montante do sítio SspI nas posições de 520 a 525, ou pela exclusão da região entre os nucleotídeos 1 e 120 junto com a região entre o sítio XcmI nas posições de 162 a 176 e o sítio SspI nas posições de 520 a 525.

[020] Um *motif* específico de raiz pode ser desativado por adição, exclusão, substituição ou derivação de um ou mais nucleotídeos dentro do *motif*, de modo que ele não tenha mais a sequência de consenso preferida.

[021] Preferencialmente, o promotor gene *myb* modificado inclui uma sequência de nucleotídeos escolhida dentre o grupo que consiste das seqüências mostradas nas figuras 2, 3 e 4 (ID de seqüência Nos.: 2, 3 e 4, respectivamente) e seus fragmentos funcionalmente ativos e suas variantes.

[022] Por um "*motif* específico de pólen" entende-se uma seqüência de 3 a 7 nucleotídeos, preferencialmente de 4 a 6 nucleotídeos, mais preferencialmente de 4 ou 5 nucleotídeos, que dirige a expressão de um gene associado no pólen de uma planta.

[023] Preferencialmente, o *motif* específico de pólen inclui uma seqüência de consenso escolhida dentre o grupo que consiste de TTCT e AGAA.

[024] Preferencialmente, entre um e trinta, mais preferencialmente entre três e quinze, ainda mais preferencialmente entre quatro e dez *motifs* específicos de pólen são excluídos ou desativados, preferencialmente excluídos, em dito promotor gene *myb*.

[025] Os *motifs* específicos de pólen podem ser excluídos pela remoção de *motifs* individuais ou pela remoção de um fragmento do promotor contendo um ou mais *motifs*. Por exemplo toda ou parte da região entre os nucleotídeos 1 e 540, preferencialmente

entre os nucleotídeos 390 e 540 do promotor gene *myb* de *Arabidopsis thaliana* pode ser excluída.

[026] A exclusão pode ser efetuada pelo corte do ácido nucléico, por exemplo com endonucleases de restrição, e ligando as extremidades cortadas para gerar um promotor com um fragmento removido.

[027] Por exemplo, o promotor gene *myb* da *Arabidopsis thaliana* modificado pode ser preparado pela remoção de um fragmento entre o sítio XcmI nas posições 162 a 176 e o sítio SspI nas posições de 520 a 525. Isto gera um promotor gene *myb* modificado com 4 dos 23 *motifs* específicos de pólen excluídos. Alternativamente, 10 dos *motifs* específicos de pólen podem ser excluídos, por exemplo pela exclusão da região a montante do sítio SspI nas posições de 520 a 525.

[028] Um *motif* específico de pólen pode ser desativado por adição, exclusão, substituição ou derivação de um ou mais nucleotídeos dentro do *motif*, de modo que ele não tenha mais a sequência de consenso preferida.

[029] Preferencialmente, o promotor gene *myb* modificado inclui uma sequência de nucleotídeos escolhida dentre o grupo que consiste das seqüências mostradas nas figuras 2, 3 e 4 (ID de seqüência Nos.: 2, 3 e 4, respectivamente) e seus fragmentos funcionalmente ativos e suas variantes.

[030] Num aspecto adicional do presente invento é provido um método para intensificar a biomassa numa planta, dito método inclui introduzir em dita planta uma construção genética incluindo um promotor gene *myb*, ou um fragmento funcionalmente ativo dele ou uma variante dele, operacionalmente ligado a um gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citoquinina, ou um fragmento funcionalmente ativo dele ou uma variante dele.

[031] O promotor gene *myb* ou um fragmento funcionalmente ativo dele ou uma variante dele pode ser um promotor gene *myb* de comprimento inteiro ou um promotor gene *myb* modificado.

[032] O promotor gene *myb* de comprimento inteiro pode ser um promotor gene *myb32*. Preferencialmente, o promotor gene *myb* é de *Arabidopsis*, mais preferencialmente *Arabidopsis thaliana*. Mais preferencialmente, o promotor gene *myb*

inclui uma seqüência de nucleotídeos escolhida dentre o grupo que consiste da seqüência mostrada na figura 1 anexa (ID de seqüência No. 1) e seus fragmentos funcionalmente ativos e suas variantes.

[033] O promotor gene *myb* modificado pode ser um promotor gene *myb* modificado como descrito anteriormente.

[034] Por "intensificar a biomassa" entende-se intensificar ou aumentar numa planta transformada com relação a uma planta de controle não transformada uma característica de crescimento escolhida dentre o grupo que consiste de área total de folha, área cumulativa de folha, dinâmica de crescimento de folhas (i.e., o número de folhas sobre o tempo), comprimento do estolão, percentagem de plantas florescendo e produção de sementes por flor ou por área semeada. "Intensificar a biomassa" também inclui reduzir ou diminuir a percentagem de morte de estolão numa planta transformada com relação a uma planta de controle normal.

[035] Em particular, os depositantes descobriram que enquanto o peso de sementes (i.e. o peso de mil sementes) de plantas transgênicas de acordo com o presente invento não se podia distinguir das plantas de controle não transgênicas, o rendimento de sementes total, expresso com base por flor ou por área semeada foi significativamente maior nas plantas transgênicas quando comparado com plantas de controle não transgênicas de intensidade de florescimento equivalente.

[036] Por "funcionalmente ativo" em relação a um promotor de gene *myb* ou promotor de gene *myb* modificado entende-se que o fragmento ou variante (tal como um análogo, derivado ou mutante) é capaz de manipular o envelhecimento numa planta pelo método do presente invento. Tais variantes incluem variantes alélicos que ocorrem naturalmente e variantes que não ocorrem naturalmente. Adições, exclusões, substituições e derivações de um ou mais dos nucleotídeos são contemplados enquanto as modificações não resultarem em perda de atividade funcional do fragmento ou variante.

[037] Preferencialmente, o fragmento funcionalmente ativo ou variante tem pelo menos 80% de identidade com a parte relevante da seqüência mencionada acima à qual o fragmento ou variante corresponde, mais preferencialmente pelo menos 90% de identidade, mais preferencialmente de pelo menos aproximadamente 95% de identidade.

Preferencialmente, o fragmento tem um tamanho de 20 nucleotídeos, mais preferencialmente de 50 nucleotídeos e mais preferencialmente pelo menos 100 nucleotídeos, mais preferencialmente pelo menos 200 nucleotídeos, mais preferencialmente pelo menos 300 nucleotídeos.

[038] Por um "gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citoquinina" entende-se um gene que codifica uma enzima envolvida na síntese de citoquinas tais como quinetina, zeatina e benzil-adenina, por exemplo um gene que codifica isopentiltransferase (*ipt*), ou um gene similar a *ipt* tal como o gene *sho* (p.ex. de petúnia). Preferencialmente, o gene é um gene isopentiltransferase (*ipt*) ou o gene *sho*. Numa forma preferida de realização, o gene é de espécies escolhidas dentre o grupo que consiste de *Agrobacterium*, mais preferencialmente *Agrobacterium tumefaciens*, *Lotus*, mais preferencialmente *Lotus japonicus*, e *Petunia*, mais preferencialmente *Petunia hybrida*.

[039] Mais preferencialmente, o gene inclui uma seqüência de nucleotídeos escolhidos dentre o grupo que consiste das seqüências mostradas nas figuras 6, 8 e 10 (ID de seqüência nos. 5, 7 e 9) seqüências que codificam os polipeptídeos mostrados nas figuras 7, 9 e 11 (ID de seqüência nos. 6, 8 e 10) e seus fragmentos funcionalmente ativos e suas variantes.

[040] Por "funcionalmente ativo", em relação a um gene que codifica uma enzima biossintética citoquinina, entende-se que o fragmento ou variante (tal como um análogo, derivado ou mutante) é capaz de manipular o envelhecimento numa planta pelo método de acordo com o presente invento. Tais variantes incluem variantes alélicas de ocorrência natural e variantes de ocorrência não natural. Adições, exclusões, substituições e derivações de um ou mais dos nucleotídeos são contemplados enquanto as modificações não resultarem em perda de atividade funcional do fragmento ou variante. Preferencialmente, o fragmento funcionalmente ativo ou variante tem pelo menos 80% de identidade com a parte relevante da seqüência mencionada acima à qual o fragmento ou variante corresponde, mais preferencialmente pelo menos 90% de identidade, mais preferencialmente de pelo menos aproximadamente 95% de identidade. Tais variantes funcionalmente ativos e fragmentos incluem, por exemplo, aqueles tendo mudanças

conservativas de ácido nucléico ou mudanças de ácido nucléico que resultam em substituições conservativas de aminoácido de um ou mais resíduos na seqüência de aminoácido correspondente. Por exemplo, a variante funcionalmente ativa pode incluir uma ou mais substituições conservativas de ácido nucléico de uma seqüência mostrada nas figuras 6, 8 ou 10, a variante funcionalmente ativa resultante codificando uma seqüência de aminoácidos mostrada nas figuras 7, 9 ou 11, respectivamente. Preferencialmente, o fragmento tem um tamanho de pelo menos 20 nucleotídeos, mais preferencialmente de pelo menos 50 nucleotídeos, mais preferencialmente pelo menos 100 nucleotídeos, mais preferencialmente pelo menos 500 nucleotídeos.

[041] A construção genética pode ser introduzida na planta por qualquer técnica adequada. As técnicas para incorporar as construções genéticas do presente invento nas células da planta (por exemplo por transdução, transfecção ou transformação) são bem conhecidas dos técnicos da área. Tais técnicas incluem introdução mediada por *Agrobacterium*, eletroporação em tecidos, células e protoplastos, fusão de protoplastos, injeção nos órgãos reprodutores, injeção em embriões imaturos e introdução por projétil de alta velocidade em células, tecidos, calos, embriões imaturos e maduros, transformação biolística e suas combinações. A escolha da técnica dependerá em grande parte do tipo de planta a ser transformada e pode ser prontamente determinada por um técnico da área.

[042] As células que incorporam a construção genética do presente invento podem ser escolhidas, como descrito abaixo, e então cultivadas num meio apropriado para regenerarem plantas transformadas, usando técnicas bem conhecidas do estado da técnica. As condições de cultura, tais como temperatura, pH e similares, estarão aparentes para os técnicos da área. As plantas resultantes podem ser reproduzidas, seja sexualmente ou assexualmente, usando métodos bem conhecidos do estado da técnica para produzir gerações sucessivas de plantas transformadas.

[043] Os métodos do presente invento podem ser aplicados a uma variedade de plantas, incluindo monocotiledôneas [tais como gramas (p.ex. forragem, turfa e gramas de bioenergia incluindo azevém perene, festuca alta, azevém italiano, festuca vermelha, caniço-malhado, *bluestem* grande, espartina, capim-elefante, centeio selvagem, cana de açúcar selvagem, *Miscanthus*), milho, aveia, trigo e cevada], dicotiledôneas [tais como

Arabidopsis, tabaco, soja, trevos (p.ex., trevo branco, trevo vermelho, trevo subterrâneo), alfafa, canola, couves vegetais, alface, espinafre] e gimnospermas.

[044] Num aspecto adicional do presente invento, é provido um vetor capaz de manipular o envelhecimento numa planta, dito vetor incluindo um promotor gene *myb* modificado, ou um fragmento funcionalmente ativo dele ou uma variante dele, operacionalmente ligado a um gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citoquinina, ou um seu fragmento funcionalmente ativo ou sua variante.

[045] Num aspecto adicional do presente invento é provido um vetor capaz de intensificar a biomassa numa planta, dito vetor incluindo um promotor gene *myb* ou um fragmento funcionalmente ativo dele ou uma variante dele, operacionalmente ligado a um gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citoquinina, ou um seu fragmento funcionalmente ativo ou uma sua variante.

[046] O promotor gene *myb* ou um fragmento funcionalmente ativo dele ou variante dele pode ser um promotor gene *myb* de tamanho inteiro ou um promotor gene *myb* modificado, como aqui descrito.

[047] Numa forma preferida de realização deste aspecto do presente invento, o vetor pode adicionalmente incluir um terminador; dito promotor, gene e terminador sendo operacionalmente ligados.

[048] Por "operacionalmente ligado" entende-se que dito promotor é capaz de causar a expressão de dito gene numa célula da planta e dito terminador é capaz de terminar a expressão de dito gene numa célula de planta. Preferencialmente, dito promotor está a montante de dito gene e dito terminador está a jusante de dito gene.

[049] O vetor pode ser de qualquer tipo adequado e pode ser viral ou não. O vetor pode ser um vetor de expressão. Tais vetores incluem seqüências de ácidos nucleicos cromossômicas, não cromossômicas e sintéticas, p.ex. derivadas de vírus de plantas; plasmídeos bacteriais, derivados do plasmídeo Ti de *Agrobacterium tumefaciens*; derivados do plasmídeo Ri de *Agrobacterium rhizogenes*; DNA do fago; cromossomos artificiais de levedura; cromossomos artificiais bacteriais; cromossomos artificiais bacteriais binários; vetores derivados de combinações de plasmídeos e DNA do fago. Entretanto, qualquer outro vetor pode ser usado enquanto seja replicável ou integrativo ou viável na célula da

planta.

[050] O promotor, gene e terminador podem ser de qualquer tipo adequado e podem ser endógenos à célula da planta alvo ou podem ser exógenos, desde que sejam funcionais na célula da planta alvo.

[051] Uma variedade de terminadores que podem ser empregados nos vetores do presente invento também são conhecidos dos técnicos da área. O terminador pode ser do mesmo gene da sequência do promotor ou um gene diferente. São terminadores particularmente adequados os sinais poliadenilação, tais como CaMV 35S poliA e outros terminadores dos genes nopalina sintase (*nos*) e octopina sintase (*ocs*).

[052] O vetor, em adição ao promotor, o gene e o terminador, podem incluir elementos adicionais necessários para a expressão do gene, em combinações diferentes, por exemplo espinha dorsal de vetor, origem de replicação (*ori*), múltiplos sítios de clonagem, seqüências espaçadoras, intensificadores, íntrons (tais como o íntron *Ubi* da ubiquitina do milho), genes de resistência a antibióticos e outros genes marcadores selecionáveis [tais como o gene neomicina fosfotransferase (*nptII*), o gene higromicina fosfotransferase (*hph*), o gene fosfoinotricina acetiltransferase (*bar* ou *pat*)], e genes repórteres (tais como o gene beta-glucuronidase (GUS) (*gusA*)). O vetor também pode conter um sítio de ligação a ribossomo para iniciação da tradução. O vetor também pode incluir as seqüências apropriadas para amplificar a expressão.

[053] Como uma alternativa ao uso de um gene marcador selecionável para prover uma característica fenotípica para seleção de células hospedeiras transformadas, a presença do vetor nas células transformadas pode ser determinada por outras técnicas bem conhecidas do estado da técnica, tais como PCR (reação de polimerase em cadeia), análise de hibridização Southern blot, ensaios histoquímicos (p.ex. ensaios GUS), cromatografia de camada delgada (TLC), análises de hibridização Northern e Western blot.

[054] Os técnicos da área apreciarão que os vários componentes do vetor são operacionalmente ligados, para resultar na expressão de dito gene. As técnicas para operacionalmente ligar os componentes do vetor do presente invento são bem conhecidas dos técnicos da área. Tais técnicas incluem o uso de ligantes, tais como ligantes sintéticos, por exemplo incluindo um ou mais sítios de enzimas de restrição.

[055] Num aspecto adicional do presente invento é provida uma célula de planta transgênica, planta, semente de planta ou outra parte de planta, com características de envelhecimento modificadas ou biomassa intensificada. Preferencialmente, dita célula de planta, planta, semente de planta ou outra parte de planta inclui um vetor de acordo com o presente invento. Preferencialmente, a célula de planta transgênica, planta, semente de planta ou outra parte de planta é produzida por um método de acordo com o presente invento.

[056] O presente invento também provê uma planta transgênica, semente de planta ou outra parte de planta derivada de uma célula de planta do presente invento.

[057] O presente invento também provê uma planta transgênica, semente de planta ou outra parte de planta derivada de uma planta do presente invento.

[058] O presente invento será agora melhor descrito com referência aos exemplos e desenhos anexos. Deve ser entendido entretanto que a seguinte descrição é somente ilustrativa e não deve ser tomada de qualquer maneira como uma restrição à generalidade do presente invento descrito acima.

[059] Nas figuras:

- a figura 1 mostra a seqüência de nucleotídeos do promotor a partir do gene *myb32* (*atmyb32*) de *Arabidopsis thaliana* (ID de seqüência no. 1), seqüência do promotor *Atmyb32* com o tipo MYB, *motifs* específicos de pólen e específicos de raiz destacados. WAACCA (sublinhado/itálico) MYB1AT; GTTAGTT (**negrito/caixa**) MYB1LEPR; CCWACC (**caixa**) MYBPZM; GGATA (*itálico*) MYBST1; AGAAA (sublinhado) POLLEN1LELAT52; ATATT (**negrito**) ROOTMOTIFTAPOX1.

- a figura 2 mostra uma variante de seqüência de promotor *Atmyb32* (*Atmyb32xs*) com a seqüência XcmI - SspI da planta excluída. O tipo MYB, *motifs* específico de pólen e específico de raiz são destacados. WAACCA (sublinhado/itálico) MYB1AT; GTTAGTT (**negrito/caixa**) MYB1LEPR; CCWACC (**caixa**) MYBPZM; AGAAA (sublinhado) POLLEN1LELAT52; ATATT (**negrito**) ROOTMOTIFTAPOX1 (ID de seqüência no. 2).

- a figura 3 mostra uma variante de seqüência de promotor *Atmyb32* com todos os *motifs* de raiz excluídos. O tipo MYB, *motifs* específico de pólen e específico de

raiz são destacados. WAACCA (sublinhado/itálico) MYB1AT; CCWACC (caixa) MYBPZM; AGAAA (sublinhado) POLLEN1LELAT52 (ID de sequência no. 3).

- a figura 4 mostra uma variante de sequência de promotor *Atmyb32* com o sítio Sspl a montante da sequência excluído. O tipo MYB, *motifs* específico de pólen e específico de raiz são destacados. WAACCA (sublinhado/itálico) MYB1AT; CCWACC (caixa) MYBPZM; AGAAA (sublinhado) POLLEN1LELAT52 (ID de sequência no. 4).

- a figura 5 mostra *motifs* nas sequências de promotores *Atmyb32* e *Atmyb32xs*.

- a figura 6 mostra a sequência de nucleotídeos do gene isopentenil transferase (*ipt*) de *Agrobacterium tumefaciens* (ID de sequência no. 5).

- a figura 7 mostra a sequência de aminoácidos deduzida do gene isopentenil transferase de *Agrobacterium tumefaciens* (ID de sequência no. 6).

- a figura 8 mostra a sequência de nucleotídeos do gene isopentenil transferase de *Lotus japonicus* (ID de sequência no. 7).

- a figura 9 mostra a sequência de aminoácidos deduzida do gene isopentenil transferase de *Lotus japonicus* (ID de sequência no. 8).

- a figura 10 mostra a sequência de nucleotídeos do gene *Sho* de biossíntese de citoquinina de *Petunia hybrida* (ID de sequência no. 9).

- a figura 11 mostra a sequência de aminoácidos deduzida do gene *Sho* de biossíntese de citoquinina de *Petunia hybrida* (ID de sequência no. 10).

- a figura 12 mostra PCR e análise Southern de DNA de plantas trevo branco (*Trifolium repens*) transgênicas *atmyb32::ipt*. a) a região T-DNA de *patmyb32::ipt* mostrando sítios de enzimas de restrição e localização das sondas usadas para a análise de hibridização Southern. b) gel agarose 1% manchado com brometo de etídio dos produtos 599 bp *nptII* e 583 bp *ipt* amplificados por PCR. c) hibridização Southern blot com DNA genômico total digerido por *HindIII* isolado de PCR positiva de plantas trevo branco hibridizadas com a sonda *ipt*. d) hibridização Southern blot com DNA genômico total digerido por *HindIII* isolado de PCR positiva de plantas trevo branco hibridizadas com a sonda *nptII*. Trilhas 1 e 2: dois regenerantes cv. Haifa independentes resistentes a kanamicina, código: Hmi01 e Hmi08, respectivamente; Trilhas de 3 a 12: doze

regenerantes cv. Irrigação independentes, resistentes a kanamicina, códigos: Imi06, Imi07, Imi08, Imi09, Imi10, Imi11, Imi12, Imi14, Imi16, Imi18, respectivamente; Trilha C: trevo branco não transformado; Trilha P: controle positivo plasmídeo patmyb32ipt.

- a figura 13 mostra a análise RT-PCR da expressão *ipt* mRNA em plantas trevo branco (*T. repens*) transgênicas *atmyb32::ipt*. As trilhas de 1 a 11 são amostras de 11 linhas transgênicas independentes com os correspondentes códigos de plantas como na figura 4.8; a Trilha C, controle planta não transformada; Trilha P, plasmídeo como controle positivo. O RNA total foi isolado de tecidos de folha. O RNA total (13 µg) foi usado para cada reação de transcrição reversa e 1/5 do produto RT foi amplificado por PCR. Os produtos DNA no gel à direita foram amplificados por 2x 30 ciclos de PCR intensiva. Nenhuma transcriptase reversa foi adicionada à reação RT-PCR correspondente carregada em trilhas alternadas.

- a figura 14 mostra um bioensaio de envelhecimento de folhas extirpadas de plantas trevo branco (*T. repens*) transgênicas *atmyb32::ipt*. Pelo menos 30 folhas foram coletadas de cada linha a partir de posições similares em estolões de linhas de planta. A. O número de folhas amarelando como uma fração do número total de folhas extirpadas. B. Aparência típica de folhas mantidas em água sob luz por duas semanas. Chave para as linhas de plantas: HC, IC e Hmg, Img, não transformada e plantas transgênicas *atmyb32::gusA* (cv. Haifa e Irrigação) respectivamente; 01 e 08, linhas Haifa transgênicas *atmyb32::ipt* Hmi01 e Hmi08, respectivamente; 11, 12, 16 e 18 linhas Irrigação transgênicas *atmyb32::ipt* Imi11, Imi12, Imi16 e Imi18, respectivamente.

- a figura 15 mostra A) morfologia geral da planta, B) desenvolvimento normal de broto, e C) desenvolvimento normal de raiz em plantas (direita) trevo branco (*T. repens*) transgênicas *atmyb32::ipt* em comparação com plantas de controle (esquerda).

- a figura 16 mostra detalhes do vetor para *pBMVkaAtMYB32-900::ipt* [Gene: isopentil transferase (*ipt*); vetor: *pBMVkaAtMYB32-900::ipt-nos* (espinha dorsal pZPRCS2); marcador selecionável: spec; cartucho marcador selecionável de planta: 35S::kan::35ST; promotor gene: *AtMYB32-900*; terminador gene: *nos*].

- a figura 17 mostra a sequência de nucleotídeos do vetor *pBMVkaAtMYB32-*

900::*ipt-nos* (ID de sequência no. 11).

- a figura 18 mostra detalhes do vetor *pBMVAtMYB32xs::ipt-nos* [Gene: isopentil transferase (*ipt*); vetor: *pBMVAtMYB32XS::ipt-nos* (espinha dorsal pZPRCS2); marcador selecionável: spec; cartucho marcador selecionável de planta: 35S::kan::35ST; promotor gene: *AtMYB32-xs*; terminador gene: *nos*].

- a figura 19 mostra a sequência de nucleotídeos do vetor *pBMVAtMYB32XS::ipt-nos* (ID de sequência no. 12).

- a figura 20 mostra detalhes do vetor para *pBMVhAtMYB32-900::ipt-nos* [Gene: isopentil transferase (*ipt*); vetor: *pBMVhAtMYB32-900::ipt-nos* (espinha dorsal pZPRCS2); marcador selecionável: spec; cartucho marcador selecionável de planta: 35S::hph::35ST; promotor gene: *AtMYB32-900*; terminador gene: *nos*].

- a figura 21 mostra a sequência de nucleotídeos do vetor *pBMVhAtMYB32-900::ipt-nos* (ID de sequência no. 13).

- a figura 22 mostra detalhes do vetor para *pBMVhAtMYB32xs::ipt-nos* [Gene: isopentil transferase (*ipt*); vetor: *pBMVhAtMYB32XS::ipt-nos* (espinha dorsal pZPRCS2); marcador selecionável: spec; cartucho marcador selecionável de planta: 35S::hph::35ST; promotor gene: *AtMYB32-xs*; terminador gene: *nos*].

- a figura 23 mostra a sequência de nucleotídeos do vetor *pBMVhAtMYB32xs::ipt-nos* (ID de sequência no. 14).

- a figura 24 mostra detalhes do vetor para *pBSubn-AtMYB32-900::ipt-nos* [Gene: isopentil transferase (*ipt*); vetor: *pBSubn-AtMYB32-900::ipt-nos* (espinha dorsal pZPRCS2); marcador selecionável: spec; cartucho marcador selecionável de planta: Ubi::bar::nos; promotor gene: *AtMYB32-900*; terminador gene: *nos*].

- a figura 25 mostra a sequência de nucleotídeos do vetor *pBSubn-AtMYB32-900::ipt-nos* (ID de sequência no. 15).

- a figura 26 mostra geração de canola transgênica contendo o *pBMVhAtMYB32-900::ipt-nos* e o *pBMVhAtMYB32xs::ipt-nos*. A. Sementes de canola são germinadas *in vitro*; B. Seções hipocótilo são extirpadas das plantas novas de 7 dias de idade e inoculadas com uma suspensão de *Agrobacterium*; C & D. Regeneração a partir das seções hipocótilo inoculadas sob seleção higromicina; E-J. Plantas de canola

transgênica T₀ portando os vetores *pBMVhAtMYB32-900::ipt-nos* e o *pBMVhAtMYB32xs::ipt-nos*.

- a figura 27 mostra um processo para transformação biolística de trigo.
- a figura 28 mostra a transformação biolística do trigo (*Triticum aestivum* L. MPB Bobwhite 26). Produção de planta doadora (A & B); isolamento de embrião zigótico (C & D); Regeneração sob seleção glufosinato (E - G); Formação de raiz sob seleção (H); plantas T₀ crescendo sob condições de estufa de contenção para recuperação de descendência transgênica (I).

- a figura 29 mostra teste de campo contido de plantas trevo branco transgênico expressando genes quiméricos *Atmyb32::ipt*.

- a figura 30 mostra a avaliação comparativa de taxas de crescimento e dinâmica de crescimento de plantas trevo branco transgênicas expressando genes quiméricos *Atmyb32::ipt* com plantas de controle trevo branco não transgênicas. A) Taxas de crescimento B) Dinâmica de crescimento C) características de crescimento (após 45 dias)

□ Trevo branco transgênico

■ Trevo branco não transgênico

(claro)

(escuro)

- a figura 31 mostra a intensidade de florescimento (i.e. o número de folhas maduras por m²) de plantas trevo branco transgênicas expressando genes quiméricos *Atmyb32::ipt* (i.e. LXR 12, LXR 18 e LXR 11) e plantas de controle trevo branco não transgênicas (i.e. WT) sob condições de campo contido.

- a figura 32 mostra o peso das sementes (i.e. o peso de mil sementes, em gramas) de plantas trevo branco transgênicas expressando os genes quiméricos *Atmyb32::ipt* (i.e. LXR 12, LXR 18 e LXR 11) e plantas de controle trevo branco não transgênicas (i.e. WT) sob condições de campo contido.

- a figura 33 mostra o rendimento de sementes por flor (em miligramas) de plantas trevo branco transgênicas expressando os genes quiméricos *Atmyb32::ipt* (i.e. LXR 12, LXR 18 e LXR 11) e plantas de controle trevo branco não transgênicas (i.e. WT) sob condições de campo contido.

- a figura 35 mostra a geração de plantas transgênicas de alfafa contendo os

genes quiméricos *pBMVkatMYB3-900::ipt-nos* e *pBMVkatMYB32xs::ipt-nos* **A**. Explantes de pecíolo de clones de alfafa C2-3, C2-4 e 19-17 são usados para inoculação com uma suspensão de *Agrobacterium* e levam à produção de calos embriogênicos transformados após seleção em presença de kanamicina; **B-D**. Regeneração de plântulas transgênicas de alfafa portando genes quiméricos de vetores *pBMVkatMYB3-900::ipt-nos* e *pBMVkatMYB32xs::ipt-nos*, a partir de embriões somáticos crescidos *in vitro*.

- a figura 36 mostra a análise PCR de plantas transgênicas de canola (plantas de canola T1 LXR Linha 4). O DNA genômico foi isolado a partir de plantas transgênicas diferentes de canola de linhas T₁ LXR04 e submetido a PCR usando preparadores específicos para **A**. o marcador selecionável (*hph*) ou **B**. o gene candidato de interesse (*IPT*).

- a figura 37 mostra a análise de expressão do gene *IPT* em plantas transgênicas T₁ de canola (T1 LXR canola com relação à expressão de IPT na folha).

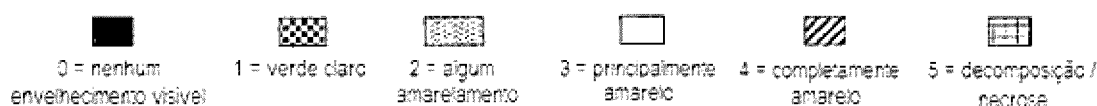
- a figura 38 mostra canola transgênica exibindo atraso no envelhecimento de cotilédones destacado em comparação com cotilédones de controle do tipo selvagem 7 dias após o destacamento.

- a figura 39 mostra a classificação de envelhecimento de cotilédones de canola transgênica T₁ em 7 dias após o destacamento.



- a figura 40 mostra canola transgênica exibindo atraso no envelhecimento de folhas juvenis destacadas em comparação com cotilédones de controle do tipo selvagem 14 dias após o destacamento.

- a figura 41 mostra a classificação de envelhecimento das primeiras folhas juvenis de canola transgênica T₁ em 14 dias após o destacamento.



- a figura 42 mostra o ensaio de hibridização de linhas de trigo transgênicas. As trilhas incluem: MW - peso molecular; WT - tipo selvagem; linhas transgênicas de trigo LXR3, LXR4, LXR13, LXR16 e controles positivos plasmídeo contendo 10 e 20 pg.

- a figura 43 mostra a análise de expressão de linhas de trigo transgênicas T₁ independentes (expressão quantitativa de IPT em trigo). Os valores de transcrição quantitativa foram determinados em femtomoles (fmol) por micrograma de RNA usando uma curva padrão derivada do DNA do plasmídeo contendo a seqüência alvo. As amostras representam classes de expressão alta, média e baixa para o gene candidato *IPT*.

- a figura 44 mostra a variação fenotípica de plantas de trigo transgênico T₁ crescidas em estufa. **A.** plantas de trigo T₁ LXR 13 exibindo fenótipo normal se comparadas às plantas de trigo de controle. **B.** plantas de trigo T₁ LXR 04 exibindo fenótipo atrofiado e número de folhas de bandeira aumentado em comparação com plantas de trigo de controle.

- a figura 45 mostra trigo transgênico exibindo atraso de envelhecimento de folhas se comparado com folhas de controle nulas 7 dias após o destacamento.

Exemplos

Exemplo 1

Seqüência de promotor Atmyb32 e variantes de seqüência de promotor

[060] A seqüência do promotor Atmyb32 e suas variantes são mostrados nas figuras de 1 a 4.

Exemplo 2

Genes da biossíntese de citoquinina

[061] Exemplos de genes da biossíntese de citoquinina adequados para uso no presente invento, são mostrados nas figuras 6, 8 e 10. Os genes adequados também incluem aqueles que codificam o polipeptídeo mostrado nas figuras 7, 9 e 11.

Exemplo 3

Produção de plantas trevo branco transgênicas

[062] As plantas trevo branco (*Trifolium repens* cv. Haifa e Irrigação) transgênicas foram produzidas por transformação mediada por *Agrobacterium* usando um vetor binário

carregando o gene quimérico *atmyb32::ipt* (Figura 12a). As plantas transgênicas foram rastreadas por PCR usando preparadores *ipt* e *nptII* (Figura 12b). Amostras de DNA genômico digerido por *Hind*III submetidas a análise de hibridização de DNA Southern mostraram que os fragmentos de DNA maiores que 4.4 kb foram detectados em todas as trilhas por ambas sondas *ipt* e *nptII*, demonstrando a presença e integração do T-DNA de comprimento total no genoma do trevo branco (Figura 12). As linhas transgênicas Hmi01, Imi06, Imi11 e Imi18 (Trilhas 1, 3, 5, 8 e 12, respectivamente) pareciam ter uma cópia única do T-DNA de comprimento total no genoma. Outras linhas transgênicas tinham múltiplas cópias do transgene *atmyb32::ipt*.

Exemplo 4

Expressão do gene *IPT* em plantas trevo branco transgênicas

[063] A expressão do transgene *atmyb32::ipt* em plantas trevo branco transgênicas (*T. repens*) foi avaliada por RT-PCR. O mRNA *ipt* foi detectado em tecidos de folhas de todas as plantas trevo branco transgênicas *atmyb32::ipt* examinadas, com níveis variados de produtos PCR detectados (Figura 13).

Exemplo 5

Envelhecimento retardado de folhas destacadas em plantas trevo branco transgênicas

[064] Foram realizados experimentos para avaliar o envelhecimento de folhas destacadas de plantas transgênicas *atmyb32::ipt*. O amarelamento rápido foi observado em folhas destacadas de plantas trevo branco não transformadas e transgênicas *atmyb32::gusA* de ambos os cultivares dentro de uma semana. As linhas transgênicas Hmi01, Hmi08, Imi16 e Imi18 mostraram envelhecimento retardado enquanto Imi11 e Imi12 mostraram nenhum sinal de amarelamento ao fim de 7 dias. Após duas semanas, as folhas de todas as plantas transgênicas *atmyb32::ipt* estavam muito mais verdes que aquelas das plantas de controle não transformadas e transgênicas *atmyb32::gusA* (figura 14). O grau de envelhecimento nas folhas extirpadas foi na ordem HC, Hmg > Hmi01 > Hmi08 para o cv. Haifa, e IC e Img > Imi16 > Imi18 > Imi11 e Imi12 para o cv Irrigação. HC é o controle Haifa não transformado, Hmg é o controle Haifa *atmyb32::gusA*, IC é o controle Irrigação não transformado, Img é o controle Irrigação *atmyb32::gusA*. Hmi01,

Hmi08, Imi16, Imi18, Imi11 e Imi12 são plantas trevo branco transgênicas *atmyb32::ipt* independentes, dos cultivares Haifa (H) e Irrigação (I), respectivamente.

Exemplo 6

Morfologia de plantas e desenvolvimento de raiz em plantas trevo branco transgênicas

[065] Uma morfologia normal de planta, bem como desenvolvimento normal de broto e de raiz foram observados nas plantas trevo branco transgênicas *atmyb32::ipt* (figura 6), indicando assim que a expressão regulada do gene *ipt* sob controle do promotor *atmyb32* não afetaram negativamente nem a raiz nem o domínio apical das plantas trevo branco transgênicas (Tabela 1).

Tabela 1

Transformante	Cultivar	Construção	No. de cópias <i>ipt</i>	Fenótipo
Hmi01	Haifa	<i>Atmyb32::ipt</i>	1	Normal
Hmi08	Haifa	<i>Atmyb32::ipt</i>	>3	Normal
Imi06	Irrigação	<i>Atmyb32::ipt</i>	1	Normal
Imi07	Irrigação	<i>Atmyb32::ipt</i>	3	Normal
Imi09	Irrigação	<i>Atmyb32::ipt</i>	>3	Normal
Imi10	Irrigação	<i>Atmyb32::ipt</i>	>3	Normal
Imi11	Irrigação	<i>Atmyb32::ipt</i>	1	Normal
Imi12	Irrigação	<i>Atmyb32::ipt</i>	2	Normal
Imi16	Irrigação	<i>Atmyb32::ipt</i>	2	Normal
Imi18	Irrigação	<i>Atmyb32::ipt</i>	1	Normal

[066] Uma morfologia normal de planta e raízes normais foram observados em 10 linhas analisadas de trevo branco transgênico *atmyb32::ipt* independentes. É mostrado o número de cópias do gene *ipt* nas 10 linhas de trevo branco transgênico *atmyb32::ipt* independentes.

Exemplo 7

Geração de vetores para a transformação da planta

[067] Quatro vetores binários foram gerados para transformação de plantas mediada por *Agrobacterium* (figuras de 16 a 19). Cada vetor tem uma dorsal de vetor pPZP200

(Hajdukiewicz *et al.*, 1994) e contém ou *Atmyb32-900::ipt-nos* ou *Atmyb32-xs::ipt-nos* quiméricos, com ou sem cartuchos marcadores selecionáveis *35S::ntpII-35st* ou *35S::hph::35st* quiméricos.

[068] Um vetor de transformação foi construído para transformação biolística (figuras 20 e 21). O vetor de transformação contém *Atmyb32-900::ipt-35st* com um cartucho marcador selecionável *Ubi::bar-nos* quimérico.

[069] O promotor *Atmyb32*, a variante de promotor *Atmyb32xs*, o gene isopentil transferase e os terminadores *35st* e *nos* foram amplificados por PCR usando preparadores adaptados GatewayTM (Invitrogen) e clonado em um vetor de entrada pDONR221. Estes foram subsequenteiramente clonados usando recombinação nos vetores de destino contendo os cartuchos marcadores selecionáveis convencionalmente clonados. Todos os vetores foram completamente seqüenciados seguindo protocolos estritos de garantia de qualidade.

Exemplo 8

Transformação de canola (*Brassica napus*) mediada por *Agrobacterium*

[070] Vetores binários *pBMVhATMYB3-900::ipt-nos* (figura 20) e *pBMVhATMYB32xs::ipt-nos* (figura 22) contendo genes *ipt* quiméricos sob controle do promotor *Atmyb32* (figura 1) e seqüência de variante de promotor *Atmyb32xs* com *motifs* específicos de raiz excluídos (figura 2) foram usados para a transformação mediada por *Agrobacterium* de segmentos hipocótilo de *Brassica napus* (figura 26).

[071] As sementes de *Brassica napus* foram esterilizadas na superfície em etanol 70% por 2 minutos, lavando 3 vezes com água esterilizada e então esterilizadas adicionalmente na superfície numa solução contendo 1% (p/v) de hipoclorito de cálcio e 0,1% (v/v) de Tween 20 por 30 minutos. As sementes foram lavadas 3 vezes numa água esterilizada e plantadas em vasos de cultura de 120 mL contendo um meio de germinação solidificada contendo 1x macronutrientes Murashige e Skoog (Murashige e Skoog, *Physiol. Plant.* 15, 473, 497, 1962), 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas B5 suplementadas com 500 mg/L de MÊS, 2% (p/v) de sacarose a pH 5,8 com a adição de 4 g/L de Gelrite. Os vasos são incubados a 25°C sob 16h/18h de condições escuras por 7 dias para encorajar a germinação.

[072] Após 7 dias, as sementes de *Brassica napus* (todas as sementes) são transferidas para um meio líquido contendo de 1x Murashige e Skoog macronutrientes, 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas B5, suplementado com 500 mg/L de MÊS, 3% de sacarose (p/v) a pH 5.8. As sementes são agrupadas entre si e as raízes e os cotilédones são removidos antes de cortar os hipocótilos em seções de 7 a 10 mm e plantar em discos de petri de 9 x 1,5. contendo um meio preconditionante consistindo de 1x Murashige e Skoog macronutrientes, 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas B5, suplementada com 500 mL de MES 3% (w/v) de sacarose em pH 5.8 solidificado com 6,4 g/l de Bacto-Agar.

[073] Os hipocótilos são cultivados por 24 horas antes da inoculação com a suspensão $OD_{500} = 0,2$ por 30 minutos consistindo de 1x Murashige e Skoog macronutrientes, 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas B5, suplementada com 500 mL de MES, 100 μ M de Acetosiringona, 3% (w/v) de sacarose em pH 5.8

[074] Após a inoculação, as seções de hipocótilos são engarrafadas em toalhas de papel esterilizadas e transferidas para discos de petri de 9 x 1,5 cm contendo 1x Murashige e Skoog, 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas B5, suplementada com 500 mL 3% (w/v) de MÊS, 100 μ g de Acetosiringona, 1 mg/L de 2,4-D, de sacarose em pH 5.8 solidificado como 8 g/l. Os explantes são incubados a 25°C sob 16 h de luz, 8h de escuridão por 72 horas de co-cultivo.

[075] Seguinte ao co-cultivo, de 20 a 30 explantes de hipocótilo .são transferidos para discos de petri contendo um meio de reação solidificado consistindo de 1x Murashige e Skoog macronutrientes, 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas B5, suplementada com 500 mL de MES, 1 mg/L de 2,4-D, 3% (p/v) de sacarose em pH 5.8 solidificado com 8 g/l de Bacto-Agar, suplementado com 250 mg/L de timentina e 10 mg/L de higromicina para selecionar os brotos resistentes a higromicina. Os pratos são incubados a 25°C sob 16 h de luz, 8h de escuridão.

[076] Após 7 dias, os explantes hipocótilos são transferidos para placas de petri de 9 x 20 cm contendo um meio de regeneração solidificado consistindo de 1x Murashige e Skoog macronutrientes, 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas B5, suplementada com 500 mL de MES, 1 mg/L de 2,4-D, 3% (p/v) de sacarose em pH 5.8 solidificado com 8 g/l de Bacto-Agar, suplementado com 4 mg/L de BAP, 2 mg/L de Zeatina, 5 mg/L de nitrato

de prata, 250 mg/L de timentina e 10 mg/L de higromicina. As placas são incubadas sob luz direta a 25°C sob condições de luz fluorescente (16 h de luz/ 8 h de fotoperíodo escuro; $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$) por 4 semanas para encorajar o desenvolvimento de brotos.

[077] A regeneração é monitorada semanalmente e os explantes de hipocótilo são transferidos para novas placas de petri limpas 9 x 2,0 cm contendo meio de regeneração solidificado, RM suplementado com 4 mg/L de benziladenina, 2 mg/L de zeatina, 5 mg/L de nitrato de prata, 250 mg/L de trimetina e 10% de higromicina durante 6 a 8 semanas para estimular o desenvolvimento de brotos.

[078] Brotos resistentes a higromicina (Hyg^1) são transferidos para vasos de 120 mL contendo meio de indução de raiz solidificada, RIM1, consistindo de 1x Murashige e Skoog macronutrientes, 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas B5, suplementada com 500 mL de MES, 1 mg/L de 2,4-D, 1% (p/v) de sacarose em pH 5.8 solidificado com 8 g/l de Bacto-Agar suplementado com 250 mg/L de timentina. Os brotos são incubados sob luz fluorescente direta a 25°C (fotoperíodo de 16 h de luz/ 8 h de escuridão; $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$) para encorajar o alongamento do broto e o desenvolvimento de raiz por de 4 a 5 semanas. Todos os brotos de Hyg^r com sistemas de broto e raiz desenvolvidos são transferidos para o solo e crescidos sob condições de estufa.

Exemplo 9

Transformação biolística de trigo (*Triticum aestivum* L.)

[079] Os vetores de transformação contendo os genes quiméricos *ipt* sob controle do promotor *Atmyb32* (figura 1) e da seqüência promotora variante *Atmyb32* com *motifs* específicos de raiz excluídos (figura 2), foram usados para a transformação biolística de trigo (*Triticum aestivo* L. MPB Bobwhite 26). Um vetor representativo é mostrado na figura 24. Um esquema do procedimento para a transformação biolística de trigo é delineado na figura 27. O procedimento de transformação inclui as seguintes etapas:

Etapa 1 (produção da planta doadora)

[080] A semente do *Triticum aestivum* (Bobwhite 26) é usada para a produção do material da planta doadora. As plantas de trigo crescem num misto de viveiro consistindo de um fundo de pinho composto, perlita e vermiculita, com 5 plantas por pote até um tamanho máximo de 20 cm. As plantas são mantidas sob condições de estufa em

aproximadamente de 22 a 24°C por de 12 a 16 semanas (figura 28A). Uma vez que o primeiro espigão emirja da folha em bandeira, as plantas são rotuladas e são coletados embriões das cabeças mais altas 12 a 15 dias após antese.

Etapas 2 (dia 1)

[081] Os espigões no estágio desejado de desenvolvimento são colhidos (figura 28B). As cariopses são removidas dos espigões e a superfície é esterilizada por 20 minutos em uma solução de NaOCl 0,8% (v/v) de solução MaOCl e lavados pelo menos quatro vezes em água destilada estéril. Embriões com até 10 mm de comprimento são assepticamente extirpados de cada cariopse (removendo o eixo) usando um microscópio de dissecação e o lado axial cultivado é mergulhado num meio osmótico (E3 maltose) consistindo de 2x Murashige e Skoog (1962) macronutrientes, 2x micronutrientes, 1 x micronutrientes e vitaminas orgânicas, 40 mg/L de tiamina, 150 mg/L de L-asparagina, suplementado com 15% (p/v) de maltose, 0,8% (p/v) de agar Sigma e 2,5 mg/L de 2,4-D (figura 28 C & D). Os embriões são cultivados em placas de petri de polipropileno transparente de 60 mm x 15 mm com 15 mL de média. As placas de cultura são incubadas a 24°C no escuro por 4 horas antes do bombardeio. Os embriões são bombardeados usando uma pistola de gene BioRad PDS 1000 a 900 psi e a 6 cm com 1 µg de vetor DNA de plasmídeo precipitado sobre 0,6 µm de partículas de ouro. Após o bombardeio, os embriões são incubados de um dia para o outro no escuro em meio osmótico.

Etapas 3 (dia 2):

[082] Os embriões são transferidos para um meio de indução de calo (E3calli) consistindo de 2x Murashige e Skoog (1962) macronutrientes e 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas, 40 mg/L de tiamina, 150 mg/L de L-asparagina, suplementada com 6% (p/v) de sacarose, 0,8% (p/v) de agar Sigma e 2,5 mg/L de 2,4-D. Os embriões foram cultivados por duas semanas a 24°C no escuro.

Etapas 4 (dia 15):

[083] Após 2 semanas de cultura em E3calli, os embriões produziram calos embriogênicos e são subcultivados em um meio de seleção (E3Select) consistindo de 2x Murashige e Skoog (1962) macronutrientes e 1x micronutrientes e vitaminas orgânicas, 40 mg/L de tiamina, 150 mg/L de L-asparagina, suplementado com 2% (p/v) de sacarose,

0,8% (p/v) de agar Sigma, 5 mg/L de D,L-fosfotricina (PPT) e nenhum regulador de crescimento de planta (figura 28E-G). As culturas foram incubadas por mais 14 dias em E3Select a 24°C na luz e num fotoperíodo de 12 horas.

Etapas 5 (dia 30)

[084] Após 14 dias de cultura em E3Select, o calo embriogênico é subcultivado em meio E3Select fresco por mais 14 dias (Figuras de 28E a 28).

Etapas 6 (dia 44)

[085] Após cerca de 4 semanas em E3Select, as plântulas são extirpadas da massa dos calos embriônicos e crescem por mais três semanas em vasos de cultura de tecido de policarbonato de 65 x 80 mm ou de 65 x 150 mm contendo meio de indução de raiz (RM). O meio de indução de raiz consiste de 1x Murashige e Skoog (1962) macronutrientes, micronutrientes e vitaminas orgânicas, 40 mg/L de tiamina, 150 mg/L de L-asparagina, suplementados com 2% (p/v) de sacarose, 0,8% (p/v) de agar Sigma e 5 mg/L de PPT (figura 28H). O calo embriogênico remanescente é subcultivado em E3Select por mais 14 dias.

Etapas 7 (dia 65+)

[086] As plântulas regeneradas que sobreviveram mais de 3 semanas em RM com formação saudável de raiz são colocadas num misto de viveiro consistindo de turfa e areia (1:1) e mantidos a de 22 a 24°C com elevada umidade sob um sistema de câmara de umidade de viveiro (figura 28). Após duas semanas, as plantas são removidas da câmara de umidade e lavadas a mão e alimentadas com Aquasol™ líquido semanalmente até a maturidade. As plantas T₀ são amostradas para DNA genômico e análise molecular. A semente T₁ é coletada e plantada para uma análise Q-PCR de alta saída (Figura 28J).

Exemplo 10

Desempenho agrônômico de plantas trevo branco transgênicas

[087] O desempenho agrônômico de plantas trevo branco (*Trifolium repens*) transgênicas *atmyb32::ipt*, com relação às plantas de controle trevo branco não transgênicas, foi avaliado sob condições de câmara de crescimento ambientalmente controlado e em testes de campo contido (figura 29).

[088] As plantas trevo branco transgênicas expressando os genes *Atmyb32::ipt*

quiméricos avaliadas sob condições de câmara de crescimento controlado revelaram uma acumulação de biomassa significativamente intensificada e reduções nas manifestações de envelhecimento, quando comparados com as plantas de controle trevo branco não transgênicas (figura 30). As plantas trevo branco transgênicas expressando os genes *Atmyb32::ipt* quiméricos exibiram uma área de folhagem total intensificada, área de folhagem cumulativa aumentada, maior dinâmica de crescimento de folhas (i.e., número de folhas pelo tempo), maior comprimento de estolão e % de plantas florescendo aumentado bem como envelhecimento e morte reduzidos do estolão em comparação com as plantas de controle trevo branco não transgênicas (figura 30A a C).

[089] O desempenho de produção de sementes de 3 plantas trevo branco transgênicas independentes expressando o gene *atmyb32::ipt* (i.e. LXR 12, LXR 18 e LXR 11) também foi comparativamente avaliado com plantas de controle não transgênicas (i.e., do tipo selvagem, WT) sob condições de campo contido. Duas plantas trevo branco transgênicas independentes expressando o gene *atmyb32::ipt* (i.e. LXR 12 e LXR 18) com intensidade de florescimento indistinta (i.e., número de flores maduras por m²) com relação à planta de controle não transgênica (i.e. WT) foram escolhidos para avaliação de campo (figura 31).

[090] Enquanto o peso das sementes (i.e., o peso de mil sementes) de plantas trevo branco transgênicas, expressando os genes quiméricos *Atmyb32::ipt* (i.e., LXR 12, LXR 18 e LXR 11) foi indistinto das plantas de controle trevo branco não transgênicas (i.e., WT) (figura 32), a produtividade total de sementes expressa com base em cada flor (figura 33), e por área (figura 34) foi o dobro nas plantas trevo branco transgênicas, expressando os genes quiméricos *Atmyb32::ipt* (i.e., LXR 12 e LXR 18) quando comparada com plantas de controle trevo branco não transgênicas de intensidade de florescimento equivalente (i.e., WT).

Exemplo 11

Transformação de alfafa (*Medicago sativa*) mediada por *Agrobacterium*

[091] O vetor binário *pBMVATMYB32xs::ipt-nos* (figura 18) contendo os genes quiméricos *ipt* sob controle da sequência promotora variante *Atmyb32xs* com *motifs* específicos de raiz excluídos (Figura 2) foi usado para transformação mediada por

Agrobacterium de explantes de pecíolo de *Medicago Sativa* a partir de clones de alfafa altamente regenerável (*M. sativa*) C2-3, C2-4 e 19-15 (figura 35).

[092] Após o co-cultivo com a cepa LBA 4404 de *Agrobacterium tumefaciens* guardando o vetor binário *pBMV_kATMBY32_{xs}::ipt-nos*, os explantes de alfafa foram lavados com meio contendo cefotaxime e usados para indução de calo embriogênico sob meio seletivo contendo 25 mg/L de kanamicina. Os calos de alfafa transgênica embriogênica foram recuperados e permitiu regenerar os brotos de alfafa transgênica, que foram transferidos para o meio de raiz levando à recuperação de plantas alfafa transgênicas expressando os genes quiméricos *ipt* sob controle do promotor variante *Atmyb32_{xs}* (figura 35).

[093] Deve ser entendido que o invento descrito e definido no presente relatório descritivo se estende a todas as combinações alternativas de duas ou mais das características individuais mencionadas ou evidentes a partir do texto ou dos desenhos. Todas estas combinações diferentes constituem vários aspectos alternativos do presente invento.

Exemplo 12

Produção de plantas transgênicas de canola

[094] As plantas transgênicas de canola (*Brassica napus*) foram produzidas por transformação mediada por *Agrobacterium* usando vetores binários (figuras 20 e 22) portando o gene quimérico *atmyb32::ipt*. A modificação genética foi caracterizada pela presença do gene candidato (*IPT*) ou do marcador selecionável (*hph*) usando PCR na geração T₁ (figura 36).

[095] A figura 36 ilustra a análise PCR de plantas transgênicas de canola. O DNA genômico foi isolado de diferentes plantas transgênicas de canola de linhas T₁ LXR04 e submetido a PCR usando preparadores específicos para o marcador selecionável (gene *hph*) ou o gene candidato de interesse (*IPT*). Na figura 36A foram usados preparadores específicos para *hph* para amplificar um produto a partir do DNA genômico e eram visualizados num gel de agarose. A figura 36B demonstra o uso de preparadores específicos para *IPT* para amplificar o DNA genômico usando um método PCR fluorescente. Os preparadores são específicos para a sequência alvo que resulta em

fluorescência detectável que é inversamente proporcional à quantidade de PCR acumulado.

Exemplo 13

Expressão do gene *IPT* em plantas transgênicas de canola

[096] A expressão do transgene *atmyb32::ipt* em canola transgênica foi avaliada usando um método RT-PCR fluorescente específico para a sequência alvo (figura 37). O mRNA *IPT* foi detectado em tecidos e os níveis de expressão relativa foram comparados entre linhas e com controles nulos. Os controles nulos são linhas de descendência que sofreram o processo de transformação mas não contêm as sequências alvo após cruzamento.

Exemplo 14

Envelhecimento retardado de folhas destacadas em plantas transgênicas de canola

[097] Foram realizados experimentos para avaliar o envelhecimento de folhas destacadas de plantas transgênicas *atmyb32::ipt*. As figuras de 38 a 41 indicam os dados de ensaio de envelhecimento destacado associados com a expressão do gene candidato em canola. Os ensaios para cotilédones destacados e folhas foram conduzidos para induzir envelhecimento e avaliar o fenótipo envelhecimento de canola transformada em comparação com controles do tipo selvagem. Nos dias 7 e 14 dos ensaios de envelhecimento destacado, o progresso do envelhecimento foi qualitativamente classificado para cada amostra de tecido como sendo 0 - nenhum sinal possível de envelhecimento; 1 - primeiros sinais visíveis de envelhecimento com um empalidecimento da cor verde; 2 - progressão adicional do envelhecimento com amarelamento da cor tornando-se notável; 3 - o tecido estava principalmente amarelo, entretanto permanecia evidente uma cor verde pálida; 4 - progressão para cor completamente amarela; 5 - amarelo na cor com algum descoramento e trechos de necrose (figuras 39 e 41).

Exemplo 15

Produção de plantas de trigo transgênico

[098] A transformação genética do trigo foi baseada na transformação biolística de embriões zigóticos da linhagem de trigo *Triticum aestivum* L Bobwhite 26 como delineado

nas figuras 27 e 28.

[099] O gene quimérico *atmyb32::ipt* foi inserido no genoma do trigo por bombardeamento de partícula usando plasmídeos inteiros, então seqüências de espinha dorsal de vetor também podem ser incorporadas no genoma (figura 24).

[0100] O vetor de transformação foi completamente seqüenciado (figura 25). A modificação genética foi caracterizada pela presença do gene candidato por análise Southern na geração T₁ (figura 42).

[0101] A figura 42 ilustra a análise de hibridização Southern de plantas transgênicas de trigo. O DNA genômico foi isolado de diferentes linhas T₁ de plantas transgênicas de trigo e digerido com uma enzima de restrição para determinar o número de cópias do gene candidato. O controle é o trigo não transformado do tipo selvagem *Triticum aestivum* "Bobwhite 26". O material digerido sofreu eletroforese, foi transferido para uma membrana de nylon e sondado com um gene *IPT* rotulado com DIG de tamanho integral, como uma sonda. Uma faixa de número de cópias foi observada.

Exemplo 16

Expressão do gene *IPT* em plantas transgênicas de trigo

[0102] O RNA foi extraído de tecido de folha jovem de plantas de trigo T₁ transgênicas crescidas em estufa contendo o gene IPT acionado pelo promotor AtMYB32 e a primeira fita cDNA foi preparada.

[0103] A expressão quantitativa do transgene foi determinada usando uma sonda baseada no método qRT-PCR para a seqüência alvo. Exemplos representativos de linhas de expressão alta, média e baixa para cada uma das construções estão presentes na figura 43. Um conjunto preparador/sonda projetado para o gene endógeno da sintase de sacarose também foi usado como controle. Todos os gráficos de amplificação do gene de controle começaram em um ciclo de cada outro indicando que as diferenças no nível de detecção dos GMOs é devida a variação em expressão.

[0104] Ambos iniciador e sonda PCR são específicos para a seqüência alvo o que resulta em fluorescência detectável que é proporcional à quantidade de produto PCR acumulado. O DNA do plasmídeo diluído serialmente contendo a seqüência alvo em detecção foi empregado para criar uma curva padrão de quantificação.

Exemplo 17

Morfologia de planta em plantas transgênicas de trigo

[0105] As diferenças nas características de crescimento foram observadas na estufa dentro e entre as linhas de trigo transgênicas. Os fenótipos predominantemente observados entre plantas de trigo T₁ incluem altura de planta atrofiada, intensidade de perfilamento, número de folhas, bem como biomassa vegetativa (figura 44).

Exemplo 18

Retardo no envelhecimento de folha destacada em plantas de trigo transgênicas

[0106] Um ensaio de folha destacada foi usado para avaliar o envelhecimento induzido e o fenótipo de envelhecimento de folhas de trigo transformado em comparação com controles nulos (figura 45). Os controles nulos são linhas de descendência que sofreram o processo de transformação mas não contêm seqüências alvo após cruzamento.

[0107] Deve também ser entendido que o termo "compreende" (ou suas variantes gramaticais) como aqui usado é equivalente ao termo "inclui" e não deve ser tomado como excluindo a presença de outros elementos ou características.

[0108] Os documentos citados na presente descrição são somente para fins de referência e sua inclusão não é um reconhecimento de que eles forma parte de um conhecimento geral comum no estado da técnica.

[0109] Finalmente, deve ser entendido que as várias alterações, modificações e/ou adições podem ser feitas sem fugir ao espírito do presente invento, como aqui delineado.

Reivindicações

1. Método de manipular o envelhecimento ou intensificar a biomassa numa planta, **caracterizado** pelo fato de incluir introduzir em dita planta uma construção genética incluindo um promotor gene *myb32* de Arabidopsis modificado incluindo uma sequência de nucleotídeo selecionado a partir do grupo da SEQ ID NO 2, 3 e 4, operacionalmente ligado a um gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citoquinina em que dito gene é um gene isopentenil transferase (*ipt*) ou um gene *sho*, em que um ou mais *motifs* específicos de raiz e/ou *motifs* específicos de pólen são excluídos ou desativados em dito promotor gene *myb* modificado.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato que um ou mais *motifs* específicos de raiz são excluídos ou desativados e que cada um de ditos *motifs* específicos de raiz inclui uma sequência de consenso ATATT ou AATAT.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato que um ou mais *motifs* específicos de pólen são excluídos ou desativados e que cada um de ditos *motifs* específicos de pólen inclui uma sequência de consenso TTCT ou AGAA.

4. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, **caracterizado** pelo fato que dito gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citoquinina é de um gênero escolhido dentre o grupo que consiste de *Agrobacterium*, *Lotus* e *Petunia*.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** pelo fato de que dito gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citoquinina inclui uma sequência de nucleotídeos escolhida dentre o grupo que consiste das SEQ ID Nos: 5, 7 e 9, e as sequências que codificam os polipeptídeos tendo uma sequência de SEQ ID NOs: 6, 8 e 10.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que dita construção genética é introduzida em dita planta por transformação mediada por *Agrobacterium* ou biolística das células da planta.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado** pelo fato de que as células da planta que incorporam a construção genética são selecionadas e então cultivadas para regenerar plantas transformadas.

8. Vetor capaz de manipular o envelhecimento ou intensificar a biomassa numa planta, **caracterizado** pelo fato de que dito vetor inclui um promotor do gene *myb32* de *Arabidopsis* modificado incluindo uma sequência de nucleotídeo selecionado a partir do grupo consistindo de SEQ ID NO 2, 3 e 4, operacionalmente ligado a um gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citocinina, em que dito gene é um gene isopentenil transferase (*ipt*) ou um gene *sho*, em que um ou mais *motifs* específicos de raiz e/ou *motifs* específicos de pólen são excluídos ou desativados em dito promotor gene *myb* modificado.

9. Vetor, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado** pelo fato de adicionalmente incluir um terminador; dito promotor, gene e terminador estando operacionalmente ligados.

10. Vetor, de acordo com a reivindicação 8 ou 9, **caracterizado** pelo fato de que um ou mais *motifs* específicos de raiz são excluídos ou desativados em dito promotor gene *myb* e que cada um de ditos *motifs* específicos de raiz inclui uma sequência de consenso ATATT ou AATAT.

11. Vetor, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 8 a 10, **caracterizado** pelo fato de que um ou mais *motifs* específicos de pólen são excluídos ou desativados em dito promotor gene *myb* e que cada um de ditos *motifs* específicos de pólen inclui uma sequência de consenso TTCT ou AGAA.

12. Vetor, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 8 a 11, **caracterizado** pelo fato de dito gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citocinina é de um gênero escolhido dentre o grupo que consiste de *Agrobacterium*, *Lotus* e *Petunia*.

13. Vetor, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de que dito gene que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de uma citocinina inclui uma sequência de nucleotídeos escolhida dentre o grupo que consiste de SEQ ID Nos: 5, 7 e 9, e as sequências que codificam os polipeptídeos tendo uma sequência de SEQ ID Nos: 6, 8 e 10.

1 gtttgtgtct tctagattaa tcttccaaac ttttgattaa ccaaaaaaat tatcaaacta
 61 acatgttctc cttttttctt tagaaattct aacgaattta tctttatact gatttgaata
 <<< XcmI >>>
 121 tacttaattt ggtcatttgg atgcccttta caacctcctt accaaactca ctatggcaaa
 181 tatatactat ttccatttgt aacataaatg tccataattt gaattaaatt cgttgcagta
 241 cgaaccatc caactttgtc caaaaacaaa atccttataa ctatttactt taatgtaaat
 301 atatcctcta cttttgtttt tacaacccta gtcacaaaca atttattatt tgcgataaaa
 361 aatcatatcg aacaaactcg atgatttttt ttttcttacg ttattaatga aactaaaata
 421 tagaaaaaaa caagatgaac caaattttca cctatctaac tacttaata taatatgatt
 < SspI >
 481 aaatttggta aagtttgaaa agtttcttta gaaatgtgaa atattgatca cagtttctat
 541 tgctaaaatc accaacaaaa cgcattgtgc cattcataat tatgggtttca cactacaaac
 601 taggctaata agtaaatag tagacaacta gactcaggtt tgaaaaaac ataaaagcca
 661 tatagcgttt tctcattgaa actgcgaaca cgatcgtgtg aatgttgcag tttctagttt
 721 tgatacaaac aaacaaaaac acaatttaac cttagattaa aaagaaaaaa gagaacggag
 781 cccactagcc actccttcaa acgtgtctta ccaactctct tctagaaaca aattaggett
 841 cacttctctc ttccaactc tctctctctc tctctctctt tttctcaaac catctctcca
 901 taaagcccta atttcttcat cacaagaatc agaagaagaa a

Figura 1

1 gtttgtgtct tctagattaa tcttccaaac ttttgattaa ccaaaaaaat tatcaaacta
 61 acatgtttct cttttttctt tagaaattct aacgaattta tctttatact gatttgaata
 121 tacttaattt ggtcatttgg atgcccttta caacctctt accaaactca ttgatcacag
 181 tttctattgc taaaatcacc aacaaaacgc atgtcgccat tcataattat ggtttcacac
 241 ctacaactag gctaataagt aaataagtag acaactagac tcaggtttga aaaaaccata
 301 aaagccatat agcgttttct cattgaaact gcgaacacga tcgtgtgaat gttgcagttt
 361 ctagttttga tacaacaaa caaaaacaca atttaattct agattaaaa gaaaaaagag
 421 aacggagccc actagccact ccttcaaacy tgtcttacca actctcttct agaaacaaat
 481 taggcttcac ctctctctt caacctctct ctctctctct ctctctttt ctcaaacat
 541 ctctccataa agccctaatt tcttcacac aagaatcaga agaagaaa

Figura 2.

1 tacttaattt ggtcatttgg atgcccttta caacctctt accaaactca ttgatcacag
 61 tttctattgc taaaatcacc aacaaaacgc atgtcgccat tcataattat ggtttcacac
 121 ctacaactag gctaataagt aaataagtag acaactagac tcaggtttga aaaaaccata
 181 aaagccatat agcgttttct cattgaaact gcgaacacga tcgtgtgaat gttgcagttt
 241 ctagttttga tacaacaaa caaaaacaca atttaattct agattaaaa gaaaaaagag
 301 aacggagccc actagccact ccttcaaacy tgtcttacca actctcttct agaaacaaat
 361 taggcttcac ctctctctt caacctctct ctctctctct ctctctttt ctcaaacat
 421 ctctccataa agccctaatt tcttcacac aagaatcaga agaagaaa

Figura 3.

1 attgateaca gtttctattg ctaaaatcac caacaaaacy catgtcgcca ttcataatta
 61 tggtttcaca cctacaacta ggctaataag taaataagta gacaactaga ttcaggtttg
 121 aaaaaacat aaaagccata tagcgtttt tcattgaaac tgogaacacy atcgtgtgaa
 181 tgttgcagtt tctagttttg atacaacaaa aaaaaaacac aatttaattct tagattaaaa
 241 agaaaaaaga gaacggagcc cactagccac tcttcaaacy gtgtcttacc aactctctt
 301 tagaaacaaa ttaggcttca ccttctctt ccaacctctc tctctctctc tctctcttt
 361 tctcaacca tctctccata aagccctaatt tcttcacac caagaatcag aagaagaaa

Figura 4.

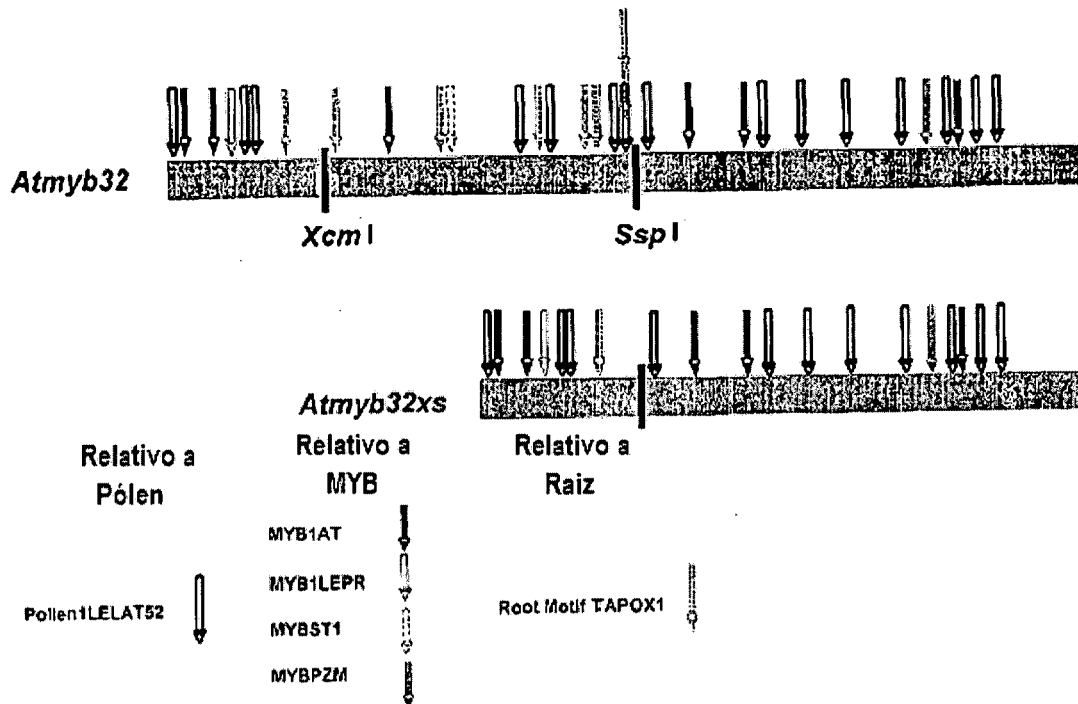


Figura 5.

```

1  atggacctgc atctaatttt cggccaact tgcacaggaa agacgacgac cgcgatagct
61  cttgccacgc agacagggct tccagtcctt tcgcttgatc gggccaatg ctgtcctcaa
121 ctatcaaccg gaagcggacg accaacagtg gaagaactga aaggaacgac gcgtctctac
181 cttgatgatc ggcctctggt ggaggggtatc atcgcagcca agcaagctca tcataggctg
241 atcaggaggg tgtataatca tgaggccaac ggcgggctta ttcttgaggg aggatccacc
301 tcgttgctca actgcatggc gcgaaacagc tattggagtg cagattttcg ttggcatatt
361 attcgccaca agttaccgga ccaagagacc ttcattgaaag cggccaaggc cagagttaag
421 cagatgttgc accccgctgc aggccattct attattcaag agttgggttta tctttggaat
481 gaacctcggc tgaggcccat tctgaaagag atcgatggat atcgatatgc catgttggtt
541 gctagccaga accagatcac ggcagatatg ctattgcagc ttgacgcaaa tatggaaggt
601 aagttgatta atgggatcgc tcaggagtat ttcattccatg cgcgccaaca ggaacagaaa
661 ttcccccag ttaacgcagc cgttttcgac ggattcgaag gtcattccgtt cggaatgtat
721 tag

```

Figura 6.

1 MDLHLIFGPT CTGKTTTIAIA LAQQTGLPVL SLDRVQCCPQ LSTGSGRPTV EELKGTTRLY
 61 LDDRPLVEGI IAAKQAHRL IEEVYNHEAN GGLILEGGST SLLNCMARN YWSADFRWHI
 121 IRHKLPDQET FMKAAKARVK QMLHPAAGHS IIQELVYLWN EPRLRPILKE IDGYRYAMLF
 181 ASQNQITADM LLQLDANMEG KLINGIAQEY FIHARQQEQK FPQVNAAAFD GFEGHPFGMY
 241 *

Figura 7.

1 atgtccatct caatgctaata gtgcagacta agacaaccct taatanaacgt tccctgcagt
 61 ggcaaaaaaac tgagcatgag gcagattcaa aaggagaagg tagtggttgg gatggggagct
 121 acaggggacag gaaagtcaaa gctctccatt gacctcgcca cctgtttccc ctcagaaatc
 181 atcaactccg acaagattca aatctacgac ggcctcgaca tcgtcaccaa caaaatctcc
 241 aaggaagaac aacgtggaat cccccaccac ctctcggaa ctcaaaaccc taacacagac
 301 ttcaccgccc gcgatttcag tgactgttcc accgcgcga ttgacgcaat cacaagccgc
 361 gaccaccttc cgatcatcgc cggaggttcg aactcctacc tggaggcgtt aatcgacgac
 421 gacgactaca aattccgac gaggtacgac ttctgctgcc tctgggtcga cgtggcaatg
 481 ccggtgctgg actcatacgt ggcgccgct gtggatcaga tgcctcggag cggaatgggt
 541 gaggagctga gaccgttttt caacgcgaac ggcgactact cgagaggaat cagaagagcg
 601 attgggggttc ctgaattcga cgagtatttc cggcggaag ggttcgcga tgaggaaacg
 661 aggaaattgt tactggagcg agcggtgagg gagatgaagg tgaacacgtg caagctcgcg
 721 aggaggcaat tggggaagat tcagaggctg aggaatgtga agagggtgga gattcacctg
 781 gttgatgcga cgccggtgtt ttggaagcgt ggggaggagg ctgatgaggc gtggcggaag
 841 gtgggtggcag agcctagtgc tatgatcgta gcgcagtttc tgtataaggc aaagagtgat
 901 gtgaatgttg tttctggcgg tttcagagtg ccggcggtt caacggagag tggtatggcg
 961 gcggcgacgt gttag

Figura 8.

1 MSISMLMCRL RQPLINVPCS GKKLSMRQIQ KEKVVLVMA TGTGKSKLSI DLATCFPSEI
 61 INSDKIQIYD GLDIVTNKIS KEEQRGIPHH LLGTQNPNTD FTAGDFSDCS TAAIDAITSR
 121 DHLPIIAGGS NSYLEALIDD DDYKFRSRYD FCCLWVDVAM PVLDSYVAAR VDQMLRSGMV
 181 EELRPFFNAN GDYSRGIRRA IGVPEFDEYF RREGFADEET RKLLLERAVR EMKVNTCKLA
 241 RRQLGKIQRL RNVKRWEIHR VDATPVFWRK GEEADEAWRK VVAEPSAMIV AQFLYKAKSD
 301 VNVVSGGFRV PAGSTESVMA AATC*

Figura 9.

```

1 atgttaattg tagtacatat tattagcatc acacgcatca tattcatcac cttaacccat
61 aatcatctcc atttccttat gtttagatca ttatcataca atcacaagca cctcaaattc
121 cttacaaacc cgaccacacg ggtactccga agaaacatgt cgtcatccac tgtagtaaca
181 ataccgggcc ccacacaaaa aaacaaaaaac aaaatcatag taataatggg tgcaacaggt
241 tcaggaaaaat caaaactctc aatagacctc gtcacacgtc actatccttt ttccgaaatc
301 attaaactcg acaaaatcca aattaccaa ggtttaaaca taaccacaaa caaaatcact
361 gtacccgacc gacgtggcgt agttcatcat ttactcggcg agattgacce cgactttaac
421 ttttctcctt etcatttcog gtcgaattgt ggtaacgca ttaactccat tattaatcgc
481 cataaaactcc cattcctcgt tgggtgggtcc aactcatata tctacgcttt attaacaac
541 cggttcgacc cggattttta ccctgattca aaccgggttc attttatatc caacgagtta
601 cgctacaact gttgttttat ttgggtcgat gtattaaacc cggttttgaa tgagtatttg
661 gataaacggg tcgatgagat gatgaactcg ggtatgtatg aagaactgga acagtttttt
721 aaagaaaaca ggttttcgga tccgggtttg gaaccgggtc gggccaccgg gttgaggaaa
781 gcgatagggg taccggaat ggagaggtat ttaagaaga gctgtacgta tgaggaagca
841 gtgagggaaa taaaagaaaa cacgtggcgg ttagcgaaga agcagatgtg gaagalccaa
901 cggttgagag aagcagggtg ggacctacaa agagtagatg ccacggaggg atttgtggag
961 gcgatgagta ataagaagga aaagggaatt atttgggaaa aacaagtagt ggaaccaagt
1021 gtcaagattg tgaaccgttt ttgttggtgac tga

```

Figura 10.

```

1 MLIVVHIISI TRIIFITLTH NHLHFLMFRS LSYNHKHLKF LTNPTRVLR RNMSSSTVVT
61 IPGPTQKNKN KIIVIMGATG SGKSKLSIDL VTRHYPFSEI INSDKIQITK GLNITTNKIT
121 VPDRRGVVHH LLGEIDPDFN FSPSHFRSIA GQRINSIINR HKLPFLVGGG NSYIYALLTN
181 RFDPDFNPDS NPVHFISNEL RYNCCFIWVD VLNPLVNEYL DKRVDEMMS GMYEELEQFF
241 KENRFSDPGL EPGRATGLRK AIGVPEMERY FKKSCTYEEA VREIKENTWR LAKKQMWKIQ
301 RLREAGWDLQ RVDATFAFVE AMSNKKEKGI IWEKQVVEPS VKIVNRFLLD *

```

Figura 11.

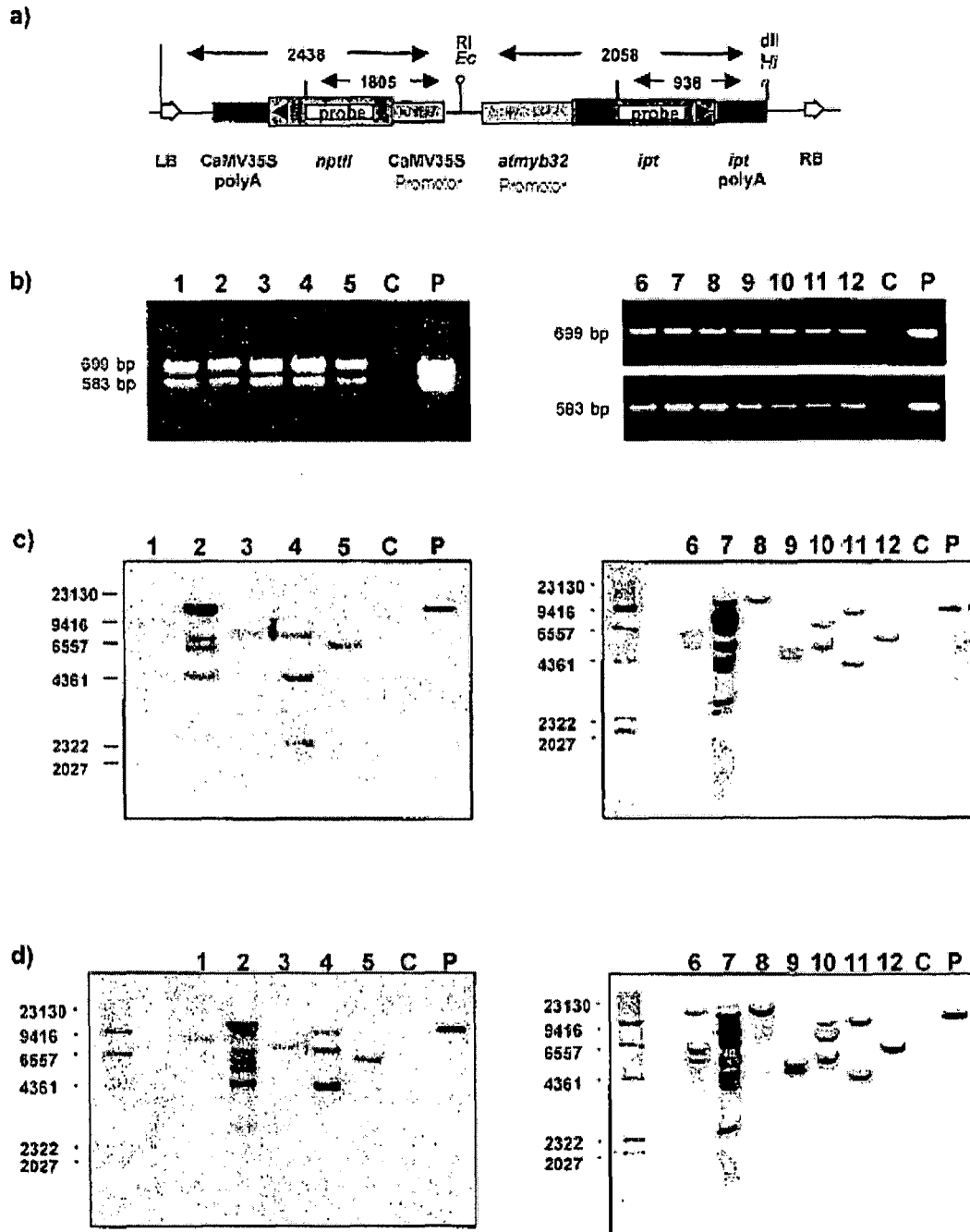


Figura 12.

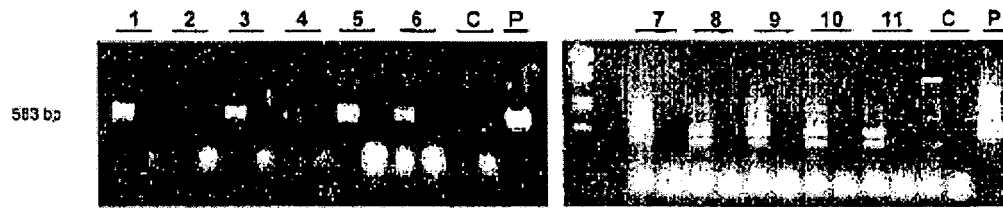


Figura 13.

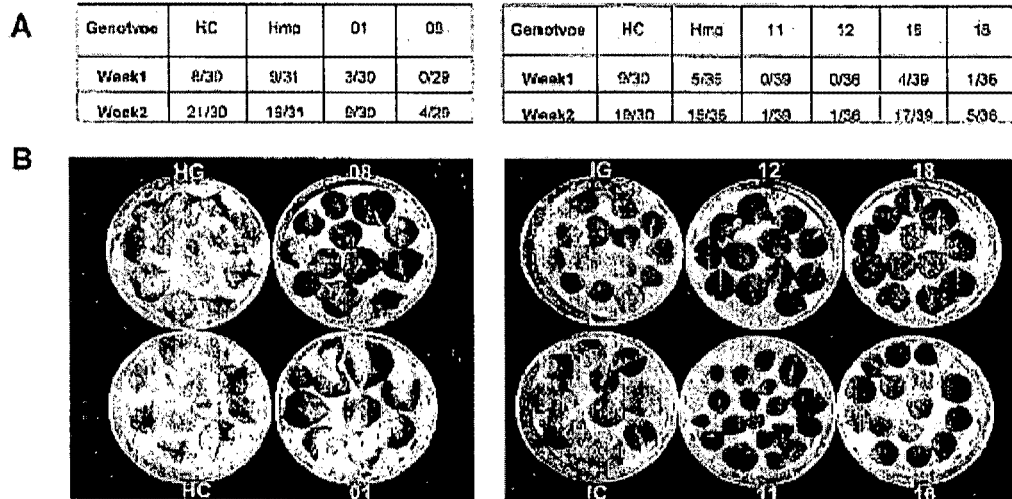


Figura 14.

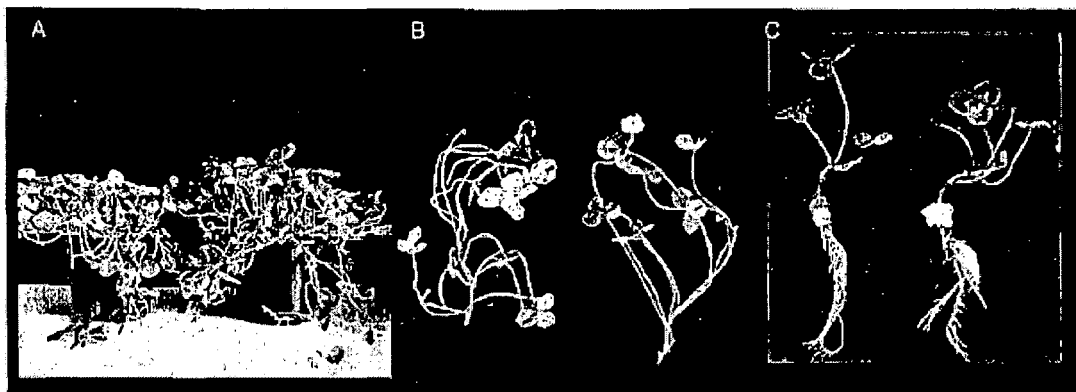


Figura 15.

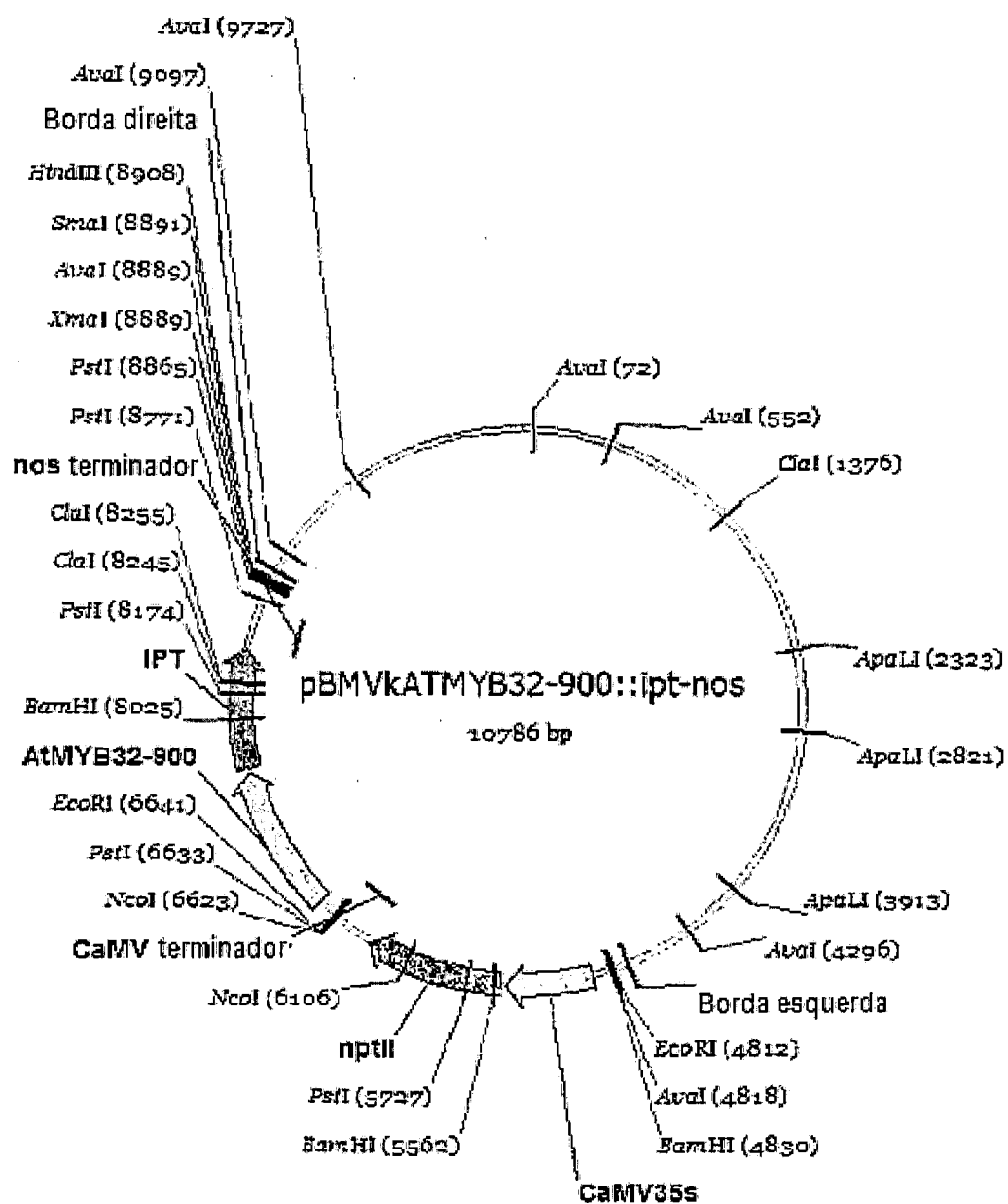


Figura 16.

1 gtcccgatc acgcagcgcg tgagctaccc aggcactgcc gccgcccggc caaccgttct
 61 tgaatcagaa cccgagggcg acgctgcccg cgaggtccag gcgctggccg ctgaaattaa
 121 atcaaaactc atttgagtta atgaggtaaa gagaaaatga gcanaagcac aaacacgcta
 181 agtgccggcc gtccgagcgc acgcagcagc aaggctgcaa cgttggccag cctggcagac
 241 acgccagcca tgaagcgggt caactttcag ttgccggcgg aggatcacac caagctgaag
 301 atgtacggcg tacgccaagg caagaccatt accgagctgc tatctgaata catcgcgag
 361 ctaccagagt aatlgagcaa atgaataaat gagtagatga attttagcgg ctcaaggagg
 421 cggcatggaa aatcaagaac aaccaggcac cgacgcctg gaatgcccc tgtgtggagg
 481 aacggggcgt tggccaggcg taagcggctg ggttgtctgc cggccctgca atggcactgg
 541 aacccccaa cccgaggaat cggcgtgacg gtcgcaaac atccggcccg gtacaaatcg
 601 gccggcgct gggtgatgac ctgggtggaga agttgaaggc cgcgagggc gcccgaggc
 661 aacgcacoga ggcagaagca cgcgccggtg aatcgtggca agcggccgct gatcgaatcc
 721 gcaaaagaatc ccggcaaccg ccggcagccc gtgcgcctc gattaggaag ccgcccagg
 781 gcgacgagca accagatttt ttogttccga tgcctatga cgtgggcacc cgcgatagtc
 841 gcagcatcat ggacgtggcc gttttccgct tgcgaagcg tgaccgacga gctggcgagg
 901 tgatccgcta cgagcttcca gacgggcacg tagaggtttc cgcagggccc gccggcatgg
 961 ccagtgtgtg ggattacgac ctggctactga tggcggtttc ccattcaacc gaatccatga
 1021 accgataccg ggaagggaag ggagacaagc cggcccgct gtcccgctca cagcttgcgg
 1081 acgtactcaa gttctgcgg cgagccgatg gcggaaagca gaaagacgac ctggtagaaa
 1141 cctgcattcg gttaaacacc acgcacgttg ccattgcagc taogaagaag gccagaacg
 1201 gccgcctggt gacggtatcc gagggtgaag ccttgattag ccgctacaag atcgtaaaga
 1261 gcgaaccgg gccgcccggg tacatcgaga tcgagctagc tgattggatg tacgcgaga
 1321 tcacagaagg caagaacccg gacgtgtga cggttcacc cgattacttt ttgatcgatc
 1381 ccggcatcgg ccgttttttc taccgctgg cagccgcgc cgcaggcaag gcagaagcca
 1441 gatggttgtt caagacgac tacgaacgca gtggcagcgc cggagagttc aagaagttct
 1501 gtttcacogt gcccaagctg atcgggtcaa atgaacctgc ggagtacgat ttgaaggagg
 1561 agggggggca ggcggggcgc atcctagtca tgcgtaccg caacctgac gagggcgung
 1621 catccgcccg ttctaatgt acggagcaga tgcagggca aattgcccta gcaggggaaa
 1681 auggtcgaaa aggtctcttt cctgtggata gcaagtacat tgggaaccca aagccgtaca
 1741 ttgggaaccg gaaccgtac attgggaacc caaagccgta cattgggaac cggctacaca
 1801 tgtaagtga tgatataaaa gagaaaaaag gcgatttttc cgcctaaaac tctttaaaac
 1861 ttattaaaac tcttaaaacc cgcctggcct gtgcataact gtctggccag cgcacagccg
 1921 aagagctgca aaaagcgcct acccttcggt cgtgcgctc cctacgccc gccgcttcgc
 1981 gtcggcctat cgcggcgcct ggcgctcaa aaatggctgg cctacggcca ggcaatctac
 2041 caggggcgcg acaagccgcg ccgtcgccac tcgaccgcg gcccccacat caaggcacc
 2101 tgccctcggc gtttcggtga tgacggtgaa aaactctgac acatgcagct cccggagagc
 2161 gtcacagctt gtcgtgaagc ggatgcggcg agcagacaag cccgtcaggg cgcgtcagcg
 2221 ggtgttggcg ggtgtcggcg cgcagccatg acccagtcac gtagcgatag cggagtgtat
 2281 actggcttaa ctatgcggca tcagagcaga ttgtactgag agtgaccat atgcggtgtg
 2341 aaataccgca cagatgcgta aggagaaaat accgcatcag gcgctcttcc gcttcttcgc
 2401 tcaactgact gctcggctcg gtogttcggc tgcggcgagc ggtatcagct cactcaagg
 2461 cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaa
 2521 gccagcaaaa ggcagggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggtccc
 2581 gcccccctga cagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gagggtggcg aaccgcagag
 2641 gactataaag ataccaggcg ttccccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttcgga
 2701 cctgcgcgt tacgggatac ctgtccgct tctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc
 2761 atagctcacg ctgtaggat ctacgttcgg tgtaggctgt tcgctccaag ctgggctgtg
 2821 tgcacgaacc cccggttcag cccgaccgct gcgcttacc cggtaactat cgtcttgagt
 2881 ccaaccgggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca

2941 gagcgaggta tgtaggcggg gctacagagt ttttgaagtg gtggcctaac tacggtacaa
 3001 ctagaaggac agtatttggg atctgcgcgc tgcctgaagcc agttaacctc ggaaaaagag
 3061 ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cgggtggttt tttgtttgca
 3121 agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcttttgatc ttttctacgg
 3181 ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat tttggctatg catgatatat
 3241 ctcccaattt gtgtagggtt ttttatgcac gottaaaaat aataaaagca gacttgacct
 3301 gatagtttgg ctgtgagcaa ttatgtgctt agtgcatcta atcgcttgag ttaacgcggg
 3361 cgaagcggcg tcggcttgaa cgaatttcta gctagacatt atttgcgcac taccttgggtg
 3421 atctcgccct tcacgtagtg gacaaattct tccaaactgat ctgcgcgcga ggccaagcga
 3481 tcttcttctt gtccaagata agcctgtcta gcttcaagta tgacgggctg atactgggoc
 3541 ggacggcgct ccattgccca gtccgcagcg acatccttcg gcgcgatttt gccggttaact
 3601 gcgctgtacc aaatgcggga caacgtaagc actacatttc gctcatcgcc agcccgctcg
 3661 ggcggcgagt tccatagcgt taaggtttca tttagcgctt caaatagatc ctgttcaggga
 3721 accggatcaa agagtctctc cgcgcgtgga cctaccaagg caacgctatg tttctcttct
 3781 tttgtcagca agatagccag atcaatgtcg atcgtggctg gctcgaagat acctgcaaga
 3841 atgtcattgc gctgccattc tccaaattgc agttcgcgct tagctggata acgccacgga
 3901 atgatgtcgt cgtgcacaaac aatgggtgact tctacagcgc ggagaatctc gctctctcca
 3961 ggggaagcgc aagtttccaa aaggtcgctg atcaaaagtc gccgcgttgt ttcattcaagc
 4021 ctctacggtc ccgtaaccag caaatcaata tcaatgtgtg gcttcaggcc gccatccact
 4081 ggagagcgtt acaaatgtac ggccagcaac gtccggttcga gatggcgctc gatgacgcca
 4141 actacctctg atagttgagt cgatactctg gcgatacccg ctcccccctt gatgtttaac
 4201 tttgttttag ggcgactgcc ctgctgcgta acatcgcttc tgcctcataa catcaaacat
 4261 cgacccacgg cgtaacgcgc ttgctgcttg gatgcccgag gcatagactg taacccaaaa
 4321 aaacatgtca taacaagaag ccattgaaac cgccactgcg ccgttaccac cgtctgcttc
 4381 ggtcaagggt ctggaccagt tgcgtgacgg caqttacgct acctgcatta cagcttacga
 4441 accgaacgag gcttatgtcc actgggttcg tgcccgaaat gatcacaggc agcaacgctc
 4501 tgtcatcgct acaatcaaca tgcctacctc cgcgagatca tccgtgttcc aaacccggca
 4561 gcttaggttc cgttcttccg aatagcatcg gtaacatgag caaagtctgc cgccttacaa
 4621 cggctctccc gctgacgccc tcccggaact atgggctgcc tgtatcgagt ggtgattttg
 4681 tgcagagctg ccggtcgggg agctgttggc tggctggtgg caggatatat tgtggtgtaa
 4741 acaaatggac gcttagacaa cttaataaca cattgcggac gtttttaatt tactgaatta
 4801 acccggaatt gaattctctg agtacgtagg atccatttaa attctagagg cgcgcgata
 4861 tctctcttta aggtagcgag ctcttaatta atagggataa cagggttaatg cggccgcaag
 4921 ctaaaacgac ggccagtga tttatcaact tctatagaaa agttgctctg ccgacagtgg
 4981 toccaaagat ggacccccc ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac
 5041 gtcttcaag caagtggatt gatgtgataa catggtggag cagcacaact togtctactc
 5101 caagaatatc aaagatacag tctcagaaga ccaaagggtt attgagactt ttcaacaaag
 5161 ggtaatatcg ggaacactcc tcggattcca ttgcccagct atctgtcaact tcatcaaaag
 5221 gacagtagaa aagggaagtg gcacctacaa atgccatcat tgcgataaag gaaaggctat
 5281 cgttcaagat gctctgccc acagtggctc caaagatgga ccccccacca cgaggagcat
 5341 cgtggaaaaa gaagcgttc caaccagctc ttcaaaagca gtggattgat gtgatattct
 5401 cactgacgta agggatgacg cacaatccca ctatccttcg caagaccctt cctctatata
 5461 aggaagttca tttcatttgg agaggacacg ctgcaagttt gtacaaaaaa gcaggctatg
 5521 gcaattacct tatccgcaac ttctttacct atttcggccc ggatccgggc aggttctctc
 5581 gcgccttggg tggagaggct attcggctat gactgggcac aacagacaat cggctgctct
 5641 gatgcgcgcg tgttccggct gtcagcgacg gggcgcccg tttttttgt caagaccgac
 5701 ctgtccgggt cctgaatga actgcaggac gaggcagcgc ggcctatctg gctggccacg
 5761 acggggcgtc ctctgcgcgc tgtgctcgac gttgtcactg aagcgggaag ggactggctg
 5821 ctattgggcg aagtgcggg gcaggatctc ctgtcatctc accttgcctc tgcgagaaa

5881 gtatccatca tggctgatgc aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacctgcccc
 5941 ttgcaccacc aagcgaacaa tgcgatogag cgagcaogta ctccgatgga agccgggtctt
 6001 gtcgatoagg atgatctgga cgaagagcat caggggctcg cgcagccga actgttcgcc
 6061 aggcctcaagg cgcgatgcc cgaaggcag gatctcgtcg tgaccatgg cgatgcctgc
 6121 ttgcogaata tcatggtgga aaatggcgc tttctggat tcatcgactg tggccggctg
 6181 ggtgtggcgg accgctatca ggacatagcg ttggctaccc gtgatattgc tgaagagctt
 6241 gggggcgaat gggctgacgg ctctcctcgtg ctttaaggta tcgcgcctcc cgattcgcag
 6301 cgcctcgcct tctatcgcct tcttgaocgag ttctcttgaa ccagctttc ttgtacaaag
 6361 tggagtccgc aaaaatcacc agtctctctc tacaatcta tctctctcta ttttctcca
 6421 gaataatgtg tgagtgttc ccagataagg gaattaggg tcttataggg tttcgctcat
 6481 gtgttgagca tataaanaac ccttagtatg tatttgtatt tgaanatac ttctatcaat
 6541 aaaatttcta attcctaaaa ccaaaatoca gtgacctca ctttattata catagtgtat
 6601 aattcactgg cgtgcttat tccatggctg caggtcagcg aattcacggg ttagggataa
 6661 cagggtaatc gctaccttag gaccgtata gttacggcca gtgcattac cctgttatcc
 6721 ctaacgggtg acaactttgt atagaaagt tggtttgtgt cttctagatt aatcctccaa
 6781 acttttgatt aacaaaaaa attatcaaac taacatgttc tcttttttc tttagaatt
 6841 ctaacgaatt tatctttata ctgatttgaa tatacttaat ttggtcattt ggatgcctt
 6901 tacaacctcc ttaccaaact cactatggca aatataact attttccatt gtaacataaa
 6961 tgtccataat ttgaattaaa ttggttcgag tacgaaacca tccaaacttg tccaaaaaca
 7021 aaatccttat aactatctac tttaagttaa atatatctc tacttttgtt tttacaacct
 7081 tagctcaaac aaatttatta tttgcgataa aaaatcatat cgaacaaact cgatgatttt
 7141 ttttttctta cgttattaat gaaactaaaa tatagaaaaa aacaagatga accaaatttt
 7201 cactatctta actacttaaa tataatatga ttaaatttgg taaagtttga aaagtthctt
 7261 tagaaatgtg aaatattgat cacagtttct attgctaaaa tcaccaacaa aacgcattgc
 7321 gccattcata attatggttt cacacctaca actaggctaa taagtaata agtagacaac
 7381 tagactcagg tttgaaaaaa ccataaaagc catatagcgt tttctcattg aaactgcgaa
 7441 cagcatcgtg tgantgttgc agtttctagt ttgatacaa acaaacaaaa acacaattta
 7501 atcttagatt aaaaagaaaa aagagaacgg agcccaotag ccactccttc aaacgtgtct
 7561 taccaaactct cttctagaaa caaattaggc ttccacttcc tcttccaaac tctctctctc
 7621 tctctctctc ttttctctca accatctctc cataaagccc taatttcttc atcacaagaa
 7681 tcagaagaag aaacaagtgt gtacaaaaaa gcaggcttac tgcaaaaaac ttatggacct
 7741 gcacttaatt ttgggtccaa ctgcacagg aaagacgacg accgcgatag ctcttgccca
 7801 gcagacaggg cttccagtcc tttcgtctga tcgggtccaa tgcgtctctc aactatcaac
 7861 cggagcggga cgaaccaacg tggagaact gaaaggaacg ccggtctctc accttgatga
 7921 tgggcctctg gtggagggtg tcatcgacgc caagcaagct catcataggc tgatcgagga
 7981 ggtgtataat catgaggcca accgggggct tattcttgag ggaggatcca cctcgttgct
 8041 caactgcctg gcgcgaaaca gctattggag tgcagatttt cgttggcata ttattcgcca
 8101 caagttaccc gaccaagaga cttcatgaa agcgcccaag gccagagtta agcagatgtt
 8161 gcaccccgct gcaggccatt ctattattca agagtgggtt tatctttgga atgaacctcg
 8221 gctgaggccc attctgaaag agatcgatgg atatcgatat gccatgttgt ttgotagcca
 8281 gaaccagatc accgcagata tgctatttga gcttgacgca aatatggaag gtaagtgtat
 8341 taatgggato gctcaggagt atttcatcca tgcgcgcaa caggaacaga aattccccca
 8401 agttaacgca gccgctttcg accgattcga aggtcatccg ttcggaatgt attaggtacc
 8461 cagctttctt gtacaaagtg ggatcgttca aacatttggc aataaagttt cttaaagattg
 8521 aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc tgttgaatta cgttaagcat
 8581 gtaataatta acatgtaatg catgacgtta tttatgagat gggtttttat gattagagtc
 8641 ccgaatttat acatttaata cggatagaa aacaaaatat agcgcgcaaa ctaggataaa
 8701 ttatcgcgcg cgggttcctc tatgttacta gatccaactt tattatacat agttgatctg
 8761 tcgaactgca gtcgctacct taggacctt atagttatgg caaacagcta ttatgggtat

8821 tatgggtgggt tcttttatgcg gacactgacg gcttttatgoc tgcagggtcgc gagcgatcgc
 8881 ggtaccgccc gggcgctcgac aggcctaagc ttagcttgag ottggatcag attgtcgttt
 8941 cccgccttca gtlttaacta tcagtgtttg acaggatata ttggcgggta aacctagag
 9001 aaaagagcgt ttattagaat aacggatatt taaaaggcgc tgaaaagglt tctcgttgc
 9061 tccatttgta tgtgcatgcc aaccacaggg tccccctcgg gatcaaagta ctttgatcca
 9121 acccctccgc tgcctatagtg cagtcggctt ctgaggttca gtgcagccgt ctctctgaaa
 9181 cgacatgtcg cacaagtcct aagttaocgc acaggctgcg gccctgccct tttcctggcg
 9241 ttttcttctg cgtgttttta gtgcataaa gtagaatact tgcgactaga accggagaca
 9301 ttacgccatg aacaagagcg ccgcgcgtgg cctgctgggc tatgcocgog tcaaaccca
 9361 cgaccaggac ttgaccaacc aacgggcccga actgcaocgc gccggctgca ccaagctgtt
 9421 ttcgagaaag atcaccggca ccaggcgcga ccgcccggag ctggcagga tgcttgacca
 9481 cctacgcctt ggcgacgttg cgacagtgcg caggctagac cgcttgccc gcagcaccgc
 9541 cgacctactg gacattgcgc agcgcatcca ggaggccggc gggggcctgc gttagcctggc
 9601 agagccgtgg gccgacacca ccacgcgggc cggccgcctg gtgttgaccg tgttcgcgg
 9661 cattgcgcag ttcgagcgtt cctaatcat cgadcgacc ccgagcgggc gcgagggcgc
 9721 caaggccoga ggcgtgaagt ttggcccccg ccctaccctc accccggcac agatcgcgca
 9781 cgcgcgcgag ctgctcgacc aggaaggcgc caccgtgaaa gaggcggctg cactgcttgg
 9841 cgtgcatcgc tcgaccctgt accgcgcact cgagcgcagc gaggaagtga cgcocacca
 9901 ggcagggcgg cgcgggtgcct tccgtgagga cgcattgacc gaggcgcagc ccttggggc
 9961 cgccgagaaat gaacgcgaag aggaacaaag atgaaacgc accaggacgg ccaggacgaa
 10021 ccgttttctca ttaccgaaga gatcgaggcg gagatgatcg cggccgggta cgtgttcgag
 10081 ccgcocgcgc acgtctcaac cgtgoggctg catgaaatcc tggccgggtt gtctgatgcc
 10141 aagctggcgg cctggccggc cagcttgccc gctgaagaaa ccgagcgccg ccgtctaaaa
 10201 aggtgatgtg tatttgagta aaacagcttg cgtcatgcgg tcgctgcgta tatgatgcga
 10261 tgagtaataa aacaaatag caagggggaa gcctgaaggt tatcgtctga ctttaaccaga
 10321 aaggcggggtc aggaagagc accatcgcaa cccatctagc ccgcgcctg caactcgccg
 10381 gggccgatgt tctgttagtc gattccgac cccagggcag tgcocgcgat tgggoggcgc
 10441 tgccgggaaga tcaaccgcta accgttctgc gcctcgacgc ccgagcgatt gacccgagc
 10501 tgaaggccat cggccggcgc gacttcgtag tgatcgacgc agcccccag gggcgagct
 10561 tggctgtgtc cgcgatcaag gcagccgact tctgtctgat tccggtgcag ccaagccctt
 10621 acgacatatg ggcoacgcgc gacctggtg agctgggtta gcagcgcat gaggtcacgc
 10681 atggaaggct acaagcggcc ttgtctgtgt cgcggcgat caaaggcag cgcctcggcg
 10741 gtgaggttgc cgaggcgcgt gccgggtacg agctgcccct tcttga

Figura 17.

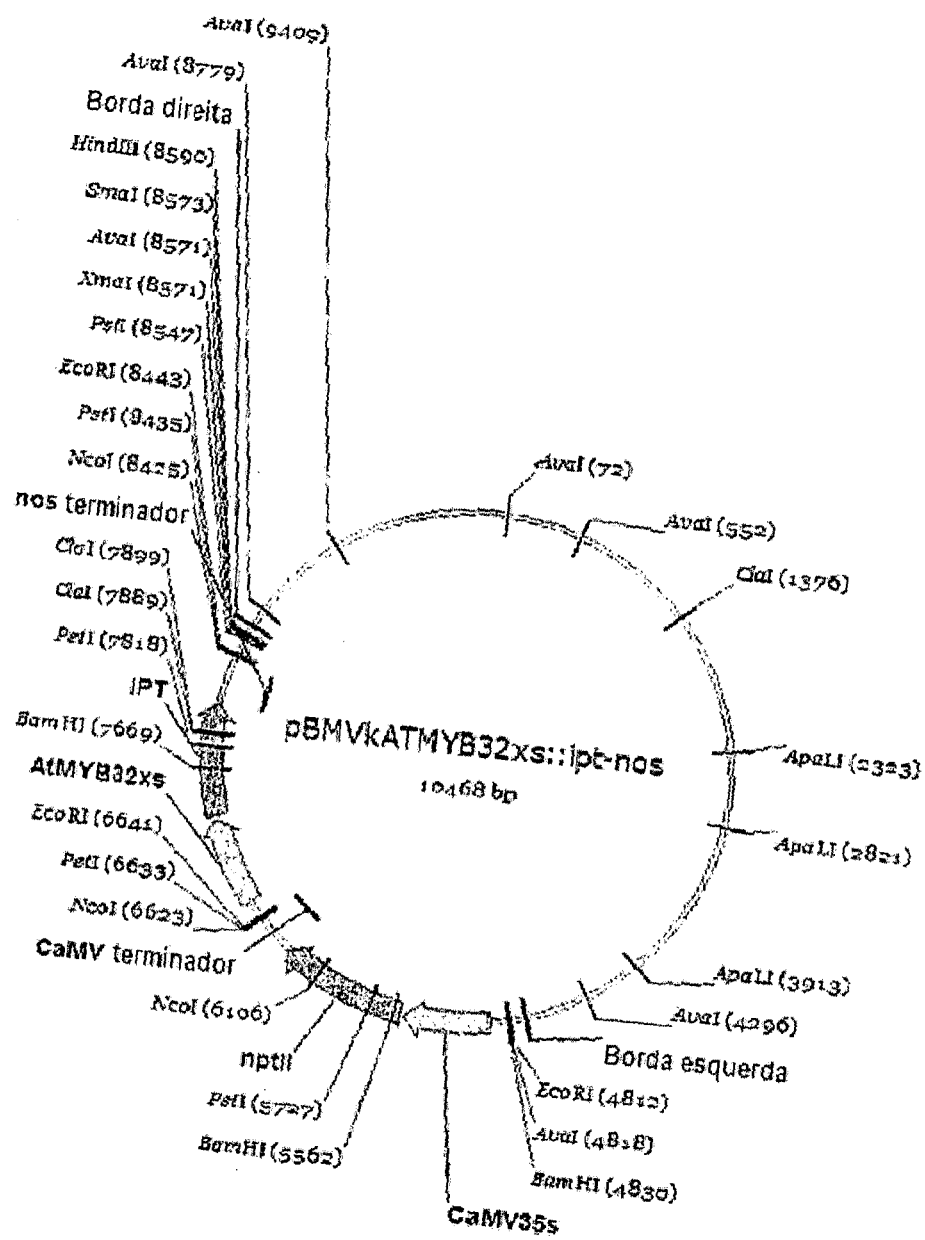


Figura 18.

1 gtcccgatc acgcagcgcg tgaactaccc aggcactgcc gccgcgggca caaccgttct
 61 tgaatcagaa cccgagggcg acgctgcccg cgaggtccag gcgctggccg ctgaaattaa
 121 atcaaaactc atttgagtta atgaggtaaa gagaaatga gcaaaagcac aaacacgcta
 181 agtgccggcc gtccgagcgc acgcagcagc aaggctgcaa cgttgccag cctggcagac
 241 acgccagcca tgaagcgggt caactttcag ttgccggcgg aggatcacac caagctgaag
 301 atgtacgcgg tacgccaagg caagaccatt accgagctgc tatctgaata catcgcgag
 361 ctaccagagt aaatgagcaa atgaataaat gagtagatga attttagcgg ctaaaggagg
 421 cggcatggaa aatcaagaac aaccaggcac cgacgcctg gaatgcccca lgtgtggagg
 481 aacggggcgt tggccaggcg taagcggctg ggttgtctgc cggccctgca atggcactgg
 541 aacccccaag cccgaggaat cggcgtgacg gtgcgaacc atccggcccg gtacaaatcg
 601 gcgcggcgct ggggtgatgac ctgggtggaga agttgaaggc cgcgcaggcc gccagcggc
 661 aacgcacgca ggcagaaaca cgcgccgggt aatcgtggca agcggcgcct gatcgaaatc
 721 gcaaaagaatc ccggcaaccg ccggcagccg gtgcgcctgc gattaggaag ccgccaagg
 781 ggcagagaca accagatttt ttctgtccga tgccttatga cgtgggcacc cgcgatactc
 841 gcagcatcat ggacgtggcc gttttccgtc tgcgaaagcg tgaccgacga gctggcgagg
 901 tgatccgcta cgagcttcca gacgggcacg tagaggtttc cgcaggcccg gccggcatgg
 961 ccagtggtg ggattacgac ctgggtactga tggcggtttc ccatttaacc gaatccatga
 1021 accgataccg ggaagggaag ggagacaagc ccggcccgct gttccgtcca cactgttcgg
 1081 acgtactcaa gttctgcggc cgagccgatg gcggaaagca gaaagacgac ctggtagaaa
 1141 cctgcattcg gttaaacacc acgcacgttg ccattgcagc tacgaagaag gccaaagacg
 1201 gccgcctggt gacggtatcc gaggggtgaug ccttgattag ccgctacaag atcgtaaaag
 1261 gogaaaccgg gcggccggag tacatcgaga tcgagctagc tgattggatg taccgcgaga
 1321 tcacagaagg caagaaccgg gacgtgctga cggttcacc cgtattactt ttgatcgatc
 1381 ccggcatcgg cgtttttctc taccgcctgg cagccgcgc cgcaggcaag gcagaagcca
 1441 gatggttgtt caagacgac tacgaacgca gtggcagcgc cggagagttc aagaagttct
 1501 gtttcaccgt gcgcaagctg atcgggtcaa atgacctgcc ggagtacgat ttgaaggagg
 1561 aggcggggca ggctggcccg atcctagtca tgcgtaccg caacctgac gagggcgaa
 1621 catccgccgg ttctaatgt acggagcaga tgcagggca aattgcccta gcaggggaaa
 1681 aaggctgaaa aggtctcttt cctgtggata gacgtacat tgggaacca aagccgtaca
 1741 ttgggaaccg gaaccctgac attgggaacc caaagccgta cattgggaac cggtcacaca
 1801 tgtaagtac tgatataaaa gaaaaaaag gcgatttttc cgcctaaaaa tcttttaaac
 1861 ttaataaaac tcttaaaacc cgcctggcct gtgcataact gtctggccag cgcacagccg
 1921 aagagctgca aaaagcgcc acccttccgt cgtcgctcc cctacgccc gccgcttcgc
 1981 gtnggcctat cgcggccgct ggccgctcaa aaatggctgg cctacggcca ggcaatctac
 2041 cagggcggcg acaagccggc cgtcgccac tcgacgcgg gcgcccacat caaggcacc
 2101 tgcctcgccg gtttcggtag tgacggtgaa aacctctgac acatgcagct ccgggagacg
 2161 gtccagcctt gtctgtaagc ggtgcccgg agcagacaag ccgctcaggg cgcgtcagcg
 2221 ggtgttgggc ggtgtcgggg cgcagccatg acccagtcac gtagcgatag cggagtgtat
 2281 actggcttaa ctatgcggca tcagagcaga ttgtactgag agtgcaccat atgcggtgtg
 2341 aaataaccga cagatgcgta aggagaaaat accgautcag gcgctcttc gcttccctgc
 2401 tcaactgactc gctgcgctcg gtcttcggc tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaaag
 2461 cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag
 2521 gccagcaaaa gccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc
 2581 gccccctga cgagcatcac aaaaaatgac gctcaagtca gaggtggcga aacccgacag
 2641 gactataaag ataccggcg tttcccccgt gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga
 2701 cctgcccgtc taccggatac ctgtccgccc ttctcccttc gggaaggctg gcgctttctc
 2761 atagctcagc ctgtaggatc ctcagttcgg tgtaggctgt tcgctccaag ctgggctgtg
 2821 tgcacgaacc cccggttcag cccgaccgct gcgccttctc cgttaactat cgtcttgagt
 2881 ccaacccggc aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca
 2941 gagcgaggta tgtaggcggc gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca
 3001 ctagaaggac agtatctgt atctgcgctc tgcgaaagcc agttaccttc ggaaaaagag

3061 ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cgggtggtttt tttgtttgca
 3121 agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcttttgatc tttctacgg
 3181 ggtctgacgc tcagtggaa c gaaaactcac gttaagggat tttgggcatg catgatatat
 3241 ccccccaattt gtgtagggct tattatgcac gcttaaaaaat aataaaaagca gacttgacct
 3301 gatagtttgg ctgtgagcaa ttatgtgctt agtgcaccta atcgcttgag ttaacgcggg
 3361 cgaagcggcg tcggcttgaa cgaatttcta gctagacatt atttgccgac taccttgggtg
 3421 atctcgccctt tcacgtagtg gacaaattct tccaactgat ctgcgcgcga ggccaagcga
 3481 tcttctctctt gtccaagata agcctgtcta gcttcaagta tgacgggctg atactgggac
 3541 ggcaggcgct ccattgcccc gtgcggcagcg acatccttcg gcgcgatttt gccgggtact
 3601 gcgctgtacc aatgcggga caacgtaagc actacatttc gctcatcgcc agcccagtcg
 3661 ggcggcgagt tccatagcgt taagggttca ttagcgccct caaatagatc ctgttcaggga
 3721 accggatcaa agagtctctc cgcgcgtgga cctaccaagg caacgctatg tctctctgct
 3781 tttgtcagca agatagccag atcaatgtcg atcggtgctg gctcgaagat acctgcaaga
 3841 atgtcattgc gctgccattc tccaaattgc agttcgccct tagctggata acgccacgga
 3901 atgatgtcgt cgtgcacaa aatgggtgac tctacagcgc ggagaattct gctctctcca
 3961 ggggaagccg aagtttccaa aagggtcttg atcaaagctc gccgcgttgt ttcataaagc
 4021 cttacggtca ccgtaaccag caaatcaata tcaclgtgtg gcttcaggcc gccatccact
 4081 gcggagccgt acaaatgtac ggcagcgaac gtccggttca gatggcgctc gatgacgcca
 4141 actacctctg atagttgagt cgatacttcg gogatccacg ctcccccat gatgtttaac
 4201 tttgttttag ggcgactgcc ctgctgcgta acatcgctgc tgcctccata catcaaacat
 4261 cgacccacgg cgtaacgcgc ttgctgcttg gatgcccgag gcatagactg taccctaaaa
 4321 aaacatgtca taacagaag ccatgaaaac cgcactgcg ccgttaaccac cgtgcgttc
 4381 ggtcaagggt ctggaccagt tgcctgacgg cagttacgct acctgcatta cagcttaaga
 4441 accgaacgag gcttatgtcc actgggttcg tgcccgaatt gatcacaggc agcaacgctc
 4501 tgtcatcggt acaatcaaca tgctacctc cgcgagatca tccgtgttcc aaaccgggca
 4561 gcttagttgc cgttctctcg aatagcatcg gtaacatgag caaagtctgc cgccttcaaa
 4621 cggctctccc gctgacgcgc tcccgactg atgggtcgcc tgtatcgagt ggtgattttg
 4681 tgcgcgagct cgggtcgggg agctgttggc tggctgggtg caggatatat cgtggtgtaa
 4741 acaaatgtac gcttagacaa cttaataaca cattgcggac gtttttaatg tactgaatta
 4801 acgcgaatt gaattctctg agtaogtagg atccatttaa attctagagg cgcgcgata
 4861 tctctcttta aggtagcgag ctcttaatta atagggataa cagggtaatg cggccgcaag
 4921 ctaaaacgac ggccagtga ttatcaactt tgtatagaaa agttgctctg ccgacagtgg
 4981 tcccaaagat ggacccccac ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac
 5041 gtcttcaaag caagtggatt gatgtgataa catggtggag caccgacac cgtctactc
 5101 caaanaatc aaagatacag tctcagaaga ccaaggggt attgagactt ttcaacaaag
 5161 ggtaatatcg ggannctcc tccgattcca ttgcccagct atctgtcact tcatcaaaag
 5221 gacagtagaa aagggaagtg gacccacaa atgccatcat tgcgataaag gaaaggctat
 5281 cgttcaagat gccctctgcg acagtggctc caaagatgga ccccccacca cgaggagcat
 5341 cgtggaaaaa gaagacgttc caaccacgct tcaaaagcaa gtggattgat gtgatatctc
 5401 cactgacgta agggatgacg cacaatccca ctatccttcg caagacctt cctctatata
 5461 aggaagtcca tttcatttgg agaggacacg ctgcaagttt gtacaaaaaa gcaggctatg
 5521 gcaattacct tatccgcaac ttctttacct atttccgccc ggatecgggc aggttctccg
 5581 gccgcttggg tggagaggtt attcggctat gaotgggac aacagacaat cggctgctct
 5641 gatgccgcgc tgttccgggt gtcagcgag gggcgcccg ttctttttgt caagaccgac
 5701 ctgtccgggt ccctgaatga actgcaggac gaggcagcgc ggctatcgtg gctggccacg
 5761 accggcgctt cttgcgcagc tgtgctcgac gttgtcaact aagcgggaag ggactggctg
 5821 ctattgggcg aagtgcgggg gcaggatctc ctgtcatctc accttgctcc tgccgagaaa
 5881 gtatccatca tggctgatgc aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacctgcccc
 5941 ttcgaccacc aagcgaaca tcgcatcgag cgagcacgta ctccgatgga agccggtctt
 6001 gtcgatcagg atgatctgga cgaagagcat caggggctcg cgcagccga actgttcgcc
 6061 aggtcacaag cgcgcgtgac cgaaggcgag gatctcgtcg tgacccatgg cgatgcctgc
 6121 ttgccgaata tcatgggtga aatggccgc tttctcggat tcatcgactg tggccggctg

6181 gggtgtggcgg accgctatca ggacatagcg ttggctaccc gtgatattgc tgaagagctt
 6241 ggcggcggaat gggctgaccg cttctctcgtg ctttacggta tgcgcgctcc cgattcgcag
 6301 cgcacgcct tctatgcct tcttgacgag ttctctgaa cccagcttc ttgtacaaag
 6361 tggagtcgc aaaaatcacc agtctctctc taaaaatcta tctctctcta tttttctcca
 6421 gaataatgtg tgagtagttc ccagataagg gaattagggg tcttataggg ttctgcctat
 6481 gtgttgagca tataagaaac ccttagtatg tatttgtatt tgtaaaatac ttctatcaat
 6541 aaaatttcta attcctaaaa ccaaaatcca gtgacctcaa ctttattata catagtigat
 6601 aattcactgg ccgtgcttat tccatggctg caggctcgacg aattcacggg ttagggataa
 6661 cagggtaata actataacgg tcctaaggta gcgagcggcc gcaagctaaa acgacggcca
 6721 gtgaattatc aactttgtat agaaaagttg gtttgtgtct tctagattaa tctccaaac
 6781 ttttgattaa ccaaaaaaat tatcaaaacta acatgttctc cttttttctt tagaaattct
 6841 aacgaattta tctttatctt gatttgaata tacttaattt ggtcatttgg atgcccctta
 6901 caactcctt accaaaatat tgatcacagt ttctattgct aaaatcacca acaaaacgca
 6961 tglcgcctatt cataattatg gtttcacacc tacaactagg ctaataagta aataagtaga
 7021 caactagact cagggttgaa aaaaccataa aagccatata gcgttttctc attgaactg
 7081 cgaacacgat cgtgtgaatg ttgcagtttc tagttttgat acaaacaaaac aaaaacacaa
 7141 tttaatctta gattaaaaag aaaaaagaga acggagccca ctagccactc cttcaaacgt
 7201 gtcttaccaa ctctcttcta gaaacaaatt aggttcacc tctctctcc aacctctctc
 7261 tctctctctc tctctcttcc tcaaacctac tctccataaa gccctaattt cttcatcaca
 7321 agaatcagaa gaagaaacaa gtttgtacaa aaaagcaggc ttaotgcaaa aaacttatgg
 7381 acctgcctct aattttcggg ccaacttgca caggaaagac gacgaccgag atagctcttg
 7441 cccagcagac agggcttcca gtcttctgc ttgatcgggt ccaatgctgt cctcaactat
 7501 caaccggag cggacgacca acagtggag aactgaaagg aacgacgct ctctaccttg
 7561 atgatcggcc tctggtggag ggtatcatcg cagccaagca agctcatcat aggtgatcg
 7621 aggaggtgta taatcatgag gccaacggcg ggcttattct tgagggagga tccacctcgt
 7681 tgctcaactg catggcgga aacagctatt ggagtgcaga ttttcgttgg catattatc
 7741 gccacagtt acccgaccaa gagacctca tgaagcggc caaggccaga gtttaagcaga
 7801 tgttgcaacc cgtgcaggc caltctatta ttcaagagtt ggtttatctt tggaaatgaac
 7861 ctcggtgag gccattctg aaagagatcg atggatatcg atatgccatg ttgtttgcta
 7921 gccagaacca gatcacggca gatatgctat tgcagcttga cgc aaatatg gaaggtaagt
 7981 tgattaatgg gatcgctcag gagtatttca tccatycgcg ccaacaggaa cagaactcc
 8041 ccuagttaa cgcagccgct ttcgacggat tcgaaggcca tccgttcgga atgtattagg
 8101 taccagctt tcttgtacaa agtgggacg ttc aaacatt tggcaataaa gtttcttaag
 8161 attgaatcct gttgccggtc ttgcgatgat tatcatataa tttctgttga attacgttaa
 8221 gcattgaata attaacatgt aatgcattgac gttatttatg agatgggttt ttatgattag
 8281 agtcccgcaa ttatacatct aatacgcgat agaaaacaaa atatagcgcg caaactagga
 8341 taatttatcg cgcgcggtgt catctatgtt actagatcca actttattat acatagttag
 8401 taattcactg gccgtcgctt attccatggc tgcaggctga cgaattcacc ggttaantat
 8461 aacggtccta aggtagcgat ggcaaacagc tattatgggt attatgggtg gttctctatg
 8521 cggacactga cggctttatg cctgcaggtc gcgagcgatc gcggtaccgc ccgggcgcgc
 8581 acaggcctaa gcttagcttg agcttggtac agattgtcgt tcccgccctt caglttaaac
 8641 tarcagtgtt tgacaggata talcggcggg taaacctaa agaaaagagc gtttattaga
 8701 ataacggata tttaaaagg cgtgaaaagg tttatccgtt cgtccatttg tatgtgcag
 8761 ccaaccacag ggttccctc gggatcaaag tactttgatc caacccctcc gctgctatag
 8821 tgcagtcggc ttctgacgtt cagtgcagcc gtcttctgaa aacgacatgt cgcacaagtc
 8881 ctaagttacg cgcagggctg ccgccctgoc ctttctctgg cgtttctctg tggcgtgtt
 8941 tagtcgcata aagtagaata cttgcgacta gaaccggaga cattacgcca tgaacaagag
 9001 cgcgcgcgct ggctgtctg gctatgcccg cgtcagcaac gacgaccagg acttgaccaa
 9061 ccaacgggac gaactgcacg cggcggctg caccaagctg ttttccgaga agatcacagg
 9121 caccaggcgc gaccgcccg agctggccag gatgcttgac cacctacgoc ctggcgacgt
 9181 tgtgacagtg accaggctag accgcctggc ccgcagcanc cgcgacctac tggacattgc
 9241 cgagcgcac caggaggccg gcgcgggctt gcgtagcctg gcagagccgt gggccgacac

```

9301 caccacgccc gccggccgca tgggtgttgac cgtgttccgc gccattgccg agttcgagcg
9361 ttccctaata atcgacggca cccggagcgg gcgcgaggcc gccaaagccc gaggcgtaga
9421 gtttggcccc cgcctaccc tcaccccgcc acagatccgc cagccccgcg agctgatcga
9481 ccaggaaggc cgcaccgtga aagaggcggc tgcactgctt ggcgtgcac gctcgaccct
9541 gtaccgcgca ottgagcgca gcgaggaaat gacgccacc gccggcaggc ggcgcggtgc
9601 ctcccgtag gacgcattga ccgaggccga cgccttggcg gccgcgaga atgaacgcca
9661 agaggaacaa gcatgaaacc gcaccaggac ggccaggacg aaccgttttt cattaccgaa
9721 gagatcgagg cggagatgat cgcggccggg tacgtgttcg agccgccgcg gcacgtctca
9781 accgtgcggc tgcattgaaat cctggccggc ttgtctgatg ccaagctggc gccctggccg
9841 gccagcttgg ccgctgaaga aaccgagcgc cgcgctctaa aaaggtgatg tgtatttgag
9901 taaaacagct tgcgtcatgc ggtcgtgcg tatatgatgc gatgagtaaa taaacaata
9961 cgcaagggga acgcatgaag gttatcgtc taettaacca gaaaggcggg tcaggcaaga
10021 cgaccatcgc aacccatcta gccgcgccc tgcaactcgc cggggccgat gttctgttag
10081 tcgattccga tcccagggc agtgcgccgc attgggcggc cgtgcgggaa gatcaaccgc
10141 taaccgttgt cggcatcgac cgcgcgacga ttgaccgga cgtgaaggcc atcgccggc
10201 gcgacttcgt agtgatcgac ggagcgcccc aggcggcgga cttggtgtg tccgcgatca
10261 aggcagcgca ctccgtgctg attccggtgc agccaagccc ttacgacata tgggcccacg
10321 ccgacctggg ggagctggtt aagcagcgca ttgaggtcac ggatggaagg ctacaagcgg
10381 cctttgtcgt gtgcggggcg atcaaaggca cgcgcacatgg cggtgagggt gccgaggcgc
10441 tggccgggta cgagctgcgc attcttga

```

Figura 19.

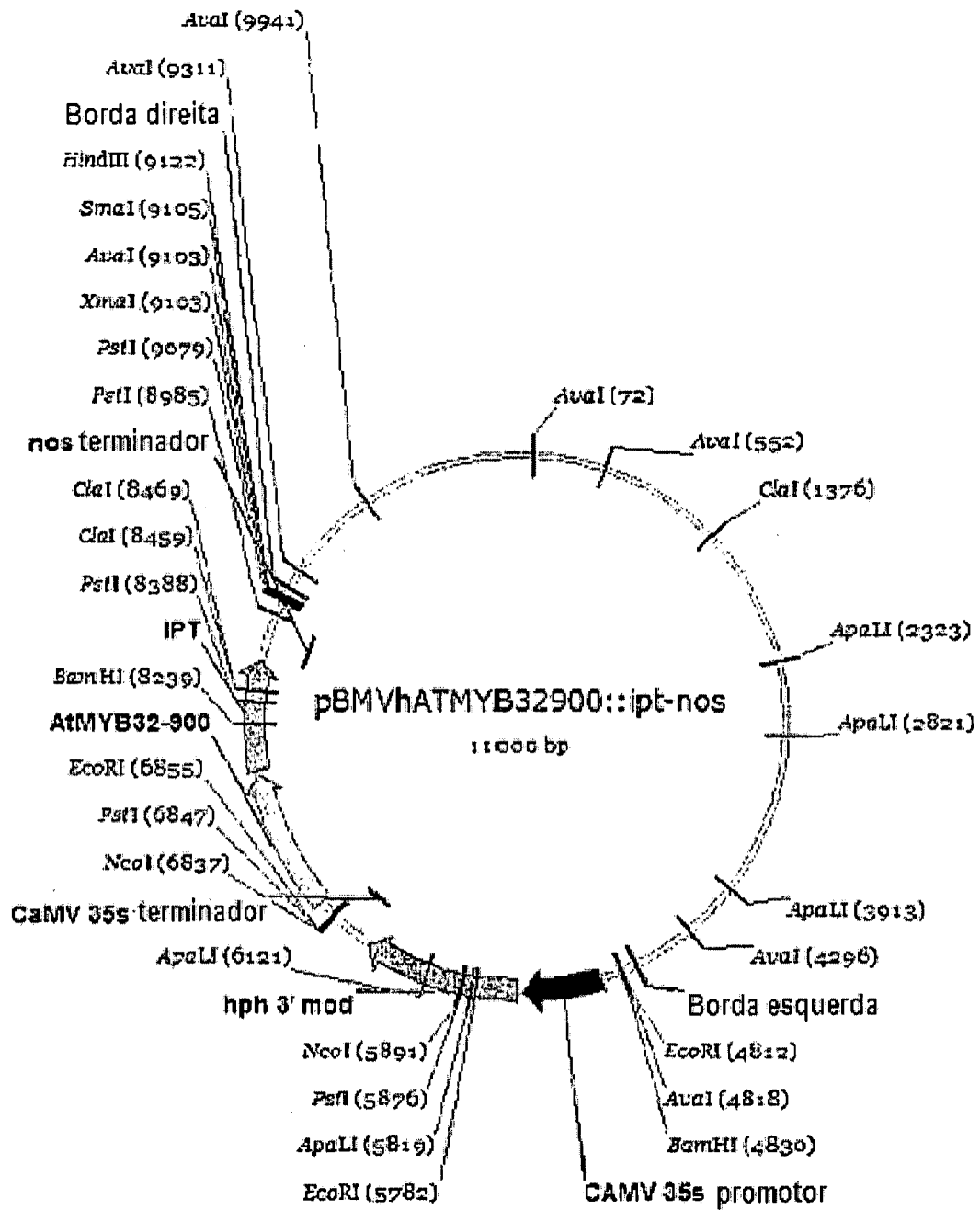


Figura 20.

1 gtcccgatc acgcagcgcg tgagctaccc aggcactgcc gccgccggca caaccgttct
 61 tgaatcagaa cccgagggcg acgctgcccc cgagggtccag gcgctggccg ctgaaattaa
 121 atcaaaactc atttgagtta atgaggtaaa gagaaaatga gcaaaagcac aaacacgcta
 181 agtgcgggcc gtccgagcgc acgcagcagc aaggctgcaa cgttggccag cctggcagac
 241 acgcccagcca tgaagcgggt caactttcag ttgcccggcg aggatcacac caagctgaag
 301 atgtacggcg tacgccaagg caagaccatt accgagctgc tatctgaata catcgcgag
 361 ctaccagagt aatgagcaa atgaataaat gaggatga attttagcgg cttaaaggag
 421 cggcatggaa aatcaagaa aaccaggcac cgacgccgtg gaatgcccc tgtgtggagg
 481 aacggcggt tggccaggcg taagcgctg ggtgtgtgc cggccctgca atggcactgg
 541 aacccccag cccgaggaat cggcgtagc gtgcgaaacc atccggcccg gtacaaatcg
 601 gcgcggcgct ggggtgatgac ctggtggaga agttgaaggc cggcgaggcc gccagcggc
 661 aacgcatacga ggcagaagca cggcccggtg aatcgtagca agcggccgct gatcgaatcc
 721 gcaagaatc cgggcaaccg ccggcagccg gtgcgccgtc gattaggaag ccgccaagg
 781 ggcagcagca accagatttt ttcttccga tgcctatga cgtgggcacc cgcgatagtc
 841 gcagcatcat ggacgtggcc gttttccgtc tgcgaagcg tgaccgacga gctggcgagg
 901 tgatccgcta cgagcttcca gacgggcacg tagaggttcc cgcaggcccg gccggcatgg
 961 ccagtgtgtg ggattacgac ctggtactga tggcggttcc ccactaacc gaatccatga
 1021 accgataaccg ggaagggag ggagacagc cgggcgcgt gttccgtcca caggttggcg
 1081 acgtactcaa gttctgcccg cgagccgatg cgggaaagca gaaagacgac ctggtagaaa
 1141 cctgcattcg gttaaacacc acgcacgttg ccattgcagc tacgaagaag gccaaagacc
 1201 gcgccttggg gacggtatcc gaggtggaag ccttgattag ccgctacaag atcgtaaga
 1261 gcgaaaaccg gcggccggag tacatcgaga tcgagctagc tgattggatg taccgcgaga
 1321 tcacagaagg caagaacccg gacgtgctga cggttcacc cgttacttt ttgatcgatc
 1381 ccggcatcgg ccgttttttc taccgcctgg cagccgcgc cgcaggcaag gcagaagcca
 1441 gatggttgtt caagacgac tacgaagcga gtggcagcgc cggagagttc aagaaattct
 1501 gtttcaccgt gcgcaagctg atcgggtcaa atgacctgcc ggagtacgat ttgaaggagg
 1561 aggcggggga ggctggcccg atcttagtca tgcgctaccg caacctgac gagggcgaag
 1621 catccgcggg ttctaatgt acggagcaga tgctagggca aattgcccta gcaggggaaa
 1681 aaggtcgaan aggtctcttc cctgtggata gcacgtacat tgggaacca aagccgtaca
 1741 ttgggaaccg gaaccgctac attgggaacc caaagccgta cattgggaac cggtcacaca
 1801 tgtaagtga tcatataaaa gagaaaaaag gcgatttttc cgcctaaaac tctttaaacc
 1861 ttattaaaac totttaaacc cgcctggcct gtgcataact gtctggccag cgcacagccg
 1921 aagagctgca aaaagcgctt acccttgggt cgtgcgctc cctacgccc gcggttgcg
 1981 gtccgcttat cgcggccgct ggcgcgtcaa aaatggctgg cctacggcca ggcaatctac
 2041 cagggcgcgg acaagccgcg ccgtgcgccac tcgaccgcg gcgcccacat caaggcacc
 2101 tgcctcgcgc gtttcggtga tgacggtgaa aacctctgac acatgcagct cccggagacg
 2161 gtcacagctt gtctgtaagc ggatgcgggg agcagacaag cccgtcaggg cgcgtcagcg
 2221 ggtgttggcg ggtgtcgggg cgcagccatg acccagtcac gtagugatag cggagtgtat
 2281 actggcttaa ctatgcggca tcagagcaga ttgtactgag agtgcacat atgoggtgtg
 2341 aaataccgca cagatgcgta aggagaaaat accgcacag gcgctcttcc gcttctcgc
 2401 tcaactgac tcgtgcgctc gtcttccggg tcggcgagc ggtatcagct cactcaagg
 2461 cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag
 2521 gccagcaaaa ggccagggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgthtttc cataggctcc
 2581 gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtc gaggtggcga aaccgcacag
 2641 gactataaag ataccaggcg tttcccccgt gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga
 2701 cctgcgcgt taccggatac ctgtccgctt ttctcccttc gggaaagcgt gcgcttctc
 2761 atagctcag ctgtaggat ctcagttcgg tgtaggctgt tcgctccaag ctgggctgtg
 2821 tgcacgaacc cccgctcag ccgcagcgt gcgcttctc cggtaactat cgtcttgagt

2881 ccaacccggg aagacacgac ttatogccac tggcagcagc cactggtaac aggatttagca
 2941 gagcagaggta tgtaggcggg gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca
 3001 ctagaaggac agtatttggg atctgcgcgc tgcagaagcc agttaccttc ggaaaaagag
 3061 ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cggcggtttt tttgtttgca
 3121 agcagcagat taogcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcttttgatc ttttctacgg
 3181 ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gtaagggat tttggtcatg catgatatac
 3241 ctcccaattt gtgtagggct tattatgcac gcttaaaat aataaaagca gacttgacct
 3301 gatagtttgg ctgtgagcaa ttatgtgctt agtgcatctt atcgcttgag ttaacgcggg
 3361 cgaagcggcg tcggcttgaa cgaatttcta gctagacatt atttgcgcac taccttgggtg
 3421 atctcgctt tcacgtagtg gacaaattct tccaactgat ctgcgcgcga ggccaaagca
 3481 tcttcttctt gtccaagata agcctgtcta gcttcaagta tgacgggctg atactgggcc
 3541 ggcaggcgct ccattgccc gtcggcagcg acatccttcg gcgcgatttt gccggttact
 3601 gcgctgtacc aaatgcggga caacgtaagc actacatttc gctcatcgcc agcccagtcg
 3661 ggcgcgaggt tccatagcgt taaggtttca tttagcgctt caaatagatc ctggtcagga
 3721 accggatcaa agagtctctc cgcgcgtgga cctacdaagg caacgctatg tctctctgct
 3781 tttgtcagca agatagccag atcaatgtcg atcggtgctg gctcgaagat aactgcaaga
 3841 atgtcattgc gctgccattc tccaaattgc agttcgcgct tagctggata acgcccagga
 3901 atgatgtcgt cgtgcacaa aatggtgact tctacagcgc ggagaatctc gctctctcca
 3961 ggggaagcgg aagtcttcaa aaggctcgtt atcaaagctc gccgcgttgt ttcacaaagc
 4021 cttaagggtca ccgtaaccag caaatcaata tcactgtgtg gcttcaggcc gccatccact
 4081 gcggagccgt acaaatgtac ggccagcaac gtgggttcga gatggcgctc gatgacgcca
 4141 actacctctg atagttgagt cgatacttcg gcgaccccg cttcccccac gatgtttaac
 4201 tttgttttag ggcgactgcc ctgctgcgta acatcgttgc tgcctcataa catcaaacat
 4261 cgacccacgg cgtaacgcgc ttgctgcttg gatgcccag gcatagactg taccocaaaa
 4321 aaacatgtca taacaagaag ccattgaaaac cgcactgcy cggttaccac cgtctgcttc
 4381 ggtcaagggt ctggaccagt tgcgtgacgg cagttacgct acttgcatca cagcttacga
 4441 accgaacgag gcttatgtcc actgggttcg tgcccgaatt gatcacaggc agcaacgctc
 4501 tgtcatcggt acaatcaaca tgcacacctc cgcgagatca tccgtgtttc aaacccggca
 4561 gcttagttgc cgttctctcc aatagcatcg gtaacatgag caaagtctgc cgccttaca
 4621 cggctctccc gctgacgcgc tcccggaact atgggctgac tgtatcgagt ggtgattttg
 4681 tgccgagctg ccggctcgggg agctgttggc tggctggctg caggatatac tgtggtgtaa
 4741 acaaatgac gcttagacaa cttaataaca cattgcggac gtttttaatg tactgaatta
 4801 acgcgcaatt gaattcctcg agtacgtagg atccatttan attctagagg cgcgcgata
 4861 tctctcttta aggtagcgag ctcttaatta atagggataa cagggtaatg cggccgcaag
 4921 ctaaaaagac ggccagtgaa ttatcaactc tgtatagaaa agttgctctg ccgacagtg
 4981 tcccaagat ggacccccc ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttcacccac
 5041 gtcttcaaa caagtggatt gatgtgataa catggtggag caccgacactc tegtctactc
 5101 caagaatatc aaagatadag tctcagaaga ccaaagggtt attgagactt ttcaacaaag
 5161 ggtaatatcg ggaacccctc tcggattcca ttgcccagct atctgtcaat tcatcaaaag
 5221 gacagtagaa aagggaaggt gcaactacaa atgccatcat tgcgataaag gnaaggctat
 5281 cgttcaagat gctctgccc acagtggctc caaagatgga cccccccca cgaaggagcat
 5341 cgtggaaaaa gaagacgttc caaccacgtc ttcaaagcaa gtggattgat gtgatctctc
 5401 cactgacgta agggatgacg cacaatccca ctatccttcg caagacccct cctctatata
 5461 aggaagttca ttcatcttgg agaggacacg ctgcaagttt gtacaaaaaa gcaggctaga
 5521 ccggggggca atgagatatg aaaaagcctg aactcaccgc gacgtctgtc gagaagtttc
 5581 tgatcgaaaa gttcgacagc gtctccgacc tgatgcagct ctcgaggggc gaagaatctc
 5641 gtgctttcag cttcgatgta ggaggcgctg gatattgctt cggggtaaat agctgcgcg
 5701 atggtttcta caaagatcgt tatgtttata ggcactttgc atcgcccgcg ctcccgatc
 5761 cgggaagtgt tgacattggg gaattcagcg agagcctgac ctattgcata tcccgccgtg

5821 cacaggggtgt cacgttgcaa gacctgcctg aaaccgaact gcccgctgtt ctgcagccgg
 5881 tcggggaggc catggatgcg atcgctgcgg ccgattottag ccagacgagc ggggttcggcc
 5941 cattcggacc gcaaggaaac ggtcaataca ctacatggcg tgatttcata tgcgcgattg
 6001 ctgatcccca tgtgtatcac tggcaaaactg tgatggacga caccgtcagt gcgtccgtcg
 6061 cgcaggctct ccatgagctg atgctttggg ccgaggactg ccccgaaagtc cggcacctcg
 6121 tgcacgcgga ttctcggctcc aacaaatgtcc tgacggacaa tggccgcata acagcgggtca
 6181 ttgactggag ccaggcgatg ttccgggatt cccaatacga ggtcgccaac atcttcttct
 6241 ggaggccgtg gttggcttgt atggagcagc agacgcgcta ctccgagcgg aggcacccgg
 6301 agcttcgagg atcgccgcgg ctccgggcyt atatgctccg cattggctct gaccaactct
 6361 atcagagctt ggttgacggc aatttcgatg atgcagcttg ggcgcagggt cgatgcgacg
 6421 caatcgctcc atccggagcc gggactgtcg gggtacaca aatcgccgc agaagcggg
 6481 ccggccgtct ggaccgatgg ctgtgtagaa gtactcgccg atagtggaaa ccgacgcccc
 6541 agcactcgtc cggacccagc ttctctgtac aaagtggagt ccgcaaaaat caccagtctc
 6601 tctctacaaa tctatctctc tctatcttct ccagaataa tgtgtgagta gttcccgat
 6661 aagggaatta gggttcttat agggtttcgc tcatgtgttg agcatataag aaacctttag
 6721 tatgtatttg tatttgtaaa atactcttat caataaaatt tctaattcct aaaaccaaaa
 6781 tccagtgaac tcaactttat tatacatagt tgataattca ctggccgtgc ttattccatg
 6841 gctgcaggtc gacgaattca ccggttaggg ataaccgggt aatcgctacc ttaggacggt
 6901 tatagttacg gccagtgcga ttacctgtt atccctaacc ggtgacaact ttgtatagaa
 6961 aagtctgggt gtgtcttcta gattaatcct ccaaaacttt gattaaccaa aaaaattatc
 7021 aaactaacat gttctccttt ttctcttaga aattctaacg aatttatctt tatactgatt
 7081 tgaatatact taatttggtc atttggatgc cctttacaac ctcttacca aactcactat
 7141 ggcaaatata tactatttct cattgttaaca taaatgtcca taatttgaat taaattcgtt
 7201 gcagtacgaa accatccaac ttgttccaaa aacaaaatcc ttataactat ttactttaat
 7261 gtaaatatat cctctacttt tgtttttaca accctagctc aaacaaattt attatttgcg
 7321 aaaaaaaac atatagaaca aactcgatga tttttttttt cttacgttat taatgaact
 7381 aaaaatata aaaaaacaag atgaacaaa ttttcacctc tctaactact taamtataat
 7441 atgattaaat ttggtaaagt ttgaaaagt tcttttagaa tgtgaaatat tgatcacagt
 7501 ttctattgct aaaaacaca acaaaacgca tgtcgccatt cataattatg gtttcacacc
 7561 tacaactagg ctaataagta aataagtaga caactagact cagggttgaa aaaccataa
 7621 aagccatata gcgttttctc attgaaactg cgaacacgat cgtgtgaatg ttgcagtttc
 7681 tagttttgat acaaacaaa aaaaaacaaa tttaacttta gattaaaaag aaaaaagaga
 7741 acggagccca ctagccactc ctccaacgt gtcttaccac ctctcttcta gaaacaaatt
 7801 aggttcaccc ttctcttctc aacctctctc tctctctctc tctcttttct tcaaacctc
 7861 tctccataaa gccctaattt ctctatcaca agaactcaga gaagaaacaa gtttgtacaa
 7921 aaaaagcagg ttactgcaaa aaacttatgg acctgcatct aattttcggc ccaatttgc
 7981 caggaaagac gacgacgcg atagctcttg ccagcagac agggcttcca gtcccttcgc
 8041 ttgategggc ccaatgctgt cctcaactat caaccggaag cggacgacca acagtggag
 8101 aactgaaagg aacgacgcgt ctctaccttg atgacggcc tctgggtggg ggtatcatcg
 8161 cagccaagca agctcatcat aggtgatcg aggggtgta taatcatgag gccaacggcg
 8221 ggcttattct tgaggagga tccacctcgt tgcctcaactg catggcgca aacagctatt
 8281 ggagtgcaga ttttcgttgg catattatcc gccacaagtt acccgaccaa gagaccttca
 8341 tgaaagcggc caaggccaga gtttagcaga tgttgcaacc cgtgcaggc cattctatta
 8401 ttcaagagtt ggtttatctt tggaatgaac ctccgctgag gccattctg aaagagatcg
 8461 atggatatcg atatgccatg ttgtttgcta gccagaacca gatcacggca gatattgtat
 8521 tgcagcttga cgc aaatatg gaaggtaagt tgattaatgg gatcgctcag gagtatttca
 8581 tccatgcggc ccaacaggaa cagaaattcc ccaagttaa cgcagcgcct ttgcacggat
 8641 tcgaaggtea tccgttcgga atgtattagg taccagctt tctgtacaa agtgggatcg
 8701 ttcaaacatt tggcaataaa gtttctttaa attgaatcct gttgccggtc ttgcgatgat

8761 tatcatataa tttctgttga attacgttaa gcatgtaata attaacatgt aatgcatgac
 8821 gttatattatg agatgggttt ttatgattag agtcccgcaa ttatacattt aatacgcgat
 8881 agaaaacaaa atatagcgcg caaactagga taaattatcg cgcgcggtgt catctatgtt
 8941 actagatcca actttattat acatagttag ttctgtcgacc tgcagtcgct accttaggac
 9001 cgttatagtt atggcaaaca gctattatgg gtattatggg tggttcttta tgcggacact
 9061 gacggcttta tgccgtgcagg tgcgcgagca tcgoggtacc gcccgggcgt cgacaggcct
 9121 aagcttagct tgagcttgga tcagattgtc gtttcccgcc ttcagtttaa actatcagtg
 9181 tttgacagga tatattggcg ggtaaacctt agagaaaaga gcgtttatta gaataucyga
 9241 tatttaaaag ggcgtgaaaa ggtttatccg ttctgtccatt tgtatgtgca tgccaaccac
 9301 aggggttccc tcgggatcaa agtactttga tccaacctct ccgctgctat agtgcatcg
 9361 gcttctgacg ttcatgtgag cgtctttctg aaaacgacat gtcgcacaag tcttaagtta
 9421 cgcgacagga tgccgccctg ccttttctct ggcgtttctt tgcgcggtgt tttagtcgca
 9481 taaagtagaa tacttgcgac tagaacggga gacattaogc catgaacaag agcgcgcgcg
 9541 ctggcctgct gggctatgcc cgcgtcagca ccgacgacca ggacttgacc aaccaacggg
 9601 ccgaactgca cgcgggcggc tgcaaccaag tgttttccga gaagatcacc ggcaccaggc
 9661 gcgaccgccc ggagctggcc aggatgcttg accacctacg cctggcgac gttgtgacag
 9721 tgaccaggct agaccgctg gcccgagca cccgcgacct actggacatt gccgagcgca
 9781 tcaggaggc cgcgcggggc ctgcgtagcc tggcagagcc gtgggcccag accaccagc
 9841 cggccggccg catggtgttg accgtgttcg ccggcattgc cgagttcgag cgttccctaa
 9901 tcacgacccg caccggagc gggcgcgagg ccgccaaagg ccgaggcggt aagtttgccc
 9961 cccgccctac cctcaccgcc gcacagatcg cgcacgcccg cgagctgacg gaccaggaa
 10021 gcgcacccgt gaaagaggcg gctgcaatgc ttggcggtga tcgctcgacc ctgtaccygc
 10081 cacttgagcg cagcgaggaa gtgacgccca ccgaggccag gcggcgcggt gccttccgtg
 10141 aggacgcatt gaccgaggcc gacgccctgg cggccgcccga gaatgaacgc caagaggaa
 10201 aagcatgaaa ccgcaccagg acggccagga cgaacogttt ttcattaccg aagagatoga
 10261 ggcgagatg atcgcggccg ggtacgtgtt cgagccgccc gcgcacgtct caaccgtgcg
 10321 gctgcatgaa atcctggccg gtttgtctga tgccaagctg gcggcctggc cggccagctt
 10381 ggccgctgaa gaaaccgagc gccgcgctct aaaaagggtg tgbgtatttg agtaaaacag
 10441 cttgcgtcat gcggtcgctg cgtatatgat gcgatgagta aataaaccac tacgcaaggg
 10501 gaacgcattg aggttatcgc tgtacttaac cagaaaaggc ggtcaggcaa gaccaccatc
 10561 gcaaccctac tagcccgccg cctgcaactc gccggggccg atgttctgtt agtcgatlcc
 10621 gatccccagg gcagtgcccg cgattgggcg gccgtgcggg aagatcaacc gctaaccgtt
 10681 gtcggcatcg accgcgcgac gattgaacgc gacgtgaagg ccatcgggcg gcgcgacttc
 10741 gtagtgatcg acggagcgcc ccaggcgggc gacttggtcg tgcgcgcgat caaggcagcc
 10801 gacttcgtgc tgattccggt gcagcczagg ccttacgaca tatgggccac cgcgcacctg
 10861 gtggagctgg ttaagcagcg cattgaggtc acggatggaa ggctacaagg ggcctttgtc
 10921 gtgtcgcggg cgatcaaagg cagcgcctc gccggtgagg ttgcgcaggc gctggccggg
 10981 tacgagctgc ccattcttga

Figura 21.

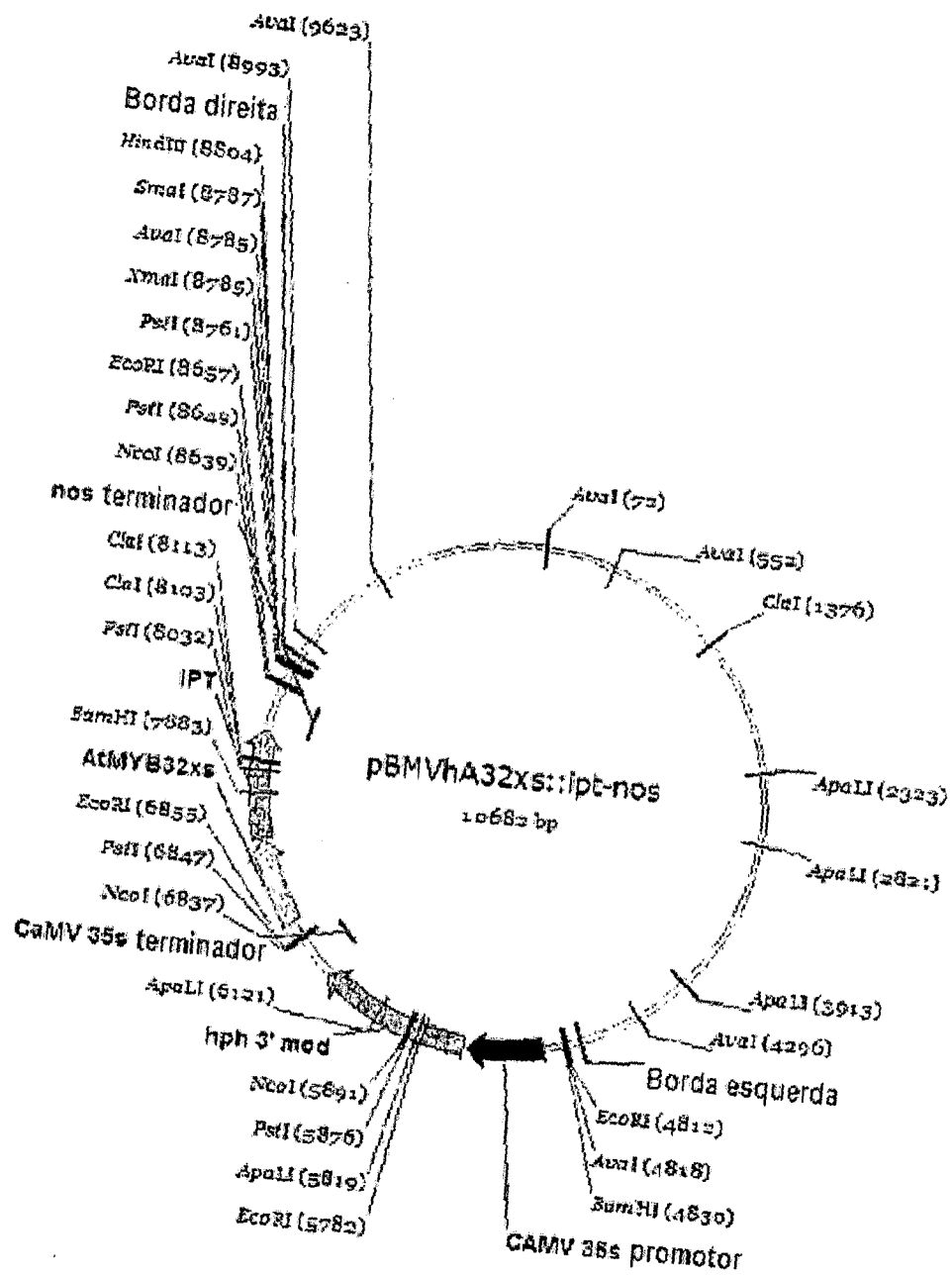


Figura 22.

1 gtccccgtatc acgcagcgcg tgagctaccc aggcactgcc gccgcccgyca caaccgttct
 61 tgaatcagaa cccgagggcg acgctgcccg cgaggtccag gcgctggccg ctgaaattaa
 121 atcaaaactc atttgagtta atgaggtaaa gagaaaatga gcaaaagcac aaacacgcta
 181 agtgccggcc gtccgagcgc acgcagcagc aaggctgcaa cgttggccag cctggcagac
 241 acgccagcca tgaagcgggt caactttcag ttgcggcgcg aggatcacac caagctgaag
 301 atgtacgcgg tacgccaagg caagaccatt accgagctgc tatctgaata catcgcgag
 361 ctaccagagt aaatgagcaa atgaataaat gagtagatga attttagcgg cttaaaggagg
 421 cggcatggaa aatcaagaac aaccaggcac cgacgccgtg gaatgcccca tgtgtggagg
 481 aacgggcggt tggccaggcg taagcggctg ggttgtctgc cggccctgca atggcactgg
 541 aacccccaaq cccgaggaat cggcgtgacg gtcgcaaac atccggcccg gtacaaatcg
 601 gcgcggcgct gggtagatgac ctgggtggaga agttgaaggc cgcgcaggcc gccacagcggc
 661 aacgcacatga ggcagaagca cggcccsgtg aatcgtggca agcggccgct gatcgaatcc
 721 gcaaaagaatc cgggcaaccg ccggcagccg gtgcgcgctc gattagggaag ccgcccgaag
 781 gcgacgagca accagatttt ttcttccga tgcctatga cgtgggcacc cgcgatagtc
 841 gcagcatcat ggacgtggcc gttttccgto tgtcgaagcg tgaccgacga gctggcgagg
 901 tgatccgcta cgagcttcca gacgggcacg tagaggtttc cgcagggccg gccggcatgg
 961 ccagtgtgtg ggattacgac ctggtaactga tggcggtttc ccataaacc gaatccatga
 1021 accgataccg ggaagggaag ggagacaagc ccggccgctt gtccgtcca cacyttgcgg
 1081 acgtactcaa gttctgcccg cgagccgatg gcggaagca gaaagacgac ctggtagaaa
 1141 cctgcattcg gttaaacacc acgcacgttg ccatagcagc tacgaagaag gccaaagaacg
 1201 gccgcctggg gacggtatcc gagggtgaag ccttgattag ccgtacaaq atcgtaaaga
 1261 gcgaaaccyg gcggccggag tacatcgaga tcgagctagc tgattggatg taccgcgaga
 1321 tcacagaagg caagaacccg gacgtgctga cggttcacc cgttacttt ttgatcgatc
 1381 ccggcatcgg ccgttttctc taccgcttg caccgcgcgc cgcaggcaag gcagaagcca
 1441 gatgggttgt caagacgac tacgaacgca gtcgcagcgc cggagagttc aagaagtctt
 1501 gtttcaccgt gcgcaagctg atcgggtcaa atgacctgc ggagtacgat ttgaaggagg
 1561 aggcggggca ggcgtggccc atccctagtca tgcgctaccg caacctgac gagggcgaaq
 1621 catccgcccg ttctaatgt acggagcaga tgcagggca aattgcccta gcaggggaaa
 1681 aaggtegaag aggtctcttt cctgtggata gcacgtacat tgggaacca aagccgtaca
 1741 ttgggaaccg gaaccggtac attggguacc caaagccgta cattgggaac cggtcacaca
 1801 tgaagtgaac tgatataaaa gagaaaaaag gcgatttttc cgcctaaac tctttaaanc
 1861 ttattaaaac tcttaaaacc cgcctggcct gtgcataact gtctggccag cgcacagccg
 1921 aagagctgca aaaagcgctt acccttcggg cgtcgcttc cctacgccc gccgcttcgc
 1981 gtcggcctat cgcggccgct ggccgctcaa aaatggctgg cctacggcca ggcaatctac
 2041 cagggcgcgg acaagccggc ccgtcgccac tcgaccgccc gcgcccacat caaggcaccc
 2101 tgcttcgcgc gtttcgggtga tgacggtgaa aacctctgac acatgcagct cccggagacg
 2161 gtcacagctt gtctgtaagc ggatgcggg agcagacaag cccgtcaggg cgcgtcagcg
 2221 ggtgttggcg ggtgtcgggg cgcagccatg acccagtcac gtacgatatg cggagtgtat
 2281 actggcttaa ctatcgggca tcagagcaga ttgtactgag agtgaccat atgcggtgtg
 2341 aaataccgca cagatgcgta aggagaaaa atccgatcag gcgctcttc gcttctcgc
 2401 tcaactgact gctgcgctcg gtcgttcggc tgccggcagc ggtatcagct cactcaaaqg
 2461 cggtaataac gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaaq
 2521 gccagcaaaa ggccagggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc
 2581 gccccctga ctagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga aacccgacag
 2641 gactataaag ataccaggcg ttccccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga

2701 cccctgccgct taccggatag ctgtccgcct ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc
 2761 atagctcaag ctgtagggtat ctgagttcgg tgtaggtegt tccgtccaag ctgggctgtg
 2821 tgcacgaacc ccccgttcag cccgacogct ggcctttatc cggtaactat cgtcttgagt
 2881 ccaacccggg aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca
 2941 gagcgaggta tgtaggcggg gctacagagt tottgaagtg gtggcctaac tacggctaca
 3001 ctagaaggac agtatttggg atctgcgctc tgcctgaagcc agttaccltc ggaaaaagag
 3061 ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cgggtggtttt tttgtttgca
 3121 agcagcagat tacgcgacga aaaaaaggat ctcaagaaga tcccttgatc tttctacgg
 3181 ggtctgacgc tcagtggaa c gaaaactcac gtttaaggat ttggtcatg catgatatat
 3241 ctcccaatlt gtgtagggtc tattatgcac gcttaaaaat aataaaagca gacttgacct
 3301 gatagtttgg ctgtgagcaa ttatgtgctt agtgcatcta atcgcttgag ttaacgccgg
 3361 cgaagcggcg tcggcttgaa cgaatttcta gctagacatt attgccgac taccttgggtg
 3421 atctcgcctt tcacgtagtg gacuaattct tccaactgat ctgcccgcga ggccaaagca
 3481 tcttctctct gtccaagata agcctgtcta gcttcaagta tgacgggctg atactggggc
 3541 ggcaggogct ccattgcccc gtcggcagcg acatccctcg gcgctgttt gccggttact
 3601 gcgctgtacc aaatgcggga caacgtaagc actacatttc gctcatcgcc agcccagtcg
 3661 ggcggcgagt tccatagcgt taaggtttca tttagcgctc caaatagatc ctgttcaggga
 3721 accggatcaa agagtctctc cgcgctgga cctaccaagg caacgctatg ttctcttgc
 3781 tttgtcagca agatagccag atcaatgtcg atcgtggctg gctcgaagat aactgcaaga
 3841 atgtcattgc gctgccatc tccaaattgc agtccgcgct tagctggata acgccacgga
 3901 atgatgtcgt cgtgcacaa aatgggtgact tctacagcgc ggagaattct gctctctcca
 3961 ggggaagocg aagtttccaa aaggctgctg atcaaaagct gccgcgtgt tctatcaagc
 4021 cttacgggtc ccgtaaccag caaatcaata tcaatgtgtg gcttcaggcc gccatccact
 4081 ggcggagcgt acaaatgtac ggcagcaac gtcggttcga gatggcgctc gatgacgcca
 4141 actacctctg atagttgagt cgatacttcg gcgatcccg cttcccccat gatgtttaac
 4201 tttgttttag ggcgaactgc ctgctgcgta acatcgttgc tgcctcataa catcaaacat
 4261 cgacccacgy cgtaacgcgc ttgctgcttg gatgcccag gcatagactg taccocaaaa
 4321 aaacatgtca taacaagaag ccattgaaac cgcactgcg ccgttaccac cgttcggtc
 4381 ggtcaagggt ctgggaccagt tgcgtgacgg cagttacgct acttgcatca cagcttacga
 4441 accgaacgag gcttatgtcc actgggttcg tgcgcgaatt gatcacaggc agcaacgctc
 4501 tgtcatcggt acaatcaaca tgcctacctc cgcgagatca tccgtgttcc aaacccggca
 4561 gcttagttgc cgttcttccg aatagcatcg gtaacatgag caaagtctgc cgccttccaa
 4621 cggctctccc gctgacgcgc tcccgactg atgggctgcc tgtatcgagt ggtgattttg
 4681 tgcgagctg ccggtcgggg agctgttggc tggctgggtg caggatatat tgtggtgtaa
 4741 acaaatgtac gcttagacaa cttaataaca cattgcggac gtttttaatg tactgaatta
 4801 acgccgaatt gaattctctg agtacgtagg atccatttaa attctagagg cgcgcgata
 4861 tctctcttta aggtagcgag ctcttaatta atagggataa cagggtaatg cggccgcaag
 4921 ctaaaacgac ggccagtgaa ttatcaactt tgtatagaaa agttgctctg ccgacagtcg
 4981 tcccaaagat ggacccccac ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg tcccaaccac
 5041 gtcttcaag caagtggatt gatgtgataa catggtggag cagacactc tegtctactc
 5101 caagaatctc aaagatacag tctcagaaga ccaagggtc attgagactt tccaacaaag
 5161 ggtaatatcg ggaaacctcc tcggattcca ttgcccagct atctgtcact tcatcaaaag
 5221 gacagttaga aaggaagggt gcacctacaa atgccatcat tgcgataaag gaaaggctat
 5281 cgttcaagat gcctctgccc acagtggctc caaagatgga ccccccacca caggagcat
 5341 cgtggaaaaa gaagacgttc caacnacgtc ttcaaaagaa gtggattgat gtgatatctc

5401 cactgacgta agggatgacg cacaatccca ctatccttcg caagaccctt cctctatata
 5461 aggaagtcca ttccatttgg agaggacacg ctgcaagtct gtacaaaaaa gcaggctaga
 5521 ccggggggca atgagatatg aaaaagcctg aactcacgcg gacgtctgtc gagaagtttc
 5581 tgatcgaaaa gtccgacagc gtctccgacc tgatgcagct ctccggagggc gaagaatctc
 5641 gtgctttcag ctccgatgta ggaggcgctg gatatgtcct gcgggtaaat agctgcggcg
 5701 atggtttcta caaagatcgt tatgtttatc ggcaacttgc atcggccgcg ctcccgattc
 5761 cggaagtgc tgcattggg gaattcagcg agagcctgac ctattgcac tcccgcgtg
 5821 cacagggtgt cacttgcaa gaactgcctg aaaccgaact gcccgctgtt ctgcagccgg
 5881 tcgcggaggc catggatgcg atcgtcgcg ccgatcttag ccagacgagc ggggtccggc
 5941 cattccggacc gcaagggaac ggtcaataca ctacatggcg tgatttcata tcgcgcgattg
 6001 ctgatcccca tgtgtatcac tggcaaaactg tgatggacga caccgtcagt ggcgtccgtc
 6061 cgcaggctct cgatgagctg atgctttggg ccgaggactg ccccgaaatc cggcacctcg
 6121 tgcacgcgga ttccggctcc aacaatgtcc tgacggacaa tggccgcata acagcggta
 6181 ttgactggag cgaggcgatg ttccgggatt cccaatacga ggtccccaac atcttcttct
 6241 ggaggccgtg gttggcttgt atggagcagc agacgcgcta ctccgagcgg aggcattccg
 6301 agcttgacag atcccgccg ctccggcgct atatgtcccg cattggctct gaccaactct
 6361 atcagagctt ggttgacggc aatttcgatg atgcagcttg ggcgcagggc cgatgcgacg
 6421 caatcgtccg atccggagcc gggactgtcg ggcgtacaca aatccgcgcg agaagcgcgg
 6481 ccggccgtct ggaccgatgg ctgtgtagaa gtactcgcg atagtggaaa ccgacgcctc
 6541 agcactcgtc cggacccagc tttctgtac aaagtggagt ccgcaaaaat caccagtctc
 6601 tctctacaaa tctatctctc tctatttttc tccagaataa tgtgtgagta gttccagat
 6661 aagggaatta gggttcttat agggtttcgc tcatgtgttg agcatataag aaaccttag
 6721 tatgtatttg tatttgtaaa atacttctat caataaaatt tctaattcct aaaacaaaa
 6781 tccagtaccc tcaactttat tatacatagt tgataattca ctggccgtgc ttattccatg
 6841 gctgcaggtc gacgaattca ccggttaggg ataacagggt aataactata ccggtcctaa
 6901 ggtagcagc ggccgcaagc taaaacgacg gccagtgaat tatcaacttt gtatagaaaa
 6961 gttggtttgt gtcttctaga ttaactctcc aaacttttga ttaacaaaa aaattatcaa
 7021 actaacatgt tctctttttc tctttagaaa ttotaacgaa ttatcttta tactgatttg
 7081 aatatactta atttggctat ttggatgcct tttaaacct ccttaccaaa atattgatca
 7141 cagtttttat tgctaaaatc accaataaaa cgcagtgcgc cattcataat tatggtttca
 7201 cacctacaac taggctaata agtaataaag tagacaacta gactcagggt tgaaaaaac
 7261 ataaaagcca tatagcgttt tctcattgaa actgcgaaca cgatcgtgtg aatgttgcag
 7321 tttctagttt tgatacaaac aaacaaaaac acaatttaat cttagattaa aaagaaaaa
 7381 gagaacggag ccactagcc actccttcaa acgtgtctta ccaactctct totagaacaa
 7441 aattaggctt cacttctctc ttccaaactc tctctctctc tctctctctt ttctcctaac
 7501 catctctcca taagaccta atttcttcat cacaagaatc agaagaagaa acaagtttgt
 7561 acaaaaaagc aggcctactg caaaaaactt atggacctgc atctaatttt cgggtccaact
 7621 tgcacaggaa agacgacgac cgcgatagct cttgccagc agacagggtt tccagtctt
 7681 tcgcttgatc ggggtccaatg ctgtcttcaa ctatcaaccg gaagcggacg accaaccagt
 7741 gaagaactga aaggaaacg gcgtctctac cttgatgac ggccctcggg ggagggtatc
 7801 atcgcagcca agcaagctca tcataggctg atcaggagg tgtataatca tgaggccaac
 7861 ggccggsetta ttcttgaggg aggatccacc tcgttgctca actgcattgg ggaacacg
 7921 tattggagtg cagattttcg ttggcatatt attcgcacaa agttaccoga ccaagagacc
 7981 ttcatgaaag cggccaaggc cagagttaag cagatgttgc accccgtctc aggcattct
 8041 attattcaag agttgggtta tctttggaat gaacctcggc tgaggcccat tctgaaagag

8101 atcgatggat atcgatctgc catgttggtt gctagccaga accagatcac ggcagatatg
 8161 ctattgcagc ttgacgcaaa tatggaaggt aagttgatta atgggatcgc tcaggagtat
 8221 ttcatccatg cgcgccaaca ggaacagaaa ttccccaag ttaacgcagc cgttttcgac
 8281 ygatctgaag gtcatccgtt cygaatgtat taggtaccca gctttcttgt acanagtggg
 8341 atcgttcaaa catttggcaa taaagtttct taagattgaa tctgtgtgce ggtcttgcca
 8401 tgattatcat ataatttctg ttgaattacg ttaagcatgt aataattaac atgtaatgca
 8461 tgaogttatt tatgagatgg gtttttatga ttagagtcoc gcaattatac atttaatacg
 8521 cgatagaaaa caaaakatag cgcgcgaact aggataaatt atcgcgcgcg gtgtcatcta
 8581 tgttactaga tccaacttta ttatacatag ttgataattc actggccgtc gcttattcca
 8641 tggctgcagg tcgacgaatt caccggttaa ctataacggt cctaaggtag cgatggcaaa
 8701 cagctattat gggatattat ggtgttctt tatgcggaca ctgacggctt tatgctgca
 8761 ggtcgcgagc gatcgcggtt cgcgccgggc gtgcgacggc ctaagcttag cttagagcttg
 8821 gatcagattg tcgtttcccg ccttcagttt aaactatcag tgtttgacag gatataattg
 8881 cgggtaaaac taagagaaaa gagcgtttat tagaataacg gatattttaa agggcgtgaa
 8941 aagggtttatc cgttcgtcca ttgtatgtg catgccaaac acaggggtcc cctcgggac
 9001 aaagtacttt gatccaaccc ctccgctgct atagtgacgt cggcttctga cgttcagttg
 9061 agcgtcttct tgaanaacgac atgtcgcaca agtccttaagt tacgcgacag gctgcgcgcc
 9121 tgcccttttc ctggcgcttt ctgttcgctg gtttttagtc cataaagtag aatacttgcg
 9181 actagaaccg gagacattac gccatgaaca agagcgccgc cgtcggcctg ctgggctatg
 9241 cccgcgtcag caccgacgac caggacttga ccaaccaacg ggcggaactg caccgggccc
 9301 gctgcaccaa gctgttttcc gagaagatca ccggcaccag gcgcgacgcg ccggagctgg
 9361 ccaggatgct tgaccaccta cgccttgccg acgttgtgac agtgaccagg ctgaccgcc
 9421 tggcccgag cacccgagac ctactggaca ttgccgagcg catccaggag gccggcgccg
 9481 gctgcgttag cctggcagag ccgtggccg acaccaccac gccggccggc cgcattggtg
 9541 tgaccgtgtt cgcgggcatt gccagttctg agcgttccct aatcatcgac cgcaccggga
 9601 gcggggcgga ggcgcgaag gcccgaggcg tgaagtbtgg ccccgccct accctcaacc
 9661 cggcacagat cgcgcacgcc cgcgagctga tcgaccagga aggcgcgacc gtgaaagagg
 9721 cggctgcact gcttggcgct catcgctcga ccttgtaccg cgcacttgag cgcagcgagg
 9781 aagtgaagcc caccgaggcc agggcgccg gtgccttccg tgaggacgca ttgaccgagg
 9841 ccgacgccct ggcggccgcc gagaatgaac gccaaagaga acaagcatga aaccgcacca
 9901 ggacggccag gacgaaccgt ttttcattac cgaagagatc gaggcgagga tgatcgcgcc
 9961 cgggtacgtg ttcgagccgc ccgcgcacgt ctcaaccgtg cggctgcatg aaatcctggc
 10021 cggtttgtct gatgccaaag tggcgccctg gccggccagc ttggccgctg aagaaaccga
 10081 gcgcgcgcgt ctaaaaaggt gatgtgtatt tgagtaaaac agcttgctgc atgcggtcgc
 10141 tgcgtatatg atgcgatgag taataaaca aatacgcaag gggaaacgcat gaaggttatc
 10201 gctgtactta accagaaagg cgggtcaggc aagacgacca tcgcaacca tctagccgc
 10261 gccctgcaac tcgcgggggc cgatgttctg ttagtgcatt ccgattccca gggcagtgcc
 10321 cgcgattggg cggccgtgcg ggaagatcaa ccgctaaccg ttgtcggcat cgaccgccc
 10381 acgattgacc gcgacgtgaa ggcacatcgc cggcgcgact tcgtagtgat cgacggagcg
 10441 cccagggcgg cggacttggc tgtgtccgcg atcaaggcag ccgacttcgt gctgattccg
 10501 gtgcagccaa gcccttacga catatgggcc accgcgacc tggtagagct ggttaagcag
 10561 cgcattgagg tcacggatgg aaggctacaa gcggcctttg tcgtgtcgcg ggcgatcaaa
 10621 ggcacgcgca tcggcggtga ggttgccgag gcgctggccg ggtacgagct gccattctct
 10681 ga

Figura 23.

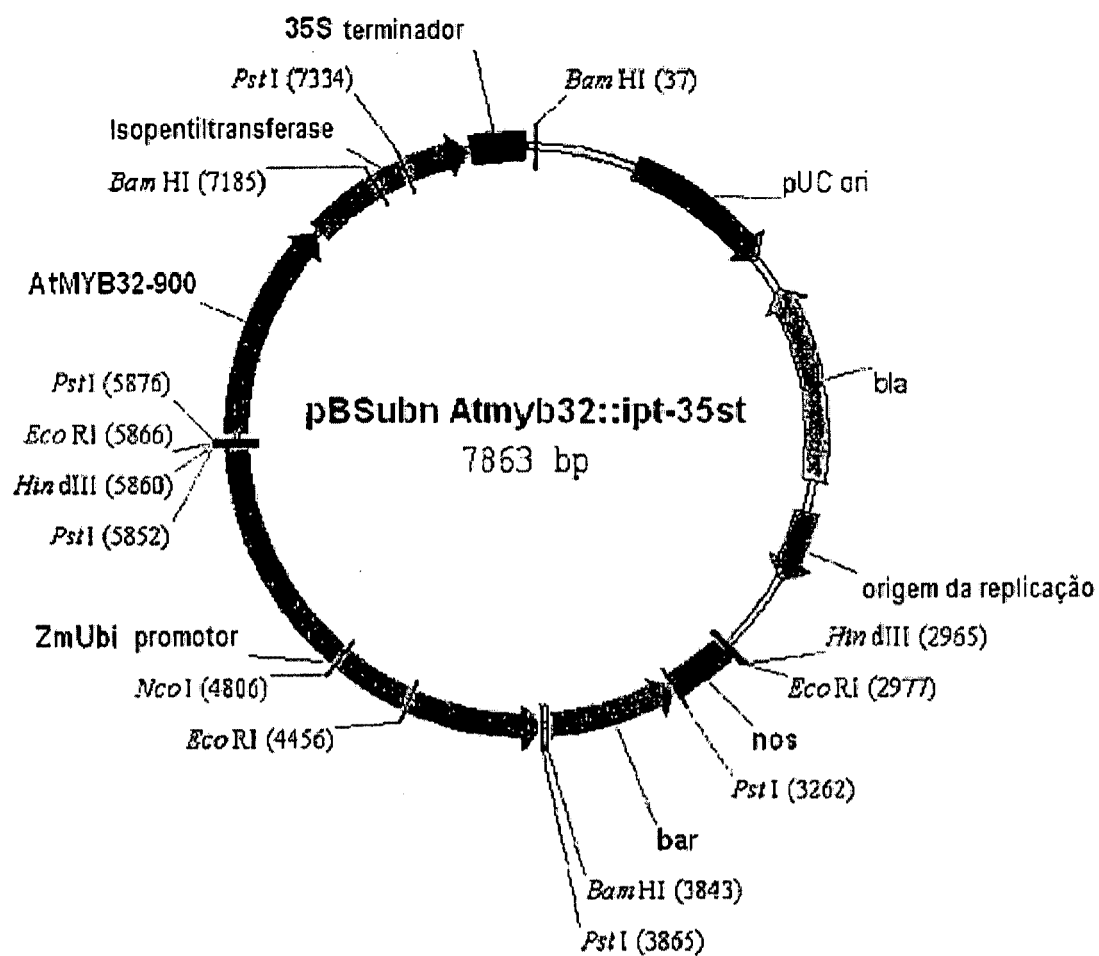


Figura 24.

1 ttatacatag ttgataattc actggccgtc gtgggggata cactagttct agagcgcccg
 61 ccaccgcggt ggagctccag cttttgttcc ctttagtgag ggttaatttc gagcttggcg
 121 taatcatggt catagctgct tctgtgtga aattgttacc cgctcacaat tccacacaac
 181 atacggagccg gaagcataaa gtgtaaagcc tggggtgcct aatgagtgag ctaactcaca
 241 ttaattgctg tgcgctcact gcccgcttcc cagtcgggaa acctgtctg ccagctgcat
 301 taatgaatcg gccancgcgc ggggagaggg ggtttgcgta ttgggcgctc ttccgcttcc
 361 tcgctcactg actcgctgog ctcggtcgtt cggctgcggc gagcgggata agctcactca
 421 aaggcggtta tacggttatc cacagaatca ggggataacg caggaaagaa catgtgagca
 481 aaaggccagc aaaggccag gaacggtaaa aaggcccgct tgcggcgctt ttcccatagg
 541 ctccgcccc ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggcg gcgaaaccgc
 601 acaggactat aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct cctcgtgcg ctctcctgtt
 661 ccgaccctgc cgtttaccgg atacctgttc gcctttctcc cttggggaag cgtggcgctt
 721 tctcatagct cagctgttag gtatctcagt tgggtgtagg tggttcgctc caagctgggc
 781 tgtgtgcacg aacccccgt tcagcccgac cgtcgcgct tatccggtaa ctatcgtctt
 841 gagtccaacc cggtaagaca cgacttatcg cunctggcag cagccactgg taacaggatt
 901 agcagagcga ggtatgtagg cgtgtctaca gattctctga agtggtgccc taactacgac
 961 tacactagaa ggacagtatt tggatatctg gctctgtga agccagttac cttcggaana
 1021 agagttggta gctcttgatc cggcaaaaa accaccgctg gtacgggtgg tttttttgtt
 1081 tgcaagcagc agattacgog cagaaaaaaa ggaatctcaag aagatccttt gatctttctt
 1141 acggggtctg acgtcagtg gaacgaaaa tcacgttaag ggattttgtt catgagatta
 1201 tcaaaaagga tcttcaccta gatcctttta aattaaaaat gaagttttaa atcaatctaa
 1261 agtatataag agtaaaettg gtctgacagt taccatgct taatcagtg ggcacctatc
 1321 tcagcgatct gtctatctcg ttcatccata gttgcctgac tccccgtcgt gtagataact
 1381 acgatacggg agggcttacc atctggcccc agtgcctgaa tgataccgog agaccacgac
 1441 tcaccggctc cagatttatc agcaataaac cagccagccg gaagggccga gcgcagaagt
 1501 ggtcctgcaa ctttatccgc ctccatccag totattaatt gttgcccggg agctagagta
 1561 agtagttcgc cagttaatag tttgcgcaac gttgttgca ttgctacagg catcgtggtg
 1621 tcacgtcgtt cgtttggtat ggcttcatc agctccggtt cccaacgac aaggcgagtt
 1681 acatgatccc ccatgtttgt caaaaaagcg gttagctcct tcggctctcc gatcgttctc
 1741 agaagtaagt tggccgcagt gttatcactc atggttatgg cagcactgca taattctctt
 1801 actgtcatgc catccgtaag atgctttct gtgactggtg agtaactaac caagtcattc
 1861 tgagaatagt gtatgcggcg accgagttgc tcttgcccg cgtaataacg ggaataac
 1921 gcgccacata gcagaacttt aaaagtgtc atcattggaa aacgttcttc gggcgaaaaa
 1981 ctctcaagga tcttaccgct gttgagatcc agttcgatgt aacccactcg tgcacccaac
 2041 tgatcttcag catcttttac ttccaccagc gttcttggt gagcaaaaac aggaaggcaa
 2101 aatgccgcaa aaaagggaat aaggcggaac cggaaatgtt gaatactcat actcttctt
 2161 tttcaatatt attgaagcat ttatcagggt tattgtctca tgagcggata catatttgaa
 2221 tgtatttaga aaataaaca aatagggtt ccgcgcacat tccccgaaa agtgccacct
 2281 gacgcgccct gtagcggcgc attaagcgcg gcgggtgtgg tggttacgog cagcgtgacc
 2341 gctacaattg ccagcgccct agcgcgcgt cctttcgctt tcttcccttc ctttctcgcc
 2401 acgttcgocg gctttccccc tcaagctcta aatcgggggc tccctttagg gttccgattt
 2461 agtgccttac ggcacctga ccccaaaaaa ctlgattagg gtgatggttc acgtagtggg
 2521 ccacgcgcc gatagacggt ttttcgccct ttgacgttg agtccacgtt ctttaaatag
 2581 ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aacctatct cggcttatcc ttttgattta
 2641 taagggattt tgcgatttc ggcctattgg ttaaaaaatg agctgattta acaaaaattt

2701 aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgctt acaatttcca ttccgccattc aggcctgcga
 2761 actggttgga agggcgatcg gtgcgggctt ctccgctatt acgccagctg gcgaaagggg
 2821 gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt tccccagtcg cgacgthgta
 2881 aaacgacggc cagtgaattg taatacgact cactataggg cgaattgggt accgggcccc
 2941 cccctcaggt cgacggctac gataagcttg atatcgaatt ctcatgthtg acagcttate
 3001 atcggatcta gtaacataga tgacaccgcy cgcgataatt tatcctagtt tgcgcgctat
 3061 attttgtttt ctatcgcgta ttaaatgtat aattgcggga ctctaatacat aaaaacccat
 3121 ctcataaata acgtcatgca ttacatgtta attattacat gcttaacgta attcaacaga
 3181 aatttatatga taatcatcgc aagaccggca acaggattca atcttaagaa actttattgc
 3241 caaatgtttg aacgatctgc aggtcgacgg atcagatctc ggtgacgggc aggaccggac
 3301 ggggcggtac cggcaggctg aagtcagct gccagaaacc cactcatgac cagttcccg
 3361 gcttgaaagc ggccgcccgc agcatgcccgc ggggggcata tccgagcgcc tccgtgcatgc
 3421 gcacgctcgg gtccgtgggc agcccgatga cagcgaccac gctcttgaa cccgtgccc
 3481 ccagggactt cagcagggtg gtgtagagcg tggagcccag tccgctccgc tgggtggcgg
 3541 gggagagcta cagggtcgac tccgcccgtc agtcgtaggc gttgctgccc ttcaggggc
 3601 ccgcttaggc gatgcggcg acctcgccgt ccacctcgcc gacgagccag ggtatagcgt
 3661 cccgcagacg gacgaggtcg tccgtccact cctgcggttc ctgcccgtcg gtacggaggt
 3721 tgaccgtgct tgtctcgatg tagtggttga cgtatggtgca gaccgcccgc atgtccgct
 3781 cgytggcacg gcggatgtcg gccgggcytc gttctgggct catggttact tccatattga
 3841 tggatcctct agagtcgacc tgcagaagta acaccaaaca acagggtgag catcgacaaa
 3901 agaaaacgta ccaagcaaat aatagcgta tgaaggcagg gctaaaaaaa tccacatata
 3961 gctgctgcat atgccatcat ccaagtatat caagatcaa ataatataa aacatacttg
 4021 tttattataa tagataggta ctcaaggcta gagcatatga atagatgcg catatgccat
 4081 catgtatatg catcagtaaa acccasatca acatgtatc ctatcctaga tcatatcttc
 4141 catccatctt aaactcgtaa ctatgaagat gtatgacaca cacalacagt tccaaaatta
 4201 ataaatacac caggtagttt gaaacagtat tctactccga tctagaacga atgaacgacc
 4261 gcccaaccac accacatcat cacaaccnag cgaacaaaaa gcattctctgt atatgcata
 4321 gtaaaacccg catcaacatg tatacctatc ctatagatgat atttccatcc atcatcttca
 4381 attcgtactt atgaatatgt atggcacaca catcacagatc caaaattaat aaatccacca
 4441 ggtagtttga aacagaattc tactccgac tagaacgacc gcccaaccag accacatcat
 4501 cacaaccaag acaaaaaaaaa gcataaaaaa atgacccgac aaacaagtgc accgcatata
 4561 ttgaataaaa ggaaggggc aaaccaaac ctatgcaacg aaacaaaaaa aatcatgaaa
 4621 tcatccctgt ctgcggaacg gctagagcca tcccaggatt ccccaagag aaacactggc
 4681 aagttagcaa tcagaacgtg tctgacgtac aggtcgcatc cgtgtacgaa cgtatgcagc
 4741 ccgcatctaa cacaacacg gatctaacac aaacatgaac agaagtagaa ctaccggcc
 4801 ctaaccatgg accggaacgc cgtatagag aaggtagaga gggggggggg gggaggcga
 4861 gcggcgatcc ttgaagcggg ggtgcgacg ggtggatttg ggggagatct ggttctgtgt
 4921 gtgtgcgctc cgaacaacac gaggttgggg aaagaggggt tggagggggg gtctatttat
 4981 tacggcgggc gaggaaggga aagcgaagg ggggtggga aggaatccc cgtagctgcc
 5041 ggtgcccgtg gaggaggagg aggcgcctg ccgtgcgggc tcacgtctgc cgtccgcca
 5101 cgcaatttct ggatgccgac agcggagcaa gtccaacggt ggagcggaac tctcgagagg
 5161 ggtccagagg naggcagaga gatgcgctgc cgtctgcttc gcttggccc agcgacgct
 5221 gctggthtgc tggttgggtg ccgttagact cgtcgacggc gtttaacagg ctggcattat
 5281 ctactcgaaa caagaaaaat gtttcttag tttttttaat ttcttaagg gtatttctt
 5341 aatttttagt cactttatct tttctatct tatatctaaa ttatttaata aaaaacttaa

5401 aatagagttt tagttttctt aatttagagg ctaaaataga ataaaataga tgtactaaaa
 5461 aaattagtct ataaaaacca ttaacctaa accctaaatg gatgtactaa taaaatggat
 5521 gaagtattat ataggtgaag ctatttgcaa aaaaanagga gaacacatgc acactaaaaa
 5581 gataaaactg tagagtcctg ttgtcaaaat actcaattgt cctttagacc atgtctaact
 5641 gttcatttat atgattctct aaacactga tattattgta gtactataga ttatattatt
 5701 cgtagagtaa agtttaata katgtataaa gatagataaa ctgcacttca aacaagtgtg
 5761 acaaaaaaaa tatgtggtaa ttttttataa cttagacatg caatgctoat tatchctaga
 5821 gaggggcacg accgggtcac gctgcactgc aggcattgca gcttgaattc ctgcagcccc
 5881 gccagctat caactttgta tagaaaagtt ggtttgtgtc ttctagatta atctccaaa
 5941 cttttgatca accaaaaaaa ttatcaaaact aacatgttct cttttttct ttagaattc
 6001 taacgaattt atctttatc tgatttgaat atacttaatt tggtcatttg gatgccctt
 6061 acaacctctt taccanact actatggcaa atatatacta ttttccattg taacataa
 6121 gtccataatt tgaattaaat tggttgcagt acgaaaccat caactttgt ccaaaaaaa
 6181 aatcttata actatttact ttaatgtaaa tatatctct acttttgtt ttacaacct
 6241 agctcaaaac aatttattat ttgcgataaa aaatcatatc gaacaaactc gatgatttt
 6301 tttttcttac gttattaatg aaactaaaat atagaaaaaa acaagatgaa ccaattttc
 6361 acctatctaa ctactttaat ataattatgat taaatttggg aaagtttgaa aagtttctt
 6421 agaaatgtga aatattgatc acagtttcta ttgctaaaat caccaaaaaa acgcattgtg
 6481 ccattcataa ttatggtttc acacctcaaa ctaggctaat aagtaataa gtagacaact
 6541 agactcaggt ttgaaaaaac cataaaagcc atatagcgtt ttctcattga aactgcgaac
 6601 acgatcgtgt gaatgttgca gtttctagtt ttgatacaaa caaacaaaaa cacaatttaa
 6661 tcttagatta aaagaaaaa agagaacgga gccactagc cactccttca aacgtgtctt
 6721 accaactctc ttctagaaac aaattaggct tcaccttctt cttccaacct ctctctctct
 6781 ctctctctct tttctctaaa ccactctctc ataaagccct aatttcttca tcacaagaat
 6841 cagaagaaga aacaagtttg tcaaaaaaay caggcttact gcaaaaaact tatggaactg
 6901 catctaatth ttgggtccaa ttgcacagga aagacgacga ccgcatagc tcttgccag
 6961 cagacagggc ttccagtcct ttgccttgat cgggtccaat gctgtcctca actatcaacc
 7021 ggaagcggac gaccaacagt ggaagaactg aaaggaacga ccgctctcta ccttgatgat
 7081 cggcctcttg tggagggtat catcgagcc aagcaagctc atcataggct gatcgaggag
 7141 gtgtataatc atgaggccaa cggcgggctt attcttgagg gagyatccac cctgttgctc
 7201 aactgcattg cgcgaaacag ctattggagt gcagattttc gttggcatat tattcgccac
 7261 aagtttcccc accaagagac cttoatgaaa ggggccaagg ccagatttaa gcagatgttg
 7321 cccccgctg caggccattc tatttattcaa gagttgggtt atctttggaa tgaacctcgg
 7381 ctgaggccca ttctgaaaga gatcgatgga talcgatatg ccattgtgtt tgctagccag
 7441 aaccagatca cggcagatat gctattgcag cttgacgcaa atatggaagg taagttgatt
 7501 aatgggatcg ctacggagta tttoatccat gcgcgccaac aggaacagaa attccccaa
 7561 gtttaacgag ccgttttcga cggattcgaa ggtcatcctg toggaatgta ttaggtacc
 7621 agctttcttg taaaaagtgg agtcgcgaaa aatcaccagt ctctctctac aaatctatct
 7681 ctctctatth ttctccagaa taatgtgtga gtagttccca gataaggga ttagggttct
 7741 tatagggttt cgtcatgtg ttgagcatat aagaaacct tagtatgtat ttgtatttgt
 7801 aaataacttc tatcaataaa atttctaatt cctaaaccca aaatccagt acctcaactt
 7861 ta

Figura 25.

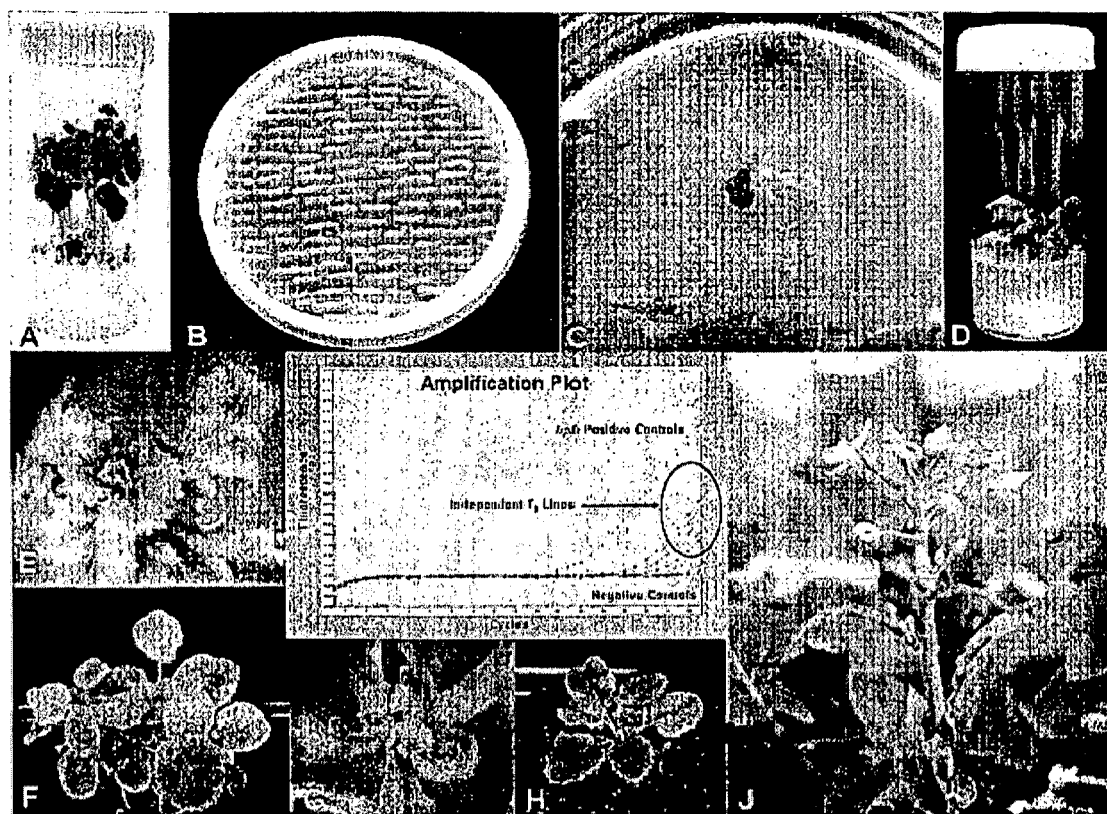


Figura 26.

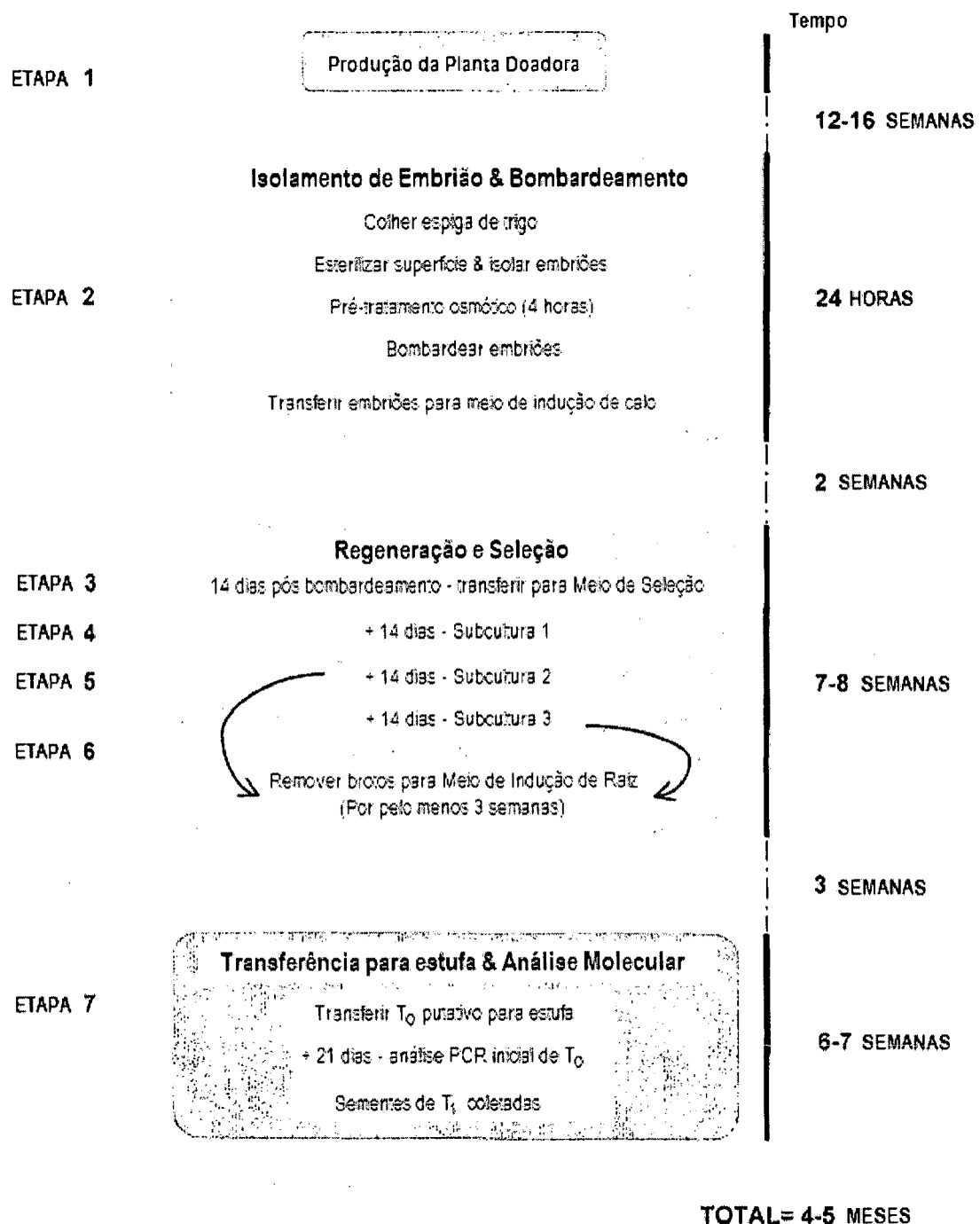


Figura 27.

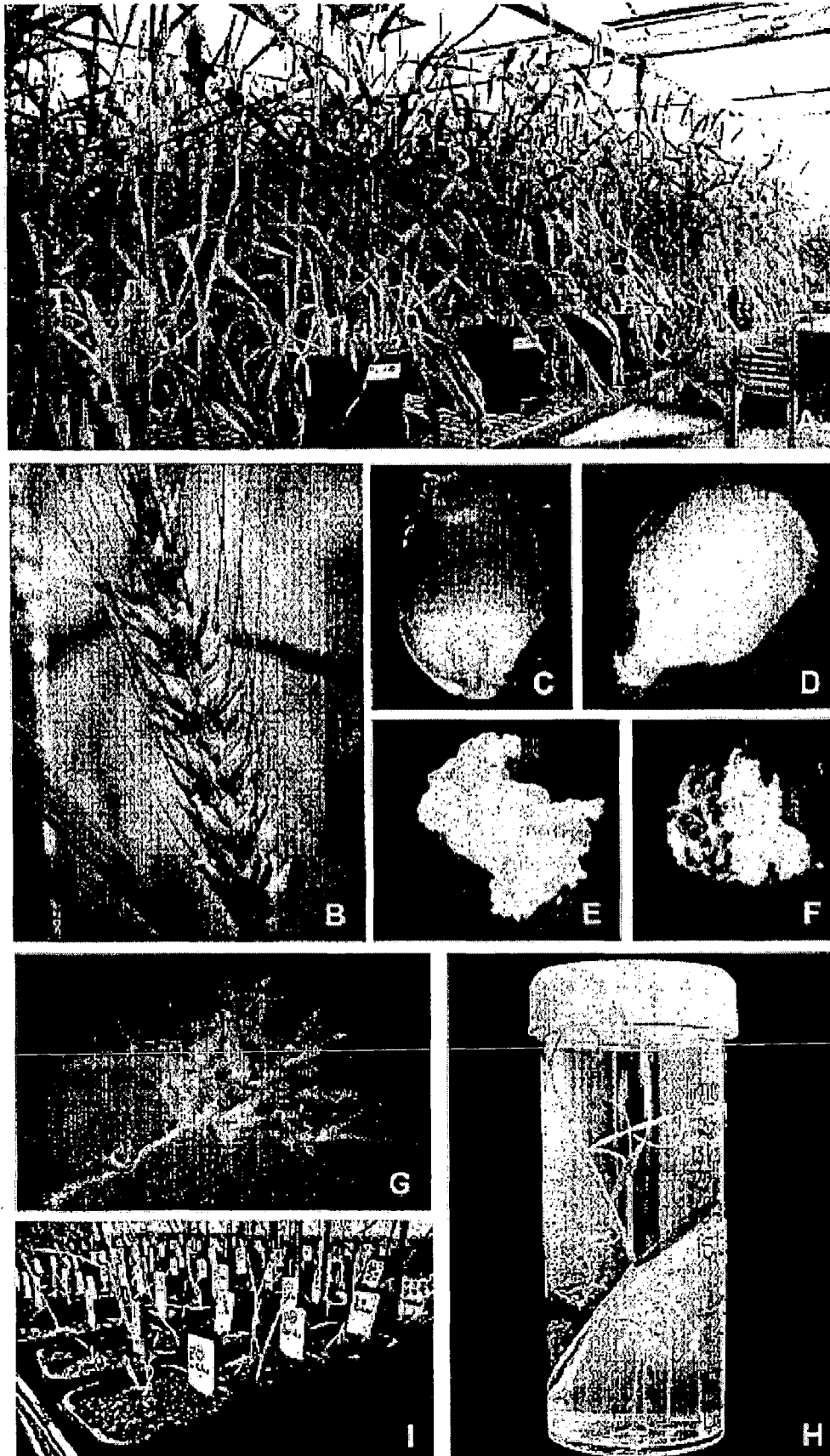


Figura 28.

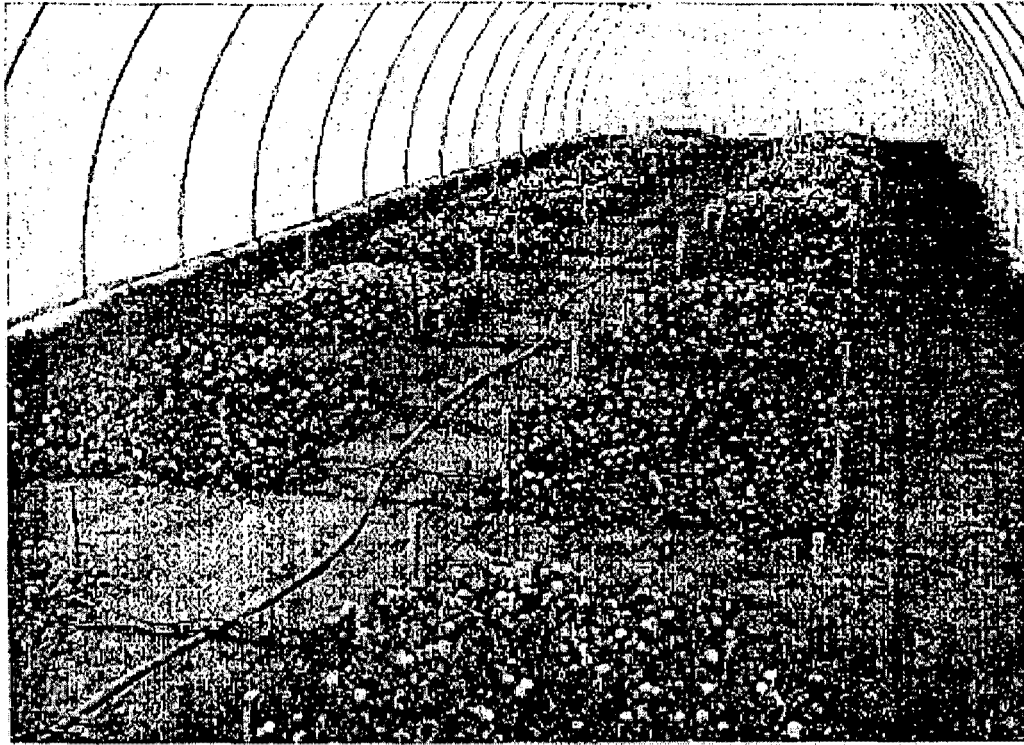


Figura 29.

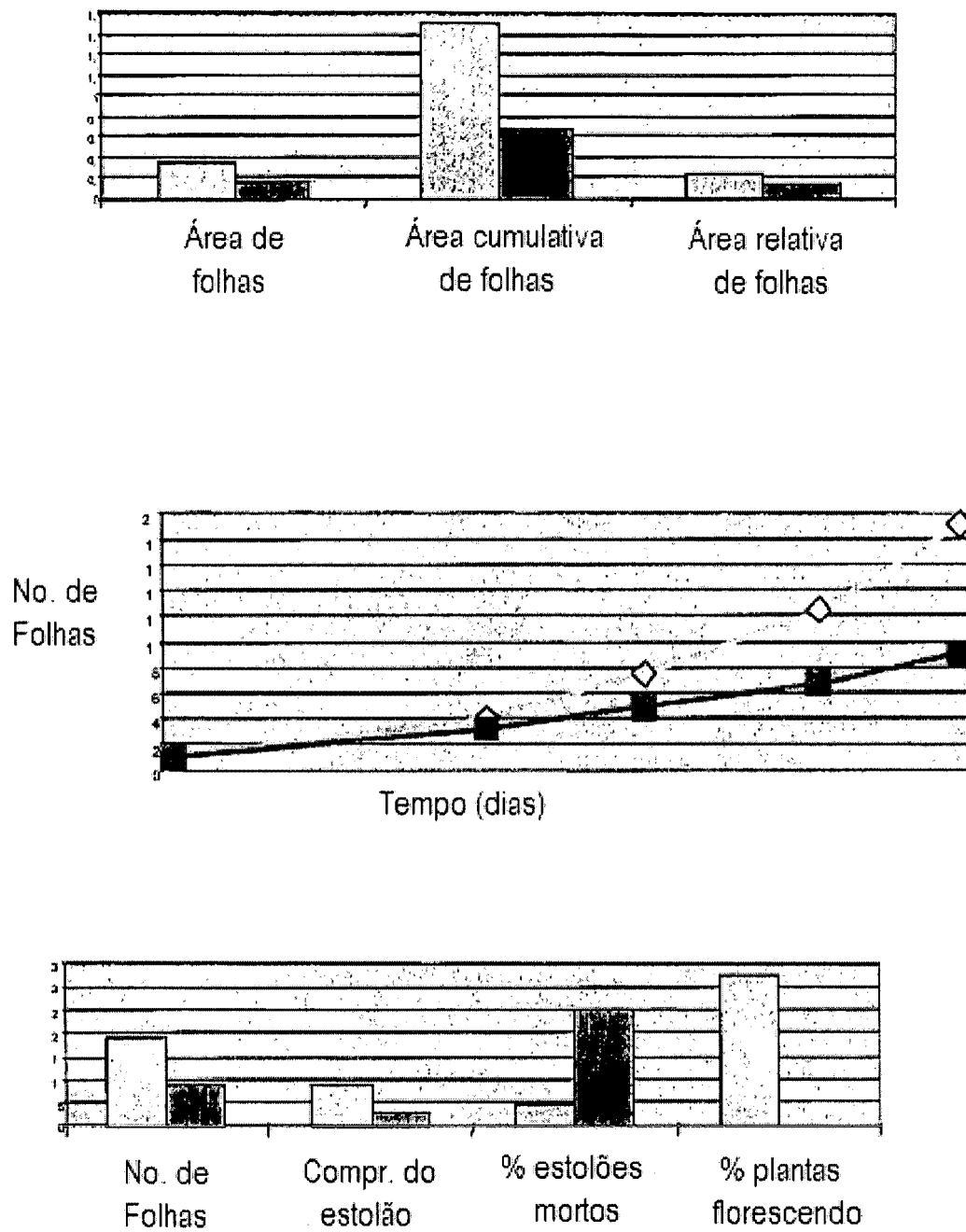


Figura 30.

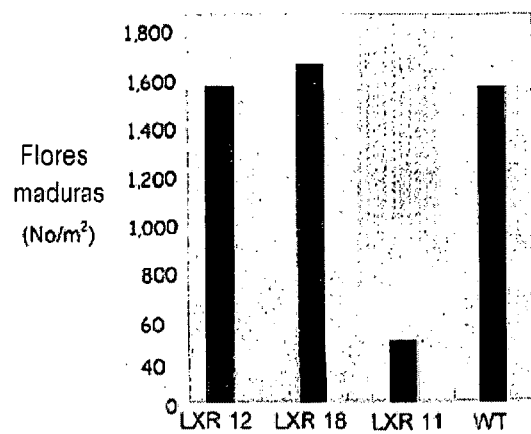


Figura 31.

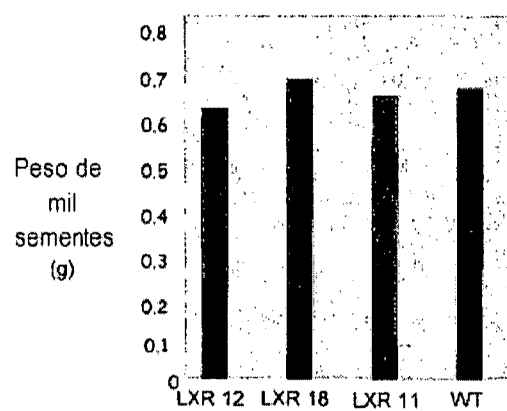


Figura 32.

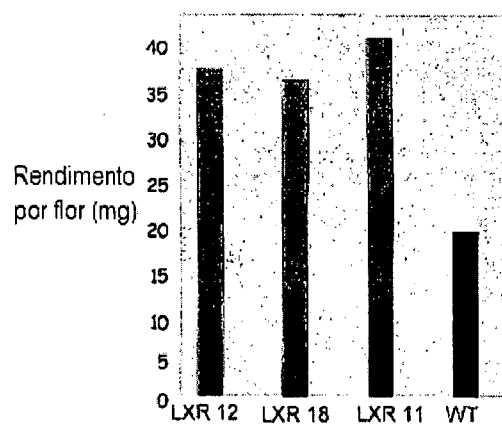


Figura 33.

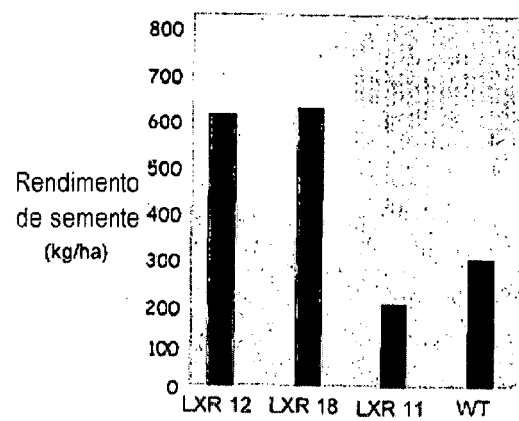


Figura 34.

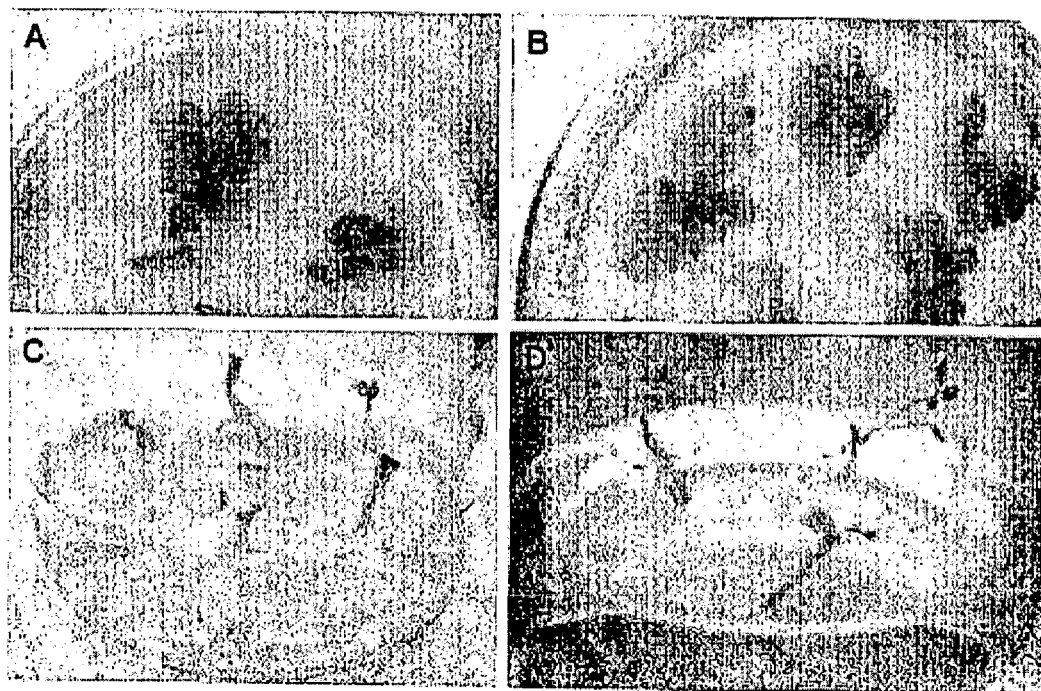
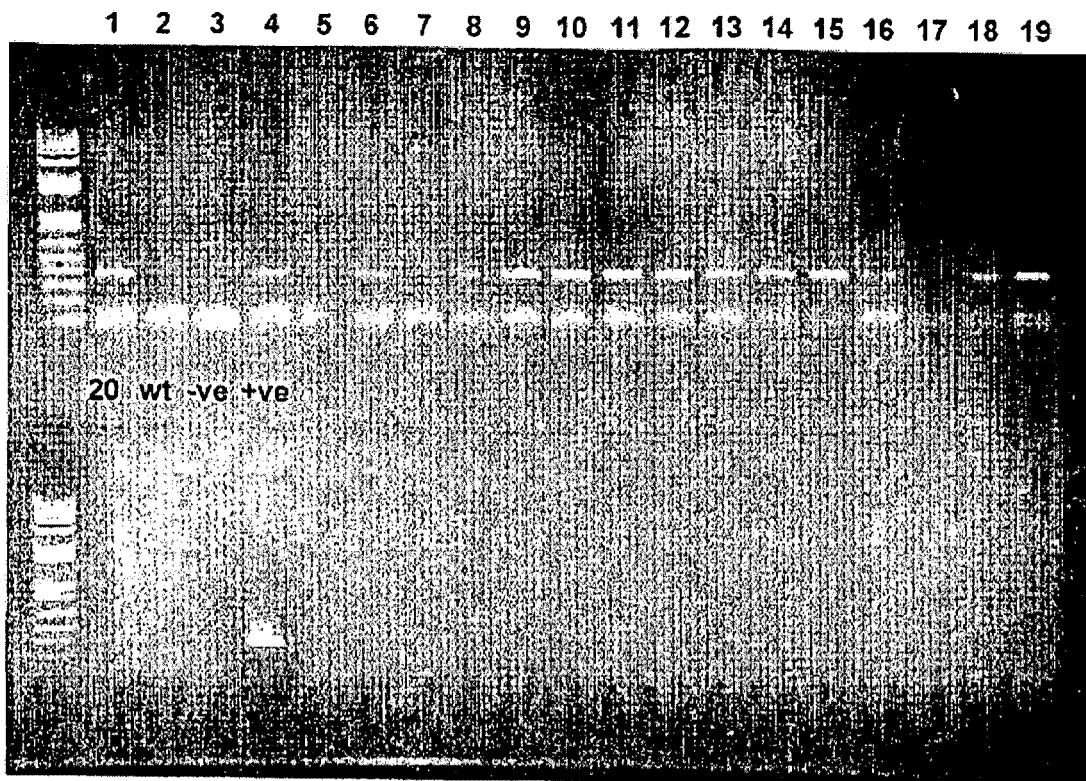


Figura 35

A.



B.

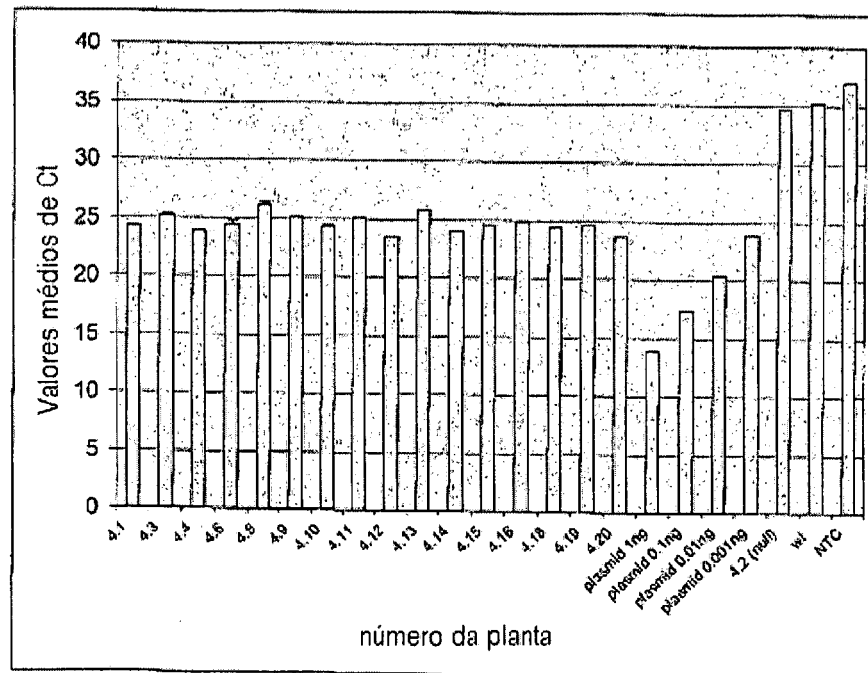


Figura 36

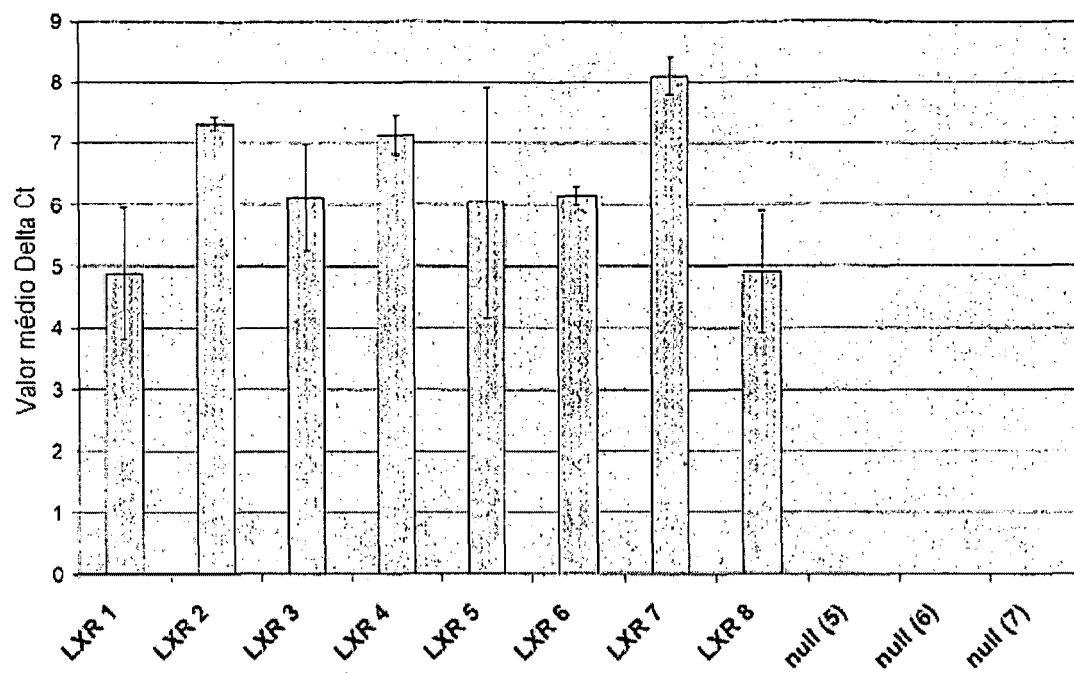


Figura 37

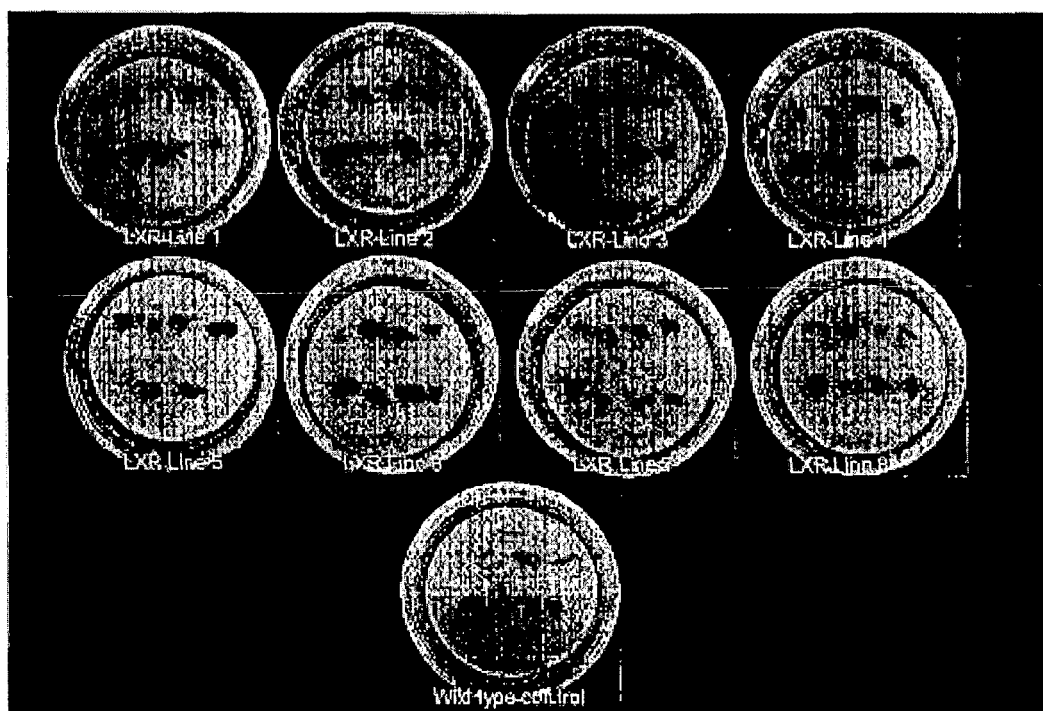


Figura 38

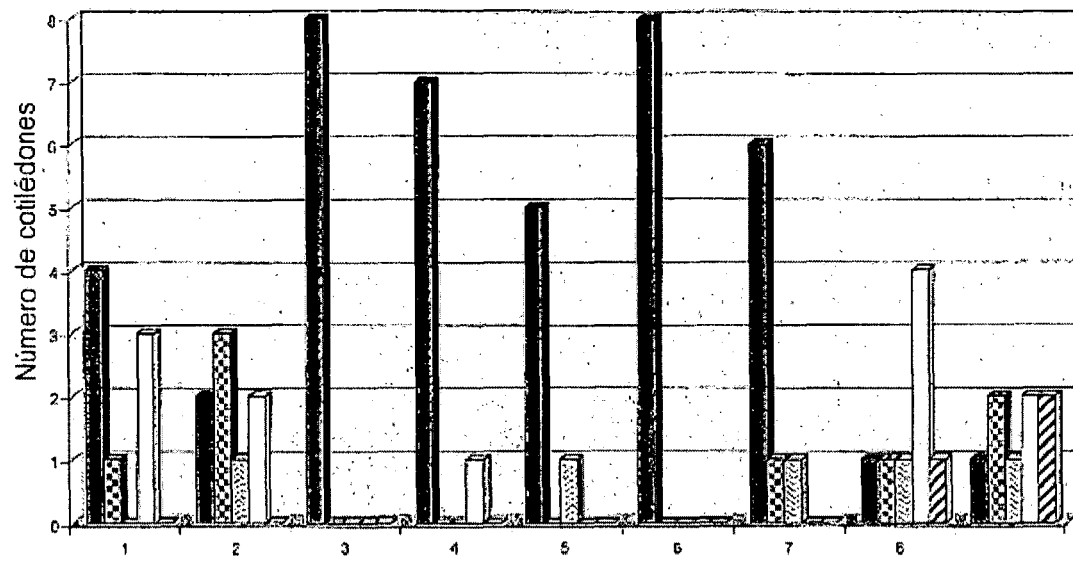


Figura 39

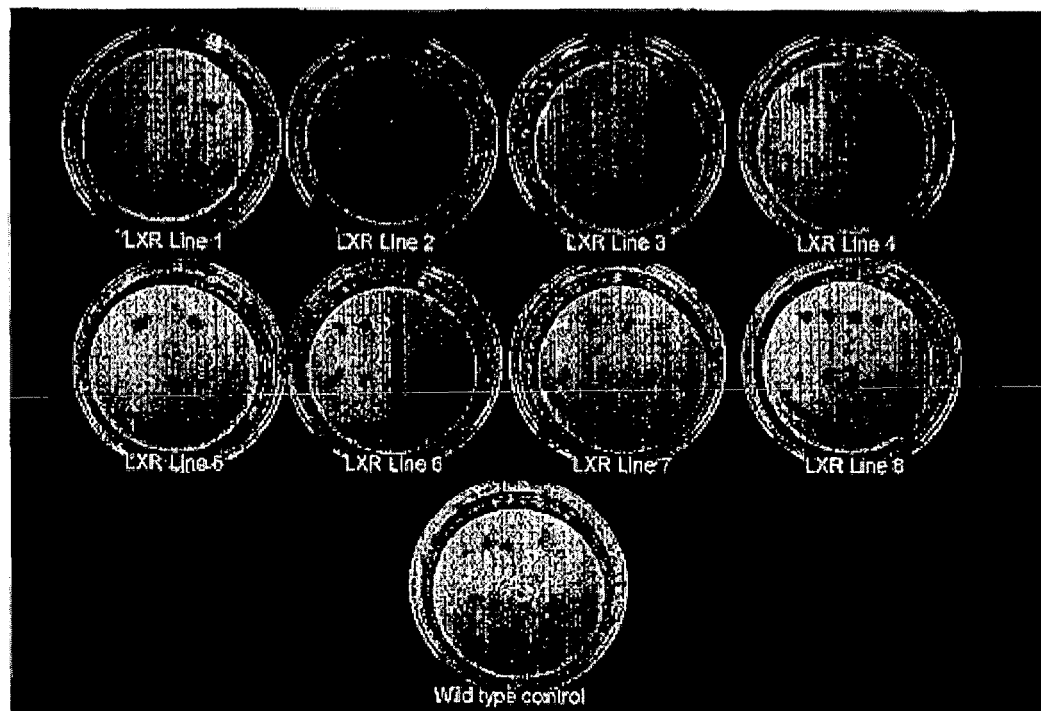


Figura 40

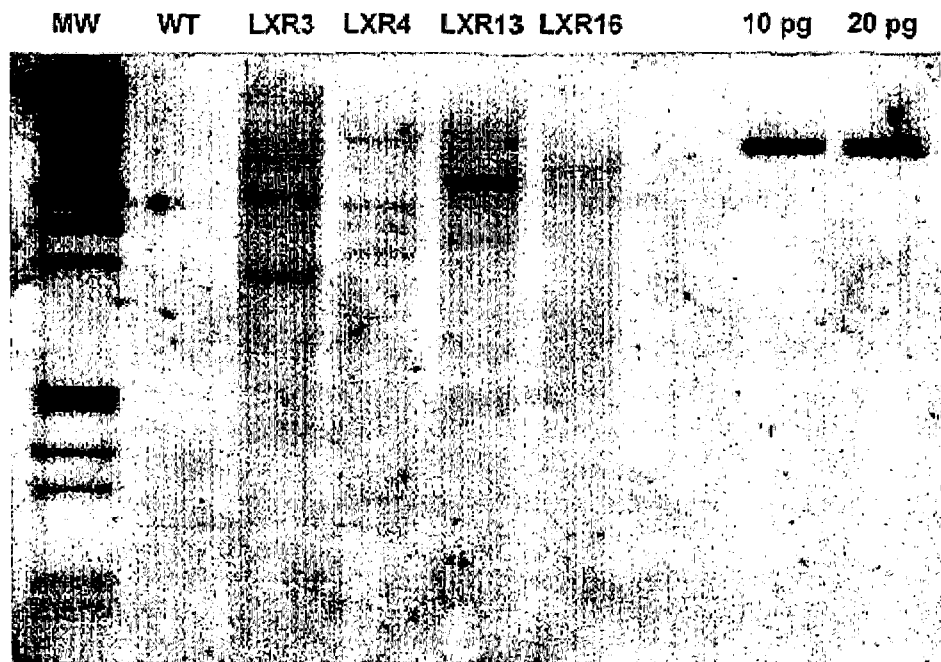


Figura 42

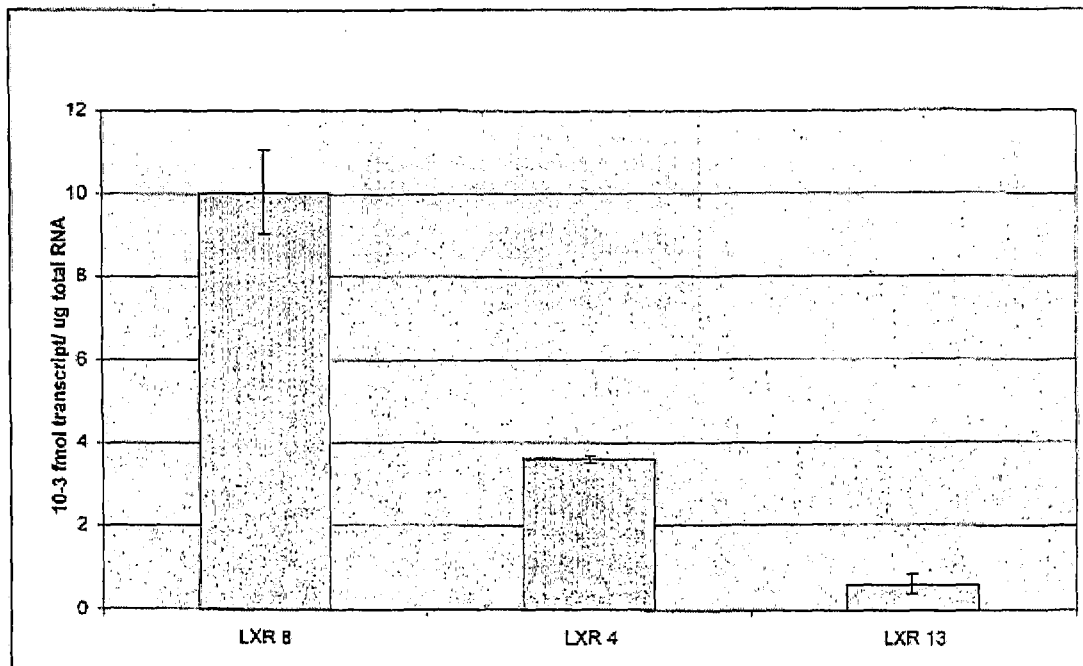


Figura 43

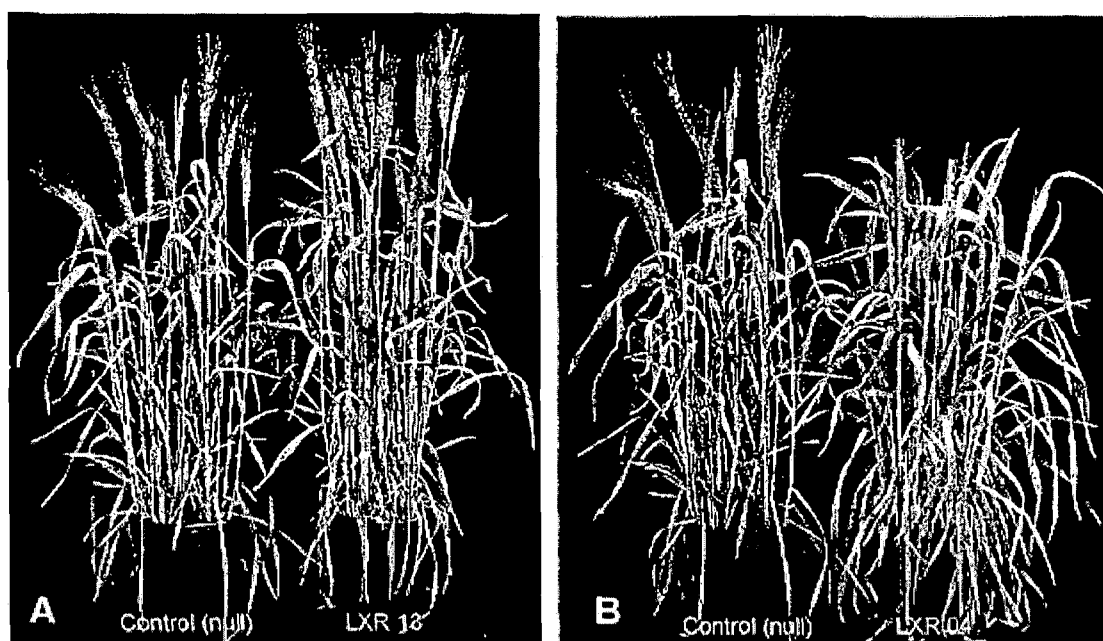


Figura 44

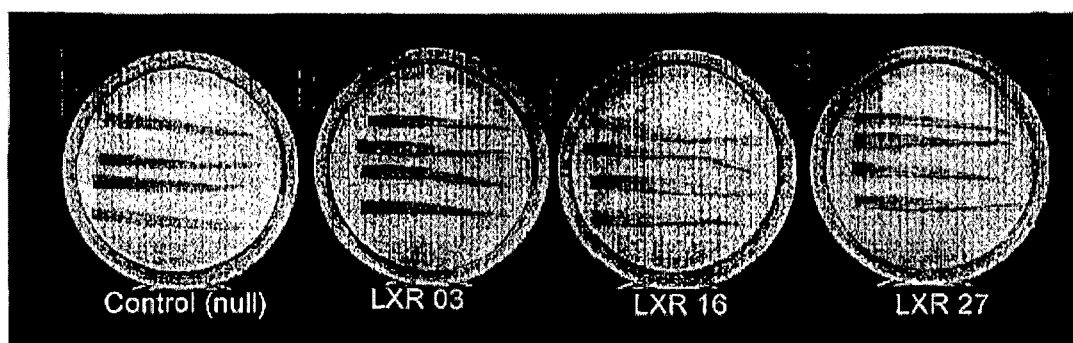


Figura 45