

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA**

Autor LEANDRA MARIA SCARPARI

**CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E MOLECULAR DA DOENÇA VASSOURA-
DE-BRUXA DO CACAUEIRO (*Theobroma cacao* L.), CAUSADA PELO FUNGO
*Crinipellis pernicioso***

Orientador GONÇALO AMARANTE GUIMARÃES PEREIRA

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Biologia como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Funcional e Molecular, Área: Bioquímica.

Campinas - São Paulo
2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

Sca76c Scarpari, Leandra Maria
Caracterização bioquímica e molecular da doença
vassoura de bruxa do cacauero (*Theobroma cacao* L.),
causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa* / Leandra Maria
Scarpari. -- Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientador: Gonçalo Amarante Guimarães Pereira.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Vassoura-de-bruxa (Fitopatologia). 2.
Basidiomicetos. 3. Fungos fitopatogênicos. 4.
Expressão gênica. 5. Cacau. I. Pereira, Gonçalo
Amarante Guimarães. II. Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Título em inglês: Biochemical and molecular characterization of witches's broom disease of
cocoa (*Theobroma cacao* L.), caused by the fungus *Crinipellis perniciosa*.

Palavras-chave em inglês: Witches'broom disease; Basidiomycetes; Phytopathogenic
fungi; Gene expression; Cocoa.

Área de concentração: Bioquímica.

Títuloção: Doutora em Biologia Funcional e Molecular.

Banca examinadora: Gonçalo Amarante Guimarães Pereira, Paulo Mazzafera, Marcos
Silveira Buckeridge, Antonio Vargas de Oliveira Figueira, Dirce Maria Carraro.

Data da defesa: 30/06/2006.

Campinas, 30 de junho de 2006.


BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gonçalo Amarante Guimarães Pereira
(Orientador)



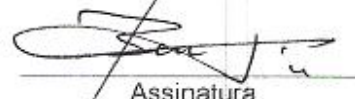
Assinatura

Prof. Dr. Paulo Mazzafera



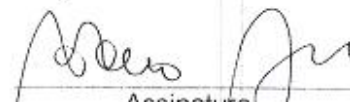
Assinatura

Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge



Assinatura

Prof. Dr. Antonio Vargas de Oliveira Figueira



Assinatura

Profa. Dra. Dirce Maria Carraro



Assinatura

Prof. Dr. José Camilo Novello

Assinatura

Prof. Dr. Luiz Roberto Nunes

Assinatura

Prof. Dr. Hiroshi Aoyama

Assinatura

DEDICO

Aos meus pais Euir e Eliza,
meus exemplos de vida,
e ao Marcio, pelo constante
apoio e compreensão.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e por iluminar sempre o meu caminho.

Ao prof. Dr. Gonçalo Amarante G. Pereira pela confiança, orientação, amizade, alegria, incentivo e otimismo constante.

A todos do Laboratório de Genômica e Expressão (LGE) da UNICAMP: Dr. Lyndel Meinhardt, Eliane, Andrea, Welbe, Eliezer, Edu, Marcelo, Marcio, Marcos Renato, Danilo, Zé Pedro, Gustavo, Lucas, Maricene, Carol, Odalys, Gabriel, Alessandra, Elaine, Júlio, Bruno, Tiago, Zapa, Silvia, Daniela, Ana Paula, Ana Deckman, Jorge, Michele, Diana e Raquel, pela convivência, amizade, ensinamentos e constantes trocas de experiência.

Muito especialmente a Johana, Jorge Mondego e Carla pelas correções do texto e importantes sugestões.

Ao pessoal da Almirante Cacau Agrícola da Bahia, especialmente Alan Pomela, Regina Machado, Agnaldo, Iara, Alicia, Ruy, Nai, Delvani, Dona Rosa, Sérgio, Silvio, e tantos outros, pela acolhida baiana, amizade, e pelo auxílio na instalação e condução do experimento de casa de vegetação.

Ao prof. Dr. Paulo Mazzafera, co-orientador do trabalho, pelos ensinamentos, pelo apoio, amizade, e pelo espaço concedido em seu laboratório para a realização das análises bioquímicas.

A todos os alunos e funcionários do Dpto. de Fisiologia Vegetal da UNICAMP, especialmente Milton, Aline, Jane, Flávia, Clara, Rúbia, Andréa, Laura, Diego, Silvia, Geraldo, Ilka, Lúcia, Dulce, Denise, Lorenza, Dulcinéia, Carlos, Paiola, S. Domingos, e aos professores Marlene Schiavinato, Ladaslav Sodek, Jorge Veja e Cláudia Haddad, pela acolhida, auxílio, amizade e pelas animadas festinhas.

A Dra. Dirce Maria Carraro pela atenção, amizade, pelos ensinamentos e colaboração nas análises de *microarrays*, e pelas valiosas sugestões.

A todo pessoal LGEA (*Laboratory of Gene Expression Analysis*) do Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer e do LBHC (Laboratório de Bioinformática do Hospital do Câncer): Dra. Helena Brentani, Diogo, Luiz Paulo, Elen, Louise, Wilson, Cristina, Adriana, Laura, Mariana, Paulo, Thiago, Aderbal, Nádia, Sabrina e Elisa pela acolhida, convivência, amizade e auxílio nas análises de *microarrays*.

Ao curso de Pós-Graduação em Biologia Funcional e Molecular, especialmente à secretária Andréia.

A CAPES pela bolsa concedida.

Aos professores Hiroshi Aoyama e Ione Salgado, e ao Dr. Marcos Oliveira pelas sugestões no exame na qualificação.

A minha grande e amada família: todos os meus tios e primos pelo carinho e apoio.

Em especial à família maravilhosa que Deus me deu: meus queridos pais Euir e Eliza, e meus irmãos Paulo e Ana, pelo amor, compreensão e por sempre me apoiarem.

Ao meu namorado Marcio, pela paciência, carinho, apoio, compreensão e companheirismo.

A todos os que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

RESUMO

A doença vassoura-de-bruxa, provocada pelo fungo hemibiotrófico *Crinipellis perniciosa*, é uma das doenças mais importantes do cacau, diminuindo drasticamente a produção e causando grandes prejuízos econômicos. Uma maior compreensão sobre a interação cacau - *C. perniciosa* e sobre os processos que ocorrem na planta durante a progressão da doença é necessária para estabelecer novas estratégias de controle para a doença. O presente trabalho teve dois objetivos principais: 1) identificar as mudanças bioquímicas que ocorrem no cacau durante o desenvolvimento da doença; 2) identificar os genes diferencialmente expressos no micélio biotrófico do fungo *C. perniciosa* cultivado *in vitro*, sendo este micélio o estágio do ciclo de vida do fungo que induz os sintomas da doença. Os resultados da caracterização bioquímica da doença, usando plântulas de cacau infectadas artificialmente, indicaram uma elevação inicial de metabólitos secundários relacionados à defesa da planta, como alcalóides, fenólicos e taninos. Como esses mecanismos não são eficientes para deter a colonização da planta pelo fungo, uma cascata de eventos, provavelmente ativada pelo aumento dos níveis de etileno, eleva os teores de asparagina, de açúcares, malondialdeído (MDA) e glicerol, altera o perfil de ácidos graxos, reduz os níveis de aminoácidos individuais e de pigmentos fotossintéticos, causando a morte da vassoura. O importante avanço do desenvolvimento de um sistema que permite a manutenção *in vitro* do micélio biotrófico de *C. perniciosa*, estabelecido recentemente por nosso grupo, permitiu o estudo da expressão gênica diferencial das duas fases miceliais do ciclo de vida do fungo: biotrófica e necrotrófica. Utilizamos a técnica de *microarrays* de DNA, analisando 2.304 fragmentos de bibliotecas de DNA genômico do Projeto Genoma da Vassoura-de-bruxa, selecionados a partir da similaridade com genes de patogenicidade de outros patógenos. Os resultados mostraram supressão da expressão de genes relacionados ao transporte e metabolismo de hexoses e ao metabolismo de lipídeos no micélio biotrófico do fungo. Já os genes da família do citocromo P450, hidrofobinas, aglutinina, lacase, várias proteases, lipases, álcool oxidase (AOX) e proteínas pol do sistema de retrotransposição de vírus, tiveram sua expressão induzida no micélio biotrófico, sugerindo uma possível participação nos mecanismos de patogenicidade do fungo. Esses resultados representam avanços significativos para as pesquisas sobre o metabolismo do fungo *C. perniciosa* e sobre as bases moleculares da progressão da doença vassoura-de-bruxa do cacau, e servirão como base para orientar futuras investigações visando o controle da doença.

Palavras-chave: cacau, vassoura-de-bruxa, basidiomicetos, fungos fitopatogênicos, expressão gênica.

ABSTRACT

Witches' broom disease, caused by the hemibiotrophic fungus *Crinipellis perniciosa*, is one of the most important diseases of cocoa, causing dramatic production and economic losses. A better understanding of the cacao - *C. perniciosa* interaction and the processes that occur in the plant during disease progression becomes necessary in order to establish novel control strategies for this disease. In view of this, the present work had two main goals: 1) establishment of the biochemical modifications that occur in the host plant during disease development; and 2) identification of differentially expressed genes in *in vitro* grown biotrophic mycelia of *C. perniciosa*, which constitutes the fungal life stage that induces disease symptoms. The results of the biochemical characterization of the disease in artificially infected cocoa seedlings indicated an initial increase of secondary metabolites related to plant defenses, such as alkaloids, phenolics, and tannins. Since these mechanisms fail to control plant colonization by the fungus, a cascade of events, probably triggered by the increased levels of ethylene, boosts the contents of asparagine, sugars, malondialdehyde (MDA) and glycerol, alters the profile of fatty acids, lowers the levels of individual amino acids and photosynthetic pigments, and ultimately leads to tissue death. The important technological development of an *in vitro* system that allows the maintenance of the biotrophic phase of *C. perniciosa*, which was recently established by our group, allowed the analysis of the differential gene expression between the two mycelial phases of the life cycle of this fungus: the biotrophic and the necrotrophic phases. For this study we employed the technique of DNA microarrays, analyzing 2,304 fragments obtained from the genomic DNA libraries of the Witches' Broom Genome Project, and which were selected based on their sequence similarity to pathogenicity genes of other pathogens. The results showed suppressed expression of genes related to the metabolism and transport of hexoses and to the metabolism of lipids in the biotrophic mycelia of the fungus. On the other hand, the expression of genes of the cytochrome P450 family, hydrophobins, agglutinin, laccase, several proteases, lipases, alcohol oxidase (AOX), and pol proteins of the viral retrotransposition system were induced in the biotrophic mycelia, thus suggesting their possible participation in fungal mechanisms of pathogenicity. These results represent significant advances to our understanding of the metabolism of *C. perniciosa* and also regarding the molecular basis underlying the progression of witches' broom disease of cocoa, and will be valuable as a basis for future investigations aimed at disease control.

Keywords: cocoa, witches' broom disease; Basidiomycete; phytopathogenic fungi; gene expression.

SUMÁRIO

	Página
1 Introdução.....	1
2 Revisão de Literatura.....	2
2.1 A doença vassoura-de-bruxa do cacauero.....	2
2.2 Bioquímica da doença vassoura-de-bruxa do cacauero.....	5
2.3 Interação planta-patógeno.....	11
2.4 Genômica e pós-genômica do fungo <i>Crinipellis perniciosa</i>	15
3 CAPÍTULO I: Biochemical changes during the development of witches' broom: the most important disease of cocoa in Brazil caused by <i>Crinipellis perniciosa</i>	17
3.1 Abstract.....	18
3.2 Introduction.....	18
3.3 Materials and methods.....	20
3.4 Results.....	23
3.5 Discussion.....	35
3.6 Acknowledgements.....	41
3.7 References.....	42
4 CAPÍTULO II: Identificação de genes diferencialmente expressos durante as fases necrotrófica e biotrófica do fungo <i>Crinipellis perniciosa</i>	47
4.1 Resumo.....	48
4.2 Revisão de Literatura.....	49
4.2.1 O subcultivo <i>in vitro</i> do fungo <i>Crinipellis perniciosa</i>	49
4.2.2 A importância dos estudos de expressão gênica.....	50
4.2.3 A técnica de <i>microarrays</i>	52
4.3 Material e métodos.....	55
4.3.1 Confecção dos <i>microarrays</i>	55
4.3.1.1 Seleção <i>in silico</i> dos fragmentos de interesse.....	55
4.3.1.2 Rearranjo dos clones de interesse, amplificação e purificação dos fragmentos selecionados.....	55
4.3.1.3 Impressão e fixação dos fragmentos amplificados em lâminas de vidro.....	56
4.3.2 Cultivo de <i>C. perniciosa in vitro</i> e extração do RNA total.....	57
4.3.3 Amplificação do RNA total.....	59
4.3.4 Desenho experimental.....	60

4.3.5 Marcação do RNAa	61
4.3.6 Hibridização e lavagens.....	62
4.3.7 Análise dos resultados.....	62
4.3.7.1 Pré-análise das lâminas hibridizadas	63
4.3.7.1.1 Dendrograma.....	63
4.3.7.1.2 MM Plot.....	63
4.3.7.1.3 MA, Log x Log e Box Plot	64
4.3.7.1.4 Normalização dos dados	64
4.3.7.2 Análise das diferenças de expressão gênica	64
4.4 Resultados e Discussão	66
4.4.1 Confeção dos <i>microarrays</i>	66
4.4.1.1 Seleção <i>in silico</i> dos fragmentos de interesse.....	66
4.4.1.2 Rearranjo dos clones de interesse, amplificação e purificação dos fragmentos selecionados.....	66
4.4.2 Cultivo de <i>C. perniciosa in vitro</i> e extração do RNA total	66
4.4.3 Amplificação e marcação do RNA total	66
4.4.4 Hibridização e lavagens.....	69
4.4.5 Pré-análise das lâminas hibridizadas	69
4.4.5.1 Dendrograma.....	69
4.4.5.2 MM Plot.....	72
4.4.5.3 MA, Log x Log e Box Plot	72
4.4.5.4 Normalização dos dados	76
4.4.6 Análise das diferenças de expressão gênica	76
4.5 Referências.....	96
5 Conclusões e Sugestões para Próximos Trabalhos.....	102
6 Referências Bibliográficas	105
7 Anexos.....	109
7.1 Dendrograma	110
7.2 Tabela B1	111
7.3 Tabela B2	129

ABREVIATURAS

cDNA: DNA complementar

DNA: Ácido Desoxiribonucléico

ERNs: Espécies Reativas de Nitrogênio

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase

RNA: Ácido Ribonucléico

RNAa: RNA amplificado

RNAm: RNA mensageiro

RNAr: RNA ribossômico

1 Introdução

A doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*, é uma das doenças mais importantes do cacauero nos países produtores da América do sul e nas ilhas do Caribe. Atinge no Brasil a região Amazônica e o sul da Bahia, causando perdas de até 70 a 90% (ALMEIDA *et al.* 1998; SANTOS FILHO *et al.* 1998), o que fez o Brasil passar de exportador a importador de cacau (PINTO & PIRES 1998).

C. perniciosa, sendo um fungo hemibiotrófico, apresenta duas fases miceliais distintas em seu ciclo de vida: uma fase biotrófica ou parasítica, a qual invade o cacauero e causa os primeiros sintomas da doença, como a hipertrofia dos tecidos e proliferação de brotos axilares; e uma fase necrotrófica ou saprofítica, que coloniza os tecidos infectados mortos. Os processos envolvidos na mudança de fases do fungo dentro da planta e suas implicações no desenvolvimento da doença ainda não são conhecidos.

A importância do cultivo do cacauero no Brasil, principalmente na região sul da Bahia, e os danos causados pela vassoura-de-bruxa à lavoura cacauera demandam estudos que busquem o conhecimento das bases da interação cacauero - *C. perniciosa*, e dos mecanismos que levam à manifestação dos sintomas da doença. Dessa forma, o Projeto Genoma da Vassoura-de-Bruxa teve como objetivo seqüenciar o DNA de seu agente causal, o fungo *Crinipellis perniciosa*, e gerar informações sobre a sua biologia e ciclo de vida, visando identificar alvos para o controle da doença.

Assim, o presente trabalho teve dois objetivos principais: 1) identificar as mudanças bioquímicas que ocorrem no cacauero durante o desenvolvimento da doença; 2) identificar os genes diferencialmente expressos na fase biotrófica do fungo *C. perniciosa*, por meio da comparação da expressão gênica dos micélios biotrófico e necrotrófico cultivados *in vitro*.

2 Revisão de Literatura

2.1 A doença vassoura-de-bruxa do cacau

O cacau (*Theobroma cacao* L.) pertence à família Sterculiaceae e é nativo das florestas tropicais úmidas da Bacia Amazônica. Atinge a altura de 5 a 8 metros sob cultivo, e nas florestas ultrapassa os 15 metros. As áreas de maior produção possuem uma média anual de chuvas entre 1250 a 2800 mm e temperaturas superiores a 15° C. Sob temperaturas menores que 5°C, o crescimento do cacau fica paralisado e sua sobrevivência prejudicada (PURDY & SCHMIDT 1996). No interior dos seus frutos, encontram-se sementes envolvidas por uma polpa branca. Este material sofre um processo de cura que envolve fermentação, secagem e torrefação, e as sementes são então utilizadas para a obtenção da manteiga e massa de cacau, matérias-primas para a indústria de chocolates e cosméticos (BAREL *et al.* 1985).

O fungo *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer é um basidiomiceto hemibiotrófico da ordem Agaricales, pertencente à família Tricholomataceae e endêmico da Bacia Amazônica (EVANS 1978). Como a planta e o patógeno possuem a mesma região de origem, estes devem ter passado por um processo de co-evolução (PURDY & SCHMIDT 1996). Em interações parasita-hospedeiro, este processo ocorre de forma que enquanto o patógeno cria novos mecanismos de ataque, a planta responde com a criação de novos mecanismos de defesa.

A vassoura-de-bruxa, causada pelo basidiomiceto *C. perniciosa*, é uma das mais importantes doenças do cacau nos países produtores da América do Sul e nas ilhas do Caribe (BASTOS 1996; PURDY & SCHMIDT 1996; GRIFFITH *et al.* 2003). É uma das doenças de maior efeito destrutivo e limitante da produção cacauífera no Brasil, causando perdas de até 70 a 90%, nas regiões Amazônica e no sul da Bahia (ALMEIDA *et al.* 1998; SANTOS FILHO *et al.* 1998). Até 1989, o Brasil era o segundo país mundial em produção de cacau (DE ARRUDA *et al.* 2003). Porém, entre os anos de 1989 e 1998, a doença vassoura-de-bruxa, os baixos preços no mercado internacional e os fatores climáticos adversos, fizeram a produção brasileira cair de 320,5 para 191,1 mil toneladas, reduzindo a contribuição da produção brasileira no mercado mundial de 15 para 4,3%

(Ministério Brasileiro da Agricultura, 2002-www.agricultura.gov.br/spa/indice02.htm, PERES FILHO 1998), e fizeram o Brasil passar de exportador a importador de cacau (PINTO & PIRES 1998). Os países de maior produção mundial atualmente são Costa do Marfim, Gana, Nigéria e Indonésia, países onde a vassoura-de-bruxa não ocorre (LEAL JUNIOR 2002).

O primeiro foco conhecido de vassoura-de-bruxa no sul da Bahia, foi encontrado em 1989 no município de Uruçuca, na ocasião a segunda maior concentração de cacauzeiros do mundo (PEREIRA *et al.* 1989). Apesar de originário da Amazônia, *C. perniciosa* encontrou nessa região condições adequadas para a produção de basidiocarpos e infecção das plantas praticamente durante todo o ano. Além de possuir 700 mil hectares contínuos de cacauzeiros suscetíveis, a chuva é distribuída uniformemente durante o ano nessa região, apenas com estiagens curtas, condição essencial para a formação de basidiocarpos e para emissão de tecidos meristemáticos, fatores determinantes para o caráter mais agressivo da doença (ALMEIDA *et al.* 1997).

Os basidiósporos do fungo possuem a capacidade de penetrar em qualquer tecido meristemático do cacauzeiro. Nos brotos vegetativos, observa-se hipertrofia e hiperplasia, acompanhadas de proliferação de brotos axilares, originando a formação característica de uma vassoura. Os brotos infectados apresentam diâmetros maiores que os normais, com entrenós curtos e folhas geralmente grandes, curvadas ou retorcidas (LAWRENCE *et al.* 1991; ALMEIDA *et al.* 1997). Nas almofadas florais surgem grupamentos de flores anormais hipertrofiadas que originam frutos partenocárpicos deformados, com aspecto de “morango”, os quais morrem prematuramente. Os frutos infectados ainda jovens tomam aspecto de “cenoura”, enquanto que os mais desenvolvidos, ao atingirem a fase adulta, exibem uma mancha negra e dura, denominada “podridão negra” (ALMEIDA *et al.* 1997). As vassouras formadas que, de início são verdes, após 4 a 6 semanas morrem, adquirindo coloração castanha escura (LAWRENCE *et al.* 1991).

ORCHARD & HARDWICK (1988) relataram que plantas infectadas severamente produziram um número maior de folhas arrançadas irregularmente, e

que os primeiros sintomas da morte da vassoura foram a senescência prematura de suas folhas, seguidos pela necrose do caule.

O patógeno possui dois tipos de micélios que podem ser separados morfológica, fisiológica e geneticamente: o micélio monocariótico, parasítico, sem grampos de conexão, encontrado intercelularmente somente em tecidos vivos infectados; e o micélio dicariótico, saprofítico, com grampos de conexão, freqüentemente intracelular, encontrado em tecidos mortos (EVANS 1980; CALLE *et al.* 1982). A mudança no estado cariotípico do fungo ocorre através de mecanismos indeterminados, durante o desenvolvimento da vassoura (CALLE *et al.* 1982).

A produção de basidiocarpos de *C. pernicioso* pode ocorrer sobre qualquer tecido infectado e necrótico do hospedeiro, após períodos alternados de umidade e seca (ALMEIDA *et al.* 1995). A capacidade do patógeno de produzir basidiocarpos correlaciona-se negativamente com a idade das vassouras, possivelmente porque a disponibilidade de fatores de crescimento nos tecidos diminui com o tempo (ALMEIDA *et al.* 1997).

Os basidiósporos de *C. pernicioso* são conhecidos como os únicos propágulos infectivos deste patógeno e são disseminados pelo vento (BASTOS 1989b). Geralmente, a germinação dos basidiósporos se dá rapidamente, após 1 hora em atmosfera saturada de umidade, completando-se 4 horas depois (BASTOS 1990). Esta é uma das fases mais delicadas para a sobrevivência do patógeno e, portanto, para a continuidade de seu ciclo de vida, sendo influenciada por fatores genéticos e ambientais (BASTOS 1989b).

A disseminação de *C. pernicioso* a longas distâncias pode ser feita através de transporte de sacaria de cacau, e de sementes contaminadas em frutos infectados, as quais podem ser usadas como material de plantio. O transporte de mudas infectadas também é perigoso pela dificuldade de se fazer um diagnóstico face ao longo período de incubação do patógeno (LAWRENCE *et al.* 1991).

As formas de controle da vassoura-de-bruxa mais utilizadas atualmente são a poda fitossanitária, que consiste na remoção dos tecidos infectados, a aplicação de fungicidas químicos, e o uso de variedades resistentes (PURDY &

SCHMIDT 1996). A poda fitossanitária é o método de controle mais utilizado para a remoção da vassoura-de-bruxa. Todavia, a eficiência e custo desta prática dependem de vários fatores, como a severidade da doença, o nível de infecção da lavoura, a altura das plantas e a situação epidêmica de cada local (ANDEBRHAN *et al.* 1998). Pelo fato do patógeno atacar somente os tecidos meristemáticos em atividade, torna-se anti-econômico o seu controle através de fungicidas protetores à base de cobre, devido ao crescimento rápido desses tecidos e à necessidade de aplicações contínuas (BASTOS 1989a). Outro método que tem sido avaliado é o uso do fungo antagonista *Trichoderma viride* como controle biológico da doença. Este antagonista demonstra eficiência, reduzindo a incidência de frutos infectados pelo fungo, possivelmente devido à colonização das vassouras, reduzindo a fonte de inóculo, e causando a perda de viabilidade do patógeno (BASTOS 1996). Este método necessita ainda de estudos para viabilizar sua aplicação no campo, como por exemplo, o cultivo do antagonista em larga escala e os métodos para a aplicação do produto. Sobre as variedades resistentes, Stell e Pound fizeram buscas deste material nas décadas de 30 e 40 no Equador, em Trinidad-Tobago e no Vale Amazônico Peruano (ANDEBRHAN *et al.* 1998; PINTO & PIRES 1998). Foram selecionadas duas plantas de uma mesma família por apresentarem-se completamente livres de infecção. Esta família foi designada SCA ou “Scavina”, e as duas plantas, SCA6 e SCA12. Posteriormente, estes clones mostraram-se suscetíveis no Equador e em algumas partes do Brasil, fato atribuído às variações genéticas nas populações do patógeno nesses países (ANDEBRHAN *et al.* 1998). Apesar dessa variabilidade genética do fungo, o uso de variedades resistentes ainda é o método mais eficiente de controle da doença até o momento.

2.2 Bioquímica da doença vassoura-de-bruxa do cacauero

Para uma maior compreensão dos fenômenos que ocorrem durante o desenvolvimento das doenças vegetais, fazem-se necessários estudos sobre a fisiologia e a bioquímica da interação entre a planta hospedeira e o microrganismo patogênico. Dessa maneira, o conhecimento sobre as respostas bioquímicas e fisiológicas do cacauero à infecção pelo fungo *C. pernicioso* pode servir de instrumento para a busca de cultivares resistentes à doença vassoura-de-bruxa ou

para a obtenção de marcadores para a manipulação genética do cacaueteiro, visando resistência à doença.

Sobre a doença vassoura-de-bruxa do cacaueteiro, um ponto importante a ser enfatizado é que a densidade do fungo dentro da planta é muito baixa. PENMAN *et al.* (2000) realizaram a quantificação da biomassa fúngica dentro da planta, através da medição dos níveis de quitina, encontrando 81 e 161 μg de biomassa fúngica por mg de peso seco na vassoura verde e na vassoura seca, respectivamente. Observaram ainda, que a maioria da biomassa fúngica está concentrada na base da vassoura verde (215 μg por mg de peso seco), declinando em direção ao topo (10 μg por mg de peso seco). Esses dados apontam para a possibilidade das alterações que ocorrem na planta serem resultado das respostas da planta à infecção ou ao lançamento de efetores pelo fungo.

Em estudos histológicos de gemas apicais das progênies Catongo (suscetível) e SCA12 (resistente) infectadas por *C. pernicioso*, não foram observadas hifas do patógeno após 72 horas da inoculação. Observou-se, porém, neste período, hipertrofia e hiperplasia nos tecidos do córtex e ausência de amido. A colonização dos tecidos foi visualizada somente após 30 dias da inoculação, com número reduzido de hifas intercelulares. Este período coincide com as primeiras reações visíveis do hospedeiro, em forma de clorose e entumescimento a partir do ponto inoculado. Hifas intracelulares saprofiticas foram observadas somente após 80 dias da inoculação (SILVA & MATSUOKA 1999). ALMEIDA *et al.* (1998) também observaram hipertrofia nas células do xilema e ausência de amido nas células do parênquima associadas à medula e aos feixes vasculares. Estes últimos autores sugerem que as variações na concentração de amido nos genótipos estudados podem estar associadas aos seus graus de tolerância à vassoura-de-bruxa.

SILVA & MATSUOKA (1999) não observaram a formação de órgão de absorção tipo haustório, presente na maioria dos fungos patogênicos biotróficos. Nesse caso, a hifa intercelular teria a capacidade aparente de acumular nutrientes do hospedeiro. Análises do fluído apoplástico do cacaueteiro evidenciaram um maior

teor de proteínas em tecidos infectados por *C. pernicioso* quando comparados aos tecidos saudáveis (MACHADO, 1991).

CONCEIÇÃO *et al.* (1997) sugerem que para facilitar seu crescimento no apoplasto, o fungo muda o balanço hormonal nas folhas, afetando o acúmulo dos constituintes da parede celular. Sabe-se que níveis aumentados de auxina podem induzir um aumento na elasticidade da parede celular devido às alterações químicas na sua composição. A composição da parede celular vegetal também pode ser alterada por uma variedade de enzimas que degradam seus componentes, tais como celulases, xilanasas, pectinases e proteases, produzidas pela maioria dos fitopatógenos (NORMAN-SETTERBLAD *et al.* 2000).

O fato de *C. pernicioso* somente atacar tecidos meristemáticos pode ser devido à presença de barreiras físicas e de um grande número de compostos secundários nos tecidos maduros, os quais provavelmente possuem um papel na defesa da planta. Destes compostos destacam-se os alcalóides, em especial a cafeína (ANEJA & GIANFAGNA 2001), os compostos fenólicos e os aminoácidos livres (NDOUMOU *et al.* 1996).

A cafeína tem efeito inseticida, larvicida, além de inibidor o crescimento de bolores, leveduras e bactérias, podendo de fato ser um componente das estratégias de defesas químicas das plantas (ANEJA & GIANFAGNA 2001).

Compostos fenólicos, carboidratos e aminoácidos têm recebido atenção considerável em relação à resistência de plantas a doenças. De fato, as vias metabólicas dessas substâncias são interconectadas, já que as vias de síntese de compostos fenólicos e aminoácidos usam produtos do metabolismo de carboidratos como seus precursores (NDOUMOU *et al.* 1996).

Em plantas infectadas, os fenólicos servem de substratos para a síntese de compostos envolvidos na resistência a doenças, como fitoalexinas e ésteres de ácidos hidroxicinâmicos (DIXON & LAMB 1990), e para a produção de polímeros de fenilpropanóides bioresistentes (ligninas e suberinas), no sítio de infecção ou próximo dele (NDOUMOU *et al.* 1996). As propriedades anti-microbianas dos compostos fenólicos, e especialmente do grupo dos flavonóides, são bem conhecidas (SMITH & BANKS 1986; HAHNBROCK & SCHEEL 1989). MEINFREIN & TANGUY (1967) relataram que clones de cacau altamente suscetíveis a

doenças continham menos fenólicos quando comparados aos que apresentavam algum grau de resistência.

Os resultados relatando o metabolismo de sacarídeos durante a infecção de plantas são contraditórios (NDOUMOU *et al.* 1996). HWANG (1983) e PATIL *et al.* (1985) mostraram que os açúcares dos tecidos hospedeiros geralmente aumentam com a severidade da doença, servindo como fonte de carbono facilmente metabolizável para o patógeno. Outros trabalhos concluíram que os açúcares reduzem o desenvolvimento dos fungos (LUKENS 1970) ou possuem pouco ou nenhum efeito (GIBBS & WILCOXSON 1972).

Os níveis de aminoácidos livres também tem sido relacionados à resistência ou suscetibilidade das plantas aos patógenos (VAN ANDEL 1996). Durante essa interação, os aminoácidos podem servir como substrato, sendo fontes de nutrientes para o patógeno (TITARENKO *et al.* 1993), ou podem ter um efeito fungistático através do seu envolvimento nas reações associadas com resistência à doença, tais como síntese de proteínas específicas relacionadas à infecção - proteínas PR (*pathogenesis-related*) (NDOUMOU *et al.* 1996).

Os estudos sobre a fisiologia e bioquímica da vassoura-de-bruxa do cacau são poucos. ANEJA & GIANFAGNA (2001) relataram a indução da síntese de cafeína em folhas jovens de cacau infectadas com *C. pernicioso*, bem como em folhas injuriadas, e em folhas tratadas com ácido salicílico (AS) e seu análogo benzotiadiazol (BTH). ORCHARD & HARDWICK (1988) estudaram a fotossíntese, o metabolismo e a translocação de carboidratos em plântulas de cacau infectadas por *C. pernicioso*, e relataram que quanto maior a severidade da doença, menor a capacidade fotossintética das folhas da vassoura. Além disso, o fungo não provocou nenhum movimento preferencial de carboidratos da parte saudável da planta em direção à vassoura.

Outros modelos biológicos semelhantes à vassoura-de-bruxa são relatados na literatura. CONCEIÇÃO *et al.* (1997) analisaram folhas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) sadias e infectadas por *C. pernicioso* e encontraram, de modo geral, maiores teores de açúcares solúveis, amido, clorofila, compostos fenólicos e taninos em folhas sadias. NDOUMOU *et al.* (1996) estudaram a infecção de frutos de cacau por *Phytophthora megakaraya*, oomiceto causador da

podridão do fruto, encontrando variações nos níveis de carboidratos, aminoácidos e fenólicos, em frutos de três clones que apresentam suscetibilidades diferentes à doença. OMOKOLO *et al.* (2002) relataram análises de aminoácidos e carboidratos em nove clones de *T. cacao* com níveis de suscetibilidades diferentes à doença, encontrando uma correlação negativa entre o tamanho da lesão e o nível de carboidratos e de aminoácidos no córtex.

Ainda sobre carboidratos, uma característica marcante nas plantas de cacaueteiro são as grandes quantidades de goma encontradas nos tecidos. FIGUEIRA *et al.* (1994) sugerem que esta goma pode estar relacionada a mecanismos de osmoproteção e de defesa, entre outros.

O estímulo ao desenvolvimento dos sintomas da vassoura-de-bruxa pode ser liberado diretamente pelo fungo ou produzido pelo hospedeiro como resposta à presença desse patógeno. Essas mudanças podem ser atribuídas a um regulador específico do crescimento das plantas (fitohormônio) ou ao balanço entre diferentes reguladores de crescimento.

ORCHARD *et al.* (1994) mediram o teor das principais citocininas encontradas nas plantas, em caules de cacaueteiros saudáveis e cacaueteiros com vassoura-de-bruxa. Foram encontradas quantidades significativamente maiores de zeatina ribosídica nas plantas doentes, nos três diferentes estágios da doença analisados: inicial, intermediário e final (3, 6 e 8 semanas após a inoculação, respectivamente). Mudanças morfológicas foram encontradas na presença de quantidades muito limitadas do fungo. O tamanho das células nos ramos doentes foi maior em todos os tecidos, mas o número de células não foi modificado, exceto para o xilema, onde foram observadas poucas células. Dessa forma, acredita-se que pequenas diferenças nas concentrações de citocininas, ou desbalanços na relação auxinas/citocininas, estejam envolvidos na doença, agindo em sítios muito específicos.

É interessante notar que bactérias e fungos que provocam respostas de crescimento anormal nos hospedeiros, como galhas ou formação de nódulos radiculares, liberam zeatina no filtrado da cultura (ORCHARD *et al.* 1994). KRUPASAGAR & SEQUEIRA (1969) analisando filtrado de cultura da fase secundária de *C. pernicioso*, encontraram enzimas como lacase e peroxidase, as

quais degradam auxinas e podem contribuir para um desbalanço entre os reguladores de crescimento, provavelmente entre auxinas e citocininas.

O micélio da fase biotrófica e parasítica de *C. pernicioso* depende de tecidos vivos do cacaueteiro que sustentem seu crescimento e desenvolvimento, havendo inclusive a suspeita de que alguns carboidratos específicos participem da sua transição para a fase saprofítica (ORCHARD & HARDWICK 1988). EVANS (1980) sugeriu que uma substância, como por exemplo um açúcar redutor, presente em quantidades significativas no tecido vivo, pode atrasar ou prevenir a dicarionização do micélio parasítico, e portanto a formação do micélio saprofítico. O declínio nos níveis desta suposta substância modificadora permitiria a transição para a fase secundária, dicariótica, e finalmente a morte da vassoura. A morte da vassoura também pode ser resultado da produção de toxinas fúngicas ou da aceleração da senescência do hospedeiro.

Existem duas hipóteses para a morte da vassoura: uma é que as células do hospedeiro morrem eventualmente como resultado da infecção, e esta morte celular leva à dicarionização do fungo e à formação da fase saprofítica. A outra hipótese é que a dicarionização ocorre primeiro, resultando na forma saprofítica, e causa a morte dos tecidos e a formação da vassoura seca característica (ORCHARD *et al.* 1994).

Um composto provavelmente ativo nesse processo é o gás etileno, o qual pode ser induzido por estresses externos como ferimentos, invasão por patógenos e inundações. O etileno induzido por estresse, leva a respostas de defesa como a aceleração da senescência, abscisão de órgãos infectados, ou indução de proteínas específicas de defesa (CHANG & MEYEROWITZ 1995).

Em *Arabidopsis thaliana*, o etileno é percebido por uma família de cinco receptores ligados à membrana (ETR1, ETR2, ERS1, ERS2 e EIN4), os quais apresentam similaridade com reguladores de sistemas de dois componentes histidina-quinase de bactérias (BLEECKER 1999; GREFEN 2004; MASON & SCHALLER 2005), sendo que ETR1 e ERS1 contém todos os resíduos conservados requeridos para a atividade histidina-quinase (MASON & SCHALLER 2005). Uma vez ligados ao etileno, estes receptores são inativados, o que também inativa CTR1, o próximo componente *downstream* na via de sinalização. CTR1 é

uma serina/treonina quinase, localizada no retículo endoplasmático e atua como um regulador negativo da sinalização de etileno (CHEN *et al.* 2002; HUANG 2003; MASON & SCHALLER 2005). Como resultado da inativação de CTR1, EIN2, um regulador positivo da via de sinalização, que apresenta similaridade com a família Nramp de transportadores de íons metálicos (ALONSO *et al.*, 1999), é ativado e uma cascata de eventos envolvendo os fatores de transcrição EIN3/EIL e ERF é iniciada, resultando em mudanças sincronizadas na expressão de vários genes (CHEN *et al.* 2005).

O nível de expressão dos componentes da via é regulado por mecanismos transcricionais e pós-transcricionais, sendo que a degradação do fator de transcrição EIN3 é o modo primário de regulação da sensibilidade das plantas ao etileno (CHEN *et al.* 2005).

Adicionalmente, essa forma molecular de sinalização de sistemas de dois componentes de plantas parece atuar intensivamente sobre a maquinaria de integração de sinais e sobre a comunicação cruzada com outras vias de sinalização (GREFEN & HARTER 2004).

2.3 Interação planta-patógeno

A coevolução de vegetais e microrganismos patogênicos resultou em mecanismos de comunicação bidirecional extremamente sensíveis e versáteis. Estes mecanismos determinam o estabelecimento da compatibilidade (susceptibilidade) ou incompatibilidade (resistência) durante a interação (LEITE *et al.* 1997).

As interações incompatíveis são caracterizadas pelo desenvolvimento de uma resposta de hipersensibilidade (HR - *Hypersensitive response*) e pelo não desenvolvimento da doença. Nas interações compatíveis, a HR não ocorre e o patógeno pode desenvolver-se sem restrições, induzindo o desenvolvimento da doença (MEHDY 1994).

A reação de hipersensibilidade (HR) em plantas é definida como a morte de células do hospedeiro, no local ou ao redor do ponto de infecção, após poucas horas do contato com o patógeno (DAYAKAR *et al.* 2003). Em interações com

patógenos biotróficos obrigatórios, a morte celular privaria o patógeno do acesso aos nutrientes (HAMMONDKOSACK & JONES 1996), impedindo seu estabelecimento dentro da planta.

Durante estas interações, os patógenos ativam o foco na colonização do hospedeiro e na utilização de seus recursos, enquanto as plantas são adaptadas a detectar a presença dos patógenos e responder com defesas antimicrobianas (WAN *et al.* 2002). O sucesso da infecção por microrganismos patogênicos requer ligação à superfície do hospedeiro, degradação das barreiras químicas e físicas do hospedeiro, produção de toxinas e inativação das defesas da planta (LAMB *et al.* 1989).

O processo de reconhecimento e transdução de sinais em interações planta-fungos tem início com a ligação de um sinal externo (elicitor) a um possível receptor na superfície da célula vegetal (LEITE *et al.* 1997). A indução das respostas de defesa nas plantas é ativada após a detecção do patógeno, com uma subsequente transmissão de sinais e eventos celulares sincronizados, cujo objetivo é eliminar o patógeno e impedir seu estabelecimento. Esta ativação da sinalização das vias de defesa não é linear; ao contrário, forma redes complexas onde ocorre comunicação cruzada (THATCHER *et al.* 2005).

Entre as respostas de defesa das plantas podemos citar a ativação de fluxos de cálcio e outros íons, a ativação de quinases de proteínas, a produção de compostos de sinalização tais como espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROs e ERNs), ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno, a síntese de peptídeos antimicrobianos, fenólicos, flavonóides, fitoalexinas, e respostas de reforço da parede celular (WAN *et al.* 2002).

A resistência vegetal aos patógenos microbianos é caracterizada por sua natureza dinâmica e coordenada. Trata-se de um sistema multicomponente, onde o nível de resistência resulta da somatória das contribuições individuais de diferentes mecanismos de resistência. Estes mecanismos são geralmente divididos em duas categorias: pré-formados (passivos ou constitutivos) e pós-formados (ativos ou induzíveis). Os fatores pré-formados ou constitutivos englobam os mecanismos de defesa existentes nas plantas antes do contato com o patógeno. Já os pós-formados ou induzíveis estão ausentes ou presentes em

baixos níveis antes da infecção, sendo produzidos ou ativados em resposta à presença do patógeno (PASCHOLATI & LEITE 1995).

Em ambas as categorias, os fatores podem ser subdivididos em estruturais e bioquímicos, dependendo do modo primário de atuação sobre o patógeno (AGRIOS 1997). Os fatores estruturais atuam como barreiras físicas, impedindo a entrada do patógeno e a colonização dos tecidos, enquanto que os bioquímicos ocorrem nas células do hospedeiro, produzindo substâncias tóxicas ao patógeno ou criando condições adversas para o crescimento do mesmo no interior da planta. Entre os fatores constitutivos estruturais pode-se citar: cutícula, estômatos, fibras ou vasos condutores, e entre os bioquímicos: fenóis, alcalóides, lactonas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores protéicos, fitotoxinas, e enzimas hidrolíticas (quitinases e β -1,3-glicanases). Dentre os fatores induzíveis estruturais estão: a formação de papilas, halos, lignificação, camadas de cortiça e tiloses, e dentre os bioquímicos estão: fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese (PRs) e a explosão oxidativa (PASCHOLATI & LEITE 1995; LUCAS 1998). Recentemente os tricomas, classificados até então como fatores estruturais constitutivos, tiveram sua formação induzida pela aplicação de ácido jasmônico em folhas de tomate (BOUGHTON *et al.* 2005), encaixando-se também na classe de fatores estruturais induzíveis.

O termo proteínas PR (*pathogenesis-related*) foi introduzido na década de 70 referindo-se a proteínas que são sintetizadas ou tem seus níveis substancialmente elevados após a planta ter sido infectada por patógenos (KENN *et al.* 2001). Estas proteínas são classificadas em 17 famílias, com base na sua seqüência de aminoácidos e nas funções bioquímicas (MUTHUKRISHNAN *et al.* 2001; VAN LOON *et al.* 2006). A maioria das proteínas PR é induzida pela ação de compostos de sinalização como ácido salicílico, ácido jasmônico ou etileno, e possuem atividade antimicrobiana *in vitro* através de toxicidade de contato, hidrólise nas paredes celulares e envolvimento na sinalização de defesa (VAN LOON *et al.* 2006). De fato, vários genes classicamente definidos como PR codificam proteínas como quitinases, glucanases ou defensinas, as quais possuem atividade anti-microbiana. Atualmente estão sendo incluídos nesse grupo

também compostos potencialmente envolvidos na transdução de sinais, tais como quinases de proteínas e fatores de transcrição (WAN *et al.* 2002).

As interações entre plantas e patógenos, particularmente os parasitas biotróficos, são governadas por interações específicas entre os genes *avr* de avirulência do patógeno e os alelos correspondentes *R* de resistência nas plantas (DANGL & JONES 2001). Segundo FLOR (1971), “para cada gene que condiciona uma reação de resistência no hospedeiro, existe um gene complementar no patógeno que condiciona a virulência”. Quando os genes correspondentes *R* e *avr* estão presentes em ambos hospedeiro e patógeno, o resultado é a resistência à doença. Se um destes está inativo ou ausente, o resultado é a doença (DANGL & JONES 2001).

A teoria “Guard Hypothesis”, amplamente aceita, indica que em interações incompatíveis, as proteínas sintetizadas por genes *avr* interagem com fatores celulares, denominados proteínas-guarda, modificando-os. Essas modificações são então reconhecidas pelas proteínas *R*, que induzem rápidas respostas de defesa. Desse modo, a interação entre proteínas *R* e *avr* seria indireta (DANGL & JONES 2001; MARATHE & DINESH-KUMAR 2003).

Outro ponto importante nas interações planta-patógeno, é o aumento da produção de EROs (espécies reativas de oxigênio) e de ERNs (espécies reativas de nitrogênio), envolvidas em mecanismos de defesa das plantas. Estas moléculas atuam na regulação da expressão gênica, participando do processo de morte celular localizada que ocorre durante a HR (SANDERMANN 2000; HANCOCK *et al.* 2002). Peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ânion superóxido (O_2^-) e óxido nítrico (NO) agem diretamente como agentes anti-microbianos, e também podem atuar como mensageiros secundários para ativar diversas respostas de defesa: *cross-linking* de proteínas, que contribuem para o enrijecimento da parede celular, indução de genes relacionados à defesa, estímulo para a síntese de fitoalexinas e para a HR (LOW & MERIDA 1996; HANCOCK *et al.* 2002).

H_2O_2 e O_2^- podem reagir também com os ácidos graxos insaturados das membranas, alterando sua funcionalidade, formando peróxidos de lipídeos (HALLIWELL & GUTTERIDGE 1990), e tendo como derivado malondialdeído (MDA) (MUCKENSCHNABEL *et al.* 2002). Assim, mudanças na concentração de

MDA podem ser indicadoras da integridade estrutural das membranas de plantas submetidas a diferentes condições de estresse (PURVIS & SHEWFELT 1993).

2.4 Genômica e pós-genômica do fungo *Crinipellis pernicioso*

No Brasil, a importância econômica, social e ecológica do cultivo do cacau, em especial no sul da Bahia, é indiscutível, demandando uma intensificação das pesquisas sobre a interação cacau - *C. pernicioso*. Baseado nesses fatos, foi fundado o Consórcio Brasileiro do Genoma da Vassoura-de-Bruxa, visando o seqüenciamento do genoma do fungo *Crinipellis pernicioso*, agente causal da doença.

O tamanho do genoma haplóide de *C. pernicioso* foi estimado em 30 Mb (RINCONES *et al.* 2003). Existem inúmeras cópias de seqüências similares a transposons, distribuídas em todo o genoma, que devem levar a um aumento constante da variabilidade genética (RINCONES *et al.*, 2006). Este dado representa uma preocupação maior ainda quando consideramos que o cacau é uma planta perene e o patógeno é de multiplicação sexuada, o que favorece o aparecimento de novas raças do patógeno (ANDEBRHAN *et al.* 1998). De fato, a variabilidade genética de *C. pernicioso* tem sido apontada como a principal causa da inconsistência dos resultados obtidos nas avaliações de plantas resistentes à doença (ANDEBRHAN *et al.* 1999).

As informações geradas pelo Projeto Genoma da Vassoura-de-bruxa (www.lge.ibi.unicamp.br/vassoura) estão facilitando as investigações sobre a biologia e o ciclo de vida do fungo e suas implicações no desenvolvimento da doença vassoura-de-bruxa. Um exemplo disso foi a identificação de uma proteína semelhante a um fator de necrose do fungo fitopatogênico *Phytophthora parasitica*, a qual seria responsável pela necrose das partes infectadas da planta. Esta proteína foi clonada, expressa em vetor de expressão em bactérias e teve sua atividade comprovada em folhas de tabaco e cacau (GARCIA *et al.*, em finalização). Outro alvo de pesquisa é uma enzima presente no fungo e de extrema importância para a compreensão do seu metabolismo e fisiologia, a oxidase alternativa (AOX). Esta enzima está presente na membrana interna da mitocôndria e é capaz de transportar elétrons independentemente da cadeia

respiratória principal. A atividade desta enzima deve ser o motivo pelo qual fungicidas a base de inibidores da cadeia respiratória principal não controlam o crescimento do fungo em condições de campo. Além disso, a AOX permite a utilização direta de glicerol, indicado como uma fonte preferencial de carbono da fase biotrófica do fungo (MEINHARDT *et al.* 2006). Outra linha de pesquisa desenvolvida a partir dos dados gerados pelo Projeto Genoma da Vassoura-de-bruxa são as análises de expressão gênica através dos *microarrays* de DNA, os quais serão discutidos detalhadamente ao longo do Capítulo II.

Dentro deste contexto, o presente trabalho foi realizado visando dois principais objetivos: 1) identificar as mudanças bioquímicas que ocorrem no cacaueteiro durante o desenvolvimento da vassoura-de-bruxa; 2) identificar os genes diferencialmente expressos no micélio biotrófico de *C. perniciosus*, por meio da comparação da expressão gênica dos micélios biotrófico e necrotrófico cultivados *in vitro*.

3 CAPÍTULO I

BIOCHEMICAL CHANGES DURING THE DEVELOPMENT OF WITCHES' BROOM: THE MOST IMPORTANT DISEASE OF COCOA IN BRAZIL CAUSED BY *Crinipellis pernicioso*

Scarpari, L.M.; Meinhardt, L.W.; Mazzafera, P.; Pomella, A.W.V.; Schiavinato, M.A.; Cascardo, J.C.M.; Pereira, G.A.G.

Artigo publicado:

Journal of Experimental Botany, v.56, n.413, p.865-877, 2005

3.1 Abstract

Witches' broom disease (WBD) is caused by the hemibiotrophic basidiomycete fungus *Crinipellis pernicioso*, which is one of the most important diseases of cocoa in the Western hemisphere. In this study, the contents of soluble sugars, amino acids, alkaloids, ethylene, phenolics, tannins flavonoids, pigments, malondialdehyde (MDA), glycerol and fatty acids were analyzed in cocoa (*Theobroma cacao*) shoots during the infection and development of WBD. Alterations were observed in the content of soluble sugars (sucrose, glucose and fructose), asparagine and alkaloids (caffeine and theobromine), ethylene and tannins. Ethylene and tannins increased prior to symptom development and declined with the death of the infect tissues. Furthermore, MDA and glycerol concentrations were higher in infected tissue than in the controls, while fatty acid compositions changed in the infected tissues. Chlorophylls a and b were lower throughout the development of the disease while carotenoids and xanthophylls dropped in the infected tissue by the time of symptom development. These results show coordinated biochemical alterations in the infected tissues indicating major stress responses with the production of ethylene. Ethylene levels are hypothesized to play a key role in broom development. Some of the other biochemical alterations are directly associated with ethylene synthesis and may be important for the modification of its effect on the infected tissues.

Key words: asparagine, basidiomycete, biotrophic, ethylene, saprotrophic, oxidative stress, tannins.

3.2 Introduction

Witches' broom disease, caused by the basidiomycete fungus *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, is one of the most important diseases of cocoa (*Theobroma cacao* L.) in Latin America and the Caribbean islands, causing large-scale losses (de Arruda *et al.*, 2003; Griffith *et al.*, 2003). In Brazil, it is found throughout the Amazon basin and in southern Bahia, where it is one of the most destructive diseases of this crop (Santos Filho *et al.*, 1998).

*C. pernicios*a basidiospores have the ability to infect any meristematic tissues of cocoa and are the only known infective propagules for this pathogen (Evans, 1980). The disease shows two distinct stages: a biotrophic and a necrotrophic/saprotrophic phase. In the biotrophic phase the fungus exists as an intercellular monokaryotic mycelium, that causes hypertrophy and hyperplasia of the tissues, loss of apical dominance and proliferation of axillary shoots, which results in the formation of abnormal stems called a green broom. In the second stage, the fungus changes to the saprotrophic phase, with the spread of intracellular dikaryotic mycelium, which causes necrosis and death of infected tissues distal to the original infection site, thus forming the dry broom (Evans, 1980; Lawrence *et al.*, 1991). In the initial stage of broom development, the fungal density inside the plant tissue is very low and only shows a major increase after the death of the broom (Penman *et al.*, 2000). Basidiocarp production and spore formation can occur on any infected necrotic tissue, after alternating wet and dry periods (Almeida *et al.*, 1997; Rocha and Wheeler 1985) thus completing the disease cycle.

The biotrophic phase mycelium depends on the host tissue for nutrients to sustain its growth and development. One marked characteristic of the parasitic lifestyle of plant pathogens is the unidirectional transfer of nutrients from the plant host to pathogen (Wei *et al.*, 2004). Specific carbohydrates are hypothesized to have a key role in the transition from the parasitic to saprophytic stage (Rocha and Wheeler 1985; Orchard and Hardwick, 1988). Evans (1980) suggested that substances, e.g. reducing sugars, present in significant quantities in living tissue may delay or prevent dikaryotization of the saprophytic mycelium.

Only two previous reports have studied the biochemical interaction of *Theobroma cacao* – *Crinipellis pernicios*a. Aneja and Gianfagna (2001) analyzed the induction of caffeine synthesis in young cocoa leaves and reported higher levels in leaves infected with *C. pernicios*a (109±35 mg g⁻¹), which were approximately 7 to 8 times greater than in healthy leaves (14±1 mg g⁻¹). Orchard and Hardwick (1988) studied photosynthesis, carbohydrate translocation and metabolism in cocoa seedlings infected by *C. pernicios*a, and observed that the photosynthetic capacity of infected leaves is dependent on the severity of the

infection and that the fungus did not cause a preferential movement of carbohydrates from healthy parts of the plant to the broom.

Other similar biological models are also found in the literature. Conceição *et al.* (1997) analyzed the content of several substances in cupuaçu leaves (*Theobroma grandiflorum*) from healthy plants and from plants infected by *C. pernicioso*. In general, higher levels of soluble sugars (SS), starch, chlorophyll's, phenolics and tannins were observed in healthy leaves compared to infected leaves. Ndoumou *et al.* (1996) studied cocoa pods infection by *Phytophthora megakaraya*, the causal agent of black pod, and observed in 3 clones with different susceptibilities to the disease variations in the content of carbohydrates, amino acids, and phenolics. Using the same plant-pathogen system, Omokolo *et al.* (2002) analysed amino acids and carbohydrates contents in 9 clones of *T. cacao* with different degrees of susceptibility to the disease and observed a negative relationship between the lesion size and the amino acid and carbohydrate contents in the cortex.

In this study, cocoa seedlings were infected with *C. pernicioso* and the content of several biochemical compounds were followed during the development of the disease. In addition, diseased and healthy branches from adult plants were collected from the field and analysed for their composition of fatty acids, glycerol and malondialdehyde (MDA). The aim of this study was to increase knowledge regarding the physiological changes that occur in the plant during the disease and try to define specific changes that might be related to the transition of the fungus from the biotrophic to the saprotrophic phase. The possible implications and consequences of these biochemical changes on the plant/pathogen interaction are discussed.

3.3 Materials and methods

Plant Material, infection procedure and sample collection

Two hundred and eighty seedlings of cocoa *Theobroma cacao* cv. comum grown in a green house (Almirante Cacau Agrícola, Itajuípe – BA) for 40 d were used in this study. Shoots were cut to stimulate the growth of uniform meristematic buds to obtain homogenous plant material. After 20 d, 140 plants were inoculated

by pipetting 30 μL of a basidiospores suspension of *C. pernicioso* (Frias *et al.*, 1995) (viable spores $1.7 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, strain FA 42 isolated from infected *T. cacao* in the Almirante Cacao Agrícola (Rincones *et al.*, 2003). Infected buds and shoots from 20 plants (one from each plant) were collected at 3, 7, 14, 21, 35, 61 and 132 d after inoculation (DAI). As controls, similar groups of uninfected plant tissues (buds and shoots) were collected over the same periods. Except for ethylene analysis, the sampled materials were frozen in liquid nitrogen at the time of collection and freeze-dried for later processing.

For the evaluation of ethylene emission, individual buds and shoots from approximately 15 plants/treatment (in most case, the remaining bud from the same plants mentioned above) were collected, incubated for 48h in a sealed flask and the ethylene concentration of this atmosphere was determined by gas chromatography (Hardy *et al.*, 1968). The results were expressed as nmol per fresh weight (FW)/dry weight (DW) ratio - nmol/(DW/FW) due to the high concentration of water present in the green broom (Orchard *et al.*, 1994).

In addition, samples were collected from adult plants growing in field. For these samples, sections of diseased and healthy branches were collected. For each infected branch, GB for Green Broom and DB for Dry Broom; see Fig. 1C, two 8 cm sections were collected: one anterior to the infection node (apparently healthy), labeled "1", and one distal to the infection node representing the diseased tissue, labeled "2". For example, GB1 means the anterior and apparently healthy section of a green broom branch and GB2 the diseased section. Corresponding sections were collected from healthy branches and were defined as Green Stems (GS) and Dry Stems (DS). This field material was also freeze-dried for further analysis.

Extractions and analyses

The plant material for subsequent extraction was prepared as follows: each sample represented a mixture of the tissue from 3-4 plants at the same stage and for each analysis averages were produced after three independent determinations, made using three different samples (replicates). Approximately 100 mg from each sample were ground and extracted 3 times in 2 mL 70% ethanol at

60°C for 30 min. The 2 ml fractions were combined to form the Soluble Fraction (SF) used for analysis of soluble sugars, amino acids, nitrate, secondary metabolites (theobromine, caffeine, phenolics, flavonoids and tannins) and photosynthetic pigments (chlorophylls a and b, carotenoids and xanthophylls) (Fry, 1988). The remaining material from the ethanolic extraction was ground and used to extract: starch (twice in 5 mL DMSO 90% for 14 h at room temperature [RT]), pectic fraction (2.5 mL 1 M oxalacetic acid for approximately 16 h at RT), and hemicellulose (twice in 10 mL 6 M NaOH 0.1% NaBH₄, for 16 h at RT) (Fry, 1988). The soluble sugars (SS), starch and hemicellulose were determined by the anthrone method (Yemm and Willis, 1954). The pectic fraction was quantified by a modified sulfamate/*m*-hydroxyphenyl assay (Filisetticozzi and Carpita, 1991).

In the SF, soluble sugars were also analysed by anion-exchange HPLC with pulsed amperometric detection (Johnson *et al.*, 1993). The amounts of chlorophyll *a* and *b*, and the sum of carotenoids and xanthophylls were obtained using spectrophotometric analysis (Lichtenthaler and Wellburn, 1983). Amino acids were quantified by the ninhydrin method (Cocking and Yemm, 1954). The individual distribution of amino acids was determined by reversed phase liquid chromatography, using the OPA-borate method (Jarret *et al.*, 1986). The proline content was determined by reacting with ninhydrin in an acid medium (Ringel *et al.*, 2003). Nitrate content was quantified using salicylic acid (Cataldo *et al.*, 1975). Phenolics were determined with the folin ciocalteau reagent (Swain and Hillis, 1959), the flavonoids using aluminum chloride (Grayer, 1989) and the tannins content was determined with ferric ammonium sulfate (Porter, 1989).

The alkaloids, theobromine and caffeine, were extracted from approximately 15 mg of freeze-dried tissue of each sample (21, 35 and 61 DAI and the corresponding uninfected controls) in 80% methanol at 50°C for 30 min followed by separation and determination by HPLC (Mazzafera *et al.*, 1991).

Samples from field material were prepared by mixing 4 sections of the same type of tissue (for example, 4 sections of GB1 from different brooms), and 4 g of each sample were used for fatty acids extraction with hexane (8 h in a Soxhlet apparatus). Fatty acid composition was analysed by capillary GC (Agilent 6850) with a DB-23 column (AOCS Official Method Ce2-66), after the formation of

methylic esters (Metcalf *et al.*, 1966). Determination of lipid peroxidation was estimated from the MDA levels and assayed by spectrophotometry (Heath and Packer, 1968). Glycerol concentrations were determined by HPLC with a NH₂ column using methodology adapted from Gerber *et al.* (1988). Extracts obtained after grinding in ice-cold 0.1% (v/v) phosphoric acid and boiling in water for 10 min were purified through a 4 ml Dowex column (1/1 w/w dowex 50 and dowex 1). Results were analysed statistically by analysis of variance and differences between means by Tukey test (5%, 1% and 0.1%) using VarPC software.

3.4 Results

Symptoms

In order to obtain the different phases of the WBD, seedlings were inoculated with *C. perniciosus* spores as described above and visually inspected for 132 d (Fig. 1B). Strong similarity was observed in the plant phenotypes after inoculation. In the first collections (3 - 14 DAI), no symptoms were observed on any plant. However, these stages were very important due to the establishment of the fungus in the plant tissues (biotrophic phase, Fig. 1A). Green broom symptoms begin to form after 21 DAI, with 50% of the plants showing stem swelling and morphological alterations of the apex, with deformed, curved, light green color leaves. After 35 DAI, 100% of the plants showed the symptoms described above. At around 50 d, necrotic spots could be seen at the border of the upper leaves, which are some of the first external signs of broom senescence. The base of the brooms started drying after 61 DAI and after 132 DAI 100% of the brooms were dead and dried.

Ethylene emission

Ethylene levels are known to increase in stress-induced plant tissues. In order to determine whether ethylene varies during WBD, ethylene emission was quantified in control and inoculated plants (Fig. 2). Ethylene emissions were similar until 14 DAI, when the levels in the inoculated material increased significantly to

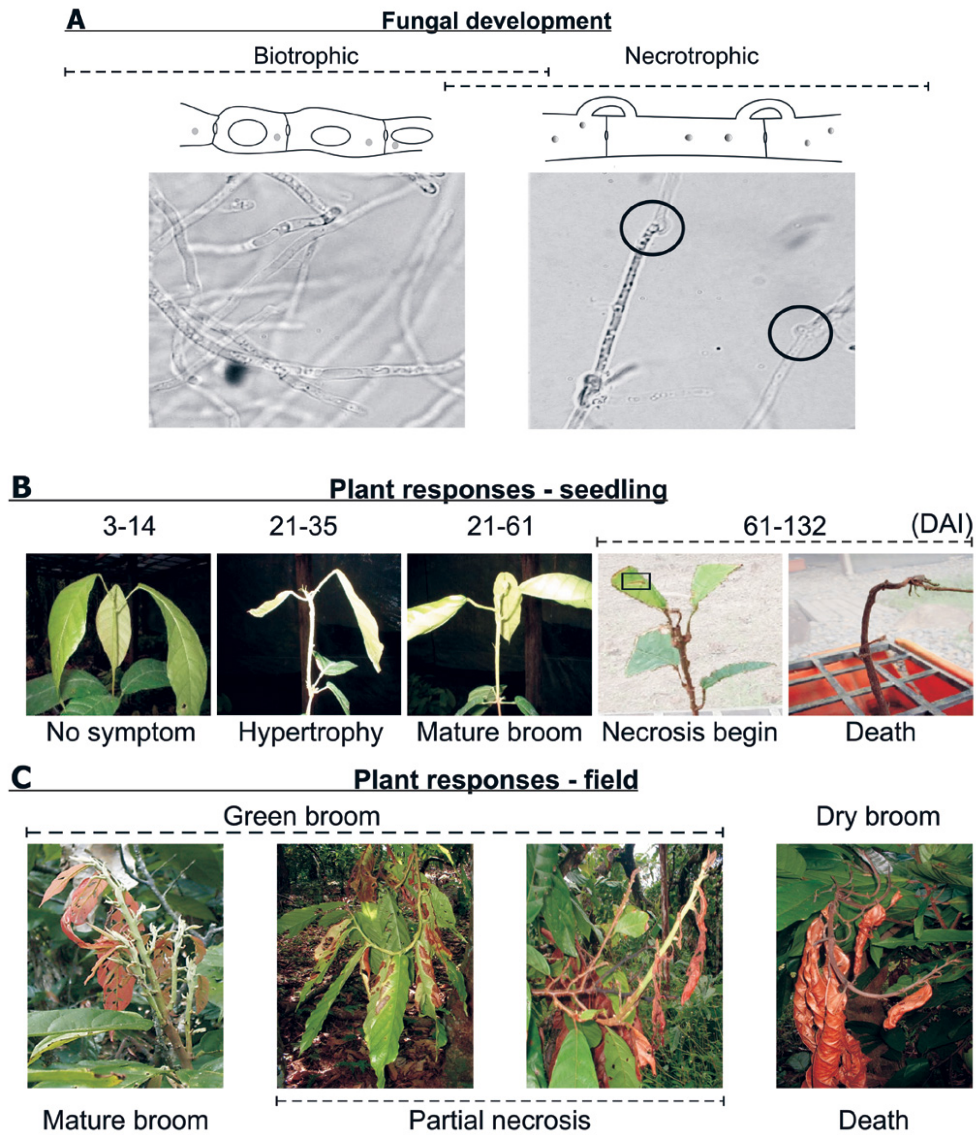


Fig. 1. (A) Biotrophic and necrotic phase of *C. perniciosus*. (B) WBD time line and symptoms showed by infected cocoa plants inoculated with *C. perniciosus* at different time periods (days after inoculation, DAI). (C) Classical symptoms of green and dry broom in the field.

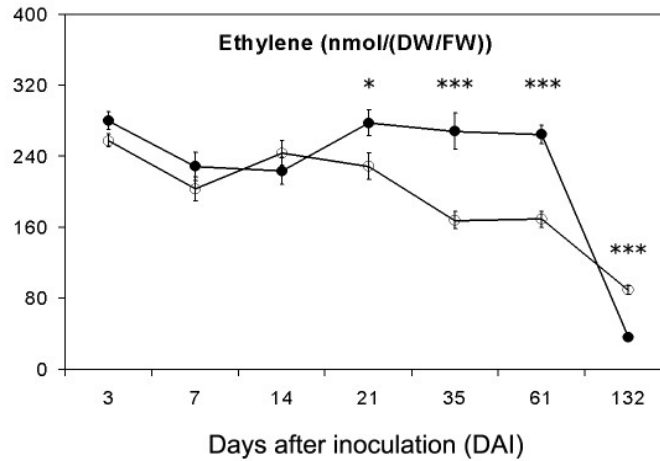


Fig. 2. Ethylene emission (nmol/(DW/FW)) in cocoa shoots from control tissue (open circles) and tissue inoculated with *C. perniciosa* (closed circles) at different time periods (days after inoculation, DAI). Mean of 3 repetitions \pm standard error (* $P < 0.05$ and *** $P < 0.001$).

around 260 nmol/(DW/FW) at 21 DAI and maintained these levels to 61 DAI ($P \leq 0.05$). Between 61 and 132 DAI the ethylene levels dropped significantly in the inoculated material ($P < 0.001$) presumably due to tissue death.

Determination of carbohydrate during the disease

One frequently observed resistance phenomenon in plants is the so-called “high sugar resistance” phenotype which is characterized by an enhanced defence against pathogens mediated through elevated levels of soluble carbohydrates and corresponding alterations in primary metabolism (Horsfall and Dimond, 1957). To investigate possible changes in host carbohydrates (uptake, utilization and synthesis) during the disease process, soluble and cell wall carbohydrates levels were measured in the infected and control seedlings.

The sugar distribution patterns (SS, starch, pectin and hemicellulose) were similar for control and inoculated samples, throughout the process (Fig. 3A, B, C, D, respectively). SS contents in inoculated tissues were only significantly higher at 14 DAI (Fig. 3A). The starch levels were higher in the inoculated samples with significant differences at 14 and 21 DAI (Fig. 3B). No differences were observed for hemicellulose and pectin (Fig. 3C, D). The SS fraction was analysed for sucrose, glucose and fructose (Fig. 3E, F, G, respectively). Differences in sugar contents between infected and control plants are concentrated at 21 and 35 DAI. Sucrose amounts were much higher than other sugars in both materials at any collected periods with significantly higher amounts in the control at 21 DAI, and in the inoculated material at 35 DAI (Fig. 3E). Significant differences in glucose levels were observed from 21 - 61 DAI (Fig. 3F). Interestingly, the observed changes in the glucose and sucrose contents had similar variation patterns while fructose was different at 7 and 35 DAI (Fig. 3G).

Pigment contents

A color change in the leaves accompanied the infection. The leaves were a lighter-green color when compared with healthy plants (Fig. 1B, C). To confirm whether this effect is due to photosynthetic pigment alterations, the chlorophylls *a* (Fig. 4A) and *b* (Fig. 4B), carotenoids and xanthophylls (Fig. 4C) contents were evaluated. The concentrations of all pigments were reduced in infected tissues.

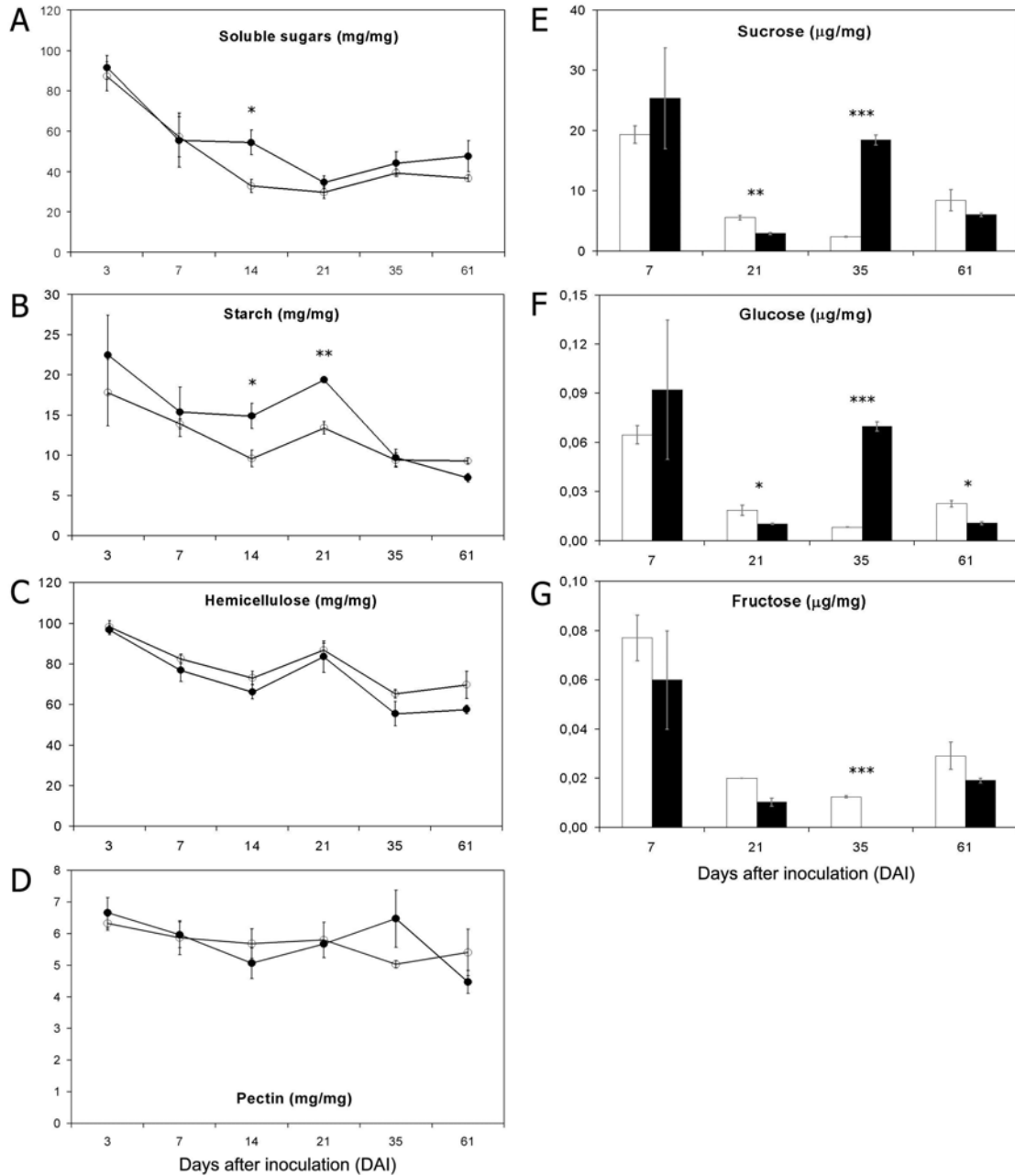


Fig. 3. Levels of total soluble sugars (A), starch (B), hemicellulose (C), pectin (D), sucrose (E), glucose (F), and fructose (G) ($\mu\text{g mg}^{-1}$ dry tissue) in cocoa shoots from control tissue (open circles) and tissue inoculated with *C. perniciosa* (closed circles) at different time periods (days after inoculation, DAI). Means of 3 repetitions \pm standard error (* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001).

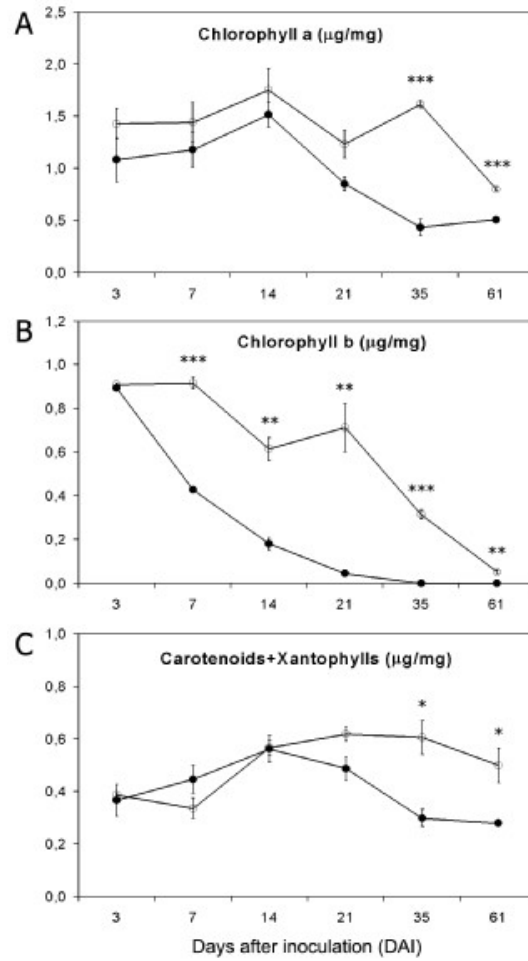


Fig. 4. Levels of chlorophylls *a* (A), *b* (B) and carotenoids + xanthophylls (C) ($\mu\text{g mg}^{-1}$ dry tissue) in cocoa shoots from control tissue (open circles) and tissue inoculated with *C. perniciosus* (closed circles) at different time periods (days after inoculation, DAI) Mean of 3 repetitions \pm standard error (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$).

The chlorophylls *a* and *b* levels were lower in the inoculated material at all collected points, with significant differences at 35 DAI and 61 DAI for chlorophyll *a*, and from 7 - 61 DAI for chlorophyll *b*. The carotenoids and xanthophylls showed similar levels in both control and inoculated materials until 14 DAI, when levels in the inoculated material began to drop and showed significant differences at 35 and 61 DAI ($P < 0.05$).

Phenolics contents

Phenolics are substances that are involved in plant-pathogen interactions. Therefore, the contents of total soluble phenolics, flavonoids and tannins were determined in the soluble fraction. The total soluble phenolic content decreased with seedling growth and except for 14 DAI, at which a peak was observed in the infected tissues, they were similar in both treatments (Fig. 5A). Flavonoids in both treatments were similar up to 14 DAI but were significantly lower in infected tissues at 21 DAI and 61 DAI (Fig. 5B). Condensed tannins were significantly higher in the inoculated material, at 3, 14, 21 and 35 DAI (Fig. 5C), but were lower than the controls at 61DAI, when necrosis begins.

Alkaloid determination

Alkaloids have been described as components of plant defense responses and the two main alkaloids found in cocoa are caffeine and theobromine. These compounds were determined in material from only three collections because of a lack of plant material (Fig. 6A, B). For both alkaloids, the infected tissues showed a very high content at 21 DAI, approximately 10 times higher than in healthy plants. Although the alkaloids levels were always higher in infected treatment, a marked decrease was observed in both treatments from 21 - 35DAI.

Amino acid and nitrate contents

Amino acids are important nutrients that are transferred from the plant to the fungus and, like nitrates, can function as nitrogen sources for the fungus. Analysis of the total amino acid content showed higher levels in the inoculated material at all collected periods, except at 7 DAI, with significant differences at 21, 35 and 61 DAI (Fig. 7A). When amino acids were individually analysed, the proline contents were very low in both materials and did not show any significant

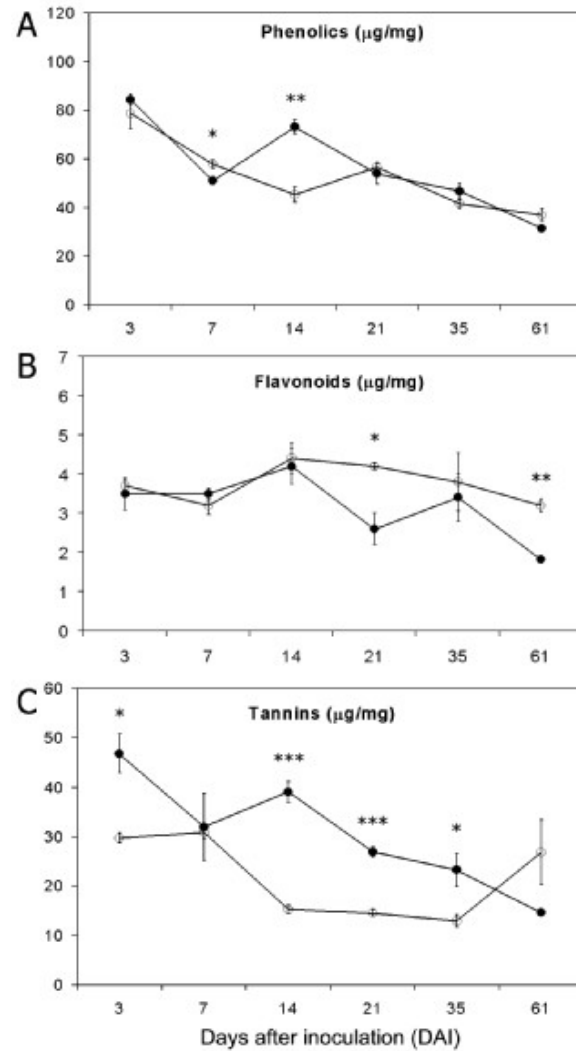


Fig. 5. Levels of phenolics (A), flavonoids (B) and tannins (C) ($\mu\text{g mg}^{-1}$ dry tissue) in cocoa shoots from control tissue (open circles) and tissue inoculated with *C. perniciosa* (closed circles) at different time periods (days after inoculation, DAI). Mean of 3 repetitions \pm standard error (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$).

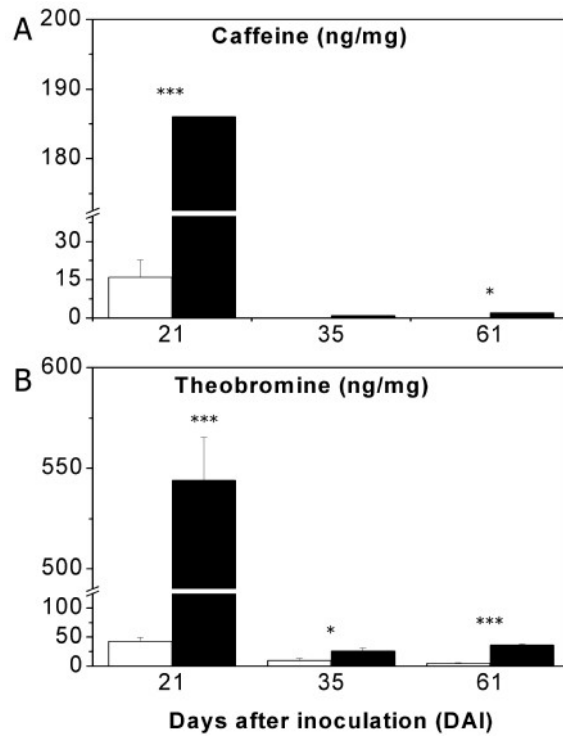


Fig. 6. Levels of caffeine (A) and theobromine (B) (ng mg^{-1} dry tissue) in cocoa shoots from control tissue (open circles) and tissue inoculated with *C. pernicioso* (closed circles) at different time periods (days after inoculation, DAI). Mean of 3 repetitions \pm standard error (* $P < 0.05$ and *** $P < 0.001$).

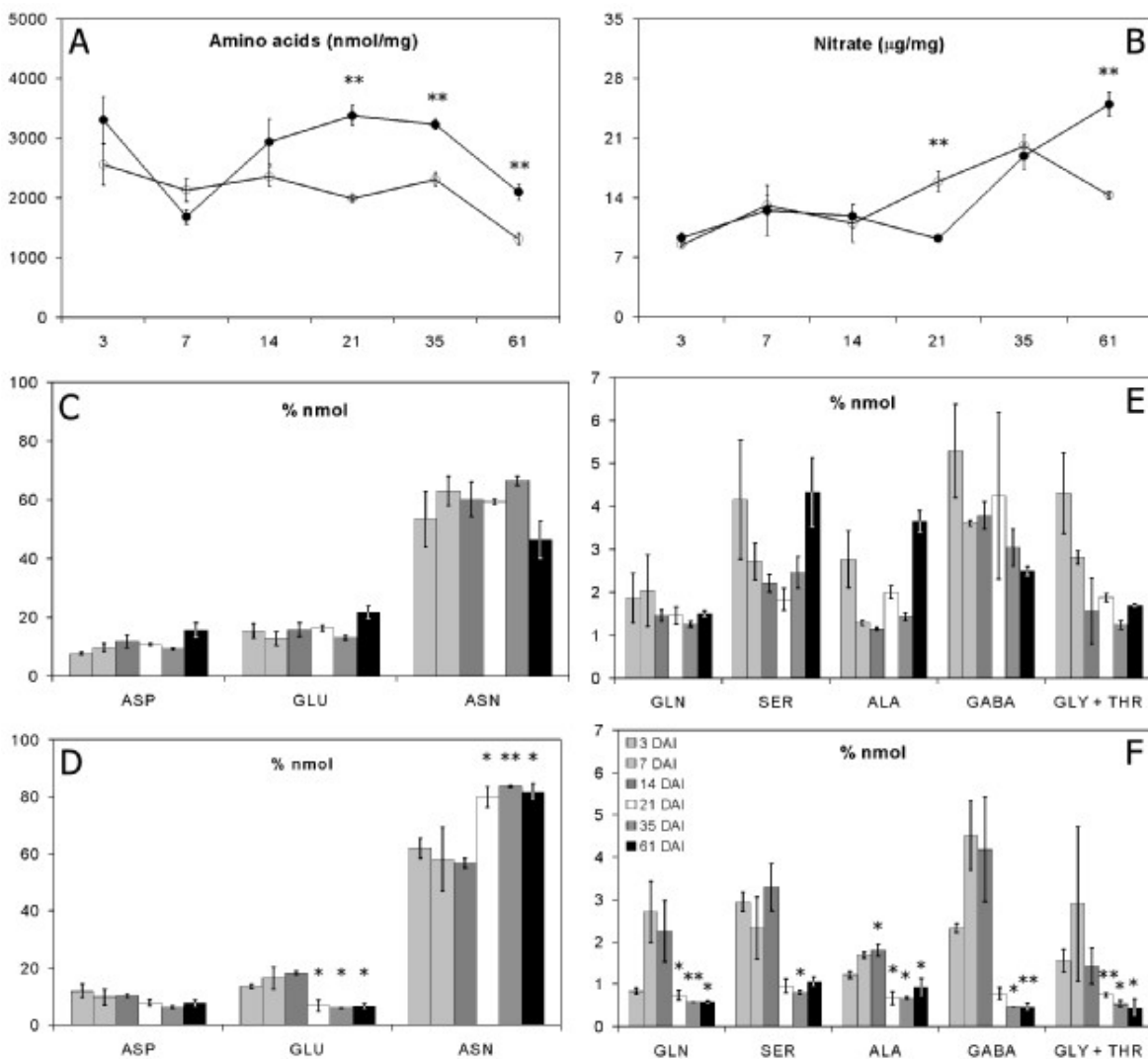


Fig. 7. Levels of total amino acids (A) (nmol mg^{-1} dry tissue) and nitrate (B) ($\mu\text{g mg}^{-1}$ dry tissue), in cocoa shoots from control tissue (open circles) and tissue inoculated with *C. pernicioso* (closed circles) at different time periods (days after inoculation, DAI). Mean of 3 repetitions \pm standard error. Specific amino acid levels for ASP, GLU and ASN (% nmol) in control cocoa tissue (C) and in cocoa tissue inoculated with *C. pernicioso* (D). Levels of GLN, SER, ALA, GABA, GLY+THR (%nmol) in control cocoa tissue (E) and in cocoa tissue inoculated with *C. pernicioso* (F) at different time periods (days after inoculation, DAI) (* $P < 0.05$ ** and $P < 0.01$).

difference throughout the experiment (data not shown) and amino acids that showed very low amounts are not presented. Remarkably, a clear change was observed in the patterns of amino acids in the infected tissues from 21 DAI. Among the most abundant amino acids observed, aspartic acid (ASP), glutamic acid (GLU) and asparagines (ASN), significantly higher levels of ASN and lower levels of GLU were observed in the inoculated samples (Fig. 7C, D). For glutamine (GLN), serine (SER), alanine (ALN), GABA and glycine + threonine (GLY+THR), the levels were clearly reduced in infected plants (Fig. 7E, F). The nitrate contents in both treatments present the same pattern until 14 DAI. At 21 DAI the infected tissue was significantly lower than the control but showed a linear increase in nitrate accumulation, thereafter, with no corresponding tendency in the control (Fig. 7B).

Fatty acids, glycerol and lipid peroxidation in field material

Plant fatty acid contents and composition can vary during plant-pathogen interactions by reacting with reactive oxygen species (ROS) or can be utilized for growth by the pathogen. The fatty acid composition showed that palmitic (C16:0), stearic (C18:0), oleic (C18:1:cis-9) and linoleic (C18:2) acids were the most abundant in the analyzed materials (Fig. 8A). The main differences were observed for palmitic and oleic acids (cis-9) in the comparison between the green broom (GB2) and the healthy stem (GS), suggesting modifications in the lipid metabolism during the disease. These alterations seem to be transitory, since the fatty acid pattern of the dry broom (DB2) is similar to that from a dried healthy stem (DS) (Fig. 8A). The contents of glycerol were significantly different in field materials (Fig. 8B). The highest content was observed in GB2, followed by GB1, DB1 and GS with DS and DB2 having significantly lower levels. Lipid peroxidation was determined as the amount of malondialdehyde (MDA). Curiously, MDA contents followed the same pattern observed for glycerol (Fig. 8C). Higher levels were detected in GB2 samples and lower levels in GB1 and DB1, and in the healthy materials (GS and DS).

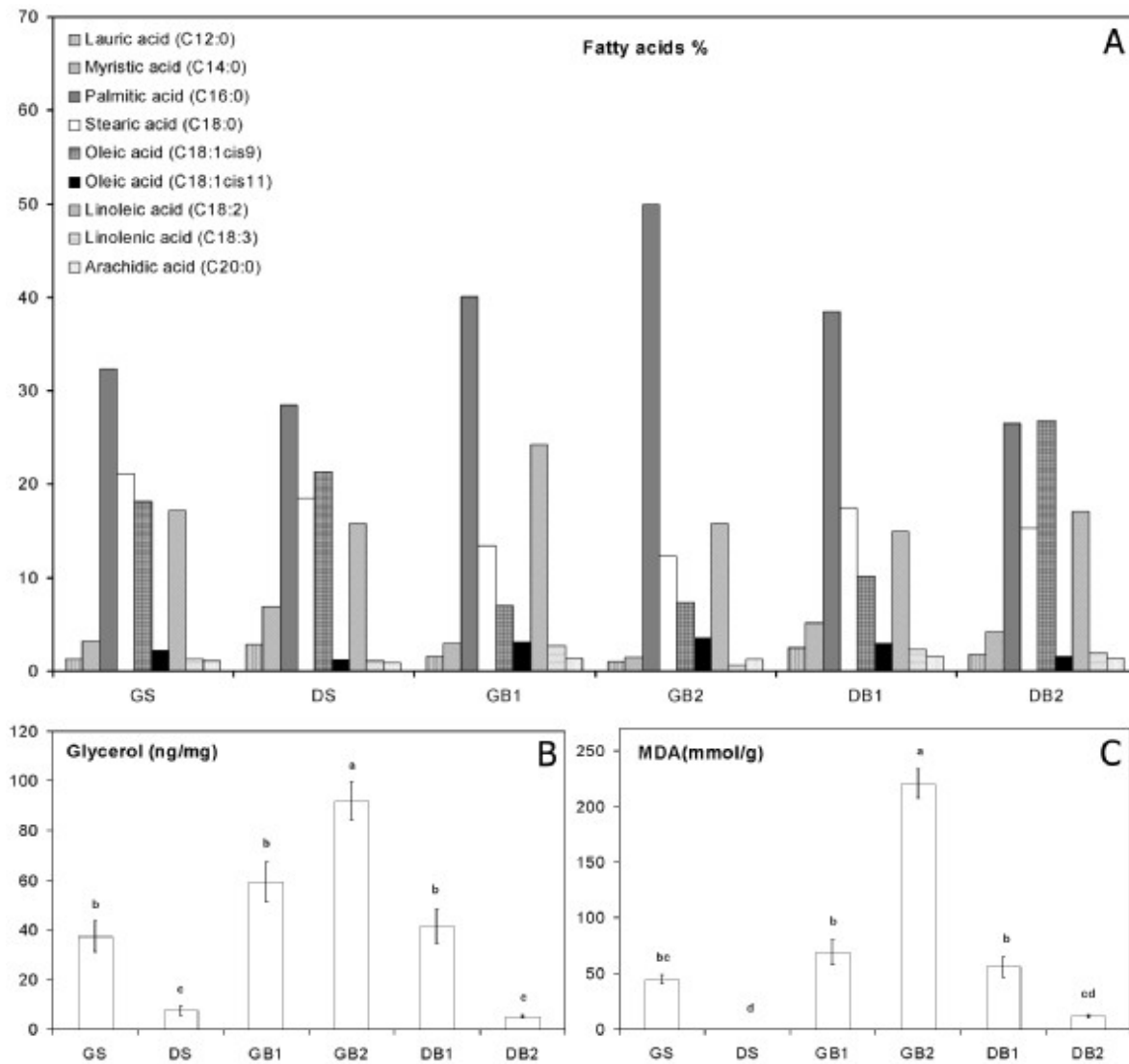


Fig. 8. Fatty acid composition (%) (A)*, glycerol (ng mg^{-1} dry tissue) (B), and MDA levels (mmol mg^{-1} dry tissue) (C) of the cocoa field materials: green stem (GS), dry stem (DS), anterior section to the infection node of green broom (GB1), green broom (GB2), anterior section to the infection node of dry broom (DB1), dry broom (DB2). Different letters indicated statistically significant differences. *Data from two independent experiments with consistent results.

3.5 Discussion

A typical analysis of plants infected by fungi has revealed changes in enzyme activities of both the plant and fungus and in metabolite concentrations within the infected host tissues. However, due to the intricate nature of fungal/host interactions, it is an exceedingly difficult task to delineate the individual change caused by the host or pathogen. Witches' broom disease, caused by the infection of cocoa tissues by *C. pernicioso*, is followed by very distinctive symptoms in the plant, which parallel the different phases of the fungus (Evans, 1980; Lawrence *et al.*, 1991). It is assumed that in the green broom the *C. pernicioso* cells are monokaryotic and live in the apoplast of the intercellular space (Purdy and Schmidt, 1996). In the necrotrophic/saprotrophic phase, triggered by unknown factors, the fungus changes to the dikaryotic state and through, yet again, unknown processes initiate necrosis and death of the infected tissue (Calle *et al.*, 1982). In this study, we attempted to systematically analyze changes in a number of key plant biochemical parameters for *Theobroma cacao* infected with the hemibiotrophic fungus *Crinipellis pernicioso* during the various stages of the disease process and correlate those changes with disease symptoms and possibly with changes in the biology of the fungus.

Initially the progression of the disease was accompanied in seedlings under controlled conditions, confirming the general cycle reported in the literature (Purdy and Schmidt, 1996). After inoculation and up to 14 DAI there were no symptoms on any of the plants suggesting a period of fungal establishment. Green broom symptoms were initially observed as stem swelling and morphological alterations of the shoots, such as lost of apical dominance and deformed, light-green colored leaves that were curled. These symptoms were evident in 50% of the plants at 21 DAI and in 100% at 35 DAI. Drying of the brooms began at around 61 DAI and continued to the last sampling at 132 DAI.

Based on these data, a disease development scheme or time line can be proposed. DAI 1 - 14 represents spore germination, initial infection and the establishment period. DAI 14 - 21/35 represents the period where the fungus induces or mediates metabolic changes that result in the development of the

classic symptoms of WBD (green broom). Sometime between DAI 35 and 61 the biotrophic phase of the fungus changes to the saprotrophic phase resulting in the death of the tissues, which apparently begin in the leaves, distance from the point of infection (Fig.1B, C).

It is important to mention that characteristically green broom tissues are typically longer and wider than healthy tissues, which has the appearance of a collar at the initial site of infection (Orchard *et al.*, 1994). Anatomical analyses of the broom tissue by these authors revealed that all cell types and overall internal organization of the tissues were unchanged with an increase in the average cell size. However, the vascular tissues were less defined with less defined xylem vessels and a reduction in the ratio of phloem fibers and sieve tubes to phloem parenchyma cells. Furthermore, they also found lower DW/FW ratios for the infected tissues. Most importantly, fungal mycelia were only rarely found in the infected tissues throughout most of the development period and only became apparent in the final stages of the broom (Orchard *et al.*, 1994). It could be hypothesized that the progression of the broom symptoms in the entire branch reflects a concerted physiological response of the plant to fungal infection, which eventually leads to the elimination of the affected organ.

Initially, the infected branches show several signs of general biochemical defense mechanisms, like increased levels of alkaloids and phenolics. In the infected material at 21 DAI, theobromine and caffeine levels were much higher than in the control, which may suggest a critical stage in the plant defense system. Aneja and Gianfagna (2001) found significantly higher amounts of caffeine in cocoa stems infected by *C. perniciosus* ($109 \pm 35 \text{ mg g}^{-1}$), approximately 7 - 8 times greater than in healthy stems ($14 \pm 1 \text{ mg g}^{-1}$). In other species, like in tea (*Camellia sinensis*), there is a correlation between the levels of caffeine and resistance to disease in the different cultivars (Kumar *et al.*, 1995). For witches' broom, however, there is no clear correlation between cocoa resistance to *C. perniciosus* and caffeine levels (data not shown). Indeed, although the caffeine and theobromine levels have been sharply increased upon infection, indicating an induction of plant defense mechanisms, these levels seem not to be sufficient to contain the fungal

progression. This is consistent with the fact that these compounds *in vitro* only poorly inhibit the mycelium growth (Aneja and Gianfagna, 2001).

Phenolics, predominantly the tannins showed an increased concentration during infection. These compounds have been documented to have antimicrobial properties (Ndoumou *et al.*, 1996). Furthermore, procyanidins (condensed tannins) can inhibit basidiospore germination and can cause altered germ-tube morphology of the biotrophic phase of *C. pernicioso*, however, the saprophytic phase is not affected by these compounds (Brownlee *et al.*, 1990). The significant increase in tannin concentrations observed at 3 DAI could, therefore, be a response to the basidiospore inoculation. The levels increased again after 14 DAI, remaining significantly higher than the controls until sometime after 35 DAI, which appears to correlates with the symptom development (levels rose just prior to symptoms) and with the death of the green broom (tannins levels dropped prior to necrosis). Since there is a change from biotrophic to saprotrophic phase of the fungus during the progression of the disease, this high concentration of tannins could possibly be a constraint for the growth of the monokaryotic fungal cells; i.e. it could serve as a selection factor favoring the proliferation of the necrotrophic micelium. Unlike tannin levels, phenolics and flavonoids could not be correlated with symptom development. Phenolics were only higher at 14 DAI in infected tissue, but were near control levels for the other samplings while flavonoids paralleled the controls up to DAI 14, but were lower for the remainder of the samplings.

Another key symptom during green broom development is the lighter green color. This color change of the green broom could indicate alterations in the plastid metabolism. During the disease process, a decrease in chlorophyll b levels was observed soon after infection, which was followed by lesser decreases in the chlorophyll a and carotenoids/xanthophylls levels. This decrease probably leads to a reduction in photosynthesis, previously reported for *T. cacao* infected with *C. pernicioso* (Orchard and Hardwick, 1988). In this work, a number of possible biochemical connections for this phenomenon was found.

It has been demonstrated that chlorosis can be a consequence of lipid peroxidation with an increase in the MDA formation and a subsequent reduction of the antioxidant defenses in chloroplasts, which leads to decreased chlorophyll

concentrations and photosynthetic activity (Munne-Bosch and Alegre, 2002). Consistent with this idea, there is a 4-5-fold higher level of MDA in green brooms than in non-infected tissues, which could indicate pigment oxidation.

Furthermore, the reduced photosynthesis could be a negative feedback response to the augmented levels of soluble sugars in the infected tissue. In plants, sugars can work directly as gene regulation signals, attenuating the expression of several plastid-localized nuclear genes required for normal chloroplast development (Mullet *et al.*, 1990), and their presence could reduce the need for photosynthesis and, therefore, the need of pigment synthesis (Lee and Daie, 1997; Ludewig *et al.*, 1998). The high levels of sucrose and glucose in the infected tissues have been observed previously in cocoa (Orchard and Hardwick, 1988) and in other biotrophic pathosystems (Chou *et al.*, 2000). This study corroborates those previous findings and found that infected plants at 14 DAI had a significant increase in soluble sugar concentrations when compared to the non-infected plants. It is important to note that at this point in the disease process, no symptoms were observed and this peak of soluble sugar could represent a response of the plant to infection. Significantly higher starch levels in the infected tissues at 14 DAI and 21 DAI could also suggest that some of the soluble sugars are being mobilized into starch, which could be an overflow mechanism to store the carbohydrate in excess in the infected region. However, after 21 DAI the accumulated starch seems to be utilized, a possibility that would explain the increase of glucose, at 35 DAI, which was not accompanied by an increase in fructose in infected tissues. In spite of the absence of fructose, there is also a clear accumulation of sucrose in the infected tissue at this point. Since this augmentation is not accompanied by an increase in photosynthesis, this effect might be caused by translocation from other tissues. Effectively, the green broom shows an intense formation of young developing leaves and shoots (Fig. 1C), which are known to be major carbohydrate sinks. On the other hand, formation of these new tissue could also be stimulated by the high sucrose, an effect previously demonstrated for other plants (Munier-Jolain and Salon, 2003). Moreover, the decreases in the chlorophyll concentrations during senescence has been demonstrated to be followed by increases in the concentration of soluble sugars and starch

(Jongebloed *et al.*, 2004), which are somewhat similar to characteristics found in this study. This phenomenon, which is triggered by the *C. pernicios*a infection, may parallel events involved in natural plant senescence.

Free amino acids are important indicators of the plant conditions, arising as a consequence of protein degradation in tissues under programmed cell death (PCD) or senescence (Hurst and Clark, 1993). However, before being loaded into the vascular system for remobilization, they are extensively converted to amides (Buchanan *et al.*, 2001). This seems to be the situation in the green broom. From 21 DAI on, there is a clear decrease in the concentration of most amino acids and a corresponding increase in the amide asparagine, therefore suggesting again that the green broom tissues is under senescence/PCD.

Another characteristic of senescence/PCD in plants is the generation of ROS (Blokhina *et al.*, 2003), which would increase the levels of MDA, mentioned above, and alter the composition of fatty acids (Fox *et al.*, 1994). Fatty acid analysis revealed that the relation between palmitic and oleic acid (cis-9) is much higher in GB2 (5:1) than in normal tissue (GS) (1.5:1) or even dry broom (DB2) (1:1). Alterations in fatty acid composition may be associated with mechanisms of the necrotic phase of *C. pernicios*a since fatty acids have been shown to regulate sporulation and filamentous growth in *Aspergillus* and *Ustilago* (Calvo *et al.*, 1999; Klose *et al.*, 2004).

Another interesting finding is the higher amounts of glycerol in green broom tissues, which could along with the fatty acids, be the result of triglyceride degradation. Several other reports corroborate these observations of higher glycerol levels in infected plant tissues. Wei *et al.* (2004) reported that glycerol was a significant transfer metabolite from plant to pathogen in mallow leaves infected with *C. gloeosporioides*. Glycerol also has an important role for sustaining rhythmic growth and conidiation of this fungus *in vitro* as well as maintaining the biotrophic phase (Wei *et al.*, 2004). Furthermore, it has been suggested that glycerol is an essential component of fungal pathogenesis, which is involved in the adhesion and penetration phases of infection (Yoder and Turgeon, 1996). Thus, accumulation of this compound may be advantageous for the fungus. Therefore, glycerol formation

could be an important part of the disease mechanism, since this carbon source is practically absent in the dry broom.

The external appearance of the green broom has been repeatedly associated with the idea of hormonal imbalances triggered by the infection. Indeed, increase in zeatin riboside has been reported upon infection (Orchard *et al.*, 1994) and this could alter the ratio of cytokinin/auxin, responsible for lateral budding formation and shoot production. In addition, it has been demonstrated *in vitro* that caffeine can mimic the physiological effect of cytokinins (Vitoria and Mazzafera, 1998). Thus, since this compound shows a peak during infection, it can be speculated that caffeine could contribute to the hormonal imbalance in the infected plant. However, exogenous cytokinin applied to normal stems was not able to mimic the green broom development (Abohamed *et al.*, 1981).

Although less evident, a very important characteristic of the green broom tissue is the hypertrophy (Orchard *et al.*, 1994), an effect that has been associated with ethylene in other plants. Hypertrophic growth has been shown in ethylene induced aerenchyma cell formation in roots under hypoxic conditions (Gunawardena *et al.*, 2001). In addition, hypertrophic growth and increased water content has been shown in tissue culture, with plants derived from callus under high ethylene combined with cytokinins and hypoxic conditions, in a process called hyperhydricity, (Kamaluddin and Zwiazek, 2002; Saher *et al.*, 2004). Ethylene also seems to play a role in degradation of chlorophyll (Trebitsh *et al.*, 1993) and epinasty of leaf petioles and stems, symptoms that are characteristic of mature green broom tissues. Epinasty is a distinct bending of growing petioles and stems that requires turgor pressure (Woodrow and Grodzinski, 1989).

Indeed, ethylene levels in the *C. perniciosus* infected tissues showed an increase at 21 DAI that continued at a nearly constant level until the death of the broom. Ethylene production normally increases in tissues that suffer from some form of external stresses, like wounding, pathogens invasion, insect attack and flooding (Chang and Meyerowitz, 1995; Leite and Pascholati, 1995). Stress-induced ethylene, in turn, leads to defense responses, such as accelerated senescence, abscission of infect organs, or induction of specific defense proteins (Chang and Meyerowitz, 1995).

Taken together, the observed biochemical alterations associated with the infection suggest that, in the first stage, the plant uses unspecific mechanisms to try to eliminate the fungus, like increase in alkaloids, phenolics and tannins. However, these mechanisms seem not to be sufficient to avoid the disease and a number of biochemical changes, such as increased levels of ethylene, asparagine, sugars and MDA; alteration in the fatty acids profile and reduction of individual amino acids and pigments, suggests that a cascade of events has been triggered to cause the death of the infected organ. If this is true, the elevation of ethylene, which has been connected with several of these processes (Jongebloed *et al.*, 2004; Maruyama *et al.*, 1997; Munne-Bosch and Alegre, 2002), could be a key factor in triggering this concerted response.

The major question remaining is how the fungus causes or modulates these apparent responses in the plant. Database analysis of the genomic and EST sequences of *C. pernicioso*, a Brazilian Genome Project Initiative co-ordinated by our group (www.lge.ibi.unicamp.br/vassoura), showed a high number of potential pathogenicity genes (data not shown). Therefore, to verify these findings and advance an understanding of this complex pathogen-host interaction, additional biochemical studies of the green broom development, as well as the detailed analysis of gene expression of both pathogenicity factors and host response factors, will be required. Along these lines, gene expression is currently being analysed in two cDNA libraries generated from resistant and susceptible *T. cacao* clones after inoculations with *C. pernicioso* and two cDNA libraries of *C. pernicioso* that have been induced with cocoa extract in an attempt to understand the gene expression during this disease. The sequencing of the plant libraries are now nearing completion, however, preliminary results (data not shown) corroborates with the biochemical observations described in this paper.

3.6 Acknowledgements

The authors wish to thank Dr. Ricardo Antunes de Azevedo (Departamento de Genética, ESALQ/USP) for his invaluable comments; Dr. Marcio Rodrigues Lambais (Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, ESALQ/USP) for the use of his microscopic imaging system; Dra. Lireny Guaraldo Gonçalves

(FEA/UNICAMP) for help in fatty acids analysis; Eduardo Formighieri for figures and bioinformatics support and Johana Rincones for the use of unpublished data. We appreciate the ongoing corporate support given by Almirante Cacau Agrícola (Masterfoods) and Cargill. This work was supported by CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento, No. 68.0032/01-0; 47.1609/03-0), SEAGRI (Secretaria de Agricultura do Estado da Bahia) and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

3.7 References

- Abohamed S, Collin HA, Hardwick K.** 1981. Biochemical and physiological aspects of leaf development in cocoa (*Theobroma cacao*) .6. Hormonal interaction between mature leaves and the shoot apex. *New Phytologist* **89**, 191-200.
- Almeida OC, Chiacchio FPB, Rocha HM.** 1997. Sobrevivência de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer em vassouras secas de cacauzeiros (*Theobroma cacao* L.) do estado da Bahia. *Agrotrópica* **9**, 23-28.
- Aneja M, Gianfagna T.** 2001. Induction and accumulation of caffeine in young, actively growing leaves of cocoa (*Theobroma cacao* L.) by wounding or infection with *Crinipellis pernicioso*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **59**, 13-16.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV.** 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany* **91** Spec No, 179-94.
- Brownlee HE, Mceuen AR, Hedger J, Scott IM.** 1990. Antifungal effects of cocoa tannin on the witches broom pathogen *Crinipellis pernicioso*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **36**, 39-48.
- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL.** 2001. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists.
- Calle H, Cook AA, Fernando SY.** 1982. Histology of witches broom caused in cacao by *Crinipellis pernicioso*. *Phytopathology* **72**, 1479-1481.
- Calvo AM, Hinze LL, Gardner HW, Keller NP.** 1999. Sporogenic effect of polyunsaturated fatty acids on development of *Aspergillus* spp. *Applied and Environmental Microbiology* **65**, 3668-73.
- Cataldo DA, Haroon M, Schrader LE, Youngs VL.** 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant-tissue by nitration of salicylic-acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **6**, 71-80.
- Chang C, Meyerowitz EM.** 1995. The ethylene hormone response in Arabidopsis - a eukaryotic 2-component signaling system. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **92**, 4129-4133.

- Chou HM, Bundock N, Rolfe SA, Scholes JD.** 2000. Infection of *Arabidopsis thaliana* leaves with *Albugo candida* (white blister rust) causes a reprogramming of host metabolism. *Molecular Plant Pathology* **1**, 99-113.
- Cocking EC, Yemm EW.** 1954. Estimation of amino acids by ninhydrin. *Biochemical Journal* **58**, R12-R12.
- Conceição HEO, Mazzafera P, Rocha Neto OG, Stein RLB.** 1997. Biochemical composition of *Theobroma grandiflorum* leaves infected by *Crinipellis pernicioso*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* **9**, 135-138.
- de Arruda MCC, Miller RNG, Ferreira MASV, Felipe MSS.** 2003. Comparison of *Crinipellis pernicioso* isolates from Brazil by ERIC repetitive element sequence-based PCR genomic fingerprinting. *Plant Pathology* **52**, 236-244.
- Evans HC.** 1980. Pleomorphism in *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witches broom disease of cocoa. *Transactions of the British Mycological Society* **74**, 515-523.
- Filisetticozzi TMCC, Carpita NC.** 1991. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry* **197**, 157-162.
- Fox TC, Kennedy RA, Rumpho ME.** 1994. Energetics of plant growth under anoxia - Metabolic adaptations of *Oryza sativa* and *Echinochloa phyllopogon*. *Annals of Botany* **74**, 445-455.
- Frias GA, Purdy LH, Schmidt RA.** 1995. An inoculation method for evaluating resistance of cacao to *Crinipellis pernicioso*. *Plant Disease* **79**, 787-791.
- Fry SC.** 1988. *The growing plant cell wall: chemical and metabolic analysis*. London, UK: Longman Scientific and Technical.
- Gerber DW, Byerrum RU, Gee RW, Tolbert NE.** 1988. Glycerol concentrations in crop plants. *Plant Science* **56**, 31-38.
- Grayer RJ.** 1989. Flavanoids. In Dey PM, Harborne JB, eds. *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 1, London, UK: Academic Press, 275-302.
- Griffith GW, Nicholson J, Nenninger A, Birch RN, Hedger JN.** 2003. Witches' brooms and frosty pods: two major pathogens of cacao. *New Zealand Journal of Botany* **41**, 423-435.
- Gunawardena AH, Pearce DM, Jackson MB, Hawes CR, Evans DE.** 2001. Characterisation of programmed cell death during aerenchyma formation induced by ethylene or hypoxia in roots of maize (*Zea mays* L.). *Planta* **212**, 205-14.
- Hardy RWF, Holsten RD, Jackson EK, Burns RC.** 1968. Acetylene-ethylene assay for N₂ fixation - Laboratory and field evaluation. *Plant Physiology* **43**, 1185-1207.
- Heath RL, Packer L.** 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **125**, 189-198.
- Horsfall JG, Dimond AE** 1957. Interactions of tissue sugar, growth substances, and disease susceptibility *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **27**, 415-421.

- Hurst PL, Clark CJ.** 1993. Postharvest changes in ammonium, amino-acids and enzymes of amino-acid-metabolism in *Asparagus spear* tips. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **63**, 465-471.
- Jarret HW, Coosky KD, Ellis B.** 1986. The separation of o-phtalaldehyde derivatives of amino acids by reversed-phase chromatography on octylsilica column. *Analytical Biochemistry* **153**, 189-198.
- Johnson DC, Dobberpuhl D, Roberts R, Vandenberg P.** 1993. Pulsed amperometric detection of carbohydrates, amines and sulfur species in ion chromatography - the current state of research. *Journal of Chromatography* **640**, 79-96.
- Jongebloed U, Szederkenyi J, Hartig K, Schobert C, Komor E.** 2004. Sequence of morphological and physiological events during natural ageing and senescence of a castor bean leaf: sieve tube occlusion and carbohydrate back-up precede chlorophyll degradation. *Physiologia Plantarum* **120**, 338-346.
- Kamaluddin M, Zwiazek JJ.** 2002. Ethylene enhances water transport in hypoxic aspen. *Plant Physiology* **128**, 962-969.
- Klose J, de Sa MM, Kronstad JW.** 2004. Lipid-induced filamentous growth in *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology* **52**, 823-35.
- Kumar NS, Hewavitharanage P, Adikaram NKB.** 1995. Attack on tea by *Xyleborus fornicatus*: Inhibition of the symbiote, *Monacrosporium ambrosium*, by caffeine. *Phytochemistry* **40**, 1113-1116.
- Lawrence JS, Campêlo AMFL, Figueiredo JM.** 1991. Enfermidades do cacauero. II - Doenças fúngicas que ocorrem nas folhas, ramos e tronco. *Agrotrópica* **3**, 1-14.
- Lee JS, Daie J.** 1997. End-product repression of genes involving carbon metabolism in photosynthetically active leaves of sugarbeet. *Plant and Cell Physiology* **38**, 887-894.
- Leite B, Pascholati SF.** 1995. Hospedeiro: alterações fisiológicas induzidas por fitopatógenos. In Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L, eds. *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*, vol. 1, São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 393-416.
- Lichtenthaler HK, Wellburn AR.** 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* **11**, 591-592.
- Ludewig F, Sonnewald U, Kauder F, Heineke D, Geiger M, Stitt M, Muller-Rober BT, Gillissen B, Kuhn C, Frommer WB.** 1998. The role of transient starch in acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Febs Letters* **429**, 147-151.
- Maruyama A, Yashyima M, Adachi Y, Nanba H, Hasegawa R, Esashi Y.** 1997. Possible participation of beta-cyanoalanine synthase in increasing the amino acid pool of cocklebur seeds in response to ethylene during the pre-germination period. *Australian Journal of Plant Physiology* **24**, 751-757.
- Mazzafera P, Crozier A, Magalhaes AC.** 1991. Caffeine metabolism in *Coffea arabica* and other species of coffee. *Phytochemistry* **30**, 3913-3916.

- Metcalf LD, Schmitz AA, Pelka JR.** 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry* **38**, 514-515.
- Mullet JE, Klein PG, Klein RR.** 1990. Chlorophyll regulates accumulation of the plastid-encoded chlorophyll apoproteins CP43 and D1 by increasing apoprotein stability. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87**, 4038-42.
- Munier-Jolain N, Salon C.** 2003. Can sucrose content in the phloem sap reaching field pea seeds (*Pisum sativum* L.) be an accurate indicator of seed growth potential? *Journal of Experimental Botany* **54**, 2457-2465.
- Munne-Bosch S, Alegre L.** 2002. Plant aging increases oxidative stress in chloroplasts. *Planta* **214**, 608-615.
- Ndoumou DO, Ndzomo GT, Djocgoue PF.** 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol contents in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra and Grif. *Annals of Botany* **77**, 153-158.
- Omokolo ND, Nankeu DJ, Niemenak N, Djocgoue PF.** 2002. Analysis of amino acids and carbohydrates in the cortex of nine clones of *Theobroma cacao* L. in relation to their susceptibility to *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. *Crop Protection* **21**, 395-402.
- Orchard J, Collin HA, Hardwick K, Isaac S.** 1994. Changes in morphology and measurement of cytokinin levels during the development of witches brooms on cocoa. *Plant Pathology* **43**, 65-72.
- Orchard JE, Hardwick K.** 1988. Photosynthesis, carbohydrate translocation and metabolism of host and fungal tissues in cacao seedlings infected with *Crinipellis pernicioso*. In *10th International Cocoa Research Conference*.
- Penman D, Britton G, Hardwick K, Collin HA, Isaac S.** 2000. Chitin as a measure of biomass of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witches' broom disease of *Theobroma cacao*. *Mycological Research* **104**, 671-675.
- Porter LJ.** 1989. Tannins. In Dey PM, Harborne JB, eds. *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 1, London, UK: Academic Press, 389-419.
- Purdy LH, Schmidt RA.** 1996. Status of cacao witches' broom: Biology, epidemiology, and management. *Annual Review of Phytopathology* **34**, 573-594.
- Rincones J, Meinhardt LW, Vidal BC, Pereira GAG.** 2003. Electrophoretic karyotype analysis of *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches' broom disease of *Theobroma cacao*. *Mycological Research* **107**, 453-458.
- Ringel C, Siebert S, Wienhaus O.** 2003. Photometric determination of proline in quartz microplates: remarks on specificity. *Analytical Biochemistry* **313**, 167-169.
- Rocha HM, Wheeler BEJ.** 1985. Factors influencing the production of basidiocarps and the deposition and germination of basidiospores of *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches' broom disease on cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Plant Pathology* **34**, 319-328.
- Saher S, Piqueras A, Hellin E, Olmos E.** 2004. Hyperhydricity in micropropagated carnation shoots: the role of oxidative stress. *Physiologia Plantarum* **120**, 152-161.

- Santos Filho LP, Freire ES, Carzola IM.** 1998. Estimativas de perda de produção de cacau causadas por vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer) na Bahia. *Agrotrópica* **10**, 127-130.
- Swain T, Hillis WE.** 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of food and agriculture* **10**, 63-68.
- Trebitsh T, Goldschmidt EE, Riov J.** 1993. Ethylene induces de novo synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll degrading enzyme, in Citrus fruit peel. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **90**, 9441-5.
- Vitoria AP, Mazzafera P.** 1998. Cytokinin-like effects of caffeine in bioassays. *Biologia Plantarum* **40**, 329-335.
- Wei YD, Shen WY, Dauk M, Wang F, Selvaraj G, Zou JT.** 2004. Targeted gene disruption of glycerol-3-phosphate dehydrogenase in *Colletotrichum gloeosporioides* reveals evidence that glycerol is a significant transferred nutrient from host plant to fungal pathogen. *Journal of Biological Chemistry* **279**, 429-435.
- Woodrow L, Grodzinski B.** 1989. An evaluation of the effects of ethylene on carbon assimilation in *Lycopersicon esculentum* Mill. *Journal of Experimental Botany* **40**, 361-368.
- Yemm EW, Willis AJ.** 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal* **57**, 508-514.
- Yoder OC, Turgeon BG.** 1996. Molecular-genetic evaluation of fungal molecules for roles in pathogenesis to plants. *Journal of Genetics* **75**, 425-440.

4 CAPÍTULO II

IDENTIFICAÇÃO DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS DURANTE AS FASES BIOTRÓFICA E NECROTRÓFICA DO FUNGO *Crinipellis perniciosa*

L. M. Scarpari, D. M. Carraro, H. Brentani, M. F. Carazzolle, M. Sabha, A. Leal, L. W. Meinhardt, G. A. G. Pereira

(Manuscrito em Preparação)

4.1 Resumo

A doença vassoura-de-bruxa do cacauero, causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*, é uma doença que tem provocado perdas significativas na produção dos países do hemisfério ocidental. O ciclo de vida do fungo hemibiotrófico *C. perniciosa* divide-se numa fase biotrófica ou parasítica e em outra fase necrotrófica ou saprofítica. A fase biotrófica é responsável pelo estágio inicial da doença, sendo fundamental para o estabelecimento da interação entre a planta e o patógeno, e a manifestação dos sintomas de vassoura verde. O cultivo do micélio biotrófico de *C. perniciosa in vitro* foi estabelecido recentemente por nosso grupo, e tem permitido o estudo de vários aspectos dessa fase importante do seu ciclo de vida. O Projeto Genoma da Vassoura-de-bruxa, que visa o seqüenciamento do genoma de *C. perniciosa* (www.lge.ibi.unicamp.br/vassoura), tem gerado muitas informações que facilitam e direcionam as investigações sobre o ciclo de vida do fungo e suas implicações na manifestação dos sintomas e no desenvolvimento da doença vassoura-de-bruxa. Neste trabalho, foram estudados 2.304 fragmentos de DNA derivados de bibliotecas de *shot-gun* do Projeto Genoma da Vassoura-de-Bruca. Essas seqüências apresentaram similaridade com genes de patogenicidade e/ou virulência de outros patógenos. A expressão desses genes foi estudada através da técnica de *microarrays* de DNA, avaliando-se o perfil de expressão nas duas fases miceliais do ciclo de vida do fungo: a fase biotrófica e a fase necrotrófica. Os resultados demonstraram que genes envolvidos no metabolismo e transporte de hexoses, e no metabolismo de lipídeos, tiveram a expressão suprimida no micélio biotrófico do fungo. Já os genes da família do citocromo P450, hidrofobinas, aglutinina, lacase, proteases, lipase, álcool oxidase (AOX) e proteínas pol do sistema de retrotransposição de vírus foram induzidos no micélio biotrófico, podendo estar envolvidos na patogenicidade do fungo. Esses resultados contribuem para uma maior compreensão sobre o metabolismo de *C. perniciosa*, e poderão direcionar futuras investigações sobre a vassoura-de-bruxa, e auxiliar na identificação de alvos para o controle da doença.

4.2 Revisão de Literatura

4.2.1 O cultivo *in vitro* do fungo *Crinipellis perniciosa*

A doença vassoura de bruxa do cacau, causada pelo fungo hemibiotrófico *Crinipellis perniciosa*, apresenta diferentes sintomas que se correlacionam com as duas fases miceliais de agente causal, presentes dentro da planta. Numa primeira fase, o fungo possui micélio monocariótico intercelular e biotrófico, ocorre hipertrofia e hiperplasia dos tecidos e proliferação de brotos axilares, formando a estrutura chamada de vassoura verde. Na segunda fase, o fungo passa a ser necrotrófico, com micélio dicariótico freqüentemente intracelular, e ocorre a necrose dos tecidos infectados, formando a vassoura seca (EVANS 1980; CALLE *et al.* 1982). Os processos envolvidos na mudança de fases do fungo dentro da planta e suas implicações no desenvolvimento da doença ainda não são conhecidos.

De modo semelhante ao que ocorre com muitos outros patógenos biotróficos, o subcultivo da fase biotrófica ou primária de *C. perniciosa in vitro*, e em longo prazo é difícil de ser obtido. De modo geral, quando as culturas de fase primária são produzidas diretamente de esporos em meio rico, os micélios mudam para a fase secundária dentro de dois dias, formando grampos de conexão, típicos dessa fase. O micélio biotrófico não persiste em cultura na ausência de tecidos vivos do hospedeiro (EVANS 1980). Apenas o micélio dicariótico saprofito deste fungo pode ser mantido em meio de cultura *in vitro* (PICKERING & HEDGER 1987).

EVANS (1980) manteve o fungo na fase biotrófica em co-cultivo com calos de cacau durante um período variável de tempo, chegando a até cinco meses, conforme o crescimento dos calos. Na presença de calos com crescimento vigoroso, a hifa da fase primária apresentava-se engrossada e irregular. Porém, quando o calo apresentava crescimento lento, o fungo rapidamente entrava em processo de dicarionização, originando o micélio secundário, com hifa estreita e mais regular. Resultados semelhantes foram obtidos por MUSE *et al.* (1996), onde a mudança no desenvolvimento do fungo coincidiu com a fase estacionária de crescimento da cultura de células de cacau.

FONSECA & WHEELER (1990) fazendo co-cultivo de *C. pernicioso* e calos de cacau de diferentes genótipos, obtiveram micélio similar ao encontrado em vassouras verdes (fase parasítica) usando calos de material suscetível. Já na presença de calos dos genótipos resistentes, o crescimento micelial foi similar ao tipo saprofito, encontrado em vassouras secas.

Recentemente, MEINHARDT *et al.* (2006) utilizando meio de cultura de composição extremamente pobre, que mimetiza o fluido apoplástico do cacau, conseguiram o cultivo *in vitro* e a manutenção do micélio biotrófico de *C. pernicioso*, através de metodologia reproduzível. Isto significou um avanço significativo para os futuros estudos sobre esta fase extremamente importante do ciclo de vida do fungo.

Estes autores sugerem que o glicerol é uma fonte de carbono essencial na interação do fungo com o cacau, uma vez que esta foi a única fonte de carbono capaz de manter o crescimento do micélio biotrófico *in vitro*, prevenindo a dicarionização e a transição para a fase saprofito. De fato, o glicerol é apontado como um importante metabólito transferido da planta para o patógeno, além de ser um componente essencial na manutenção da fase biotrófica e na patogênese de alguns fungos (YODER & TURGEON 1996; WEI *et al.* 2004). Além disso, SCARPARI *et al.* (2005) encontraram quantidades significativamente maiores de glicerol na vassoura verde quando comparada à vassoura seca e a tecidos saudáveis.

4.2.2 A importância dos estudos de expressão gênica

A expressão gênica de uma célula reflete todos os processos metabólicos que ocorrem na mesma. Como regra, cada gene é expresso em determinadas condições, nas quais seus produtos exercerão funções específicas (BROWN & BOTSTEIN 1999). Dessa forma, estudos de expressão gênica diferencial são de grande importância, pois permitem identificar quais processos metabólicos estão sendo ativados ou desativados em uma determinada condição e quais os reflexos disso no metabolismo da célula.

Os estudos de expressão gênica diferencial são de grande importância no estudo das interações planta-patógeno, pois permitem identificar quais genes são induzidos ou suprimidos em determinada situação, investigar suas funções, e descobrir os mecanismos envolvidos no desenvolvimento de algumas doenças (WANG *et al.* 2001).

As análises de expressão gênica global constituem uma ferramenta poderosa para estudar interações entre células hospedeiras e patógenos microbianos. Pode-se obter novos conhecimentos sobre os mecanismos da virulência microbiana e sobre os mecanismos-chave de defesa do hospedeiro (KAGNOFF & ECKMANN 2001). Adicionalmente, torna-se possível identificar genes co-regulados, sistemas regulatórios associados, e revelar interações entre diferentes vias de sinalização (WAN *et al.* 2002).

Várias metodologias são usadas para a avaliação do perfil de expressão gênica. Alguns métodos usam a estratégia de primeiro identificar os genes cuja expressão difere entre as amostras estudadas e depois investigar a identidade desses genes. Estas técnicas têm a vantagem de serem capazes de identificar transcritos ainda não caracterizados ou que foram caracterizados apenas parcialmente, e a desvantagem de serem trabalhosas. Entre essas técnicas estão o *screening* diferencial e o *display* diferencial, e mais recentemente, o SAGE (*Serial analysis of gene expression* - Análise em Série da Expressão Gênica), este último baseado na identificação de seqüências curtas, que serviriam como “etiquetas” de cada gene (VELCULESCU *et al.* 1995; MEYERS *et al.* 2004).

Num outro grupo de metodologias usadas mais amplamente, a identidade dos genes pode ou não ser primeiramente definida antes da avaliação do seu nível de expressão. Neste grupo estão os *microarrays* de DNA, cDNA ou de oligonucleotídeos, onde o número de genes estudados pode variar entre um pequeno grupo de genes com funções bem conhecidas até todo o genoma de um determinado organismo (KAGNOFF & ECKMANN 2001). Os genomas relativamente pequenos de procaríotos e eucariotos simples permitem a análise do perfil da expressão gênica de todas as suas ORFs (*Open Reading Frames*) e até de regiões intergênicas em único ensaio (HARRINGTON *et al.* 2000).

Um fator limitante nos estudos de expressão gênica é a quantidade de RNA total disponível para as análises. Vários protocolos para amplificação do RNAm estão disponíveis na literatura (VAN GELDER *et al.* 1990; EBERWINE *et al.* 1992; PHILLIPS & EBERWINE 1996), e são baseados na síntese da primeira fita de cDNA a partir de RNA total, usando oligonucleotídeos que carregam o promotor da RNA polimerase do fago T7 e ancoram na cauda poli-A do RNAm. Estes oligos são denominados oligo-dT (T7). A segunda fita pode ser feita usando-se o iniciador *template swiching* (TS). A utilização desse iniciador baseia-se no fato de que a transcriptase reversa adiciona alguns nucleotídeos (geralmente citosinas) ao final da sequência 3' da nova fita de cDNA. Quando o oligo TS, que possui uma seqüência de guaninas em sua extremidade 3', está presente na reação, pareia-se ao trecho rico em C, e serve como início para a polimerase sintetizar a fita complementar, formando cDNA de fita dupla, e também aumenta a geração de cDNAs completos (*full length*) na reação (MATZ *et al.* 1999; WANG *et al.* 2000). Este material serve de molde para a transcrição pela T7 RNA polimerase, amplificando a população inicial de RNAs. Este processo pode ser repetido para aumentar o rendimento, que gira em torno de 10^3 da quantidade inicial de RNAm em um *round* de amplificação, e de 10^5 em dois *rounds* (WANG *et al.* 2000). Comparações entre estes materiais mostraram que o RNA total pode ser substituído por RNA amplificado (RNAa), apresentando aceitável reprodutibilidade e alta fidelidade dos dados (WANG *et al.* 2000; GOMES *et al.* 2003).

4.2.3 A técnica de *microarrays*

A técnica de *microarrays* de DNA, desenvolvida por SCHENA *et al.* (1995), permite avaliar simultaneamente o nível de expressão de milhares de genes em um único ensaio de hibridização, sendo um veículo simples para explorar o genoma de forma sistemática e compreensiva. Esta técnica apresenta capacidade de análise em larga escala e flexibilidade devido à especificidade do pareamento de bases complementares apresentada pelos ácidos nucleicos (BROWN & BOTSTEIN 1999). Dentre as aplicações dos *microarrays* incluem-se expressão gênica, genômica comparativa e genotipagem (HARRINGTON *et al.* 2000).

Resumidamente, arranjos de milhares de seqüências de DNA são impressos em lâminas de vidro usando um robô (*arrayer*). Para comparar a abundância relativa de cada uma dessas seqüências de genes em amostras de DNA ou RNA, por exemplo, RNAm total isolado de diferentes populações celulares, as duas amostras são primeiramente marcadas usando diferentes fluoróforos (geralmente verde e vermelho). Estas amostras são misturadas e hibridizadas com os arranjos impressos nas lâminas. Após a hibridização e lavagens para retirar o excesso de sonda, as medidas de fluorescência são feitas usando-se um *scanner* que mede a fluorescência de cada *spot* e de cada fluoróforo separadamente. Essas medidas são usadas para determinar a razão de intensidade entre o sinal emitido pelos dois fluoróforos, e conseqüentemente a abundância relativa das seqüências de cada gene específico nas duas amostras estudadas (BROWN & BOTSTEIN 1999; HARRINGTON *et al.* 2000).

Várias características tornam os *microarrays* de DNA particularmente adequados para uma pesquisa exploratória: são flexíveis e universais, são de fácil manuseio e não envolvem o uso de substâncias tóxicas e radioativas (BROWN & BOTSTEIN 1999).

Após a aquisição e o processamento da imagem fluorescente do experimento, existem alguns passos básicos requeridos para uma análise efetiva e eficiente. O primeiro passo é a aplicação de uma estratégia de normalização dos dados, com o intuito de minimizar as variações introduzidas pela técnica experimental e distinguir melhor as diferenças biológicas. O segundo passo é a filtragem ou redução dos dados, que pode ser feita através da retirada de genes não informativos, como por exemplo, genes expressos abaixo de um nível definido ou genes que não variam a expressão durante o experimento (HARRINGTON *et al.* 2000). Na próxima etapa, os dados classicamente são submetidos a três análises matemáticas diferentes. A primeira visa buscar genes diferencialmente expressos entre as amostras. A segunda busca reconhecer padrões de expressão gênica entre as amostras, agrupando amostras com perfil de expressão gênica semelhante. Atualmente também é possível fazer um terceiro tipo de análise na qual busca-se classificadores, ou seja, um grupo pequeno de genes que possa separar dois grupos de amostras (CARRARO *et al.*, no prelo)

As análises de *microarrays* têm sido usadas em estudos de respostas de defesa das plantas contra estresses bióticos e abióticos. Em *Arabidopsis thaliana*, análises de *microarrays* de cDNA revelaram um surpreendente nível de correlação entre as respostas de defesa apresentadas a diferentes tratamentos aplicados às plantas, como a inoculação de um fungo incompatível, o tratamento com moléculas de sinalização de defesa como ácido salicílico, metil jasmonato e etileno. Os resultados mostraram a existência de redes de interligação e coordenação entre as diferentes vias de defesa (SCHENK *et al.* 2000).

Experimentos de *microarrays* também têm sido usados para estudar características de interesse de alguns fungos, como por exemplo, os transcritos ligados ao catabolismo energético e às enzimas hidrolíticas do fungo filamentoso *Aspergillus oryzae* (MAEDA *et al.* 2004), à germinação de conídios de *Aspergillus nidulans* (SIMS *et al.* 2004), e às respostas ao estresse oxidativo transiente em *Saccharomyces cerevisiae* (KOERKAMP *et al.* 2002). Foram investigadas ainda as diferenças na expressão gênica das duas formas patogênicas de crescimento do basidiomiceto parasítico *Ustilago maydis* (BABU *et al.* 2005), e as mudanças no metabolismo primário dos diferentes estágios do ciclo de vida de *Blumeria graminis*, um fungo patogênico biotrófico obrigatório (BOTH *et al.* 2005).

No presente trabalho utilizamos a técnica de *microarrays* de DNA para avaliar a expressão gênica dos micélios biotrófico e necrotrófico do fungo *Crinipellis pernicioso*, agente causal da doença vassoura-de-bruxa do cacauero.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Confeção dos *microarrays*

4.3.1.1 Seleção *in silico* dos fragmentos de interesse

Com base no banco de dados do Projeto Genoma da Vassoura-de-Bruxa (www.lge.ibi.unicamp.br/vassoura), foram selecionados 1.152 clones de bibliotecas de DNA genômico de *Crinipellis pernicioso*, obtidos através da técnica de *shot-gun* (VENTER *et al.*, 1998). Essa seleção foi feita usando-se o *software* Gene Projects (Registro de *Software* – Protocolo INPI 005 - 09/01/2004), o qual permite a busca de genes de interesse através de palavras-chave. Foram selecionados clones que apresentaram similaridade com genes que codificam proteínas e enzimas relacionadas à patogenicidade e/ou virulência em outros fitopatógenos, com seqüências de alta qualidade (mínimo de 100 pb com qualidade acima de 20, designada pelo programa PHRED) e *e-value* $\leq 1e-05$, usando a ferramenta BLASTx (ALTSCHUL *et al.* 1997).

Além disso, foram usados também neste trabalho outros 1.152 clones, selecionados por Maricene Sahba em seu trabalho de doutorado, usando os mesmos critérios de seleção descritos acima.

Apesar dos fragmentos selecionados de DNA genômico possuírem íntrons, os mesmos não devem interferir no processo de hibridização, pois estão presentes em pequeno número, e são seqüências curtas em relação ao tamanho dos fragmentos utilizados, que variou entre 500 e 2000 pb.

Como controle positivo, foi selecionado um fragmento do gene de poliubiquitina de alguns fungos e vegetais, o qual apresenta expressão constitutiva nos organismos estudados.

4.3.1.2 Rearranjo dos clones de interesse, amplificação e purificação dos fragmentos selecionados

Os clones de interesse foram rearranjados e cultivados em 12 placas de 96 poços em meio LB líquido contendo ampicilina ($75 \mu\text{g mL}^{-1}$). Os fragmentos

desses clones foram amplificados em reações de PCR contendo 5 μ L da colônia bacteriana numa diluição 1:100, solução tampão PCR 1X e $MgCl_2$ 1,3 mM (Invitrogen, EUA), dNTPs 125 μ M (Amersham Biosciences, EUA), iniciadores universais M13pUC23 F (5'- CCCAGTCACGACGTTGTAAAACG-3') e M13pUC23 R (5'-AGCGGATAACAATTTTCACACAGG-3') 0,13 μ M e 1 U de DNA Taq polimerase (Invitrogen, EUA), num volume final de 50 μ L. A amplificação foi realizada em um ciclo a 94° C por 3 minutos, 35 ciclos de 94° C por 30 segundos, 55°C por 45 segundos e 72° C por 45 segundos, e uma extensão final a 72° C por 7 minutos. A verificação da quantidade e qualidade dos produtos das reações foi feita através da separação por eletroforese em gel de agarose 1% - TAE 0,5 X, utilizando-se brometo de etídeo (0,5 μ g mL⁻¹) para visualização dos mesmos (SAMBROOK & RUSSEL 2001). A aquisição da imagem foi feita usando-se o ImageMaster VDS (*Video Documentation System for Gel Electrophoresis*) (Pharmacia Biotech, EUA).

Os fragmentos amplificados foram purificados em placas *MultiScreen* MAHVN4510 (Millipore, EUA) contendo Sephadex G-50 (Amersham Biosciences, EUA), de acordo com instruções do fabricante. Esses fragmentos foram precipitados com 1 volume de isopropanol e 0,1 volume de acetato de sódio 3 M pH 5,2, durante 1 hora a 4° C, lavados com etanol 70% e ressuspensos em DMSO 50%. Após a purificação, os fragmentos foram novamente verificados quanto à qualidade e quantidade, em gel de agarose - TAE, conforme descrito acima. A quantificação dos fragmentos foi feita visualmente através de sua intensidade no gel de agarose.

4.3.1.3 Impressão e fixação dos fragmentos amplificados em lâminas de vidro

A impressão dos fragmentos purificados foi feita em lâminas de vidro tratadas com aminosilano (GAPS II - Corning Life Science, EUA), através do sistema automatizado "Flexys®" (Genomic Solutions, EUA).

Os 1.152 clones selecionados nesse trabalho foram impressos na lâmina denominada CP-1. Os outros 1.152 clones, selecionados e amplificados por Maricene Sahba, foram impressos em outra lâmina denominada CP-2.

Para ambas as lâminas, CP-1 e CP-2, o desenho experimental consta de 32 *sub-arrays*, dispostos em 8 linhas e 4 colunas, com cada *sub-array* contendo 11 linhas e 11 colunas. Os fragmentos foram impressos em triplicata e os controles positivos e negativos estão dispostos como ilustrado na Figura 1. Como controle negativo foi usado DMSO 50%, o solvente utilizado para a ressuspensão dos produtos de PCR depositados na lâmina. Após a impressão, os fragmentos foram fixados na superfície da lâmina através de aquecimento a 80°C durante 2 horas.

P	1	12	23	1	12	23	1	12	23	P
34	2	13	24	2	13	24	2	13	24	34
34	3	14	25	3	14	25	3	14	25	P
N	4	15	26	4	15	26	4	15	26	P
35	5	16	27	5	16	27	5	16	27	35
35	6	17	28	6	17	28	6	17	28	P
N	7	18	29	7	18	29	7	18	29	P
36	8	19	30	8	19	30	8	19	30	36
36	9	20	31	9	20	31	9	20	31	P
N	10	21	32	10	21	32	10	21	32	P
P	11	22	33	11	22	33	11	22	33	P

Figura 1: Desenho experimental dos *sub-arrays* contendo 11 linhas e 11 colunas, com as amostras impressas em triplicata (1-36), e a disposição dos controles positivos (P) e negativos (N).

4.3.2. Cultivo de *C. perniciosus* *in vitro* e extração do RNA total

O cultivo do micélio biotrófico de *C. perniciosus* foi feito conforme descrito por MEINHARDT *et al.* (2006). Os esporos da linhagem BP10 foram diluídos em 2 volumes de água estéril contendo canamicina (50 µg mL⁻¹) e estreptomicina (50 µg mL⁻¹), e plaqueados sobre meio sólido denominado LMCpS+ (ágar 30 g L⁻¹, glicerol 20 mL L⁻¹, 5 mg L⁻¹ de cafeína e 10 mg L⁻¹ de auxina - ácido indol-3-

acético). Após um período de incubação a 28° C no escuro, pequenos blocos de ágar contendo micélio foram transferidos para frascos contendo 50 mL de meio líquido denominado LMCpL+ [5 g L⁻¹ extrato de levedura, 50 mL L⁻¹ glicerol, 2.5 g L⁻¹ K₂HPO₄ e 1 mL L⁻¹ da solução de elementos traço MPR (MANDEL *et al.* 1962)], e incubados a 27° C no escuro sob agitação a 120 rpm. As colônias cresceram durante 14 dias neste meio, e após este período foi adicionado mais meio de cultura suplementado com extrato de cacau proveniente de meristemas jovens (os quais são suscetíveis à infecção por *C. perniciosa*). O fungo assim induzido foi crescido durante 14 dias adicionais. O longo período de crescimento foi necessário para obter uma quantidade suficiente de micélio para a extração de RNA total. Durante todo o período de cultivo do micéio biotrófico, foi verificada a ausência de grampos de conexão, característicos do micélio dicariótico da fase saprotrófica.

O micélio necrotrófico, obtido de culturas mantidas em nosso laboratório a 27° C em meio sólido malte-extrato de levedura, foi cultivado em meio líquido LMCpL+ durante 14 dias, sob as mesmas condições descritas para o micélio biotrófico. Além disso, para eliminar a influência do extrato de cacau, o micélio necrotrófico foi cultivado também sob as mesmas condições, exceto pela ausência do extrato da planta no meio de cultivo. Dessa forma, temos as seguintes amostras: micélio biotrófico (B), micélio necrotrófico cultivado com extrato de cacau (NC) e micélio necrotrófico cultivado sem extrato de cacau (NS).

Por se tratar de um material de difícil obtenção e cultivo, o RNA total foi extraído usando-se “*RNeasy Mini Kit*” (Qiagen), conforme instruções do fabricante, pois o mesmo permite a obtenção de quantidade razoável de RNA de boa qualidade.

A concentração de RNA total foi determinada por espectrofotometria a 260nm. A qualidade do RNA foi determinada através da razão A_{260} / A_{280} . A integridade do RNA foi verificada através de eletroforese em gel de agarose-formaldeído 1,2%, utilizando-se brometo de etídeo (0,5 µg mL⁻¹) para visualização do mesmo (SAMBROOK & RUSSEL 2001). A visualização foi feita conforme descrito no item 4.3.1.2.

4.3.3 Amplificação do RNA total

As etapas de amplificação do RNA total, marcação e hibridização das lâminas foram realizadas no LGEA (*Laboratory of Gene Expression Analysis*) do Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer, coordenado pela Dra. Dirce M. Carraro.

Com a quantidade limitada de RNA total, optamos por uma metodologia que permite a amplificação do material sem alterar as proporções das diferentes populações de RNAm inicial. Essa amplificação foi baseada no protocolo descrito por GOMES *et al.* (2003).

Para a síntese da primeira fita de cDNA, partiu-se de 2 µg de RNA total de cada tratamento, 0,5 µg de oligo-dT (24) T7 (5'GGC CAG TGA ATT GTA ATA CGA CTC ACT ATA GGG AGG CGG VTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT T3') e água tratada com DEPC para volume final de 7 µL. A solução foi aquecida a 70° C por 5 minutos e resfriada em gelo por 1 minuto. Adicionou-se, então, tampão de primeira fita 1X e DTT 10 mM (Invitrogen, EUA), dNTPs 1mM (Amersham Biosciences, EUA), 1,5 µg de oligo TS (5' AAG CAG TGG TAA CAA CGC AGA GTA CGC GGG 3'), 40 U RNaseOUT (Invitrogen, EUA) e 200 U de transcritase reversa Superscript II RNase H (Invitrogen, EUA), e incubou-se por 1 hora a 42°C. Após esse período, adicionou-se mais 200 U de Superscript II e incubou-se a 42°C por mais 1 hora.

A segunda fita de cDNA foi sintetizada com o *Advantage Polymerase cDNA PCR kit* (Clontech, EUA). Adicionou-se ao volume total da reação anterior: tampão PCR 1X, dNTPs 0,2 mM (Amersham Biosciences, EUA), 1,4 U de RNaseH (Invitrogen, EUA), e 2,5 µL de Advantage polimerase. Incubou-se a 37° C por 10 minutos para a degradação das fitas de RNA dos híbridos cDNA:RNA, formados na síntese da primeira fita, a 94° C por 3 minutos para a desnaturação das fitas, a 65° C por 5 minutos para o pareamento dos oligos e a 75° C por 30 minutos para a extensão. A reação foi paralisada com a adição de 5 µL de uma solução NaOH 1 M contendo EDTA 2 mM, e incubação a 65° C por 10 minutos. A reação foi purificada com a adição de fenol-clorofórmio-álcool isoamílico (25:24:1) e precipitada com 3 volumes de etanol absoluto gelado, na presença de 0,5

volume de acetato de sódio 3 M e 0,1 µg de acrilamida linear (Ambion), durante 1 hora a -80° C. O precipitado foi lavado por 5 vezes com 1 mL de etanol 70% gelado, seco a 42° C e ressuspendido em 10 µL, volume usado para a reação de transcrição.

A transcrição foi feita com o *kit RiboMAX™ Large Scale RNA Production System - T7* (Promega Corporation, USA), usando-se metade dos volumes dos reagentes recomendados pelo fabricante, sem prejudicar a quantidade e a qualidade do RNA amplificado obtido. Aos 10 µL de segunda fita purificada, adicionou-se tampão de reação 1X, rNTPs 7,5 mM, 2,5 µL do mix de enzimas, num volume final de 25 µL. A reação foi então incubada por 6 horas a 37° C. Esse material foi purificado com o reagente Trizol (Invitrogen, EUA) e precipitado com 1 volume de isopropanol e adição de 0,1 volume de acetato de sódio 3 M e 5 mg de glicogênio. O precipitado foi lavado por 5 vezes com 1 mL de etanol 70% gelado, seco a 42° C e ressuspendido em 6 µL, volume usado no segundo *round* de amplificação, o qual foi semelhante ao primeiro *round*, com algumas modificações. A solução contendo o volume total da reação de transcrição purificada do primeiro *round* (6 µL) e 9 µg de oligo hexâmero randômico (PdN6) foi aquecida a 70° C por 5 minutos e resfriada em temperatura ambiente durante 10 minutos. Adicionou-se então 0,5 µg de oligo-dT (24) T7, tampão da primeira fita 1X, dNTPs 1mM, DTT 10 mM, 40 U RNaseOUT (Invitrogen, EUA) e 200 U de transcritase reversa Superscript II (Invitrogen, EUA), e procedeu-se como no primeiro round. A concentração e qualidade do RNA amplificado (RNAa) foram verificadas por eletroforese em gel de agarose 1% - TAE 0,5 X, utilizando-se tampão desnaturante da amostra contendo uréia 7 M, e brometo de etídeo (0,5 µg mL⁻¹) para visualização. A aquisição da imagem foi feita conforme descrito acima.

4.3.4 Desenho experimental

Das 3 amostras experimentais: micélio biotrófico (B), micélio necrotrófico cultivado com extrato de cacau (NC) e micélio necrotrófico cultivado sem extrato de cacau (NS), a amostra NS foi usada como referência (R), ou seja, as demais amostras, B e NC, foram hibridizadas com esta nos ensaios realizados.

Optou-se pelo sistema *dye-swap*, onde repete-se a hibridização das amostras e da referência com a inversão dos dois corantes usados, para minimizar os erros experimentais próprios de cada cianina, as quais apresentam eficiências distintas de incorporação durante a síntese da primeira fita de cDNA.

Além disso, cada experimento foi realizado em duplicata, tendo-se 2 lâminas para cada experimento abaixo, totalizando 8 lâminas de cada tipo, CP-1 e CP-2:

NC (Cy3) X R (Cy5)

NC (Cy5) X R (Cy3)

B (Cy3) X R (Cy5)

B (Cy5) X R (Cy3)

4.3.5 Marcação do RNAa

A marcação foi feita durante a síntese de primeira fita de cDNA, na presença dos fluorocromos. Uma alíquota de 4 µg de RNAa de cada amostra e 9 µg de oligo hexâmero randômico (PdN6) foi aquecida a 70° C por 10 minutos e resfriada em temperatura ambiente durante 10 minutos. Adicionou-se em seguida, tampão de reação IMPROM II 1X, MgCl₂ 6,4 mM, solução “*Low C*” de dNTPs (dATP, dGTP, dTTP 25 mM e dCTP 10 mM, Amersham Biosciences, EUA), 2 µL de Cy3-dCTP ou Cy5-dCTP 25 nmol (Amersham Biosciences, EUA), 20 U RNaseOUT (Invitrogen, EUA) e 2 µL de IMPROM II Reverse Transcriptase (Promega, EUA Corporation) num volume total de 30 µL, e incubou-se por 2 horas a 42° C. Para a degradação do RNA, 1,5 µL de EDTA 0,5 M e 1,5 µL de NaOH 1 M foram adicionados à solução e incubou-se durante 20 minutos a 70° C. Adicionou-se então 1,5 µL de HCl 1 M para neutralizar a solução. A purificação foi feita em colunas AutoSeq G-50 (Amersham Biosciences, EUA), conforme instruções do fabricante. Os cDNAs marcados e purificados foram então misturados aos pares (amostra e referência), e o volume foi ajustado para posterior adição da solução de hibridização, conforme descrito no item abaixo.

4.3.6 Hibridização e lavagens

As lâminas foram pré-hibridizadas em solução SSC 5X, SDS 0,2%, BSA 1%, solução Denhardt's 5X, durante pelo menos 12 horas a 42° C. Após este período, foram lavadas rapidamente em água destilada, e centrifugadas em tubo *Falcon* de 50 mL, a 1000 rpm durante 2 minutos, para retirar o excesso de umidade. As lâminas foram então aquecidas a 70° C por 2 minutos e mantidas nessa temperatura até a adição da sonda. A mistura das sondas marcadas foi então adicionada à solução de hibridização: SSC 5X, SDS 0,1%, 2 µg de BSA, 4 µg de poli-A (Amersham Biosciences, EUA), 4 µg de Cot-1 DNA (Gibco-BRL), solução Denhardt's 5X, formamida 25%, 10 µg DNA esperma de salmão. Em seguida, foi aquecida por 5 minutos a 95° C e adicionada ao compartimento da estação de hibridização (*HybStation* - Perkin Elmer, EUA). Incubou-se então por 1 hora a 55° C, 1 hora a 50° C e 18 horas a 42° C.

O excesso de material foi retirado por meio de lavagens com agitação suave a 37° C nas seguintes soluções: SSC 2X durante 15 minutos, 2 vezes em solução de SSC 0,1X e SDS 0,1% durante 15 minutos e 2 vezes em SSC 0,1X durante 15 minutos. As lâminas foram secas por meio de centrifugação em tubo *Falcon* de 50 mL, a 1000 rpm durante 2 minutos.

A imagem foi capturada em *scanner a laser* confocal com canal duplo, (*ScanArray Express*) e as primeiras análises foram feitas com o *software ScanArray Express* (Perkin Elmer Life Sciences, EUA).

4.3.7 Análise dos resultados

Todas as análises dos dados obtidos foram realizadas pelo Laboratório de Biologia Computacional do Hospital do Câncer (LBHC), coordenado pela Dra. Helena Brentani. Os *softwares* utilizados para as referidas análises foram desenvolvidos no próprio LBHC.

4.3.7.1 Pré-análise das lâminas hibridizadas

Uma vez capturados pelo *scanner*, os dados de cada lâmina foram submetidos a algumas análises de critério de qualidade, denominadas pré-análise. As lâminas com qualidade aprovada tiveram seus dados submetidos às análises estatísticas para a identificação dos genes diferencialmente expressos.

O primeiro passo foi a eliminação de todos os pontos da lâmina que apresentaram emissão de fluorescência igual ou menor que o sinal emitido pelo ruído (*background*). Esse cálculo foi feito com o valor de intensidade do *background* e o desvio-padrão calculado a partir da fluorescência emitida por cada *spot*. Esses valores foram usados para gerar uma distribuição normal com valor de corte de 95% (subtração local). Os pontos que apresentaram saturação de hibridização, isto é, emissão de sinal maior ou igual a 63000 ($65550 = 16 \text{ BIT}$), também foram eliminados. Nesse caso, a intensidade do sinal gerado supera a capacidade do detector de medir a intensidade proporcional de fluorescência, invalidando a quantificação.

4.3.7.1.1 Dendrograma

Foi feita uma clusterização hierárquica com distância euclidiana e *average linkage*, levando em consideração todos os pontos da lâmina e não apenas os expressos diferencialmente. No presente trabalho, esta análise foi feita para avaliar a reprodutibilidade experimental nos dois tipos de lâminas, CP-1 e CP-2, separadamente.

4.3.7.1.2 MM Plot

O gráfico MM analisa a qualidade da marcação dos fluoróforos Cy3 e Cy5, mostrando a correlação entre a lâmina controle e a *swap*, através de uma Correlação de Pearson, a qual determina uma medida do grau de relacionamento linear entre duas variáveis aleatórias. Trata-se de um gráfico de dispersão de pontos, onde M é o logaritmo na base 2 da relação entre os valores de intensidade de cada gene nos dois canais, ou seja, $M = \log_2 R/G$ (sendo R o sinal emitido por Cy5, e G o sinal emitido por Cy3).

4.3.7.1.3 MA, Log X Log e *BoxPlot*

São análises dos valores de intensidade de fluorescência de cada gene, após a subtração de sinal do *background* e sem nenhum tipo de normalização dos dados.

No gráfico MA, onde $M = \log_2 R/G$ e $A = \log_2 \sqrt{R \cdot G}$, no eixo Y está o logaritmo da relação entre os valores de intensidade de cada gene (M), e no eixo X, a média das intensidades (A) (DUDOIT *et al.* 2002). A linha representa a reta de regressão que será usada no processo de normalização de LOWESS, descrito no item 4.3.7.1.4.

O gráfico denominado *Box plot* representa a dispersão dos pontos de cada *sub-array*, com 121 pontos cada um. O bloco verde representa a concentração da maior parte dos pontos, segundo a razão da intensidade. A linha central representa a mediana de cada *box plot*, calculada levando em consideração apenas os pontos daquele *sub-array* (ALLISON *et al.* 2006).

4.3.7.1.4 Normalização dos dados

O objetivo da normalização dos dados é minimizar as variações sistemáticas introduzidas experimentalmente nas medidas de expressão dos genes, para diminuir os artefatos e distinguir melhor as diferenças biológicas. Nesse trabalho, utilizamos a normalização de LOWESS (YANG *et al.* 2002), levando em conta os x% de pontos mais próximos ao ponto analisado, pois acreditamos que existam variações de acordo com a intensidade de sinal dos pontos. Definem-se janelas com intervalos pré-determinados que variam entre 0 e 100%. Nessa análise, usamos um intervalo de 20%, que é padrão para as análises de *microarrays*.

4.3.7.2 Análise das diferenças de expressão gênica

Uma vez aprovadas com qualidade satisfatória em todos os itens de pré-análise, as lâminas foram submetidas às análises de diferenças de expressão dos genes.

Os valores relativos normalizados de cada gene foram submetidos ao teste T de *Student* para determinar o valor p , para a expressão de cada gene individualmente nas diferentes amostras. Foram considerados como diferencialmente expressos aqueles genes cuja intensidade apresentou valor de diferença de expressão (razão) de pelo menos duas vezes e valor $p < 0,05$. Os genes diferencialmente expressos, nas duas lâminas estudadas foram classificados em induzidos (“+”) ou suprimidos (“-”), nas seguintes comparações:

Amostra NC com a referência (R): NC x R

Amostra B com a referência (R): B x R

Amostra B/R com amostra NC/R: B x NC

Dessas comparações foram obtidas as listas dos genes com expressão diferencial em cada condição, contendo sua razão de expressão entre as amostras, ou seja, o número de vezes que o gene teve sua expressão induzida ou suprimida.

Numa próxima etapa, estas listas foram comparadas entre si para identificar os genes que apresentavam sobreposição entre elas, indicando sua expressão diferencial em mais de uma comparação. Essa análise gerou os Diagramas Venn.

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Confeção dos *microarrays*

4.4.1.1 Seleção *in silico* dos fragmentos de interesse

As tabelas B1 e B2, apresentadas em Anexos B, trazem as informações dos genes representados nas lâminas CP-1 e CP-2, respectivamente. São mostrados os clones do Banco do Genoma da Vassoura-de-Bruxa usados, e os resultados das análises de BLASTx, para cada um deles.

4.4.1.2 Rearranjo dos clones de interesse, amplificação e purificação dos fragmentos selecionados

O rearranjo dos clones e a amplificação e purificação dos fragmentos foi uma parte trabalhosa e delicada deste trabalho, exigindo muito cuidado e atenção em todas as etapas.

A Figura 2 mostra como exemplo o gel de agarose com fragmentos de PCR dos clones selecionados de duas placas rearranjadas após a purificação.

Os produtos apresentaram intensidades semelhantes, o que indica concentração semelhante dos diferentes produtos de PCR impressos nas lâminas. Além disso, observa-se que o tamanho dos fragmentos varia entre 500 e 2000 pb.

4.4.2. Cultivo de *C. perniciosus* *in vitro* e extração do RNA total

O gel de agarose-formaldeído com o RNA total das amostras experimentais está mostrado na Figura 3. Pode-se notar que a qualidade dos materiais é boa, com as bandas correspondentes ao RNA ribossômico 28S e 18S mostrando intensidade proporcional a seu tamanho.

4.4.3 Amplificação e marcação do RNA total

A Figura 4 mostra o gel de agarose-TAE contendo as amostras de RNA amplificado. O arrasto mostra que houve amplificação de moléculas de 300 a 650 pb, com predomínio na faixa entre 300 e 500 pb, indicando que as amostras amplificadas estão com boa qualidade.

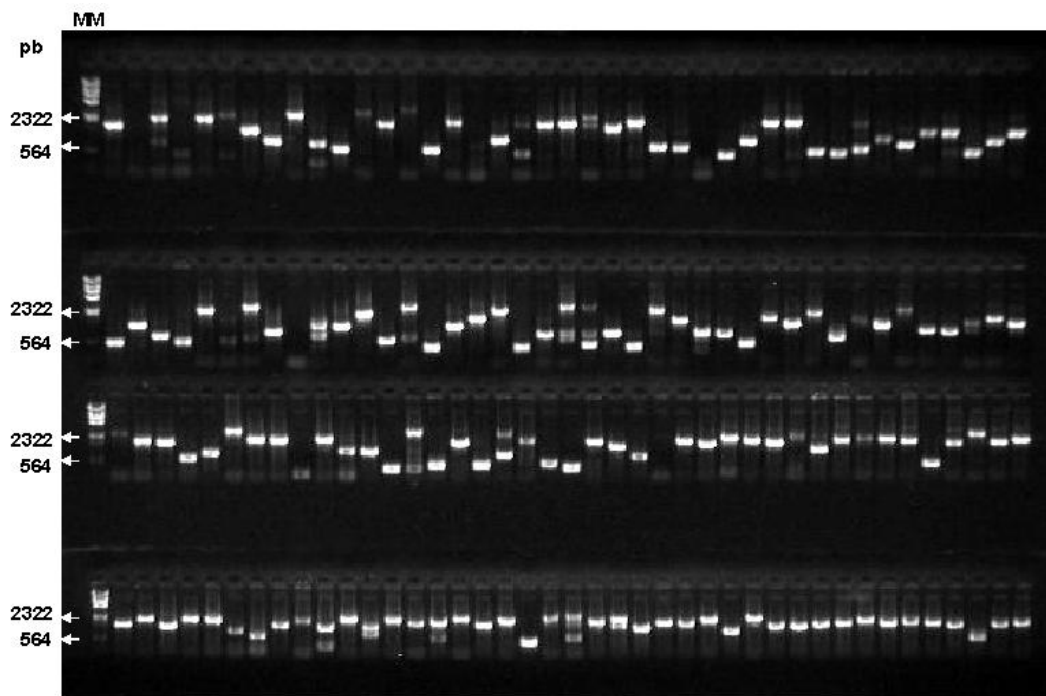


Figura 2: Produtos da amplificação do DNA dos clones por PCR com os iniciadores universais M13pUC23 F e R. **MM:** Marcador Lambda DNA *Hind* III (Invitrogen, EUA).

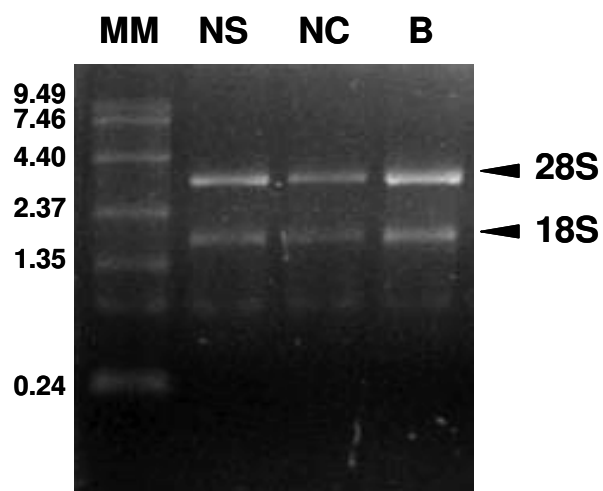


Figura 3: RNAs totais de *C. pernicioso* extraído a partir de culturas de micélio necrotrófico cultivado sem extrato de cacau (NS), necrotrófico cultivado com extrato de cacau (NC) e micélio biotrófico (B); (MM) Marcador molecular (*RNA ladder*, Gibco-BRL).

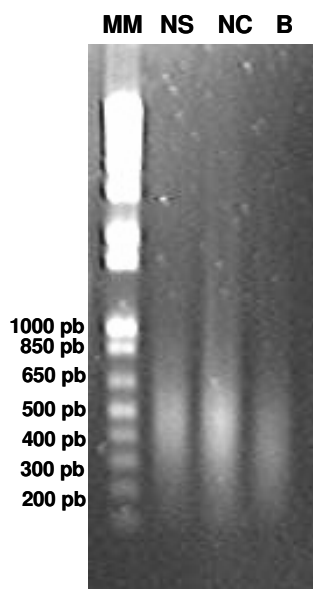


Figura 4: RNAs amplificados de *C. pernicioso* a partir de culturas de micélio necrotrófico sem extrato de cacau (NS), micélio necrotrófico com extrato de cacau (NC) e micélio biotrófico (B); (MM) Marcador molecular (*1Kb Plus DNA Ladder* – Invitrogen, EUA).

4.4.4 Hibridização e lavagens

A Figura 5 apresenta figuras formadas pela composição das imagens obtidas com os filtros para as duas cianinas, em um experimento controle e no *swap*, ou seja, com a inversão dos corantes. Em 5A, temos a amostra NC (A1: amostra NC marcada com Cy3 e amostra referência (NS) marcada com Cy5; A2: amostra referência marcada com Cy3 e NC marcada com Cy5). Em 5B, temos a amostra B (B1: amostra B marcada com Cy3 e amostra referência marcada com Cy5; B2: amostra referência marcada com Cy3 e B marcada com Cy5).

Pode-se notar visualmente que na amostra NC praticamente não existem genes com expressão diferencial em relação à amostra referência. No caso da amostra B, os vários pontos verdes e vermelhos indicam genes diferencialmente expressos. É muito interessante notar que neste caso, quando um ponto aparece vermelho numa lâmina, o mesmo aparece verde na lâmina *swap*, e vice-versa, o que seria realmente esperado.

A técnica de amplificação do RNA total foi utilizada com sucesso, como relatado na literatura (WANG *et al.* 2000; FELDMAN *et al.* 2002; GOMES *et al.* 2003; GOMES *et al.* 2005). Esta técnica com um ou dois *rounds* de amplificação preserva a fidelidade nas análises de *microarrays* quando comparadas a RNA total. Além disso, proporciona uma melhor razão sinal/ruído, com aumento de 6% de *spots* com sinal maior que o *background*, quando comparado com dados obtidos com RNA não amplificado (FELDMAN *et al.* 2002; GOMES *et al.* 2003). Este efeito pode ser devido a melhor qualidade do RNAa, o qual é transcrito *in vitro* sob condições ótimas, não estando sujeito aos efeitos das RNases e outros fatores presentes nas células e tecidos (FELDMAN *et al.* 2002).

4.4.5 Pré-análise das lâminas hibridizadas

4.4.5.1 Dendrograma

Estas análises foram feitas para avaliar a reprodutibilidade experimental dos dois tipos de lâminas, CP-1 e CP-2, separadamente. O resultado gerado permite a visualização das similaridades das amostras, tornando-se um controle da parte experimental. Espera-se encontrar maior semelhança primeiramente

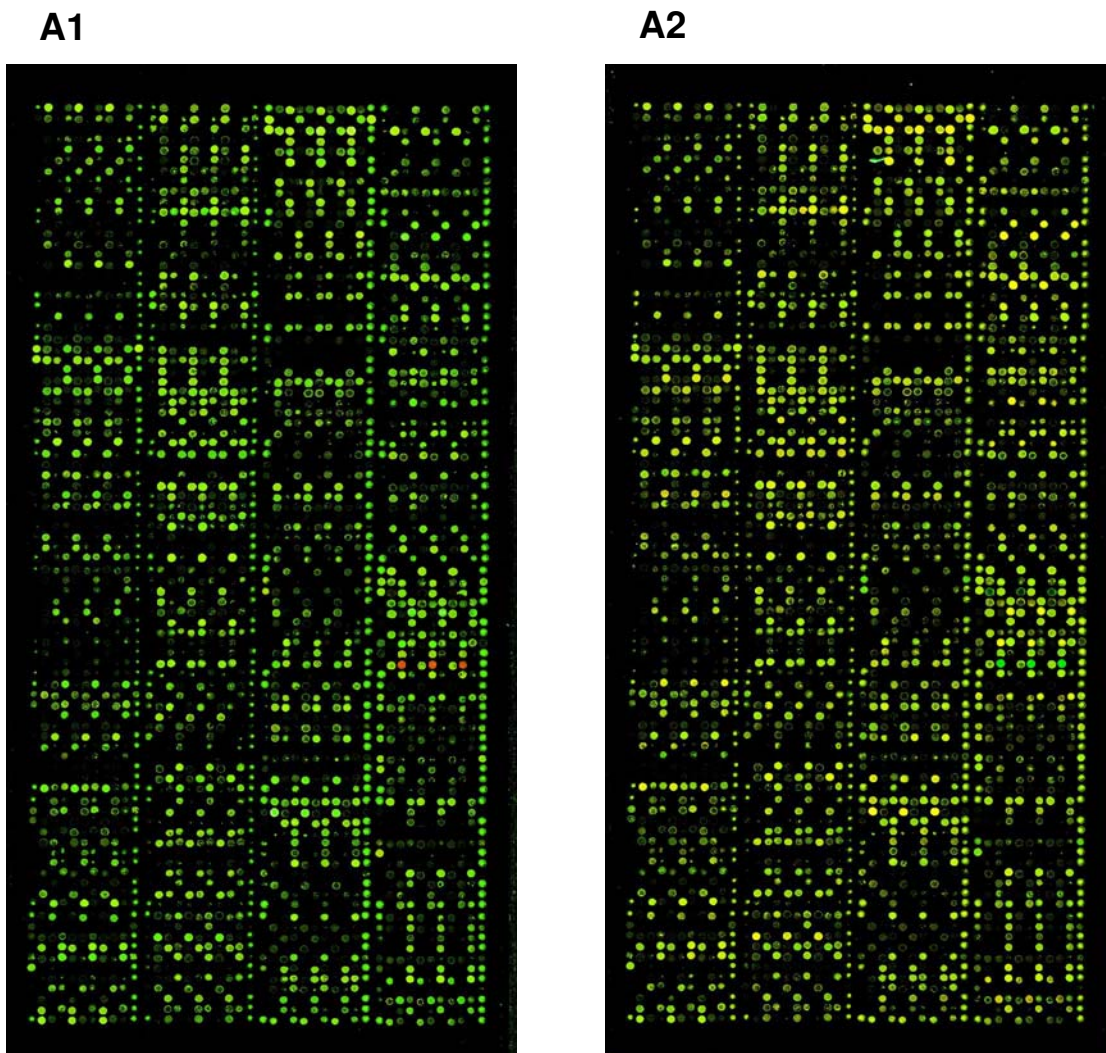


Figura 5A: Figura formada pela composição das imagens obtidas com os filtros para as duas cianinas, de um experimento controle e seu *swap*, onde se compara o padrão de expressão gênica da Amostra NC (micélio necrotrófico cultivado com extrato de cacau) e da Amostra Referência (NS - micélio necrotrófico cultivado sem extrato de cacau); (A1) Amostra NC marcada com Cy3, Amostra Referência NS marcada com Cy5, (A2) Amostra NC marcada com Cy5, Amostra Referência NS marcada com Cy3.

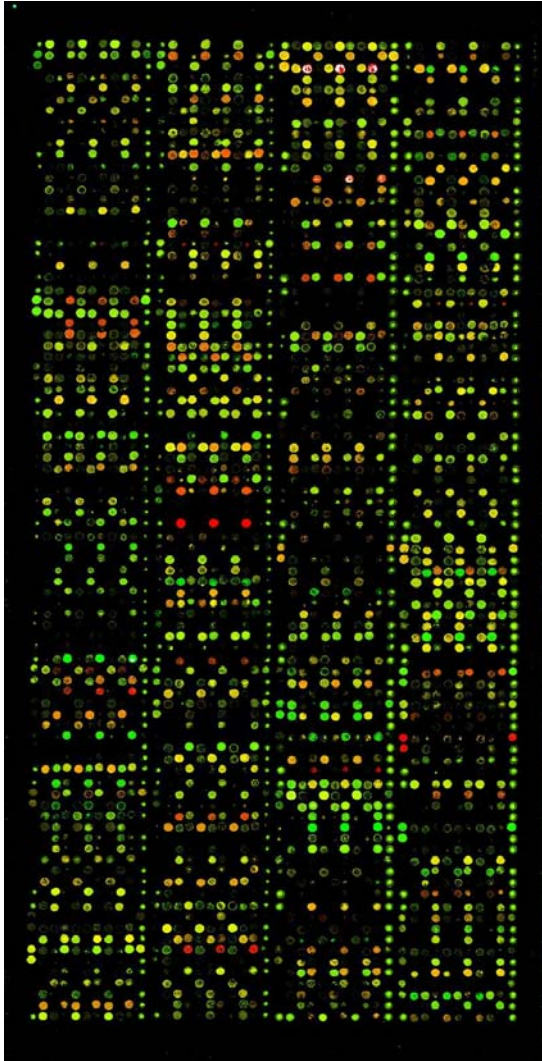
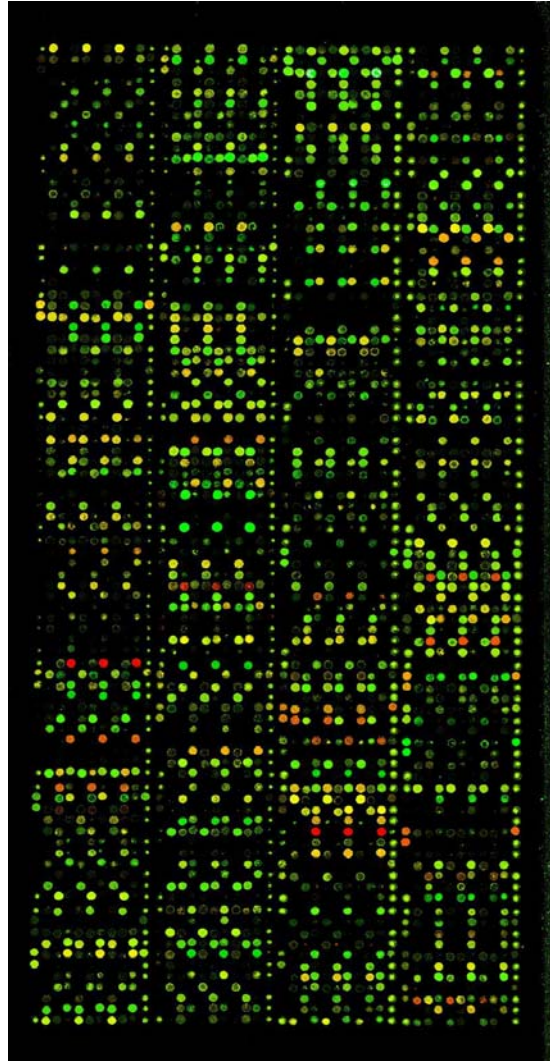
B1**B2**

Figura 5B: Figura formada pela composição das imagens obtidas com os filtros para as duas cianinas, de um experimento controle e seu *swap*, onde se compara o padrão de expressão da Amostra B (micélio biotrófico) e da Amostra Referência (NS - micélio necrotrófico cultivado sem extrato de cacau); (B1) Amostra B marcada com Cy3, Amostra Referência NS marcada com Cy5; (B2) Amostra B marcada com Cy5, Amostra Referência NS marcada com Cy3.

entre as repetições das lâminas, pois são experimentos idênticos, e depois entre as lâminas controle e *swap*, uma vez que são réplicas com inversão dos corantes. De fato, é o que se observa nos gráficos obtidos, mostrados em Anexos A.

4.4.5.2 MM Plot

Na Figura 6, temos dois exemplos dos gráficos MM. Em cada eixo está representada uma das lâminas analisadas (controle e *swap*), sendo mostradas as amostras de micélio necrotrófico cultivado com extrato de cacau (NC) em I, e micélio biotrófico (B) em II (A e B: antes e após a normalização dos dados, respectivamente).

É interessante observar que para a amostra NC (necrotrófico com cacau), os pontos concentram-se próximos de zero após a normalização dos dados (I-B), sugerindo que a expressão dos genes nesta amostra é muito semelhante ao da amostra referência, NS (necrotrófico sem cacau). Já na amostra B, após a normalização (II-B), os pontos distribuem-se de forma a se ter uma reta, com valores variando entre -4 e 4, mostrando uma variação constante da intensidade do sinal dos genes nas lâminas controle e *swap*.

4.4.5.3 MA, Log X Log e BoxPlot

Na Figura 7, temos em I: amostra NC e em II: amostra B. Em A está o gráfico com a relação da intensidade bruta da lâmina para as marcações com Cy3 e Cy5, onde os pontos em vermelho foram retirados da análise pelos motivos citados no item 4.3.7.1. Em B, está o gráfico MA, onde no eixo Y está o logaritmo da relação entre os valores de intensidade de cada gene (M), e no eixo X, a média das intensidades (A). Em C, temos o gráfico representativo da lâmina, com os pontos em azul, no caso muito poucos, representando os genes que foram excluídos pelo programa *Scanarray* ou manualmente. O gráfico D, denominado *Box plot*, representa a dispersão dos pontos em cada *sub-array* da lâmina analisada.

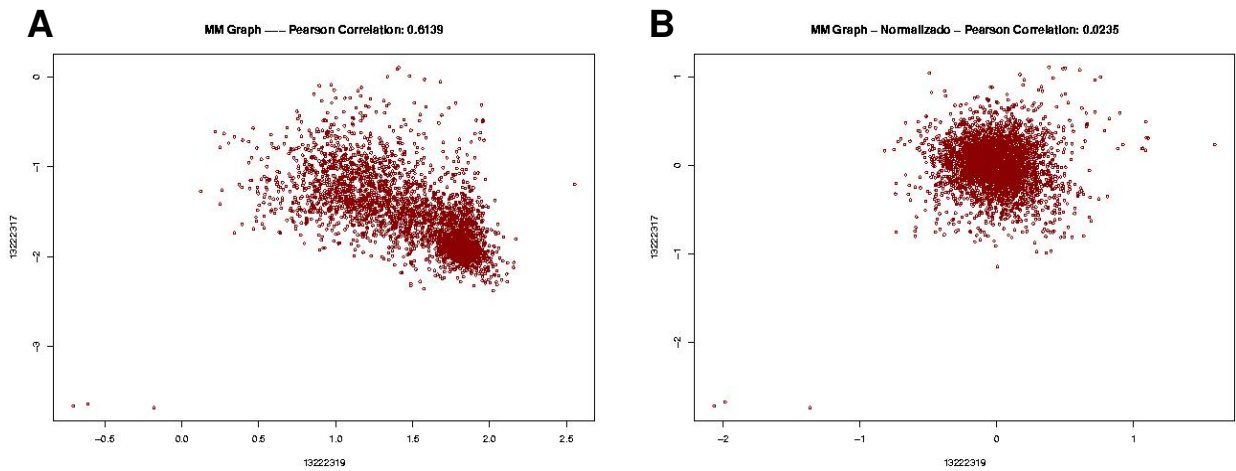
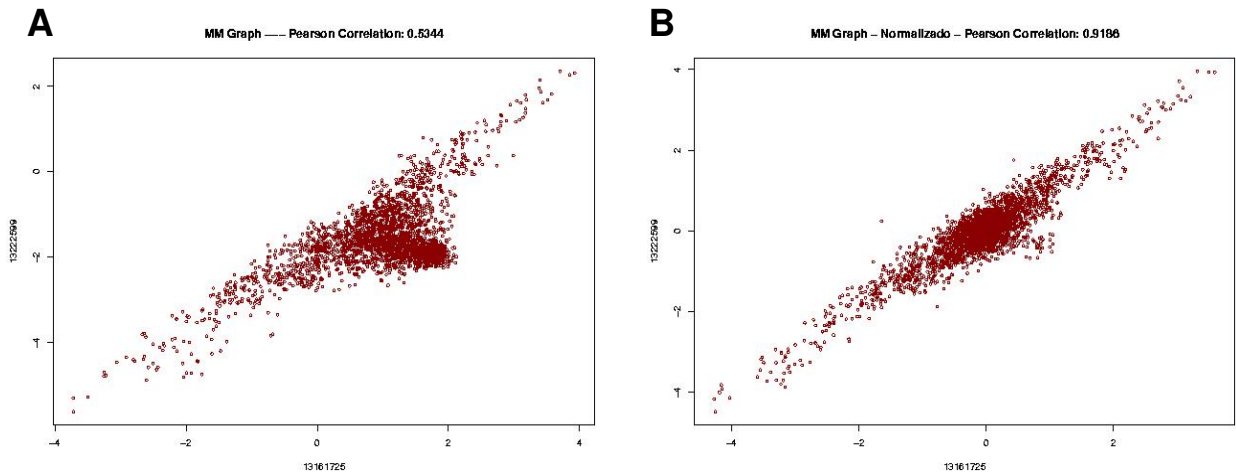
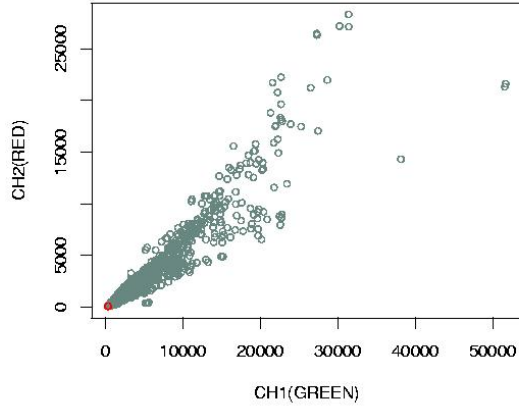
I**II**

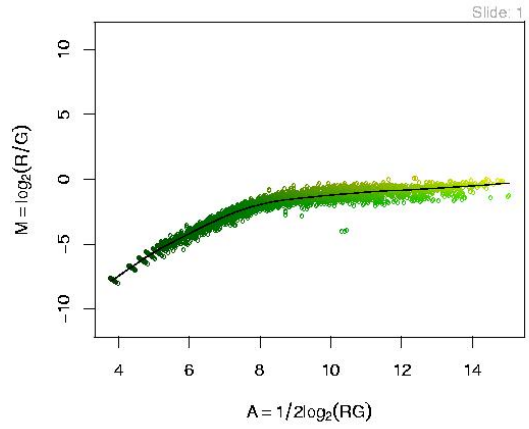
Figura 6: Gráfico MM da Correlação de Pearson das amostras NC (I) e B (II) (A e B: antes e após a normalização dos dados, respectivamente). Eixo X: lâmina controle (Amostra teste marcada com Cy3 e Amostra referência com Cy5); Eixo y: lâmina *swap* (Amostra referência marcada com Cy3 e Amostra teste com Cy5).

I

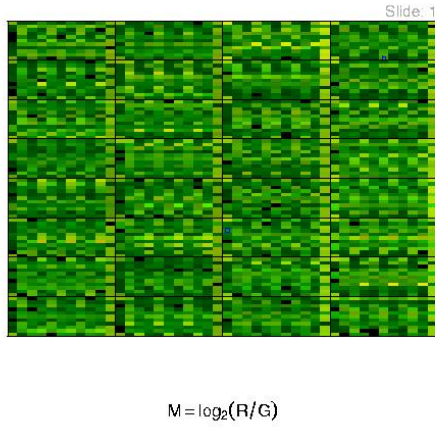
A 13222317 FLAGS: 2 CH1out: 0 CH2out: 37



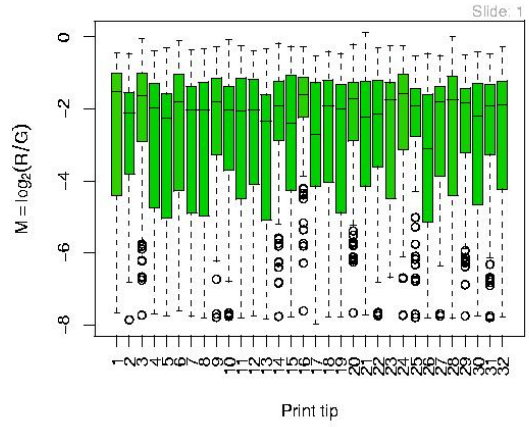
B 13222317



C 13222317



D 13222317



Tue Dec 20 15:05:52 2005

II

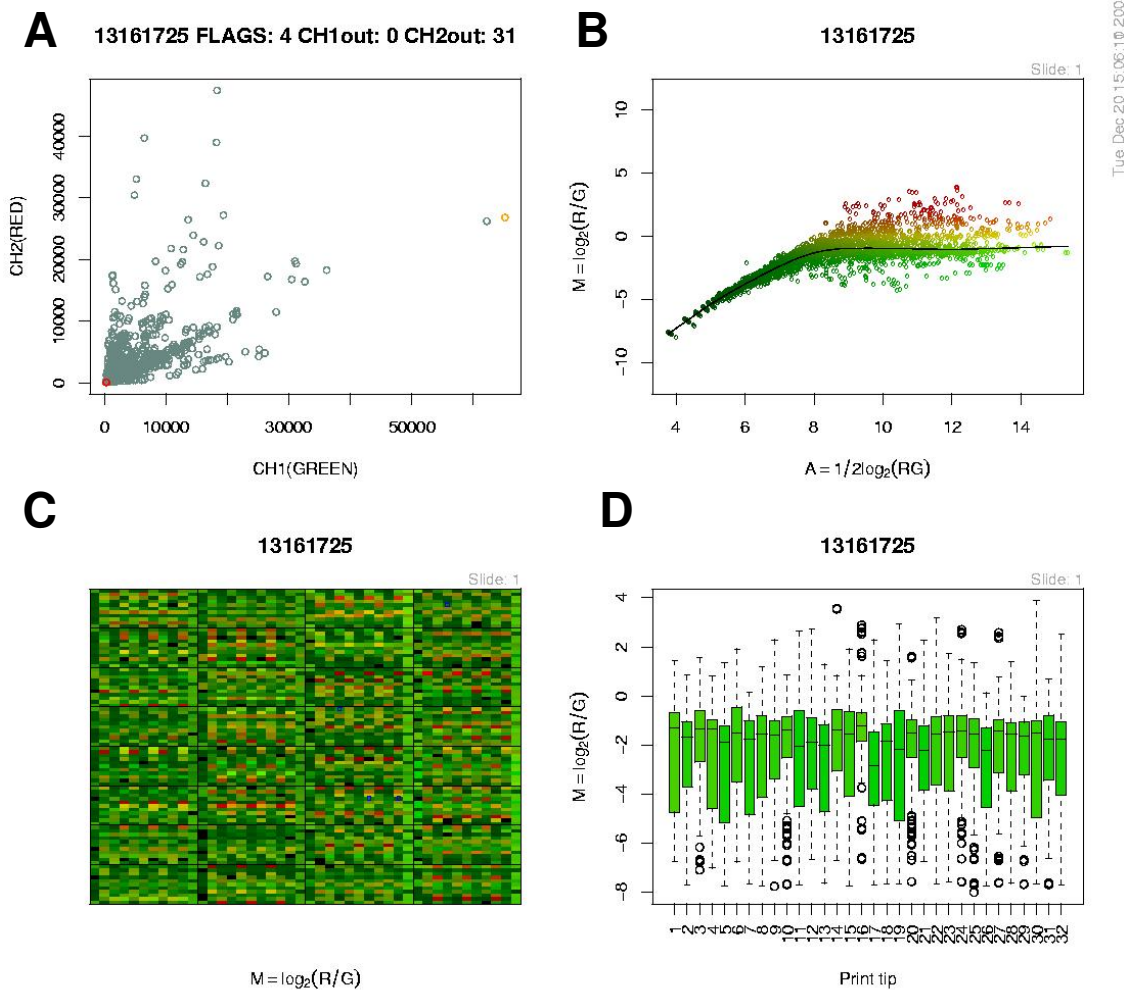


Figura 7: (A) Gráfico com a relação da intensidade bruta da lâmina para as marcações com Cy3 e Cy5; pontos em vermelho foram retirados da análise. (B) Gráfico MA: no eixo Y o logaritmo da razão Cy3/Cy5, e no eixo X a média das intensidades em escala logarítmica; a linha representa a reta de regressão usada no processo de normalização de Lowess. (C) Gráfico representativo da lâmina, com os pontos em azul representando os genes que foram excluídos pelo programa *Scanarray* ou manualmente. (D) *Box Plot*: dispersão dos pontos de cada *sub-array*, com 121 pontos cada um. O bloco verde representa a concentração da maior parte dos pontos, segundo a razão da intensidade. A linha é a mediana calculada levando em consideração apenas os pontos do bloco verde. (I) Amostra NC; (II) Amostra B.

Mais uma vez, os resultados obtidos sugerem que existe uma grande semelhança entre o padrão de expressão dos genes da amostra NC (necrotrófico com cacau) e da amostra referência - NS (necrotrófico sem cacau). Já na amostra B (micélio biotrófico) observamos uma maior distribuição dos pontos de intensidade dos genes, sugerindo algumas diferenças na expressão dos genes.

4.4.5.4 Normalização dos dados

Na Figura 8, os histogramas A e B mostram a distribuição da medida relativa dos dados de uma amostra teste e sua referência, antes e depois da normalização. Os gráficos C e D mostram a distribuição dessa medida segundo a intensidade de fluorescência. Em A e C, usou-se os dados não normalizados, e em B e D, os dados normalizados. Em I temos a amostra NC e em II a amostra B.

Nota-se novamente que para a amostra NC (I) após a normalização dos dados, a grande maioria dos dados ficou próximo de zero tanto no histograma e como no gráfico MA. Isto indica que o comportamento da maioria dos genes entre as amostras é muito parecido. No caso da amostra B (II), no histograma com os dados normalizados, nota-se uma distribuição normal dos pontos ao redor do zero. No gráfico MA uma dispersão maior dos pontos em torno da linha de referência ou no zero, aparentemente mostrando diferenças de expressão para alguns genes.

Dessa forma, uma análise geral dos gráficos obtidos nos faz acreditar que nossa normalização cumpriu seu papel.

4.4.6 Análise das diferenças de expressão gênica

Os diagramas Venn obtidos estão apresentados na Figura 9. Estes diagramas foram feitos a partir da comparação das listas dos genes diferencialmente expressos em cada condição: induzido e suprimido para identificar os genes que foram expressos diferencialmente em mais de uma comparação, ou seja, os genes que apresentam sobreposição nas listas geradas entre as diferentes comparações.

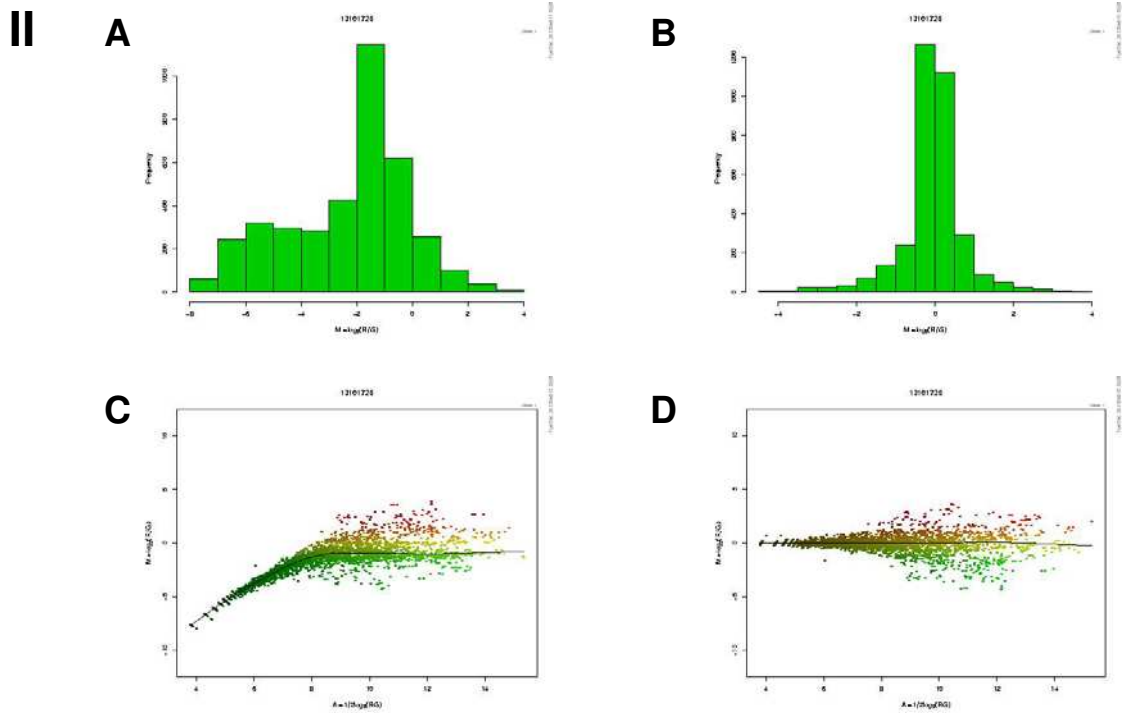
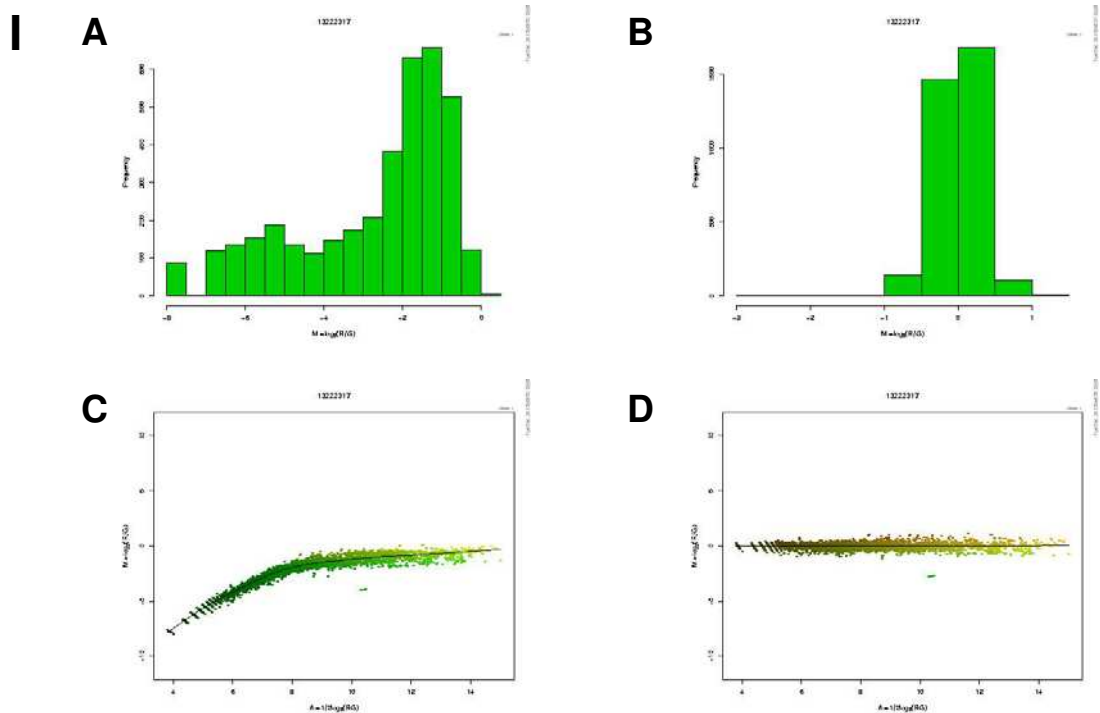


Figura 8: (A e B) Histograma com a distribuição relativa dos dados de uma amostra teste e da referência, antes e após a normalização, respectivamente. (C e D) Gráfico MA com a distribuição da medida de intensidade de fluorescência para uma amostra teste e a referência, antes e após a normalização, respectivamente. (I) amostra NC; (II) amostra B.

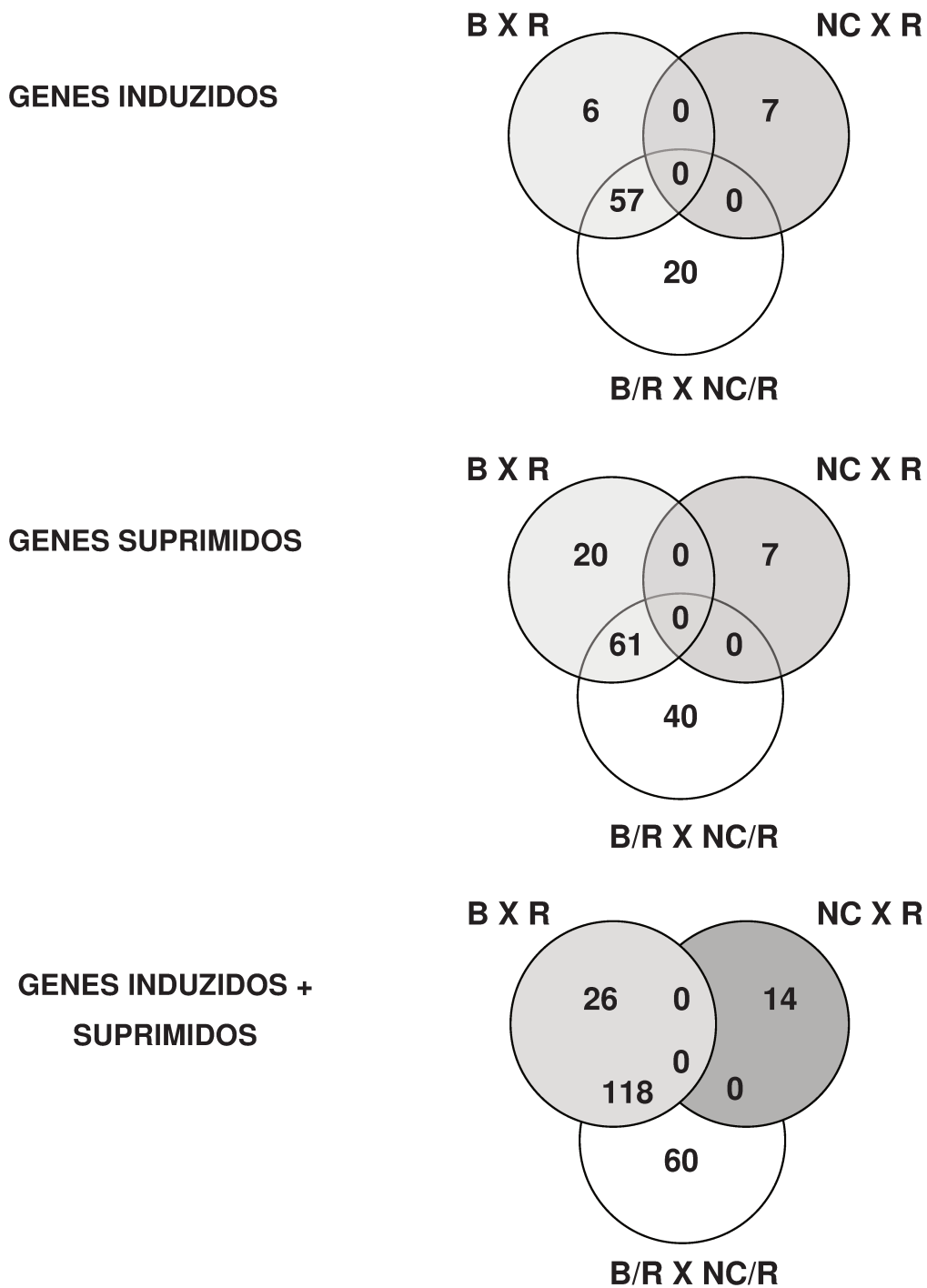


Figura 9: Diagramas Venn obtidos com as comparações das listas dos genes diferencialmente expressos entre as amostras: B (micélio biotrófico) x R (Referência: NS - micélio necrotrófico cultivado sem extrato de cacau), NC (micélio necrotrófico cultivado com extrato de cacau) x R e B/R x NC/R; (A) Genes Induzidos, (B) Genes Suprimidos, (C) Genes Induzidos + Suprimidos.

As Tabelas 1 e 2 trazem os genes diferencialmente expressos representados na Figura 9, sendo 57 induzidos e 61 suprimidos, respectivamente, que apresentaram sobreposição nas comparações B x R e B x NC.

Esse grupo é composto por 118 genes, cerca de 5% do total de 2.300 genes representados nas 2 lâminas, CP-1 e CP-2.

Acredita-se que esse grupo de genes é altamente confiável, uma vez que se sobrepõe nas comparações entre o micélio biotrófico e os micélios necrotróficos sem cacau (NS, usado como referência, R) e com cacau (NC), esses dois últimos muito semelhantes, com um número muito pequeno de genes com expressão diferencial entre si.

A seguir, discutiremos alguns dos genes mostrados na Tabelas 1 e 2, com expressão diferencial induzida ou suprimida, que acreditamos serem relevantes para uma maior compreensão do metabolismo do micélio biotrófico do fungo e para o desenvolvimento da doença vassoura-de-bruxa.

Dentre os genes diferencialmente expressos, encontramos vários genes do metabolismo de carbono, com expressão suprimida no micélio biotrófico em relação ao necrotrófico, os quais serão discutidos detalhadamente abaixo.

Detectamos a supressão da expressão no micélio biotrófico de *C. pernicioso* de três genes envolvidos no transporte de hexoses em 8,37, 4,11 e 2,52 vezes (2, 18 e 48 da Tabela 2), dois genes de gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH), em 3,51 e 3,3 vezes (24 e 30 da Tabela 2) e três genes fosfoglucose isomerase em aproximadamente 2,24, 2,17 e 2,13 vezes (53, 55 e 57 da Tabela 2). Esses dados indicam menor absorção de hexoses, e possivelmente uma preferência do micélio desta fase por fontes de energia alternativas às hexoses.

A enzima UDP-glucose-4-epimerase atua na interconversão de UDP-glucose e UDP-galactose (LAKE *et al.* 1998). Esta função é muito importante para o parasita *Trypanosoma cruzi*, o qual incorpora galactose em muitos glicoconjugados da superfície celular, mas é incapaz de transportar esse açúcar através de seu transportador de hexose. Nesse caso, a epimerização de UDP-glucose a UDP-galactose pode ser a única forma deste parasita obter galactose

Tabela 1: Genes com expressão induzida no micélio biotrófico (B) em comparação com o micélio necrotrófico cultivado com cacau (NC) e com o micélio necrotrófico cultivado sem cacau (NS): clone, resultado de BLAST, e-value e razão de expressão (B / NC)

	Clone	Resultado de BLAST	e-value	B / NC
1	CP02-S2-041-313-EM-F-F05	agglutinin [Marasmius oreades]	2e-14	63,82
2	CP02-S2-000-183-UE-F-C03	(NM_077820) lipase [Caenorhabditis elegans]	1e-05	6,88
3	CP02-S2-028-232-UE-F-C02	(AL137130) putative transmembrane channel protein [Schizosaccharomyces pombe]	2e-06	6,60
4	CP02-S3-038-516-UE-F-D10	(NC_001142) Pathogen Related in Sc, contains homology to the plant PR-1 class of pathogen related proteins. The protein sequence is over 60% identical with the Pry2p & Pry3p over 145 resid. PRY1 is >35% identical (50% similar) to tobacco PR-1c protein.	6e-07	6,57
5	CP02-S2-000-150-CL-F-H05	pol protein [Glomerella cingulata]	4e-15	5,58
6	CP02-S2-000-106-UE-F-D10	hypothetical protein [Neurospora crassa]	2e-05	5,49
7	CP02-S2-025-301-UC-F-D07	protease [Amanita muscaria]	1e-32	5,35
8	CP02-S2-028-248-UE-R-B05	(Y14657) hydrophobin [Pleurotus ostreatus]	4e-08	5,34
9	CP02-S2-000-178-UE-F-D01	laccase 1 [Lentinula edodes]	9e-23	5,28
10	CP02-S2-000-175-UC-F-G08	(AB026999) glia maturation factor beta [Cyprinus carpio]	4e-13	4,79
11	CP02-S3-000-100-UC-F-D08	guanylyltransferase [Deinococcus radiodurans]	5e-11	4,58
12	CP02-S2-032-330-UE-F-A11	(AF099904) neutral protease I [Aspergillus oryzae]	6e-19	4,36
13	CP02-S3-036-547-UC-G-E04	Glucose-methanol-choline (GMC) oxidoreductase [Nitrosomonas europaea ATCC 19718]	1e-06	4,34
14	CP02-S3-000-103-UC-F-C02	(BC012721) Similar to IFN-gamma induced [Mus musculus]	2e-10	4,32
15	CP02-S2-028-248-UE-F-D12	(AL035216) putative U3 snoRNP component; putative component of box C/D snoRNPs; involved in 2'-O-methylation of ribosomal RNAs; similar to S. cerevisiae SIK1 [Schizosaccharomyces pombe]	9e-27	4,29
16	CP02-S2-032-299-UE-F-B06	(AJ276219) putative epoxide hydrolase [Stigmatella aurantiaca]	2e-13	4,27
17	CP02-S2-000-121-UE-F-G01	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	7e-08	4,20
18	CP02-S2-000-195-UE-F-A01	FLUG PROTEIN	2e-13	4,12
19	CP02-S2-000-204-UC-F-C10	(AF257215) cyclohexanone monooxygenase 2 [Brevibacterium sp. HCU]	1e-40	4,10
20	CP02-S3-036-505-UE-F-E05	pathogenesis-related protein, putative [Arabidopsis thaliana]	2e-08	3,95
21	CP02-S2-000-127-UE-F-A07	(AF275346) alcohol oxidase; AOX1 [Cladosporium fulvum]	4e-25	3,95
22	CP02-S2-000-113-UE-F-H11	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	1e-11	3,87
23	CP02-S2-000-215-UC-F-F06	(Y15284) NAD-specific glutamate dehydrogenase [Agaricus bisporus]	6e-48	3,73
24	CP02-S2-041-316-EM-F-E07	(Y10627) CoH1 [Coprinopsis cinerea]	2e-14	3,72
25	CP02-S2-000-190-UE-F-D05	(AJ278532) dipeptidyl aminopeptidase type IV [Aspergillus niger]	3e-10	3,69
26	CP02-S2-000-175-UC-F-F08	(AJ010725) trehalose-6-phosphate synthase [Pichia angusta]	3e-09	3,60
27	CP02-S3-040-596-UE-F-C10	similar to hypothetical protein FLJ23749 [Rattus norvegicus]	1e-09	3,59
28	CP02-S3-036-561-UC-F-E02	Gal6, Yeast Bleomycin Hydrolase Dna-Binding Protease (Thiol)	5e-11	3,54
29	CP02-S2-032-310-UE-F-F08	O-methylsterigmatocystin oxidoreductase (OMST oxidoreductase) (Cytochrome P450 64)	1e-17	3,48

30	CP02-S3-000-067-UC-G-B06	(NC_001148) Hypothetical ORF; Ypl141cp [Saccharomyces cerevisiae]	7e-28	3,42
31	CP02-S2-022-273-UC-R-E11	(Z99163) WD repeat protein [Schizosaccharomyces pombe]	2e-06	3,36
32	CP02-S2-000-106-UE-R-E12	(AE003537) CG10133 gene product [Drosophila melanogaster]	1e-09	3,24
33	CP02-S2-028-245-UE-R-A11	hypothetical protein B24M22.110 [imported] - Neurospora crassa	8e-08	3,09
34	CP02-S3-036-123-FS-F-F10	hypothetical protein [Neurospora crassa]	1e-11	3,05
35	CP02-S2-038-290-EM-F-E10	(AJ320546) hydrophobin 3 [Dictyonema glabratum]	3e-16	3,01
36	CP02-S2-000-112-UE-F-B06	(AP002521) Similar to Arabidopsis thaliana chromosome II BAC F26H6; putative retroelement pol polyprotein (AC006920) [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	1e-10	2,97
37	CP02-S2-032-296-UE-F-B08	(AE003748) CG5789 gene product [Drosophila melanogaster]	4e-12	2,86
38	CP02-S3-033-436-UE-F-D05	(NZ_AAAC01000214) hypothetical protein [Burkholderia fungorum]	1e-06	2,85
39	CP02-S2-032-330-UE-F-B01	CHITINASE 1 PRECURSOR	5e-27	2,82
40	CP02-S2-038-266-EM-F-F08	(AJ293761) putative xylanase [Agaricus bisporus]	6e-06	2,82
41	CP02-S2-033-358-UE-F-C11	Pathogenesis-related protein 1A precursor (PR-1A)	6e-08	2,73
42	CP02-S2-033-357-UE-F-C03	(AB070739) exo-beta-1, 3-glucanase [Aspergillus phoenicis]	5e-07	2,68
43	CP02-S2-000-111-CL-F-B06	CARBOXYPEPTIDASE Y PRECURSOR (CARBOXYPEPTIDASE YSCY)	9e-18	2,60
44	CP02-S2-028-244-UE-R-F05	(X89263) putative mannosyl transferase [Candida albicans]	5e-15	2,60
45	CP02-S2-032-341-UE-F-A08	(AL731691) possible basic proline-rich protein [Aspergillus fumigatus]	4e-07	2,59
46	CP02-S2-028-249-UE-F-F05	acyl-peptide hydrolase-like; protein id: At5g36210.1 [Arabidopsis thaliana]	3e-15	2,59
47	CP02-S2-024-294-UC-F-C06	(Z50095) CEL4b mannanase [Agaricus bisporus]	5e-24	2,52
48	CP02-S2-000-107-UE-R-D03	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	5e-23	2,52
49	CP02-S2-032-475-UC-F-A10	(AP004259) putative zinc-finger helicase [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	2e-07	2,48
50	CP02-S3-000-108-UC-F-H08	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase (G6PD)	3e-12	2,42
51	CP02-S3-040-591-UE-F-B10	glutathione S-transferase family protein [Caulobacter crescentus CB15]	6e-09	2,32
52	CP02-S2-000-103-UE-R-D01	(XM_034413) KIAA0993 protein [Homo sapiens]	4e-06	2,28
53	CP02-S2-000-101-UE-F-H05	(AF312322) multicopper oxidase [Fusarium proliferatum]	5e-20	2,27
54	CP02-S2-000-105-UE-R-D10	(AB030037) fatty acid omega-hydroxylase (P450foxy) [Fusarium oxysporum]	6e-24	2,14
55	CP02-S2-000-114-UC-F-C06	(L47287) glyoxal oxidase precursor [Phanerochaete chrysosporium]	3e-08	2,14
56	CP02-S2-000-178-UC-F-B06	(NC_003424) pentafunctional arom polypeptide [includes 3-dehydroquininate synthase](ec 4.6.1.3); 3-dehydroquininate dehydratase [Schizosaccharomyces pombe]	3e-10	2,13
57	CP02-S2-000-161-UE-F-B09	GLUTATHIONE S-TRANSFERASE PM239X14 (GST CLASS-PHI)	3e-05	2,09

Tabela 2: Genes com expressão suprimida no micélio biotrófico (B) em comparação com o micélio necrotrófico cultivado com cacau (NC) e com o micélio necrotrófico cultivado sem cacau (NS): clone, resultado de BLAST, e-value e razão de expressão (B / NC)

	Clone	Resultado de BLAST	e-value	B / NC
1	CP02-S2-032-314-UE-F-B09	(XM_115722) similar to malonyl-CoA decarboxylase (EC 4.1.1.9) - goose [<i>Homo sapiens</i>] *	1e-19	-11,06
2	CP02-S2-032-378-UE-F-D12	(U51032) Hxt7p: Hexose transporter; expression is dependent on Snf3p [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	2e-11	-8,37
3	CP02-S2-006-126-UC-R-C05	(AF429385) phosphomevalonate kinase [<i>Hevea brasiliensis</i>]	7e-27	-8,19
4	CP02-S2-000-181-UE-F-A06	CYTOCHROME P450 6B5 (CYPVIB5) (CYP6B5V1)	1e-07	-7,15
5	CP02-S2-032-314-UE-F-B12	(XM_115722) similar to malonyl-CoA decarboxylase (EC 4.1.1.9) - goose [<i>Homo sapiens</i>]	1e-19	-6,62
6	CP02-S2-000-161-UE-F-A02	(NC_001263) GMC oxidoreductase [<i>Deinococcus radiodurans</i>]	1e-10	-6,42
7	CP02-S2-024-295-UC-F-C05	(X98860) isocitrate lyase [<i>Coprinopsis cinerea</i>]	9e-33	-6,22
8	CP02-S2-000-109-UE-R-F04	retrovirus-related polyprotein KAS-1 - <i>Arabidopsis thaliana</i> retrotransposon Ta1 (fragment)	3e-19	-5,76
9	CP02-S3-036-215-EM-F-A03	putative oxidoreductase [<i>Streptomyces avermitilis</i> MA-4680]	3e-11	-5,56
10	CP02-S2-000-158-UE-F-D11	GLUCOSE OXIDASE PRECURSOR (GLUCOSE OXYHYDRASE) (GOD) (BETA-D-GLUCOSE:OXYGEN 1-OXIDO-REDUCTASE)	3e-05	-5,36
11	CP02-S2-028-240-UE-F-H06	(AL683874) putative zinc finger protein [<i>Aspergillus fumigatus</i>]	8e-16	-5,28
12	CP02-S3-036-548-UC-G-D03	high molecular weight basic nuclear protein [<i>Pseudopleuronectes americanus</i>]	1e-07	-5,07
13	CP02-S2-000-107-CL-H-D01	(X01647) open reading frame (ORF701) pot. membrane protein (aa 1-487) [<i>Marchantia polymorpha</i>]	2e-53	-4,65
14	CP02-S3-036-132-FC-G-A06	hypothetical protein [<i>Neurospora crassa</i>]	2e-20	-4,56
15	CP02-S2-025-300-UC-F-G11	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [<i>Pleurotus eryngii</i>]	7e-26	-4,47
16	CP02-S2-022-271-UC-F-H05	ATP citrate lyase, subunit 1 [<i>Sordaria macrospora</i>]	3e-67	-4,46
17	CP02-S2-000-120-UC-F-D04	(NC_001134) Hypothetical ORF; Ybr139wp [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	2e-21	-4,30
18	CP02-S2-020-217-UC-R-F10	(AL023706) hexose transporter [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]	4e-17	-4,11
19	CP02-S2-000-100-UE-F-D03	hypothetical protein [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]	2e-25	-3,99
20	CP02-S2-025-298-UC-F-C08	related to malate dehydrogenase (oxaloacetate-decarboxylating) (NADP+) [<i>Neurospora crassa</i>] *	2e-36	-3,95
21	CP02-S3-033-456-UC-F-D04	(X70397) GMP synthase [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	3e-33	-3,71
22	CP02-S3-041-650-UE-G-D07	beta-glucosidase [<i>Volvariella volvacea</i>] *	7e-68	-3,70
23	CP02-S2-028-277-UE-F-C06	beta-glucosidase [<i>Volvariella volvacea</i>]	2e-45	-3,63
24	CP02-S2-000-081-UC-F-E12	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)	3e-31	-3,51
25	CP02-S2-000-155-UE-F-G05	acetate CoA-transferase (EC 2.8.3.8) [imported] - <i>Clostridium thermosaccharolyticum</i>	3e-16	-3,46
26	CP02-S2-028-244-UE-F-A04	related to carboxylic acid transport protein JEN1 [imported] - <i>Neurospora crassa</i>	3e-38	-3,43
27	CP02-S2-032-108-FS-H-C06	(AF034099) malate synthase protein [<i>Laccaria bicolor</i>]	3e-68	-3,42
28	CP02-S2-000-126-UE-F-A06	(Z49494) ORF YJL219w [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	5e-05	-3,40
29	CP02-S2-000-122-UE-R-B12	(NC_003424) MFS efflux transporter of unknown specificity [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]	2e-43	-3,31
30	CP02-S2-028-249-UE-F-E06	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase [<i>Cryptococcus curvatus</i>]	4e-31	-3,30

31	CP02-S2-000-125-UE-F-F03	(X77328) rds1 [Schizosaccharomyces pombe]	8e-36	-3,22
32	CP02-S3-000-109-UC-G-C04	(NC_003272) glycine cleavage system protein P [Nostoc sp. PCC 7120]	1e-47	-3,20
33	CP02-S2-000-112-UE-F-D12	PROBABLE POLYPHENOL OXIDASE B PRECURSOR (CATECHOL OXIDASE) OXIDOREDUCTASE PROTEIN [Ralstonia solanacearum]	2e-05	-3,14
34	CP02-S3-000-123-UC-F-B04	(AL049559) ser/thr protein kinase cek1 [Schizosaccharomyces pombe]	1e-07	-3,11
35	CP02-S2-000-114-CL-F-E01	(NC_000964) UDP-glucose 4-epimerase [Bacillus subtilis]	5e-35	-3,04
36	CP02-S2-038-227-EM-F-G05	endopolygalacturonase [Chondrostereum purpureum]	2e-10	-3,03
37	CP02-S2-040-359-EM-F-H05	oleate 12-hydroxylase [Ricinus communis]	5e-06	-3,02
38	CP02-S2-000-054-UC-F-H03	(AL391604) putative mitochondrial respiratory chain complexes assembly protein [Schizosaccharomyces pombe]	2e-78	-2,92
39	CP02-S2-000-111-UE-F-G11	Pre-mRNA splicing factor ATP-dependent RNA helicase PRP16 (ATP-dependent RNA helicase DDX38) (DEAH-box protein 38)	2e-24	-2,91
40	CP02-S2-000-165-CL-F-B08	(AJ243195) Acetyl-CoA-Acetyltransferase [Mycosphaerella graminicola]	2e-37	-2,90
41	CP02-S3-000-040-UC-F-C10	glucose oxidase [Talaromyces flavus]	2e-05	-2,83
42	CP02-S2-000-176-UE-F-H01	(AF196975) inosine 5'-monophosphate dehydrogenase [Pneumocystis carinii]	9e-65	-2,81
43	CP02-S2-032-116-FC-G-F02	similar to copia-type polyprotein; protein id: At5g13205.1 [Arabidopsis thaliana]	5e-08	-2,76
44	CP02-S2-000-080-UC-G-H07	(Z69727) putative short chain dehydrogenase [Schizosaccharomyces pombe]	2e-15	-2,74
45	CP02-S2-000-147-UE-F-H12	lysyl oxidase [Pichia pastoris]	4e-18	-2,65
46	CP02-S2-000-049-UC-F-G09	(AJ001017) TBP associated factor [Homo sapiens]	4e-27	-2,63
47	CP02-S2-040-353-EM-F-B08	(NM_011051) programmed cell death 6[Mus musculus]	6e-13	-2,55
48	CP02-S2-000-104-UE-F-E10	(Z83828) AmMst-1 [Amanita muscaria]	6e-17	-2,52
49	CP02-S2-000-100-UE-R-F01	(NC_001139) associated with tRNA and amino acyl-tRNA synthetases; has affinity for quadruplex nucleic acids; Arc1p [Saccharomyces cerevisiae]	6e-16	-2,51
50	CP02-S3-033-164-EM-F-C01	(AB041768) Prr1 [Schizosaccharomyces pombe]	1e-19	-2,39
51	CP02-S3-036-548-UC-G-C03	related to malate dehydrogenase (oxaloacetate-decarboxylating) (NADP+) [Neurospora crassa]	4e-24	-2,37
52	CP02-S2-037-533-UC-F-F03	(AL606634) OSJNBb0072N21.3 [Oryza sativa]	1e-14	-2,34
53	CP02-S3-033-461-UC-F-D03	(AE008897) glucosephosphate isomerase [Salmonella typhimurium LT2]	3e-47	-2,24
54	CP02-S2-033-359-UE-F-H08	(AL513445) related to beta-1, 3-glucan binding protein [Neurospora crassa]	3e-31	-2,24
55	CP02-S2-000-210-UC-F-E10	(U21239) phosphoglucose isomerase [Calanus finmarchicus]	1e-05	-2,17
56	CP02-S2-000-187-UC-F-B10	(AJ238718) metalloendopeptidase (AMMEP) [Armillaria mellea]	2e-37	-2,16
57	CP02-S3-038-508-UE-F-D05	(Z37977) glucose phosphate isomerase [Cricetulus griseus]	1e-54	-2,13
58	CP02-S3-000-123-UC-F-C01	carboxypeptidase C (EC 3.4.16.5) precursor - wheat	7e-21	-2,07
59	CP02-S3-000-108-UC-F-A03	glucose oxidase [Penicillium amagasakiense]	3e-06	-2,06
60	CP02-S2-032-305-UE-F-G06	(AF098293) pyruvate decarboxylase [Aspergillus oryzae]	2e-20	-2,03
61	CP02-S2-028-314-UC-F-A01	(U68714) isocitrate lyase 1 [Botryotinia fuckeliana]	5e-18	-2,02

(ROPER & FERGUSON 2003). Em nossos resultados, encontramos uma supressão de 3,04 vezes de um gene desta enzima (35 da Tabela 2) no micélio biotrófico de *C. pernicioso*, indicando mais uma vez uma diminuição do metabolismo de hexoses nesta fase.

Uma possível fonte energética substituta seria o glicerol, já apontado como essencial para o cultivo da fase biotrófica no fungo *in vitro* (MEINHARDT *et al.* 2006), e também encontrado em níveis altos na vassoura verde, significativamente maiores que nos tecidos saudáveis e na vassoura seca (SCARPARI *et al.* 2005). Além disso, em interações planta-fungo, o glicerol é um importante metabólito transferido da planta para o patógeno, além de ser um componente essencial na manutenção da fase biotrófica e na patogênese de alguns fungos (YODER & TURGEON 1996; WEI *et al.* 2004).

Um fato que reforça essa hipótese é o aumento da expressão em 6,6 vezes de facilitadores de absorção de glicerol, os *aquaglycerolporins* (*transmembrane channel protein* - 3 da Tabela 1). Os *aquaglycerolporins* (AQGPs) são proteínas integrais de membrana que formam canais facilitadores do transporte de água e de alguns pequenos solutos, como glicerol e uréia, através da membrana celular (WALLACE & ROBERTS 2005; WANG *et al.* 2006). A seletividade dos canais pode estar associada ao estado oligomérico das proteínas da membrana (THOMAS *et al.* 2002), ou à composição de aminoácidos dos poros de entradas individuais (BEITZ 2005). Leveduras e fungos filamentosos possuem até cinco AQGPs, que mediam a exportação controlada de glicerol e desempenham função central na osmoregulação e na determinação de níveis intracelulares de glicerol (KARLGREN *et al.* 2004; PETTERSSON *et al.* 2005), além de participar de sistemas de sinalização (KARLGREN *et al.* 2005). Esses facilitadores são descritos como característicos de desenvolvimento evolutivo encontrados particularmente em relações hospedeiro-parasita dinâmicas (BEITZ *et al.* 2004), que é o caso da interação cacauzeiro - *C. pernicioso*, os quais evoluíram juntos em seu local de origem (PURDY & SCHMIDT 1996). Adicionalmente, esses canais são alvos potenciais de novas drogas diuréticas em humanos (WANG *et al.* 2006), e servem como via de entrada para compostos quimioterápicos em protozoários (BEITZ 2005). Estes dados sugerem os AQGPs

como alvos candidatos para futuras investigações sobre a interação cacau - *C. perniciosa* e para o possível controle da doença vassoura-de-bruxa.

Ainda sobre o metabolismo do carbono, as enzimas malato sintase e isocitrato liase participam unicamente do ciclo do glioxilato, o qual é requerido para a virulência fúngica (LORENZ & FINK 2001). O isocitrato é um ponto de ramificação entre o ciclo de Krebs e o ciclo do glioxalato, e a enzima isocitrato liase é a primeira enzima do ciclo do glioxalato, sendo apontada como essencial para a patogenicidade do fungo hemibiotrófico *Leptosphaeria maculans* que ataca a canola (*Brassica napus*) (IDNURM & HOWLETT 2002). Durante o cultivo *in vitro* de células de leveduras em ambiente deficiente em glicose, os genes do ciclo do glioxalato foram induzidos (LORENZ & FINK 2001). Resultados semelhantes foram obtidos por DERISI *et al.* (1997), os quais relataram indução dos genes envolvidos no ciclo do glioxalato e no armazenamento de carbono, quando da exaustão de glicose no meio. Na outra direção, SIMS *et al.* (2004) estudaram a expressão gênica de *Aspergillus nidulans* cultivado primeiramente em meio contendo etanol como única fonte de carbono, com posterior adição de glicose. Estes autores observaram que, após a adição de glicose, os genes da isocitrato liase, malato sintase e malato desidrogenase, enzimas chaves do ciclo do glioxalato, tiveram sua expressão suprimida em 5,5, 6,5 e 2 vezes respectivamente. Estas observações podem ser explicadas devido ao fato de que a glicose é requerida para a síntese de muitas macromoléculas, e que na sua ausência, o fungo precisaria gerar glicose ativando a via da gliconeogênese e o ciclo do glioxalato, a única rota para a síntese de glicose neste ambiente. Por outro lado, após a adição de glicose ao meio, essas vias não seriam mais necessárias e seriam reprimidas. Em nosso trabalho detectamos supressão na expressão dos dois genes da isocitrato liase em 6,22 e 2,02 (7 e 61 da Tabela 2), e de um gene malato sintase e da malato desidrogenase em 3,42 e 3,95 vezes, respectivamente (27 e 20 da Tabela 2), no micélio biotrófico de *C.perniciosa*. Como tanto o micélio necrotrófico quanto o biotrófico foram cultivados em ambiente pobre em glicose, estes dados sugerem que o fungo apresente diferentes estratégias na aquisição de carbono nas duas fases de

desenvolvimento, e que a fase biotrófica presente possua uma maneira alternativa ao ciclo do glioxalato para esse fim.

Nossos resultados mostraram a indução da expressão de um gene de lipase em 6,88 vezes (2 da Tabela 1), e de dois genes de proteases em 5,35 e 4,36 vezes (7 e 12 da Tabela 1). Esses dados sugerem um maior metabolismo de proteínas e lipídeos nessa fase, os quais poderiam ser usados como fontes alternativas de carbono pelo fungo.

A enzima Malonil-CoA decarboxilase (MCD), catalisa a degradação de malonil-CoA, e regula o balanço entre a formação e a quebra de ácidos graxos dentro das células (AN & KIM 1998). Além disso, pode desempenhar papel importante na simbiose entre *Rhizobium trifolii* e seus hospedeiros (AN & KIM 1998; KIM 2002). Um gene desta enzima teve a expressão suprimida em nosso trabalho em 11 vezes no micélio biotrófico em comparação ao necrotrófico (1 da Tabela 2). Ainda sobre o metabolismo de ácidos graxos, a enzima fosfomevalonato quinase participa de um passo essencial na biosíntese de isoprenóides, e seu gene foi encontrado em fungos e eubactérias patogênicos, sendo alvo atrativo para o desenvolvimento de drogas anti-bacterianas e anti-fúngicas (HOUTEN & WATERHAM 2001). De forma semelhante ao descrito para a MCD, a fosfomevalonato quinase também apresentou expressão suprimida em 8,19 vezes no micélio biotrófico (3 da Tabela 2). Esses resultados sugerem que o metabolismo de ácidos graxos também é menos intenso durante esta fase do desenvolvimento do fungo, o que pode ser consequência de uma maior absorção de glicerol, sugerida acima.

BABU *et al.* (2005), trabalhando com células de *Ustilago maydis* de diferentes conteúdos e estruturas nucleares, sugerem que as mudanças metabólicas apresentadas por essas células estão provavelmente relacionadas à evolução do microrganismo, colonizando diferentes ambientes e apresentando diferentes formas de aquisição de nutrientes, por exemplo, saprotrófico ou biotrófico. Estes autores ainda sugerem que a primeira fase trabalhe para preparar o ambiente e facilitar a colonização da próxima fase. Essa hipótese parece se aplicar ao caso do fungo *C.perniciosa*, que primeiramente coloniza o meio intercelular do cacaueteiro na fase biotrófica, e posteriormente invade suas células

na fase necrotrófica. Os resultados da caracterização bioquímica (Capítulo I) também apontam para essa direção, uma vez que a fase biotrófica parece atuar para o acúmulo de nutrientes no hospedeiro que serão consumidos pela fase necrotrófica, a qual apresenta crescimento muito mais rápido, colonizando todas as partes infectadas.

Outra classe de genes que apresentou expressão diferencial está envolvida nos processos de detoxificação de compostos, e conseqüente proteção do fungo.

Dentre eles, estão os citocromos P450, proteínas associadas à membrana, encontradas em todas as formas de vida, com a função de degradação de toxinas e compostos hidrofóbicos (ANINAT *et al.* 2005). Nas plantas, estes citocromos desempenham importante função na proteção contra patógenos, insetos e estresses ambientais (NARUSAKA *et al.* 2004). Já nos fungos fitopatogênicos, os citocromos P450 são classificados como fator de virulência, atuando na detoxificação de antibióticos e toxinas, produzidas pelo sistema de defesa das plantas (GEORGE & VANETTEN 2001; KHAN *et al.* 2003). Em nossos resultados, encontramos indução da expressão em dois fragmentos do gene do citocromo P450 de *Coprinopsis cinerea*, em 4,20 e 3,87 vezes (17 e 22 da Tabela 1) no micélio biotrófico de *C. perniciososa*, sugerindo atuação na detoxificação de toxinas e outros compostos produzidos pelo sistema de defesa da planta. Por outro lado, detectamos a supressão da expressão em 7,15 vezes do gene do citocromo P450 6B5 (CYPVIB5) no micélio biotrófico (4 da Tabela 2). Como um outro citocromo da família 6 (CYP6AZ1) é requerido para a compatibilidade da interação de um mosquito com plantas de trigo (MITTAPALLI *et al.* 2005), podemos supor que a ação deste citocromo seja mais importante na interação do micélio necrotrófico do fungo com a planta.

Outro exemplo é o gene da lacase 1, o qual teve a expressão induzida em 5,28 vezes (9 da Tabela 1) no micélio biotrófico de *C.perniciososa*. Embora um provável precursor de polifenol oxidase tenha apresentado expressão suprimida em 3,14 vezes (33 da Tabela 2), acreditamos que prevalece a indução da lacase 1. As lacases são enzimas da parede celular com amplo espectro de atividade oxidante para compostos polifenólicos e também para ferro (ZHU & WILLIAMSON

2004). As lacases produzidas por muitos fungos são ativas na biodegradação de lignina, o principal componente da parede celular vegetal, altamente resistente ao ataque microbiano. Dessa forma, são apontadas como um importante fator de virulência de patógenos (ASIEGBU *et al.* 2004). Um exemplo da atividade detoxificante das lacases foi descrito na interação uva - *Botrytis cinerea*, onde a planta sintetiza o resveratrol, um metabólito secundário classificado como fitoalexina que protege a planta contra a infecção. Neste caso, a atividade lacase demonstrada por este fungo detoxifica o resveratrol, facilitando a colonização da planta (SCHOUTEN *et al.* 2002). De forma geral, como as lacases são enzimas responsáveis pela degradação de fenóis, e os fenóis são compostos envolvidos na defesa das plantas contra patógenos, essa enzima poderia ter um papel protetor para o fungo *C. pernicioso*, destruindo os compostos fenólicos produzidos pela planta na tentativa de eliminá-lo. Além disso, KRUPASAGAR & SEQUEIRA (1969) relataram que uma lacase produzida por *C. pernicioso* em meio de cultura é capaz de degradar a auxina AIA (ácido-indol-acético), podendo contribuir para um desbalanço entre auxinas e citocininas dentro da planta, levando aos sintomas característicos da doença.

A atividade da enzima glutathione S-transferase (GST) tem sido descrita na detoxificação de toxinas em interações patógeno-hospedeiro. Em ratos, esta enzima apresentou proteção contra infecção causada por uma toxina produzida por *Staphylococcus aureus* (CUI *et al.* 2005). Além disso, foi apontada como um possível fator de virulência de *Botrytis cinerea*, uma vez que protegeu o fungo contra compostos fungitóxicos produzidos pela planta (PRINS *et al.* 2000). No micélio biotrófico de *C. pernicioso*, detectamos a indução da expressão de dois genes da família das GSTs em 2,32 e 2,09 vezes (51 e 57 da Tabela 1), sugerindo possível papel na proteção do fungo contra toxinas produzidas pelo cacauzeiro ou por outros microrganismos presentes nos tecidos infectados.

Outra molécula provavelmente ativa na proteção do fungo é a *O-methylsterigmatocystin oxidoreductase* (OMST oxidoreductase), precursora das aflatoxinas sintetizadas por fungos da espécie *Aspergillus* (CUERO *et al.* 2003; GENGAN *et al.* 2003), e membro da família do citocromo P-450, atuando na detoxificação de compostos fungitóxicos, como as fitoalexinas (LEROUX *et al.*

2002; KHAN *et al.* 2003). Em nossos resultados, detectamos indução na expressão do gene OMST oxidoreductase em 3,48 vezes (29 da Tabela 1) no micélio biotrófico de *C.perniciosa*, sugerindo proteção contra fitoalexinas produzidas como defesa da planta.

Outro gene que teve a expressão bastante induzida, segundo nossos resultados em 63 vezes, foi o gene da aglutinina de *Marasmius oreades* (1 da Tabela 1). Curiosamente, trata-se de um fungo muito semelhante a *Crinipellis perniciosa*, uma vez que o mesmo foi primeiramente denominado *Marasmius perniciosus*, sendo reclassificado em 1942 por Singer (PURDY & SCHMIDT 1996). A aglutinina é um tipo de lecitina tóxica, com ação anti-fúngica (DOES *et al.* 1999), e que também atua na proteção de plantas contra insetos (CHANG *et al.* 2003). A aglutinina de germe de trigo inibiu a germinação de esporos do basidiomiceto parasítico, *Ustilago maydis*, o qual infecta plantas de milho (SANTIAGO *et al.*, 2000). O efeito pesticida desta aglutinina foi comprovado para *Helicoverpa armigera*, prejudicando sua fecundidade e não permitindo uma nova geração deste inseto (GUPTA *et al.* 2005). O micélio biotrófico de *C. perniciosa* deve sintetizar esse composto para eliminar outros fungos presentes no tecido vegetal, que competiriam por espaço e nutrientes com o mesmo. Além disso, a aglutinina está envolvida na adesão celular (DOES *et al.* 1999), podendo ter papel importante na fase inicial da doença.

Vários genes de proteínas PR, as quais participam da defesa de plantas contra patógenos e apresentam atividade anti-microbiana, também foram induzidos no micélio biotrófico em relação ao necrotrófico em 6,57, 3,95 e 2,73 vezes (4, 20 e 41 da Tabela 1). A enzima *Epoxide hidrolase* (16 da Tabela 1) teve sua expressão induzida em 4,27 vezes no micélio biotrófico. É uma enzima relacionada à defesa das plantas, sendo induzida em limão rugoso (*Citrus jambhiri* Lush) infectado pelo fungo patogênico *Alternaria alternata* (GOMI *et al.* 2003). O gene da *Gal6 Bleomycin hidrolase DNA binding protease*, também teve sua expressão induzida em 3,54 vezes (28 Tabela 1) no micélio biotrófico de *C. perniciosa*. Trata-se de uma cisteína-proteinase que atua na proteção de leveduras contra efeitos tóxicos da bleomicina, podendo atuar como carboxipeptidase e aminopeptidase (ZHENG *et al.* 1998). Um gene da

ciclohexanona monooxigenase (CMO) teve sua expressão induzida em 4,1 vezes (19 Tabela 1). Trata-se de uma flavo-enzima solúvel, que participa da conversão de cetonas cíclicas em lactona (CHEESMAN *et al.* 2001), e apresenta atividade anti-microbiana e anti-fúngica contra vários patógenos (RAJ *et al.* 2003). Todas estas proteínas devem proteger o fungo contra compostos tóxicos, servindo como arma para a competição com outros fungos presentes nos tecidos do cacauzeiro.

Glucose e glucose oxidase constituem um sistema de geração de EROs (Espécies Reativas de Oxigênio), como por exemplo H₂O₂, para a HR em plantas (SEPULVEDA-JIMENEZ *et al.* 2004). Em folhas de tabaco inoculadas com *Pseudomonas syringae*, estes genes influenciaram a expressão de genes de defesa e morte celular (MUR *et al.* 2005). Adicionalmente, plantas de batata transgênica expressando glucose oxidase, sob controle de um promotor induzido por estresse biótico, apresentaram resistência à doença causada por *Phytophthora infestans* (ZHEN *et al.* 2000). Em nosso trabalho detectamos a supressão de dois genes da glicose oxidase em 2,83 e 2,06 vezes (41 e 59 da Tabela 2), e de um precursor desta enzima em 5,36 vezes (10 da Tabela 2), na fase biotrófica de *C. pernicioso*. Esta supressão pode ser devida a uma possível menor absorção de hexoses, sugerida pela variação de expressão dos genes discutidos acima, e também como forma de diminuir a geração de EROs dentro da planta, o que ativaria a HR, e prejudicaria a colonização da planta pelo micélio biotrófico do fungo.

O gene *rds1* (*resistance-dependent suppressor*) de *Schyzosaccharomyces pombe* exerce função em respostas celulares a estresses (LUDIN *et al.* 1995). Além disso, este gene participa da mediação da morte celular hipersensitiva em aveia atacada pelo patógeno *Puccinia coronata f. sp. avenae* (YU *et al.* 2001). Um gene similar a este teve a expressão suprimida em 3,22 vezes (31 da Tabela 2) no micélio biotrófico de *C. pernicioso*. Outro gene relacionado à morte celular é o PCD6 (*Programmed cell death*), tendo seu papel relatado na apoptose de células epiteliais humanas (NAKAGAWA *et al.* 2004), e em células de linhagens tumorais, onde foi descrito que PCD6 interage com a proteína DAPK 1 (*death associated protein kinase 1*), um mediador positivo da apoptose, acelerando o processo (LEE *et al.*, 2005). O gene PCD6 foi encontrado

em bibliotecas subtrativas de cDNA de micélio saprofítico de *C. pernicioso* (RINCONES *et al.*, manuscrito em preparação). Em nosso trabalho, detectamos a supressão da expressão de PCD6 em 2,55 vezes no micélio biotrófico (47 da Tabela 2). Esta diminuição de expressão de PCD6, bem como de *rds1*, pode ser explicada pelo fato do processo de morte celular não ser desejável na fase inicial da doença, onde o fungo encontra-se na fase biotrófica.

Glioxal oxidase I é uma enzima ligada a membrana, que oxida uma série de pequenos aldeídos e produz H_2O_2 em *U. maydis*. Esta enzima também desempenha atividade no crescimento filamentosos e na patogenicidade deste fungo (LEUTHNER *et al.* 2005). Um precursor desta enzima apresentou expressão induzida em 2,14 vezes (55 da Tabela 1) na fase biotrófica de *C. pernicioso*. A enzima dipeptidil aminopeptidase tipo IV é uma protease identificada em patógenos de mamíferos como, por exemplo, *Streptococcus suis* (JOBIN & GRENIER 2003) e *Porphyromonas gingivalis*, sendo considerada um fator de virulência potencial para este último, uma vez que sua virulência diminui com a disrupção deste gene (KUMAGAI *et al.* 2003). Um gene desta enzima apresentou expressão induzida em 3,69 vezes no micélio biotrófico de *C. pernicioso* (25 da Tabela 1). O aumento da expressão desses genes no micélio biotrófico de *C. pernicioso* sugerem a participação dos mesmos na patogenicidade deste fungo, especificamente nas etapas iniciais da doença vassoura-de-bruxa, onde o fungo se encontra na fase biotrófica.

A álcool oxidase (AOX) é a enzima chave do metabolismo em espécies de leveduras metilotróficas, catalisando o primeiro passo da oxidação de metanol, com concomitante produção de peróxido de hidrogênio (OZIMEK *et al.*, 2005). GUILLEN *et al.* (2000) trabalhando com o fungo *Pleurotus eryngii* demonstraram ação sinérgica das enzimas AOX e lacase, na geração de radicais hidroxila. Em *Cladosporium fulvum*, a AOX foi identificada como um novo fator da patogenicidade, uma vez que mutantes desse fungo deficientes em AOX tiveram sua patogenicidade muito reduzida (SEGERS *et al.* 2001). No presente trabalho, o gene da AOX de *C. pernicioso* teve sua expressão aumentada em 3,95 vezes no micélio biotrófico (21 da Tabela 1), sugerindo também sua contribuição para a patogenicidade do fungo.

As hidrofobinas são pequenas proteínas hidrofóbicas, encontradas comumente em fungos filamentosos. São secretadas e ficam dispostas em camadas na superfície externa da parede celular de hifas e conídios, onde mediam interações entre os fungos e o ambiente, desempenhando papel numa ampla gama de processos de crescimento e desenvolvimento (WOSTEN 2001; WHITEFORD & SPANU 2002). São proteínas que possuem aproximadamente 100 aminoácidos, apresentando 8 resíduos de cisteína conservados e arranjos em um padrão definido (EBBOLE 1997). Os mecanismos pelos quais as hidrofobinas desempenham suas funções são baseados na sua propriedade de auto-montagem nas interfaces hidrofóbicas-hidrofílicas, onde a parte interna hidrofílica, que fica em contato com as células, evita a perda de água, enquanto a parte hidrofóbica externa evita o molhamento. As hidrofobinas monoméricas também desempenham função na montagem da parede celular, além de poder atuar como toxinas e elicitores (WOSTEN 2001). Nos fungos fitopatogênicos, as hidrofobinas desempenham papel crucial na adesão celular e em processos agregativos, sendo que o acúmulo de RNAm de seus genes é influenciado por mudanças na concentração de glicose ou amônio (DUPLESSIS *et al.* 2001). SEGERS *et al.* (1999) isolaram e caracterizaram cinco diferentes cDNAs de hidrofobinas do fungo patogênico do tomate, *Cladosporium fulvum*, sendo que todas elas foram mais fortemente expressas durante a esporulação e tiveram a expressão induzida sob condições de privação de nutrientes. A hidrofobina MHP1 de *Magnaporthe grisea* desempenha papel essencial na hidrofobicidade superficial de suas hifas e é requerida para sua patogenicidade (KIM *et al.* 2005). Além disso, o gene da hidrofobina é o mais ativamente transcrito neste fungo quando infecta folhas de arroz (MATSUMURA *et al.* 2003). Em nosso trabalho, três genes de hidrofobinas apresentaram indução da expressão em 5,34, 3,72 e 3 vezes (8, 24 e 35 Tabela 1) no micélio biotrófico de *C. pernicioso*, sugerindo que esta molécula pode ter um papel importante para a patogenicidade de *C. pernicioso*, especialmente na fase inicial da doença, onde o fungo encontra-se na fase biotrófica dentro do cacauzeiro.

A proteína FLUG de eucariotos, é similar à glutamina sintetase de procariotos e pode estar envolvida na sinalização extracelular durante o

desenvolvimento, direcionando a esporulação assexual e outros aspectos do crescimento da colônia (LEE & ADAMS 1994). Um gene que codifica a proteína FLUG teve sua expressão induzida em 4,12 vezes (18 da Tabela 1) na fase biotrófica de *C.perniciosa*. A molécula “*glia maturation factor*” está relacionada às funções de diferenciação, regeneração e manutenção da integridade celular em alguns organismos (BOSCH *et al.* 1989; LIM *et al.* 1990). Neste trabalho, observou-se uma indução da expressão desse gene em cerca de 4,8 vezes (10 Tabela 1) durante a fase biotrófica de *C. perniciosa*. O aumento da expressão desses dois últimos genes sugere que os mesmos podem desempenhar função na manutenção da integridade e no desenvolvimento do micélio da fase biotrófica do fungo.

Três genes similares a proteínas pol (transcriptase reversa-RNase H-integrase), que fazem parte do sistema de retrotransposição de vírus, tiveram a expressão induzida no micélio biotrófico de *C.perniciosa*, em 5,58, 2,97 e 2,52 vezes (5, 36 e 48 da Tabela 1). Uma maior atividade dessas enzimas possibilitaria ao fungo uma maior variabilidade genética. Essa variabilidade genética é apontada como uma das armas mais poderosas de *C. perniciosa* contra as fontes de resistência do cacaueteiro à vassoura-de-bruxa (ANDEBRHAN *et al.* 1999; RINCONES *et al.*, 2006).

Muitas espécies de bactérias expressam serina/treonina-quinases semelhantes as de eucariotos. Estas enzimas são candidatas a mediadores de mudanças no desenvolvimento e interações patógeno-hospedeiro, regulando processos como a divisão celular, transporte molecular, síntese de fatores de virulência, entre outros (GREENSTEIN *et al.* 2005; JIN & PANCHOLI 2006). Este grupo de enzimas faz uma ligação entre o metabolismo de carbono e a virulência de algumas bactérias patogênicas (DEUTSCHER *et al.* 2005). Na bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, as serina/treonina-quinases exercem papel no transporte de glicose e na divisão celular (DEOL *et al.* 2005). Em nosso trabalho detectamos que a expressão de uma serina/treonina quinase foi suprimida em 3,1 vezes (34 da Tabela 2) no micélio biotrófico de *C. perniciosa* em comparação com o micélio necrotrófico, sugerindo que essa enzima exerce suas funções mais ativamente no micélio necrotrófico do fungo

Um grupo de proteínas que teve a expressão induzida no micélio biotrófico do fungo está envolvida nas funções de transcrição e síntese de proteínas. Entre elas está a guanililtransferase, com a expressão induzida em 4,58 vezes (11 da Tabela 1), enzima responsável pela adição de guaninas no terminal 5' durante a formação do CAP dos RNAm de eucariotos (DOHERTY *et al.* 1997). A expressão do componente U3 SnoRNP (*small nuclear ribonucleoproteins*), o qual participa da metilação de pré-rRNA 18S (LEE & BASERGA 1999), foi induzida em 4,29 vezes (15 da Tabela 1). Foi detectada também a indução da expressão em 3,36 vezes (31 da Tabela 1) de uma proteína *WD repeat* (proteína com repetições de triptofano e aspartato), a qual faz parte de uma grande família encontrada em todos os eucariotos, exercendo uma variedade de funções desde transdução de sinais e regulação de transcrição até controle do ciclo celular e apoptose (JANSEN *et al.* 1995; SMITH *et al.* 1999; SHINOZAKI-YABANA *et al.* 2000; LI & ROBERTS 2001). Uma maior expressão desses genes sugere que os processos de transcrição e tradução estão ocorrendo com maior intensidade no micélio biotrófico do fungo. Como o crescimento deste micélio é muito pequeno, provavelmente estes processos levam a uma maior síntese de proteínas que atuariam na interação com o cacaueiro.

De maneira geral, os resultados de nossas análises de expressão gênica sugerem que existem várias diferenças entre o metabolismo dos micélios biotrófico e necrotrófico de *C. pernicioso*. A expressão diferencial de genes relacionados ao metabolismo de hexoses e de ácidos graxos pode ser citada como exemplo destas diferenças. Uma hipótese interessante, sugerida por BABU *et al.* (2005) para o basidiomiceto *Ustilago maydis*, e que se encaixa em nosso modelo, é que a primeira fase deve preparar o ambiente para facilitar a colonização pela próxima fase. Assim, o micélio biotrófico de *C. pernicioso* propiciaria as condições necessárias para a colonização da planta pelo micélio necrotrófico, o qual efetivamente coloniza as partes infectadas.

A indução da expressão dos genes de moléculas ligadas a detoxificação de compostos, como genes da família do citocromo P450, lacases e glutathione S-transferase, deve ter o objetivo de proteger do fungo, permitindo a sua sobrevivência e a colonização do tecido vegetal. Adicionalmente, a maior

expressão de genes que codificam moléculas anti-fúngicas e antimicrobianas, como aglutinina e proteínas PR, deve contribuir para eliminar outros microrganismos presentes no tecido vegetal.

Além disso, a indução da expressão de genes como os de hidrofobinas, álcool oxidase (AOX) e glioxal oxidase I, conhecidos como fatores de patogenicidade de outros fitopatógenos, sugerem a participação dos mesmos nos mecanismos de patogenicidade de *C. pernicioso*.

É importante ressaltar que todos os resultados obtidos neste trabalho precisam ser validados por outra técnica independente, como por exemplo, *Northern blot* ou PCR em tempo real. Como toda técnica experimental, os *microarrays* de DNA possuem limitações que afetam a sua confiabilidade, como a geração de artefatos e a detecção de falsos positivos.

Outra limitação de nossos *microarrays* é que foram selecionados genes similares a outros conhecidos, através da ferramenta BLASTx, e no caso de *C. pernicioso*, bibliotecas de cDNA indicam que 65% dos transcritos não apresentam similaridade com as seqüências depositadas nos bancos de dados (RINCONES *et al.*, manuscrito em preparação), o que sugere que trabalhamos com uma pequena porcentagem dos transcritos do fungo. Uma alternativa interessante de trabalho seria confeccionar lâminas com cDNAs de bibliotecas normalizadas, numa estratégia de *blind-arrays*. Além disso, estudos com outras estruturas do fungo como, por exemplo, basidósporos e basidiocarpos possibilitariam uma visão mais ampla do padrão de expressão gênica do fungo ao longo de todo o seu ciclo de vida.

Outro ponto importante a ser ressaltado, é que alguns dos genes fúngicos envolvidos na patogênese podem ser expressos apenas *in planta*, o que dificulta sua identificação em estudos que usam culturas axênicas (YANG *et al.* 2005), como é o caso do presente trabalho. Desta forma, os resultados obtidos podem não refletir o que de fato ocorre dentro da planta, mas servem para direcionar futuras investigações sobre a vassoura-de-bruxa do cacaueiro, e auxiliar na identificação de alvos para o controle da doença em nível de campo.

4.5 Referências

- ALLISON, D. B., CUI, X., PAGE, G. P., SABRIPOUR, M. Microarray data analysis: from disarray to consolidation and consensus. *Nat Rev Genet*, v. 7, n.1, p. 55-65, 2006.
- ALTSCHUL, S. F., MADDEN, T. L., SCHAFFER, A. A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., LIPMAN, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, v. 25, n.17, p. 3389-3402, 1997.
- AN, J. H., KIM, Y. S. A gene cluster encoding malonyl-CoA decarboxylase (MatA), malonyl-CoA synthetase (MatB) and a putative dicarboxylate carrier protein (MatC) in *Rhizobium trifolii*-cloning, sequencing, and expression of the enzymes in *Escherichia coli*. *Eur J Biochem*, v. 257, n.2, p. 395-402, 1998.
- ANDEBRHAN, T., FIGUEIRA, A., YAMADA, M. M., CASCARDO, J., FURTEK, D. B. Molecular fingerprinting suggests two primary outbreaks of witches' broom disease (*Crinipellis pernicioso*) of *Theobroma cacao* in Bahia, Brazil. *Eur J Plant Path*, v. 105, n.2, p. 167-175, 1999.
- ANINAT, C., ANDRE, F., DELAFORGE, M. Oxidative metabolism by P450 and function coupling to efflux systems: modulation of mycotoxin toxicity. *Food Addit Contam*, v. 22, n.4, p. 361-368, 2005.
- ASIEGBU, F. O., ABU, S., STENLID, J., JOHANSSON, M. Sequence polymorphism and molecular characterization of laccase genes of the conifer pathogen *Heterobasidion annosum*. *Mycol Res*, v. 108, n.2, p. 136-148, 2004.
- BABU, M. R., CHOFFE, K., SAVILLE, B. J. Differential gene expression in filamentous cells of *Ustilago maydis*. *Curr Genet*, v. 47, n.5, p. 316-333, 2005.
- BEITZ, E. Aquaporins from pathogenic protozoan parasites: structure, function and potential for chemotherapy. *Biol Cell*, v. 97, n.6, p. 373-383, 2005.
- BEITZ, E., PAVLOVIC-DJURANOVIC, S., YASUI, M., AGRE, P., SCHULTZ, J. E. Molecular dissection of water and glycerol permeability of the aquaglyceroporin from *Plasmodium falciparum* by mutational analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 101, n.5, p. 1153-1158, 2004.
- BOSCH, E. P., ZHONG, W. X., LIM, R. Axonal Signals Regulate Expression of Glia Maturation Factor-Beta in Schwann-Cells - an Immunohistochemical Study of Injured Sciatic-Nerves and Cultured Schwann-Cells. *J Neurosci*, v. 9, n.10, p. 3690-3698, 1989.
- BOTH, M., CSUKAI, M., STUMPF, M. P., SPANU, P. D. Gene expression profiles of *Blumeria graminis* indicate dynamic changes to primary metabolism during development of an obligate biotrophic pathogen. *Plant Cell*, v. 17, n.7, p. 2107-2122, 2005.
- BROWN, P. O., BOTSTEIN, D. Exploring the new world of the genome with DNA microarrays. *Nat Genet*, v. 21, n.1 Suppl, p. 33-37, 1999.
- CALLE, H., COOK, A. A., FERNANDO, S. Y. Histology of witches broom caused in cacao by *Crinipellis pernicioso*. *Phytopathology*, v. 72, n.11, p. 1479-1481, 1982.
- CHANG, T., CHEN, L., CHEN, S., CAI, H., LIU, X., XIAO, G., ZHU, Z. Transformation of tobacco with genes encoding *Helianthus tuberosus* agglutinin (HTA) confers resistance to peach-potato aphid (*Myzus persicae*). *Transgenic Res*, v. 12, n.5, p. 607-614, 2003.
- CHEESMAN, M. J., KNELLER, M. B., KELLY, E. J., THOMPSON, S. J., YEUNG, C. K., EATON, D. L., RETTIE, A. E. Purification and characterization of hexahistidine-tagged cyclohexanone monooxygenase expressed in *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification*, v. 21, n.1, p. 81-86, 2001.
- CUERO, R., OUELLET, T., YU, J., MOGONGWA, N. Metal ion enhancement of fungal growth, gene expression and aflatoxin synthesis in *Aspergillus flavus*: RT-PCR characterization. *J Appl Microbiol*, v. 94, n.6, p. 953-961, 2003.
- CUI, J. C., HU, D. L., LIN, Y. C., QIAN, A. D., NAKANE, A. Immunization with glutathione S-transferase and mutant toxic shock syndrome toxin 1 fusion protein protects against *Staphylococcus aureus* infection. *FEMS Immunol Med Microbiol*, v. 45, n.1, p. 45-51, 2005.
- DEOL, P., VOHRA, R., SAINI, A. K., SINGH, A., CHANDRA, H., CHOPRA, P., DAS, T. K., TYAGI, A. K., SINGH, Y. Role of *Mycobacterium tuberculosis* Ser/Thr kinase PknF: Implications in glucose transport and cell division. *J Bact*, v. 187, n.10, p. 3415-3420, 2005.
- DERISI, J. L., IYER, V. R., BROWN, P. O. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. *Science*, v. 278, n.5338, p. 680-686, 1997.

- DEUTSCHER, J., HERRO, R., BOURAND, A., MIJAKOVIC, I., PONCET, S. P-Ser-HPr - a link between carbon metabolism and the virulence of some pathogenic bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*, v. 1754, n.1-2, p. 118-125, 2005.
- DOES, M. P., HOUTERMAN, P. M., DEKKER, H. L., CORNELISSEN, B. J. C. Processing, targeting, and antifungal activity of stinging nettle agglutinin in transgenic tobacco. *Plant Physiol*, v. 120, n.2, p. 421-431, 1999.
- DOHERTY, A. J., HAKANSSON, K., HO, C. K., SHUMAN, S., WIGLEY, D. B. Crystallization of the RNA guanylyltransferase of *Chlorella* virus PBCV-1. *Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography*, v. 53, p. 482-484, 1997.
- DUDOIT, S., YANG, Y. H., CALLOW, M. J., SPEED, T. P. Statistical methods for identifying differentially expressed genes in replicated cDNA microarray experiments. *Statistica Sinica*, v. 12, n.1, p. 111-139, 2002.
- DUPLESSIS, S., SORIN, C., VOIBLET, C., PALIN, B., MARTIN, F., TAGU, D. Cloning and expression analysis of a new hydrophobin cDNA from the ectomycorrhizal basidiomycete *Pisolithus*. *Curr Genet*, v. 39, n.5-6, p. 335-339, 2001.
- EBBOLE, D. J. Hydrophobins and fungal infection of plants and animals. *Trends Microbiol*, v. 5, n.10, p. 405-408, 1997.
- EBERWINE, J., YEH, H., MIYASHIRO, K., CAO, Y., NAIR, S., FINNELL, R., ZETTEL, M., COLEMAN, P. Analysis of gene expression in single live neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 89, n.7, p. 3010-3014, 1992.
- EVANS, H. C. Pleomorphism in *Crinipellis pernicios*a, causal agent of witches broom disease of cocoa. *Trans Brit Mycol Soc*, v. 74, n.JUN, p. 515-523, 1980.
- FELDMAN, A. L., COSTOUROS, N. G., WANG, E., QIAN, M., MARINCOLA, F. M., ALEXANDER, H. R., LIBUTTI, S. K. Advantages of mRNA amplification for microarray analysis. *Biotechniques*, v. 33, n.4, p. 906-912, 914, 2002.
- FONSECA, S. E. A., WHEELER, B. E. J. Assessing Resistance to *Crinipellis-Perniciosa* Using Cocoa Callus. *Plant Pathol*, v. 39, n.3, p. 463-471, 1990.
- GENGAN, R. M., CHUTURGOON, A. A., MULHOLLAND, D. A., DUTTON, M. F. Synthesis of simple xanthenes and their inhibition of aflatoxin B-1 production in *Aspergillus parasiticus*. *South African J Sci*, v. 99, n.3-4, p. 137-142, 2003.
- GEORGE, H. L., VANETTEN, H. D. Characterization of pisatin-inducible cytochrome P450s in fungal pathogens of pea that detoxify the pea phytoalexin pisatin. *Fungal Genet Biol*, v. 33, n.1, p. 37-48, 2001.
- GOMES, L. I., ESTEVES, G. H., CARVALHO, A. F., CRISTO, E. B., HIRATA, R., JR. MARTINS, W. K., MARQUES, S. M., CAMARGO, L. P., BRENTANI, H., PELOSO, A., ZITRON, C., SALLUM, R. A., MONTAGNINI, A., SOARES, F. A., NEVES, E. J., REIS, L. F. Expression profile of malignant and nonmalignant lesions of esophagus and stomach: differential activity of functional modules related to inflammation and lipid metabolism. *Cancer Res*, v. 65, n.16, p. 7127-7136, 2005.
- GOMES, L. I., SILVA, R. L., STOLF, B. S., CRISTO, E. B., HIRATA, R., SOARES, F. A., REIS, L. F., NEVES, E. J., CARVALHO, A. F. Comparative analysis of amplified and nonamplified RNA for hybridization in cDNA microarray. *Anal Biochem*, v. 321, n.2, p. 244-251, 2003.
- GOMI, K., YAMAMATO, H., AKIMITSU, K. Epoxide hydrolase: a mRNA induced by the fungal pathogen *Alternaria alternata* on rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush). *Plant Mol Biol*, v. 53, n.1, p. 189-199, 2003.
- GREENSTEIN, A. E., GRUNDNER, C., ECHOLS, N., GAY, L. M., LOMBANA, T. N., MIECSKOWSKI, C. A., PULLEN, K. E., SUNG, P. Y., ALBER, T. Structure/function studies of Ser/Thr and Tyr protein phosphorylation in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Mol Microbiol Biotech*, v. 9, n.3-4, p. 167-181, 2005.
- GUILFOYLE, T., HAGEN, G., ULMASOV, T., MURFETT, J. How does auxin turn on genes? *Plant Physiol*, v. 118, n.2, p. 341-347, 1998.
- GUILLEN, F., GOMEZ-TORIBIO, V., MARTINEZ, M. J., MARTINEZ, A. T. Production of hydroxyl radical by the synergistic action of fungal laccase and aryl alcohol oxidase. *Arch Biochem Biophys*, v. 383, n.1, p. 142-147, 2000.
- GUPTA, G. P., BIRAH, A., RANI, S. Effect of plant lectins on growth and development of American bollworm (*Helicoverpa armigera*). *Indian J Agricult Sci*, v. 75, n.4, p. 207-212, 2005.

- HARRINGTON, C. A., ROSENOW, C., RETIEF, J. Monitoring gene expression using DNA microarrays. *Curr Opin Microbiol*, v. 3, n.3, p. 285-291, 2000.
- HOUTEN, S. M., WATERHAM, H. R. Nonorthologous gene displacement of phosphomevalonate kinase. *Mol Genet Metab*, v. 72, n.3, p. 273-276, 2001.
- IDNURM, A., HOWLETT, B. J. Isocitrate lyase is essential for pathogenicity of the fungus *Leptosphaeria maculans* to canola (*Brassica napus*). *Eukaryot Cell*, v. 1, n.5, p. 719-724, 2002.
- JANSEN, G., BACHNER, D., COERWINKEL, M., WORMSKAMP, N., HAMEISTER, H., WIERINGA, B. Structural Organization and Developmental Expression Pattern of the Mouse Wd-Repeat Gene Dmr-N9 Immediately Upstream of the Myotonic-Dystrophy Locus. *Human Mol Genet*, v. 4, n.5, p. 843-852, 1995.
- JIN, H., PANCHOLI, V. Identification and biochemical characterization of a eukaryotic-type serine/threonine kinase and its cognate phosphatase in *Streptococcus pyogenes*: Their biological functions and substrate identification. *J Mol Biol*, v. 357, n.5, p. 1351-1372, 2006.
- JOBIN, M. C., GRENIER, D. Identification and characterization of four proteases produced by *Streptococcus suis*. *Fems Microb Let*, v. 220, n.1, p. 113-119, 2003.
- KAGNOFF, M. F., ECKMANN, L. Analysis of host responses to microbial infection using gene expression profiling. *Curr Opin Microbiol*, v. 4, n.3, p. 246-250, 2001.
- KARLGREN, S., FILIPSSON, C., MULLINS, J. G., BILL, R. M., TAMAS, M. J., HOHMANN, S. Identification of residues controlling transport through the yeast aquaglyceroporin Fps1 using a genetic screen. *Eur J Biochem*, v. 271, n.4, p. 771-779, 2004.
- KARLGREN, S., PETTERSSON, N., NORDLANDER, B., MATHAI, J. C., BRODSKY, J. L., ZEIDEL, M. L., BILL, R. M., HOHMANN, S. Conditional osmotic stress in yeast: a system to study transport through aquaglyceroporins and osmotic stress signaling. *J Biol Chem*, v. 280, n.8, p. 7186-7193, 2005.
- KHAN, R., TAN, R., MARISCAL, A. G., STRANEY, D. A binuclear zinc transcription factor binds the host isoflavonoid-responsive element in a fungal cytochrome p450 gene responsible for detoxification. *Mol Microbiol*, v. 49, n.1, p. 117-130, 2003.
- KIM, S., AHN, I. P., RHO, H. S., LEE, Y. H. MHP1, a *Magnaporthe grisea* hydrophobin gene, is required for fungal development and plant colonization. *Mol Microb*, v. 57, n.5, p. 1224-1237, 2005.
- KIM, Y. S. Malonate metabolism: Biochemistry, molecular biology, physiology, and industrial application. *J Biochem Mol Biol*, v. 35, n.5, p. 443-451, 2002.
- KOERKAMP, M. G., REP, M., BUSSEMAKER, H. J., HARDY, G. P., MUL, A., PIEKARSKA, K., SZIGYARTO, C. A., DE MATTOS, J. M., TABAK, H. F. Dissection of transient oxidative stress response in *Saccharomyces cerevisiae* by using DNA microarrays. *Mol Biol Cell*, v. 13, n.8, p. 2783-2794, 2002.
- KRUPASAGAR, V., SEQUEIRA, L. Auxin Destruction by *Marasmius Perniciosus*. *Amer J Bot*, v. 56, n.4, p. 390-397, 1969.
- KUMAGAI, Y., YAJIMA, A., KONISHI, K. Peptidase activity of dipeptidyl aminopeptidase IV produced by *Porphyromonas gingivalis* is important but not sufficient for virulence. *Microb Immun*, v. 47, n.10, p. 735-743, 2003.
- LAKE, M. R., WILLIAMSON, C. L., SLOCUM, R. D. Molecular cloning and characterization of a UDP- glucose-4- epimerase gene (galE) and its expression in pea tissues. *Plant Phys Biochem*, v. 36, n.8, p. 555-562, 1998.
- LEE, B. N., ADAMS, T. H. The *Aspergillus-Nidulans* Flug Gene Is Required for Production of an Extracellular Developmental Signal and Is Related to Prokaryotic Glutamine-Synthetase .1. *Genes & Developm*, v. 8, n.6, p. 641-651, 1994.
- LEE, S. J., BASERGA, S. J. Imp3p and Imp4p, two specific components of the U3 small nucleolar ribonucleoprotein that are essential for pre-18S rRNA processing. *Mol Cell Biol*, v. 19, n.8, p. 5441-5452, 1999.
- LEROUX, P., FRITZ, R., DEBIEU, D., ALBERTINI, C., LANEN, C., BACH, J., GREDET, M., CHAPELAND, F. Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Manag Sci*, v. 58, n.9, p. 876-888, 2002.
- LEUTHNER, B., AICHINGER, C., OEHMEN, E., KOOPMANN, E., MULLER, O., MULLER, P., KAHMANN, R., BOLKER, M., SCHREIER, P. H. A H₂O₂-producing glyoxal oxidase is required

- for filamentous growth and pathogenicity in *Ustilago maydis*. *Mol Genet Genom*, v. 272, n.6, p. 639-650, 2005.
- LI, D., ROBERTS, R. WD-repeat proteins: structure characteristics, biological function, and their involvement in human diseases. *Cell Mol Life Sci*, v. 58, n.14, p. 2085-2097, 2001.
- LIM, R., ZAHEER, A., LANE, W. S. Complete Amino-Acid-Sequence of Bovine Glia Maturation Factor-Beta. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 87, n.14, p. 5233-5237, 1990.
- LORENZ, M. C., FINK, G. R. The glyoxylate cycle is required for fungal virulence. *Nature*, v. 412, n.6842, p. 83-86, 2001.
- LUDIN, K. M., HILTI, N., SCHWEINGRUBER, M. E. *Schizosaccharomyces-Pombe* Rds1, an Adenine-Repressible Gene Regulated by Glucose, Ammonium, Phosphate, Carbon-Dioxide and Temperature. *Mol Gen Genet*, v. 248, n.4, p. 439-445, 1995.
- MAEDA, H., SANO, M., MARUYAMA, Y., TANNO, T., AKAO, T., TOTSUKA, Y., ENDO, M., SAKURADA, R., YAMAGATA, Y., MACHIDA, M., AKITA, O., HASEGAWA, F., ABE, K., GOMI, K., NAKAJIMA, T., IGUCHI, Y. Transcriptional analysis of genes for energy catabolism and hydrolytic enzymes in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* using cDNA microarrays and expressed sequence tags. *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 65, n.1, p. 74-83, 2004.
- MANDEL, M., PARRISH, F. W., REESE, E. T. Sophorose as an inhibitor of cellulase in *Trichoderma viride*. *J Bacteriol*, v. 83, p. 400-408, 1962.
- MATSUMURA, H., REICH, S., ITO, A., SAITOH, H., KAMOUN, S., WINTER, P., KAHL, G., REUTER, M., KRUGER, D. H., TERAUCHI, R. Gene expression analysis of plant host-pathogen interactions by SuperSAGE. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 100, n.26, p. 15718-15723, 2003.
- MATZ, M., SHAGIN, D., BOGDANOVA, E., BRITANOVA, O., LUKYANOV, S., DIATCHENKO, L., CHENCHIK, A. Amplification of cDNA ends based on template-switching effect and step-out PCR. *Nucleic Acids Res*, v. 27, n.6, p. 1558-1560, 1999.
- MEINHARDT, L. W., BELLATO CDE, M., RINCONES, J., AZEVEDO, R. A., CASCARDO, J. C., PEREIRA, G. A. In vitro production of biotrophic-like cultures of *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches' broom disease of *Theobroma cacao*. *Curr Microbiol*, v. 52, n.3, p. 191-196, 2006.
- MEYERS, B. C., GALBRAITH, D. W., NELSON, T., AGRAWAL, V. Methods for transcriptional profiling in plants. Be fruitful and replicate. *Plant Physiology*, v. 135, n.2, p. 637-652, 2004.
- MITTAPALLI, O., NEAL, J. J., SHUKLE, R. H. Differential expression of two cytochrome P450 genes in compatible and incompatible Hessian fly/wheat interactions. *Insect Biochem Mol Biol*, v. 35, n.9, p. 981-989, 2005.
- MUR, L. A. J., KENTON, P., DRAPER, J. In planta measurements of oxidative bursts elicited by avirulent and virulent bacterial pathogens suggests that H₂O₂ is insufficient to elicit cell death in tobacco. *Plant Cell Environ*, v. 28, n.4, p. 548-561, 2005.
- MUSE, R. B., COLLIN, H. A., ISAAC, S., HARDWICK, K. Effects of the fungus *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witches' broom disease, on cell and tissue cultures of cocoa (*Theobroma cacao* L). *Plant Pathol*, v. 45, n.1, p. 145-154, 1996.
- NAKAGAWA, I., NAKATA, M., KAWABATA, S., HAMADA, S. Transcriptome analysis and gene expression profiles of early apoptosis-related genes in *Streptococcus pyogenes*-infected epithelial cells. *Cell Microbiol*, v. 6, n.10, p. 939-952, 2004.
- NARUSAKA, Y., NARUSAKA, M., SEKI, M., UMEZAWA, T., ISHIDA, J., NAKAJIMA, M., ENJU, A., SHINOZAKI, K. Crosstalk in the responses to abiotic and biotic stresses in *Arabidopsis*: analysis of gene expression in cytochrome P450 gene superfamily by cDNA microarray. *Plant Mol Biol*, v. 55, n.3, p. 327-342, 2004.
- PETTERSSON, N., FILIPSSON, C., BECIT, E., BRIVE, L., HOHMANN, S. Aquaporins in yeasts and filamentous fungi. *Biol Cell*, v. 97, n.7, p. 487-500, 2005.
- PHILLIPS, J., EBERWINE, J. H. Antisense RNA Amplification: A Linear Amplification Method for Analyzing the mRNA Population from Single Living Cells. *Methods*, v. 10, n.3, p. 283-288, 1996.
- PICKERING, Y. V., HEDGER, J. N. Production of Basidiocarps of the Cocoa Pathogen *Crinipellis-Pernicioso* in *Invitro* Culture. *Trans Brit Mycol Soc*, v. 88, p. 404-406, 1987.
- PRINS, T. W., WAGEMAKERS, L., VAN KAN, J. A. L. Structure and expression in planta of *Botrytis cinerea* ubiquitin genes. *Eur J Plant Pathol*, v. 106, n.7, p. 693-698, 2000.

- PURDY, L. H., SCHMIDT, R. A. Status of cacao witches' broom: Biology, epidemiology, and management. *Ann Rev Phytopathol*, v. 34, p. 573-594, 1996.
- RAJ, A. A., RAGHUNATHAN, R., SRIDEVIKUMARI, M. R., RAMAN, N. Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of a new class of spiro pyrrolidines. *Bioorganic & Medic Chem*, v. 11, n.3, p. 407-419, 2003.
- ROPER, J. R., FERGUSON, M. A. Cloning and characterisation of the UDP-glucose 4'-epimerase of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*, v. 132, n.1, p. 47-53, 2003.
- SAMBROOK, J., RUSSEL, D. W. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- SCARPARI, L. M., MEINHARDT, L. W., MAZZAFERA, P., POMELLA, A. W. V., SCHIAVINATO, M. A., CASCARDO, J. C. M., PEREIRA, G. A. G. Biochemical changes during the development of witches' broom: the most important disease of cocoa in Brazil caused by *Crinipellis pernicioso*. *J Exp Bot*, v. 56, n.413, p. 865-877, 2005.
- SCHENA, M., SHALON, D., DAVIS, R. W., BROWN, P. O. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*, v. 270, n.5235, p. 467-470, 1995.
- SCHENK, P. M., KAZAN, K., WILSON, I., ANDERSON, J. P., RICHMOND, T., SOMERVILLE, S. C., MANNERS, J. M. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 97, n.21, p. 11655-11660, 2000.
- SCHOUTEN, A., WAGEMAKERS, L., STEFANATO, F. L., VAN DER KAAIJ, R. M., VAN KAN, J. A. Resveratrol acts as a natural antifungicide and induces self-intoxication by a specific laccase. *Mol Microbiol*, v. 43, n.4, p. 883-894, 2002.
- SEGERS, G., BRADSHAW, N., ARCHER, D., BLISSETT, K., OLIVER, R. P. Alcohol oxidase is a novel pathogenicity factor for *Cladosporium fulvum*, but aldehyde dehydrogenase is dispensable. *Mol Plant Microb Interact*, v. 14, n.3, p. 367-377, 2001.
- SEGERS, G. C., HAMADA, W., OLIVER, R. P., SPANU, P. D. Isolation and characterisation of five different hydrophobin-encoding cDNAs from the fungal tomato pathogen *Cladosporium fulvum*. *Mol Gen Genet*, v. 261, n.4-5, p. 644-652, 1999.
- SEPULVEDA-JIMENEZ, G., RUEDA-BENITEZ, P., PORTA, H., ROCHA-SOSA, M. Betacyanin synthesis in red beet (*Beta vulgaris*) leaves induced by wounding and bacterial infiltration is preceded by an oxidative burst. *Physiol Mol Plant Pathol*, v. 64, n.3, p. 125-133, 2004.
- SHINOZAKI-YABANA, S., WATANABE, Y., YAMAMOTO, M. Novel WD-repeat protein Mip1p facilitates function of the meiotic regulator Mei2p in fission yeast. *Mol Cell Biol*, v. 20, n.4, p. 1234-1242, 2000.
- SIMS, A. H., ROBSON, G. D., HOYLE, D. C., OLIVER, S. G., TURNER, G., PRADE, R. A., RUSSELL, H. H., DUNN-COLEMAN, N. S., GENT, M. E. Use of expressed sequence tag analysis and cDNA microarrays of the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genet Biol*, v. 41, n.2, p. 199-212, 2004.
- SMITH, T. F., GAITATZES, C., SAXENA, K., NEER, E. J. The WD repeat: a common architecture for diverse functions. *Trends Biochem Sci*, v. 24, n.5, p. 181-185, 1999.
- THOMAS, D., BRON, P., RANCHY, G., DUCHESNE, L., CAVALIER, A., ROLLAND, J. P., RAGUENES-NICOL, C., HUBERT, J. F., HAASE, W., DELAMARCHE, C. Aquaglyceroporins, one channel for two molecules. *Biochim Biophys Acta*, v. 1555, n.1-3, p. 181-186, 2002.
- VAN GELDER, R. N., VON ZASTROW, M. E., YOOL, A., DEMENT, W. C., BARCHAS, J. D., EBERWINE, J. H. Amplified RNA synthesized from limited quantities of heterogeneous cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 87, n.5, p. 1663-1667, 1990.
- VELCULESCU, V. E., ZHANG, L., VOGELSTEIN, B., KINZLER, K. W. Serial analysis of gene expression. *Science*, v. 270, n.5235, p. 484-487, 1995.
- WALLACE, I. S., ROBERTS, D. M. Distinct transport selectivity of two structural subclasses of the nodulin-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporin channels. *Biochemistry*, v. 44, n.51, p. 16826-16834, 2005.
- WAN, J., DUNNING, F. M., BENT, A. F. Probing plant-pathogen interactions and downstream defense signaling using DNA microarrays. *Funct Integr Genomics*, v. 2, n.6, p. 259-273, 2002.
- WANG, E., MILLER, L. D., OHNMACHT, G. A., LIU, E. T., MARINCOLA, F. M. High-fidelity mRNA amplification for gene profiling. *Nat Biotechnol*, v. 18, n.4, p. 457-459, 2000.

- WANG, F., FENG, X. C., LI, Y. M., YANG, H., MA, T. H. Aquaporins as potential drug targets. *Acta Pharmacol Sin*, v. 27, n.4, p. 395-401, 2006.
- WANG, J. C., YAO, L. B., ZHAO, Z. L. The progress of the methods for screening differentially expressed genes and proteins. *Progr Biochem Bioph*, v. 28, n.1, p. 33-36, 2001.
- WEI, Y. D., SHEN, W. Y., DAUK, M., WANG, F., SELVARAJ, G., ZOU, J. T. Targeted gene disruption of glycerol-3-phosphate dehydrogenase in *Colletotrichum gloeosporioides* reveals evidence that glycerol is a significant transferred nutrient from host plant to fungal pathogen. *J Biol Chem*, v. 279, n.1, p. 429-435, 2004.
- WHITEFORD, J. R., SPANU, P. D. Hydrophobins and the interactions between fungi and plants. *Mol Plant Pathol*, v. 3, n.5, p. 391-400, 2002.
- WOSTEN, H. A. B. Hydrophobins: Multipurpose proteins. *Ann Rev Microbiol*, v. 55, p. 625-646, 2001.
- YANG, Y. H., DUDOIT, S., LUU, P., LIN, D. M., PENG, V., NGAI, J., SPEED, T. P. Normalization for cDNA microarray data: a robust composite method addressing single and multiple slide systematic variation. *Nucleic Acids Res*, v. 30, n.4, p. e15, 2002.
- YANG, Z. N., ROGERS, L. M., SONG, Y. D., GUO, W. J., KOLATTUKUDY, P. E. Homoserine and asparagine are host signals that trigger in planta expression of a pathogenesis gene in *Nectria haematococca*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 102, n.11, p. 4197-4202, 2005.
- YODER, O. C., TURGEON, B. G. Molecular-genetic evaluation of fungal molecules for roles in pathogenesis to plants. *J Genet*, v. 75, n.3, p. 425-440, 1996.
- YU, G. X., BRAUN, E., WISE, R. P. Rds and Rih mediate hypersensitive cell death independent of gene-for-gene resistance to the oat crown rust pathogen *Puccinia coronata* f. sp. avenae. *Mol Plant-Microb Interact*, v. 14, n.12, p. 1376-1383, 2001.
- ZHEN, W., CHEN, X., LIANG, H. B., HU, Y. L., GAO, Y., LIN, Z. P. Enhanced late blight resistance of transgenic potato expressing glucose oxidase under the control of pathogen-inducible promoter. *Chin Sci Bulletin*, v. 45, n.21, p. 1982-+, 2000.
- ZHENG, W., JOHNSTON, S. A., JOSHUA-TOR, L. The unusual active site of Gal6/bleomycin hydrolase can act as a carboxypeptidase, aminopeptidase, and peptide ligase. *Cell*, v. 93, n.1, p. 103-109, 1998.
- ZHU, X., WILLIAMSON, P. R. Role of laccase in the biology and virulence of *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Yeast Res*, v. 5, n.1, p. 1-10, 2004.

5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS TRABALHOS

Sobre os dois objetivos principais deste trabalho podemos concluir que o estudo de caracterização bioquímica da vassoura-de-bruxa foi realizado com sucesso, sugerindo a participação de compostos como a cafeína, teobromina, fenóis e taninos nas estratégias iniciais de defesa do cacauero em resposta à invasão pelo micélio biotrófico de *C. pernicioso*. Uma vez que essas estratégias falharam, a planta dispara uma cascata de eventos, possivelmente ativada pela elevação dos níveis de etileno, com conseqüente aumento dos níveis de asparagina, açúcares, glicerol e malondialdeído (MDA), alteração do perfil de ácidos graxos, redução de aminoácidos individuais e de pigmentos fotossintéticos, que levam à morte do tecido infectado.

Seria muito interessante se este trabalho fosse feito para comparar genótipos de cacauero com diferentes níveis de resistência à doença. Assim, seria possível identificar os metabólitos responsáveis pela resistência de alguns genótipos ao fungo *C. pernicioso*, e a partir do conhecimento desses metabólitos, planejar estratégias de controle da doença.

O outro objetivo do trabalho foi identificar os genes diferencialmente expressos na fase biotrófica do fungo *C. pernicioso*, por meio da comparação da expressão gênica dos micélios necrotrófico e biotrófico cultivados *in vitro*. Os dados obtidos a partir da técnica de *microarrays* de DNA sugerem a existência de diferenças no metabolismo de hexoses e ácidos graxos dos dois micélios. Foram detectadas diferenças na expressão de genes que codificam compostos antimicrobianos e moléculas que participam da detoxificação de compostos tóxicos, como as fitoalexinas, sugerindo papel na proteção do fungo e na eliminação de outros microrganismos presentes no cacauero, os quais competiriam por espaço e nutrientes com o fungo. Os genes de hidrofobinas, álcool oxidase (AOX) e glioxal oxidase, conhecidos como fatores de patogenicidade de outros microrganismos, tiveram sua expressão induzida no micélio biotrófico de *C. pernicioso*, sugerindo sua participação nos mecanismos de patogenicidade do fungo ao cacauero.

Um resultado bastante interessante foi o aumento da expressão do gene da *aquaglicerolporin*, canal facilitador da entrada de glicerol, sugerindo uma maior

absorção deste composto que serviria como fonte substituta de carbono. De fato, o glicerol é apontado como essencial para o cultivo da fase biotrófica de *Crinipellis perniciosa in vitro* (MEINHARDT *et al.* 2006), e também foi encontrado em níveis significativamente maiores na vassoura verde em comparação com tecidos saudáveis e vassoura seca (SCARPARI *et al.* 2005). Além disso, é um importante metabólito transferido da planta para o patógeno em interações planta-fungo, e é apontado como componente essencial na manutenção da fase biotrófica e na patogênese de alguns fungos (YODER & TURGEON 1996; WEI *et al.* 2004). Estes canais são alvos potenciais de novas drogas em humanos e protozoários (BEITZ 2005, WANG *et al.* 2006), sugerindo-os como candidatos para futuras investigações sobre a interação cacau - *C. perniciosa* e para o possível controle da doença vassoura-de-bruxa.

Como já dito anteriormente, esta parte do trabalho necessita ser finalizada com a confirmação dos resultados obtidos através de uma técnica independente como PCR em tempo real ou *Northern blot*.

Estudos englobando outras estruturas do ciclo de vida de *C. perniciosa* como os basidiósporos e os basidiocarpos possibilitariam uma visão mais ampla do padrão de expressão gênica do fungo ao longo de todo o seu ciclo de desenvolvimento. Parte deste trabalho está sendo desenvolvida pela doutoranda Acássia Leal, que está avaliando a regulação da expressão gênica durante o desenvolvimento dos basidiocarpos do fungo.

Para complementar a gama de estruturas fúngicas analisadas, experimentos de *microarrays* poderiam ser feitos para avaliar o perfil da expressão gênica de esporos de *C. perniciosa* durante a germinação em água ou em extrato de cacau, o que poderia levar à identificação dos primeiros genes do fungo ativados pelo contato com a planta. Uma dificuldade nesta abordagem é a obtenção de esporos de *C. perniciosa* com níveis aceitáveis de contaminação por outros microrganismos.

Outra sugestão importante, já discutida no Capítulo II, é a confecção de uma lâmina para análises de *microarrays*, contendo fragmentos cDNA de bibliotecas normalizadas das estruturas *C. perniciosa*, como por exemplo os micélios. Esta estratégia é muito interessante para aumentar o número de

transcritos analisados, pois cerca de 65% dos transcritos de bibliotecas de micélio do fungo não apresentam similaridade com as sequências depositadas nos bancos de dados (RINCONES *et al.*, manuscrito em preparação).

Nossos resultados representam importantes avanços nos conhecimentos sobre a doença vassoura-de-bruxa do cacauero e sobre o metabolismo do fungo *C. pernicioso* e serão úteis para direcionar futuras investigações e pesquisas que visem o controle desta importante doença do cacauero.

A identificação de genes potencialmente envolvidos no desenvolvimento da doença poderá indicar alvos para estudos *in vivo* por superexpressão em planta ou obtenção de fungos mutantes deficientes nestes genes.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. *Plant pathology*. San Diego, Academic Press, 1997, 635 p.
- ALMEIDA, A. A. F., AGUILAR, M. A. G. and ARAÚJO, I. S. Anatomical modifications in two cacao genotypes infected by *Crinipellis pernicioso*. *Agrotropica*, v. 10, n.3, p. 199-202, 1998.
- ALMEIDA, L. C., BASTOS, C. N., FERREIRA, N. P. Produção de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* em dois sistemas de cultivo do cacueiro. *Fitopatol Bras*, v. 20, n.1, p. 60-64, 1995.
- ALMEIDA, O. C., CHIACCHIO, F. P. B., ROCHA, H. M. Sobrevivência de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer em vassouras secas de cacaueiros (*Theobroma cacao* L.) do estado da Bahia. *Agrotropica*, v. 9, n.1, p. 23-28, 1997.
- ANDEBRHAN, T., ALMEIDA, L. C., NAKAYAMA, L. H. I. Resistência de *Theobroma cacao* L. a *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer: a experiência da Amazônia brasileira. *Agrotropica*, v. 10, n.2, p. 49-60, 1998.
- ANDEBRHAN, T., FIGUEIRA, A., YAMADA, M. M., CASCARDO, J., FURTEK, D. B. Molecular fingerprinting suggests two primary outbreaks of witches' broom disease (*Crinipellis pernicioso*) of *Theobroma cacao* in Bahia, Brazil. *Eur J Plant Pathol*, v. 105, n.2, p. 167-175, 1999.
- ANEJA, M., GIANFAGNA, T. Induction and accumulation of caffeine in young, actively growing leaves of cocoa (*Theobroma cacao* L.) by wounding or infection with *Crinipellis pernicioso*. *Physiol Mol Plant Pathol*, v. 59, n.1, p. 13-16, 2001.
- BAREL, M., LEON, D., VICENT, J. C. The influence of cocoa fermentation time on the production of pyrazines in chocolate. *Café Cacao Thé*, v. 29, n.4, p. 277-286, 1985.
- BASTOS, C. N. Avaliação de fungicidas sistêmicos no controle da vassoura-de-bruxa do cacauero. *Agrotropica*, v. 1, n.2, p. 128-132, 1989a.
- BASTOS, C. N. Efeito da radiação solar e do período pós-germinativo sobre a viabilidade de basidiósporos de *Crinipellis pernicioso*. *Fitopatol Bras*, v. 14, n.3, p. 261-263, 1989b.
- BASTOS, C. N. Patogenicidade e características do isolado de *Crinipellis pernicioso* procedente de Uruçuca, Bahia. *Fitopatol Bras*, v. 15, n.4, p. 344-346, 1990.
- BASTOS, C. N. Potencial de *Trichoderma viride* no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacauero. *Fitopatol Bras*, v. 21, n.4, p. 509-512, 1996.
- BLEECKER, A. B. Ethylene perception and signaling: an evolutionary perspective. *Trends Plant Sci*, v. 4, n.7, p. 269-274, 1999.
- BOLWELL, G. P., BUTI, V. S., DAVIES, D. R., ZIMMERLIN, A. The origin of the oxidative burst in plants. *Free Radical Res*, v. 23, n.6, p. 517-532, 1995.
- BOUGHTON, A. J., HOOVER, K., FELTON, G. W. Methyl jasmonate application induces increased densities of glandular trichomes on tomato, *Lycopersicon esculentum*. *J Chem Ecol*, v. 31, n.9, p. 2211-2216, 2005.
- CALLE, H., COOK, A. A., FERNANDO, S. Y. Histology of witches broom caused in cacao by *Crinipellis pernicioso*. *Phytopathol*, v. 72, n.11, p. 1479-1481, 1982.
- CHANG, C., MEYEROWITZ, E. M. The ethylene hormone response in *Arabidopsis* - a eukaryotic 2-component signaling system. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 92, n.10, p. 4129-4133, 1995.
- CHEN, Y. F., ETHERIDGE, N., SCHALLER, G. E. Ethylene signal transduction. *Ann Bot (Lond)*, v. 95, n.6, p. 901-915, 2005.
- CHEN, Y. F., RANDLETT, M. D., FINDELL, J. L., SCHALLER, G. E. Localization of the ethylene receptor ETR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, v. 277, n.22, p. 19861-19866, 2002.
- CONCEIÇÃO, H. E. O., MAZZAFERA, P., ROCHA NETO, O. G., STEIN, R. L. B. Biochemical composition of *Theobroma grandiflorum* leaves infected by *Crinipellis pernicioso*. *Rev Bras Fisiol Veg*, v. 9, n.2, p. 135-138, 1997.
- DANGL, J. L., JONES, J. D. G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, v. 411, n.6839, p. 826-833, 2001.
- DAYAKAR, B. V., LIN, H. J., CHEN, C. H., GER, M. J., LEE, B. H., PAI, C. H., CHOW, D., HUANG, H. E., HWANG, S. Y., CHUNG, M. C., FENG, T. Y. Ferredoxin from sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) intensifying harpin(pss)-mediated hypersensitive response shows an enhanced production of active oxygen species (AOS). *Plant Mol Biol*, v. 51, n.6, p. 913-924, 2003.

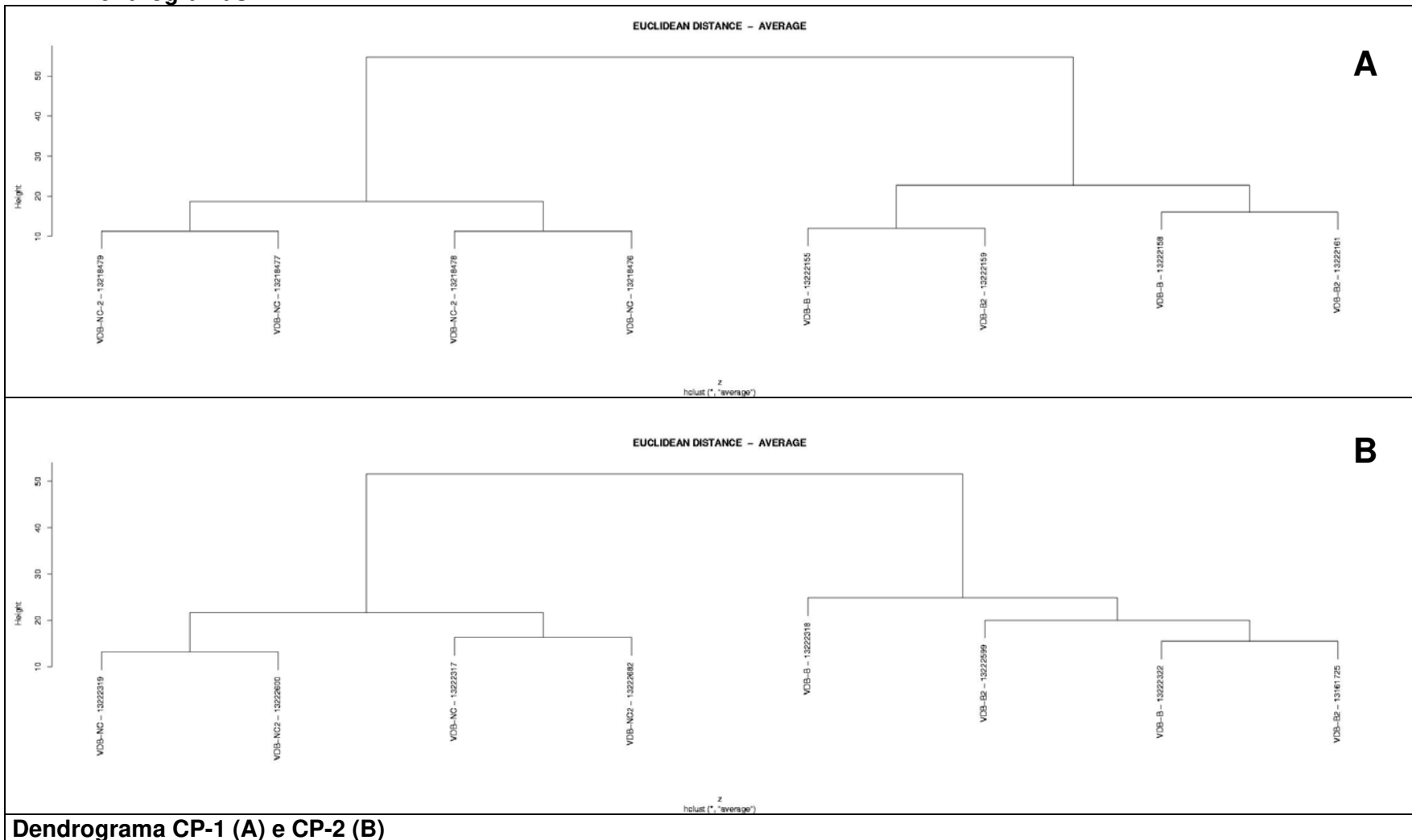
- DE ARRUDA, M. C., FERREIRA, M. A., MILLER, R. N., RESENDE, M. L., FELIPE, M. S. Nuclear and mitochondrial rDNA variability in *Crinipellis pernicioso* from different geographic origins and hosts. *Mycol Res*, v. 107, n.Pt 1, p. 25-37, 2003.
- DIXON, R. A., LAMB, C. J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. *Ann Rev Plant Phys Plant Mol Biol*, v. 41, p. 339-367, 1990.
- EVANS, H. C. Witches' broom disease of cocoa (*Crinipellis pernicioso*) in Ecuador. I. The fungus. *Annals Appl Biol*, v. 89, p. 185-192, 1978.
- EVANS, H. C. Pleomorphism in *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witches broom disease of cocoa. *Trans Brit Mycol Soc*, v. 74, n.JUN, p. 515-523, 1980.
- FIGUEIRA, A., JANICK, J., BEMILLER, J. N. Partial Characterization of Cacao Pod and Stem Gums. *Carbohydrate Polymers*, v. 24, n.2, p. 133-138, 1994.
- FLOR, H. H. Current status of gene-for-gene concept. *Ann Rev Phytopathol*, v. 9, p. 275-296, 1971.
- GIBBS, A. F., WILCOXSON, R. Effect of sugar content of *Poa pratensis* on *Helminthosporium* Leaf Spot. *Physiol Plant Pathol*, v. 2, n.3, p. 279-8, 1972.
- GREFEN, C., HARTER, K. Plant two-component systems: principles, functions, complexity and cross talk. *Planta*, v. 219, n.5, p. 733-742, 2004.
- GRIFFITH, G. W., NICHOLSON, J., NENNINGER, A., BIRCH, R. N., HEDGER, J. N. Witches' brooms and frosty pods: two major pathogens of cacao. *New Zeal J Bot*, v. 41, n.3, p. 423-435, 2003.
- GUILFOYLE, T., HAGEN, G., ULMASOV, T., MURFETT, J. How does auxin turn on genes? *Plant Physiol*, v. 118, n.2, p. 341-347, 1998.
- HAHLBROCK, K., SCHEEL, D. Physiology and Molecular-Biology of Phenylpropanoid Metabolism. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, v. 40, p. 347-369, 1989.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Meth Enzymol*, v. 186, p. 1-85, 1990.
- HAMMONDKOSACK, K. E., JONES, J. D. G. Resistance gene-dependent plant defense responses. *Plant Cell*, v. 8, n.10, p. 1773-1791, 1996.
- HANCOCK, J. T., DESIKAN, R., CLARKE, A., HURST, R. D., NEILL, S. J. Cell signalling following plant/pathogen interactions involves the generation of reactive oxygen and reactive nitrogen species. *Plant Physiol Biochem*, v. 40, n.6-8, p. 611-617, 2002.
- HWANG, B. K. Contents of sugars, fruit acids, amino acids and phenolic compounds of apple fruits in relation to their susceptibility to *Botryosphaeria ribis*. *Phytopathologische Zeitschrift-J Phytopathol*, v. 108, n.1, p. 1-11, 1983.
- KENN, N. T., MAYAMA, S., LEACH, J. E., TSUYUMU, S. *Delivery and perception of pathogen signals in plants*. St. Paul, APS Press, 2001.
- KRUPASAGAR, V., SEQUEIRA, L. Auxin Destruction by *Marasmius perniciosus*. *Amer J Bot*, v. 56, n.4, p. 390-397, 1969.
- LAMB, C. J., LAWTON, M. A., DRON, M. Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack. *Cell*, v. 56, n.2, p. 215-224, 1989.
- LAWRENCE, J. S., CAMPÊLO, A. M. F. L., FIGUEIREDO, J. M. Enfermidades do cacauzeiro. II - Doenças fúngicas que ocorrem nas folhas, ramos e tronco. *Agrotrópica*, v. 3, n.1, p. 1-14, 1991.
- LEAL JUNIOR, G. A. 2002. Diagnóstico de *Crinipellis pernicioso* em tecidos infectados de *Theobroma cacao* e caracterização molecular e serológica de isolados coletados de vários hospedeiros. *Centro de Energia Nuclear na Agricultura*. Piracicaba, Universidade de São Paulo: 136 p.
- LEITE, B., RONCATO, L. D. B., PASCHOLATI, S. F., LAMBAIS, M. R. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. *Rev An Patol Plantas*, v. 5, p. 235-280, 1997.
- LOW, P. S., MERIDA, J. R. The oxidative burst in plant defence - Function and signal transduction. *Physiol Plantarum*, v. 96, p. 533-542, 1996.
- LUCAS, J. A. *Plant pathology and plant pathogens*. Oxford, The Blackwell Science, 1998.
- LUKENS, R. J. Melting-out of Kentucky Bluegrass, a Low Sugar Disease. *Phytopathol*, v. 60, n.8, p. 1276-8, 1970.
- MARATHE, R., DINESH-KUMAR, S. P. Plant defense: One post, multiple guards?! *Mol Cell*, v. 11, n.2, p. 284-286, 2003.

- MASON, M. G., SCHALLER, G. E. Histidine kinase activity and the regulation of ethylene signal transduction. *Can J Bot-Revue Canadienne De Botanique*, v. 83, n.6, p. 563-570, 2005.
- MEHDY, M. C. Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiol*, v. 105, n.2, p. 467-472, 1994.
- MEINFREIN, M., TANGUY, J. Sur le rôle des composés phénoliques au cours de l'infection des cabosses de *Theobroma cacao* par *Phytophthora*. *Café Cacao Thé*, v. 11, p. 337-342, 1967.
- MEINHARDT, L. W., BELLATO C.DE, M., RINCONES, J., AZEVEDO, R. A., CASCARDO, J. C., PEREIRA, G. A. In vitro production of biotrophic-like cultures of *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches' broom disease of *Theobroma cacao*. *Curr Microbiol*, v. 52, n.3, p. 191-196, 2006.
- MUCKENSCHNABEL, I., GOODMAN, B. A., WILLIAMSON, B., LYON, G. D., DEIGHTON, N. Infection of leaves of *Arabidopsis thaliana* by *Botrytis cinerea*: changes in ascorbic acid, free radicals and lipid peroxidation products. *J Exp Bot*, v. 53, n.367, p. 207-214, 2002.
- MUTHUKRISHNAN, S., LIANG, G. H., TRICK, H. N., GILL, B. S. Pathogenesis-related proteins and their genes in cereals. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, v. 64, n.2-3, p. 93-114, 2001.
- NDOUMOU, D. O., NDZOMO, G. T., DJOCGOUE, P. F. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol contents in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra and Grif. *Ann Bot*, v. 77, n.2, p. 153-158, 1996.
- NORMAN-SETTERBLAD, C., VIDAL, S., PALVA, E. T. Interacting signal pathways control defense gene expression in *Arabidopsis* in response to cell wall-degrading enzymes from *Erwinia carotovora*. *Mol Plant-Microb Interact*, v. 13, n.4, p. 430-438, 2000.
- OMOKOLO, N. D., NANKEU, D. J., NIEMENAK, N., DJOCGOUE, P. F. Analysis of amino acids and carbohydrates in the cortex of nine clones of *Theobroma cacao* L. in relation to their susceptibility to *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. *Crop Protect*, v. 21, n.5, p. 395-402, 2002.
- ORCHARD, J., COLLIN, H. A., HARDWICK, K., ISAAC, S. Changes in morphology and measurement of cytokinin levels during the development of witches brooms on cocoa. *Plant Pathol*, v. 43, n.1, p. 65-72, 1994.
- ORCHARD, J. E., HARDWICK, K. 1988. Photosynthesis, carbohydrate translocation and metabolism of host and fungal tissues in cacao seedlings infected with *Crinipellis pernicioso*. 10th International Cocoa Research Conference.
- PASCHOLATI, S. F., LEITE, B. *Hospedeiro: mecanismos de resistência. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H. and AMORIM, L. São Paulo, Editora Agronômica Ceres.1995 1: 417-453.
- PATIL, S. H., HEDGE, R. K., ANAHOUSUR, K. H. Role of Sugars and Phenols in Charcoal-Rot Resistance of Sorghum. *Phytopathologische Zeitschrift-J Phytopathol*, v. 113, n.1, p. 30-35, 1985.
- PENMAN, D., BRITTON, G., HARDWICK, K., COLLIN, H. A., ISAAC, S. Chitin as a measure of biomass of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witches' broom disease of *Theobroma cacao*. *Mycol Res*, v. 104, p. 671-675, 2000.
- PEREIRA, J. L., RAM, A., FIGUEREDO, J. M., ALMEIDA, L. C. C. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. *Agrotrópica*, v. 1, n.1, p. 79-81, 1989.
- PERES FILHO, A. S. A. *Agronegócio brasileiro: ciência, tecnologia e competitividade. Cadeia produtiva do cacau*. ARAUJO, C. Brasília, CNPq.1998: 275.
- PINTO, L. R. M., PIRES, J. L. *Seleção de plantas de cacau resistentes à vassoura de bruxa*. Ilhéus, Bahia, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1998, 34 p.
- PURDY, L. H., SCHMIDT, R. A. Status of cacao witches' broom: Biology, epidemiology, and management. *Ann Rev Phytopathol*, v. 34, p. 573-594, 1996.
- PURVIS, A. C., SHEWFELT, R. L. Does the Alternative Pathway Ameliorate Chilling Injury in Sensitive Plant-Tissues. *Physiol Plantarum*, v. 88, n.4, p. 712-718, 1993.
- RINCONES, J., MEINHARDT, L. W., VIDAL, B. C., PEREIRA, G. A. G. Electrophoretic karyotype analysis of *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches' broom disease of *Theobroma cacao*. *Mycol Res*, v. 107, p. 452-458, 2003.

- RINCONES, J., MAZOTTI, G.D., GRIFFITH, G.W., POMELA, A., FIGUEIRA, A., LEAL JR, G.A., QUEIROZ, M.V., PEREIRA, J.F., AZEVEDO, R.A., PEREIRA, G.A.G., MEINHARDT, L.W. *Mycol Res*, 2006, no prelo.
- SANDERMANN, H. Active oxygen species as mediators of plant immunity: Three case studies. *Biol Chem*, v. 381, n.8, p. 649-653, 2000.
- SANTOS FILHO, L. P., FREIRE, E. S., CARZOLA, I. M. Estimativas de perda de produção de cacau causadas por vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer) na Bahia. *Agrotrópica*, v. 10, n.3, p. 127-130, 1998.
- SILVA, S. D. V. M., MATSUOKA, H. Histologia da interação *Crinipellis pernicioso* em cacauzeiros suscetível e resistente à vassoura-de-bruxa. *Fitopatol Bras*, v. 24, n.1, p. 54-59, 1999.
- SMITH, D. A., BANKS, S. W. Formation and biological properties of isoflavonoid phytoalexins. *Prog Clin Biol Res*, v. 213, p. 113-124, 1986.
- THATCHER, L. F., ANDERSON, J. P., SINGH, K. B. Plant defence responses: what have we learnt from *Arabidopsis*? *Funct Plant Biol*, v. 32, n.1, p. 1-19, 2005.
- TITARENKO, E., HARGREAVES, J., KEON, J., GURR, S. J. *Defense-related gene expression in barley coleoptile cells following infection by Septoria nodurum. Mechanisms of plant defense responses*. FRIGIT, B. and LEGRAND, M. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.1993: 308-311.
- VAN ANDEL, O. M. Amino acids and plant diseases. *Ann Rev Phytopathol*, v. 4, p. 349, 1996.
- VAN LOON, L. C., REP, M., PIETERSE, C. M. Significance of Inducible Defense-related Proteins in Infected Plants. *Annu Rev Phytopathol*, 2006.
- WAN, J., DUNNING, F. M., BENT, A. F. Probing plant-pathogen interactions and downstream defense signaling using DNA microarrays. *Funct Integr Genomics*, v. 2, n.6, p. 259-273, 2002.

7 ANEXOS

7.1 A. Dendrogramas



7.2 Tabela B1: Clones do Projeto Genoma Vassoura-de-Bruxa cujos fragmentos estão presentes na lâmina CP-1

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1 - CP02-S3-033-440-G12-UE.F	glutamine synthetase [Enterobacter gergoviae]	33 - CP02-S1-000-014-F08-UC.F	(AE004692) probable isocitrate lyase [Pseudomonas aeruginosa]
2 - CP02-S3-033-456-D04-UC.F	(Z49809) Gua1p [Saccharomyces cerevisiae]	34 - CP02-S2-025-286-B03-UC.F	(S80069) exochitinase [Trichoderma harzianum]
3 - CP02-S3-036-724-E04-IB.F	hypothetical protein UM01265.1 [Ustilago maydis 521]	35 - CP02-S2-025-300-F02-UC.F	beta galactosidase [Aspergillus niger]
4 - CP02-S3-033-416-B05-UC.G	amino acid permease NAAP1 [Neurospora crassa]	36 - CP02-S2-026-288-E09-UC.F	hypothetical protein [Yarrowia lipolytica]
5 - CP02-S2-000-232-B08-UC.F	(X84683) laccase [Trametes versicolor]	37 - CP02-S2-028-232-C02-UE.F	(AL137130) putative transmembrane channel protein [Schizosaccharomyces pombe]
6 - CP02-S2-000-218-F12-UE.F	(AE001979) glycosyl hydrolase, family 3 [Deinococcus radiodurans]	38 - CP02-S2-028-247-A01-UE.F	(AE007540) 2-isopropylmalate synthase [Clostridium acetobutylicum]
7 - CP02-S2-000-114-C06-UC.F	(L47287) glyoxal oxidase precursor [Phanerochaete chrysosporium]	39 - CP02-S2-028-285-E08-UE.F	(AF489498) sulfate adenylyltransferase MET3 [Filobasidiella neoformans]
8 - CP02-S2-038-266-F07-EM.F	At2g02010/F14H20.8 [Arabidopsis thaliana]	40 - CP02-S2-028-314-A01-UC.F	(U68714) isocitrate lyase 1 [Botryotinia fuckeliana]
9 - CP02-S2-038-266-F08-EM.F	putative endo-beta xylanase [Agaricus bisporus]	41 - CP02-S2-032-108-C06-FS.H	(AF034099) malate synthase protein [Laccaria bicolor]
10 - CP02-S2-000-077-F03-UC.G	aspartyl protease 3 [Homo sapiens]	42 - CP02-S2-032-115-F12-FC.G	putative tartrate dehydrogenase [Escherichia coli O157:H7]
11 - CP02-S3-036-474-E10-UE.F	putative heat shock transcription factor [Arabidopsis thaliana]	43 - CP02-S2-032-116-F02-FC.G	similar to copia-type polyprotein; protein id: At5g13205.1 [Arabidopsis thaliana]
12 - CP02-S2-000-080-H07-UC.G	(Z69727) putative short chain dehydrogenase [Schizosaccharomyces pombe]	44 - CP02-S2-032-295-D04-UE.F	(AL670005) probable E2 ubiquitin-conjugating enzyme [Neurospora crassa]
13 - CP02-S2-000-139-B07-EM.R	prolyl oligopeptidase family protein, putative [Bacillus anthracis str. Ames]	45 - CP02-S2-032-302-H05-UE.F	(AE000380) malate synthase G [Escherichia coli K12]
14 - CP02-S2-000-141-F06-EM.R	(Z74179) ORF YDL131w [Saccharomyces cerevisiae]	46 - CP02-S2-032-305-G06-UE.F	(AF098293) pyruvate decarboxylase [Aspergillus oryzae]
15 - CP02-S2-000-142-E12-EM.R	(AL133306) probable isocitrate dehydrogenase [nad] subunit 2, mitochondrial precursor(ec 1.1.1.41) [Schizosaccharomyces pombe]	47 - CP02-S2-032-308-F08-UE.F	(AE009033) cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
16 - CP02-S2-000-143-F01-CL.H	Probable peroxiredoxin 1	48 - CP02-S2-032-332-A06-UE.F	(AP002552) ureidoglycolate dehydrogenase [Escherichia coli O157:H7]
17 - CP02-S2-000-149-E05-UE.F	processing peptidase (EC 3.4.-.-) beta chain, mitochondrial - shiitake mushroom	49 - CP02-S2-032-380-G05-UE.F	(AJ297818) metallothionein [Crassostrea gigas]
18 - CP02-S2-000-151-C03-CL.F	(AF410850) E2-C type ubiquitin conjugating enzyme [Drosophila melanogaster]	50 - CP02-S2-032-393-E12-UE.F	chitinase [Metarhizium anisopliae]
19 - CP02-S2-000-171-C10-UE.F	(Z72688) ORF YGL166w [Saccharomyces cerevisiae]	51 - CP02-S2-032-398-C06-UE.F	(Z28322) ORF YKR097w [Saccharomyces cerevisiae]
20 - CP02-S2-000-181-A12-UE.F	putative gag-pol polyprotein [Oryza sativa]	52 - CP02-S2-032-398-H12-UE.F	(L78078) laccase [Trametes villosa]
21 - CP02-S2-000-186-C06-UC.F	gag, protease, endonuclease, reverse transcriptase, RNaseH [Volvox carteri]	53 - CP02-S3-038-530-F01-UE.F	(J03860) fatty acid synthase (EC 3.2.1.23) [Gallus gallus]
22 - CP02-S2-000-201-H09-UC.F	(AF084828) major allergenic protein Mal f4 [Malassezia furfur]	54 - CP02-S2-032-472-C09-UC.F	(AE000358) ATP-sulfurylase (ATP:sulfate adenylyltransferase), subunit 1, probably a GTPase [Escherichia coli K12]
23 - CP02-S2-000-212-E09-UC.F	(Z38113) orf, len: 215, CAI: 0.14, similar to BCP_ECOLI P23480 BACTERIOFERRITIN COMIGRATORY PROTEIN [Saccharomyces cerevisiae]	55 - CP02-S2-041-325-F02-EM.F	DNA polymerase [Pleurotus ostreatus]
24 - CP02-S2-000-218-C05-UE.F	endochitinase-HAR2 [Trichoderma harzianum]	56 - CP02-S2-032-503-A10-UC.F	(U25178) TolC [Salmonella enteritidis]
25 - CP02-S2-001-080-D08-UC.R	(AL031534) 2-isopropylmalate synthase. [Schizosaccharomyces pombe]	57 - CP02-S2-033-359-H09-UE.F	(Z50046) Swi5p [Saccharomyces cerevisiae]
26 - CP02-S2-006-126-D10-UC.R	(AL590449) UBIQUITIN-CONJUGATING ENZYME E2 SUBUNIT [Encephalitozoon cuniculi]	58 - CP02-S2-038-232-G03-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
27 - CP02-S2-019-182-D03-UC.R	polyubiquitin UBQ10/SEN3; protein id: At4g05320.1 [Arabidopsis thaliana]	59 - CP02-S2-038-237-E10-EM.F	copia-type polyprotein, putative [Arabidopsis thaliana]
28 - CP02-S2-020-195-C05-UC.R	(U39454) isocitrate lyase [Pinus taeda]	60 - CP02-S2-038-242-G10-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
29 - CP02-S2-020-197-E08-UC.R	(U20390) ORF494 [Saccharomyces cerevisiae]	61 - CP02-S2-038-251-D05-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
30 - CP02-S2-024-295-C05-UC.F	(X98860) isocitrate lyase [Coprinopsis cinerea]	62 - CP02-S2-038-258-G01-EM.F	(AE007750) Beta galactosidase [Clostridium acetobutylicum]
31 - CP02-S2-024-295-D10-UC.F	(AP003363) malate dehydrogenase homolog [Staphylococcus aureus subsp. aureus Mu50]	63 - CP02-S2-038-276-C01-EM.F	endochitinase [Amanita muscaria]
32 - CP02-S1-000-021-A06-UC.F	(AE003952) triacylglycerol lipase precursor [Xylella fastidiosa 9a5c]	64 - CP02-S2-038-278-A03-EM.F	(AF026444) 2-isopropylmalate synthase [Streptomyces coelicolor]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
65 - CP02-S2-039-224-B03-EM.F	(Y11825) extracellular aspartic proteinase [Rhizopus microsporus]	97 - CP02-S3-036-205-C02-EM.F	polyprotein [Bovine viral diarrhea virus genotype 2]
66 - CP02-S2-040-336-A12-EM.F	At1g78870/F9K20_8 [Arabidopsis thaliana]	98 - CP02-S3-036-209-E10-EM.F	synthetic ubiquitin
67 - CP02-S2-040-368-F10-EM.F	(AF050668) 3-isopropylmalate dehydrogenase [Phanerochaete chrysosporium]	99 - CP02-S3-036-489-H01-UE.F	(AJ012821) class I chitinase [Cicer arietinum]
68 - CP02-S2-041-308-D07-EM.F	copa-type reverse transcriptase-like protein [Arabidopsis thaliana]	100 - CP02-S3-036-548-C03-UC.G	hypothetical protein [Neurospora crassa]
69 - CP02-S2-041-313-F05-EM.F	agglutinin [Marasmius oreades]	101 - CP02-S3-038-508-C12-UE.F	hypothetical protein [Magnetospirillum magnetotacticum]
70 - CP02-S2-041-313-H11-EM.F	(AB010700) MAP protein kinase [Arabidopsis thaliana]	102 - CP02-S2-000-056-A08-UC.F	(AF134206) DopAp [Emericella nidulans]
71 - CP02-S2-041-321-C03-EM.G	(U78320) chitinase [Entamoeba invadens]	103 - CP02-S2-000-102-B05-UE.F	(Z49369) ORF YJL095w [Saccharomyces cerevisiae]
72 - CP02-S2-041-325-H06-EM.F	hypothetical protein FG04293.1 [Gibberella zeae PH-1]	104 - CP02-S3-041-663-B07-UE.F	Hemolytic lectin LSLb [Laetiporus sulphureus]
73 - CP02-S3-000-100-D12-UC.F	(AF009036) NAD(+)-isocitrate dehydrogenase subunit I [Ajellomyces capsulatus]	105 - CP02-S2-000-123-G07-CL.F	(AP003001) dehydrogenase; succinatesemialdehyde dehydrogenase; aldehyde dehydrogenase; aldehyde dehydrogenase [Mesorhizobium loti]
74 - CP02-S3-000-105-C03-UC.F	(AL022117) ubiquitin-conjugating enzyme e2-16 kd [Schizosaccharomyces pombe]	106 - CP02-S2-000-076-A11-UC.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
75 - CP02-S3-000-118-E11-UC.G	chitinase [Aspergillus nidulans]	107 - CP02-S2-032-297-E09-UE.F	At2g30860/F7F1.7 [Arabidopsis thaliana]
76 - CP02-S3-000-119-F09-UC.F	ubiquitin-conjugating enzyme [Saccharomyces cerevisiae]	108 - CP02-S2-028-359-E03-UC.F	beta-glucosidase (AA 1 - 845) [Kluyveromyces marxianus]
77 - CP02-S3-000-129-F03-UC.G	(Z46727) Ubc1p [Saccharomyces cerevisiae]	109 - CP02-S2-033-410-G08-UE.F	(AL451013) related to beta-1, 3 exoglucanase precursor [Neurospora crassa]
78 - CP02-S3-033-152-C02-EM.F	aconitate hydrase B [Shigella flexneri 2a str. 301]	110 - CP02-S2-038-245-B12-EM.F	related to xylan 1, 4-beta-xylosidase [Neurospora crassa]
79 - CP02-S3-033-153-H06-EM.F	related to beta-galactosidase [Neurospora crassa]	111 - CP02-S3-033-441-H02-UE.F	(AF332996) transport associated protein 3 [Actinobacillus actinomycetemcomitans]
80 - CP02-S3-033-158-G05-EM.F	orf, conserved hypothetical protein [Shigella flexneri 2a str. 301]	112 - CP02-S3-039-548-F07-UE.F	OSJNBa0039C07.6 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
81 - CP02-S3-033-411-B10-UE.F	cytoplasmic ferritin [Yersinia pestis KIM]	113 - CP02-S3-039-549-F12-UE.F	(AF082893) methionine synthase [Solanum tuberosum]
82 - CP02-S3-033-414-B07-UC.F	(AF159367) bacterial-type chitinase [Ajellomyces dermatitidis]	114 - CP02-S3-036-130-E08-IB.G	(AJ319905) putative syntxin [Agaricus bisporus]
83 - CP02-S3-033-417-E05-UE.F	(Z78420) predicted using Genefinder~Similarity to Mouse ubiquitin (SW:NED8_MOUSE), contains similarity to Pfam domain: PF00240 (Ubiquitin family), Score=144.3, E-value=1.1e-45, N=1~cDNA EST EMBL:T01966 comes from this gene~cDNA EST yk587b8.3 comes from>	115 - CP02-S2-000-104-A12-CL.H	trichodiene oxygenase [Fusarium sporotrichioides]
84 - CP02-S3-033-427-F10-UE.F	beta-galactosidase [Enterobacter cloacae]	116 - CP02-S2-022-276-H07-UC.F	(U75451) catalase [Pleurotus ostreatus]
85 - CP02-S3-033-435-G04-UE.F	aconitate hydrase B [Yersinia pestis KIM]	117 - CP02-S3-039-546-H05-UE.F	probable cytochrome P450 (EC 1.14.-.-) - fission yeast [Schizosaccharomyces pombe]
86 - CP02-S3-033-444-A01-UE.F	lectin-like protein [Lachesis muta, stenophyrus, venom, Peptide, 135 aa]	118 - CP02-S3-041-661-B02-UE.F	(AL022304) putative long-chain-fatty-acid--coa ligase [Schizosaccharomyces pombe]
87 - CP02-S3-033-444-G06-UE.F	outer membrane protein [Stenotrophomonas maltophilia]	119 - CP02-S2-000-169-F06-UE.F	Cytochrome C Peroxidase (Ccp-Mkt) (E.C.1.11.1.5) Wild Type
88 - CP02-S3-033-453-F12-UC.F	ubiquitin-conjugating enzyme [Schizosaccharomyces pombe]	120 - CP02-S2-033-311-E03-UE.F	(AF140504) suppressor of ROK1 [Candida albicans]
89 - CP02-S3-033-458-B04-UC.F	(AB004556) mitochondrial NADP-linked isocitrate dehydrogenase [Candida tropicalis]	121 - CP02-S1-000-005-D04-UC.F	(Z95334) hypothetical protein; similar to S. cerevisiae YNL132W/KRE33 Killer toxin resistant which is null lethal-and induced by glucose repression; highly conserved [Schizosaccharomyces pombe]
90 - CP02-S3-033-458-C03-UC.F	(X57990) adenylylsulfate kinase [Saccharomyces cerevisiae]	122 - CP02-S3-038-512-A04-UE.F	osmotic stress-induced proline dehydrogenase [Arabidopsis thaliana]
91 - CP02-S3-033-458-C05-UC.F	(AE004766) malate:quinone oxidoreductase [Pseudomonas aeruginosa]	123 - CP02-S3-033-139-E06-EM.F	(AL034583) putative ubiquitin fusion degradation protein [Schizosaccharomyces pombe]
92 - CP02-S3-033-459-E05-UE.F	Chain B, Chitinase B From Serratia Marcescens Wildtype In Complex With Catalytic Intermediate	124 - CP02-S3-036-493-B04-UE.F	(AF024633) cAMP-dependent protein kinase regulatory subunit [Magnaporthe grisea]
93 - CP02-S3-033-461-E02-UC.F	(AE008712) putative carboxyphosphoenolpyruvate mutase [Salmonella typhimurium LT2]	125 - CP02-S2-041-316-E07-EM.F	(Y10627) CoH1 [Coprinopsis cinerea]
94 - CP02-S3-033-478-D02-UC.F	(U03278) pepsinogen [Aspergillus niger]	126 - CP02-S2-041-303-E07-EM.F	hematopoietic-specific IL-2 deubiquitinating enzyme [Mus musculus]
95 - CP02-S3-033-484-F06-UC.F	(AAAB01000695) agCP10396 [Anopheles gambiae str. PEST]	127 - CP02-S2-038-260-H04-EM.F	(Z98603) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
96 - CP02-S3-036-131-H11-FC.G	(Z56276) zinc finger protein [Schizosaccharomyces pombe]	128 - CP02-S2-038-244-D10-EM.F	(AE003823) Cct5 gene product [Drosophila melanogaster]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
129 - CP02-S2-037-178-C09-EM.F	cyclin-dependent protein kinase [Sporothrix schenckii]	161 - CP02-S3-033-409-G04-UC.F	dihydroxyacetone kinase (PMID 9804990); induced by glycerol (WB) (PMID 9804990); repressed by glucose (WB) (PMID 9804990); similar to S. cerevisiae DAK1 and DAK2 [Schizosaccharomyces pombe]
130 - CP02-S2-032-333-H04-UE.F	Glc7p: protein phosphatase type 1 [Saccharomyces cerevisiae]	162 - CP02-S3-033-406-D03-UC.G	(AP002995) probable peroxidase [Mesorhizobium lotii]
131 - CP02-S2-032-331-H07-UE.F	(BC017547) Unknown (protein for MGC:28907) [Mus musculus]	163 - CP02-S2-032-428-C01-UC.F	ebiP6433 [Anopheles gambiae str. PEST]
132 - CP02-S2-028-283-G05-UE.F	(BC011968) Similar to 2, 4-dienoyl CoA reductase 2, peroxisomal [Homo sapiens]	164 - CP02-S2-032-428-B01-UC.F	(AE005907) UDP-glucose 6-dehydrogenase [Caulobacter crescentus CB15]
133 - CP02-S2-000-225-B11-UC.F	(AF388201) IKAP [Rattus norvegicus]	165 - CP02-S1-000-033-A05-UC.F	(AF350940) mitogen activated protein kinase [Blumeria graminis]
134 - CP02-S3-036-495-A04-UE.F	(AJ249460) endo-xylogalacturonan hydrolase [Aspergillus tubingensis]	166 - CP02-S1-000-036-G09-UC.F	(AJ414160) glucose inhibited division protein B [Yersinia pestis]
135 - CP02-S3-036-185-D10-EM.F	(AB010105) trehalose synthase [Grifola frondosa]	167 - CP02-S1-000-024-C12-UC.F	(AF296076) delta-6 desaturase [Mucor rouxii]
136 - CP02-S3-033-152-C04-EM.F	(D67026) nitrilase [Rhodococcus rhodochrous]	168 - CP02-S1-000-028-F12-UC.F	(AP002550) putative flavoprotein subunit [Escherichia coli O157:H7]
137 - CP02-S2-040-341-D02-EM.F	farnesyltransferase (al-3) [Neurospora crassa]	169 - CP02-S1-000-023-C12-UC.F	(AL049559) ser/thr protein kinase cek1 [Schizosaccharomyces pombe]
138 - CP02-S2-040-351-D04-EM.F	related to cycloheximide resistance protein [MIPS] [Neurospora crassa]	170 - CP02-S2-000-150-B06-UE.F	(AF457916) actin A [Paxillus involutus]
139 - CP02-S2-039-221-E08-EM.F	(AL136538) putative ABC transporter [Schizosaccharomyces pombe]	171 - CP02-S2-028-259-G03-UE.F	(Z24723) ubiquitin [Phanerochaete chrysosporium]
140 - CP02-S3-036-478-G04-UE.F	beta-xylosidase [Arabidopsis thaliana]	172 - CP02-S3-000-062-F04-UC.F	(AF156259) actin 2 [Suillus bovinus]
141 - CP02-S3-036-131-F10-FC.G	neomycin phosphotransferase [synthetic construct]	173 - CP02-S3-000-132-D01-UC.F	(U74318) polyubiquitin [Schizophyllum commune]
142 - CP02-S3-000-118-A08-UC.G	putative chitin synthase enzyme [Agaricus bisporus]	174 - CP02-S2-000-127-A07-UE.F	(AF275346) alcohol oxidase; AOX1 [Cladosporium fulvum]
143 - CP02-S2-040-355-E10-EM.F	(AL161491) putative protein [Arabidopsis thaliana]	175 - CP02-S2-000-164-B01-UE.F	(AJ004810) cytochrome P450 monooxygenase [Zea mays]
144 - CP02-S2-038-276-D06-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	176 - CP02-S2-028-262-G04-UE.F	(AJ004810) cytochrome P450 monooxygenase [Zea mays]
145 - CP02-S2-038-275-D04-EM.F	(S43354) ADP-ribosylation factor [Candida albicans]	177 - CP02-S2-028-263-C09-UE.G	(AJ004810) cytochrome P450 monooxygenase [Zea mays]
146 - CP02-S2-032-330-D04-UE.F	No Hits Found	178 - CP02-S2-033-316-C12-UE.F	(AJ004810) cytochrome P450 monooxygenase [Zea mays]
147 - CP02-S2-032-378-D12-UE.F	(Z31691) HXT6 hexose transporter [Saccharomyces cerevisiae]	179 - CP02-S2-037-178-D04-EM.F	(AJ004810) cytochrome P450 monooxygenase [Zea mays]
148 - CP02-S2-041-323-B05-EM.F	nucleotide-binding protein with zinc-finger domains [Saccharomyces cerevisiae]	180 - CP02-S3-033-467-E06-UC.F	(AF314255) alternative oxidase 2 [Chlamydomonas reinhardtii]
149 - CP02-S3-033-416-B03-UC.G	(Z98530) hypothetical UPF0023 family protein [Schizosaccharomyces pombe]	181 - CP02-S3-038-508-D08-UE.F	(AL023776) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
150 - CP02-S3-033-413-A11-UC.F	(AE009322) alpha-amylase [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]	182 - CP02-S2-040-353-B08-EM.F	unnamed protein product [Mus musculus]
151 - CP02-S3-033-413-B02-UC.F	(AL513444) probable zinc metallo-protease [Neurospora crassa]	183 - CP02-S3-033-450-G06-UE.F	transcriptional activation factor TAFII32, putative [Arabidopsis thaliana]
152 - CP02-S3-033-415-B04-UC.F	(U29536) Hypothetical protein F45E12.1 [Caenorhabditis elegans]	184 - CP02-S3-038-513-A01-UE.F	(AL031740) putative rRNA biogenesis protein; rrp5 homolog; multiple S1 rna binding domain protein [Schizosaccharomyces pombe]
153 - CP02-S3-033-415-F04-UC.F	(AL646058) PROBABLE RNA POLYMERASE SIGMA H (SIGMA-32) FACTOR TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN [Ralstonia solanacearum]	185 - CP02-S2-041-314-H02-EM.F	(AL031740) putative rRNA biogenesis protein; rrp5 homolog; multiple S1 rna binding domain protein [Schizosaccharomyces pombe]
154 - CP02-S2-000-066-B11-UC.F	(AY039939) unknown protein [Arabidopsis thaliana]	186 - CP02-S3-036-498-E10-UE.F	related to cyclin-dependent kinase chain SRB10 [Neurospora crassa]
155 - CP02-S2-000-185-E09-UC.F	(Z99167) putative helicase [Schizosaccharomyces pombe]	187 - CP02-S3-036-189-E02-EM.F	(D80007) similar to hypothetical protein YM9959.11C of S.cerevisiae. [Homo sapiens]
156 - CP02-S2-000-232-F05-UC.F	(AL049609) serine/threonine-protein kinase ssp1 [Schizosaccharomyces pombe]	188 - CP02-S3-036-201-A04-EM.F	related to apoptotic cell death regulator DAD1 [Neurospora crassa]
157 - CP02-S2-032-103-B07-FS.F	probable helicase - fission yeast (Schizosaccharomyces pombe)	189 - CP02-S2-000-222-C06-UC.F	(Z83333) paIA [Aspergillus nidulans]
158 - CP02-S2-032-113-C02-FS.F	(AL713629) possible swi2/snf2-like protein [Aspergillus fumigatus]	190 - CP02-S2-000-228-F06-UC.F	(AF118395) trans-prenyltransferase [Homo sapiens]
159 - CP02-S3-033-410-E06-UC.G	(AB009080) TRFA [Dictyostelium discoideum]	191 - CP02-S2-025-284-E02-UC.F	(AY029073) geranyl-geranyl diphosphate synthase-like [Leptomonas sp. F6]
160 - CP02-S3-033-410-G02-UC.G	(AAAB01008859) agCP1493 [Anopheles gambiae str. PEST]	192 - CP02-S2-028-230-B06-UE.F	(U30821) prenyl transferase [Cyanophora paradoxa]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
193 - CP02-S2-032-338-A12-UE.F	possible geranylgeranyl diphosphate synthase [Leishmania major]	225 - CP02-S2-000-167-E10-CL.F	(AL627265) cell division protein FtsZ [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi]
194 - CP02-S3-033-140-G12-EM.F	(BC006798) Unknown (protein for MGC:11417) [Mus musculus]	226 - CP02-S2-000-173-A04-UC.F	chaperonin containing TCP1, subunit 7 (eta) [Homo sapiens]
195 - CP02-S3-033-511-E08-UC.F	geranylgeranyl pyrophosphate synthase [Mucor circinelloides f. lusitanicus]	227 - CP02-S2-000-174-E01-UC.F	(U17247) Cdc25p: regulatory protein of adenylate cyclase [Saccharomyces cerevisiae]
196 - CP02-S3-036-463-H06-UE.F	At2g39550 [Arabidopsis thaliana]	228 - CP02-S2-000-175-G04-UC.F	(AL023290) amino acid permease [Schizosaccharomyces pombe]
197 - CP02-S2-038-274-D10-EM.F	At2g39550 [Arabidopsis thaliana]	229 - CP02-S2-000-176-A11-UE.F	(L14745) Hypothetical protein C02F5.3 [Caenorhabditis elegans]
198 - CP02-S2-028-283-B08-UE.F	(AF019630) pathogenicity protein [Magnaporthe grisea]	230 - CP02-S2-000-176-F05-UE.F	(Z50142) conserved hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
199 - CP02-S2-000-037-B11-UC.F	(X63181) dihydroorotase [Ustilago maydis]	231 - CP02-S2-000-179-B01-UE.F	(AL031230) dJ73M23.2 (NAD ⁺ -dependent succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH, EC 1.2.1.24)) [Homo sapiens]
200 - CP02-S1-000-030-H08-UC.F	(AY058521) LD22804p [Drosophila melanogaster]	232 - CP02-S2-000-179-D02-UE.F	(AL034563) neutral trehalase [Schizosaccharomyces pombe]
201 - CP02-S2-000-048-D09-UC.F	(U31369) NADP-glutamate dehydrogenase [Laccaria bicolor]	233 - CP02-S2-000-187-D10-UC.F	Similar to nuclear distribution gene C homolog (Aspergillus) [Mus musculus]
202 - CP02-S2-000-051-D05-UC.G	(Z99164) cell differentiation protein Rcd1p [Schizosaccharomyces pombe]	234 - CP02-S2-000-190-E05-UE.F	(Z98056) putative ubiquitin carboxyl terminal hydrolase [Schizosaccharomyces pombe]
203 - CP02-S2-000-087-E04-UC.F	(U67563) biotin carboxylase (accC) [Methanococcus jannaschii]	235 - CP02-S2-000-194-B11-UC.F	(AF250024) Ras1p [Suillus bovinus]
204 - CP02-S2-000-087-F12-UC.F	(AF020054) WDR1 protein [Gallus gallus]	236 - CP02-S2-000-195-F12-UC.F	(AB072730) glycogen branching enzyme [Aspergillus oryzae]
205 - CP02-S2-000-100-D06-EM.R	(AK007484) data source:SPTR, source key:O95352, evidence:ISS~homolog to E1-LIKE PROTEIN~putative [Mus musculus]	237 - CP02-S2-000-198-H12-UE.F	(AJ011564) ATP-dependent RNA helicase [Yarrowia lipolytica]
206 - CP02-S2-000-104-G06-CL.F	(AE005858) conserved hypothetical protein [Caulobacter crescentus] [Caulobacter vibrioides]	238 - CP02-S2-000-200-B06-UC.F	(U70861) ascus development protein 1 [Neurospora crassa]
207 - CP02-S2-000-104-H11-UE.F	(L18991) glyoxal oxidase [Phanerochaete chrysosporium]	239 - CP02-S2-000-214-H10-UE.F	(M94160) cell division cycle protein [Candida albicans]
208 - CP02-S2-000-107-D01-CL.H	(X01647) open reading frame (ORF701) pot. membrane protein (aa 1-487) [Marchantia polymorpha]	240 - CP02-S2-000-218-C01-UE.F	class IV chitin synthase [Ustilago maydis]
209 - CP02-S2-000-110-C09-EM.R	(AB043467) transcription factor ScGATA-6 [Schizophyllum commune]	241 - CP02-S2-000-220-D12-UE.F	(AF148854) trehalose phosphate synthase subunit [Pichia angusta]
210 - CP02-S2-000-114-B08-EM.R	Chain A, Cdc4p From Schizosaccharomyces Pombe	242 - CP02-S2-000-225-H11-UE.F	hypothetical protein SPAC12G12.13c - fission yeast (Schizosaccharomyces pombe)
211 - CP02-S2-000-115-A06-CL.G	(X59963) heat shock protein [Kluyveromyces marxianus]	243 - CP02-S2-000-226-E03-UC.F	(AE007184) propionyl-CoA carboxylase, beta subunit [Mycobacterium tuberculosis CDC1551]
212 - CP02-S2-000-125-F03-UE.F	(AL109739) stress response protein rds1p [Schizosaccharomyces pombe]	244 - CP02-S2-000-229-C08-UE.F	(AF059906) ubiquitin fusion degradation protein-2 [Schizosaccharomyces pombe]
213 - CP02-S2-000-139-D02-EM.R	(Z95584) mcr [Mycobacterium tuberculosis H37Rv]	245 - CP02-S2-000-229-H06-UC.F	(AF468037) deubiquitinating enzyme Usp15 [Mus musculus]
214 - CP02-S2-000-141-A07-CL.F	(AL023534) dna repair protein rad13 [Schizosaccharomyces pombe]	246 - CP02-S2-000-232-C06-UC.F	(AF141864) AtaAp [Emericella nidulans]
215 - CP02-S2-000-142-A05-CL.G	(BC002971) Unknown (protein for IMAGE:3543711) [Homo sapiens]	247 - CP02-S2-001-080-C05-UC.R	(AJ245438) protein kinase C homologue [Tuber magnatum]
216 - CP02-S2-000-145-D04-UE.F	(AF394893) threonine synthase Thr4 [Filobasidiella neoformans]	248 - CP02-S2-021-236-C08-UC.F	(X81072) YTA7 [Saccharomyces cerevisiae]
217 - CP02-S2-000-152-D05-UC.F	developmentally regulated GTP-binding protein [Lentinula edodes]	249 - CP02-S2-021-240-E12-UC.F	(Y10901) photoreceptor [Ceratodon purpureus]
218 - CP02-S2-000-152-F05-UC.F	(AJ304832) adenylate cyclase [Blumeria graminis]	250 - CP02-S2-021-245-G02-UC.F	putative phosphatidylinositol-kinase [Schizosaccharomyces pombe]
219 - CP02-S2-000-163-G06-UE.F	(S73271) trehalase [Bombyx mori]	251 - CP02-S2-022-238-B04-UC.F	(AL390814) protein similar to yeast gas1 Glycophospholipid-anchored surface glycoprotein, putative glycosidase that regulates the crosslinking of beta-1, 6-glucans in the cell wall [Schizosaccharomyces pombe]
220 - CP02-S2-000-164-A12-CL.G	(AF251277) acidic PR-1 type pathogenesis-related protein PR-1a [Oryza sativa subsp. japonica] [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	252 - CP02-S2-022-265-C12-UC.F	(AY049024) QDE2 protein [Blumeria graminis]
221 - CP02-S2-000-165-B07-UC.F	(AL451013) related to ER glucosidase I [Neurospora crassa]	253 - CP02-S2-022-265-H06-UC.F	beta-gluconase [Candida albicans]
222 - CP02-S2-000-165-B08-CL.F	(AJ243195) Acetyl-CoA-Acetyltransferase [Mycosphaerella graminicola]	254 - CP02-S2-022-271-H05-UC.F	probable ATP citrate lyase subunit 1 [Neurospora crassa]
223 - CP02-S2-000-165-C11-CL.F	(Z78012) Similarity to Human 26S protease regulatory subunit 7 (SW:PRS7_HUMAN), contains similarity to Pfam domain: PF00004 (ATPases associated with various cellular activities (AAA)), Score=326.4, E-value=1.1e-94, N=1~cDNA EST EMBL:T00856 comes from t>	255 - CP02-S2-022-305-C06-UC.F	(AL049841) cell division protein ftsH homolog [Streptomyces coelicolor A3(2)]
224 - CP02-S2-000-166-C07-UE.F	(AY036062) SHATTERPROOF1 [Brassica napus]	256 - CP02-S2-028-244-F05-UE.R	probable mannosyl transferase - yeast (Candida albicans)

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
257 - CP02-S2-028-246-G06-UE.F	(AC006931) floral homeodomain transcription factor (AGL5) [Arabidopsis thaliana]	289 - CP02-S2-032-347-A02-UE.F	(AE008852) sigma N factor of RNA polymerase; sigma 54 [Salmonella typhimurium LT2]
258 - CP02-S2-028-248-D12-UE.F	(AL035216) putative U3 snoRNP component; putative component of box C/D snoRNPs; involved in 2'-O-methylation of ribosomal RNAs; similar to <i>S. cerevisiae</i> SIK1 [Schizosaccharomyces pombe]	290 - CP02-S2-032-349-E06-UE.F	(U09865) pyruvate dehydrogenase [Ralstonia eutropha]
259 - CP02-S2-028-253-H11-UE.F	(X60956) priA [Lentinula edodes]	291 - CP02-S2-032-393-D03-UE.F	probable ammonium transporter [Shigella flexneri 2a str. 301]
260 - CP02-S2-028-264-G07-UE.F	(D50617) glycogen synthase isoform 1 [Saccharomyces cerevisiae]	292 - CP02-S2-032-449-B06-UC.F	(AF494376) casein kinase II alpha subunit CKA [Neurospora crassa]
261 - CP02-S2-028-269-A07-UE.F	(AK020264) data source:SPTR, source key:Q9NVM8, evidence:ISS-homolog to CDNA FLJ10631 FIS, CLONE NT2RP2005635, WEAKLY SIMILAR TO PROBABLE NH(3)-DEPENDENT NAD(+) SYNTHETASE (EC 6.3.5.1) (HYPOTHETICAL 79.3 KDA PROTEIN)-putative [Mus musculus]	293 - CP02-S2-032-450-C02-UC.F	(NZ_AABA01000118) hypothetical protein [Pseudomonas fluorescens]
262 - CP02-S2-028-272-E12-UE.F	(X91105) phosphoglycerate kinase [Agaricus bisporus]	294 - CP02-S2-032-469-G03-UC.F	(D90851) Sensor protein RcsC (EC 2.7.3.-). [Escherichia coli]
263 - CP02-S2-028-283-E02-UE.F	(U21715) nucleotide-binding protein [Schizophyllum commune]	295 - CP02-S2-032-472-C08-UC.F	(AE011651) biotin carboxylase [Xanthomonas axonopodis pv. citri str. 306]
264 - CP02-S2-028-355-B05-UC.F	(AK010547) data source:SPTR, source key:Q9Y3M7, evidence:ISS-homolog to DJ633O20.1 (P14L, SIMILAR TO BOS TAURUS P14) (FRAGMENT)-putative [Mus musculus]	296 - CP02-S2-032-472-E09-UC.F	(AE005452) cytochrome c-type biogenesis protein [Escherichia coli O157:H7 EDL933]
265 - CP02-S2-028-364-A08-UC.F	(AE001712) alpha-L-fucosidase, putative [Thermotoga maritima]	297 - CP02-S2-032-488-E08-UC.F	(X53992) betaH spectrin [Drosophila melanogaster]
266 - CP02-S2-032-109-H12-FS.F	(AP002564) cell division protein HflB/FtsH protease [Escherichia coli O157:H7]	298 - CP02-S2-032-500-H10-UC.F	(AE015242) putative lipoprotein [Shigella flexneri 2a str. 301]
267 - CP02-S2-032-115-F04-FC.H	TSA gene, len: 196, CAI: 0.71, thiol-specific antioxidant [Saccharomyces cerevisiae]	299 - CP02-S2-032-504-G02-UC.F	26S proteasome regulatory subunit [Arabidopsis thaliana]
268 - CP02-S2-032-116-E05-FS.F	putative RAS GTPase-activating-like protein [Schizosaccharomyces pombe]	300 - CP02-S2-032-537-H07-UC.F	RNA polymerase, sigma-E factor [Yersinia pestis KIM]
269 - CP02-S2-032-295-F05-UE.F	(AAAB01008968) agCP2799 [Anopheles gambiae str. PEST]	301 - CP02-S2-033-313-C12-UE.F	(AY069810) SD05004p [Drosophila melanogaster]
270 - CP02-S2-032-295-G11-UE.F	(AE000510) catabolite repression sensor kinase for PhoB; alternative sensor for pho regulon [Escherichia coli K12]	302 - CP02-S2-033-327-E10-UE.F	(AE013793) threonine tRNA synthetase [Yersinia pestis KIM]
271 - CP02-S2-032-297-F09-UE.F	(D26562) Nodulation protein homolog. [Escherichia coli]	303 - CP02-S2-033-351-A12-UE.F	(AF402141) NADH dehydrogenase subunit 2 [Schizophyllum commune]
272 - CP02-S2-032-297-G04-UE.F	(AF395543) ammonium transporter [Hebeloma cylindrosporum]	304 - CP02-S2-033-362-H05-UE.F	(AE012368) carboxymethylenebutenolidease [Xanthomonas campestris pv. campestris str. ATCC 33913]
273 - CP02-S2-032-300-G06-UE.F	(AL451015) probable glycogen synthase kinase 3 alpha [Neurospora crassa]	305 - CP02-S2-033-367-F08-UE.F	UDP-glucose pyrophosphorylase [Saccharomyces cerevisiae]
274 - CP02-S2-032-301-C03-UE.F	(AP002558) long-chain-fatty-acid--CoA ligase [Escherichia coli O157:H7]	306 - CP02-S2-033-371-C03-UE.F	(AE004563) gamma-glutamyltranspeptidase precursor [Pseudomonas aeruginosa]
275 - CP02-S2-032-301-F11-UE.F	(AE013795) phosphoenolpyruvate synthase [Yersinia pestis KIM]	307 - CP02-S2-033-409-G05-UE.F	dehydrogenase [Xanthomonas axonopodis pv. citri str. 306]
276 - CP02-S2-032-302-B02-UE.F	(AY098984) AT5g10050/T31P16_40 [Arabidopsis thaliana]	308 - CP02-S2-033-420-G03-UE.F	(Z99258) protein with Moeb/ThiF domain and weak similarity to wheat ubiquitin-activating enzyme [Schizosaccharomyces pombe]
277 - CP02-S2-032-305-D01-UE.F	(AE012123) oxidoreductase [Xanthomonas campestris pv. campestris str. ATCC 33913]	309 - CP02-S2-033-447-A03-UE.F	putative inner membrane protein [Salmonella typhimurium LT2]
278 - CP02-S2-032-305-F01-UE.F	(AE011780) transcriptional regulator [Xanthomonas axonopodis pv. citri str. 306]	310 - CP02-S2-033-447-A06-UE.F	CULLIN HOMOLOG 3 (CUL-3)
279 - CP02-S2-032-308-G08-UE.F	(AE012185) transcriptional regulator [Xanthomonas campestris pv. campestris str. ATCC 33913]	311 - CP02-S2-036-133-C11-IB.F	peptidase E [Escherichia coli O157:H7]
280 - CP02-S2-032-329-D04-UE.F	(AF388834) ATPase subunit 6 [Cortinarius collinitus]	312 - CP02-S2-036-296-A03-EM.F	COG0644: Dehydrogenases (flavoproteins) [Rhodospirillum rubrum]
281 - CP02-S2-032-330-D09-UE.F	(AB035255) nuclease Le1 [Lentinula edodes]	313 - CP02-S2-036-297-D01-EM.F	(Z54142) cullin 3 homolog [Schizosaccharomyces pombe]
282 - CP02-S2-032-334-H03-UE.F	(AE011623) chromosomal replication initiator [Xanthomonas axonopodis pv. citri str. 306]	314 - CP02-S2-038-228-D12-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
283 - CP02-S2-032-338-F05-UE.F	male-specific protein [Macropus rufus]	315 - CP02-S2-038-228-F04-EM.F	Medusa [Emericella nidulans]
284 - CP02-S2-032-338-H07-UE.F	(U29579) alternate name ygaB; ORF_f352 [Escherichia coli]	316 - CP02-S2-038-228-G11-EM.F	predicted protein [Neurospora crassa]
285 - CP02-S2-032-340-A01-UE.F	(M24077) glucokinase [Saccharomyces cerevisiae]	317 - CP02-S2-038-231-B06-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
286 - CP02-S2-032-341-D08-UE.F	(X74567) kpsE [Escherichia coli]	318 - CP02-S2-038-242-E12-EM.F	ZIK1 protein [Medicago sativa]
287 - CP02-S2-032-342-A11-UE.F	agCP11229 [Anopheles gambiae str. PEST]	319 - CP02-S2-038-266-H10-EM.F	508 aa peptide [Pisum sativum]
288 - CP02-S2-032-346-G08-UE.F	(AP002551) putative phosphonmutase 2 [Escherichia coli O157:H7]	320 - CP02-S2-038-268-E02-EM.F	(AF183893) ER resident chaperone bip [Aspergillus niger var. awamorii] [Aspergillus kawachii]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
321 - CP02-S2-038-270-B11-EM.G	ribonuclease T2 [Hericium erinaceum]	353 - CP02-S3-000-089-B04-UC.F	(Z50142) conserved hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
322 - CP02-S2-038-270-D02-EM.G	exo-1, 3-beta-glucanase [Agaricus bisporus]	354 - CP02-S3-000-094-G05-UC.F	26S proteasome regulatory chain 4 [validated] - human
323 - CP02-S2-038-277-A09-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	355 - CP02-S3-000-107-A03-UC.G	SKT5 gene [Saccharomyces cerevisiae]
324 - CP02-S2-038-277-F08-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	356 - CP02-S3-000-126-A05-UC.F	chitin deacetylase [Schizophyllum commune]
325 - CP02-S2-038-277-H06-EM.F	similar to ubiquitin-activating enzyme E1, Chr X [Mus musculus] [Rattus norvegicus]	357 - CP02-S3-000-127-E08-UC.F	DdApm1
326 - CP02-S2-038-282-G04-EM.F	(AL022117) MAP kinase; involved in cell wall formation [Schizosaccharomyces pombe]	358 - CP02-S3-000-130-E07-UC.F	ubiquitin / ribosomal protein S27a - potato (fragment)
327 - CP02-S2-038-284-D10-EM.F	(AL035085) t-complex protein 1, alpha subunit [Schizosaccharomyces pombe]	359 - CP02-S3-033-139-D12-EM.F	put. CPS1 protein (aa 1-175) [Gallus gallus]
328 - CP02-S2-038-291-G05-EM.F	manganese peroxidase [Ganoderma applanatum]	360 - CP02-S3-033-139-G11-EM.F	AT3g19930/MPN9_17 [Arabidopsis thaliana]
329 - CP02-S2-039-223-B07-EM.F	(Z47547) cytochrome oxidase, subunit II [Chondrus crispus]	361 - CP02-S3-033-142-H02-EM.F	SRF related protein [Dictyostelium discoideum]
330 - CP02-S2-039-549-B09-UC.F	Swift [Xenopus laevis]	362 - CP02-S3-033-146-B02-EM.F	integral membrane protein [Xanthomonas campestris pv. campestris str. ATCC 33913]
331 - CP02-S2-039-549-E12-UC.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	363 - CP02-S3-033-150-A03-EM.F	adenine glycosylase; G.C --> T.A transversions [Shigella flexneri 2a str. 301]
332 - CP02-S2-039-551-C11-UC.F	chitinase [Grifola umbellata]	364 - CP02-S3-033-151-G11-EM.F	citrate lyase beta chain (acyl lyase subunit) [Salmonella typhimurium LT2]
333 - CP02-S2-040-326-H06-EM.F	UDP-glucose pyrophosphorylase [Pyrus pyrifolia]	365 - CP02-S3-033-152-B11-EM.F	mutant glycerol-3-phosphate acyltransferase [Escherichia coli]
334 - CP02-S2-040-327-C12-EM.F	phytochrome, putative; 80131-78152 [Arabidopsis thaliana]	366 - CP02-S3-033-153-F01-EM.F	PROBABLE CYTOCHROME C OXIDASE POLYPEPTIDE I (CYTOCHROME AA3 SUBUNIT 1) TRANSMEMBRANE PROTEIN [Ralstonia solanacearum]
335 - CP02-S2-040-332-E11-EM.F	Unknown (protein for MGC:64338) [Xenopus laevis]	367 - CP02-S3-033-153-G04-EM.F	(AF355103) RNA polymerase [Pleurotus ostreatus]
336 - CP02-S2-040-334-B01-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	368 - CP02-S3-033-160-G08-EM.F	betaine aldehyde dehydrogenase [Yersinia pestis CO92]
337 - CP02-S2-040-338-H08-EM.F	(AF267870) putative regulator of G protein signaling Thn1; RGS [Schizophyllum commune]	369 - CP02-S3-033-164-A07-EM.F	symporter of D-alanine, D-serine, and glycine [Yersinia pestis KIM]
338 - CP02-S2-040-339-B10-EM.F	SPAC167.07c [Schizosaccharomyces pombe]	370 - CP02-S3-033-164-C01-EM.F	(AB041768) Prr1 [Schizosaccharomyces pombe]
339 - CP02-S2-040-341-F12-EM.F	SPBC56F2.10c [Schizosaccharomyces pombe]	371 - CP02-S3-033-414-H10-UC.F	(AE009681) TYPE I RESTRICTION-MODIFICATION SYSTEM METHYLATION SUBUNIT [Brucella melitensis]
340 - CP02-S2-040-343-C03-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	372 - CP02-S3-033-416-A10-UE.F	choline transporter BetT [Pseudomonas aeruginosa PA01]
341 - CP02-S2-040-343-F09-EM.F	HSS1 [Puccinia graminis f. sp. tritici]	373 - CP02-S3-033-417-D02-UC.G	TahA [Trametes versicolor]
342 - CP02-S2-040-347-H11-EM.F	post-transcriptional gene silencing protein QDE-2 [Neurospora crassa]	374 - CP02-S3-033-418-F04-UC.G	ATP synthase subunit 6 [Agaricus bisporus]
343 - CP02-S2-040-353-C05-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	375 - CP02-S3-033-428-D11-UE.F	(AE001799) translation elongation factor G [Thermotoga maritima]
344 - CP02-S2-040-357-E06-EM.F	UTP:alpha-D-glucose-1-phosphate uridylyltransferase [Solanum tuberosum]	376 - CP02-S3-033-435-A05-UE.F	ribosomal protein L11 methyltransferase [imported] - Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi (strain CT18)
345 - CP02-S2-040-358-H01-EM.F	(U28730) C. elegans LIN-23 protein (corresponding sequence K10B2.1) [Caenorhabditis elegans]	377 - CP02-S3-033-442-E05-UE.F	(AJ300447) TPS1 protein [Amanita muscaria]
346 - CP02-S2-040-361-B02-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	378 - CP02-S3-033-444-A03-UE.F	low affinity potassium transport system [Escherichia coli K12]
347 - CP02-S2-041-302-F05-EM.F	(AL122032) putative cinnamoyl-coa reductase [Schizosaccharomyces pombe]	379 - CP02-S3-033-445-A06-UE.F	CENP-A-like protein SpCENP-A [Schizosaccharomyces pombe]
348 - CP02-S2-041-306-F03-EM.F	(Y17316) transmembrane protein [Erysiphe pisi]	380 - CP02-S3-033-450-A07-UE.F	unnamed protein product [Mus musculus]
349 - CP02-S2-041-309-C10-EM.F	(D87259) poly(A)+ RNA transport protein Ptr3p [Schizosaccharomyces pombe]	381 - CP02-S3-033-450-B05-UE.F	trehalase 6-P hydrolase [Escherichia coli O157:H7]
350 - CP02-S3-000-040-H05-UC.F	(Z48502) unknown [Saccharomyces cerevisiae]	382 - CP02-S3-033-453-E03-UC.F	(AK022759) unnamed protein product [Homo sapiens]
351 - CP02-S3-000-082-B02-UC.F	(AF265562) MAD-box transcription factor [Vitis vinifera]	383 - CP02-S3-033-454-F11-UE.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
352 - CP02-S3-000-088-F11-UC.F	(U07801) serine/threonine/tyrosine kinase [Ustilago maydis]	384 - CP02-S3-033-459-D07-UC.F	(AP002560) putative transcriptional regulator [Escherichia coli O157:H7]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
385 - CP02-S3-033-460-F11-UC.F	(U17012) NADH dehydrogenase, subunit 5 [Schizophyllum commune]	417 - CP02-S3-038-539-B06-UE.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
386 - CP02-S3-033-464-A07-UC.F	(AB027711) Ser/Thr protein phosphatase 2A regulatory subunit A [Lentinula edodes]	418 - CP02-S3-039-545-G03-UE.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
387 - CP02-S3-033-482-H02-UC.F	(Z99161) ubiquitin--protein ligase pub1 (EC 6.3.2.-) [Schizosaccharomyces pombe]	419 - CP02-S3-040-578-E08-UE.F	(L26505) Met30p [Saccharomyces cerevisiae]
388 - CP02-S3-033-483-E09-UC.F	(AL034433) conserved hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]	420 - CP02-S3-040-579-C04-UE.F	(AF417205) glycogen synthase [Neurospora crassa]
389 - CP02-S3-033-498-E06-UC.F	(D90769) psp operon transcriptional activator. [Escherichia coli]	421 - CP02-S3-040-580-C06-UE.F	(AF098973) phosphatidylinositol 3-kinase TOR1 [Cryptococcus neoformans var. neoformans]
390 - CP02-S3-033-499-F12-UC.F	glucan synthase [Cryptococcus neoformans var. neoformans]	422 - CP02-S3-040-581-C11-UE.F	putative transcriptional regulator [Shigella flexneri 2a str. 2457T]
391 - CP02-S3-033-529-C05-UC.F	cAMP dependent protein kinase regulatory subunit [Cryptococcus neoformans var. grubii]	423 - CP02-S3-040-584-D04-UE.F	(AJ225061) POH2 hydrophobin [Pleurotus ostreatus]
392 - CP02-S3-036-122-A09-FC.I	(AF020287) Cula [Dictyostelium discoideum]	424 - CP02-S3-040-586-B01-UE.F	hypothetical protein (probable ubiquitin--protein ligase [imported] - Neurospora crassa)
393 - CP02-S3-036-122-H09-FC.I	putative transcriptional regulator [Pseudomonas aeruginosa]	425 - CP02-S3-041-649-E07-UE.G	septin 2 [Coccidioides immitis]
394 - CP02-S3-036-131-B08-FS.G	Putative NAD(P)H oxidoreductase yheR [Escherichia coli CFT073]	426 - CP02-S3-041-669-H10-UE.F	(AF102882) glucan synthase [Filobasidiella neoformans]
395 - CP02-S3-036-180-D12-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	427 - CP02-S2-032-337-G07-UE.F	(AE005694) oxidoreductase iron/ascorbate family [Caulobacter crescentus] [Caulobacter vibrioides]
396 - CP02-S3-036-185-A10-EM.F	(AF155208) stress activated MAP kinase interacting protein [Schizosaccharomyces pombe]	428 - CP02-S3-000-125-H05-UC.F	(AB038512) ACC synthase [Penicillium citrinum]
397 - CP02-S3-036-190-F10-EM.F	(AF159421) G-protein alpha-subunit [Filobasidiella neoformans]	429 - CP02-S2-038-244-D09-EM.F	(AB038512) ACC synthase [Penicillium citrinum]
398 - CP02-S3-036-194-H12-EM.F	(Z31373) ORF [Phanerochaete chrysosporium]	430 - CP02-S2-032-112-H07-FC.F	orf, hypothetical protein [Escherichia coli K12]
399 - CP02-S3-036-195-E07-EM.F	hypothetical protein ((AL451017) related to septation (sepH) gene [Neurospora crassa])	431 - CP02-S2-032-330-H08-UE.F	(AE004956) probable acetyltransferase [Pseudomonas aeruginosa]
400 - CP02-S3-036-207-G08-EM.F	508 aa peptide [Pisum sativum]	432 - CP02-S2-033-362-E01-UE.F	(AF166491) putative 3-ketoacyl-CoA thiolase [Aspergillus oryzae]
401 - CP02-S3-036-214-F03-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	433 - CP02-S2-028-231-C10-UE.F	(AF429387) truncated acetyl Co-A acetyltransferase-like protein [Hevea brasiliensis]
402 - CP02-S3-036-460-E02-UE.F	(AB033993) tyrosinase [Lentinula edodes]	434 - CP02-S2-000-148-C10-UE.F	3-methylcrotonoyl-CoA carboxylase beta subunit [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
403 - CP02-S3-036-470-D08-UE.F	unknown protein [Arabidopsis thaliana]	435 - CP02-S2-019-182-F01-UC.R	(Y15996) acetyl-CoA carboxylase [Emericella nidulans]
404 - CP02-S3-036-474-F06-UE.F	ORF YNL081c [Saccharomyces cerevisiae]	436 - CP02-S3-036-209-F07-EM.F	(Z71631) ORF YNR016c [Saccharomyces cerevisiae]
405 - CP02-S3-036-485-F07-UE.F	(AF219625) D-xylose reductase [Aspergillus niger]	437 - CP02-S2-000-114-F01-EM.R	(Z46886) acetyl CoA carboxylase [Ustilago maydis]
406 - CP02-S3-036-486-A03-UE.F	(AF336847) Tyr-sensitive DAHP synthase [Amycolatopsis mediterranei]	438 - CP02-S2-026-289-C09-UC.F	(AE009081) 3-oxoacyl-(acyl-carrier-protein) synthase III [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
407 - CP02-S3-036-487-F11-UE.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	439 - CP02-S2-040-340-D11-EM.F	(AF097765) adenosine kinase [Schizophyllum commune]
408 - CP02-S3-036-493-D08-UE.F	putative clathrin-associated protein (AP) complex, small subunit [Schizosaccharomyces pombe]	440 - CP02-S3-033-484-G12-UC.F	(AE015052) orf, conserved hypothetical protein [Shigella flexneri 2a str. 301]
409 - CP02-S3-036-494-G06-UE.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	441 - CP02-S2-038-267-G12-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
410 - CP02-S3-036-506-A12-UE.F	(AF288613) cAMP dependent protein kinase catalytic subunit [Cryptococcus neoformans var. grubii]	442 - CP02-S3-033-436-B10-UE.F	(AL670005) related to threonine dehydratase [Neurospora crassa]
411 - CP02-S3-036-545-F05-UC.G	actin [Aedes aegypti]	443 - CP02-S2-032-293-B12-UE.F	(AY005479) ornithine aminotransferase [Xenopus laevis]
412 - CP02-S3-036-562-D09-UC.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	444 - CP02-S2-000-120-C11-UE.F	histidinol-phosphate aminotransferase [Candida maltosa]
413 - CP02-S3-036-563-C03-UC.F	Kre6p: beta-Glucan synthesis-associated protein (killer toxin-resistance protein 6) [Saccharomyces cerevisiae]	445 - CP02-S2-033-447-A10-UE.F	branched-chain amino acid ABC transporter, ATP-binding protein [Brucella suis 1330]
414 - CP02-S3-036-564-F04-UC.F	(Y17825) putative aldehyde dehydrogenase (NAD+) [Agaricus bisporus]	446 - CP02-S2-033-447-D11-UE.F	GCN20 protein
415 - CP02-S3-036-568-E06-UC.F	putative proliferation-associated serine/threonine protein kinase [Schizosaccharomyces pombe]	447 - CP02-S2-033-410-D09-UE.F	(U39645) Hypothetical protein C14F11.1 [Caenorhabditis elegans]
416 - CP02-S3-038-532-A07-UE.F	bli-3 gene	448 - CP02-S3-039-528-F12-UE.F	Kex2 [Cryptococcus neoformans A/D]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
449 - CP02-S3-040-588-G08-UE.F	aspartic proteinase IV [Rhizopus niveus] (U88029) branched-chain amino acids aminotransferase [Schizosaccharomyces pombe]	481 - CP02-S2-032-472-H04-UC.F	(AJ414152) transcriptional regulatory protein [Yersinia pestis]
450 - CP02-S2-000-192-C06-UE.F		482 - CP02-S2-000-148-G01-CL.H	hypothetical protein [Chloroflexus aurantiacus]
451 - CP02-S2-041-317-B09-EM.F	N amino acid transport system [Neurospora crassa]	483 - CP02-S3-000-120-C10-UC.F	(Z50019) D-amino acid oxidase [Trigonopsis variabilis]
452 - CP02-S3-038-512-B11-UE.F	DIP5 [Saccharomyces kluyveri] (AL049755) putative aminotransferase [Schizosaccharomyces pombe]	484 - CP02-S2-037-175-D06-EM.F	(AF350242) aminopeptidase [Pichia angusta]
453 - CP02-S2-000-083-G05-UC.F		485 - CP02-S3-036-138-A07-IB.F	INDA1 [Trichoderma harzianum] (AE004904) probable ATP-binding component of ABC transporter [Pseudomonas aeruginosa PA01]
454 - CP02-S3-000-110-B05-UC.F	(AJ418036) aminopeptidase B [Aspergillus niger] (AL049559) putative d-amino acid oxidase [Schizosaccharomyces pombe]	486 - CP02-S3-033-160-F07-EM.F	(AF019637) putative amino acid or GABA permease [Arabidopsis thaliana]
455 - CP02-S2-040-341-G12-EM.F		487 - CP02-S3-000-128-D05-UC.F	
456 - CP02-S2-040-357-B05-EM.F	gcn5 [Ustilago maydis] (AE004904) probable binding protein component of ABC transporter [Pseudomonas aeruginosa]	488 - CP02-S2-000-151-H10-UC.F	amino acid transporter [Amanita muscaria]
457 - CP02-S3-033-465-B07-UC.F		489 - CP02-S3-041-668-E08-UE.F	acetylglutamate synthase [Schizosaccharomyces pombe]
458 - CP02-S3-033-477-B05-UC.F	(NZ_AAAD01000082) hypothetical protein [Azotobacter vinelandii]	490 - CP02-S2-038-244-H09-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
459 - CP02-S3-033-487-F07-UC.F	(D90768) Lysine-specific permease [Escherichia coli]	491 - CP02-S2-038-249-F06-EM.G	(U81794) putative permease [Uromyces fabae]
460 - CP02-S2-028-236-C03-UE.F	(AJ271690) aminopeptidase [Agaricus bisporus]	492 - CP02-S2-038-252-F04-EM.F	hypothetical protein [Burkholderia fungorum]
461 - CP02-S2-028-235-F12-UE.F	Chain D, Aspartate Aminotransferase From Saccharomyces Cerevisiae Cytoplasm	493 - CP02-S2-040-365-A09-EM.F	Putative GabA permease [Aspergillus fumigatus]
462 - CP02-S3-033-417-C12-UC.G	(AJ414157) aromatic amino acid transport protein [Yersinia pestis]	494 - CP02-S2-028-261-H05-UE.F	(AF311738) BioF [Mesorhizobium loti]
463 - CP02-S3-033-436-G09-UE.F	bll5848 [Bradyrhizobium japonicum]	495 - CP02-S2-000-159-C06-CL.F	amino acid transporter [Uromyces fabae]
464 - CP02-S3-033-449-F01-UE.F	tyrosine decarboxylase (Z71282) ORF YNL006w [Saccharomyces cerevisiae]	496 - CP02-S2-000-163-G09-CL.H	acetohydroxyacid reductoisomerase [Filobasidiella neoformans]
465 - CP02-S3-033-455-E12-UC.F		497 - CP02-S2-000-125-A03-EM.R	(X57568) alpha-amylase [Streptomyces griseus]
466 - CP02-S3-036-499-A06-UE.F	lysine-specific permease [Bacillus anthracis str. Ames]	498 - CP02-S2-040-334-D12-EM.F	(U51129) amylase [Streptomyces albus]
467 - CP02-S3-036-503-G02-UE.F	(AY095079) RE26764p [Drosophila melanogaster]	499 - CP02-S3-033-402-F04-UE.F	(X60779) amylase [Bacillus circulans]
468 - CP02-S2-028-255-C06-UE.F	(AL513466) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	500 - CP02-S2-038-262-C08-EM.F	(AB008763) amylase [Bacillus sp.] (U25842) Highly similar to Glycogen debranching enzyme (4-alpha-glucanotransferase, Swiss Prot. accession number P35573) [Saccharomyces cerevisiae]
469 - CP02-S3-036-497-D06-UE.F	probable branched-chain amino acids aminotransferase [MIPS] [Neurospora crassa] (AL353864) probable amino acid/metabolite permease. [Streptomyces coelicolor A3(2)]	501 - CP02-S2-028-251-F08-UE.F	
470 - CP02-S3-000-038-D02-UC.G		502 - CP02-S2-000-164-A10-UC.F	(U51129) amylase [Streptomyces albus]
471 - CP02-S2-032-303-E05-UE.F	YBR1007 gene [Saccharomyces cerevisiae]	503 - CP02-S3-036-492-H05-UE.F	hypothetical protein [Novosphingobium aromaticivorans]
472 - CP02-S3-036-178-D08-EM.F	(Z81484) contains similarity to Pfam domain: PF01266 (D-amino acid oxidase), Score=476.0, E-value=9.7e-140, N=1 [Caenorhabditis elegans]	504 - CP02-S3-033-143-B06-EM.F	glucoamylase [Lentinula edodes]
473 - CP02-S3-036-200-H12-EM.F	hypothetical protein [Rhodobacter sphaeroides]	505 - CP02-S2-038-290-B10-EM.F	amylase alpha [Geobacillus stearothermophilus]
474 - CP02-S3-036-205-B07-EM.F	(AL121794) pop3, a WD repeat protein [Schizosaccharomyces pombe]	506 - CP02-S2-038-275-C10-EM.F	similar to Mus musculus (Mouse), 10 days neonate cerebellum cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:B930062M22 product: hypothetical Trp-Asp repeat (WD-repeat) structure containing protein, full insert sequence [Dictyostelium discoideum] (AE004835) probable iron/ascorbate oxidoreductase [Pseudomonas aeruginosa]
475 - CP02-S3-036-490-C04-UE.F	putative amino acid or GABA permease [Arabidopsis thaliana] (D89254) similar to Saccharomyces cerevisiae dihydroxy-acid dehydratase precursor, SWISS-PROT Accession Number P39522 [Schizosaccharomyces pombe]	507 - CP02-S2-032-348-E11-UE.F	
476 - CP02-S2-038-228-A05-EM.F		508 - CP02-S3-033-141-E01-EM.F	(AJ298077) indole-glycerol phosphate synthase; phosphoribosyl anthranilate isomerase; anthranilate synthase [Coprinopsis scobicola]
477 - CP02-S3-036-178-C10-EM.F	putative amino acid permease [Streptomyces avermitilis MA-4680]	509 - CP02-S2-000-124-B07-UE.F	putative anthranilate phosphoribosyltransferase [Neisseria meningitidis Z2491]
478 - CP02-S3-000-074-G07-UC.G	(AL157918) ornithine aminotransferase (EC 2.6.1.13) [Schizosaccharomyces pombe] (AE013722) putative magnesium and cobalt efflux protein [Yersinia pestis KIM]	510 - CP02-S2-032-342-E07-UE.F	(U32819) indole-3-glycerol phosphate synthase / phosphoribosylanthranilate isomerase (trpC) [Haemophilus influenzae Rd]
479 - CP02-S3-036-130-G03-IB.G		511 - CP02-S2-000-116-D02-CL.F	phosphoribosylanthranilate transferase; tryptophan biosynthesis pathway [Schizosaccharomyces pombe]
480 - CP02-S2-032-349-F06-UE.F	(AE011635) aromatic-amino-acid aminotransferase [Xanthomonas axonopodis pv. citri str. 306]	512 - CP02-S3-000-044-C11-UC.F	(AB028647) TRP1 [Flammulina velutipes]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
513 - CP02-S2-038-254-B01-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	545 - CP02-S3-033-159-D07-EM.F	(U91643) calmodulin [Pleurotus ostreatus]
514 - CP02-S2-038-280-B08-EM.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	546 - CP02-S2-040-353-A10-EM.F	(AB007143) ZIP-kinase [Mus musculus]
515 - CP02-S3-033-483-G10-UC.F	(AF468976) cytochrome c17 [Salvelinus alpinus]	547 - CP02-S2-040-327-H09-EM.F	hypothetical protein (AF034963) calmodulin-dependent protein kinase; CgCMK [Glomerella cingulata] [Neurospora crassa]
516 - CP02-S3-041-651-D04-UE.F	unnamed protein product [Mus musculus]	548 - CP02-S2-021-237-E06-UC.F	(AJ243516) putative calcium P-type ATPase [Neurospora crassa]
517 - CP02-S2-032-310-F08-UE.F	OMST-oxidoreductase [Aspergillus flavus]	549 - CP02-S2-037-105-G05-CS.F	SERINE/THREONINE PROTEIN PHOSPHATASE 2B CATALYTIC SUBUNIT A1 (CALCINEURIN A1)
518 - CP02-S2-000-165-H08-UC.F	cytochrome P450 [Cicer arietinum]	550 - CP02-S2-000-068-H07-UC.F	(X04728) regulatory protein (AA 1-470) [Schizosaccharomyces pombe]
519 - CP02-S2-008-124-B08-UC.R	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	551 - CP02-S2-000-114-B08-EM.S	Chain A, Cdc4p From Schizosaccharomyces Pombe
520 - CP02-S2-032-346-H05-UE.F	(AP002568) biodegradative arginine decarboxylase [Escherichia coli O157:H7]	552 - CP02-S2-029-334-A04-UC.F	(U10034) glutamate decarboxylase [Arabidopsis thaliana]
521 - CP02-S2-037-533-F03-UC.F	(AL606634) OSJNBb0072N21.3 [Oryza sativa]	553 - CP02-S2-000-184-D11-CL.G	(U28358) serine/threonine calcium/calmodulin-dependent protein kinase [Metarhizium anisopliae]
522 - CP02-S2-000-140-F07-EM.R	(AP003010) hypothetical protein [Mesorhizobium loti]	554 - CP02-S3-000-125-D04-UC.F	(AJ290391) putative b, b-carotene-9', 10'-dioxygenase [Danio rerio]
523 - CP02-S3-033-487-A05-UC.F	INDA1 [Trichoderma harzianum]	555 - CP02-S3-040-596-C10-UE.F	(AK074329) unnamed protein product [Homo sapiens]
524 - CP02-S3-033-483-B08-UC.F	(AP003590) peptide synthetase [Nostoc sp. PCC 7120]	556 - CP02-S3-000-102-H06-UC.F	(AJ011298) catalase A [Podospora anserina]
525 - CP02-S3-033-428-G12-UE.F	hypothetical protein [Pseudomonas syringae pv. syringae B728a]	557 - CP02-S2-038-279-F06-EM.F	(AJ011309) CATB protein [Podospora anserina]
526 - CP02-S2-032-293-A05-UE.F	(AL603646) putative asparagine synthetase protein [Sinorhizobium meliloti]	558 - CP02-S2-039-551-G11-UC.F	(AF327335) catalase [Blumeria graminis]
527 - CP02-S2-022-276-D05-UC.F	(AL627267) asparagine synthetase B [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi]	559 - CP02-S2-028-232-F10-UE.F	(AF286097) heat-induced catalase [Pleurotus sajor-caju]
528 - CP02-S2-028-237-E09-UE.F	(Z73621) ORF YPL265w [Saccharomyces cerevisiae]	560 - CP02-S2-032-471-A02-UC.F	(U75450) catalase [Pleurotus djamor]
529 - CP02-S2-000-229-A05-UC.F	(AF210249) asparagine synthetase [Streptomyces verticillus]	561 - CP02-S3-033-494-F11-UC.F	(U80672) catalase [Emericella nidulans]
530 - CP02-S2-000-109-B04-UE.R	(AL646064) PROBABLE L-ASPARAGINASE PRECURSOR PROTEIN [Ralstonia solanacearum]	562 - CP02-S2-038-293-B05-EM.F	(AJ292929) CEL6 protein [Agaricus bisporus]
531 - CP02-S2-000-065-E02-UC.F	(AL022117) asparagine synthetase [Schizosaccharomyces pombe]	563 - CP02-S2-038-268-H02-EM.F	(AB019375) cellulase [Irpex lacteus]
532 - CP02-S2-032-502-B05-UC.F	amyloid beta precursor protein binding protein 1, 59kDa [Mus musculus]	564 - CP02-S2-033-318-D07-UE.F	(AP002565) endo-1, 4-D-glucanase [Escherichia coli O157:H7]
533 - CP02-S2-038-268-F03-EM.F	putative oxidoreductase [Schizosaccharomyces pombe]	565 - CP02-S2-000-186-D02-UC.F	(U25129) cellobiohydrolase [Cochliobolus carbonum]
534 - CP02-S3-036-178-C02-EM.F	aldo/keto reductase [Deinococcus radiodurans]	566 - CP02-S3-036-485-A02-UE.F	(AF244369) cellobiohydrolase [Lentinula edodes]
535 - CP02-S2-038-282-B01-EM.F	putative oxidoreductase [Schizosaccharomyces pombe]	567 - CP02-S3-033-485-E05-UC.F	(AF156268) 1, 4-beta-D-glucan cellobiohydrolase A precursor [Aspergillus niger]
536 - CP02-S3-036-194-B12-EM.F	(AL109731) negative regulator of sexual conjugation and meiosis (EC 2.7.1.-) [Schizosaccharomyces pombe]	568 - CP02-S3-033-141-G08-EM.F	(AF329732) endoglucanase [Volvariella volvacea]
537 - CP02-S2-032-114-G11-FC.F	(D90856) O-SUCCINYLBENZOIC ACID--COA LIGASE (EC 6.2.1.26) (OSB-COA SYNTHETASE) (O-SUCCINYLBENZOATE-COA SYNTHASE). [Escherichia coli]	569 - CP02-S3-000-122-F11-UC.F	Chain A, Cellobiohydrolase Cel7d (Cbh 58) From Phanerochaete Chrysosporium. Catalytic Module At 1.32 Ang Resolution
538 - CP02-S2-032-504-F06-UC.F	(AF166096) para-aminobenzoic acid synthetase [Coprinus cinereus] [Coprinopsis cinerea]	570 - CP02-S3-000-074-D09-UC.G	(AB003107) endoglucanase [Humicola grisea var. thermoidea]
539 - CP02-S2-033-373-B04-UE.F	(AJ414152) putative O-succinylbenzoic acid--CoA ligase [Yersinia pestis]	571 - CP02-S3-032-470-G01-UC.F	(AL035161) putative efflux protein [Streptomyces coelicolor A3(2)]
540 - CP02-S3-036-460-E06-UE.F	chorismate synthase (EC 4.2.3.5) - fission yeast (Schizosaccharomyces pombe)	572 - CP02-S3-036-502-B11-UE.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
541 - CP02-S3-036-215-D11-EM.F	(AF159511) calcineurin A catalytic subunit [Filobasidiella neoformans]	573 - CP02-S2-000-189-G12-UC.F	(AB049075) aphidicolan-16beta-ol synthase [Phoma betae]
542 - CP02-S3-038-515-A02-UE.F	Hypothetical protein ZK1307.8 [Caenorhabditis elegans]	574 - CP02-S3-000-110-H11-UC.F	ent-kaurene synthase - fungus (Gibberella fujikuroi)
543 - CP02-S3-036-134-A04-CS.H	FK506-resistant calcineurin B regulatory subunit [Filobasidiella neoformans]	575 - CP02-S2-000-101-H08-UE.F	(AJ009953) cutinase [Pyrenopeziza brassicae]
544 - CP02-S3-000-102-G08-UC.F	(X80840) homology to pyroxidal-5'-phosphate-dependant glutamate decarboxylases; putative start codon [Lycopersicon esculentum]	576 - CP02-S3-041-664-D03-UE.F	(Z99568) putative regulatory protein; zinc finger [Schizosaccharomyces pombe]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
577 - CP02-S2-040-341-F03-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	609 - CP02-S2-032-347-C12-UE.F	(AP003048) putative protein kinase AFC3 [Oryza sativa]
578 - CP02-S3-000-100-C12-UC.F	(AL596172) aminopeptidase C [Listeria innocua]	610 - CP02-S2-033-424-B04-UE.F	HYPOTHETICAL 91.9 KDA PROTEIN [Dictyostelium discoideum]
579 - CP02-S3-036-561-E02-UC.F	(X69124) bleomycin hydrolase [Saccharomyces cerevisiae]	611 - CP02-S2-032-349-B12-UE.F	putative protein kinase [Arabidopsis thaliana]
580 - CP02-S2-000-061-B08-UC.F	(AE001196) aminopeptidase C (pepC) [Treponema pallidum]	612 - CP02-S2-028-232-E10-UE.F	(X74952) Fatty acid synthase subunit beta [Candida albicans]
581 - CP02-S2-028-250-D07-UE.F	(AL356333) prp12p/sap130. [Schizosaccharomyces pombe]	613 - CP02-S2-000-106-D09-UE.R	(U75347) fatty acid synthase, alpha subunit [Emericella nidulans]
582 - CP02-S3-000-082-H01-UC.F	(U18917) Chd1p: transcriptional regulator [Saccharomyces cerevisiae]	614 - CP02-S3-036-564-C06-UC.F	similar to degenerative spermatocyte homolog (Drosophila) [Mus musculus] [Rattus norvegicus]
583 - CP02-S2-000-050-E04-UC.F	(XM_018504) zinc finger protein 140 (clone pHZ-39) [Homo sapiens]	615 - CP02-S3-036-489-F06-UE.F	(Y10422) delta-9 fatty acid desaturase [Cryptococcus curvatus]
584 - CP02-S3-033-419-A07-UC.G	(U00060) Nam8p: Putative RNA binding proteins [Saccharomyces cerevisiae]	616 - CP02-S3-036-480-G09-UE.F	(L47993) ORF YJR073c [Saccharomyces cerevisiae]
585 - CP02-S3-033-422-D12-UE.F	(U18917) Chd1p: transcriptional regulator [Saccharomyces cerevisiae]	617 - CP02-S3-033-402-C11-UE.F	aldehyde dehydrogenase [Craterostigma plantagineum]
586 - CP02-S3-036-207-G01-EM.F	hypothetical protein (probable zutotin [imported] - Neurospora crassa)	618 - CP02-S2-038-284-E05-EM.F	related to n-alkane-inducible cytochrome P450 [MIPS] [Neurospora crassa]
587 - CP02-S2-000-137-B08-UE.F	(BC004654) regulatory factor (trans-acting) 2 [Mus musculus]	619 - CP02-S2-038-257-A01-EM.F	putative acyl-CoA oxidase [Streptomyces avermitilis MA-4680]
588 - CP02-S2-000-190-C09-UE.F	(U56097) acetate regulatory DNA binding protein FacB [Emericella nidulans]	620 - CP02-S2-033-371-G03-UE.F	(NZ_AAA101000362) hypothetical protein [Ralstonia metallidurans]
589 - CP02-S2-000-210-F11-UC.F	(AL670005) probable single-stranded DNA-binding protein 68k chain [Neurospora crassa]	621 - CP02-S2-032-347-C11-UE.F	(AL442164) related to n-alkane-inducible cytochrome P450 [Neurospora crassa]
590 - CP02-S2-001-053-D05-UC.R	(AJ251521) putative transcription factor [Acremonium chrysogenum]	622 - CP02-S2-032-300-D01-UE.F	(AL627273) putative hydrolase [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi]
591 - CP02-S2-026-279-G07-UC.F	(AJ251864) pathway-specific nitrogen regulator [Tolypocladium inflatum]	623 - CP02-S2-021-307-A06-UC.F	(Z99107) alternate gene name: yfnJ~similar to cytochrome P450 / NADPH-cytochrome P450 reductase [Bacillus subtilis]
592 - CP02-S2-028-270-F02-UE.F	(U40753) Prf1 [Ustilago maydis]	624 - CP02-S2-000-193-E09-UE.F	(AE005858) conserved hypothetical protein [Caulobacter crescentus] [Caulobacter vibrioides]
593 - CP02-S2-032-475-A10-UC.F	(AP004259) putative zinc-finger helicase [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	625 - CP02-S2-000-141-A11-EM.R	(AP003010) long chain fatty acid acyl-CoA ligase [Mesorhizobium loti]
594 - CP02-S3-036-124-D04-FS.F	CDC5 [Lentinula edodes]	626 - CP02-S2-000-113-F02-CL.F	(Y10422) delta-9 fatty acid desaturase [Cryptococcus curvatus]
595 - CP02-S2-021-249-F11-UC.F	(AE003480) fd64A gene product [Drosophila melanogaster]	627 - CP02-S2-000-108-G02-UE.F	(AB052087) delta-12 fatty acid desaturase [Mucor circinelloides]
596 - CP02-S2-025-285-H08-UC.F	(AL034563) replication factor-a protein 1 [Schizosaccharomyces pombe]	628 - CP02-S2-000-076-E02-UC.F	(AB022097) delta 5 fatty acid desaturase [Dictyostelium discoideum]
597 - CP02-S2-032-106-H09-FS.F	CG10576-PA [Drosophila melanogaster]	629 - CP02-S2-038-229-B07-EM.F	(AB025342) ORF8 [Moritella marina]
598 - CP02-S3-000-082-C07-UC.F	HapC	630 - CP02-S2-038-244-E04-EM.F	(AB010274) fatty acid synthetase [Schizosaccharomyces pombe]
599 - CP02-S3-033-400-B05-UE.F	(AJ311840) XNop56 protein [Xenopus laevis]	631 - CP02-S2-040-359-H05-EM.F	oleate 12-hydroxylase [Ricinus communis]
600 - CP02-S3-000-128-B11-UC.F	(AC079676) hypothetical protein; 22552-21875 [Arabidopsis thaliana]	632 - CP02-S2-041-312-E02-EM.F	(X16990) acetate--CoA ligase [Emericella nidulans]
601 - CP02-S2-032-538-G05-UC.F	hypothetical protein [Thermobifida fusca]	633 - CP02-S2-000-160-A07-UE.F	(AE001112) long-chain-fatty-acid--CoA ligase (fadD-9) [Archaeoglobus fulgidus]
602 - CP02-S2-038-230-G08-EM.F	RNA-binding protein/enoyl-CoA hydratase [Bacillus halodurans]	634 - CP02-S2-000-119-A06-CL.F	(AP002995) quinone oxidoreductase [Mesorhizobium loti]
603 - CP02-S3-033-158-A03-EM.F	(U75347) fatty acid synthase, beta subunit [Emericella nidulans]	635 - CP02-S3-033-400-F05-UC.F	(AL583917) polyketide synthase [Mycobacterium leprae]
604 - CP02-S3-036-214-G08-EM.F	putative enoyl-CoA hydratase/isomerase [Mycobacterium leprae]	636 - CP02-S2-033-446-C04-UE.F	(AB054690) fatty acid synthetase beta-subunit [Saccharomyces kluyveri]
605 - CP02-S2-033-322-C03-UE.F	(Z73100) putative mitochondrial respiratory function protein [Schizosaccharomyces pombe]	637 - CP02-S2-000-205-G10-UC.F	(X59690) fatty-acid synthase [Yarrowia lipolytica]
606 - CP02-S3-000-125-C06-UC.F	(Z97211) probable involvement in ergosterol synthesis [Schizosaccharomyces pombe]	638 - CP02-S2-021-259-B10-UC.F	(AF319998) MxaC [Stigmatella aurantiaca]
607 - CP02-S2-006-126-C05-UC.R	(AF429385) phosphomevalonate kinase [Hevea brasiliensis]	639 - CP02-S2-028-252-A08-UE.F	StiB protein [Stigmatella aurantiaca]
608 - CP02-S2-037-533-E10-UC.F	(X96770) P2614 product [Saccharomyces cerevisiae]	640 - CP02-S2-028-353-H10-UC.F	(AE000980) long-chain-fatty-acid--CoA ligase (fadD-7) [Archaeoglobus fulgidus]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
641 - CP02-S2-032-116-H01-IB.F	cyclopropane fatty acyl phospholipid synthase [Yersinia pestis KIM]	673 - CP02-S2-000-049-G09-UC.F	(AJ001017) TBP associated factor [Homo sapiens]
642 - CP02-S3-033-498-B08-UC.F	(AB030037) fatty acid omega-hydroxylase (P450foxy) [Fusarium oxysporum]	674 - CP02-S2-000-053-C08-UC.F	(AL591791) PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN [Sinorhizobium meliloti]
643 - CP02-S3-033-499-A09-UC.F	4-coumarate:CoA ligase [Streptomyces coelicolor A3(2)]	675 - CP02-S2-000-056-E04-UC.F	(AJ248288) 3-OXOACYL-[ACYL-CARRIER-PROTEIN] REDUCTASE [Pyrococcus abyssi]
644 - CP02-S3-041-650-B12-UE.G	polyketide synthase 1 [Glarea lozoyensis]	676 - CP02-S2-000-076-C09-UC.F	(AP002997) oxidoreductase of short-chain [Mesorhizobium loti]
645 - CP02-S2-000-110-F05-UE.F	Polyketide synthase pksE (short-chain alcohol dehydrogenase, acyl-carrier-protein S-malonyltransferase, 3-oxoacyl-(acyl-carrier-protein) synthase I domains) [Clostridium acetobutylicum]	677 - CP02-S2-000-085-C01-UC.F	CG9535-PA [Drosophila melanogaster]
646 - CP02-S3-000-111-B04-UC.F	putative cyclopropane fatty acid synthase [Coprinosopsis cinerea]	678 - CP02-S2-000-104-H06-CL.H	(AJ272267) choline dehydrogenase [Homo sapiens]
647 - CP02-S2-032-196-B04-CL.F	acyl-CoA synthetase [Shigella flexneri 2a str. 301]	679 - CP02-S2-000-106-A07-UE.R	(AL451013) probable nucleotide excision repair protein RAD16 [Neurospora crassa]
648 - CP02-S2-038-553-G04-UC.G	hypothetical protein [Neurospora crassa]	680 - CP02-S2-000-107-C01-UE.R	(AE007572) PTS enzyme II, ABC component [Clostridium acetobutylicum]
649 - CP02-S2-039-223-C11-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	681 - CP02-S2-000-110-E05-EM.R	(AL353820) probable sugar transporter [Neurospora crassa]
650 - CP02-S2-038-235-G05-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	682 - CP02-S2-000-112-B12-CL.G	Glucose Oxidase (E.C.1.1.3.4)
651 - CP02-S2-021-259-G03-UC.F	(AF303396) UDP-glucosyltransferase HRA25 [Phaseolus vulgaris]	683 - CP02-S2-000-116-E07-CL.G	(AF168613) hexose transporter protein [Aspergillus parasiticus]
652 - CP02-S2-038-229-A09-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	684 - CP02-S2-000-121-F11-CL.G	oscillin [Mesocricetus auratus]
653 - CP02-S2-038-233-H08-EM.F	conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	685 - CP02-S2-000-126-A06-UE.F	(Z46921) unknown [Saccharomyces cerevisiae]
654 - CP02-S2-000-319-F06-UC.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	686 - CP02-S2-000-142-G03-EM.R	(AY051709) LD24756p [Drosophila melanogaster]
655 - CP02-S2-000-100-D03-UE.F	hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]	687 - CP02-S2-000-151-B08-UC.F	(AF036247) galactose-1-phosphate uridylyltransferase [Gracilaria gracilis]
656 - CP02-S2-000-124-D07-UE.F	ORF YJL155c [Saccharomyces cerevisiae]	688 - CP02-S2-000-170-E09-UC.F	(X14603) quinate transporter [Neurospora crassa]
657 - CP02-S2-032-448-A11-UC.F	fructosebiphosphate aldolase [Saccharomyces cerevisiae]	689 - CP02-S2-000-174-E02-CL.F	(AE000303) putative oxidoreductase [Escherichia coli K12]
658 - CP02-S2-038-262-D11-EM.F	aldolase B	690 - CP02-S2-000-184-B06-CL.G	UDP-glucose 4-epimerase [Edwardsiella ictaluri]
659 - CP02-S2-041-310-F11-EM.F	GFA1 [Saccharomyces bayanus]	691 - CP02-S2-000-195-A05-UE.F	(AF321521) Nrg1 [Candida albicans]
660 - CP02-S2-000-161-B05-UC.F	(AL022103) mannose-6-phosphate isomerase [Schizosaccharomyces pombe]	692 - CP02-S2-000-197-H05-UE.F	(AL157953) putative phosphatase [Streptomyces coelicolor A3(2)]
661 - CP02-S3-033-432-H11-UE.F	ebiP424 [Anopheles gambiae str. PEST]	693 - CP02-S2-000-204-A01-UE.F	(AJ299400) putative sugar transporter [Agaricus bisporus]
662 - CP02-S3-033-438-E06-UE.F	(AL670010) related to 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphate 2-phosphatase [Neurospora crassa]	694 - CP02-S2-000-221-A04-UC.F	probable sugar transporter [imported] - Neurospora crassa
663 - CP02-S2-032-304-H03-UE.F	putative oxidoreductase [Streptomyces coelicolor A3(2)]	695 - CP02-S2-000-228-H09-UE.F	CG9514-PA [Drosophila melanogaster]
664 - CP02-S3-000-082-F05-UC.F	(AL591793) PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN [Sinorhizobium meliloti]	696 - CP02-S2-000-232-C07-UC.F	(AE009446) L-SORBOSE DEHYDROGENASE [FAD] [Brucella melitensis]
665 - CP02-S2-000-130-C08-UE.F	putative sugar transporter; member of major facilitative superfamily; integral membrane protein [Beta vulgaris]	697 - CP02-S2-008-125-D06-UC.R	(AL023860) short chain dehydrogenase [Schizosaccharomyces pombe]
666 - CP02-S2-000-229-B10-UC.F	(AF392620) phosphoenolpyruvate:sugar phosphotransferase system enzyme I [Corynebacterium glutamicum]	698 - CP02-S2-020-217-F10-UC.R	(AF017180) hexose transporter [Schizosaccharomyces pombe]
667 - CP02-S2-000-054-H03-UC.F	(AL391604) putative mitochondrial respiratory chain complexes assembly protein [Schizosaccharomyces pombe]	699 - CP02-S2-022-273-E11-UC.R	(Z99163) WD repeat protein [Schizosaccharomyces pombe]
668 - CP02-S2-028-232-B01-UE.F	(Z99110) similar to cell-division protein FtsH homolog [Bacillus subtilis]	700 - CP02-S2-025-284-G03-UC.F	Chain B, Flavocytochrome B2, Arg289lys Mutant
669 - CP02-S2-039-549-F02-UC.F	putative FtsH protease [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	701 - CP02-S2-025-286-A05-UC.F	(AE009343) GMC type oxidoreductase [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
670 - CP02-S3-036-548-A08-UC.G	hypothetical protein [Neurospora crassa]	702 - CP02-S2-026-280-D10-UC.F	(X16051) L-lactate:cytochrome c oxidoreductase preprotein [Pichia anomala]
671 - CP02-S2-038-554-G07-UC.G	oxidoreductase, 2OG-Fe(II) oxygenase family [Pseudomonas syringae pv. tomato str. DC3000]	703 - CP02-S2-026-280-H05-UC.F	(AE007111) oxidoreductase, short-chain dehydrogenase/reductase family [Mycobacterium tuberculosis CDC1551]
672 - CP02-S2-028-248-C01-UE.R	hypothetical protein [Arabidopsis thaliana]	704 - CP02-S2-026-287-B10-UC.F	(Y00145) UDPGP [Dictyostelium discoideum]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
705 - CP02-S2-026-288-B02-UC.F	(AC006413) hypothetical protein [Arabidopsis thaliana]	737 - CP02-S2-038-252-H10-EM.F	putative epimerase/dehydratase [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
706 - CP02-S2-028-254-G01-UE.F	(U38417) UDP-Glc:Glycoprotein Glucosyltransferase [Schizosaccharomyces pombe]	738 - CP02-S2-038-269-F08-EM.F	unnamed protein product [Emericella nidulans]
707 - CP02-S2-028-265-D12-UE.F	ALPHA, ALPHA-TREHALOSE-PHOSPHATE SYNTHASE [UDP-FORMING] 115 KD SUBUNIT (TREHALOSE-6-PHOSPHATE SYNTHASE) (UDP-GLUCOSE-GLUCOSEPHOSPHATE GLUCOSYLTRANSFERASE)	739 - CP02-S2-038-270-G06-EM.G	monosaccharide transporter [Aspergillus niger]
708 - CP02-S2-028-313-C12-UC.F	(AL023796) phosphoglucomutase precursor. [Schizosaccharomyces pombe]	740 - CP02-S2-038-553-F07-UC.G	UDP-Gal/UDP-GalNac epimerase [Streptococcus gordonii]
709 - CP02-S2-028-354-A05-UC.F	(D89160) similar to Saccharomyces cerevisiae probable UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase, SWISS-PROT Accession Number P32861 [Schizosaccharomyces pombe]	741 - CP02-S2-039-222-F09-EM.F	(AF474993) putative transcription regulator WdMOT1 [Exophiala dermatitidis]
710 - CP02-S2-028-363-A02-UC.F	(Z74324) ORF YDR028c [Saccharomyces cerevisiae]	742 - CP02-S2-039-549-A06-UC.F	related to carboxylic acid transport protein JEN1 [MIPS] [Neurospora crassa]
711 - CP02-S2-029-332-C10-UC.F	Chain B, Glucose Oxidase From Penicillium Amagasakiense	743 - CP02-S2-040-326-B11-EM.F	(AP003009) dehydrogenase [Mesorhizobium loti]
712 - CP02-S2-029-367-A03-UC.G	(AF268097) TPR-containing protein Mql1 [Ustilago maydis]	744 - CP02-S2-040-341-C10-EM.F	(X80835) len:1098, CAI: 0.18, tsl1 gene, SCTLS1, alpha, alpha-trehalose-phosphate synthase [Saccharomyces cerevisiae]
713 - CP02-S2-032-107-D08-FS.F	(AF143814) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus pulmonarius]	745 - CP02-S2-040-344-G12-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
714 - CP02-S2-032-110-H08-FS.F	(X03482) HKA (aa 1-486) [Saccharomyces cerevisiae]	746 - CP02-S2-040-348-F08-EM.F	(AJ242990) trehalose-6-phosphate phosphatase [Candida albicans]
715 - CP02-S2-032-113-B03-FS.F	Putative PTS system IIBC component yfeV [Escherichia coli CFT073]	747 - CP02-S2-040-358-F11-EM.F	(AP005274) Permeases of the major facilitator superfamily [Corynebacterium glutamicum ATCC 13032]
716 - CP02-S2-032-114-H01-FS.F	(U22525) high affinity glucose transporter [Kluyveromyces lactis]	748 - CP02-S2-040-365-G06-EM.F	(AJ417892) Mig1 protein [Debaryomyces occidentalis]
717 - CP02-S2-032-128-H03-IB.G	(U00060) Hxt4p: High-affinity glucose transporter [Saccharomyces cerevisiae]	749 - CP02-S2-040-368-A05-EM.F	(Z83828) AmMst-1 [Amanita muscaria]
718 - CP02-S2-032-342-C06-UE.F	glycogen synthase [Escherichia coli O157:H7]	750 - CP02-S2-040-369-G12-EM.F	Similar to calcium binding protein, 140 kDa [Xenopus laevis]
719 - CP02-S2-032-393-C09-UE.F	periplasmic glucose-1-phosphatase [Shigella flexneri 2a str. 301]	751 - CP02-S2-040-370-B09-EM.F	unnamed protein product [Podospora anserina]
720 - CP02-S2-032-430-F05-UC.F	(AE015389) glucose-inhibited division; chromosome replication? [Shigella flexneri 2a str. 301]	752 - CP02-S2-041-304-E05-EM.G	putative sorbitol-utilization protein [Puccinia triticina]
721 - CP02-S2-032-473-B05-UC.F	(AF376000) glucose transporter [Blumeria graminis]	753 - CP02-S2-041-304-F09-EM.G	hypothetical protein [Rhodospseudomonas palustris]
722 - CP02-S2-032-473-E04-UC.F	(AP003599) oxidoreductase [Nostoc sp. PCC 7120]	754 - CP02-S2-041-316-D08-EM.F	MSTA protein [Aspergillus nidulans]
723 - CP02-S2-032-486-D04-UC.F	(AE013885) putative dTDP-glucose enzyme [Yersinia pestis KIM]	755 - CP02-S3-000-040-C10-UC.F	glucose oxidase [Talaromyces flavus]
724 - CP02-S2-032-486-D05-UC.F	(AJ414151) putative nucleotide sugar dehydrogenase [Yersinia pestis]	756 - CP02-S3-000-100-E06-UC.F	(AF034096) glucose regulated protein [Laccaria bicolor]
725 - CP02-S2-033-328-E01-UE.F	(AY125927) carboxylic acid transport protein [Metarhizium anisopliae]	757 - CP02-S3-000-109-D08-UC.G	(AF169016) versicolorin B synthase [Aspergillus parasiticus]
726 - CP02-S2-033-373-E09-UE.F	(AE013637) UDP-N-acetyl-D-mannosaminuronic acid dehydrogenase [Yersinia pestis KIM]	758 - CP02-S3-000-110-E08-UC.F	(U00060) Hxt5p: Hexose transporter [Saccharomyces cerevisiae]
727 - CP02-S2-034-535-E02-UC.F	YGL104C [Kluyveromyces lactis]	759 - CP02-S3-000-110-H06-UC.F	(AL670011) related to protein GRR1 [Neurospora crassa]
728 - CP02-S2-037-168-E04-EM.F	related to hexose transporter protein [Neurospora crassa]	760 - CP02-S3-000-123-B04-UC.F	(D31773) protein kinase [Schizosaccharomyces pombe]
729 - CP02-S2-037-533-H03-UC.F	(AL513463) heat shock protein 80 [Neurospora crassa]	761 - CP02-S3-000-129-E01-UC.G	(AE003988) glucose/galactose transporter [Xylella fastidiosa 9a5c]
730 - CP02-S2-038-236-G12-EM.F	(AF364403) ceramide glucosyltransferase [Pichia pastoris]	762 - CP02-S3-033-154-A11-EM.F	(AJ001431) L-mandelate dehydrogenase [Rhodotorula graminis]
731 - CP02-S2-038-238-B01-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	763 - CP02-S3-033-408-G03-UE.F	PkgA [Dictyostelium discoideum]
732 - CP02-S2-038-243-D06-EM.F	putative phosphatase [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi Ty2]	764 - CP02-S3-033-436-D05-UE.F	(NZ_AAAC01000214) hypothetical protein [Burkholderia fungorum]
733 - CP02-S2-038-247-C05-EM.G	carboxylic acid transport protein [Beauveria bassiana]	765 - CP02-S3-033-442-E12-UE.F	glutamine amidotransferase
734 - CP02-S2-038-248-H10-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	766 - CP02-S3-033-444-B07-UE.F	Galactose-1-phosphate uridylyltransferase
735 - CP02-S2-038-249-G12-EM.G	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]	767 - CP02-S3-033-445-E07-UE.F	UDP-glucose:sterol glucosyltransferase Ugt51D1 [Ustilago maydis]
736 - CP02-S2-038-250-G10-EM.F	(AF309088) hexokinase [Tuber borchii]	768 - CP02-S3-033-458-F03-UC.F	(AE004655) probable glucose-sensitive porin [Pseudomonas aeruginosa]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
769 - CP02-S3-033-458-G09-UE.F	unnamed protein product [Mus musculus] (Z50728) WD repeat protein; related to tup1 glucose repression regulatory protein [Schizosaccharomyces pombe]	801 - CP02-S3-033-498-F11-UC.F	(L27817) FluG [Emericella nidulans]
770 - CP02-S3-033-485-C10-UC.F	(AE001711) oxidoreductase, short chain dehydrogenase/reductase family [Thermotoga maritima]	802 - CP02-S3-036-198-F08-EM.F	(X83393) NADP-dependent glutamate dehydrogenase (NADP+) [Agaricus bisporus]
771 - CP02-S3-033-485-G01-UC.F	(AE014364) choline dehydrogenase [Brucella suis 1330]	803 - CP02-S3-036-188-G10-EM.F	unknown [Saccharomyces cerevisiae]
772 - CP02-S3-033-492-D08-UC.F	(Z69944) putative 5'-AMP-activated, gamma subunit family [Schizosaccharomyces pombe]	804 - CP02-S3-033-436-F12-UE.F	similar to N-acetylated-alpha-linked acidic dipeptidase II (NAALADase II) [Rattus norvegicus]
773 - CP02-S3-033-511-F10-UC.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	805 - CP02-S2-038-270-E07-EM.G	hypothetical protein (AL513462) related to fluG protein [Neurospora crassa])
774 - CP02-S3-036-123-F10-FS.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	806 - CP02-S2-032-335-H05-UE.F	(AE009463) GLUTAMATE 5-KINASE [Brucella melitensis]
775 - CP02-S3-036-173-E12-EM.F	(Z68136) HSP 70 family protein [Schizosaccharomyces pombe]	807 - CP02-S2-032-349-E08-UE.F	(AL670009) related to gamma-glutamylcysteine synthetase [Neurospora crassa]
776 - CP02-S3-036-175-C11-EM.F	glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase [Emericella nidulans]	808 - CP02-S2-033-324-E03-UE.F	(AF353615) glutamate decarboxylase isozyme 4 [Nicotiana tabacum]
777 - CP02-S3-036-182-A12-EM.F	high-affinity hexose transporter [Emericella nidulans]	809 - CP02-S3-033-498-F04-UC.F	aspartate aminotransferase [Bos taurus]
778 - CP02-S3-036-202-B03-EM.F	putative oxidoreductase [Streptomyces avermitilis MA-4680]	810 - CP02-S2-038-232-C08-EM.F	hypothetical protein (AL513442) probable mitochondrial carrier protein ARALAR1 [Neurospora crassa])
779 - CP02-S3-036-215-A03-EM.F	DOLICHOL-PHOSPHATE MANNOSYLTRANSFERASE (EC 2.4.1.83) (DOLICHOL- PHOSPHATE MANNOSE SYNTHASE) (DOLICHYL-PHOSPHATE BETA-D- MANNOSYLTRANSFERASE).[Escherichia coli]	811 - CP02-S2-000-141-E11-EM.R	(AE003785) CG17337 gene product [alt 1] [Drosophila melanogaster]
780 - CP02-S3-036-476-D07-UE.F	Chain B, Phosphorylated Form Of Yeast Glycogen Phosphorylase With Phosphate Bound In The Active Site	812 - CP02-S3-000-126-E07-UC.F	(AF261715) prostate-specific membrane antigen-like protein [Homo sapiens]
781 - CP02-S3-036-506-G05-UE.F	Glucose-methanol-choline (GMC) oxidoreductase [Nitrosomonas europaea ATCC 19718]	813 - CP02-S2-000-140-B10-EM.R	(AF006687) indole-3-acetyl-L-aspartic acid hydrolase [Pantoea agglomerans]
782 - CP02-S3-036-547-E04-UC.G	(AJ269534) putative pentose transporter [Trichoderma harzianum]	814 - CP02-S2-000-125-F11-EM.R	(AE008420) ABC transporter ATP-binding protein - glutamine [Streptococcus pneumoniae R6]
783 - CP02-S3-036-563-A12-UC.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	815 - CP02-S2-000-123-H05-UE.F	(U32806) folylpolyglutamate synthase/dihydrofolate synthase (folC) [Haemophilus influenzae Rd]
784 - CP02-S3-038-509-C09-UE.F	neutral trehalase short isoform [Leptosphaeria maculans]	816 - CP02-S2-000-051-E11-UC.F	(AL596170) similar to glutamate synthase (small subunit) [Listeria innocua]
785 - CP02-S3-038-516-E05-UE.F	UDP-glucose:sterol glucosyltransferase Ugt53A1 [Ustilago maydis]	817 - CP02-S3-033-455-F10-UE.F	glutamate synthase large chain precursor [Pseudomonas aeruginosa PAO1]
786 - CP02-S3-039-547-D12-UE.F	UDP glucose-D-galactose-1-phosphate uridylyltransferase putative protein disulfide isomerase [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	818 - CP02-S2-039-549-B04-UC.F	(AY039236) sodium-dependent broad specificity neutral amino acid transporter [Bos taurus]
787 - CP02-S3-039-548-H05-UE.F	(X13525) quinate permease [Emericella nidulans]	819 - CP02-S3-041-667-B07-UE.F	ENSANGP00000011664 [Anopheles gambiae str. PEST]
788 - CP02-S3-041-651-C06-UE.F	(Z73099) putative glucosyltransferase [Schizosaccharomyces pombe]	820 - CP02-S2-000-215-F06-UC.F	(Y15284) NAD-specific glutamate dehydrogenase [Agaricus bisporus]
789 - CP02-S3-041-661-D03-UE.F	(Z74910) ORF YOR002w [Saccharomyces cerevisiae]	821 - CP02-S3-000-074-C10-UC.F	ORF YBR2018 [Saccharomyces cerevisiae]
790 - CP02-S3-033-479-H01-UC.F	(Z49626) ORF YJR126c [Saccharomyces cerevisiae]	822 - CP02-S3-038-537-C09-UE.F	glutamine synthetase [Hebeloma cylindrosporium]
791 - CP02-S2-028-246-H05-UE.F	(AL590605) putative Glutamate synthase (NADPH, GOGAT); involved with glutamine synthetase (Gln1p) in glutamate biosynthesis; by similarity to S. cerevisiae GLT1 [Schizosaccharomyces pombe]	823 - CP02-S2-000-171-C11-CL.G	(M18747) glutamate synthase large subunit (EC 2.6.1.53) [Escherichia coli]
792 - CP02-S3-000-100-E04-UC.F	alanine aminotransferase [Arabidopsis thaliana]	824 - CP02-S2-000-053-F10-UC.F	(Z98531) probable aminotransferase (EC 2.6.1.-) [Schizosaccharomyces pombe]
793 - CP02-S3-033-146-G03-EM.F	(X63576) N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase; acetylglutamate kinase [Schizosaccharomyces pombe]	825 - CP02-S3-000-124-D04-UC.F	(U05193) carbamyl phosphate synthetase [Rana catesbeiana]
794 - CP02-S2-000-152-E05-CL.F	(AL451018) related to blood-brain barrier large neutral amino acid transporter [Neurospora crassa]	826 - CP02-S2-000-085-H05-UC.F	(Z28104) ORF YKL104c [Saccharomyces cerevisiae]
795 - CP02-S3-000-109-B06-UC.G	(AE003910) glutamate symport protein [Xylella fastidiosa 9a5c]	827 - CP02-S2-000-166-D07-UC.F	(AF166096) para-aminobenzoic acid synthetase [Coprinus cinereus] [Coprinopsis cinerea]
796 - CP02-S3-000-111-C01-UC.F	aspartate transaminase (EC 2.6.1.1), cytosolic - horse	828 - CP02-S2-040-346-G08-EM.F	glutamine synthetase [Blumeria graminis]
797 - CP02-S2-000-150-H11-UE.F	(Z48639) unknown [Saccharomyces cerevisiae]	829 - CP02-S2-032-450-A06-UC.F	amidophosphoribosyltransferase; PRPP amidotransferase [Yersinia pestis KIM]
798 - CP02-S2-032-293-H02-UE.F	(AL356815) probable glutamate synthase (NADPH) [Neurospora crassa]	830 - CP02-S2-006-089-C02-UC.R	(AF112473) PyrABCN [Emericella nidulans]
799 - CP02-S3-038-533-H06-UE.F		831 - CP02-S3-036-194-H09-EM.F	(Z54328) ura1 protein contains: glutamine-dependent carbamoyl-phosphatesynthase [Schizosaccharomyces pombe]
800 - CP02-S2-021-248-G08-UC.F		832 - CP02-S3-033-442-C09-UE.F	glutamine tRNA synthetase [Salmonella typhimurium LT2]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
833 - CP02-S3-033-455-C02-UC.F	(Z75076) ORF YOR168w [Saccharomyces cerevisiae]	865 - CP02-S2-040-344-B08-EM.F	family 9 glycosyl hydrolase [Phanerochaete chrysosporium]
834 - CP02-S2-028-256-C01-UE.F	(AJ238212) glutamine synthetase I [Medicago truncatula]	866 - CP02-S3-000-131-E01-UC.F	(AB021876) alpha-glucosidase [Aspergillus oryzae]
835 - CP02-S2-032-202-H04-CL.F	(D90863) AMIDOPHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE (EC 2.4.2.14) (GLUTAMINE PHOSPHORIBOSYLPYROPHOSPHATE AMIDOTRANSFERASE) (ATASE). [Escherichia coli]	867 - CP02-S2-032-488-D02-UC.F	(U58632) xylosidase; XloA [Thermotoga neapolitana]
836 - CP02-S2-037-101-A05-FS.F	(AL023796) glutathione peroxidase [Schizosaccharomyces pombe]	868 - CP02-S2-000-081-F04-UC.F	glycosyl hydrolase, family 30 [Caulobacter crescentus CB15]
837 - CP02-S2-038-262-A05-EM.F	glutathione S-transferase [Leptospira interrogans serovar lai str. 56601]	869 - CP02-S2-000-104-H06-UE.R	(AL391588) putative secreted hydrolase [Streptomyces coelicolor A3(2)]
838 - CP02-S3-036-505-F01-UE.G	glutathione reductase; maintains high levels of glutathione in the cytosol; similar to S. cerevisiae GLR1 [Schizosaccharomyces pombe]	870 - CP02-S2-001-054-B11-UC.R	cellulose-binding beta-glucosidase [Phanerochaete chrysosporium]
839 - CP02-S3-040-591-B10-UE.F	glutathione S-transferase family protein [Caulobacter crescentus CB15]	871 - CP02-S3-033-435-D10-UE.F	(D49827) alpha-mannosidase [Aspergillus saitoi]
840 - CP02-S2-000-166-B03-UC.F	(AL583944) putative alcohol dehydrogenase [Streptomyces coelicolor]	872 - CP02-S3-033-479-E09-UC.F	(AC009991) unknown protein [Arabidopsis thaliana]
841 - CP02-S2-000-049-B12-UC.F	(AB071861) putative glutathione S-transferase [Gibberella fujikuroi]	873 - CP02-S2-038-250-E05-EM.F	Cel1b [Hypocrea jecorina]
842 - CP02-S2-000-138-C02-UE.F	glutathione S-transferase GST 10 [Zea mays]	874 - CP02-S2-032-507-C05-UC.F	trehalase precursor [Magnaporthe grisea]
843 - CP02-S2-000-232-F01-UC.F	glutathione S-transferase III homolog	875 - CP02-S2-033-354-F03-UE.F	(AB009410) beta-glucosidase [Bacillus sp.]
844 - CP02-S2-032-111-D07-FS.F	hypothetical protein [Ralstonia metallidurans]	876 - CP02-S3-036-187-C05-EM.F	(AC007153) 51396 [Arabidopsis thaliana]
845 - CP02-S2-028-258-G12-UE.F	Hypothetical protein C24H6.01c in chromosome I	877 - CP02-S3-036-203-G03-EM.F	endochitinase [Amanita muscaria]
846 - CP02-S2-000-110-A04-UE.F	(Z73527) ORF YPL171c [Saccharomyces cerevisiae]	878 - CP02-S3-036-493-B08-UE.F	(AB057788) alpha-glucosidase B [Aspergillus nidulans]
847 - CP02-S2-032-451-E12-UC.F	(U26463) NADPH-dependent aldehyde reductase [Sporidiobolus salmonicolor]	879 - CP02-S2-028-238-C12-UE.F	(AL021813) putative glycosyl hydrolase [Schizosaccharomyces pombe]
848 - CP02-S3-000-095-D08-UC.F	(D50617) YFL054C [Saccharomyces cerevisiae]	880 - CP02-S3-036-561-E11-UC.F	(AL163763) alpha-galactosidase-like protein [Arabidopsis thaliana]
849 - CP02-S2-000-153-A11-UC.F	(AE009677) glycerol trinitrate reductase [Brucella melitensis]	881 - CP02-S2-028-281-A04-UE.F	(AE008874) putative alpha-xylosidase [Salmonella typhimurium LT2]
850 - CP02-S2-000-087-E02-UC.F	(AC018849) putative glycerol kinase; 69575-71670 [Arabidopsis thaliana]	882 - CP02-S2-032-346-H11-UE.F	(AP001514) BH2055~unknown conserved protein in others [Bacillus halodurans]
851 - CP02-S2-030-373-B09-UC.F	(AL591979) similar to glycerol uptake facilitator [Listeria monocytogenes]	883 - CP02-S2-033-323-D07-UE.F	(AJ131824) mannosyl-oligosaccharide 1, 2-alpha-mannosidase [Scherffelia dubia]
852 - CP02-S3-038-518-B05-UE.F	dihydroxyacetone kinase [Pichia angusta]	884 - CP02-S2-021-259-H03-UC.F	(AE003808) CG8424 gene product [Drosophila melanogaster]
853 - CP02-S3-000-105-D04-UC.F	(AL513408) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	885 - CP02-S2-000-140-C12-EM.R	(BC019294) thyroid hormone receptor interactor 13 [Homo sapiens]
854 - CP02-S3-033-153-H03-EM.F	putative delta 8-sphingolipid desaturase [Saccharomyces kluyveri]	886 - CP02-S2-037-177-E04-EM.F	epoxide hydrolase [Streptomyces carzinostaticus subsp. neocarzinostaticus]
855 - CP02-S3-033-140-B12-EM.F	probable glycerone kinase isoform [Neurospora crassa]	887 - CP02-S2-032-475-A06-UC.F	ribosomal protein L4 [Schizosaccharomyces pombe]
856 - CP02-S3-041-671-G10-UE.F	unnamed protein product [Mus musculus]	888 - CP02-S2-032-401-G02-UC.G	(D31909) ORF-3 [Pneumocystis carinii]
857 - CP02-S2-008-125-B03-UC.R	(BC007902) Unknown (protein for IMAGE:4138787) [Homo sapiens]	889 - CP02-S2-032-309-F10-UE.F	OMST-oxidoreductase [Aspergillus flavus]
858 - CP02-S2-022-272-B07-UC.F	(AL590507) putative glycerol kinase [Streptomyces coelicolor]	890 - CP02-S2-040-352-D01-EM.F	(AJ276219) putative epoxide hydrolase [Stigmatella aurantiaca]
859 - CP02-S3-000-126-B08-UC.F	(Z98601) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]	891 - CP02-S3-036-487-E02-UE.F	hypothetical protein (hormone-sensitive lipase related protein [imported] - Neurospora crassa)
860 - CP02-S2-000-165-H10-CL.F	(D16102) ATP-stimulated glucocorticoid-receptor translocaton promoter [Rattus norvegicus]	892 - CP02-S3-039-548-B05-UE.F	Similar to cofactor required for Sp1 transcriptional activation, subunit 2, 150kDa [Danio rerio]
861 - CP02-S3-036-567-H03-UC.F	beta-xylosidase [Hypocrea jecorina]	893 - CP02-S3-033-492-G02-UC.F	Hypothetical protein F58H7.2 [Caenorhabditis elegans]
862 - CP02-S2-038-264-H01-EM.F	putative (1-4)-beta-mannan endohydrolase [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	894 - CP02-S2-032-335-E01-UE.F	(AF348621) acetamidase [Emericella unguis]
863 - CP02-S3-041-650-D07-UE.G	beta-glucosidase [Volvariella volvacea]	895 - CP02-S3-033-438-H07-UE.F	(AF349514) general amidase-C [Emericella nidulans]
864 - CP02-S3-000-122-C06-UC.F	(U72236) ModA [Dictyostelium discoideum]	896 - CP02-S2-032-110-E01-FS.F	fatty acid amide hydrolase [Homo sapiens]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
897 - CP02-S3-036-564-H02-UC.F	(AB026721) hydrophobin [Flammulina velutipes]	929 - CP02-S3-036-205-B11-EM.F	(AF118269) laccase 3 precursor [Coprinus cinereus] [Coprinopsis cinerea]
898 - CP02-S2-040-345-C11-EM.F	(Y10627) CoH1 [Coprinopsis cinerea]	930 - CP02-S3-036-136-B09-FS.F	(AJ344434) laccase [Pleurotus ostreatus]
899 - CP02-S2-038-290-E10-EM.F	(Y10627) CoH1 [Coprinopsis cinerea]	931 - CP02-S3-033-510-G03-UC.F	laccase 2 [Trametes pubescens]
900 - CP02-S2-038-235-A10-EM.F	(AJ243538) Fox2 protein [Glomus mosseae]	932 - CP02-S3-033-418-C05-UC.G	(AB035411) laccase 2' [Lentinula edodes]
901 - CP02-S2-000-222-B09-UC.F	Putative UDP-glucose glucosyltransferase [Arabidopsis thaliana]	933 - CP02-S3-033-157-F03-EM.F	(AF185275) laccase [Ganoderma lucidum]
902 - CP02-S2-038-272-B02-EM.F	hypothetical protein SPAC1093.01 with conserved domain PF01535 DUF17 [imported] - fission yeast (Schizosaccharomyces pombe)	934 - CP02-S3-000-044-D04-UC.F	laccase precursor [Ceriporiopsis subvermispora]
903 - CP02-S3-036-220-E07-EM.F	Similar to N. tabacum salt-inducible protein (gb U08285). [Arabidopsis thaliana]	935 - CP02-S2-041-315-D09-EM.F	laccase 2 precursor [Coprinus cinereus]
904 - CP02-S2-000-130-G12-UE.F	(Y17825) putative aldehyde dehydrogenase (NAD+) [Agaricus bisporus]	936 - CP02-S2-040-372-E01-EM.F	laccase [Lentinula edodes]
905 - CP02-S2-032-108-C02-FC.I	hypothetical protein [Burkholderia fungorum]	937 - CP02-S2-040-333-E05-EM.F	(AB035411) laccase 2' [Lentinula edodes]
906 - CP02-S2-041-304-B12-EM.G	indoleamine-pyrrole 2, 3 dioxygenase; indoleamine 2, 3-dioxygenase [Homo sapiens]	938 - CP02-S2-039-221-B03-EM.F	(L78076) laccase [Trametes villosa]
907 - CP02-S3-036-545-G03-UC.G	(NZ_AAAU01000007) hypothetical protein [Trichodesmium erythraeum IMS101]	939 - CP02-S2-038-279-A08-EM.F	laccase precursor [Ceriporiopsis subvermispora]
908 - CP02-S2-033-420-E03-UE.F	(AB013295) GfCPS/KS [Gibberella fujikuroi]	940 - CP02-S2-033-354-D11-UE.F	(L78077) laccase [Trametes villosa]
909 - CP02-S3-033-445-D06-UE.F	(AF315346) cytochrome P450 [Ictalurus punctatus]	941 - CP02-S2-029-331-H08-UC.F	laccase LCC3-1 [Polyporus ciliatus]
910 - CP02-S3-033-484-C11-UC.F	putative [Sinorhizobium meliloti]	942 - CP02-S2-021-304-E06-UC.F	laccase [Pycnoporus cinnabarinus]
911 - CP02-S3-036-216-E07-EM.F	(AJ249739) hypothetical protein [Listeria grayi]	943 - CP02-S2-000-202-A06-UC.F	laccase [Schizophyllum commune]
912 - CP02-S3-033-159-B02-EM.F	3-oxoacyl-(acyl carrier protein) reductase [Oceanobacillus ihyensensis HTE831]	944 - CP02-S2-000-192-C05-UE.F	(Y18012) laccase [Trametes versicolor]
913 - CP02-S3-000-124-C11-UC.F	(AL451014) probable NADPH-dependent beta-ketoacyl reductase (rhIG) [Neurospora crassa]	945 - CP02-S2-000-101-H05-UE.F	(AF312323) laccase [Fusarium proliferatum]
914 - CP02-S2-037-170-A09-EM.F	hypothetical protein [Ralstonia metallidurans]	946 - CP02-S2-000-101-D03-UE.R	laccase I
915 - CP02-S2-032-500-B09-UC.F	(AP002565) putative 3-oxoacyl-(acyl-carrier-protein) synthase II [Escherichia coli O157:H7]	947 - CP02-S3-033-441-F09-UE.F	(U65401) phenoloxidase [basidiomycete CECT 20197]
916 - CP02-S2-032-429-D10-UC.F	(AE014943) putative oxidoreductase, short-chain dehydrogenase/reductase [Streptococcus mutans UA159]	948 - CP02-S2-033-328-C08-UE.F	laccase 4 [Pleurotus sajor-caju]
917 - CP02-S2-000-123-F08-CL.G	(AF166491) putative 3-ketoacyl-CoA thiolase [Aspergillus oryzae]	949 - CP02-S2-032-379-E05-UE.F	(D86493) manganase peroxidase [Coriolus versicolor]
918 - CP02-S2-037-172-G12-EM.F	(AF285636) putative type I polyketide synthase WcbR [Burkholderia mallei]	950 - CP02-S2-039-550-C03-UC.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
919 - CP02-S3-036-198-D02-EM.F	similar to fatty acid synthase [Mus musculus]	951 - CP02-S2-040-376-G10-EM.F	(AB011546) manganese peroxidase [Pleurotus ostreatus]
920 - CP02-S3-000-092-A04-UC.G	(AF155773) polyketide synthase [Gibberella moniliformis]	952 - CP02-S3-033-403-C04-UE.F	SPO14 [Cryptococcus neoformans var. grubii]
921 - CP02-S3-000-089-A11-UC.F	(U75347) fatty acid synthase, alpha subunit [Emericella nidulans]	953 - CP02-S2-022-305-F10-UC.F	triacylglycerol lipase [Galactomyces geotrichum]
922 - CP02-S2-041-315-D11-EM.F	(AB013749) fatty acid synthase alpha-subunit [Schizosaccharomyces pombe]	954 - CP02-S2-000-107-F08-UE.R	(XM_079942) Phospholipase D [Drosophila melanogaster]
923 - CP02-S2-021-245-A11-UC.R	laccase 4 [Pleurotus sajor-caju]	955 - CP02-S2-008-124-B07-UC.R	(AJ277538) phosphatidylinositol phospholipase C [Candida albicans]
924 - CP02-S2-000-042-A03-UC.F	laccase 2 precursor [Coprinus cinereus]	956 - CP02-S2-000-202-A03-UC.F	(AJ278066) type B carboxylesterase [Bacillus sp. BP-7]
925 - CP02-S3-041-652-A10-UE.F	laccase [Rigidoporus microporus]	957 - CP02-S2-000-199-A02-UE.F	(AF098645) phosphoinositide-specific phospholipase C [Magnaporthe grisea]
926 - CP02-S3-040-597-A02-UE.F	laccase [Corioliopsis gallica]	958 - CP02-S2-000-183-C03-UE.F	(Z50177) contains similarity to Pfam domain: PF01764 (Lipase), Score=284.2, E-value=5.5e-82, N=1 [Caenorhabditis elegans]
927 - CP02-S3-040-578-D05-UE.F	laccase (EC 1.10.3.2) - basidiomycete (Phlebia radiata)	959 - CP02-S2-000-117-A01-UC.F	(AF294430) carboxyl esterase A [Bacillus pumilus]
928 - CP02-S3-038-525-A06-UE.F	(AF176232) laccase LCC3-3 [Polyporus ciliatus]	960 - CP02-S2-000-165-G07-UC.F	(X16712) lipase 1 [Candida cylindracea]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
961 - CP02-S2-000-151-A07-UC.F	(Z83018) lipN [Mycobacterium tuberculosis H37Rv]	993 - CP02-S2-032-400-D01-UC.G	(AL023705) hypothetical short chain dehydrogenase. [Schizosaccharomyces pombe]
962 - CP02-S2-028-248-A07-UE.R	(U97146) calcium-independent phospholipase A2 [Rattus norvegicus]	994 - CP02-S2-028-252-C09-UE.F	(AL023286) putative short-chain dehydrogenase [Schizosaccharomyces pombe]
963 - CP02-S2-032-309-E05-UE.F	lipase I	995 - CP02-S2-039-551-F08-UC.F	(M18261) phenylalanine ammonia-lyase [Rhodosporidium toruloides]
964 - CP02-S2-033-328-F04-UE.F	(AJ249751) carboxylesterase/lipase type B [Yarrowia lipolytica]	996 - CP02-S2-000-105-B12-EM.S	phenylalanine ammonia-lyase [Pisum sativum]
965 - CP02-S3-000-038-G10-UC.G	(AL031324) triglyceride lipase-cholesterol esterase [Schizosaccharomyces pombe]	997 - CP02-S2-038-556-H09-UC.G	phenylalanine ammonium lyase [Amanita muscaria]
966 - CP02-S2-029-331-G04-UC.F	Plb1p [Saccharomyces cerevisiae]	998 - CP02-S3-038-516-D10-UE.F	(Z49353) ORF YJL078c [Saccharomyces cerevisiae]
967 - CP02-S3-033-157-E07-EM.F	(AAAB01008859) agCP1367 [Anopheles gambiae str. PEST]	999 - CP02-S3-036-466-B06-UE.F	(AF139499) unknown [Prunus armeniaca]
968 - CP02-S3-033-152-A06-EM.F	lysine decarboxylase [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi]	1000 - CP02-S3-038-512-D01-UE.F	(X12486) PR1b preprotein [Nicotiana tabacum]
969 - CP02-S2-038-266-F12-EM.F	SPBC25H2.08c [Schizosaccharomyces pombe]	1001 - CP02-S3-036-505-E05-UE.F	putative pathogenesis-related protein [Arabidopsis thaliana]
970 - CP02-S2-000-174-D11-CL.F	(D90706) Hemolysin (tlyC) homolog [Escherichia coli]	1002 - CP02-S2-032-451-C07-UC.F	(AY113913) putative thaumatin protein [Arabidopsis thaliana]
971 - CP02-S2-032-112-D06-FC.F	beta-glucosidase 2 [Trichoderma viride]	1003 - CP02-S2-032-116-F12-FC.G	Putative prophage integrase [Escherichia coli CFT073]
972 - CP02-S2-028-248-F01-UE.R	(AF352031) necrosis-inducing protein NPP1 [Phytophthora parasitica]	1004 - CP02-S3-036-181-H08-EM.F	(AY094013) At1g75800/T4O12_2 [Arabidopsis thaliana]
973 - CP02-S3-000-113-H11-UC.G	(AF320326) necrosis-inducing peptide [Phytophthora sojae]	1005 - CP02-S2-000-193-D05-UE.F	(AB031870) thaumatin-like protein [Cestrum elegans]
974 - CP02-S3-000-113-H05-UC.F	(AF179598) 25 kDa protein elicitor [Pythium aphanidermatum]	1006 - CP02-S2-000-116-E07-UE.F	(AF077548) mitogen-activated protein kinase 2 [Pneumocystis carinii f. sp. carinii]
975 - CP02-S2-033-327-B06-UE.F	(AAAB01008859) agCP1644 [Anopheles gambiae str. PEST]	1007 - CP02-S2-000-228-H11-UC.F	(AJ276225) pathogenesis protein 5 [Hordeum vulgare subsp. vulgare]
976 - CP02-S2-037-179-A02-EM.F	(AF511649) necrosis-inducing-like protein [Phytophthora sojae]	1008 - CP02-S2-033-327-C08-UE.F	(Z49353) ORF YJL078c [Saccharomyces cerevisiae]
977 - CP02-S3-000-067-A08-UC.G	(Z98762) translation initiation factor eif-3 [Schizosaccharomyces pombe]	1009 - CP02-S2-000-233-C03-UC.F	(AF052632) pectate lyase B [Glomerella cingulata]
978 - CP02-S2-032-338-D02-UE.F	(AY084633) nitrilase 1 [Arabidopsis thaliana]	1010 - CP02-S2-000-150-H01-CL.F	(U13050) pectate lyase D [Fusarium solani f. sp. pisi]
979 - CP02-S2-038-288-C04-EM.F	(AB035255) nuclease Le1 [Lentinula edodes]	1011 - CP02-S3-036-548-D03-UC.G	Collagen adhesion protein [Bacillus cereus ATCC 14579]
980 - CP02-S3-033-498-B02-UC.F	3'(2'), 5'-bisphosphate nucleotidase [Schizosaccharomyces pombe]	1012 - CP02-S2-040-332-H08-EM.F	hypothetical protein [Microbulbifer degradans 2-40]
981 - CP02-S3-036-176-B05-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	1013 - CP02-S2-040-338-E10-EM.F	pectate lyase (EC 4.2.2.2) C - fungus (Fusarium solani)
982 - CP02-S3-036-207-F07-EM.F	LD42374p [Drosophila melanogaster]	1014 - CP02-S3-033-151-F02-EM.F	(AP001520) high-alkaline pectate lyase [Bacillus halodurans]
983 - CP02-S3-033-487-H07-UC.F	(AY057406) delta-12 fatty acid desaturase [Persea americana]	1015 - CP02-S3-036-201-D06-EM.F	neutral endopolygalacturonase SSPG4 [Sclerotinia sclerotiorum]
984 - CP02-S2-038-263-G08-EM.F	oleate delta-12 desaturase [Aspergillus parasiticus]	1016 - CP02-S2-032-503-B04-UC.F	(Z73100) putative flavoprotein [Schizosaccharomyces pombe]
985 - CP02-S2-040-360-D08-EM.F	(Y16285) delta 12 fatty acid acetylenase [Crepis alpina]	1017 - CP02-S2-032-115-F04-FC.I	thioredoxin peroxidase [Ascaris suum]
986 - CP02-S2-028-254-D02-UE.F	(AF262955) oleate delta-12 desaturase [Emericella nidulans]	1018 - CP02-S3-038-531-F03-UE.G	related to chloroperoxidase [Neurospora crassa]
987 - CP02-S2-000-178-B07-UE.F	(AJ237707) ornithine decarboxylase [Yarrowia lipolytica]	1019 - CP02-S3-039-549-D04-UE.F	(AJ293759) putative chloroperoxidase [Agaricus bisporus]
988 - CP02-S3-033-449-F02-UE.F	hypothetical protein [Yersinia pestis KIM]	1020 - CP02-S3-036-476-F02-UE.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]
989 - CP02-S2-032-110-F09-FC.G	Chain A, The Active Site Base Controls Cofactor Reactivity In Escherichia Coli Amine Oxidase : X-Ray Crystallographic Studies With Mutational Variants	1021 - CP02-S2-032-379-E04-UE.F	(D86493) manganase peroxidase [Coriolus versicolor]
990 - CP02-S2-032-382-B12-UE.F	hemoglobin-like protein [Escherichia coli]	1022 - CP02-S3-033-477-C04-UC.F	(AJ414155) conserved hypothetical protein [Yersinia pestis]
991 - CP02-S2-032-196-C11-CL.F	sulfite reductase [Neurospora crassa]	1023 - CP02-S2-000-163-D11-UC.F	DyP [Galactomyces geotrichum]
992 - CP02-S3-033-461-H01-UC.F	(AJ248283) PUTATIVE SHORT-CHAIN DEHYDROGENASE/REDUCTASE [Pyrococcus abyssi]	1024 - CP02-S2-040-349-G03-EM.F	hypothetical protein AN6457.2 [Aspergillus nidulans FGSC A4]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1025 - CP02-S2-041-311-D03-EM.F	peroxisomal-like protein [Paracoccidioides brasiliensis]	1057 - CP02-S3-000-103-H10-UC.F	(AL034564) putative protease; endopeptidase [Schizosaccharomyces pombe]
1026 - CP02-S3-036-189-F12-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	1058 - CP02-S3-033-407-E02-UC.F	Chain A, Mol_id: 1; Molecule: Serratia Metallo Proteinase; Chain: A; Ec: 3.4.24.40; Mol_id: 2; Molecule: Erwinia Chrysanthemi Inhibitor; Chain: I; Engineered: Yes
1027 - CP02-S3-036-210-C11-EM.F	(AL022104) 6-phosphofructokinase beta subunit [Schizosaccharomyces pombe]	1059 - CP02-S2-032-475-A08-UC.F	(M13469) serine protease precursor [Serratia marcescens]
1028 - CP02-S2-033-315-A06-UE.F	(X15573) 1-phosphofructokinase [Homo sapiens]	1060 - CP02-S3-000-103-F12-UC.F	(AF239178) Ion proteinase [Paracoccidioides brasiliensis]
1029 - CP02-S2-038-282-G07-EM.F	(AJ007637) phosphofructokinase beta-subunit [Candida albicans]	1061 - CP02-S2-032-310-H02-UE.F	subtilisin-like serine protease PR1C [Metarhizium anisopliae var. anisopliae]
1030 - CP02-S3-033-162-A05-EM.F	(AL022104) 6-phosphofructokinase beta subunit [Schizosaccharomyces pombe]	1062 - CP02-S2-028-258-G03-UE.F	mitochondrial processing peptidase (EC 3.4.99.41) alpha chain precursor - Neurospora crassa
1031 - CP02-S3-038-508-D05-UE.F	(Z37977) glucose phosphate isomerase [Cricetulus griseus]	1063 - CP02-S2-025-301-D07-UC.F	protease [Amanita muscaria]
1032 - CP02-S2-000-210-E10-UC.F	(U21239) phosphoglucose isomerase [Calanus finmarchicus]	1064 - CP02-S2-028-233-G04-UE.F	metalloprotease MEP1 [Metarhizium anisopliae var. anisopliae]
1033 - CP02-S3-036-136-A09-FS.F	(AJ306391) phosphoglucose isomerase [Paramyxine yangii]	1065 - CP02-S2-020-194-H11-UC.R	(AF323912) matrix AAA protease MAP-1 [Neurospora crassa]
1034 - CP02-S3-033-529-G06-UC.F	Glucose-6-phosphate isomerase [Vibrio vulnificus CMCP6]	1066 - CP02-S2-022-272-G11-UC.F	(AL591791) PUTATIVE PROLINE IMINOPEPTIDASE PROTEIN [Sinorhizobium mellotii]
1035 - CP02-S3-033-461-D03-UC.F	(AE008897) glucosephosphate isomerase [Salmonella typhimurium LT2]	1067 - CP02-S2-000-213-B11-UC.F	(AL356173) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]
1036 - CP02-S2-032-427-B01-UC.F	(AE011811) glucose-6-phosphate isomerase [Xanthomonas axonopodis pv. citri str. 306]	1068 - CP02-S2-006-126-B04-UC.R	putative glycoprotein endopeptidase [Arabidopsis thaliana]
1037 - CP02-S2-038-291-B06-EM.F	(AL034433) glucose-6-phosphate isomerase, cytosolic [Schizosaccharomyces pombe]	1069 - CP02-S3-033-455-D10-UC.F	hypothetical protein T08B2.5 - Caenorhabditis elegans
1038 - CP02-S2-032-306-F08-UE.F	(AE013604) glucosephosphate isomerase [Yersinia pestis KIM]	1070 - CP02-S2-033-359-H08-UE.F	(AL513445) related to beta-1, 3-glucan binding protein [Neurospora crassa]
1039 - CP02-S2-000-319-H01-UC.F	(AB028647) TRP1 [Flammulina velutipes]	1071 - CP02-S2-033-366-F11-UE.F	(AY085335) signal recognition particle 9 kDa protein SRP9 [Arabidopsis thaliana]
1040 - CP02-S3-033-456-B03-UC.F	phosphoribosylanthranilate transferase; tryptophan biosynthesis pathway [Schizosaccharomyces pombe]	1072 - CP02-S2-000-166-E08-UE.F	(AJ271696) mismatched base pair and cruciform DNA recognition protein [Agaricus bisporus]
1041 - CP02-S3-033-483-D06-UC.F	(AJ414151) anthranilate phosphoribosyltransferase [Yersinia pestis]	1073 - CP02-S2-000-141-G02-EM.R	(Z97209) putative splicing factor [Schizosaccharomyces pombe]
1042 - CP02-S2-038-237-C08-EM.F	putative anthranilate phosphoribosyltransferase [Neisseria meningitidis Z2491]	1074 - CP02-S2-032-111-B10-FC.F	hypothetical protein AN6627.2 [Aspergillus nidulans FGSC A4]
1043 - CP02-S2-028-313-G10-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1075 - CP02-S2-028-252-D03-UC.F	(AB025017) TIS11 [Rattus norvegicus]
1044 - CP02-S3-033-483-E06-UC.F	(AJ414147) putrescine-binding periplasmic protein precursor [Yersinia pestis]	1076 - CP02-S2-022-305-C02-UC.F	(AL049662) signal recognition particle 54 kd protein homolog [Schizosaccharomyces pombe]
1045 - CP02-S3-033-444-B02-UE.F	putative dehydrogenase [Yersinia pestis KIM]	1077 - CP02-S2-040-366-H05-EM.F	orc-2-related protein
1046 - CP02-S3-000-101-F09-UC.F	(AJ131668) GABA permease [Emericella nidulans]	1078 - CP02-S2-032-397-F09-UE.F	agCP9692 [Anopheles gambiae str. PEST]
1047 - CP02-S2-028-248-A01-UE.R	(AF188621) fluconazole resistance protein [Candida albicans]	1079 - CP02-S2-040-339-D10-EM.F	putative transcriptional repressor [Schizosaccharomyces pombe]
1048 - CP02-S3-041-649-A10-UE.G	Putative polyamine oxidase precursor [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	1080 - CP02-S3-040-587-E06-UE.F	ENSANGP00000012386 [Anopheles gambiae str. PEST]
1049 - CP02-S3-040-580-C10-UE.F	ENSANGP00000002931 [Anopheles gambiae str. PEST]	1081 - CP02-S3-036-494-E05-UE.F	putative protein [Arabidopsis thaliana]
1050 - CP02-S2-028-282-E06-UE.F	(AF188621) fluconazole resistance protein [Candida albicans]	1082 - CP02-S3-036-208-H04-EM.F	Snf5 homolog R07E5.3 - Caenorhabditis elegans
1051 - CP02-S3-000-100-C05-UC.F	polygalacturonase-like protein [Arabidopsis thaliana]	1083 - CP02-S3-033-418-E01-UC.G	Origin recognition complex subunit 4
1052 - CP02-S2-038-227-G05-EM.F	endopolygalacturonase [Chondrostereum purpureum]	1084 - CP02-S3-033-164-F06-EM.F	(AL590883) RNA binding protein; 5 rrm RNA recognition motifs [Schizosaccharomyces pombe]
1053 - CP02-S2-000-068-F10-UC.F	(AF237656) endopolygalacturonase [Chondrostereum purpureum]	1085 - CP02-S2-032-192-D02-CL.G	cell division control protein 6 [Strongylocentrotus purpuratus]
1054 - CP02-S2-000-190-D05-UE.F	(AJ278532) dipeptidyl aminopeptidase type IV [Aspergillus niger]	1086 - CP02-S3-036-480-G12-UE.F	RSD1 gene [Saccharomyces cerevisiae]
1055 - CP02-S2-000-113-C07-UE.F	(AL646064) PROBABLE ATP-DEPENDENT PROTEASE (HEAT SHOCK PROTEIN) [Ralstonia solanacearum]	1087 - CP02-S3-036-132-A06-FC.G	hypothetical protein [Neurospora crassa]
1056 - CP02-S2-000-108-D04-UE.R	(XM_069950) similar to Chain A, Structure Of Porcine Trypsin Complexed With Bdellastasin, An Antistatin-Type Inhibitor [Homo sapiens]	1088 - CP02-S3-033-454-H11-UC.F	(AJ319905) putative syntaxin [Agaricus bisporus]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1089 - CP02-S3-033-423-D04-UE.G	LipC [Serratia marcescens]	1121 - CP02-S3-036-173-H07-EM.F	syringopeptin synthetase B [Pseudomonas syringae pv. syringae]
1090 - CP02-S3-033-416-G04-UC.G	(AF474345) ABC transporter ABCC.13 [Dictyostelium discoideum]	1122 - CP02-S3-033-413-H12-UE.F	hypothetical protein [Pseudomonas syringae pv. syringae B728a]
1091 - CP02-S2-000-061-C11-UC.F	(AL031853) abc transporter [Schizosaccharomyces pombe]	1123 - CP02-S2-000-100-A08-UE.F	(AF184956) MycC [Bacillus subtilis]
1092 - CP02-S2-000-102-A04-CL.F	(AJ278658) secretion related GTPase, (SrgA) [Aspergillus niger]	1124 - CP02-S2-000-056-B11-UC.F	(AF238225) DHA14-like major facilitator [Botryotinia fuckeliana]
1093 - CP02-S3-033-158-B06-EM.F	hypothetical type II secretion protein GspH [Escherichia coli]	1125 - CP02-S3-000-123-G07-UC.F	(AL031322) putative diphthamide biosynthesis protein [Schizosaccharomyces pombe]
1094 - CP02-S3-033-412-E10-UE.F	RND multidrug efflux membrane fusion protein [Xanthomonas campestris pv. campestris str. ATCC 33913]	1126 - CP02-S3-041-669-D07-UE.F	(AL013192) ABC-type multidrug/protein/lipid transport system, ATPase component [Thermoanaerobacter tengcongensis]
1095 - CP02-S2-026-292-B09-UC.F	(AL032824) syntaxin binding protein 1; sec1 family secretor y protein [Schizosaccharomyces pombe]	1127 - CP02-S3-038-540-B09-UE.F	(Z71408) ORF YNL132w [Saccharomyces cerevisiae]
1096 - CP02-S2-028-314-D05-UC.F	ABC transport protein [Streptomyces avermitilis]	1128 - CP02-S2-041-321-B01-EM.G	Chain B, Killer Toxin, Virally Encoded, Single Subunit, AlphaBETA Family, Left-Handed Crossover, Ustilago Maydis, Fungal Toxin Mol. id: 1; Molecule: Kp4 Toxin; Chain: A, B; Synonym: P4 Toxin, Kp4 Killer Toxin
1097 - CP02-S2-032-112-A08-FS.F	putative membrane fusion protein of a transport system [Escherichia coli O157:H7]	1129 - CP02-S2-040-356-E12-EM.F	(AL022104) non transporter with ABC binding cassette [Schizosaccharomyces pombe]
1098 - CP02-S2-038-293-G11-EM.F	putative ABC transporter ATP-binding protein [Streptomyces avermitilis MA-4680]	1130 - CP02-S2-028-264-H08-UE.F	ORF YGR229c [Saccharomyces cerevisiae]
1099 - CP02-S2-038-553-A08-UC.G	(Z99262) ypt1-related protein 2 [Schizosaccharomyces pombe]	1131 - CP02-S2-028-248-D10-UE.R	(AL117183) conserved hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
1100 - CP02-S3-000-074-H12-UC.F	(S45357) protein secretion enhancer [Saccharomyces cerevisiae]	1132 - CP02-S2-021-243-C11-UC.F	(AL078627) RNA binding protein [Schizosaccharomyces pombe]
1101 - CP02-S3-000-088-B04-UC.F	Similar to suppressor of actin mutations [Mus musculus]	1133 - CP02-S2-000-051-E12-UC.F	P-glycoprotein pgp1 - Arabidopsis thaliana
1102 - CP02-S3-000-115-E05-UC.F	(AL451015) related to secretion protein rsec8 [Neurospora crassa]	1134 - CP02-S2-028-257-F02-UE.F	(AL513445) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]
1103 - CP02-S2-040-335-A04-EM.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	1135 - CP02-S2-000-053-A06-UC.F	(AF296080) deoxyhypusine synthase [Dianthus caryophyllus]
1104 - CP02-S2-032-401-B12-UC.F	(AF004830) serine palmitoyltransferase LCB2 subunit [Cricetulus griseus]	1136 - CP02-S3-000-113-G06-UC.F	GF14omega isoform
1105 - CP02-S3-036-548-D06-UC.G	(U56403) manganese-superoxide dismutase [Ganoderma microsporium]	1137 - CP02-S3-000-112-B09-UC.G	(V01343) put. tryptophan synthetase [Saccharomyces cerevisiae]
1106 - CP02-S2-037-169-G07-EM.F	(AF447590) unknown [Hypocrea jecorina]	1138 - CP02-S2-000-150-G05-CL.F	(AE001699) tryptophan synthase, beta subunit [Thermotoga maritima]
1107 - CP02-S3-033-140-E12-EM.F	iron superoxide dismutase [Xanthomonas axonopodis pv. citri str. 306]	1139 - CP02-S3-036-205-C06-EM.F	(AF411250) cellulase CEL7A [Lentinula edodes]
1108 - CP02-S3-036-545-E01-UC.G	(AF114848) manganese-superoxide dismutase precursor [Paxillus involutus]	1140 - CP02-S2-022-272-G02-UC.F	(L22059) xylanase A [synthetic construct]
1109 - CP02-S3-036-196-G06-EM.F	Chain B, Apo Saccharopine Reductase From Magnaporthe Grisea (AF368901) chimeric spermidine synthase/saccharopine dehydrogenase [Filobasidiella neoformans]	1141 - CP02-S2-032-507-F09-UC.F	exoglucanase [Cellulomonas fimi]
1110 - CP02-S2-028-260-G07-UE.F	(Z98762) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]	1142 - CP02-S2-033-316-B01-UE.F	(AF005383) xylanase [Caldicellulosiruptor saccharolyticus]
1111 - CP02-S2-000-154-D06-UC.F		1143 - CP02-S2-038-284-F05-EM.F	xylanase A {EC 3.2.1.8} [Schizophyllum commune, Delmar, ATCC 38548, Peptide, 197 aa]
1112 - CP02-S2-000-052-H04-UC.H	ORF YKR053c [Saccharomyces cerevisiae]	1144 - CP02-S2-040-326-H05-EM.F	xylanase A {EC 3.2.1.8} [Schizophyllum commune, Delmar, ATCC 38548, Peptide, 197 aa]
1113 - CP02-S2-000-159-B10-UE.F	Chain B, Phosphorylated Form Of Yeast Glycogen Phosphorylase With Phosphate Bound In The Active Site (AL713629) glycogen phosphorylase 1; possible glycogen phosphorylase [Aspergillus fumigatus]	1145 - CP02-S2-040-330-H08-EM.F	(M98458) xylanase [Penicillium chrysogenum]
1114 - CP02-S3-040-585-D06-UE.F	alpha 1, 4-glucan phosphorylase; cytosolic starch phosphorylase [Triticum aestivum]	1146 - CP02-S3-000-111-A08-UC.F	(L29380) F-family cellulase homologue [Fusarium oxysporum]
1115 - CP02-S2-000-182-C07-UC.F	bA48M17.1 (SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 2) [Homo sapiens]	1147 - CP02-S3-033-164-A10-EM.F	conserved hypothetical protein [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
1116 - CP02-S2-041-307-A06-EM.F	(Z99165) putative sucrose carrier [Schizosaccharomyces pombe]	1148 - CP02-S3-033-419-F03-UE.F	Endo-1, 4-beta xylanase precursor (Xylanase)
1117 - CP02-S2-041-302-D12-EM.F	(Z36114) ORF YBR245c [Saccharomyces cerevisiae]	1149 - CP02-S3-033-432-B08-UE.F	putative xylanase [Bacteroides thetaiotaomicron VPI-5482]
1118 - CP02-S2-032-430-F03-UC.F	(AB010105) trehalose synthase [Grifola frondosa]	1150 - CP02-S3-036-213-G08-EM.F	Chain A, Crystal Structure Of The Thermoascus Aurantiacus Xylanase I
1119 - CP02-S3-000-131-G04-UC.F	probable sucrose-6-phosphate hydrolase, copy 1 [Leishmania major]	1151 - CP02-S2-000-056-D05-UC.F	
1120 - CP02-S3-033-140-G10-EM.F			

7.3 Tabela B2: Clones do Projeto Genoma Vassoura-de-Bruxa cujos fragmentos estão presentes na lâmina CP-2

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1 - CP02-S2-000-080-B01-UC.F	ACC deaminase [Penicillium citrinum]	36 - CP02-S2-032-299-F05-UE.F	(AP003187) probable ABC transporter [Clostridium perfringens str. 13]
2 - CP02-S2-000-080-G12-UC.G	ACC deaminase [Penicillium citrinum]	37 - CP02-S2-032-300-H02-UE.F	(AL009197) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
3 - CP02-S2-000-102-B05-UE.F	(Z49369) ORF YJL095w [Saccharomyces cerevisiae]	38 - CP02-S2-032-332-C07-UE.F	(AJ276241) ABC transporter protein [Emericella nidulans]
4 - CP02-S2-000-105-B09-EM.R	(AL109739) putative phosphomevalonate kinase [Schizosaccharomyces pombe]	39 - CP02-S2-033-319-F05-UE.F	(AL590182) MFS brefeldin A efflux transporter [Schizosaccharomyces pombe]
5 - CP02-S2-000-105-B09-EM.S	(AL109739) putative phosphomevalonate kinase [Schizosaccharomyces pombe]	41 - CP02-S3-000-105-D02-UC.F	(AJ309282) ABC transporter protein [Emericella nidulans]
6 - CP02-S2-000-110-G01-UE.F	D-xylulose kinase [Aspergillus niger]	42 - CP02-S3-000-113-H01-UC.F	unknown [Saccharomyces cerevisiae]
7 - CP02-S2-000-110-G01-UE.R	xylulose kinase [Arabidopsis thaliana]	43 - CP02-S3-000-109-B06-UC.G	(X63576) N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase; acetylglutamate kinase [Schizosaccharomyces pombe]
9 - CP02-S2-006-126-C05-UC.R	(AF429385) phosphomevalonate kinase [Hevea brasiliensis]	44 - CP02-S3-000-106-E07-UC.F	acetohydroxyacid reductoisomerase [Filobasidiella neoformans]
10 - CP02-S2-024-297-B11-UC.F	(AF097765) adenosine kinase [Schizophyllum commune]	45 - CP02-S3-000-104-E03-UC.F	(AL023290) amino acid permease [Schizosaccharomyces pombe]
11 - CP02-S3-000-125-H01-UC.F	(D82023) MAP kinase kinase [Schizosaccharomyces pombe]	46 - CP02-S3-000-103-G02-UC.F	amino acid transporter [Amanita muscaria]
12 - CP02-S1-000-004-A02-UC.R	ABC transporter-like protein [Arabidopsis thaliana]	49 - CP02-S2-032-334-E09-UE.F	(AF279268) mitochondrial ornithine carrier protein [Neurospora crassa]
13 - CP02-S1-000-008-F07-UE.F	(AL513445) related to ATP-binding cassette transporter protein YOR1 [Neurospora crassa]	50 - CP02-S2-032-295-H02-UE.F	(AP002568) putative transport [Escherichia coli O157:H7]
14 - CP02-S2-000-031-D05-UE.R	(AJ276241) ABC transporter protein [Emericella nidulans]	51 - CP02-S2-032-293-E01-UE.F	(AE013892) tryptophan-specific transport protein [Yersinia pestis KIM]
15 - CP02-S2-000-031-E04-UE.F	(AF465304) ABC transporter ABCA.2 [Dictyostelium discoideum]	52 - CP02-S2-032-293-B12-UE.F	(AY005479) ornithine aminotransferase [Xenopus laevis]
16 - CP02-S2-000-065-C06-UC.F	multidrug resistance protein 1 [Filobasidiella neoformans]	53 - CP02-S2-028-282-E11-UE.F	(X85965) aromatic amino acid permease [Corynebacterium glutamicum]
17 - CP02-S2-000-065-G05-UC.F	hypothetical protein B24M22.110 [imported] - Neurospora crassa	54 - CP02-S2-028-263-G10-UE.G	(Z50144) kynurenine/alpha-aminoadipate aminotransferase [Rattus norvegicus]
18 - CP02-S2-000-108-C08-UE.R	multidrug resistance protein 1 [Filobasidiella neoformans]	55 - CP02-S2-028-262-F10-UE.F	(Z69795) putative dihydroxy-acid dehydratase precursor [Schizosaccharomyces pombe]
19 - CP02-S2-000-112-D09-UE.F	canalicular multispecific organic anion transporter	56 - CP02-S2-028-261-H05-UE.F	(AF311738) BioF [Mesorhizobium loti]
20 - CP02-S2-000-112-G06-UE.F	(D86086) canalicular multispecific organic anion transporter [Rattus norvegicus]	57 - CP02-S2-028-246-F10-UE.F	(BC020750) Unknown (protein for MGC:22597) [Homo sapiens]
21 - CP02-S2-000-112-G06-UE.R	(X17154) P-glycoprotein (AA 1-1548) [Leishmania tarentolae]	58 - CP02-S2-028-240-E07-UE.F	(AL034352) aspartate aminotransferase, mitochondrial [Schizosaccharomyces pombe]
22 - CP02-S2-000-129-D12-UE.F	putative ABC transporter [Mycosphaerella graminicola]	59 - CP02-S2-028-237-E09-UE.G	(Z73621) ORF YPL265w [Saccharomyces cerevisiae]
23 - CP02-S2-000-132-B02-UE.F	(AL390354) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	60 - CP02-S2-028-236-C02-UE.F	(AL118515) possible amino acid/metabolite permease [Streptomyces coelicolor A3(2)]
26 - CP02-S2-000-176-D12-UC.F	(L11994) permease [Saccharomyces cerevisiae]	61 - CP02-S2-000-225-A08-UE.G	(AP003008) 8-amino-7-oxononanoate synthase [Mesorhizobium loti]
27 - CP02-S2-000-178-C03-UC.F	(AJ414150) putative ABC sugar transporter (permease) [Yersinia pestis]	62 - CP02-S2-000-225-A08-UE.F	(AP003008) 8-amino-7-oxononanoate synthase [Mesorhizobium loti]
28 - CP02-S2-000-178-D11-UC.F	(AL590182) MFS brefeldin A efflux transporter [Schizosaccharomyces pombe]	63 - CP02-S2-000-217-C07-UE.F	(U21094) Car2p: Ornithine aminotransferase [Saccharomyces cerevisiae]
29 - CP02-S2-000-178-F01-UC.F	multidrug resistance-associated protein 3A [Homo sapiens]	64 - CP02-S2-000-194-H09-UE.F	(AL355929) probable multifunctional folic acid synthesis protein [Neurospora crassa]
30 - CP02-S2-028-245-A11-UE.R	(AL390354) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	65 - CP02-S2-000-192-A12-UE.F	(X95258) unknown protein [Saccharomyces cerevisiae]
31 - CP02-S2-028-249-D07-UE.F	multidrug resistance-associated protein (MRP)-like protein-2 (MLP-2) [Rattus norvegicus]	66 - CP02-S2-000-187-H05-UE.F	(AF311738) BioF [Mesorhizobium loti]
32 - CP02-S2-028-251-G12-UE.F	(AL590182) MFS brefeldin A efflux transporter [Schizosaccharomyces pombe]	67 - CP02-S2-000-186-G10-UE.F	(Z50144) kynurenine/alpha-aminoadipate aminotransferase [Rattus norvegicus]
33 - CP02-S2-032-294-H06-UE.F	(Y09439) UUP protein [Escherichia coli]	68 - CP02-S2-000-175-B07-UC.F	(AE001517) D-Amino acid dehydrogenase [Helicobacter pylori J99]
34 - CP02-S2-032-296-B08-UE.F	(AE003748) CG5789 gene product [Drosophila melanogaster]	70 - CP02-S2-000-150-G11-UC.F	(AL023290) amino acid permease [Schizosaccharomyces pombe]
35 - CP02-S2-032-299-F04-UE.F	(AF241313) MDR-like ABC transporter [Botryotinia fuckeliana]	72 - CP02-S2-000-138-A09-UE.F	(AP002995) proline iminopeptidase [Mesorhizobium loti]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
73 - CP02-S2-000-130-C06-UE.F	amino acid permease [Neurospora crassa]	117 - CP02-S2-000-198-D04-UC.F	probable benzoate 4-monoxygenase cytochrome P450 [Neurospora crassa]
74 - CP02-S2-000-128-D05-UE.F	(AL353864) probable amino acid/metabolite permease. [Streptomyces coelicolor A3(2)]	118 - CP02-S2-000-193-F02-UE.F	(D64052) cytochrome P450 like_TBP [Nicotiana tabacum]
75 - CP02-S2-000-120-C11-UE.F	histidinol-phosphate aminotransferase [Candida maltosa]	119 - CP02-S2-000-183-H12-UC.F	(AJ001715) cytochrome P450 [Bos taurus]
76 - CP02-S2-000-119-B10-UE.R	(AL591791) PUTATIVE PROLINE IMINOPEPTIDASE PROTEIN [Sinorhizobium mellotii]	120 - CP02-S2-000-181-A06-UE.F	(AF280612) cytochrome P450 6B14 [Papilio canadensis]
78 - CP02-S2-000-106-G10-UE.R	(AF311738) BioF [Mesorhizobium loti]	121 - CP02-S2-000-172-B06-UC.F	(D64052) cytochrome P450 like_TBP [Nicotiana tabacum]
79 - CP02-S2-000-100-F01-UE.R	(U31348) G4p1 [Saccharomyces cerevisiae]	122 - CP02-S2-000-168-D09-UC.F	(AB049723) putative senescence-associated protein [Pisum sativum]
80 - CP02-S2-000-045-G01-UC.F	(AP002995) proline iminopeptidase [Mesorhizobium loti]	128 - CP02-S2-000-144-G06-CL.H	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]
81 - CP02-S2-000-039-E03-EM.R	(Y17462) cysteine conjugate beta-lyase [Takifugu rubripes]	129 - CP02-S2-000-144-G06-CL.G	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]
82 - CP02-S2-000-038-B06-UE.R	(AL023290) amino acid permease [Schizosaccharomyces pombe]	130 - CP02-S2-000-144-G06-CL.F	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]
83 - CP02-S2-000-038-B06-UE.F	GABA transport protein [Saccharomyces cerevisiae]	131 - CP02-S2-000-135-B11-UE.F	(AJ243883) putative transcription factor [Periplaneta americana]
84 - CP02-S2-000-037-B06-UE.F	GABA transport protein [Saccharomyces cerevisiae]	134 - CP02-S2-000-131-G10-UE.F	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]
85 - CP02-S2-000-034-F02-UE.F	INDA1 [Trichoderma harzianum]	135 - CP02-S2-000-130-C01-UE.F	(AJ004810) cytochrome P450 monoxygenase [Zea mays]
86 - CP02-S1-000-015-F02-EM.F	(AL049755) putative aminotransferase [Schizosaccharomyces pombe]	136 - CP02-S2-000-129-H04-UE.F	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]
88 - CP02-S2-000-168-F06-UE.F	(AF221079) defender against cell death 1 [Gallus gallus]	141 - CP02-S2-000-127-G11-UE.G	cytochrome P450 [Candida apicola]
90 - CP02-S2-000-105-E05-UE.F	unique to isolates that make the cyclic peptide HC-toxin [Cochliobolus carbonum]	142 - CP02-S2-000-125-D02-UE.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]
91 - CP02-S3-000-108-H03-UC.F	(AJ004810) cytochrome P450 monoxygenase [Zea mays]	143 - CP02-S2-000-124-G01-UE.F	Cytochrome P-450 17alpha-hydroxylase/C17, 20-lyase [Oryzias latipes]
92 - CP02-S2-033-320-C09-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	146 - CP02-S2-000-123-E03-UE.F	(AJ004810) cytochrome P450 monoxygenase [Zea mays]
93 - CP02-S2-033-320-B09-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	147 - CP02-S2-000-121-G01-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]
96 - CP02-S2-032-344-E07-UE.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	150 - CP02-S2-000-115-E11-UE.R	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]
97 - CP02-S2-032-335-C08-UE.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	151 - CP02-S2-000-115-D01-UE.R	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]
98 - CP02-S2-032-309-G02-UE.F	(D64052) cytochrome P450 like_TBP [Nicotiana tabacum]	152 - CP02-S2-000-115-D01-UE.F	OMST-oxidoreductase [Aspergillus flavus]
99 - CP02-S2-032-295-A12-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	153 - CP02-S2-000-114-F12-EM.S	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]
100 - CP02-S2-028-271-C01-UE.F	(D64052) cytochrome P450 like_TBP [Nicotiana tabacum]	154 - CP02-S2-000-114-F12-EM.R	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]
101 - CP02-S2-028-269-B11-UE.F	(D64052) cytochrome P450 like_TBP [Nicotiana tabacum]	157 - CP02-S2-000-113-H11-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]
102 - CP02-S2-028-266-B05-UE.F	cytochrome P450 monoxygenase alk7, P450 alk7=CYP52C1 gene product {alkane-inducible} [Candida tropicalis, ATCC 750, Peptide, 505 aa]	159 - CP02-S2-000-113-F10-UE.F	OMST-oxidoreductase [Aspergillus flavus]
103 - CP02-S2-028-264-F06-UE.F	related to trichodiene oxygenase cytochrome P450 [Neurospora crassa]	160 - CP02-S2-000-111-B02-UE.F	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]
104 - CP02-S2-028-263-C09-UE.G	(AJ004810) cytochrome P450 monoxygenase [Zea mays]	161 - CP02-S2-000-105-D10-UE.R	(AB030037) fatty acid omega-hydroxylase (P450foxy) [Fusarium oxysporum]
105 - CP02-S2-028-262-G04-UE.F	(AJ004810) cytochrome P450 monoxygenase [Zea mays]	162 - CP02-S2-000-104-A05-UE.F	(AJ243883) putative transcription factor [Periplaneta americana]
106 - CP02-S2-028-249-D12-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	163 - CP02-S2-000-101-D05-UE.F	(AE003789) Cyp6a2 gene product [Drosophila melanogaster]
107 - CP02-S2-028-246-B08-UE.R	(AJ004810) cytochrome P450 monoxygenase [Zea mays]	164 - CP02-S2-000-101-D01-UE.F	trichodiene oxygenase [Fusarium sporotrichioides]
108 - CP02-S2-028-246-B08-UE.F	(XM_090000) hypothetical protein XP_090000 [Homo sapiens]	165 - CP02-S2-000-065-H09-UC.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]
109 - CP02-S2-028-245-C02-UE.F	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]	166 - CP02-S2-000-065-D10-UC.F	related to trichodiene oxygenase cytochrome P450 [Neurospora crassa]
110 - CP02-S2-028-244-F12-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	167 - CP02-S2-000-039-H07-EM.R	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]
111 - CP02-S2-028-240-B07-UE.F	related to trichodiene oxygenase cytochrome P450 [Neurospora crassa]	168 - CP02-S2-000-038-G10-UE.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]
112 - CP02-S2-028-238-C08-UE.G	(M58041) cytochrome P-450 [Rattus norvegicus]	169 - CP02-S2-000-037-G10-UE.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]
113 - CP02-S2-028-234-H06-UE.F	(L20976) pisatin demethylase [Nectria haematococca mpVI]	170 - CP02-S2-000-031-E05-EM.R	(Z98974) putative cytochrome p450 (EC 1.14.-.-) [Schizosaccharomyces pombe]
114 - CP02-S2-000-223-C11-UC.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	171 - CP02-S2-000-031-A06-UE.F	(AL442164) related to n-alkane-inducible cytochrome P450 [Neurospora crassa]
115 - CP02-S2-000-219-C10-UC.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	172 - CP02-S2-000-030-D06-EM.R	(L38671) cytochrome P450 [Manduca sexta]
116 - CP02-S2-000-214-G12-UE.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	173 - CP02-S2-000-026-G09-UE.F	hypothetical protein (cytochrome p450 related protein [imported] - Neurospora crassa)

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
175 - CP02-S2-000-023-A06-UE.R	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	208 - CP02-S2-000-183-B10-UC.F	(AE003817) CG6197 gene product [Drosophila melanogaster]
176 - CP02-S2-000-023-A06-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	209 - CP02-S2-000-193-G10-UE.F	(AB029350) transcription factor HSF4a isoform [Mus musculus]
177 - CP02-S1-000-032-B02-UC.F	(U59389) nitric oxide synthase [Rhodnius prolixus]	210 - CP02-S2-000-198-F10-UC.F	(Y09426) DNA-helicase [Schizosaccharomyces pombe]
178 - CP02-S1-000-016-A03-EM.F	ESTs AU056036(S20239), C72753(E2173), AU056035(S20239) correspond to a region of the predicted gene.~Similar to putative cytochrome P-450 (AC003680) [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	211 - CP02-S2-000-201-B10-UE.F	(AL513467) probable GTPase Rab7 protein [Neurospora crassa]
179 - CP02-S1-000-014-G01-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	212 - CP02-S2-000-205-E09-UE.F	(AL023780) putative importin beta-4 subunit [Schizosaccharomyces pombe]
180 - CP02-S1-000-012-F09-EM.R	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	213 - CP02-S2-000-207-G01-UC.F	(AF309805) helix-loop-helix DNA binding protein [Pneumocystis carinii f. sp. carinii]
181 - CP02-S1-000-002-D12-UC.F	(AB030037) fatty acid omega-hydroxylase (P450foxy) [Fusarium oxysporum]	214 - CP02-S2-000-211-E01-UE.F	(Z74997) ORF YOR089c [Saccharomyces cerevisiae]
182 - CP02-S1-000-022-H11-EM.R	(U85494) LON1 protease [Zea mays]	215 - CP02-S2-000-215-E05-UE.F	(AL049498) rho1 gdp-gtp exchange protein 1 [Schizosaccharomyces pombe]
183 - CP02-S2-000-101-D11-UE.F	rRNA helicase [Saccharomyces cerevisiae]	216 - CP02-S2-000-217-H04-UE.F	(AF146339) NADH:ubiquinone oxidoreductase 51 kDa subunit [Yarrowia lipolytica]
184 - CP02-S2-000-101-E11-EM.R	(Z99759) ubiquitin-protein ligase [Schizosaccharomyces pombe]	217 - CP02-S2-000-220-B02-UE.F	(AF307840) hemoflavoprotein b5/b5r [Rattus norvegicus]
185 - CP02-S2-000-105-G09-UE.R	(AL022103) putative deoxycytidylate deaminase [Schizosaccharomyces pombe]	218 - CP02-S2-000-222-D04-UE.F	(AC002294) Similar to transcription factor gb[Z46606]1658307 and others [Arabidopsis thaliana]
186 - CP02-S2-000-107-G02-UE.R	unknown protein; 63834-62640 [Arabidopsis thaliana]	219 - CP02-S2-000-229-G09-UE.F	(Z75147) ORF YOR240w [Saccharomyces cerevisiae]
187 - CP02-S2-000-113-C09-UE.R	(Z99164) putative helicase [Schizosaccharomyces pombe]	220 - CP02-S2-022-271-H08-UC.F	(AY070988) RE08109p [Drosophila melanogaster]
192 - CP02-S2-000-120-D11-UE.F	dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycotransferase (EC 2.4.1.119) 50k chain - chicken	221 - CP02-S2-032-340-B02-UE.F	(AL023287) SNF2 family dna repair protein by similarity [Schizosaccharomyces pombe]
193 - CP01-S1-000-001-E05-CL.F	(AF042283) sulfide dehydrogenase [Schizosaccharomyces pombe]	222 - CP02-S2-032-335-B08-UE.F	(AE009156) FAD dependent oxidoreductase [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
195 - CP02-S1-000-013-B02-UE.F	(AP003603) ORF_ID:all8080-unknown protein [Nostoc sp. PCC 7120]	223 - CP02-S3-000-118-D04-UC.G	unnamed protein product [Homo sapiens]
196 - CP02-S2-000-033-D01-UE.F	(U41849) LPF4c; Mot1p is a probable helicase essential for vegetative growth on rich glucose medium at 30 degree C; Swiss-Prot Accession number P32333; similar to S. cerevisiae RAD26 gene product: Swiss-Prot Accession number P40352 [Saccharomyces cerev>	224 - CP02-S3-000-104-D10-UC.F	(AL023705) hypothetical DNA binding protein [Schizosaccharomyces pombe]
197 - CP02-S2-000-066-B11-UC.F	(AY039939) unknown protein [Arabidopsis thaliana]	229 - CP02-S2-028-257-E05-UE.F	(BC014703) Similar to U3 snoRNP-associated 55-kDa protein [Mus musculus]
198 - CP02-S2-000-081-H02-UC.F	(AY051707) LD24662p [Drosophila melanogaster]	230 - CP02-S2-028-252-F06-UE.F	(Z81094) cDNA EST yk16b12.3 comes from this gene~cDNA EST yk16b12.5 comes from this gene~cDNA EST yk628e7.3 comes from this gene~cDNA EST yk628e7.5 comes from this gene [Caenorhabditis elegans]
199 - CP02-S2-000-085-F12-UC.F	(AL138854) similar to yeast nucleolar protein Nop5p involved in the synthesis of the 40S ribosomal subunit; snoRNA binding [Schizosaccharomyces pombe]	231 - CP02-S2-022-306-E06-UC.F	(AL110469) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
200 - CP02-S2-000-120-E03-UE.F	(AL356173) related to replication factor C protein [Neurospora crassa]	232 - CP02-S2-022-274-A12-UC.F	(AL109831) similar to yeast component of COPII coat of ER-Golgi vesicles, SEC24 [Schizosaccharomyces pombe]
201 - CP02-S2-000-135-D07-UE.F	(AJ315750) Sin3 protein [Yarrowia lipolytica]	233 - CP02-S2-032-300-E06-UE.F	(AY069539) LD26301p [Drosophila melanogaster]
202 - CP02-S2-000-135-E09-UE.F	putative protein [Arabidopsis thaliana]	234 - CP02-S2-028-285-E04-UE.F	(AL807577) possible replication factor-a protein [Aspergillus fumigatus]
203 - CP02-S2-000-140-D11-UE.F	(AE003817) CG6197 gene product [Drosophila melanogaster]	235 - CP02-S2-028-284-H04-UE.F	(X56227) 51 kD subunit of NADH dehydrogenase (ubiquinone) [Neurospora crassa]
204 - CP02-S2-000-149-D02-CL.F	(AL034463) tRNA-splicing endonuclease positive effector [Schizosaccharomyces pombe]	236 - CP02-S2-028-276-F01-UE.F	(AL138666) putative involvement in chromatin structure; yeast spt6-like [Schizosaccharomyces pombe]
206 - CP02-S2-000-175-F07-UE.F	(AC006161) putative CENP-B/ARS-binding protein-like protein [Arabidopsis thaliana]	237 - CP02-S2-028-270-A02-UE.F	(Z99259) conserved hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
207 - CP02-S2-000-175-G08-UC.F	(AB026999) glia maturation factor beta [Cyprinus carpio]	238 - CP02-S2-028-262-B03-UE.F	(Z54342) 951003: Homology with human lipoprotein-binding protein (PIR Acc. No. A44125), contains similarity to Pfam domain: PF00013 (KH domain), Score=233.2, E-value=5e-71, N=11~cDNA EST EMBL:T01212 comes from this gene; cDNA EST yk1d12.3 comes from th>

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
239 - CP02-S2-022-272-A06-UC.F	(AF344451) SUVH8 [Arabidopsis thaliana]	274 - CP02-S2-000-159-E11-UC.F	orf, len: 2376, CAI: 0.14 [Saccharomyces cerevisiae]
240 - CP02-S2-028-251-G09-UE.F	(Z97204) putative vacuolar protein sorting-associated protein. [Schizosaccharomyces pombe]	275 - CP02-S2-028-250-B07-UE.F	(AL031764) helicase with SNF2 domain [Schizosaccharomyces pombe]
241 - CP02-S2-028-260-E10-UE.F	(D11461) Mre2 protein [Saccharomyces cerevisiae]	276 - CP02-S2-032-332-D08-UE.F	(AP002567) 2-demethylmenaquinone 2-C-methyltransferase [Escherichia coli O157:H7]
242 - CP02-S1-000-009-A06-UE.F	endoplasmic reticulum alpha-mannosidase, putative [Arabidopsis thaliana]	277 - CP02-S2-028-245-B11-UE.F	(Z97052) putative ubiquinone biosynthesis methyltransferase [Schizosaccharomyces pombe]
243 - CP02-S1-000-017-G01-UE.F	endoplasmic reticulum alpha-mannosidase, putative; 33510-31408 [Arabidopsis thaliana]	278 - CP02-S2-000-229-A10-UE.F	(AL121815) dimethylase [Schizosaccharomyces pombe]
244 - CP02-S2-000-081-F04-UC.F	glycosyl hydrolase, family 30 [Caulobacter crescentus CB15]	279 - CP02-S2-000-150-G03-CL.F	INDA1 [Trichoderma harzianum]
245 - CP02-S2-000-101-F01-UE.F	CG32684-PA [Drosophila melanogaster]	280 - CP02-S2-000-150-H08-CL.F	(U00062) Aap1'p: arginine/alanine aminopeptidase [Saccharomyces cerevisiae]
246 - CP02-S2-000-104-H06-UE.R	(AL391588) putative secreted hydrolase [Streptomyces coelicolor A3(2)]	281 - CP02-S2-000-152-E05-CL.F	alanine aminotransferase [Arabidopsis thaliana]
248 - CP02-S2-028-277-C06-UE.F	beta-glucosidase [Volvariella volvacea]	282 - CP02-S2-032-348-B03-UE.F	(Z98559) probable alanyl-trna synthetase, cytoplasmic [Schizosaccharomyces pombe]
249 - CP02-S2-028-281-A04-UE.F	(AE008874) putative alpha-xylosidase [Salmonella typhimurium LT2]	283 - CP02-S3-000-067-F05-UC.G	(AJ131891) DNA polymerase mu [Homo sapiens]
250 - CP02-S2-032-307-A12-UE.F	(AF129497) class I alpha-mannosidase 1A [Aspergillus nidulans]	284 - CP02-S2-000-129-B04-UE.F	(AF395542) ammonium transporter [Hebeloma cylindrosporum]
251 - CP02-S2-032-325-D07-UE.F	(AC025294) tRNA-guanine transglycosylase, putative [Arabidopsis thaliana]	285 - CP02-S2-028-260-G07-UE.F	(AF368901) chimeric spermidine synthase/saccharopine dehydrogenase [Filobasidiella neoformans]
252 - CP02-S2-032-325-E07-UE.F	(AP004258) putative ubiquitin-specific protein [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	286 - CP02-S2-028-272-H10-UE.F	(AJ315576) putative arabinase [Ustilago maydis]
253 - CP02-S2-032-325-F07-UE.F	(AP004258) putative ubiquitin-specific protein [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	287 - CP02-S2-032-304-E06-UE.F	(AJ315576) putative arabinase [Ustilago maydis]
254 - CP02-S2-032-346-H11-UE.F	(AP001514) BH2055~unknown conserved protein in others [Bacillus halodurans]	289 - CP02-S2-028-249-A06-UE.F	(AL355927) related to protein arginine N-methyltransferase 3 [Neurospora crassa]
255 - CP02-S2-033-319-G02-UE.F	agCP9072 [Anopheles gambiae str. PEST]	291 - CP02-S2-000-053-F10-UC.F	(Z98531) probable aminotransferase (EC 2.6.1.-) [Schizosaccharomyces pombe]
257 - CP02-S1-000-027-B11-UC.F	(U53872) Mkh1 [Schizosaccharomyces pombe]	294 - CP02-S2-000-179-A08-UE.F	(U40030) Hypothetical protein T13C2.4 [Caenorhabditis elegans]
258 - CP02-S2-000-033-A10-UE.F	(AP002845) putative protein kinase [Oryza sativa]	295 - CP02-S2-000-194-C09-UE.F	(Z71496) ORF YNL220w [Saccharomyces cerevisiae]
259 - CP02-S2-028-250-C01-UE.F	(U53872) Mkh1 [Schizosaccharomyces pombe]	296 - CP02-S2-032-299-A05-UE.F	(AE005606) yieM gene product [Escherichia coli O157:H7 EDL933]
260 - CP02-S2-032-304-E02-UE.F	(Z98763) mitogen-activated protein kinase wis4; MAP kinase kinase [Schizosaccharomyces pombe]	297 - CP02-S2-032-338-D01-UE.F	(AL031579) aspartyl-trna synthetase, cytoplasmic [Schizosaccharomyces pombe]
261 - CP02-S2-000-105-G07-EM.R	alpha-aminoacyl-tRNA synthetase [Lysobacter lactamgenus]	298 - CP02-S2-033-312-B10-UE.F	(AE008693) aspartokinase I, bifunctional enzyme N-terminal is aspartokinase I and C-terminal is homoserine dehydrogenase I [Salmonella typhimurium LT2]
262 - CP02-S2-000-105-G07-EM.S	alpha-aminoacyl-tRNA synthetase [Lysobacter lactamgenus]	299 - CP02-S2-028-246-D04-UE.F	putative oxidoreductase [Schizosaccharomyces pombe]
263 - CP02-S2-000-125-E11-EM.R	(AF401238) cystathionine gamma-lyase [Neurospora crassa]	300 - CP02-S2-028-237-F06-UE.G	putative aldo/keto reductase [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi]
264 - CP02-S2-000-039-B04-UC.F	phenylalanine ammonium lyase [Amanita muscaria]	301 - CP02-S2-028-237-F06-UE.F	putative aldo/keto reductase [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi]
265 - CP02-S2-028-250-C07-UE.F	phenylalanine ammonium lyase [Amanita muscaria]	303 - CP02-S2-000-128-G04-UE.F	putative oxidoreductase [Schizosaccharomyces pombe]
266 - CP02-S2-000-136-B03-UE.F	(AF388395) manganese superoxide dismutase [Phanerochaete chrysosporium]	305 - CP02-S2-000-077-G04-UC.F	putative aldo/keto reductase [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi]
267 - CP02-S2-000-173-E03-UC.F	(AF114848) manganese-superoxide dismutase precursor [Paxillus involutus]	306 - CP02-S3-000-116-D10-UC.F	(AE009278) acyl-CoA dehydrogenase [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
268 - CP02-S2-000-066-A04-UC.F	probable transcription factor - fission yeast (Schizosaccharomyces pombe) (fragment)	307 - CP02-S2-000-211-H12-UE.F	extracellular beta glucosidase
270 - CP02-S2-000-182-B08-UE.F	(AF019630) pathogenicity protein [Magnaporthe grisea]	309 - CP02-S2-001-054-B11-UC.R	cellulose-binding beta-glucosidase [Phanerochaete chrysosporium]
273 - CP02-S2-028-249-G03-UE.F	(AE003821) lswi gene product [Drosophila melanogaster]	311 - CP02-S2-000-027-F09-UE.F	(AL021746) phosphatidylserine decarboxylase proenzyme 1 precursor [Schizosaccharomyces pombe]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
312 - CP02-S2-000-027-F09-UE.R	(AL021746) phosphatidylserine decarboxylase proenzyme 1 precursor [Schizosaccharomyces pombe]	358 - CP02-S2-000-188-A04-UC.F	(Z71507) ORF YNL231c [Saccharomyces cerevisiae]
313 - CP02-S2-000-080-E04-UC.F	pyruvate carboxylase [Aspergillus niger]	359 - CP02-S2-000-219-A09-UE.F	(BC006466) Unknown (protein for MGC:2310) [Homo sapiens]
314 - CP02-S2-000-081-D03-UC.F	3-methylcrotonoyl-CoA carboxylase beta subunit [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]	360 - CP02-S2-028-250-F08-UE.F	(AE007780) Intracellular protease/amidase related enzyme (ThiJ family) [Clostridium acetobutylicum]
315 - CP02-S2-000-103-H05-UE.F	pyruvate carboxylase [Schizosaccharomyces pombe]	361 - CP02-S2-028-267-A09-UE.F	(BC006466) Unknown (protein for MGC:2310) [Homo sapiens]
316 - CP02-S2-000-107-C09-UE.R	UDP-xylose synthase [Cryptococcus neoformans var. neoformans]	363 - CP02-S3-000-103-C02-UC.F	(U15635) unknown intracellular protein [Mus musculus]
317 - CP02-S2-000-126-E01-UE.F	(AP003597) glycine cleavage system protein P [Nostoc sp. PCC 7120]	364 - CP02-S3-033-456-D02-UC.F	similar to hepatocellular carcinoma-associated antigen HCA557b [Homo sapiens]
319 - CP02-S2-000-145-B09-CL.F	(AP001516) pyruvate carboxylase [Bacillus halodurans]	365 - CP02-S3-000-104-E10-UC.F	(Z50094) Exocellobiohydrolase (1-4 beta cellobiohydrolase) [Agaricus bisporus]
320 - CP02-S2-000-145-B09-CL.G	(AP001516) pyruvate carboxylase [Bacillus halodurans]	366 - CP02-S2-032-295-G01-UE.F	(AE013015) Cellulase M and related proteins [Thermoanaerobacter tengcongensis]
325 - CP02-S2-000-172-C01-UE.F	(AL132662) pyruvate carboxylase [Streptomyces coelicolor A3(2)]	367 - CP02-S2-028-287-H10-UE.F	(L11080) beta-1, 4-xylanase [Cellulomonas fimi]
326 - CP02-S2-025-298-C08-UC.F	related to malate dehydrogenase (oxaloacetate-decarboxylating) (NADP+) [Neurospora crassa]	368 - CP02-S2-028-241-G12-UE.F	(AB030819) endoglucanase 1 [Robillarda sp. Y-20]
327 - CP02-S2-028-272-A09-UE.F	(AF112302) phosphoribosylaminoimidazole carboxylase [Filobasidiella neoformans]	369 - CP02-S2-000-218-D06-UE.F	(Z83310) endo-1, 4-beta xylanase [Agaricus bisporus]
328 - CP02-S2-032-299-D07-UE.F	CDH1-D [Gallus gallus]	370 - CP02-S2-000-204-F07-UC.F	(L24520) cellobiohydrolase [Agaricus bisporus]
329 - CP02-S2-032-301-A03-UE.F	rRNA intron-encoded homing endonuclease [Oryza sativa]	371 - CP02-S2-000-111-H07-EM.R	(AF244369) cellobiohydrolase [Lentinula edodes]
330 - CP02-S2-032-303-G12-UE.F	(AE003779) CG2118 gene product [Drosophila melanogaster]	372 - CP02-S2-000-065-D12-UC.F	(U25129) cellobiohydrolase [Cochliobolus carbonum]
331 - CP02-S2-032-314-B09-UE.F	(XM_115722) similar to malonyl-CoA decarboxylase (EC 4.1.1.9) - goose [Homo sapiens]	373 - CP02-S2-000-025-G06-EM.R	beta-glucosidase [Aspergillus niger]
332 - CP02-S2-032-314-B12-UE.F	(XM_115722) similar to malonyl-CoA decarboxylase (EC 4.1.1.9) - goose [Homo sapiens]	374 - CP02-S2-000-053-H07-UC.F	cellulose-binding beta-glucosidase [Phanerochaete chrysosporium]
333 - CP02-S2-032-330-C06-UE.F	(XM_115722) similar to malonyl-CoA decarboxylase (EC 4.1.1.9) - goose [Homo sapiens]	375 - CP02-S2-000-108-B05-UE.F	(M86356) cellulose-growth-specific protein [Agaricus bisporus]
334 - CP02-S2-033-313-F06-UE.F	(XM_115722) similar to malonyl-CoA decarboxylase (EC 4.1.1.9) - goose [Homo sapiens]	378 - CP02-S2-000-118-D11-UE.F	beta-glucosidase [Aspergillus niger]
337 - CP02-S3-000-109-C04-UC.G	(AP003597) glycine cleavage system protein P [Nostoc sp. PCC 7120]	379 - CP02-S2-000-142-D05-UE.F	(M86356) cellulose-growth-specific protein [Agaricus bisporus]
338 - CP02-S2-000-038-A01-EM.R	(AL646063) CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN [Ralstonia solanacearum]	380 - CP02-S3-000-067-F03-UC.G	beta-glucosidase [Volvariella volvacea]
339 - CP02-S2-000-042-A01-EM.R	(AL646063) CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN [Ralstonia solanacearum]	381 - CP02-S1-000-015-C08-EM.F	putativechitin synthase enzyme [Agaricus bisporus]
340 - CP02-S2-000-114-E04-UE.F	carnitine acetyl transferase [Magnaporthe grisea]	382 - CP02-S2-000-036-D04-EM.R	putativechitin synthase enzyme [Agaricus bisporus]
341 - CP02-S2-000-115-E04-UE.F	carnitine acetyl transferase [Magnaporthe grisea]	388 - CP02-S2-000-195-A12-UE.F	Chs5p [Candida albicans]
342 - CP02-S2-000-115-H01-UE.F	carnitine acetyl transferase [Magnaporthe grisea]	389 - CP02-S2-000-217-H06-UE.F	chitinase [Aspergillus nidulans]
344 - CP02-S2-000-187-A05-UE.F	(U87812) DIF-1-like protein [Drosophila grimshawi]	390 - CP02-S2-000-219-H05-UE.F	endochitinase [Amanita muscaria]
345 - CP02-S2-000-194-H12-UC.F	(AF023156) carnitine acetyl transferase FacC [Emericella nidulans]	391 - CP02-S2-008-125-A11-UC.R	chitin deacetylase [Schizophyllum commune]
346 - CP02-S2-028-245-C11-UE.R	(XM_015875) hypothetical protein FLJ11808 [Homo sapiens]	392 - CP02-S2-025-300-G07-UC.F	class IV chitin synthase [Ustilago maydis]
347 - CP02-S2-028-261-A05-UE.F	mCAC [Mus musculus]	393 - CP02-S2-028-260-H01-UE.F	chitinase [Aspergillus nidulans]
348 - CP02-S2-028-262-H03-UE.F	(AL646063) CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN [Ralstonia solanacearum]	394 - CP02-S2-028-267-H05-UE.F	endochitinase [Amanita muscaria]
349 - CP02-S3-000-109-G01-UC.G	CG4743-PA [Drosophila melanogaster]	395 - CP02-S2-028-284-H06-UE.F	chitinase [Aspergillus nidulans]
351 - CP02-S2-000-229-D08-UE.F	(AF139985) catalase B [Ajellomyces capsulatus]	396 - CP02-S2-032-300-G01-UE.F	chitin synthase [Blumeria graminis]
352 - CP02-S2-032-300-C12-UE.F	(U00006) catalase hydroperoxidase I [Escherichia coli]	397 - CP02-S2-032-300-G02-UE.F	chitin synthase [Blumeria graminis]
353 - CP02-S1-000-008-B02-UE.F	(AL355933) related to MSP1 protein [Neurospora crassa]	398 - CP02-S2-032-330-B01-UE.F	(D10157) chitinase [Rhizopus microsporus var. oligosporus]
354 - CP02-S1-000-014-G03-UE.F	(AK001852) unnamed protein product [Homo sapiens]	399 - CP02-S2-033-326-D09-UE.F	class V chitin synthase
355 - CP02-S2-000-035-D10-UE.F	(AL355932) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	401 - CP02-S3-000-118-A08-UC.G	putativechitin synthase enzyme [Agaricus bisporus]
356 - CP02-S2-000-035-D12-UE.F	(AE007780) Intracellular protease/amidase related enzyme (ThiJ family) [Clostridium acetobutylicum]	402 - CP02-S3-000-118-F08-UC.G	class IV chitin synthase [Ustilago maydis]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
403 - CP02-S2-033-312-C06-UE.F	(AC008047) F2K11.18 [Arabidopsis thaliana]	441 - CP02-S2-000-122-D02-UE.F	feruloyl esterase [Aspergillus niger]
404 - CP02-S2-033-312-D06-UE.F	Potential copper-transporting ATPase 3 (AP003010) similar to coenzyme a synthetase [Mesorhizobium loti]	442 - CP02-S2-000-125-F11-UE.F	feruloyl esterase [Aspergillus niger]
405 - CP02-S2-000-201-F10-UE.F	(AP003010) similar to coenzyme a synthetase [Mesorhizobium loti]	443 - CP02-S2-000-125-F11-UE.R	feruloyl esterase [Aspergillus niger] (AJ238716) acetyl xylan esterase [Ruminococcus flavefaciens]
406 - CP02-S1-000-005-E07-UC.F	(AC018727) putative 4-coumarate CoA ligase [Oryza sativa]	446 - CP02-S2-000-169-B12-UC.F	(AC007234) F1E22.3 [Arabidopsis thaliana]
407 - CP02-S2-028-246-F12-UE.F	No Hits Found	447 - CP02-S2-000-175-H01-UE.F	(AF331757) acetyl xylan esterase [Aspergillus ficuum]
409 - CP02-S2-000-115-C09-UE.F	cutinase gene palindrome-binding protein	448 - CP02-S2-000-178-D02-UC.F	(AC007234) F1E22.3 [Arabidopsis thaliana]
410 - CP02-S2-000-121-H09-UE.F	cutinase transcription factor 1 alpha [Nectria haematococca mpVI]	449 - CP02-S2-000-204-A05-UE.F	data source:MGD, source key:MGI:95421, evidence:ISS~esterase 10~putative [Mus musculus] (X89714) rhamnogalacturonan acetyesterase [Aspergillus aculeatus]
411 - CP02-S2-000-125-A02-UE.R	cutinase transcription factor 1	450 - CP02-S2-008-125-F08-UC.R	(L05493) thioesterase B [Anas platyrhynchos] (D83659) homology to ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase [Schizosaccharomyces pombe]
412 - CP02-S2-026-282-E08-UC.F	(AL356173) hypothetical protein [Neurospora crassa]	451 - CP02-S2-028-256-E03-UE.F	(AY065083) unknown protein [Arabidopsis thaliana]
413 - CP02-S2-032-330-H05-UE.F	cysteine synthase [Schizosaccharomyces pombe]	452 - CP02-S2-028-260-C03-UE.F	(AY065083) unknown protein [Arabidopsis thaliana]
414 - CP02-S2-000-119-A11-UE.F	putative cysteine synthase [Schizosaccharomyces pombe]	453 - CP02-S2-028-260-G05-UE.F	(AC025294) tRNA-guanine transglycosylase, putative [Arabidopsis thaliana]
415 - CP02-S2-000-132-A05-UE.F	hypothetical protein; protein id: At1g55880.1 [Arabidopsis thaliana]	454 - CP02-S2-028-269-A05-UE.F	(AY084730) ubiquitin-specific protease UBP6, putative [Arabidopsis thaliana]
416 - CP02-S2-000-176-F02-UE.F	hypothetical protein; protein id: At1g55880.1 [Arabidopsis thaliana]	455 - CP02-S2-028-279-H01-UE.F	(AC025294) tRNA-guanine transglycosylase, putative [Arabidopsis thaliana]
417 - CP02-S2-000-222-E01-UC.F	(AL591787) HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN [Sinorhizobium meliloti]	456 - CP02-S2-033-325-D07-UE.F	(AC025294) tRNA-guanine transglycosylase, putative [Arabidopsis thaliana]
418 - CP02-S2-028-246-H10-UE.F	(U32517) Ydr331wp [Saccharomyces cerevisiae]	457 - CP02-S2-033-325-E07-UE.F	(AB033086) KIAA1260 protein [Homo sapiens]
419 - CP02-S2-028-249-E07-UE.F	(AE003808) BcDNA:LD21177 gene product [Drosophila melanogaster]	458 - CP02-S2-033-325-F07-UE.F	(AF216214) alpha-esterase 6 [Drosophila buzzatii]
420 - CP02-S2-028-262-D10-UE.F	(AL627283) helicase related protein [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi]	459 - CP02-S3-000-084-H07-UC.F	(AF352031) necrosis-inducing protein NPP1 [Phytophthora parasitica]
421 - CP02-S2-032-290-D05-UE.F	(AL109739) trna isopentenyltransferase [Schizosaccharomyces pombe]	460 - CP02-S3-000-104-B11-UC.F	(AF352031) necrosis-inducing protein NPP1 [Phytophthora parasitica]
422 - CP02-S3-032-470-C03-UC.F	(AY052312) AT4g20760/F21C20_110 [Arabidopsis thaliana]	461 - CP02-PF-012-001-E05-UE.R	(AE003497) CG12398 gene product [Drosophila melanogaster]
423 - CP02-S1-000-027-E05-UC.F	developmental regulator medusa [Emericella nidulans]	462 - CP02-PF-012-001-E06-UE.R	methylenetetrahydrofolate dehydrogenase [nad+] [Schizosaccharomyces pombe]
424 - CP02-S2-000-101-D09-EM.R	(NM_102866) unknown protein [Arabidopsis thaliana]	463 - CP02-S2-000-104-F11-UE.R	(AJ272267) choline dehydrogenase [Homo sapiens]
426 - CP02-S2-032-290-F03-UE.F	(X96770) P2614 product [Saccharomyces cerevisiae]	464 - CP02-S2-000-131-F11-UE.F	(Z69382) RNA elicase [Saccharomyces cerevisiae]
427 - CP02-S2-028-256-A03-UE.F	(AB016222) KES1 [Schizosaccharomyces pombe]	465 - CP02-S2-000-150-D05-UC.F	(AP002996) probable dehydrogenase [Mesorhizobium loti]
428 - CP02-S2-000-026-D02-UE.F	(Z99759) putative delta-sterol c-methyltransferase [Schizosaccharomyces pombe]	466 - CP02-S2-000-211-G04-UE.F	(AP002996) probable dehydrogenase [Mesorhizobium loti]
429 - CP02-S2-000-024-G01-UE.F	(Z74067) ORF YDL019c [Saccharomyces cerevisiae]	467 - CP02-S2-000-220-G03-UC.F	(AF143814) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus pulmonarius]
430 - CP02-S2-000-071-C01-UC.F	(U69674) squalene epoxidase [Candida albicans]	468 - CP02-S2-000-221-G03-UC.F	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]
431 - CP02-S2-000-229-B08-UC.F	(Z97211) probable involvement in ergosterol synthesis [Schizosaccharomyces pombe]	469 - CP02-S2-000-242-F01-UC.F	(AF169016) versicolorin B synthase [Aspergillus parasiticus]
432 - CP02-S3-000-125-C06-UC.F	hypothetical protein [Neurospora crassa]	470 - CP02-S2-022-242-F01-UC.F	(AF352031) necrosis-inducing protein NPP1 [Phytophthora parasitica]
433 - CP02-S1-000-004-B10-UC.F	(AJ294903) cyclin dependent kinase C [Lycopersicon esculentum]	471 - CP02-S2-025-300-G11-UC.F	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]
434 - CP02-S1-000-017-F01-EM.R	(AL513466) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	472 - CP02-S2-028-234-B08-UE.F	(AL032684) p68-like protein. [Schizosaccharomyces pombe]
435 - CP02-S2-000-023-E04-UE.F	feruloyl esterase [Aspergillus niger]	473 - CP02-S2-028-248-F01-UE.R	(AL132948) predicted using Genefinder~preliminary prediction [Caenorhabditis elegans]
436 - CP02-S2-000-030-A05-UE.R	(Z46729) unknown [Saccharomyces cerevisiae]	474 - CP02-S2-028-258-C09-UE.F	beta-glucosidase 2 precursor
437 - CP02-S2-000-080-E07-UC.G	(AJ315954) carboxylesterase [Bacillus licheniformis]	475 - CP02-S3-000-075-D07-UC.F	(U07801) serine/threonine/tyrosine kinase [Ustilago maydis]
438 - CP02-S2-000-081-A01-UC.F	(AL033497) nucleotide phosphodiesterase [Candida albicans]	476 - CP02-S2-000-077-F03-UC.F	(AJ238718) metalloendopeptidase (AMMEP) [Armillaria mellea]
439 - CP02-S2-000-100-A11-EM.R	hypothetical protein [Neurospora crassa]	477 - CP02-S2-000-121-C04-UE.R	
440 - CP02-S2-000-106-D10-UE.F		478 - CP02-S2-000-128-F07-CL.F	
		479 - CP02-S2-000-187-B10-UC.F	

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
484 - CP02-S2-028-267-H08-UE.F	(AL049766) dJ686N3.2.1 (KIAA1404 protein, isoform 1) [Homo sapiens]	530 - CP02-S2-000-218-B11-UE.F	(AP002996) probable dehydrogenase [Mesorhizobium loti]
485 - CP02-S2-032-302-G02-UE.F	(AJ238718) metalloendopeptidase (AMMEP) [Armillaria mellea]	531 - CP02-S2-000-226-H07-UE.F	(AL034563) neutral trehalase [Schizosaccharomyces pombe]
486 - CP02-S2-032-330-A11-UE.F	(AF099904) neutral protease I [Aspergillus oryzae]	532 - CP02-S2-000-227-D02-UE.F	(U87804) GidA [Caulobacter crescentus] [Caulobacter vibrioides]
487 - CP02-S2-000-187-D10-UE.F	(U40753) Prf1 [Ustilago maydis]	533 - CP02-S2-024-294-G09-UC.F	(AE007646) D-xylose-proton symporter [Clostridium acetobutylicum]
488 - CP02-S2-028-261-D10-UE.F	(U40753) Prf1 [Ustilago maydis]	534 - CP02-S2-024-294-H03-UC.F	(AJ243324) cytochrome b2 [Kluyveromyces lactis]
489 - CP02-S1-000-015-A06-UE.F	(AY072325) UDP-glucose:flavonoid 3-o-glucosyltransferase-like protein [Arabidopsis thaliana]	535 - CP02-S2-024-297-F05-UC.F	(AJ243324) cytochrome b2 [Kluyveromyces lactis]
490 - CP02-S1-000-015-A08-EM.F	Putative UDP-glucose glucosyltransferase [Arabidopsis thaliana]	536 - CP02-S2-025-299-C10-UC.F	(AJ001431) L-mandelate dehydrogenase [Rhodotorula graminis]
491 - CP02-S2-000-100-D03-UE.F	hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]	537 - CP02-S2-026-293-G09-UC.F	(AE007646) D-xylose-proton symporter [Clostridium acetobutylicum]
492 - CP02-S2-000-106-B06-UE.R	(Z73025) ORF YGR240c [Saccharomyces cerevisiae]	538 - CP02-S2-026-293-H03-UC.F	(AJ243324) cytochrome b2 [Kluyveromyces lactis]
493 - CP02-S2-000-106-H06-UE.R	(Z73025) ORF YGR240c [Saccharomyces cerevisiae]	539 - CP02-S2-028-244-A04-UE.F	(AL353819) related to carboxylic acid transport protein JEN1 [Neurospora crassa]
494 - CP02-S2-000-124-D07-UE.F	ORF YJL155c [Saccharomyces cerevisiae]	540 - CP02-S2-028-245-A07-UE.R	(AF321521) Nrg1 [Candida albicans]
495 - CP02-S2-000-112-G11-UE.R	(U19027) Ylr228cp [Saccharomyces cerevisiae]	541 - CP02-S2-028-245-C02-UE.R	glucose oxidase [Aspergillus niger]
496 - CP02-S2-033-319-G01-UE.F	(U61530) gibberellin biosynthesis-related [Gibberella fujikuroi]	542 - CP02-S2-028-246-G03-UE.F	(U00060) Hxt4p: High-affinity glucose transporter [Saccharomyces cerevisiae]
497 - CP02-S3-000-120-D04-UC.F	YBR1015 gene [Saccharomyces cerevisiae]	543 - CP02-S2-028-246-H01-UE.F	(AJ001431) L-mandelate dehydrogenase [Rhodotorula graminis]
498 - CP02-S3-000-123-C01-UC.F	carboxypeptidase C (EC 3.4.16.5) - barley	544 - CP02-S2-028-260-E05-UE.F	(AL353819) related to carboxylic acid transport protein JEN1 [Neurospora crassa]
499 - CP02-S1-000-008-B11-UE.F	(X16051) L-lactate:cytochrome c oxidoreductase preprotein [Pichia anomala]	545 - CP02-S2-028-262-B06-UE.F	(AP004330) putative short chain alcohol dehydrogenase [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
500 - CP02-S2-000-028-C09-UE.F	(M90351) SPX19 [Saccharomyces cerevisiae]	546 - CP02-S2-028-264-C06-UE.F	(AF353616) Cro r II [Cronartium ribicola]
501 - CP02-S2-000-028-C11-UE.F	(Z71479) ORF YNL202w [Saccharomyces cerevisiae]	547 - CP02-S2-028-264-F11-UE.F	(AF405548) UDP-glucose dehydrogenase Uxs2p [Filobasidiella neoformans]
502 - CP02-S2-000-031-E06-UE.F	(AF173377) sugar transporter-like protein [Pichia angusta]	548 - CP02-S2-028-271-F08-UE.F	(U92792) general transcriptional repressor Tup1 [Schizosaccharomyces pombe]
503 - CP02-S2-000-045-E01-UC.F	(AJ248288) 3-OXOACYL-[ACYL-CARRIER-PROTEIN] REDUCTASE [Pyrococcus abyssi]	549 - CP02-S2-028-280-C02-UE.F	(X16051) L-lactate:cytochrome c oxidoreductase preprotein [Pichia anomala]
504 - CP02-S2-000-104-E10-UE.F	(Z83828) AmMst-1 [Amanita muscaria]	550 - CP02-S2-028-280-H05-UE.F	(AL353819) related to carboxylic acid transport protein JEN1 [Neurospora crassa]
505 - CP02-S2-000-104-E10-UE.R	(Z83828) AmMst-1 [Amanita muscaria]	551 - CP02-S2-032-295-G06-UE.F	(M24077) glucokinase [Saccharomyces cerevisiae]
506 - CP02-S2-000-107-C09-UE.F	(AF385328) UDP-glucuronic acid decarboxylase Uxs1p [Filobasidiella neoformans]	552 - CP02-S2-032-331-F11-UE.F	(M24077) glucokinase [Saccharomyces cerevisiae]
507 - CP02-S2-000-107-F06-UE.F	(AE007053) oxidoreductase [Mycobacterium tuberculosis CDC1551]	553 - CP02-S2-032-331-H11-UE.F	(M24077) glucokinase [Saccharomyces cerevisiae]
512 - CP02-S2-000-120-H10-UE.F	(X16051) L-lactate:cytochrome c oxidoreductase preprotein [Pichia anomala]	554 - CP02-S2-032-341-A07-UE.F	(M24077) glucokinase [Saccharomyces cerevisiae]
513 - CP02-S2-000-125-E10-UE.F	UDP-glucose pyrophosphorylase [Pyrus pyrifolia]	555 - CP02-S2-032-341-B02-UE.F	(M24077) glucokinase [Saccharomyces cerevisiae]
514 - CP02-S2-000-126-B10-EM.R	(AY051709) LD24756p [Drosophila melanogaster]	556 - CP02-S2-032-342-B03-UE.F	(U33057) Ydr516cp; CAI: 0.18 [Saccharomyces cerevisiae]
515 - CP02-S2-000-127-A12-UE.F	(AJ242990) trehalose-6-phosphate phosphatase [Candida albicans]	557 - CP02-S2-032-342-G12-UE.F	(U33057) Ydr516cp; CAI: 0.18 [Saccharomyces cerevisiae]
516 - CP02-S2-000-127-A12-UE.G	(AJ242990) trehalose-6-phosphate phosphatase [Candida albicans]	558 - CP02-S2-032-344-H02-UE.F	(X03482) HKA (aa 1-486) [Saccharomyces cerevisiae]
517 - CP02-S2-000-133-E11-UE.F	ORF YGL236c [Saccharomyces cerevisiae]	559 - CP02-S2-032-345-H08-UE.F	(D50617) hexokinase A [Saccharomyces cerevisiae]
518 - CP02-S2-000-140-D07-UE.F	sol1 family protein [Schizosaccharomyces pombe]	560 - CP02-S2-032-346-E11-UE.F	(M24077) glucokinase [Saccharomyces cerevisiae]
520 - CP02-S2-000-150-B06-CL.F	(AF405548) UDP-glucose dehydrogenase Uxs2p [Filobasidiella neoformans]	561 - CP02-S2-032-346-G10-UE.F	(D50617) hexokinase A [Saccharomyces cerevisiae]
527 - CP02-S2-000-166-F12-UC.F	(U59433) 3-ketoacyl-acyl carrier protein reductase [Bacillus subtilis]	562 - CP02-S2-032-346-G11-UE.F	(D50617) hexokinase A [Saccharomyces cerevisiae]
528 - CP02-S2-000-175-F08-UC.F	(AJ010725) trehalose-6-phosphate synthase [Pichia angusta]	564 - CP02-S2-033-318-A11-UE.F	(AJ344068) putative reductase protein [Pseudomonas putida]
529 - CP02-S2-000-193-H02-UE.F	(AF385328) UDP-glucuronic acid decarboxylase Uxs1p [Filobasidiella neoformans]	567 - CP02-S3-000-099-B10-UC.F	(AJ243431) putative dTDP-glucose-4, 6-dehydratase [Acinetobacter lwofii]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
568 - CP02-S3-000-108-A03-UC.F	Chain B, Glucose Oxidase From <i>Penicillium Amagasakiense</i>	607 - CP02-S2-000-229-H09-UE.F	mannitol-specific phosphotransferase [<i>Bacillus subtilis</i>] (AE003592) CG4365 gene product [alt 2] [<i>Drosophila melanogaster</i>]
569 - CP02-S3-000-108-H08-UC.F	glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase [<i>Emericella nidulans</i>] (AE003527) CG4573 gene product [<i>Drosophila melanogaster</i>]	611 - CP02-S1-000-022-E09-EM.R	(AL592382) probable nuclear migration protein [<i>Pneumocystis carinii</i>]
570 - CP02-S2-000-115-C05-UE.R	(L27817) FluG [<i>Emericella nidulans</i>]	612 - CP02-S1-000-022-G05-EM.R	arylsulfatase (EC 3.1.6.1) - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
572 - CP02-S2-000-195-A01-UE.F	(AB008845) NADH dependent Glutamate Synthase [<i>Oryza sativa</i>]	613 - CP02-S2-000-023-D09-UE.F	(AL023518) haloacid dehalogenase-like hydrolase [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]
573 - CP02-S2-022-265-C04-UC.F	(L27817) FluG [<i>Emericella nidulans</i>]	614 - CP02-S2-000-023-F04-EM.R	(AL023518) haloacid dehalogenase-like hydrolase [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]
574 - CP02-S2-028-283-E09-UE.F	(AP002564) glutamate-ammonia-ligase adenylyltransferase [<i>Escherichia coli</i> O157:H7]	615 - CP02-S2-000-027-F03-EM.R	(AB009410) beta-glucosidase [<i>Bacillus</i> sp.]
575 - CP02-S2-032-295-H03-UE.F	(Z72909) ORF YGR124w [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	616 - CP02-S2-000-039-G01-UC.F	related to glucan 1, 3-beta-glucosidase precursor [imported] - <i>Neurospora crassa</i>
576 - CP02-S3-000-099-A07-UC.F	phosphoribosylformylglycinamide synthase [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]	617 - CP02-S2-000-065-A04-UC.F	(AK004912) data source:SPTR, source key:Q9NX48, evidence:ISS~homolog to CDNA FLJ20442 FIS, CLONE KAT04828~putative [<i>Mus musculus</i>]
577 - CP02-S1-000-022-H06-EM.R	(AC025783) putative zinc finger protein [<i>Oryza sativa</i>]	618 - CP02-S2-000-068-A09-UC.F	conserved hypothetical protein [<i>Thermotoga maritima</i>]
578 - CP02-S2-000-030-D10-UE.R	serine hydroxymethyltransferase [<i>Leishmania major</i>]	619 - CP02-S2-000-076-C02-UC.F	(AE007171) epoxide hydrolase [<i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551]
579 - CP02-S2-000-065-H02-UC.F	DnaJ homolog [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]	620 - CP02-S2-000-101-F08-EM.R	(AL132991) putative lysozyme precursor [<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)]
580 - CP02-S2-000-110-C01-UE.F	(X82030) chloroplast RNA binding protein [<i>Phaseolus vulgaris</i>]	621 - CP02-S2-000-104-H05-UE.F	putative agmatinase precursor [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]
581 - CP02-S2-000-122-A12-UE.R	(U40565) Ade1p [<i>Yarrowia lipolytica</i>]	622 - CP02-S2-000-123-E02-UE.F	urea amidolyase-related protein [<i>Caulobacter crescentus</i> CB15]
583 - CP02-S2-000-150-H03-UC.F	(AJ243305) 5'-phosphoribosyl-5-aminoimidazole synthetase [<i>Rhizobium leguminosarum</i>]	623 - CP02-S2-000-124-C12-UE.F	(AF166258) epoxide hydrolase [<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>]
584 - CP02-S2-000-152-C06-CL.F	(AE003543) CG10361 gene product [<i>Drosophila melanogaster</i>]	624 - CP02-S2-000-129-F01-UE.F	related to enoyl-CoA-hydratase [<i>Neurospora crassa</i>]
586 - CP02-S2-000-185-B05-UE.F	ORF YGR061c [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	625 - CP02-S2-000-131-C05-UE.F	beta-xylosidase [<i>Emericella nidulans</i>]
587 - CP02-S2-000-187-F05-UE.F	ORF YGR061c [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	626 - CP02-S2-000-137-H02-UE.F	(AF421954) cellobiohydrolase precursor [<i>Thermoascus aurantiacus</i>]
588 - CP02-S2-028-261-F05-UE.F	ORF YGR061c [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	627 - CP02-S2-000-139-D03-UE.F	(AL446004) possible CGI-83 protein [<i>Leishmania major</i>]
589 - CP02-S2-032-330-B05-UE.F	gephyrin-like protein [<i>Emericella nidulans</i>]	628 - CP02-S2-000-140-B09-EM.R	(AE011082) conserved hypothetical protein [<i>Methanosarcina acetivorans</i> str. C2A] [<i>Methanosarcina acetivorans</i> C2A]
590 - CP02-S3-000-038-F08-UC.F	(AL161691) elongation factor G [<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)]	630 - CP02-S2-000-150-D08-CL.F	(AE005109) Vng2239c [<i>Halobacterium</i> sp. NRC-1]
591 - CP02-S3-000-064-A12-UC.F	glycine hydroxymethyltransferase-like protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	635 - CP02-S2-000-173-H01-UE.F	(AE005109) Vng2239c [<i>Halobacterium</i> sp. NRC-1]
592 - CP02-S2-000-106-B02-UE.F	(AL583907) possible fumarate reductase flavoprotein subunit [<i>Leishmania major</i>]	636 - CP02-S2-000-175-B05-UC.F	conserved hypothetical protein [<i>Thermotoga maritima</i>]
595 - CP02-S2-000-126-A12-EM.R	(AJ132791) putative septin [<i>Pyrenopeziza brassicae</i>]	637 - CP02-S2-000-179-G08-UC.F	arylsulfatase (EC 3.1.6.1) - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
596 - CP02-S2-000-127-F05-UE.F	metalloprotease MEP1 [<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>]	638 - CP02-S2-000-192-H04-UE.F	(AE005945) xylosidase/arabinosidase [<i>Caulobacter crescentus</i>] [<i>Caulobacter vibrioides</i>]
597 - CP02-S2-000-127-F05-UE.G	metalloprotease MEP1 [<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>]	639 - CP02-S2-000-193-C03-UE.F	(X60779) amylase [<i>Bacillus circulans</i>]
598 - CP02-S2-000-150-E08-UC.F	(AJ277539) She9 protein [<i>Candida albicans</i>]	640 - CP02-S2-000-204-G09-UC.F	(AJ276219) putative epoxide hydrolase [<i>Stigmatella aurantiaca</i>]
600 - CP02-S2-024-294-F07-UC.F	(BC000595) DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 17 (72kD) [<i>Homo sapiens</i>]	641 - CP02-S2-000-215-B04-UE.F	coded for by <i>A. thaliana</i> cDNA T04215~strong similarity to similar to epoxide hydrolases~Contains Aminoacyl-transfer RNA synthetases class-II signatures AA89-98~contains EST gb:T04215 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]
601 - CP02-S2-026-293-F07-UC.F	(BC000595) DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 17 (72kD) [<i>Homo sapiens</i>]	608 - CP02-S3-000-038-E01-UC.F	(AE004315) sensor histidine kinase/response regulator [<i>Vibrio cholerae</i>]
602 - CP02-S2-028-279-B01-UE.F	(AJ290951) cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit [<i>Botryotinia fuckeliana</i>]	609 - CP02-S2-032-299-B06-UE.F	(AJ276219) putative epoxide hydrolase [<i>Stigmatella aurantiaca</i>]
604 - CP02-S2-000-131-E02-UE.F	His1p	610 - CP02-S1-000-015-B07-EM.F	(Z99531) putative ubiquitin ligase [<i>Schizosaccharomyces pombe</i>]
605 - CP02-S2-000-131-E03-UE.F	His1p	642 - CP02-S2-000-218-F09-UE.F	(AF439322) beta-glucosidase 1 [<i>Talaromyces emersonii</i>]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
643 - CP02-S2-000-227-A11-UE.F	urea amidolyase-related protein [Caulobacter crescentus CB15]	682 - CP02-S2-000-176-G03-UC.F	(M91369) ketoreductase [Aspergillus parasiticus]
644 - CP02-S2-022-241-H06-UC.F	beta-glucosidase 6 [Coccidioides immitis]	683 - CP02-S2-000-102-F07-EM.R	ORF YOL151w [Saccharomyces cerevisiae]
645 - CP02-S2-022-271-C06-UC.F	(AL603642) putative epoxide hydrolase protein [Sinorhizobium meliloti]	684 - CP02-S2-000-102-G01-UE.F	(BC005898) splicing factor, arginine/serine-rich (transformer 2 Drosophila homolog) 10 [Homo sapiens]
646 - CP02-S2-022-271-C10-UC.F	(U89492) arylsulfatase [Neurospora crassa]	687 - CP02-S2-000-122-A10-UE.F	(Z28324) ORF YKR099w [Saccharomyces cerevisiae]
647 - CP02-S2-024-294-C06-UC.F	(Z50095) CEL4b mannanase [Agaricus bisporus]	688 - CP02-S2-000-122-B02-UE.F	(AL096678) dJ122O8.4 (KIAA0301) [Homo sapiens]
648 - CP02-S2-026-293-C06-UC.F	(Z50095) CEL4b mannanase [Agaricus bisporus]	689 - CP02-S2-000-132-C04-UE.F	omega-3 fatty acid desaturase, chloroplast precursor; 37125-39292 [Arabidopsis thaliana]
649 - CP02-S2-028-246-D08-UE.R	(AJ276219) putative epoxide hydrolase [Stigmatella aurantiaca]	690 - CP02-S2-000-135-C09-UE.F	RBTMx2 [Onchocerca mykiss]
650 - CP02-S2-028-249-F05-UE.F	acyl-peptide hydrolase-like [Arabidopsis thaliana]	695 - CP02-S2-000-227-A06-UE.F	(AL031743) putative GTPase protein [Schizosaccharomyces pombe]
651 - CP02-S2-032-290-A10-UE.F	(U00006) matches PS00743: Beta-lactamases class B signature 1, and PS00225: Crystallins beta and gamma [Escherichia coli]	696 - CP02-S2-028-258-B03-UE.F	(BC003836) Unknown (protein for MGC:6336) [Mus musculus]
652 - CP02-S2-032-296-A12-UE.F	glucoamylase [Lentinula edodes]	697 - CP02-S2-000-023-A12-CL.F	(AF010257) cytochrome c oxidase subunit 1 [Agrocybe aegerita]
653 - CP02-S2-032-296-F12-UE.F	(Z72678) ORF YGL156w [Saccharomyces cerevisiae]	699 - CP02-S2-000-102-H12-UE.R	(AK025641) unnamed protein product [Homo sapiens]
654 - CP02-S2-032-299-E07-UE.F	(D90858) similar to [SwissProt Accession Number P54548] [Escherichia coli]	700 - CP02-S2-000-104-G10-UE.F	histone H3 [Mortierella alpina]
655 - CP02-S2-032-300-C09-UE.F	(AE009136) epoxide hydrolase [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]	701 - CP02-S2-000-112-H03-UE.F	(X56339) GLYCINAMIDE RIBONUCLEOTIDE SYNTHETASE-AMINOIMIDAZOLE RIBONUCLEOTIDE SYNTHETASE-GLYCINAMIDE RIBONUCLEOTIDE TRANSFORMYLASE [Gallus gallus]
656 - CP02-S2-032-305-H09-UE.F	(Z49273) unknown [Saccharomyces cerevisiae]	703 - CP02-S2-000-218-B01-UE.F	(U11583) Member of the ATP-binding transport protein family (ABC transporters) [Saccharomyces cerevisiae]
657 - CP02-S2-032-330-E03-UE.F	putative prolyl aminopeptidase [Aspergillus nidulans]	704 - CP02-S2-025-299-A06-UC.F	(AE005694) oxidoreductase iron/ascorbate family [Caulobacter crescentus] [Caulobacter vibrioides]
658 - CP02-S2-032-335-E05-UE.F	(AE013819) cytoplasmic L-asparaginase I [Yersinia pestis KIM]	705 - CP02-S2-028-245-G09-UE.F	(Z49212) Atm1p [Saccharomyces cerevisiae]
659 - CP02-S2-032-337-G10-UE.F	(U61696) aminopeptidase B [Rattus norvegicus]	706 - CP02-S2-028-245-G09-UE.R	(Z49212) Atm1p [Saccharomyces cerevisiae]
660 - CP02-S2-032-346-F02-UE.F	guanine deaminase (Gda) related protein [imported] - Neurospora crassa	707 - CP02-S2-028-252-D02-UE.F	(AL66988) related to high-affinity iron permease [Neurospora crassa]
665 - CP02-S3-000-082-B12-UC.F	(AF331043) putative phthalate ester hydrolase [Arthrobacter keyseri]	708 - CP02-S2-028-262-C09-UE.F	(AL390189) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]
666 - CP02-S3-000-082-F10-UC.F	putative GTP cyclohydrolase; riboflavin biosynthesis [Schizosaccharomyces pombe]	709 - CP02-S2-033-319-A02-UE.F	(AL049559) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
667 - CP02-S3-000-108-B02-UC.F	putative hydrolase (putative secreted protein) [Streptomyces coelicolor A3(2)]	710 - CP02-S2-033-319-A08-UE.F	(AE009247) ABC transporter, substrate binding protein [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
668 - CP02-S3-000-112-A06-UC.G	conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	711 - CP02-S2-000-160-D05-UC.G	Ich1 [Coprinopsis cinerea]
669 - CP02-S3-000-129-H12-UC.F	(Z49809) unknown [Saccharomyces cerevisiae]	712 - CP02-S2-033-328-C08-UE.F	laccase 4 [Pleurotus sajor-caju]
670 - CP02-PF-011-001-C09-UE.F	(AJ225061) POH2 hydrophobin [Pleurotus ostreatus]	713 - CP02-S2-028-284-C01-UE.F	laccase 2 [basidiomycete C30]
671 - CP02-PF-011-001-C10-UE.F	(AJ225061) POH2 hydrophobin [Pleurotus ostreatus]	714 - CP02-S2-000-220-D05-UE.F	laccase
672 - CP02-PF-011-001-D04-UE.F	(Y10627) CoH1 [Coprinopsis cinerea]	715 - CP02-S2-000-217-C01-UE.F	(D84235) laccase [Coriolus versicolor]
673 - CP02-S1-000-004-C01-UC.F	(AJ225061) POH2 hydrophobin [Pleurotus ostreatus]	716 - CP02-S2-000-181-F06-UE.F	(AF118269) laccase 3 precursor [Coprinus cinereus]
674 - CP02-S2-000-133-D04-UE.F	(AJ225061) POH2 hydrophobin [Pleurotus ostreatus]	717 - CP02-S2-000-178-D01-UE.F	laccase [Lentinula edodes]
675 - CP02-S2-028-248-B05-UE.R	(Y10627) CoH1 [Coprinopsis cinerea]	719 - CP02-S2-000-138-D12-EM.R	(AF153610) laccase [Lentinula edodes]
677 - CP02-S2-032-308-E12-UE.F	(Y10627) CoH1 [Coprinopsis cinerea]	720 - CP02-S2-000-134-H07-UE.F	laccase precursor [Ceriporiopsis subvermispota]
679 - CP02-S3-000-100-A10-UC.F	(AJ225061) POH2 hydrophobin [Pleurotus ostreatus]	721 - CP02-S2-000-131-B01-UE.F	laccase [Lentinula edodes]
680 - CP02-S2-000-023-G10-UE.F	(M91369) ketoreductase [Aspergillus parasiticus]	722 - CP02-S2-000-125-D07-UE.F	laccase [basidiomycete PM1]
681 - CP02-S2-000-023-G12-UE.R	(M91369) ketoreductase [Aspergillus parasiticus]	723 - CP02-S2-000-049-E08-UC.F	laccase 2 [Lentinula edodes]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
724 - CP02-S2-000-042-A03-UC.F	laccase 2 precursor [Coprinus cinereus]	764 - CP02-S2-028-282-D12-UE.F	(AL451018) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]
725 - CP02-S2-000-039-C09-UC.F	(AB035411) laccase 2' [Lentinula edodes]	765 - CP02-S2-032-346-G01-UE.F	Trimethyllysine dioxygenase (Epsilon-trimethyllysine 2-oxoglutarate dioxygenase) (TML-alpha-ketoglutarate dioxygenase) (TML hydroxylase) (TML dioxygenase) (TMLD) (AP003011) cytochrome-c oxidase assembly protein [Mesorhizobium loti]
726 - CP02-S2-000-076-B09-UC.F	isoleucyl-tRNA synthetase [Synechocystis sp. PCC 6803]	766 - CP02-S2-028-258-B05-UE.F	(AL035247) ion transporter; proton/calcium exchanger [Schizosaccharomyces pombe]
730 - CP02-S2-000-138-H08-UE.F	chromosome scaffold protein	767 - CP02-S2-000-201-D07-UE.F	(AF053229) calcium/proton exchanger [Neurospora crassa]
732 - CP02-S2-000-222-D10-UC.F	(Z35838) ORF YBL076c [Saccharomyces cerevisiae]	768 - CP02-S2-028-249-H01-UE.F	(BC000126) sir2-like 5 [Homo sapiens]
733 - CP02-S2-028-257-B10-UE.F	(Z71380) ORF YNL104c [Saccharomyces cerevisiae]	769 - CP02-S2-000-108-C07-UE.R	(BC000126) sir2-like 5 [Homo sapiens]
734 - CP02-S2-028-275-B01-UE.F	(AL031528) coiled coil protein [Schizosaccharomyces pombe]	770 - CP02-S2-000-108-G11-UE.R	(AL034382) mating-type locus and centromeric silencing protein Ctr4p [Schizosaccharomyces pombe]
735 - CP02-S2-032-335-E04-UE.F	(NC_003995) hypothetical protein predicted by GeneMark [Bacillus anthracis A2012] [Bacillus anthracis str. A2012] (AY056261) putative leucyl-tRNA synthetase [Arabidopsis thaliana]	771 - CP02-S2-000-117-D06-UE.F	(BC000126) sir2-like 5 [Homo sapiens]
736 - CP02-S2-032-474-C08-UC.F	adenylate cyclase [Emericella nidulans]	772 - CP02-S2-000-121-D09-UE.R	(BC000126) sir2-like 5 [Homo sapiens]
737 - CP02-S2-033-323-F11-UE.F	adenylate cyclase [Emericella nidulans]	773 - CP02-S2-000-138-B07-EM.R	mating type protein MAT1-1-3 [Gibberella zeae]
738 - CP02-S3-000-082-D10-UC.F	isoleucyl-tRNA synthetase [Synechocystis sp. PCC 6803] (AE005765) leucine aminopeptidase-related protein [Caulobacter crescentus] [Caulobacter vibrioides]	775 - CP02-S2-028-245-E08-UE.F	(AF419248) histone H3 methyltransferase DIM-5 [Neurospora crassa]
739 - CP02-S3-000-099-E02-UC.F	(AB071861) putative glutathione S-transferase [Gibberella fujikuroi]	776 - CP02-S2-028-245-E08-UE.R	(AF419248) histone H3 methyltransferase DIM-5 [Neurospora crassa]
741 - CP02-S2-000-194-C05-UE.F	(AE003537) CG10133 gene product [Drosophila melanogaster]	777 - CP02-S2-028-246-H03-UE.R	(AF419248) histone H3 methyltransferase DIM-5 [Neurospora crassa]
742 - CP02-S2-000-106-E12-UE.R	(L46807) SPO14 gene product [Saccharomyces cerevisiae]	778 - CP02-S2-028-266-C10-UE.F	(AF072683) drug resistance protein MdrA [Aspergillus nidulans]
743 - CP02-S2-000-107-F08-UE.F	phospholipase B [Kluyveromyces lactis]	779 - CP02-S3-000-105-D09-UC.F	(Z48784) unknown [Saccharomyces cerevisiae]
745 - CP02-S2-000-122-G07-UE.F	putative esterase/lipase; no apparent S. cerevisiae ortholog [Schizosaccharomyces pombe]	780 - CP02-S2-000-105-B09-UE.R	(Z71635) ORF YNR020c [Saccharomyces cerevisiae]
747 - CP02-S2-000-189-B05-UE.F	putative esterase/lipase; no apparent S. cerevisiae ortholog [Schizosaccharomyces pombe]	783 - CP02-S2-025-300-B10-UC.F	(Z30424) metalloprotease (MEP) [Aspergillus fumigatus]
748 - CP02-S2-000-193-C07-UE.F	cholesterol esterase - yeast (Candida rugosa) (AE007126) lipase/esterase [Mycobacterium tuberculosis CDC1551]	784 - CP02-S2-028-251-D06-UE.F	(BC009653) puromycin-sensitive aminopeptidase [Mus musculus]
750 - CP02-S2-008-125-H07-UC.R	(AL646059) PUTATIVE LIPASE/ESTERASE PROTEIN [Ralstonia solanacearum]	786 - CP02-S3-000-118-G09-UC.G	glycoprotein endopeptidase-like protein. [Schizosaccharomyces pombe]
751 - CP02-S2-022-271-D05-UC.F	(AE006932) esterase/lipase, putative [Mycobacterium tuberculosis CDC1551]	787 - CP02-S2-000-219-C05-UE.F	(NM_115421) tetrahydrofolylpolyglutamate synthase precursor - like protein [Arabidopsis thaliana]
752 - CP02-S2-022-306-E09-UC.F	triacylglycerol lipase (EC 3.1.1.3) 5 precursor - yeast (Candida rugosa)	788 - CP02-S2-032-306-D01-UE.F	met-10 gene [Neurospora crassa]
753 - CP02-S2-028-230-H07-UE.F	putative esterase/lipase; no apparent S. cerevisiae ortholog [Schizosaccharomyces pombe]	789 - CP02-S2-032-306-F09-UE.F	(U00061) Yhr070wp [Saccharomyces cerevisiae]
754 - CP02-S2-028-262-B04-UE.F	putative esterase/lipase; no apparent S. cerevisiae ortholog [Schizosaccharomyces pombe]	790 - CP02-S1-000-008-B01-UE.F	(AJ418060) cyclopentanone 1, 2-monooxygenase [Comamonas testosteroni]
755 - CP02-S2-028-262-B05-UE.F	Lipase (E.C.3.1.1.3) (Triacylglycerol Hydrolase)	791 - CP02-S1-000-015-D07-EM.F	(AJ418060) cyclopentanone 1, 2-monooxygenase [Comamonas testosteroni]
756 - CP02-S2-028-282-C07-UE.F	lipase I (AL021897) hypothetical protein Rv1104 [Mycobacterium tuberculosis H37Rv]	792 - CP02-S2-000-031-H06-UE.R	(U60175) PcpB [Sphingobium chlorophenolicum]
757 - CP02-S2-032-338-D04-UE.F	(AC009398) F20B24.17 [Arabidopsis thaliana]	793 - CP02-S2-000-034-H02-UE.F	putative monooxygenase [Streptomyces coelicolor A3(2)]
758 - CP02-S2-000-102-F11-EM.R	(AL021897) hypothetical protein Rv1104 [Mycobacterium tuberculosis H37Rv]	794 - CP02-S2-000-037-H08-UE.F	(AJ007932) oxygenase [Streptomyces argillaceus]
759 - CP02-S2-000-100-E02-UE.R	(BC013377) Unknown (protein for MGC:16461) [Homo sapiens]	795 - CP02-S2-000-038-A06-UE.R	(AB010395) ALK8 [Yarrowia lipolytica]
760 - CP02-S2-000-102-F11-EM.S	(U03472) acetylcholinesterase [Gallus gallus]	796 - CP02-S2-000-038-H08-UE.F	(AJ007932) oxygenase [Streptomyces argillaceus]
761 - CP02-S2-000-103-D01-UE.R	Yhr075cp [Saccharomyces cerevisiae]	798 - CP02-S2-000-118-G02-UE.F	protein with similarity to flavin-containing monooxygenases and to mammalian dimethylalanine monooxygenases [Schizosaccharomyces pombe]
762 - CP02-S1-000-004-F12-UC.R		806 - CP02-S2-000-159-A05-UC.F	Unknown protein [Arabidopsis thaliana]
763 - CP02-S2-000-076-D07-UC.F		808 - CP02-S2-000-167-G09-UE.F	(X83926) salicylate 1-monooxygenase [Pseudomonas putida]
		809 - CP02-S2-000-187-B05-UE.F	(AB010714) salicylate hydroxylase [Pseudomonas putida]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
810 - CP02-S2-000-204-C10-UC.F	(AF257215) cyclohexanone monooxygenase 2 [Brevibacterium sp. HCU]	856 - CP02-S2-032-341-A12-UE.F	(AL133171) putative oxidoreductase [Streptomyces coelicolor A3(2)]
811 - CP02-S2-000-205-B07-UE.F	(AF039534) salicylate hydroxylase [Pseudomonas stutzeri]	857 - CP02-S2-033-292-F05-UE.F	(U00027) Oye2p: NAD(P)H oxidoreductase (Old Yellow Enzyme) [Saccharomyces cerevisiae]
812 - CP02-S2-000-220-C01-UC.F	(AF003013) salicylate hydroxylase [Mesorhizobium loti]	858 - CP02-S2-033-321-C07-UE.F	(AB048606) isoamyl alcohol oxidase [Aspergillus oryzae]
813 - CP02-S2-000-220-G07-UC.F	(AF173167) probable 6-hydroxylase [Pseudomonas alcaligenes]	860 - CP02-S3-000-075-B01-UC.F	(AF143814) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus pulmonarius]
814 - CP02-S2-000-221-C01-UC.F	(AP003013) salicylate hydroxylase [Mesorhizobium loti]	861 - CP02-S3-000-099-C07-UC.F	(AL353820) related to 6-HYDROXY-D-NICOTINE OXIDASE [Neurospora crassa]
815 - CP02-S2-000-221-G07-UC.F	(AF173167) probable 6-hydroxylase [Pseudomonas alcaligenes]	862 - CP02-S3-000-104-B10-UC.F	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]
816 - CP02-S2-022-273-B11-UC.F	(AF065892) cytochrome P450 [Homarus americanus]	863 - CP02-S3-000-113-H09-UC.F	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]
817 - CP02-S2-028-245-E04-UE.F	(AL450450) putative monooxygenase [Streptomyces coelicolor]	864 - CP01-S0-000-010-F10-UC.F	(AF143814) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus pulmonarius]
818 - CP02-S2-028-254-F06-UE.F	trichodiene oxygenase [Fusarium sporotrichoides]	865 - CP02-S2-000-038-H05-UE.R	(L25759) estrogen-binding protein [Candida albicans]
819 - CP02-S2-032-348-A02-UE.F	(AF235139) cytochrome P450 1B [Danio rerio]	866 - CP02-S2-000-080-H02-UC.G	(AF143814) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus pulmonarius]
825 - CP02-S3-000-104-F02-UC.F	(AL450450) putative monooxygenase [Streptomyces coelicolor]	867 - CP02-S2-000-110-A04-UE.F	(Z73527) ORF YPL171c [Saccharomyces cerevisiae]
826 - CP02-S3-000-105-A11-UC.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	868 - CP02-S2-000-110-A04-UE.R	(Z73527) ORF YPL171c [Saccharomyces cerevisiae]
827 - CP02-S3-000-113-G06-UC.F	GF14omega isoform	869 - CP02-S2-000-127-A05-UE.F	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]
828 - CP02-S2-000-137-B02-UE.F	(AP003592) ORF_ID:alr3119-WD repeat protein with Ser/Thr protein kinase motif [Nostoc sp. PCC 7120]	870 - CP02-S2-000-127-A07-UE.F	(AF275346) alcohol oxidase; AOX1 [Cladosporium fulvum]
829 - CP02-S2-000-141-C12-UE.F	(AF239178) lon proteinase [Paracoccidioides brasiliensis]	871 - CP02-S2-000-127-A07-UE.G	(AF275346) alcohol oxidase; AOX1 [Cladosporium fulvum]
831 - CP02-S2-000-209-B11-UE.F	(AB015471) receptor-like protein kinase [Arabidopsis thaliana]	872 - CP02-S2-000-128-G10-UE.F	(AB016519) manganese peroxidase [Pleurotus ostreatus]
832 - CP02-S2-028-245-H06-UE.R	(Y09819) 19S regulatory cap region of 26S protease subunit 2 [Schizosaccharomyces pombe]	873 - CP02-S2-000-135-F05-UE.F	DyP [Galactomyces geotrichum]
833 - CP02-S2-028-245-H06-UE.F	(U10399) Yhr027cp [Saccharomyces cerevisiae]	874 - CP02-S2-000-138-A06-UE.F	(X88897) cellobiose dehydrogenase [Phanerochaete chrysosporium]
834 - CP02-PF-011-001-A08-UE.F	(AF511649) necrosis-inducing-like protein [Phytophthora sojae]	875 - CP02-S2-000-141-H11-UE.F	(AF141330) alcohol oxidase 2 [Pichia methanolica]
835 - CP02-S2-028-241-D05-UE.F	(AC011717) putative helicase; 55525-51977 [Arabidopsis thaliana]	876 - CP02-S2-028-264-C03-UE.F	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]
836 - CP02-S2-033-327-B06-UE.F	(AAAB01008859) agCP1644 [Anopheles gambiae str. PEST]	879 - CP02-S2-000-152-H05-CL.F	old yellow enzyme NADPH oxidase
837 - CP02-S3-000-113-H05-UC.F	(AF179598) 25 kDa protein elicitor [Pythium aphanidermatum]	882 - CP02-S2-000-176-E11-UC.F	(AB038708) uricase [Tolypocladium inflatum]
838 - CP02-S3-000-113-H11-UC.G	(AF320326) necrosis-inducing peptide [Phytophthora sojae]	883 - CP02-S2-000-204-D10-UC.F	lysyl oxidase [Pichia pastoris]
839 - CP02-S3-033-406-G11-UC.F	(AF511649) necrosis-inducing protein [Phytophthora sojae]	884 - CP02-S2-022-272-C06-UC.F	(AL670008) related to isoamyl alcohol oxidase [Neurospora crassa]
840 - CP02-S3-000-108-E07-UC.F	nitrate reductase [Hebeloma cylindrosporum]	885 - CP02-S2-000-148-G07-CL.F	(AJ001301) Acyl-CoA oxidase 3 [Yarrowia lipolytica]
841 - CP02-S2-000-124-D01-UE.F	(AL591787) PUTATIVE GLYCEROL TRINITRATE (GTN) REDUCTASE PROTEIN [Sinorhizobium meliloti]	886 - CP02-S2-000-178-C04-UE.F	(AL451013) related to beta-1, 3 exoglucanase precursor [Neurospora crassa]
845 - CP02-S2-032-304-H07-UE.F	(AE000244) orf, hypothetical protein [Escherichia coli K12]	887 - CP02-S2-000-214-H09-UE.F	(X85113) polyphenol oxidase [Agaricus bisporus]
846 - CP02-S2-028-233-H02-UE.F	(Z71689) ORF YNR074c [Saccharomyces cerevisiae]	888 - CP02-S2-022-241-B06-UC.F	(AL353820) related to 6-HYDROXY-D-NICOTINE OXIDASE [Neurospora crassa]
847 - CP02-S2-000-139-F11-UE.F	(Z73100) putative flavoprotein [Schizosaccharomyces pombe]	889 - CP02-S2-000-229-A06-UE.F	(AL353820) related to 6-HYDROXY-D-NICOTINE OXIDASE [Neurospora crassa]
848 - CP02-S2-000-138-H07-UE.F	(Z97210) probable serine/threonine-protein kinase (EC 2.7.1.-) [Schizosaccharomyces pombe]	890 - CP02-S2-000-218-D02-UE.F	(AF143814) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus pulmonarius]
850 - CP02-S2-000-220-B12-UE.F	(Z46921) unknown [Saccharomyces cerevisiae]	891 - CP02-S2-028-254-E04-UE.F	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]
851 - CP02-S2-028-280-H09-UE.F	(AF272849) nitrogen regulatory protein OTam [Aspergillus oryzae]	893 - CP02-S2-000-037-H05-UE.F	(AJ238149) 12-oxo-phytodienoate reductase [Arabidopsis thaliana]
853 - CP02-S3-000-082-H07-UC.F	(U10556) Yhr074wp [Saccharomyces cerevisiae]	894 - CP02-S2-000-038-H05-UE.F	(AJ238149) 12-oxo-phytodienoate reductase [Arabidopsis thaliana]
854 - CP02-S2-028-275-H09-UE.F	(X85113) polyphenol oxidase [Agaricus bisporus]	897 - CP02-S2-000-150-C12-UC.F	(AJ242551) 12-oxophytodienoate reductase [Lycopersicon esculentum]
855 - CP02-S2-032-309-A11-UE.F	(AF064069) aryl-alcohol oxidase precursor [Pleurotus eryngii]	898 - CP02-S2-000-150-D11-CL.F	(AE004851) xenobiotic reductase [Pseudomonas aeruginosa]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
899 - CP02-S2-032-338-B03-UE.F	(Z49811) putative NADPH dehydrogenase [Schizosaccharomyces pombe]	937 - CP02-S2-028-287-A06-UE.F	(Z99164) putative pheromone response and mating-type determination protein [Schizosaccharomyces pombe]
900 - CP02-S2-000-178-B04-UC.F	(AC003970) Similar to 12-oxophytodienoate reductase, gij2765083 and old-yellow-enzyme homolog, gij2232254 [Arabidopsis thaliana]	938 - CP02-S3-000-075-G02-UC.F	(Y18559) hypothetical protein [Pichia farinosa]
901 - CP02-S2-000-032-H11-EM.R	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	939 - CP02-S3-000-108-A12-UC.F	putative isp4 protein [Arabidopsis thaliana]
902 - CP02-S2-000-033-B06-UE.F	cytochrome P450 monooxygenase alk5, P450 alk5=CYP52A8 gene product {alkane-inducible} [Candida tropicalis, ATCC 750, Peptide, 517 aa]	940 - CP02-S1-000-014-E08-UE.F	probable Inositol polyphosphate phosphatase - fission yeast [Schizosaccharomyces pombe]
903 - CP02-S2-000-076-H11-UC.F	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]	941 - CP02-S2-000-032-H12-EM.R	(AK022904) unnamed protein product [Homo sapiens]
905 - CP02-S2-000-142-C04-UE.F	(AB024038) cytochrome P450 [Arabidopsis thaliana]	942 - CP02-S2-000-035-B11-UE.F	(D89215) similar to Saccharomyces cerevisiae transaldolase, SWISS-PROT Accession Number P15019 [Schizosaccharomyces pombe]
906 - CP02-S2-000-160-H09-UC.G	(AL355930) related to cytochrome P450 [Neurospora crassa]	943 - CP02-S2-000-080-D09-UC.G	pyruvate carboxylase [Aspergillus niger]
907 - CP02-S2-000-197-F04-UC.F	related to cytochrome p450 [Neurospora crassa]	944 - CP02-S2-000-081-E12-UC.F	glycerol-3-phosphate dehydrogenase [Boletus edulis]
908 - CP02-S2-000-205-D05-UE.F	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	945 - CP02-S2-000-105-G09-UE.F	probable TRANSKETOLASE [Neurospora crassa]
909 - CP02-S2-024-297-H05-UC.F	related to cytochrome p450 [imported] - Neurospora crassa	946 - CP02-S2-000-109-E02-UE.F	putative sphingoid base-phosphate phosphatase [Schizosaccharomyces pombe]
910 - CP02-S2-028-264-F07-UE.F	trichodiene oxygenase [Fusarium sporotrichoides]	947 - CP02-S2-000-110-C08-UE.F	squalene synthase [Ustilago maydis]
911 - CP02-S2-033-324-G05-UE.F	cytochrome P450 [Coprinopsis cinerea]	948 - CP02-S2-000-119-D02-UE.F	related to PHO87 protein [Neurospora crassa]
912 - CP02-S2-033-326-A07-UE.F	cytochrome P450 [Myrothecium roridum]	949 - CP02-S2-000-125-B10-UE.F	sec17-like protein [Coprinus cinereus]
914 - CP02-S3-000-064-H02-UC.F	(AE003610) Cyp6a16 gene product [Drosophila melanogaster]	950 - CP02-S2-000-125-B10-UE.R	N-acetylglucosamine-phosphate mutase [Candida albicans]
915 - CP02-S3-000-067-A05-UC.G	related to trichodiene oxygenase cytochrome P450 [Neurospora crassa]	953 - CP02-S2-000-127-H02-UE.F	(U01017) Fab1p [Saccharomyces cerevisiae]
916 - CP02-S3-000-112-B10-UC.G	cytochrome P450 [Agaricus bisporus]	954 - CP02-S2-000-127-H02-UE.G	(U01017) Fab1p [Saccharomyces cerevisiae]
917 - CP02-S3-000-113-G02-UC.F	cytochrome P450 [Coriolus versicolor]	955 - CP02-S2-000-132-G10-UE.F	(Z46729) putative inosine-5'-monophosphate dehydrogenase [Saccharomyces cerevisiae]
918 - CP02-S2-028-283-B08-UE.F	(AF019630) pathogenicity protein [Magnaporthe grisea]	962 - CP02-S2-000-152-E04-CL.F	(L08964) aryl-alcohol dehydrogenase [Phanerochaete chrysosporium]
919 - CP02-S2-029-333-A05-UC.F	(Z98551) hypothetical protein, PFC0730w [Plasmodium falciparum 3D7]	965 - CP02-S2-000-162-E12-CL.G	(AJ298078) indole-glycerol phosphate synthase; phosphoribosyl anthranilate isomerase; anthranilate synthase [Agaricus bisporus]
920 - CP02-S2-000-071-A01-UC.F	(AJ276331) pectate lyase A [Aspergillus niger]	966 - CP02-S2-000-166-A07-UE.F	(AL157917) putative gtp cyclohydrolase; possible riboflavin biosynthesis [Schizosaccharomyces pombe]
921 - CP02-S2-000-174-C09-UE.F	(AJ276331) pectate lyase A [Aspergillus niger]	967 - CP02-S2-000-176-H01-UE.F	(AF196975) inosine 5'-monophosphate dehydrogenase [Pneumocystis carinii]
922 - CP02-S2-000-220-F04-UE.F	(U13049) pectate lyase C [Fusarium solani f. sp. pisi]	968 - CP02-S2-000-178-B06-UC.F	(AL157734) pentafunctional arom polypeptide [includes 3-dehydroquininate synthase](ec 4.6.1.3); 3-dehydroquininate dehydratase [Schizosaccharomyces pombe]
923 - CP02-S2-028-238-C05-UE.F	(AJ276331) pectate lyase A [Aspergillus niger]	969 - CP02-S2-000-178-E12-UC.F	(AB060641) phosphate transporter [Pholiota nameko]
924 - CP02-S2-028-238-C05-UE.G	(AJ276331) pectate lyase A [Aspergillus niger]	970 - CP02-S2-000-183-C06-UC.F	(L08964) aryl-alcohol dehydrogenase [Phanerochaete chrysosporium]
925 - CP02-S3-000-118-A12-UC.G	probable aminopeptidase [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	971 - CP02-S2-000-191-H09-UC.F	(U32782) conserved hypothetical protein [Haemophilus influenzae Rd]
928 - CP02-S2-000-037-C05-UE.F	pheromone receptor [Coprinopsis cinerea]	972 - CP02-S2-000-195-A12-UC.F	(AL034563) hypothetical 48.1 kd protein. [Schizosaccharomyces pombe]
929 - CP02-S2-000-038-C05-UE.F	pheromone receptor [Coprinopsis cinerea]	973 - CP02-S2-000-205-F01-UE.F	(AJ276430) putative pyruvate carboxylase [Agaricus bisporus]
931 - CP02-S2-000-133-A02-UE.F	unknown protein [Arabidopsis thaliana]	974 - CP02-S2-000-217-H09-UE.F	(Z97209) probable phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase [Schizosaccharomyces pombe]
932 - CP02-S2-000-142-B07-UE.F	(AE003591) Ide gene product [Drosophila melanogaster]	975 - CP02-S2-000-223-G02-UC.F	ORF YKR053c [Saccharomyces cerevisiae]
935 - CP02-S2-000-223-A06-UE.F	(Z99164) putative pheromone response and mating-type determination protein [Schizosaccharomyces pombe]	976 - CP02-S2-001-054-A12-UC.R	(AE000446) 2-oxo-3-deoxygalactonate 6-phosphate aldolase and galactonate dehydratase [Escherichia coli K12]
936 - CP02-S2-028-275-E12-UE.F	(AL033396) regulator of chromosome condensation [Candida albicans]	977 - CP02-S2-021-248-D11-UC.F	(AF203695) golgi nucleoside diphosphatase [Saccharomyces cerevisiae]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
978 - CP02-S2-025-298-E02-UC.F	(U01017) Fab1p [Saccharomyces cerevisiae]	1011 - CP02-S2-000-102-F07-EM.S	ORF YOL151w [Saccharomyces cerevisiae]
979 - CP02-S2-025-300-C12-UC.F	(AB056468) CaNAG2 [Candida albicans]	1012 - CP02-S2-032-309-F05-UE.F	PIG16 [Uromyces fabae]
980 - CP02-S2-028-234-F06-UE.F	Guanyl-specific ribonuclease Po1 (RNase Po1)	1013 - CP02-S2-032-301-H12-UE.F	(D10154) chitinase [Rhizopus niveus]
981 - CP02-S2-028-246-G10-UE.R	geranylgeranyl pyrophosphate synthase [Mucor circinelloides f. lusitanicus]	1014 - CP02-S3-000-122-E04-UC.F	(AJ304793) flavin containing polyamine oxidase [Hordeum vulgare]
982 - CP02-S2-028-249-E06-UE.F	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase [Cryptococcus curvatus]	1015 - CP02-S2-028-282-E06-UE.F	(AF188621) fluconazole resistance protein [Candida albicans]
983 - CP02-S2-028-249-E09-UE.F	(X99228) G9160 [Saccharomyces cerevisiae]	1016 - CP02-S2-028-244-H09-UE.R	(AB006704) polyamine oxidase [Arabidopsis thaliana]
984 - CP02-S2-028-250-G12-UE.F	geranylgeranyl pyrophosphate synthase [Mucor circinelloides f. lusitanicus]	1017 - CP02-S2-028-248-A01-UE.F	(AL023589) MFS drug efflux transporter of unknown specificity [Schizosaccharomyces pombe]
985 - CP02-S2-028-250-H11-UE.F	geranylgeranyl pyrophosphate synthase [Mucor circinelloides f. lusitanicus]	1018 - CP02-S2-025-300-H05-UC.F	(AL132664) MFS multidrug efflux transporter [Schizosaccharomyces pombe]
986 - CP02-S2-028-251-C11-UE.F	(AF186474) mannitol-1-phosphate dehydrogenase [Cryptococcus neoformans var. neoformans]	1019 - CP02-S2-021-247-A08-UC.F	(AJ419770) SCR1 protein [Debaryomyces occidentalis]
987 - CP02-S2-028-252-C03-UE.F	(BC020728) Unknown (protein for MGC:22534) [Homo sapiens]	1020 - CP02-S1-000-032-H10-UC.F	(AF040378) yhdG homolog [Serratia marcescens]
988 - CP02-S2-028-271-H10-UE.F	(AL121783) putative nucleotide phosphatase [Schizosaccharomyces pombe]	1023 - CP02-S2-000-174-E07-UE.F	(L48982) exo-alpha 1, 4-polygalacturonase [Cochliobolus carbonum]
989 - CP02-S2-028-284-H09-UE.F	(Z97209) probable phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase [Schizosaccharomyces pombe]	1024 - CP02-S2-001-054-D05-UC.R	(AL121815) putative mitochondrial inner membrane protease subunit [Schizosaccharomyces pombe]
990 - CP02-S2-032-293-D04-UE.F	(AL023287) putative GTP CYCLOHYDROLASE II [Schizosaccharomyces pombe]	1025 - CP02-S2-000-039-E02-UC.F	(AL583917) polyketide synthase [Mycobacterium leprae]
991 - CP02-S2-032-300-B07-UE.F	(AE005986) phosphomethylpyrimidine kinase [Caulobacter crescentus CB15]	1026 - CP02-S2-000-104-G06-UE.F	(AE008939) short chain dehydrogenase dehydrogenases [Agrobacterium tumefaciens str. C58 (U. Washington)]
992 - CP02-S2-032-300-H09-UE.F	(AE012502) dihydroneopterin aldolase [Xanthomonas campestris pv. campestris str. ATCC 33913]	1027 - CP02-S2-000-110-F05-UE.F	Polyketide synthase pksE (short-chain alcohol dehydrogenase, acyl-carrier-protein S-malonyltransferase, 3-oxoacyl-(acyl-carrier-protein) synthase I domains) [Clostridium acetobutylicum]
993 - CP02-S2-032-305-A11-UE.F	(AF196975) inosine 5'-monophosphate dehydrogenase [Pneumocystis carinii]	1029 - CP02-S2-000-187-C07-UE.F	(AF151533) polyketide synthase [Nodulisporium sp. ATCC74245]
994 - CP02-S2-032-333-E02-UE.F	phosphate permease	1030 - CP02-S2-028-232-G07-UE.F	(U78289) ty lactone synthase starter module and modules 1 & 2 [Streptomyces fradiae]
995 - CP02-S2-032-338-A01-UE.F	(BC004574) RNA cyclase homolog [Mus musculus]	1031 - CP02-S2-028-252-B06-UE.F	(AL450450) putative monooxygenase [Streptomyces coelicolor]
996 - CP02-S2-032-338-A12-UE.F	possible geranylgeranyl diphosphate synthase [Leishmania major]	1032 - CP02-S2-028-261-C07-UE.F	(AF151533) polyketide synthase [Nodulisporium sp. ATCC74245]
997 - CP02-S2-033-291-D12-UE.F	(AJ310697) Phytase [Agroclybe pediades]	1033 - CP02-S2-033-319-H05-UE.F	(AE000243) orf, hypothetical protein [Escherichia coli K12]
998 - CP02-S2-033-316-F05-UE.F	diphosphomevalonate decarboxylase [Schizosaccharomyces pombe]	1034 - CP02-S2-028-245-B07-UE.F	(AC037197) Putative copia-type polyprotein [Oryza sativa]
999 - CP02-S2-033-324-F02-UE.F	(AC006532) putative glutamate decarboxylase [Arabidopsis thaliana]	1035 - CP02-S2-028-244-A08-UE.F	(AB028613) retroelement pol polyprotein-like [Arabidopsis thaliana]
1002 - CP02-S3-000-099-A05-UC.F	CHORISMATE SYNTHASE (5-ENOLPYRUVYLSHIKIMATE-3-PHOSPHATE PHOSPHOLYASE)	1036 - CP02-S2-028-239-D11-UE.F	pol protein [Glomerella cingulata]
1003 - CP02-S3-000-099-H12-UC.F	(AJ310697) Phytase [Agroclybe pediades]	1037 - CP02-S1-000-022-C11-EM.R	(AL031630) predicted using Genefinder~contains similarity to Pfam domain: PF00098 (Zinc finger, CCHC class), Score=21.0, E-value=0.0031, N=1 [Caenorhabditis elegans]
1004 - CP02-S3-000-100-D08-UC.F	(AE001862) mannose-1-phosphate guanylyltransferase [Deinococcus radiodurans]	1038 - CP02-S2-000-100-D09-UE.R	(AC091732) Putative polyprotein [Oryza sativa]
1005 - CP02-S3-000-105-E06-UC.F	putative N-acetylglucosamine-phosphate mutase [Schizosaccharomyces pombe]	1039 - CP02-S2-000-100-F06-UE.F	No Hits Found
1006 - CP02-S3-000-118-C06-UC.G	similar to yeast SCT1 suppressor of a choline transport mutant [Schizosaccharomyces pombe]	1040 - CP02-S2-000-100-G10-UE.R	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1008 - CP02-S2-000-187-E07-UC.F	[phosphorylase] phosphatase (EC 3.1.3.17) 55K chain - African clawed frog (fragment)	1041 - CP02-S2-000-101-A04-UE.R	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]
1009 - CP02-S2-022-242-C03-UC.F	(AB010105) trehalose synthase [Grifola frondosa]	1042 - CP02-S2-000-106-F05-UE.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]
1010 - CP02-S2-000-103-H01-UE.F	ORF YOL151w [Saccharomyces cerevisiae]	1043 - CP02-S2-000-106-F05-UE.R	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1044 - CP02-S2-000-106-F06-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1082 - CP02-S2-000-140-F04-UE.F	(AC006217) putative retroelement pol polyprotein [Arabidopsis thaliana]
1045 - CP02-S2-000-106-G07-UE.R	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1083 - CP02-S2-000-140-H04-UE.F	P0404G11.15 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
1046 - CP02-S2-000-107-D03-UE.R	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1085 - CP02-S2-000-141-B06-UE.F	(AC091122) putative polyprotein [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
1050 - CP02-S2-000-108-F01-UE.F	polymerase [Magnaporthe grisea]	1086 - CP02-S2-000-141-B11-EM.R	(AP002539) Similar to Arabidopsis thaliana chromosome II BAC F26H6; putative retroelement pol polyprotein (AC006920) [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
1051 - CP02-S2-000-109-F04-UE.R	reverse transcriptase [Arabidopsis thaliana]	1087 - CP02-S2-000-141-D06-UE.F	(AC083945) Putative gag-pol polyprotein [Oryza sativa]
1052 - CP02-S2-000-110-F02-UE.F	gag protein [Glomerella cingulata]	1089 - CP02-S2-000-144-C05-CL.F	(AF362957) polyprotein [Aspergillus flavus]
1053 - CP02-S2-000-112-B06-UE.F	(AP002539) Similar to Arabidopsis thaliana chromosome II BAC F26H6; putative retroelement pol polyprotein (AC006920) [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]	1090 - CP02-S2-000-144-C05-CL.G	(AF362957) polyprotein [Aspergillus flavus]
1054 - CP02-S2-000-113-A12-UE.F	polyprotein [Tricholoma matsutake]	1091 - CP02-S2-000-144-C05-CL.H	(AF362957) polyprotein [Aspergillus flavus]
1057 - CP02-S2-000-113-G12-UE.R	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]	1092 - CP02-S2-000-144-H07-CL.H	(AB025309) Gag [Alternaria alternata]
1059 - CP02-S2-000-113-H12-UE.R	(AF279585) polyprotein-like [Lycopersicon chilense]	1093 - CP02-S2-000-150-E08-CL.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1060 - CP02-S2-000-114-G09-UE.F	(AB028236) Gag [Tricholoma matsutake]	1094 - CP02-S2-000-150-H05-CL.F	pol protein [Glomerella cingulata]
1061 - CP02-S2-000-115-G09-UE.F	(AB028236) Gag [Tricholoma matsutake]	1095 - CP02-S2-000-150-H12-CL.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1062 - CP02-S2-000-115-G09-UE.R	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1096 - CP02-S2-000-151-C03-UC.F	hypothetical protein 4 - fruit fly (Drosophila melanogaster) retrotransposon mgd1
1063 - CP02-S2-000-117-B01-UE.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]	1097 - CP02-S2-000-151-G02-UC.F	F7F22.15 [Arabidopsis thaliana]
1066 - CP02-S2-000-119-H10-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1101 - CP02-S2-000-160-A05-UC.G	polyprotein, putative; protein id: At1g42375.1 [Arabidopsis thaliana]
1068 - CP02-S2-000-125-A04-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1102 - CP02-S2-000-160-G10-UC.G	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1069 - CP02-S2-000-125-A10-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1103 - CP02-S2-000-172-B08-UC.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]
1070 - CP02-S2-000-127-G02-UE.G	unidentified open reading frame II (146 aa) [Drosophila melanogaster]	1104 - CP02-S2-000-174-D12-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1071 - CP02-S2-000-129-D06-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1105 - CP02-S2-000-175-A10-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1072 - CP02-S2-000-132-G11-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1106 - CP02-S2-000-177-A12-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1073 - CP02-S2-000-134-H10-UE.F	No Hits Found	1107 - CP02-S2-000-179-D09-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1074 - CP02-S2-000-135-B08-UE.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]	1108 - CP02-S2-000-181-F02-UE.F	pol polyprotein [Cladosporium fulvum]
1075 - CP02-S2-000-135-E05-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1109 - CP02-S2-000-187-B11-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1076 - CP02-S2-000-136-H04-UE.F	F6N18.1 [Arabidopsis thaliana]	1110 - CP02-S2-000-187-C08-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1077 - CP02-S2-000-136-H10-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1111 - CP02-S2-000-187-E06-UE.F	putative gag-pol precursor [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
1078 - CP02-S2-000-138-E04-UE.F	polymerase [Magnaporthe grisea]	1112 - CP02-S2-000-191-H07-UC.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]
1079 - CP02-S2-000-138-E05-UE.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]	1113 - CP02-S2-000-193-E01-UE.F	pol (reverse transcriptase-RNase H) [Tricholoma matsutake]
1080 - CP02-S2-000-138-H01-UE.F	reverse transcriptase [Tricholoma bakamatsutake]	1114 - CP02-S2-000-195-C12-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1081 - CP02-S2-000-140-C09-UE.F	pol polyprotein	1115 - CP02-S2-000-195-D12-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1116 - CP02-S2-000-195-E10-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1151 - CP02-S2-028-248-C06-UE.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]
1117 - CP02-S2-000-196-A04-UC.F	polymerase [Magnaporthe grisea]	1152 - CP02-S2-028-249-H02-UE.F	(AB028974) KIAA1051 protein [Homo sapiens]
1118 - CP02-S2-000-203-C02-UC.F	hypothetical protein [Yarrowia lipolytica]	1153 - CP02-S2-028-250-A05-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1119 - CP02-S2-000-203-C08-UC.F	(AJ243733) polymerase polyprotein [Lampetra fluviatilis]	1154 - CP02-S2-028-250-H10-UE.F	(AF051915) gag polyprotein [Cladosporium fulvum]
1120 - CP02-S2-000-203-D11-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1155 - CP02-S2-028-251-H07-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1121 - CP02-S2-000-203-E09-UC.F	pol polyprotein [Takifugu rubripes]	1156 - CP02-S2-028-256-A01-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1122 - CP02-S2-000-205-G12-UE.F	pol (reverse transcriptase-RNase H) [Tricholoma matsutake]	1157 - CP02-S2-028-256-D11-UE.F	polymerase [Magnaporthe grisea]
1123 - CP02-S2-000-207-E06-UE.F	polymerase [Magnaporthe grisea]	1158 - CP02-S2-028-257-C02-UE.F	putative retroelement pol polyprotein [Arabidopsis thaliana]
1124 - CP02-S2-000-208-H05-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1159 - CP02-S2-028-261-E06-UE.F	putative gag-pol precursor [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
1125 - CP02-S2-000-212-C12-UE.F	(AB016926) polyprotein encoding RNase H and integrase [Tricholoma matsutake]	1160 - CP02-S2-028-262-B08-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1126 - CP02-S2-000-216-H06-UE.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]	1161 - CP02-S2-028-264-E04-UE.F	(D83003) ORF(AA 1-1338) [Nicotiana tabacum]
1127 - CP02-S2-000-217-D06-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1162 - CP02-S2-028-266-F04-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1128 - CP02-S2-000-218-B04-UE.F	pol polyprotein [Cladosporium fulvum]	1163 - CP02-S2-028-267-E04-UE.F	reverse transcriptase [Tricholoma bakamatsutake]
1129 - CP02-S2-000-220-F06-UC.F	(AC096687) putative polyprotein [Oryza sativa]	1164 - CP02-S2-028-270-E05-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1130 - CP02-S2-000-220-G12-UC.F	(U90320) reverse transcriptase, gag, polyprotein [Volvox carteri f. nagariensis]	1165 - CP02-S2-028-276-H12-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1131 - CP02-S2-000-221-F06-UC.F	(AC096687) putative polyprotein [Oryza sativa]	1166 - CP02-S2-028-283-D12-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1132 - CP02-S2-000-221-G12-UC.F	(U90320) reverse transcriptase, gag, polyprotein [Volvox carteri f. nagariensis]	1167 - CP02-S2-028-284-D06-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1133 - CP02-S2-000-223-E02-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1168 - CP02-S2-028-285-A07-UE.F	reverse transcriptase; protease; endonuclease [Magnaporthe grisea]
1134 - CP02-S2-000-223-F09-UE.F	hypothetical protein [Yarrowia lipolytica]	1169 - CP02-S2-028-286-B06-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1135 - CP02-S2-000-223-H11-UE.F	pol polyprotein [Cladosporium fulvum]	1170 - CP02-S2-028-286-F01-UE.F	(AB028236) Gag [Tricholoma matsutake]
1136 - CP02-S2-000-225-A02-UE.G	ORF [Nicotiana tabacum]	1171 - CP02-S2-028-287-E02-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1137 - CP02-S2-000-227-F05-UE.F	(Z74223) ORF YDL175c [Saccharomyces cerevisiae]	1172 - CP02-S2-028-287-F09-UE.F	hypothetical protein [Yarrowia lipolytica]
1138 - CP02-S2-000-227-F06-UE.F	(L04974) gag protein [Bovine immunodeficiency-like virus]	1173 - CP02-S2-028-288-A09-UE.F	reverse transcriptase [Tricholoma bakamatsutake]
1139 - CP02-S2-021-248-F07-UC.F	polymerase [Magnaporthe grisea]	1174 - CP02-S2-032-290-F09-UE.F	(AF051915) gag polyprotein [Cladosporium fulvum]
1140 - CP02-S2-022-271-E03-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1175 - CP02-S2-032-295-E09-UE.F	pol polyprotein [Cladosporium fulvum]
1141 - CP02-S2-022-273-B10-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1176 - CP02-S2-032-296-A08-UE.F	putative gag-pol polyprotein [Zea mays]
1142 - CP02-S2-022-306-B08-UC.F	ORF [Nicotiana tabacum]	1177 - CP02-S2-032-298-H06-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1143 - CP02-S2-024-297-E10-UC.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1178 - CP02-S2-032-300-F05-UE.F	putative retroelement pol polyprotein [Arabidopsis thaliana]
1144 - CP02-S2-028-230-F07-UE.F	(AF448416) gag-pol [Zea mays]	1179 - CP02-S2-032-306-C06-UE.F	polyprotein [Tricholoma matsutake]
1145 - CP02-S2-028-234-E04-UE.F	pol protein [Glomerella cingulata]	1180 - CP02-S2-032-307-G07-UE.F	reverse transcriptase [Tricholoma bakamatsutake]
1146 - CP02-S2-028-237-A10-UE.F	putative gag-pol polyprotein [Zea mays]	1181 - CP02-S2-032-341-D12-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1147 - CP02-S2-028-237-A10-UE.G	putative retroelement pol polyprotein [Arabidopsis thaliana]	1182 - CP02-S2-032-348-B11-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]
1148 - CP02-S2-028-245-B07-UE.R	(D83003) ORF(AA 1-1338) [Nicotiana tabacum]	1183 - CP02-S2-032-348-D01-UE.F	Tf1 protein
1149 - CP02-S2-028-246-D05-UE.F	polyprotein [Tricholoma matsutake]	1184 - CP02-S2-033-311-B08-UE.F	pol protein [Glomerella cingulata]
1150 - CP02-S2-028-246-D05-UE.R	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1185 - CP02-S2-033-318-D10-UE.F	putative gag-pol polyprotein [Oryza sativa]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1186 - CP02-S2-033-328-D01-UE.F	(AF051915) gag polyprotein [Cladosporium fulvum]	1224 - CP02-S2-028-283-G05-UE.F	(BC011968) Similar to 2, 4-dienoyl CoA reductase 2, peroxisomal [Homo sapiens]
1189 - CP02-S2-000-119-B10-UE.F	(AP002995) proline iminopeptidase [Mesorhizobium loti]	1226 - CP02-S3-000-108-D12-UC.F	(AB015670) A2-5a orf6~hypothetical protein homologous to stage V sporulation protein K [Bacillus sp.]
1190 - CP02-S2-000-198-B06-UC.F	(AL355927) conserved hypothetical protein [Neurospora crassa]	1230 - CP02-S2-000-223-C08-UE.F	(Z72534) ORF YGL012w [Saccharomyces cerevisiae]
1191 - CP02-S2-000-226-H01-UE.F	(U34998) DNA repair and meiosis protein Rad9 [Coprinus cinereus] [Coprinopsis cinerea]	1231 - CP02-S2-028-287-C08-UE.F	(Z72534) ORF YGL012w [Saccharomyces cerevisiae]
1192 - CP02-S2-022-272-E05-UC.F	(Z99568) putative regulatory protein; zinc finger [Schizosaccharomyces pombe]	1232 - CP02-S2-032-299-F02-UE.F	(Y14389) sterol C-14 reductase [Septoria lycopersici]
1193 - CP02-S2-028-245-D11-UE.F	(U34998) DNA repair and meiosis protein Rad9 [Coprinus cinereus] [Coprinopsis cinerea]	1233 - CP02-S2-032-336-G12-UE.F	(BC010422) hypothetical protein FLJ13164 [Homo sapiens]
1194 - CP02-S2-028-250-G01-UE.F	(L01775) proline-rich protein [Daucus carota]	1235 - CP02-S3-000-082-H08-UC.F	(AF370013) UDP-glucose:sterol glucosyltransferase [Magnaporthe grisea]
1195 - CP02-S2-032-341-A08-UE.F	(AL731691) possible basic proline-rich protein [Aspergillus fumigatus]	1236 - CP02-S3-000-109-F03-UC.F	CHIP6 [Glomerella cingulata]
1196 - CP02-S2-000-152-D04-CL.F	DNA mismatch repair protein MSH2 - African clawed frog	1237 - CP02-S3-000-109-F03-UC.G	UDP-glucose:sterol glucosyltransferase [Avena sativa]
1197 - CP02-S2-000-104-F05-UE.R	(X91105) phosphoglycerate kinase [Agaricus bisporus]	1238 - CP02-S2-000-112-E04-UE.R	(U18922) Yer185wp [Saccharomyces cerevisiae]
1198 - CP02-S2-006-089-E12-UC.R	small GTP-binding protein [Neurospora crassa]	1239 - CP02-S2-000-076-F07-UC.F	similar to Saccharomyces cerevisiae farnesyl pyrophosphate synthetase, SWISS-PROT Accession Number P08524 [Schizosaccharomyces pombe]
1199 - CP02-S2-000-212-E08-UE.F	(AL136536) ypt1-related protein 1 [Schizosaccharomyces pombe]	1240 - CP02-S2-000-114-A12-EM.R	(AF329471) C-3 sterol dehydrogenase/C-4 decarboxylase [Candida albicans]
1200 - CP02-S2-028-249-G05-UE.F	(Z99262) ypt1-related protein 2 [Schizosaccharomyces pombe]	1241 - CP02-S2-000-114-A12-EM.S	(AF329471) C-3 sterol dehydrogenase/C-4 decarboxylase [Candida albicans]
1202 - CP02-S2-000-111-G11-UE.F	Unknown (protein for MGC:15850) [Homo sapiens]	1242 - CP02-S2-000-115-H04-UE.F	(AL591787) HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN [Sinorhizobium meliloti]
1204 - CP02-S2-000-176-A08-UE.F	(X16609) alt. ankyrin (variant 2.2) [Homo sapiens]	1244 - CP02-S2-000-030-F09-UE.R	(X95533) nucleotide-binding protein of 35kD; Nbp35p [Saccharomyces cerevisiae]
1205 - CP02-S2-000-215-H11-UE.F	(X74815) myosin I heavy chain [Rattus norvegicus]	1245 - CP02-S2-000-023-F03-CL.F	cystathionine beta-lyase [Neurospora crassa]
1206 - CP02-S2-000-222-B04-UE.F	Unknown (protein for MGC:15850) [Homo sapiens]	1247 - CP02-S2-000-031-G01-UE.F	(AL159951) putative arsenite-translocating atpase [Schizosaccharomyces pombe]
1207 - CP02-S3-000-105-B01-UC.F	(NM_102401) hypothetical protein [Arabidopsis thaliana]	1248 - CP02-S2-000-034-C10-UE.F	(AL031764) biotin synthase. [Schizosaccharomyces pombe]
1208 - CP02-S2-000-227-B04-UE.F	(AJ223984) Ste20 protein [Schizosaccharomyces pombe]	1249 - CP02-S2-000-077-G10-UC.F	sulfite reductase [Neurospora crassa]
1209 - CP02-S2-032-337-G08-UE.F	AT5g55930/MYN21_4 [Arabidopsis thaliana]	1250 - CP02-S2-000-108-B02-UE.R	(Z68136) protoporphyrinogen oxidase [Schizosaccharomyces pombe]
1210 - CP02-S2-000-122-B12-UE.R	(Z81312) MFS efflux transporter of unknown specificity [Schizosaccharomyces pombe]	1252 - CP02-S2-000-157-D11-CL.F	(AF180336) cyclophilin A [Filobasidiella neoformans]
1211 - CP02-S2-000-026-F06-UE.F	(Z17311) C-8 sterol isomerase [Ustilago maydis]	1253 - CP02-S2-000-157-D12-CL.F	(AF180336) cyclophilin A [Filobasidiella neoformans]
1212 - CP02-S2-000-189-H02-UE.F	(Z22775) C-8 sterol isomerase [Magnaporthe grisea]	1254 - CP02-S2-000-219-H09-UE.F	(AJ292542) ATP sulphurylase [Aspergillus fumigatus]
1213 - CP02-S2-028-262-H02-UE.F	(Z22775) C-8 sterol isomerase [Magnaporthe grisea]	1255 - CP02-S2-028-249-F11-UE.F	cystathionine beta-lyase [Neurospora crassa]
1214 - CP02-S2-000-217-E12-UE.F	(Y17825) putative aldehyde dehydrogenase (NAD+) [Agaricus bisporus]	1256 - CP02-S2-028-267-H09-UE.F	(AJ292542) ATP sulphurylase [Aspergillus fumigatus]
1215 - CP02-S2-000-024-G07-UE.F	(AP001307) RNase L inhibitor [Arabidopsis thaliana]	1257 - CP02-S2-032-333-E11-UE.F	(AL392149) putative oxidoreductase [Streptomyces coelicolor A3(2)]
1217 - CP02-S2-000-113-D04-UE.R	(AY060472) SD06439p [Drosophila melanogaster]	1258 - CP02-S3-000-075-D09-UC.F	(Z49387) ORF YJL112w [Saccharomyces cerevisiae]
1218 - CP02-S2-000-119-C09-UE.F	unknown protein [Arabidopsis thaliana]	1259 - CP02-S1-000-005-G02-UC.F	(Z99258) protein with Moeb/ThiF domain and weak similarity to wheat ubiquitin-activating enzyme [Schizosaccharomyces pombe]
1220 - CP02-S2-000-181-A03-UE.F	(AB015670) A2-5a orf6~hypothetical protein homologous to stage V sporulation protein K [Bacillus sp.]	1260 - CP02-S2-000-076-E03-UC.F	NADH-dependent flavin oxidoreductase, putative [Deinococcus radiodurans]
1221 - CP02-S2-000-211-A07-UE.F	(AL034563) replication factor-a protein 1 [Schizosaccharomyces pombe]	1261 - CP02-S1-000-022-H03-EM.R	S6 ribosomal protein kinase [Asparagus officinalis]
1222 - CP02-S2-006-126-B10-UC.R	(X96770) P2588 protein [Saccharomyces cerevisiae]	1262 - CP02-S1-000-027-A04-UC.F	(AF214654) calmodulin-binding protein kinase [Arthrobotrys dactyloides]
1223 - CP02-S2-028-282-F03-UE.F	(AL451020) related to anaphase control protein cut9 [Neurospora crassa]	1263 - CP02-S2-000-029-A08-EM.R	(AL035259) protein kinase bub1p [Schizosaccharomyces pombe]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1264 - CP02-S2-000-035-E06-UE.F	(AB037781) KIAA1360 protein [Homo sapiens]	1308 - CP02-S2-000-139-E08-UE.F	phosphoribosylanthranilate transferase; tryptophan biosynthesis pathway [Schizosaccharomyces pombe]
1265 - CP02-S2-000-039-B10-UC.F	(AL035259) protein kinase bub1p [Schizosaccharomyces pombe]	1309 - CP02-S2-000-150-G05-CL.F	(AE001699) tryptophan synthase, beta subunit [Thermotoga maritima]
1266 - CP02-S2-000-108-B10-UE.F	(L06144) protein kinase [Mus musculus]	1311 - CP02-S2-028-232-B11-UE.F	(AF279808) dimethylallyl tryptophan synthase [Penicillium paxilli]
1269 - CP02-S2-000-121-A09-UE.F	(U44901) aspartate semialdehyde dehydrogenase [Ustilago maydis]	1312 - CP02-S3-000-104-F03-UC.F	(AL512943) WD repeat protein [Schizosaccharomyces pombe]
1270 - CP02-S2-000-124-H04-UE.F	Ste20-like kinase [Mus musculus]	1313 - CP02-S2-000-028-G06-EM.R	monooxygenase [Fusarium sporotrichioides]
1271 - CP02-S2-000-135-A09-UE.F	(Z73974) Similarity to Human serine/threonine protein phosphatase PP1B (SW:PP1B_HUMAN), contains similarity to Pfam domain: PF00149 (Ser/Thr protein phosphatase), Score=687.0, E-value=3.1e-203, N=1~cDNA EST yk185f12.3 comes from this gene~cDNA EST yk17>	1314 - CP02-S2-000-112-D12-UE.F	PROBABLE POLYPHENOL OXIDASE B PRECURSOR (CATECHOL OXIDASE) OXIDOREDUCTASE PROTEIN [Ralstonia solanacearum]
1278 - CP02-S2-000-152-F06-CL.F	(AF288613) cAMP dependent protein kinase catalytic subunit [Cryptococcus neoformans var. grubii]	1315 - CP02-S1-000-027-G04-UC.F	(U17164) fibroblast growth factor receptor precursor [Strongylocentrotus purpuratus]
1283 - CP02-S2-000-203-C06-UC.F	(AL355013) protein kinase; yeast yak1 homolog [Schizosaccharomyces pombe]	1316 - CP02-S2-000-039-C12-UC.F	(AC006403) putative protein kinase [Arabidopsis thaliana]
1284 - CP02-S2-000-218-B07-UE.F	(AF005884) serine/threonine phosphatase [Takifugu rubripes]	1317 - CP02-S2-000-109-A04-UE.F	tyrosine kinase receptor EphA9 [Gallus gallus]
1285 - CP02-S2-028-264-G03-UE.F	(BC011259) Similar to serine dehydratase [Mus musculus]	1318 - CP02-S2-000-124-H12-UE.F	putative [Helicobacter pylori J99]
1286 - CP02-S2-028-275-D07-UE.F	protein kinase [Saccharomyces cerevisiae]	1319 - CP02-S2-000-125-A01-UE.F	(AF475094) SRC-1 [Caenorhabditis elegans]
1287 - CP02-S2-028-276-C08-UE.F	(AF159511) calcineurin A catalytic subunit [Filobasidiella neoformans]	1320 - CP02-S2-000-138-H02-EM.R	(U07634) receptor-protein tyrosine kinase [Mus musculus]
1288 - CP02-S2-032-296-A01-UE.F	(X81650) c-ros protooncogene [Mus musculus]	1322 - CP02-S2-000-176-D02-UE.F	(D88898) focal adhesion kinase [Drosophila melanogaster]
1289 - CP02-S2-032-299-F11-UE.F	(AF077355) protein phosphatase 2A regulatory B subunit [Neurospora crassa]	1323 - CP02-S2-000-201-E08-UE.F	kinase-related protein ros-1 precursor - human
1290 - CP02-S2-032-304-C10-UE.F	unnamed protein product [Mus musculus]	1324 - CP02-S2-000-202-G12-UE.F	(Z49610) ORF YJR110w [Saccharomyces cerevisiae]
1291 - CP02-S2-032-346-A12-UE.F	Chain A, The X-Ray Crystal Structure Of Sky1p, An Sr Protein Kinase In Yeast	1325 - CP02-S2-000-218-G02-UE.F	(AF040381) carbonic anhydrase [Pectobacterium carotovorum]
1292 - CP02-S3-000-067-B06-UC.G	(U43703) Lpi5p [Saccharomyces cerevisiae]	1326 - CP02-S2-000-225-H02-UE.F	(U43281) Lpg11p [Saccharomyces cerevisiae]
1293 - CP02-S3-000-093-C09-UC.F	Type 2C Protein Phosphatase related protein [imported] - Neurospora crassa	1327 - CP02-S2-000-225-H02-UE.G	(U43281) Lpg11p [Saccharomyces cerevisiae]
1294 - CP02-S1-000-017-C02-EM.R	(AF238225) DHA14-like major facilitator [Botryotinia fuckeliana]	1328 - CP02-S2-008-125-E07-UC.R	(AE005959) conserved hypothetical protein [Caulobacter crescentus] [Caulobacter vibrioides]
1295 - CP02-S1-000-027-F03-UC.F	glucan sythase	1329 - CP02-S2-022-271-B02-UC.F	(BC007510) HSPC025 [Homo sapiens]
1296 - CP02-S2-000-065-D02-UC.F	putative beta-glucan synthesis-associated protein [Schizophyllum commune]	1330 - CP02-S2-028-246-D01-UE.F	(D89213) similar to Saccharomyces cerevisiae prephenate dehydrogenase, SWISS-PROT Accession Number P20049 [Schizosaccharomyces pombe]
1297 - CP02-S2-000-183-B11-UC.F	(AF319998) MxaA [Stigmatella aurantiaca]	1331 - CP02-S2-032-346-A11-UE.F	c-Src kinase [Xenopus laevis]
1298 - CP02-S2-000-214-B11-UE.F	putative beta-glucan synthesis-associated protein [Schizophyllum commune]	1332 - CP02-S2-033-322-A05-UE.F	(U37465) protein tyrosine phosphatase phi, long insert variant [Mus musculus]
1299 - CP02-S2-000-198-C07-UC.F	(AL022244) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]	1333 - CP02-S2-000-023-B11-UE.F	(Z50144) kynurenine/alpha-aminoadipate aminotransferase [Rattus norvegicus]
1300 - CP02-S2-000-223-B04-UE.F	AFLATOXIN B1 ALDEHYDE REDUCTASE 2 (AFB1-AR 2)	1334 - CP02-S2-000-186-A05-UE.F	(AL031856) valyl-trna synthetase, mitochondrial precursor [Schizosaccharomyces pombe]
1301 - CP02-S2-028-275-B11-UE.F	putative beta-glucan synthesis-associated protein [Schizophyllum commune]	1335 - CP02-S2-028-260-C08-UE.F	(AL031856) valyl-trna synthetase, mitochondrial precursor [Schizosaccharomyces pombe]
1302 - CP02-S2-032-474-D12-UC.F	GTPase Rho1 [Aspergillus fumigatus]	1336 - CP02-S2-028-263-A05-UE.G	(AL031856) valyl-trna synthetase, mitochondrial precursor [Schizosaccharomyces pombe]
1303 - CP02-S2-028-284-C07-UE.F	(AL157918) ornithine aminotransferase (EC 2.6.1.13) [Schizosaccharomyces pombe]	1337 - CP02-S2-000-172-C04-UC.F	(L37530) endo-beta-1, 4-D-xylanase [Magnaporthe grisea]
1304 - CP02-S2-033-318-B04-UE.F	related to host-specific AK-toxin Akt2 [imported] - Neurospora crassa	1338 - CP02-S2-000-173-E02-UE.F	hypothetical protein [Xylella fastidiosa 9a5c]
1307 - CP02-S2-000-124-B07-UE.F	putative anthranilate phosphoribosyltransferase [Neisseria meningitidis Z2491]	1339 - CP02-S2-000-210-E02-UE.G	(Z81013) beta-1, 4-endoxylyanase [Thermobifida alba]

READ	BLAST RESULT	READ	BLAST RESULT
1340 - CP02-S2-000-218-A01-UE.F	(Z81013) beta-1, 4-endoxylyanase [Thermobifida alba]	1365 - CP02-S2-000-167-F11-UE.F	hypothetical zinc finger protein [Schizosaccharomyces pombe]
1341 - CP02-S2-032-309-A01-UE.F	(XM_136292) similar to KIAA0326 [Mus musculus]	1366 - CP02-S2-000-168-G06-UE.F	(AL445945) putative zinc-binding oxidoreductase [Streptomyces coelicolor A3(2)]
1342 - CP02-S3-000-064-A04-UC.F	(AL445945) putative zinc-binding oxidoreductase [Streptomyces coelicolor A3(2)]	1367 - CP02-S2-000-176-G02-UC.F	(AL359217) hypothetical protein L240.08 [Leishmania major]
1343 - CP02-S3-000-064-E08-UC.F	(AE004936) probable oxidoreductase [Pseudomonas aeruginosa]	1368 - CP02-S2-000-192-H07-UE.F	hypothetical protein [Yarrowia lipolytica]
1344 - CP02-S3-000-075-C11-UC.F	(AL583944) putative alcohol dehydrogenase [Streptomyces coelicolor]	1369 - CP02-S2-000-193-G04-UE.F	(AY058521) LD22804p [Drosophila melanogaster]
1345 - CP02-S3-000-107-B10-UC.F	putative protein [Arabidopsis thaliana]	1370 - CP02-S2-000-198-C04-UC.F	(AL023554) fungal Zn(2)-Cys(6) binuclear cluster zinc finger transcription factor [Schizosaccharomyces pombe]
1346 - CP02-S1-000-027-D05-UC.F	(AB033112) KIAA1286 protein [Homo sapiens]	1371 - CP02-S2-000-205-C03-UE.F	(AL031853) putative zinc finger protein [Schizosaccharomyces pombe]
1347 - CP02-S2-000-027-D02-UE.R	uvs-2 gene [Neurospora crassa]	1372 - CP02-S2-028-240-A07-UE.F	similar to CG4603 gene product [Homo sapiens]
1348 - CP02-S2-000-053-E03-UC.F	(X59993) zinc finger protein [Rattus norvegicus]	1373 - CP02-S2-028-240-H06-UE.F	(AL683874) putative zinc finger protein [Aspergillus fumigatus]
1349 - CP02-S2-000-085-A07-UC.F	(AL451022) probable nonsense-mediated mRNA decay protein [Neurospora crassa]	1374 - CP02-S2-028-245-A09-UE.R	(AF004816) unknown [Triticum aestivum]
1350 - CP02-S2-000-107-F01-UE.F	Pol [Alternaria alternata]	1375 - CP02-S2-028-246-D06-UE.R	(AL032684) hypothetical protein [Schizosaccharomyces pombe]
1351 - CP02-S2-000-108-E01-UE.R	(AJ421068) putative C2H2 zinc finger protein [Podospira anserina]	1376 - CP02-S2-028-252-D07-UE.F	(Z49331) ORF YJL056c [Saccharomyces cerevisiae]
1352 - CP02-S2-000-112-E10-UE.F	(Z69380) putative DNA-J-like protein. [Schizosaccharomyces pombe]	1377 - CP02-S2-028-271-E02-UE.F	(AB051497) KIAA1710 protein [Homo sapiens]
1353 - CP02-S2-000-113-B02-UE.F	(D78174) Zic4 protein [Mus musculus]	1378 - CP02-S2-028-282-D01-UE.F	(Z71504) ORF YNL227c [Saccharomyces cerevisiae]
1355 - CP02-S2-000-114-B03-UE.F	similar to CG4603 gene product [Homo sapiens]	1379 - CP02-S2-030-374-H09-UC.F	hypothetical protein [Yarrowia lipolytica]
1356 - CP02-S2-000-114-C12-UE.F	(S80425) transcription factor; GATA 3 homolog [Danio rerio]	1380 - CP02-S2-032-308-D01-UE.F	(AY118707) AT22983p [Drosophila melanogaster]
1357 - CP02-S2-000-115-B03-UE.F	similar to CG4603 gene product [Homo sapiens]	1381 - CP02-S2-033-311-G12-UE.F	(AB018285) KIAA0742 protein [Homo sapiens]
1362 - CP02-S2-000-128-A06-UE.F	CG1982-PA [Drosophila melanogaster]	1382 - CP02-S2-033-319-H10-UE.F	(AC022457) putative peroxin [Oryza sativa]
1363 - CP02-S2-000-139-H10-UE.F	Pol (reverse transcriptase-RNase H-integrase) [Tricholoma matsutake]	1383 - CP02-S3-000-075-E03-UC.F	ENDOTHELIN-CONVERTING ENZYME 1 (ECE-1)
1364 - CP02-S2-000-141-H07-EM.R	(AB021737) Requiem protein [Xenopus laevis]		