گزارش سه آرایه جدید فوزاریوم جدا شده از خاک باغ‌های جنوب ایران

دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۵ / پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۱۲

خسرو چهری: استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه رازی، کرمانشاه (khchehri@gmail.com)

چکیده

جهت شناسایی گونه‌های مختلف شبه‌جنس فوزاریوم از خاک باغ‌های استان هرمزگان، ۲۰ نمونه خاک جمع‌آوری شد. در این بررسی، ۵۰ جدایه به دست آمد که هر یک براساس مشخصات ریخت‌شناسی و توالی ژن *TEF-1α* مورد شناسایی قرار گرفتند که در بین آن‌ها، سه گونه *Fusarium mangiferae*، *F. gaditjirrii* و *F. decemcellulare* به عنوان یافته جدید از ایران گزارش می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: توالی‌یابی، جدایه، ریخت‌شناسی، میکوفلور، هرمزگان

First report of three new *Fusarium* species isolated from garden soil in southern Iran

Received: 14.02.2015 / Accepted: 02.06.2015

Khosrow Chehri: Assistant Prof., Department of Biology, Faculty of Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran (khchehri@gmail.com)

Summary

Fifty *Fusarium* isolates were obtained from 20 garden soil samples in Hormozgan province (S Iran). The isolates were identified based on morphological and molecular data. Sequence data were generated for *TEF-1α* gene, following PCR amplification. Among the identified species, *Fusarium mangiferae*, *F. gaditjirrii*, and *F. decemcellulare* represent new records to the mycobiota of Iran.

Keywords: Hormozgan, isolates, morphological and molecular data, mycoflora

مقدمه

گونه‌های فوزاریوم از جمله بیمارگرهای مهم گیاهی و حیوانی محسوب می‌شوند که بسیاری از آن‌ها قادر به تولید زهرابه قارچی هستند که برای سلامتی انسان و حیوانات مضرند (Gelderblom *et al.* 1988, Wilson *et al.* 1985, Nelson *et al.* 1994). از جمله مهم‌ترین گونه‌های بیماری‌زای فوزاریوم روی گیاهان و جانوران، گونه‌های موجود در بخش‌های لیزیولا (*Liseola*) می‌باشند (Fandohan *et al*. 2003, Tg Norina *et al.* 2005). گونه‌های بخش لیزیولا اهمیت اقتصادی بالایی داشته و شامل بسیاری از گونه‌های بیماری‌زای گیاهی و مولد توکسین می‌باشند که در سراسر دنیا انتشار وسیعی روی گیاهان زراعی دارند (Burgess *et al.* 1994, Nelson *et al.* 1994).

شبه‌جنس فوزاریوم در ابتدا توسط لینه در سال ۱۸۰۹ نام‌گذاری شد. در کلید طبقه‌بندی بوس (Booth 1971) وجه تسمیه این شبه‌جنس بر پایه هاگ‌های دوکی شکل گونه *Fusarium roseum* ذکر شده است. شبه‌جنس فوزاریوم شامل گونه‌هایی است که کنیدیوم‌هایی بی‌رنگ و بیشتر از دو دیواره تولید می‌کنند که ماکروکنیدیوم نامیده می‌شوند. سلول پایه‌ای این کنیدیوم‌ها کم و بیش دارای یک فرورفتگی می‌باشند که ممکن است شبیه به پای انسان باشد. این کنیدیوم‌ها ممکن است روی تجمعی از کنیدیوفورهای کوتاه تولید شوند که اسپورودخیوم نامیده می‌شوند و یا روی کنیدیوفورهایی منفرد و منشعبی که در سطح ریسه‌های هوایی پخش هستند. علاوه بر این، ممکن است میکروکنیدیوم و کلامیدوسپور هم تولید کنند.

گونه‌های جنس فوزاریوم دارای دامنه میزبانی وسیعی از مواد مختلف هستند و با توجه به داشتن مکانیزم‌های کافی برای انتشار و قدرت بقای طولانی در شرایط نامناسب محیطی در سراسر دنیا انتشار وسیعی دارند (Kommedahl & Windels 1977, Burgess *et al.* 1994, Sangalang *et al.* 1995, Summerell *et al.* 2003, Jutta *et al.* 2006).

تا کنون در ایران مقالات متعددی در زمینه شناسایی گونه های فوزاریوم ارایه شده است (Zare & Ershad 1997, Darvishnia *et al.* 2006, Darvishnia *et al.* 2008, Chehri *et al.* 2010, Chehri 2014). در مقاله حاضر در راستای شناسایی و تکمیل اطلاعات در خصوص فلور گونه‌های فوزاریوم ایران گزارشی از آرایه‌های *F. mangiferae* و *F gaditjirrii* متعلق به بخش لیزیولا و گونه *Fusarium decemcellulare* متعلق به بخش Spicarioides به عنوان آرایه‌های جدید ایران ارایه می‌گردد.

روش بررسی

- جداسازی و شناسایی گونه‌های فوزاریوم براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی

طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲، از قسمت‌های سطحی (۱۰ سانتی‌متر) خاک باغ‌های مختلف استان هرمزگان نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی (استفاده نشده) قرار داده شد و سریع به آزمایشگاه منتقل گردید و در آون در دمای ۲۵ درجه سلسیوس خشک شدند. گونه‌ها به روش تهیه سوسپانسیون خاک جداسازی شدند به این صورت که ۱ گرم از خاک با ۱۰۰ سی سی آب حل شد و یک سی‌سی از آن روی محیط کشت انتخابی پنتاکلرونیتروبنزن- آگار (PPA) (Nash & Snyder 1962) کشت گردید. همه تشتک‌های پتری برای ۴۸ ساعت در انکوباتور و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. پرگنه‌های رشد کرده تک اسپور گردیده و برای نگهداری کوتاه مدت و مشاهده مشخصات پرگنه نظیر میزان رشد و رنگ، به محیط کشت معمولی سیب زمینی-دکستروز-آگار (PDA) انتقال داده شدند. جهت تحریک جدایه‌ها به تولید ماکروکنیدیوم از محیط‌های کشت برگ میخک-آگار (CLA) دو درصد (Fisher *et al.* 1982) استفاده شد. گونه‌ها به کمک کلیدهای تشخیص موجود در آخرین مقالات علمی مرتبط شناسایی شدند (Phan *et al.* 2004, Britz *et al.* 2002, Leslie & Summerell 2006).

- استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و توالی‌یابی ژن *TEF-1α*

برای این منظور، جدایه‌های مورد نظر روی محیط کشت PDA کشت شدند و به مدت هفت روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و DNA جدایه‌ها مطابق روش مولر و همکاران (Möller *et al.* 1992) استخراج شد. تکثیر و توالی ژن Translation Elongation Factor (*TEF-1α*) با استفاده از آغازگرهای (5'-ATG GGT AAG GAG GAC AAG AC-3') EF1 و (5'-GGA AGT ACC AGT GAT CAT GTT-3') EF2 (O'Donnell *et al.* 1998) انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بهینه شده در این مطالعه، در حجم ۵۰ میکرولیتر شامل ۰/۴ میکرولیتر DNA الگو، ۱۶/۳۵ میکرولیتر ddH_2O، ۸ میکرولیتر از هر آغازگر، ۱ میکرولیتر دی اکسی نوکلئوتید تری فسفات (dNTPs)، ۰/۲۵ میکرولیتر واحد آنزیم DNA پلی‌مراز (Promega)، ۸ میکرولیتر بافر واکنش ۵X و ۸ میکرولیتر کلرید منیزیم ($MgCl_2$) انجام گرفت. واکنش مزبور در دستگاه ترموسایکلر (PTC-100®, MJ Research, Inc., USA) انجام شد. چرخه‌های دمایی به کار رفته برای تکثیر ژن شامل ۳۵ چرخه به شرح زیر بود: واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشت سازی DNA ژنومی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها به رشته الگو در دمای ۵۹ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه و گسترش رشته جدید در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ ثانیه و در نهایت مرحله گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه.

ژن تکثیر یافته *TEF-1α* را با استفاده از کیت خالص‌سازی (Quiagen)، مطابق دستورالعمل ارایه شده توسط شرکت سازنده خالص‌سازی شد. محصول به دست آمده به منظور تعیین توالی DNA، به شرکت First Base در سنگاپور فرستاده شد. اطلاعات توالی به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار BioEdit ویرایش و سپس با توالی‌های موجود در GenBank و پایگاه اطلاعاتی Fusarium-ID [http://isolate.fusariumdb.org/, Geiser *et al.* (2004)] با استفاده از ابزار BLAST (Altschul *et al.* 1997) مقایسه شدند و در نهایت نتایج به دست آمده از شناسایی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتیجه و بحث

در این بررسی، ۵۰ جدایه به دست آمد. براساس مشخصات مورفولوژیکی، سه گونه *Fusarium mangiferae*، *F. gaditjirrii* و *F. decemcellulare* متعلق به شبه جنس

فوزاریوم که به شرح زیر برای نخستین بار از ایران گزارش و معرفی می‌شوند:

۱- *Fusarium mangiferae* Britz, Wingfield & Marasas. Mycologia 94 (4): 722–730

میزان رشد پرگنه قارچ روی محیط PDA بعد از ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برابر ۳/۵ میلی‌متر است. رنگ میسلیوم هوایی سفید است و رنگ پرگنه از پشت تشتک پتری بعد از یک هفته بنفش می‌شود. پرگنه دارای حاشیه صاف است. سلول‌های کنیدیومزا ۶۰-۳۰ میکرومتر طول ۳/۵-۳ میکرومتر عرض دارند. سلول‌های کنیدیومزا روی میسلیوم هوایی به صورت مونوفیالید و پلی فیالید تشکیل می‌شوند. سلول‌های کنیدیومزا ۲ تا ۵ محل کنیدیوم زایی دارند. این گونه میکروکنیدیوم‌های دوکی شکل، تخم‌مرغی شکل و بیضوی کشیده و غالبا بدون دیواره بوده، تولید می‌کند که به صورت سر دروغین (false head) تشکیل می‌شوند. تعداد میکروکنیدیوم‌ها معمولا در این حالت کمتر از ۵ عدد است. اندازه میکروکنیدیوم‌های بدون دیواره (۳/۴-) ۲/۶-۲/۴ (-۱/۸) × (۱۴/۶-) ۹/۶-۸ (-۴/۲) میکرومتر می‌باشد. در همه جدایه‌ها روی محیط CLA، اسپورودخیوم‌های کرم رنگ تشکیل شدند. ماکروکنیدیوم‌های اسپورودخیومی راست، با ۳ تا ۵ دیواره عرضی و سلول پایه‌ای به شکل پا و سلول انتهایی کمی خمیده می‌باشند. اندازه ماکروکنیدیوم‌های ۳ دیواره ای (۳/۶-) ۲/۵-۲/۳ (-۲/۱) × (۵۵-) ۴۸-۴۰ (-۳۵) میکرومتر و ماکروکنیدیوم‌های ۵ دیواره‌ای (۳/۶-) ۲/۵-۲/۳ (-۲/۱) × (۶۰-) ۵۱-۴۸ (-۴۵) میکرومتر است. این گونه کلامیدوسپور تولید نمی‌کند (شکل ۱). مشخصات این گونه با شرح ارایه شده توسط بریتز و همکاران (Britz *et al.* 2002) مطابقت داشت. این گونه از نظر شکل پرگنه و شکل میکروکنیدیوم ممکن است با بعضی از استرین‌های گونه‌های *F. subglutinans*، *F. guttiforme* و *F. sterilihyphosum* مشابه باشد، ولی ماکروکنیدیوم‌های این گونه بلندتر از ماکروکنیدیوم‌های هر سه گونه ذکر شده است. همچنین، *F. mangiferae* برخلاف گونه *F. sterilihyphosum* ریسه‌های عقیمی که به دور خود می‌پیچند تولید نمی‌کند و برخلاف *F. sterilihyphosum*، تعداد ماکروکنیدیوم‌های با ۴ و ۵ دیواره عرضی بیشتر است. مقایسه ترتیب توالی ژن *TEF-1α* جدایه‌هایی از این گونه در بانک ژنی (GenBank) و پایگاه اطلاعاتی Fusarium-ID، ۹۹ درصد شباهت را با گونه *F. mangiferae* نشان داد. جدایه‌هایی از این گونه با شماره‌های KP751446 و KP751447 ثبت شده است. گزارش این گونه برای فلور ایران جدید بوده و از خاک باغ‌های حومه بندرعباس جدا شده است.

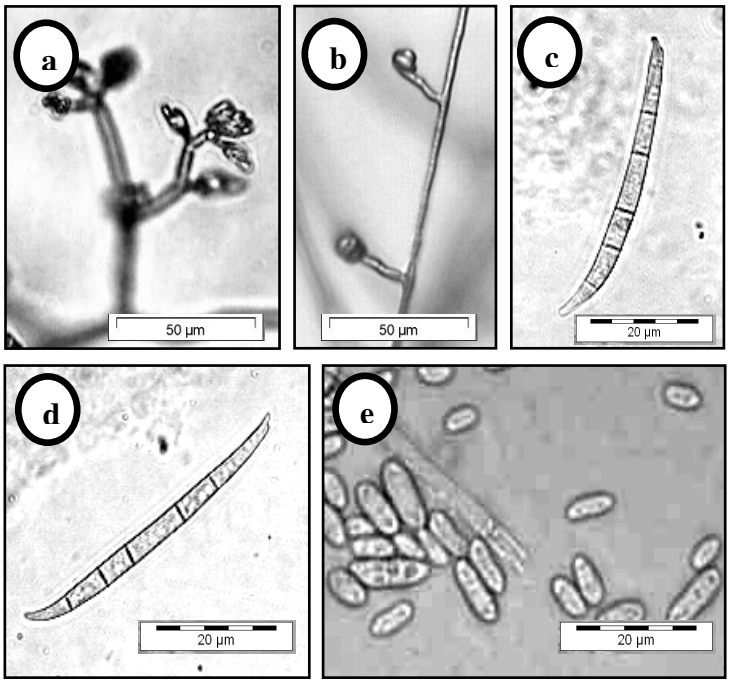
۲- *Fusarium gaditjirrii* Phan, Burgess & Summerell. Studies in Mycology 50: 261–272

میزان رشد پرگنه قارچ روی محیط PDA بعد از ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برابر ۸/۷ میلی‌متر است. رنگ میسلیوم هوایی سفید است و رنگ پرگنه از پشت تشتک پتری بعد از یک هفته بنفش می‌شود. پرگنه دارای حاشیه صاف است. بعد از ۵ تا ۷ روز اسپورودخیوم فراوانی در سطح پرگنه (محیط CLA) تشکیل می‌شود. سلول‌های کنیدیومزا در اسپورودخیوم، ۳۶-۷ میکرومتر طول ۳/۵-۲/۲ میکرومتر عرض دارند. سلول‌های کنیدیومزا روی میسلیوم هوایی به صورت فراهم، ۳ تا ۴ تایی از یک نقطه (verticillate) منشعب می‌شوند. سلول‌های کنیدیومزا به صورت مونوفیالید و پلی فیالید تشکیل می‌شوند. سلول‌های کنیدیومزا فقط ۲ محل خروج برای تولید کنیدیوم دارند. این گونه میکروکنیدیوم‌های دوکی شکل و تخم‌مرغی شکل و غالبا بدون دیواره بوده، تولید می‌کند که به صورت سر دروغین و زنجیره‌های بلند (chain) تشکیل می‌شوند. تعداد میکروکنیدیوم‌ها معمولا در این حالت بیشتر از ۱۰ عدد تولید می‌شوند. اندازه میکروکنیدیوم‌های بدون دیواره (۳/۷) ۲/۷-۲/۵ (-۱/۷) × (۱۱/۶-) ۹-۶ (-۵/۲) میکرومتر می‌باشد. ماکروکنیدیوم‌های اسپورودخیومی راست که ۳ تا ۵ دیواره عرضی دارند. سلول پایه‌ای ماکروکنیدیوم‌ها فرورفته و سلول انتهایی کشیده، خمیده و تا حدودی پستانک شکل می‌باشند. اندازه ماکروکنیدیوم‌های ۳ دیواره‌ای (۵/۰-) ۳/۹-۳/۳ (-۳/۱) × (۵۶-) ۵۲-۴۸ (-۴۵) میکرومتر و ماکروکنیدیوم‌های ۵ دیواره‌ای (۵/۱-) ۴/۰-۳/۳ (-۳/۱) × (۷۰-) ۶۲-۵۸ (-۴۸) میکرومتر است. این گونه کلامیدوسپور فراوانی تولید می‌کند. کلامیدوسپورها دارای سطح صاف یا ناصاف هستند و به صورت منفرد و جفتی و بین سلولی تشکیل می‌شوند و اندازه آن‌ها ۷ تا ۱۴ میکرومتر است (شکل ۲). مشخصات این گونه با شرح ارایه شده توسط فان و همکاران (Phan *et al.* 2004) مطابقت داشت. این گونه از نظر شکل پرگنه و تشکیل کلامیدوسپور ممکن است با بعضی از استرین‌های گونه‌های *F. andiyazi*، *F. pseudoanthophilum*، *F. napiforme* و *F. nygamai* مشابه باشد، ولی ماکروکنیدیوم‌های این گونه بلندتر از ماکروکنیدیوم‌های هر چهار گونه ذکر شده است. همچنین، *F. gaditjirrii* برخلاف گونه *F. andiyazi*، سلول‌های کنیدیومزا پلی‌فیالید هم تولید می‌کند و برخلاف *F. pseudoanthophilum*

و *F. napiforme*، میکروکنیدیوم‌های گلابی شکل تولید نمی‌کند. همچنین در *F. nygamai*، زنجیره میکروکنیدیوم‌ها کمتر از ۱۵ عدد است ولی در *F. gaditjirrii*، زنجیره‌های بلندتر از ۱۵ میکروکنیدیوم تشکیل می‌شوند. گزارش این گونه برای فلور ایران جدید بوده و از خاک باغ‌های حومه بندرعباس جدا شده است.

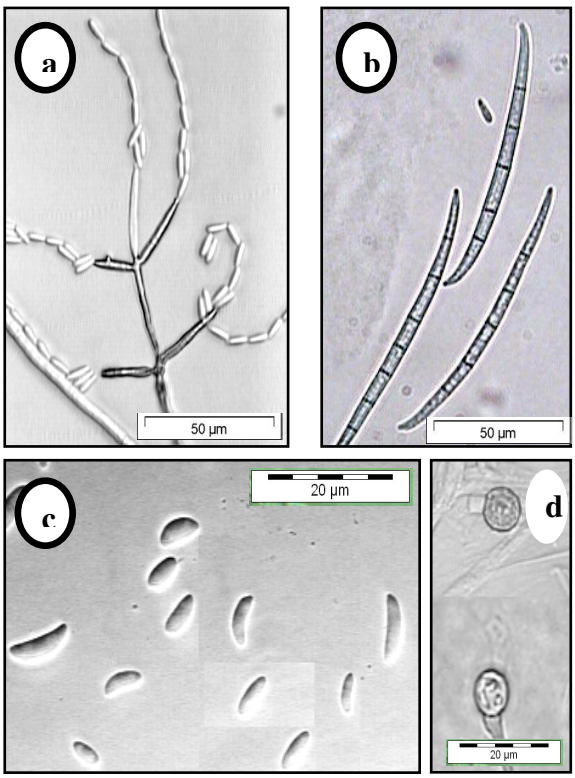
۳- *Fusarium decemcellulare* Brick, Wollenweber & Reinking. Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekampfung. Paul Parey, Berlin, Germany. 355 pp.

میزان رشد پرگنه قارچ روی محیط PDA بعد از ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برابر ۴/۵ میلی‌متر است. رنگ میسلیوم هوایی سفید متمایل به کرم است و رنگ پرگنه از پشت تشتک پتری بعد از ۲-۱ هفته قرمز رنگ می‌شود. پرگنه دارای حاشیه صاف است. کنیدیوفورهای سطح پرگنه ۱۰۰-۵۰ میکرومتر طول ۶/۵-۳/۵ میکرومتر عرض دارند و غالبا به صورت منشعب تشکیل می‌گردند. سلول‌های کنیدیوم‌زا روی میسلیوم هوایی و به صورت مونوفیالید تشکیل می‌گردند. این گونه میکروکنیدیوم‌های تخم‌مرغی شکل و بدون دیواره بوده، تولید می‌کند که به صورت‌های بلند تشکیل می‌شوند. گاهی سلول‌های کنیدیوم‌زا به صورت سر دروغین تشکیل می‌شوند. اندازه میکروکنیدیوم‌های بدون دیواره (۶-) ۵/۵-۴/۸ (-۲/۶) × (۱۲-) ۹/۵-۷/۵ (-۴/۸) میکرومتر می‌باشد. در همه جدایه‌ها روی محیط CLA، اسپورودوخیوم‌ها تشکیل شدند. ماکروکنیدیوم‌های اسپورودوخیومی تقریبا از قسمت پشتی و شکمی خمیده، با ۵ تا ۹ دیواره عرضی و سلول پایه‌ای به شکل پا (foot shaped) و سلول انتهایی خمیده و تقریبا پستانکی شکل می‌باشند. اندازه ماکروکنیدیوم‌ها ۵ دیواره‌ای (۶/۳-) ۶/۱-۵/۷ (-۵/۰) × (۷۵-) ۷۰-۶۵ (-۶۰) میکرومتر و ماکروکنیدیوم‌های ۹ دیواره‌ای (۶/۳-) ۶/۱-۵/۷ (-۵/۰) × (۸۸-) ۸۰-۷۴ (-۶۸) میکرومتر است. این گونه کلامیدوسپور تولید نمی‌کند (شکل ۳). مشخصات این گونه با شرح ارایه شده در کلید لزلی و سومرل (Leslie & Summerell 2006) مطابقت داشت. مقایسه ترتیب توالی ژن *TEF-1α* جدایه‌هایی از این گونه در بانک ژنی (GenBank) و پایگاه اطلاعاتی Fusarium-ID، ۹۹ درصد شباهت را با گونه *F. decemcellulare* نشان داد. جدایه‌هایی از این گونه با شماره‌های KP751448 و KP751449 ثبت شده است. گزارش این گونه برای فلور ایران جدید بوده و از خاک باغ‌های حومه بندرعباس جدا شده است.



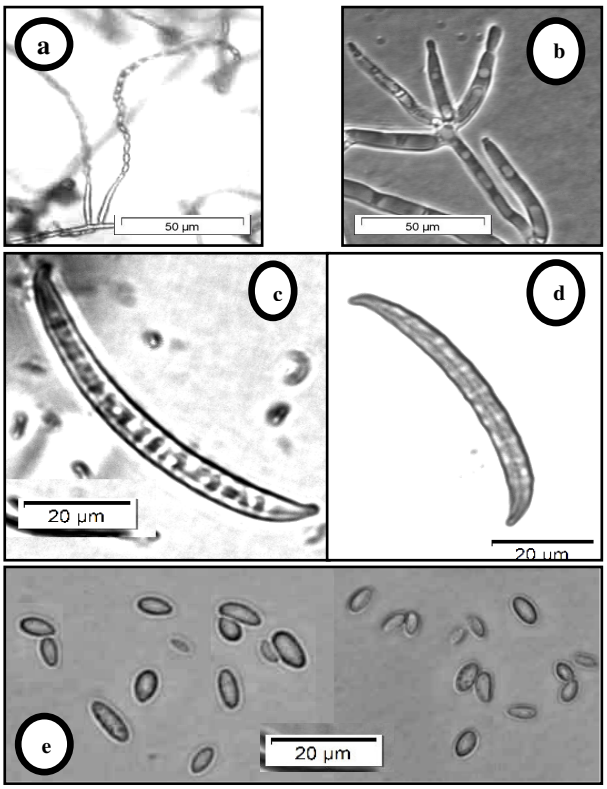
شکل ۱- *Fusarium mangiferae*: a. پلی‌فیالید، b. مونوفیالید، c, d. ماکروکنیدیوم‌ها، e. میکروکنیدیوم‌ها (مقیاس برای اشکال a-b = ۵۰ میکرومتر و c-e = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 1. *Fusarium mangiferae*: a. Polyphialide, b. Monophialide, c-d. Macroconidia, e. Microconidia (Bar = 50 µm for a-b; Bar = 20 µm for c-e).



شکل ۲- *Fusarium gaditjirrii*: a. مونوفیالید و پلی‌فیالید، b. ماکروکنیدیوم‌ها، c. میکروکنیدیوم‌ها، d. کلامیدوسپورها (مقیاس برای اشکال a-b = ۵۰ میکرومتر و c-d = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 2. *Fusarium gaditjirrii*: a. Monophialide and polyphialide, b. Macroconidia, c. Microconidia, d. Chlamydospores (Bar = 50 µm for a-b; Bar = 20 µm for c-d).



شکل ۳- *Fusarium decemcellulare*: a, b. مونوفیالیدها، c, d. ماکروکنیدیوم‌ها، e. میکروکنیدیوم‌ها (مقیاس برای اشکال a-b = ۵۰ میکرومتر و c-e = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 3. *Fusarium decemcellulare*: a-b. Monophialides, c-d. Macroconidia, e. Microconidia (Bar = 50 µm for a-b; Bar = 20 µm for c-e).

References

Altschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. & Lipman, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research 25: 3389–3402.

Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*, p. 237. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

Britz, H., Steenkamp, E.T., Coutinho, T.A., Wingfield, B.D., Marasas, W.F.O. & Wingfield. M.J. 2002. Two new species of *Fusarium* section *Liseola* associated with mango malformation. Mycologia 94: 722–730.

Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, P. & Backhouse, D. 1994. Laboratory Manual for *Fusarium* Research, Department of Crop Science. University of Sydney, Sydney, Australia. 3rd ed. pp. 133.

Chehri, Kh., Salleh, B., Soleimani, M.J., Darvishnia, M., Zafari, D. & Sharifnabi, B. 2010. Six new *Fusarium* species isolated from maize in Iran. Rostaniha 11(1): 69–81.

Chehri, Kh. 2014. Four new *Fusarium* species from *Fusarium solani* species complex isolated from soil in Iran. Rostaniha 15(1): 35–42.

Darvishnia, M., Alizadeh, A., Zare, R. & Mohammadi Goltapeh, E. 2006. Three new *Fusarium* taxa isolated from gramineous plants in Iran. Rostaniha 7(2): 193–205.

Darvishnia, M., Alizadeh, A., Zare, R. & Mohammadi Goltapeh, E. 2008. Three new *Fusarium* taxa isolated from gramineous plants in Iran. Proceedings of 18th Iranian Plant Protection Congress, 24–27 Aug.., Hamadan, Iran, p. 632.

Fandohan, P., Hell, K., Marasas, W.F.O. & Wingfield, M.J. 2003. Infection of maize by *Fusarium* species and contamination with fumonisin in Africa. African Journal of Biotechnology 2: 570–579.

Fisher, N.L., Burgess, L.W., Toussoun, T.A. & Nelson, P.E. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving *Fusarium* species. Phytopathology 72: 151–153.

Geiser, D.M., Jiménez-Gasc, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T., Zhang, N., Kuldau, G.A. & O'Donnell, K. 2004. FUSARIUM-ID v.1.0: a DNA sequence database for identifying *Fusarium*. European Journal of Plant Pathology 110: 473–479.

Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggaar, R. & Kriek, N.P.J. 1988. Fumonisins-Novel mycotoxins with cacer-promoting activity associated with *Fusarium moniliform*. Applied and Environmental Microbiology 54: 1806–1811.

Jutta, M., Faridah, A., Salleh, B. & Faridah, Q.Z. 2006. Preliminary investigations into fungal root endophytes of *Paphiopedilum barbatum* in some in situ and ex situ locations in Peninsular Malaysia. In: 2nd International Symposium on the Diversity and Conservation of Asian Orchids. Tsukuba Botanical Garden, Japan, pp. 31–32.

Kommedahl, T. & Windels, C.E. 1977. *Fusarium* stalk rot and common smut in corn fields of southern Minnesota in 1976. Plant Disease Replication 61: 259–262.

Leslie, J.F. & Summerell, B.A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. UK: Blackwell Publisher Ltd. p. 388.

Möller, E.M., Bahnweg, G., Sanderman, H. & Geiger, H.H. 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies and infected plant tissues. Nucleic Acids Research 20: 6115–6116.

Nash, S.M. & Snyder, W.C. 1962. Quantitative and estimations by plat counts of propagules of the bean rot *Fusarium* in field soils. Phytopathology 73: 458–462.

Nelson, P.E., Dignani, M.C. & Anaissie, E.J. 1994. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. Clinical Microbiology Review 4: 479–504.

O'Donnell, K., Kistler, H.C., Cigelnike, E. & Ploetz, R.C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 95: 2044–2049.

Phan, H.T., Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Liew, E.C.Y., Smith-White, J.L. & Clarkson, J.R. 2004. *Gibberella gaditjirrii* (*Fusarium gaditjirrii*) sp. nov., a new species from tropical grasses in Australia. Studies in Mycology 50: 261–272.

Sangalang, A.E., Burgess, L.W., Backhouse, D., Duff, J. & Wurst, M. 1995. Mycogeography of *Fusarium* species in soils from tropical, arid and Mediterranean regions of Australia. Mycological Research 60: 1233–1235.

Summerell, B.A., Salleh, B. & Leslie, J.F. 2003. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. Plant Disease 87: 117–128.

Tg Norina, T.J., Ezanee, M., Bakiah, S. & Liza Sharmini, A.T. 2005. A study on incidence of infectious maizeeal ulcer in hospital Universiti Sains Malaysia. The Malaysian Journal of Medical Sciences 12(Suppl. 1): 53.

Wilson, T.M., Nelson, P.E. & Knepp, C.R. 1985. Hepatic neoplastic nodules, adenofibrosis, and cholangrocarcinomas in male Fisher 344 rats fed corn naturally contaminated with *Fusarium moniliforme*. Carcinogenesis 6: 1155–1160.

Wollenweber, H.W. & Reinking, O.A. 1935. Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekampfung. Paul Parey, Berlin, Germany. 355 pp.

Zare, R. & Ershad, D. 1997. *Fusarium* species isolated from cereals in Gorgan area. Iranian Journal of Plant Pathology 33: 1–14.