IDENTIFICAREA PE BAZA CARACTERELOR MORFOLOGICE A PRINCIPALELOR SPECII DE *FUSARIUM* RESPONSABILE DE PRODUCEREA PUTREGAIULUI USCAT AL TUBERCULILOR DE CARTOF

THE IDENTIFICATION BASED ON THE MORPHOLOGICAL CHARACTERS OF THE MAIN SPECIES RESPONSIBLE FOR PRODUCING FUSARIUM DRY ROT OF POTATO

Ioana Daniela Borca Carmen Puia
USAMV Cluj-Napoca

SUMMARY

The genus Fusarium represents the most important group of fungal plant pathogens, causing various diseases on nearly every economically important plant species.

To establish strategies to combat these diseases it should be made primarily a correct diagnosis and identification of them. Many plants have at least one Fusarium – associated disease. The identifying of the Fusarium strain presents in a diseased plant sample has been and remains an important task in many plant diagnostic laboratories. The Fusarium species can be recognized and differentiated from one another by using different approaches of identification. Data from morphological characteristics and pathogenicity test are useful in relation to distinguish Fusarium species.

Cuvinte cheie: *Fusarium spp., boala, patogen, conidii, identificare.*

Principalele caracteristici ale putregaiului uscat

Boala este produsă de mai multe specii ale genului *Fusarium*. *Fusarium sambucinum* Fuckel (cu forma teleomorfă *Giberella pulicaris*) este cel mai frecvent întâlnit, urmat de *Fusarium solani* var. *coeruleum* (Lib. Ex Sacc.). Aceşti patogeni supravieţuiesc pe resturile vegetale şi în sol, iar infecţiile se realizează din tuberculii de sămânţă infestaţi.

Putregaiul uscat este una dintre cele mai comune boli întâlnite în depozite putând să ducă şi la infecţii secundare cu putregai umed produs de *Erwinia carotovora subsp. carotovora* (Jones) Berqey et al. (http://www.plant-disease.ippc.orst.edu).

Identificarea speciilor de *Fusarium* după caracterele morfologice este un proces dificil deoarece caracteristici precum pigmentarea miceliului, modul de formare a conidiilor, mărimea şi forma acestora

sunt instabile şi dependente de mediul de cultură şi de condiţiile climatice. Variaţiile fenotipice sunt abundente şi sunt necesare multe expertize pentru a se putea diferenţia speciile cu caractere asemănătoare şi pentru a se putea recunoaşte diferenţele dintre specii (Nelson et al., 1983).

Patografia putregaiului uscat

Primele simptome ale putregaiului uscat produs de speciile genului *Fusarium* se manifestă prin apariţia unor adâncituri de culoare închisă pe suprafaţa tuberculilor. În cazul leziunilor mari, epiderma tuberculului se ridează sub forma unor cercuri concentrice pe măsură ce ţesutul mort de la bază se usucă. Simptomele interne se caracterizează prin zone necrotice de culoare maronie până la negru. Acest ţesut necrozat este de obicei uscat (de aici denumirea de "putregai uscat") şi majoritatea se dezvoltă ca urmare a unor răniri provocate prin tăieturi sau zgârieturi. Patogenul pătrunde în tubercul şi provoacă putrezirea pulpei, putrezire care se extinde spre centrul tuberculului. Cavităţile putrezite sunt deseori căptuşite cu miceliu şi spori în culori diferite, de la galben, la alb sau chiar roz (http://www.potatodiseases.org).

Leziunile produse de *Fusarium solani* var. *coeruleum* (Lib. Ex Sacc.) pornesc de la marginea zonei infectate şi progresează într-o manieră destul de uniformă prin tubercul. Cu timpul, culoarea putregaiului din zona infectată se brunifică şi din galben devine brun (http://www.plant-disease.ippc.orst.edu).

Leziunile provocate de infecţia cu *Fusarium sambucinum* Fuckel tind să fie de un maro foarte închis până la negru şi progresează în interiorul pulpei într-o manieră foarte neregulată, sub forma unor tuneluri (http://www.plant-disease.ippc.orst.edu).

Putregaiul uscat al tuberculilor de cartof este produs de mai multe specii din genul *Fusarium*. *Fusarium sambucinum* Fuckel (cu forma teleomorfă *Giberella pulicaris*) este unul dintre cei mai comuni patogeni ce produc putregai uscat tuberculilor depozitaţi. Şi alte specii de *Fusarium* sunt cunoscute ca patogeni ce produc această boală, iar aici putem menţiona, în mod particular, *Fusarium solani* var. *coeruleum* (Lib. Ex Sacc.) şi *Fusarium avenaceum*. Din punct de vedere al distribuţiei geografice, în zonele temperate principalul agent patogen ce produce putregai uscat este *Fusarium sambucinum* Fuckel, dar şi *Fusarium solani* var. *coeruleum* (Lib. Ex Sacc.) poate fi prezent (Lib. Ex Sacc.) (http://ndrs.org.uk).

Speciile de *Fusarium* sunt comune în majoritatea solurilor unde se cultivă cartofi şi pot supravieţui ca spori rezistenţi şi liberi, perioade lungi de timp. Există două posibilităţi principale, pe parcursul perioadei de vegetaţie a cartofului de infectare a tuberculilor cu specii de *Fusarium* ce produc putregai uscat, în primăvară şi în toamnă (Boyd, 1972).

Tuberculii de sămânţă putrezesc atunci când patogenul produce infecţia prin zonele tăiate sau prin rănile de la suprafaţă, dar şi în cazul în care tuberculii erau deja infectaţi înainte de secţionarea lor. Odată infectaţi, aceştia putrezesc indiferent dacă sunt plantaţi imediat sau dacă după secţionare mai sunt ţinuţi o perioadă de timp înainte de plantare. Secţionarea tuberculilor de sămânţă predispune materialul de plantat la infecţia cu putregai uscat, deoarece patogenul (*Fusarium* spp.) pătrunde în tubercul prin suprafaţa secţiunii ducând la o putrezire rapidă a bucăţilor de tuberculi (http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu).

Tuberculii tineri pot fi contaminaţi cu sporii speciilor de *Fusarium* pe măsură ce cresc, perioadă ce coincide din punct de vedere calendaristic cu sfârşitul verii şi începutul toamnei.

În mod normal, tuberculii nu sunt infectaţi până la recoltare deoarece patogenul nu poate provoca infecţii decât în cazul în care epiderma tuberculului este perforată, lucru care se întâmplă destul de rar pe parcursul perioadei de vegetaţie. Rănile produse în timpul recoltării şi manipulării le asigură sporilor dorminzi de pe suprafaţa tuberculilor, numeroase puncte de pătrundere în interiorul acestora. Din momentul în care patogenul a penetrat epiderma tuberculului, infecţia începe să se dezvolte în ţesut rezultând răni de putregai uscat la punctele de intrare (http://ndrs.org.uk).

În condiţii de depozitare, putregaiul uscat se dezvoltă mult mai rapid la o umiditate relativă a aerului cuprinsă între 50-80% şi la o temperatură cuprinsă între 15-28^{o}C. Cotele mai scăzute de umiditate şi temperatură duc la întârzierea infecţiei şi a dezvoltării bolii. În ultima parte a perioadei de depozitare, putregaiul uscat progresează mult mai rapid (Boyd, 1972).

Taxonomia speciilor de *Fusarium* care produc putregai uscat tuberculilor de cartof

Taxonomia speciilor de *Fusarium* este confuză, motiv pentru care s-au propus diferite sisteme de clasificare (Nelson, 1991).

Principalele specii de *Fusarium* considerate responsabile de producerea putregaiului uscat al tuberculilor de cartof în zona temperată

sunt *Fusarium sambucinum* Fuckel şi *Fusarium solani* var. *coeruleum* (Lib. Ex Sacc.) Bilai.

- ✓ ***Fusarium sambucinum* Fuckel,** cu forma sexuată *Gibberella pulicaris* (Fr.) Sacc.1877, aparţine din punct de vedere taxonomic subîncrengăturii *Ascomycotina*, clasei *Sordariomycetes*, ordinul *Hypocreales*, familia *Nectriaceae*, genul *Gibberella*. Sinonimele pe care le putem întâlni în cazul acestei specii sunt: *Botryosphaeria pulicaris* (Fr.) Ces.&De Not. 1863, *Cucurbitaria pulicaris* (Fr.) Quel. 1875, *Gibbera pulicaris* (Fr.) Fr.1849, *Nectria pulicaris* (Fr.) Tul.&C.Tul. 1865, *Sphaeria pulicaris* Kunze 1823 (http://www.speciesfungorum.org).
- ✓ ***Fusarium solani* var. *coeruleum* (Lib. Ex Sacc.) Bilai** aparţine subîncrengăturii *Ascomycotina*, clasa *Sordariomycetes*, ordinul *Hypocreales*, familia *Nectriaceae*, genul *Fusarium*. Numele acceptat, din punct de vedere ştiinţific, al speciei *Fusarium solani* var. *coeruleum* (Lib. Ex Sacc.) este *Fusarium coeruleum* Lib. Ex Sacc. 1886, iar ca sinonime întâlnim: *Fusarium solani* var. *coeruleum* (Lib. Ex Sacc.) C. Booth 1971, *Fusarium violaceum* Fuckel 1870, *Selenosporium coeruleum* Lib. (http://www.speciesfungorum.org).

Etapele identificării speciilor de *Fusarium*

Pentru stabilirea strategiilor de control a bolilor este necesar, în primul rând, o corectă diagnoză şi identificare a patogenilor care le produc.

Identificarea speciilor de *Fusarium,* la modul general, prezente într-o probă de analizat a fost şi a rămas o sarcină importantă în cadrul multor laboratoare de diagnosticare a bolilor plantelor. Speciile de *Fusarium* pot fi recunoscute şi diferenţiate între ele prin utilizarea unor diverse abordări în identificare.

În cadrul acestui articol este prezentată modalitatea de identificare, pe baza caracterelor morfologice, a speciilor de *Fusarium* responsabile de producerea putregaiului uscat al tuberculilor de cartof (Figura 1).

Etapele ce trebuie parcurse în procesul de identificare a speciilor de *Fusarium* sunt: izolarea patogenului, realizarea de subculturi, purificarea culturilor şi identificarea pe baza caracterelor morfologice.

a. Izolarea patogenului din tuberculii de cartof

Protocolul de izolare are un impact semnificativ în ceea ce priveşte individualizarea speciilor de *Fusarium* din plantele bolnave şi mai precis din organele afectate (McMullen and Stack, 1983).

În mod obişnuit se izolează mai multe specii de patogeni de pe o probă de material bolnav. Unele dintre aceste specii pot fi patogene, în timp ce altele sunt saprofite şi joacă rolul de patogen secundar sau nu au nici o contribuţie în procesul de îmbolnăvire. Tehnica de izolare se alege astfel încât să se obţină cât mai facil patogenii „adevăraţi" pe măsură ce se restricţionează obţinerea altor fungi. Acest lucru reprezintă o problemă destul de frecventă în cazul solurilor cultivate intensiv (Lim, 1972).

Tipul de boală dictează, de cele mai multe ori, procedura de izolare folosită. Partea plantei care este folosită pentru recuperarea patogenului este partea care este cea mai afectată de boală. În cazul recuperării speciilor de *Fusarium* ce produc putregaiul uscat se foloseşte ca material de probă tuberculii de cartof bolnavi.

Pentru putregaiul uscat se recomandă tehnica descrisă de Ana Hulea (1969) pentru izolarea ciupercilor din ţesuturile puternic putrezite. Acest tip de material nu permite dezinfectarea ţesuturilor deoarece acestea fiind degradate uşurează pătrunderea rapidă a dezinfectantului în interior, distrugând ciuperca astfel că se dă la o parte cu un ac ascuţit părţile exterioare şi se ia din interior o mică porţiune de ţesut bolnav care se trece pe mediu.

Deoarece, de regulă, în aceste ţesuturi se găsesc asociate şi bacterii, se va folosi pentru izolare un mediu conţinând un antibiotic (Andrews and Pitt, 1986).

b. Realizarea de subculturi

Realizarea de subculturi de pe plăcile de izolare reprezintă o etapă intermediară între izolarea de pe materialul vegetal şi realizarea de culturi pure. Acest stadiu uşurează determinarea tipului de organism care a fost izolat (Dungan, 2006).

Paşii pentru realizarea de subculturi de pe plăcile de izolare sunt următorii (Leslie and Summerell, 2006):

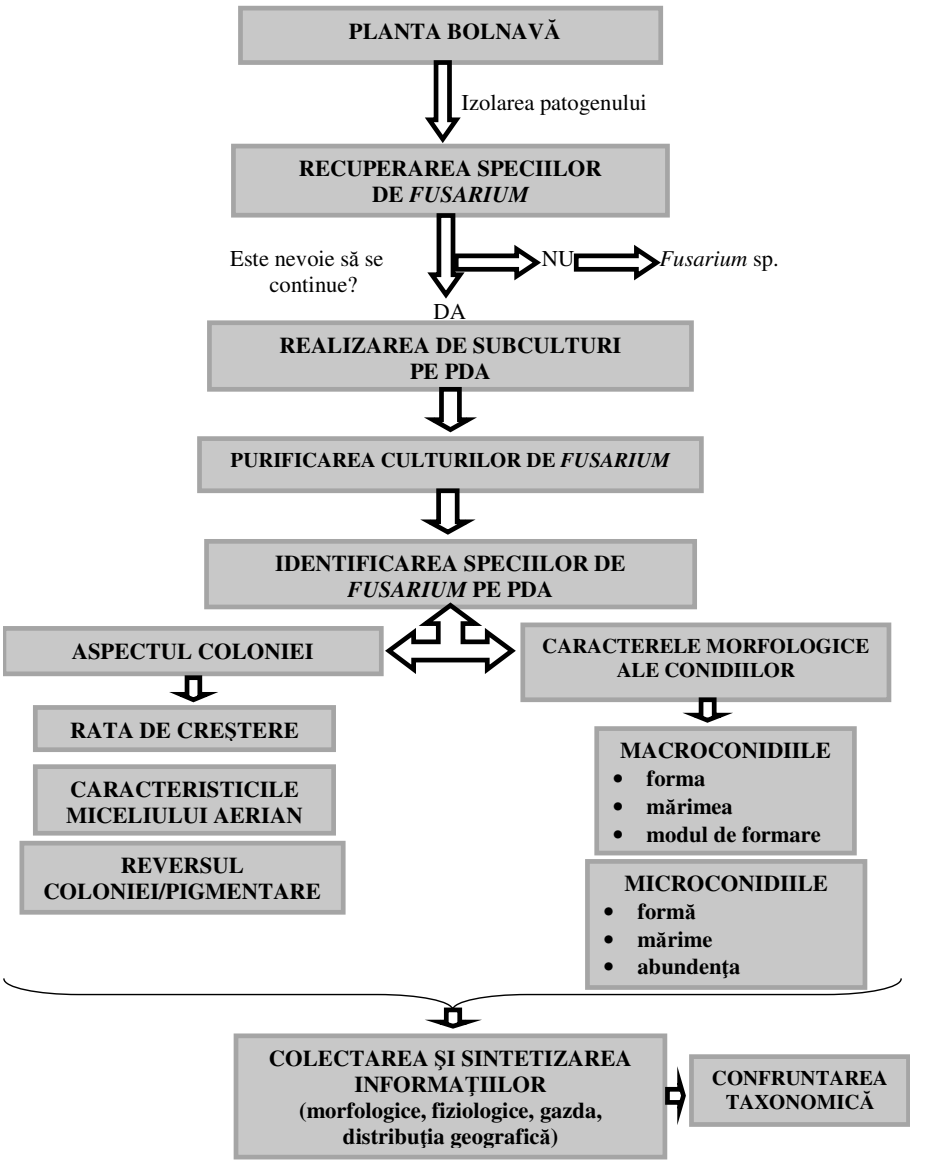

Figura 1. Diagrama protocolului de identificare a speciilor de *Fusarium*.
(Sursa: original)

1. Se examinează zilnic plăcile cu ajutorul lupei binoculare şi se evaluează modul şi gradul de dezvoltare a hifelor fungice din segmentele de ţesut vegetal.
2. Se determină dacă sunt mai multe specii care se dezvoltă pe mediu de cultură.
3. În momentul în care hifele crescute de pe ţesutul vegetal au aproximativ 5 mm se realizează subculturile.
4. Subculturile se realizează prin decuparea a câte unui bloc mic din mediu de cultură (2x2 mm), de la marginea fiecărei colonii şi transferul fiecărui bloc pe mediu (PDA).

Este foarte important să se realizeze subculturi atunci când coloniile sunt mici, dar este şi mult mai uşor să se realizeze subculturile înainte ca speciile cu o viteză de creştere rapidă să se dezvolte peste speciile care au o creştere mai lentă. Din acest motiv plăcile de izolare se examinează zilnic pentru a monitoriza dezvoltarea ciupercii, iar segmentul de ţesut este verificat în privinţa sporulării, lucru care poate furniza indicii cu privire la identitatea patogenului (http://www.aciar.gov.au).

Din momentul în care subculturile încep să se dezvolte în colonii, acestea se pot grupa după tipologii şi după caracteristicile microscopice pentru o identificare preliminară. Speciile saprofite binecunoscute pot fi identificate şi îndepărtate, iar potenţialii patogeni pot fi purificaţi prin tehnica singurului spor (http://www.aciar.gov.au).

c. Purificarea culturilor de *Fusarium*

Etapa finală în identificarea fungilor patogeni o reprezintă crearea de culturi pure. În realizarea de culturi pure se utilizează tehnica singurului spor. Această metodă implică transferul unei singure conidii germinate pe mediu pentru a obţine o cultură pură (Summerell et al., 2001).

Tehnica singurului spor presupune următoarele etape (Leslie and Summerell, 2006) :

1. Se sterilizează acul de transfer.
2. Se extrage o cantitate mică din miceliu de suprafaţă care să conţină şi conidii, sau se răzuieşte zona în care este prezentă sporodochia ciupercii.
3. Acestea se plasează într-o eprubetă, în 10 ml de apă sterilă şi se realizează o suspensie de spori.

4. Se agită suspensia pentru a dispersa sporii şi se verifică concentraţia de spori prin ţinerea eprubetei contra luminii sau prin examinarea unei picături din suspensie cu ajutorul lupei binoculare. Se vor evita concentraţiile mari de spori. Pentru cei cu experienţă, concentraţiile pot fi evaluate vizual în eprubetă.
5. Dacă este nevoie se poate dilua suspensia cu apă sterilă.
6. Suspensia se toarnă într-un vas Petri ce conţine un strat subţire de agar cu apă.
7. Se elimină excesul de apă rămânând câţiva spori pe agar.
8. Se depozitează placa într-un mod înclinat, pentru o perioadă de 18 ore până când sporii încep să germineze.
9. Vasul Petri se examinează sub lupa binoculară cu o sursă de lumină sub el. Oglinda se ajustează, cu multă atenţie, pe sursa de lumină astfel încât să se obţină un contrast accentuat între conidii şi mediu de cultură.
10. Se îndepărtează un singur spor germinat utilizând un ac de transfer plat şi se transferă pe un nou mediu de cultură.

d. Identificarea speciilor de Fusarium responsabile de producerea putregaiului uscat

Identificarea speciilor de *Fusarium* este de cele mai multe ori dificilă datorită variabilităţii izolatelor cu privire la forma şi mărimea conidiilor, aspectului coloniilor, dar şi din cauza faptului că anumite caracteristici cerute nu sunt întotdeauna bine dezvoltate (de exemplu absenţa macroconidiilor în anumite izolate, după ce au fost subcultivate) (Booth,1977).

Caracterele importante utilizate în identificarea speciilor de *Fusarium* sunt următoarele (Burgess and Liddell, 1983) :

1. cultură pură, obţinută dacă este posibil dintr-un singur spor.
2. Diametrele de creştere a coloniei pe mediu de cultură (PDA) după o perioadă de incubare la întuneric de 4 zile (25^oC).
3. Pigmentaţia culturii pe mediu (PDA) după o incubare de 10-14 zile cu expunere zilnică la lumină.
4. Morfologia microscopică incluzând forma şi dimensiunile macroconidiilor, prezenţa sau absenţa microconidiilor, prezenţa sau absenţa clamidosporilor.

Speciile de Fusarium responsabile de producerea putregaiului uscat pot fi ***Fusarium sambucinum*** şi ***Fusarium solani*** **var.** ***coeruleum.***

- ✓ ***Fusarium sambucinum*** **Fuckel** este comun în zonele temperate (Kommedahl et al., 1988) şi se poate izola din tuberculii de cartof unde produce putregai uscat (Desjardin, 1995).

Caracterele dezvoltate pe mediu de cultură (PDA)

Pe mediu de cultură au o creştere relativ rapidă (~5cm.), după o incubare de 4 zile la întuneric, deseori cu o serie de inele concentrice aparente. Marginile coloniei sunt lobate, iar absenţa lobilor poate indica faptul că tulpina a început să degenereze. Miceliul aerian este abundent, pâslos, cu o culoare de la alb–rozaliu până la gri-portocaliu. În centrul culturii se formează sporodochiile, iar reversul coloniei este de culoare roz, ajungând ca în timp să aibă o culoare sângerie. Pigmenţii din agar, în mod obişnuit sunt de culoare galbenă, portocaliu sau roşu rubin, uneori cu pete brune. Unele izolate produc scleroţi de culoare portocalie sau brună (Leslie and Summerell, 2006).

Morfologia microscopică

În ceea ce priveşte caracterele morfologice ale macroconidiilor, acestea au o formă falcată, sunt subţiri, iar din punct de vedere al dimensiunilor sunt relativ scurte şi de obicei destul de uniforme, cu un vârf ascuţit, iar celula bazală cu „formă de picior". Din punct de vedere al septărilor au (0-2) 3-5 (6-) septe când sunt mature şi măsoară 25-55 x 4-5.5µ (Dungan, 2006). În mod obişnuit sunt abundente în sporodochii care sunt colorate portocaliu (Leslie and Summerell, 2006).

Microconidiile sunt ovale, cu 0-1 septe şi sunt foarte rare, dar atunci când sunt prezente se găsesc pe miceliu aerian. Sunt produse fie individual, fie în mici capete false (Leslie and Summerell, 2006).

Clamidosporii se formează rar, sub forma unor celule globuloase şi pot fi dispuşi individual, în lanţuri sau în grup. Se întâlnesc intercalar sau terminal pe ramificaţii laterale, scurte sau în celulele macroconidiilor şi au un diametru cuprins între 6-11µ. Modul lor de formare nu este un caracter pe care să se poată conta pentru o identificare precisă (Booth, 1977).

- ✓ ***Fusarium solani*** **var.** ***coeruleum*** **(Lib. Ex Sacc.) Bilai**

Caracterele dezvoltate pe mediu de cultură (PDA)

Pe mediu de cultură dezvoltă un miceliu de culoare alb-gri, iar pe reversul coloniei, după o perioadă de 2-3 zile dezvoltă un pigment puternic de culoare albastră-violacee. Rata de creştere este de aproximativ 3,2 cm. Sporodochiile se formează în centrul culturii şi sunt

de culoare crem, iar hifele individuale au un diametru de 2-4 μ şi sunt rar septate (Leslie and Summerell, 2006).

Morfologia microscopică

Macroconidiile speciei sunt curbate, cu formă cilindrică până spre uşor fusoidă, cu un vârf sub formă oarecum de cioc şi o celulă bazală bine marcată cu "formă de picior". La maturitate macroconidiile au 4-5 septe şi măsoară 50-65 x 5-5.5 μ (Booth, 1977).

Înainte de debutul sporodochiilor acestea se formează de pe conidioforii din miceliu aerian (Leslie and Summerell, 2006).

Microconidiile sunt ovale, cu dimensiuni cuprinse între 8-12 x 2-4μ şi se formează rar în culturile tinere.

Clamidosporii sunt globuloşi , cu un diametru de 8-10 μ şi se formează răzleţ în celulele macroconidiilor, în miceliu aerian nu au fost observaţi (Booth, 1977).

Testarea patogenităţii

Testul de patogenitate asigură informaţii pentru a dovedi patogenitatea unui organism izolat, utilizând postulatul lui Koch, ajută la determinarea gamei de plante gazdă a patogenului şi evaluează virulenţa diferitelor izolate a patogenului (http://www.aciar.gov.au).

Pentru testarea patogenităţii, speciile de plante susceptibile sunt crescute în mediu controlat şi inoculate cu organismele patogene suspecte (Leslie and Summerell, 2006).

La selecţia plantelor sănătoase ce urmează a fi inoculate pentru a se testa patogenitatea şi pentru a confirma postulatul lui Koch, este important să se utilizeze acelaşi tip de cultivar (varietate) de pe care a fost izolat patogenul. Simptomele manifestate trebuie să fie foarte asemănătoare cu cele observate în cultivarele din care s-a prelevat proba (Burgess and Liddell, 1983).

Paşii pentru aplicarea postulatului lui Koch (http://www.microbiologybytes.com):

1. Descrierea simptomelor manifestate de către plantele de cultură bolnave.
2. Izolarea patogenului suspect – de pe plante cu simptome similare se izolează şi se produc culturi asemănătoare.
3. Obţinerea unei culturi pure şi utilizarea ei pentru a inocula materialul vegetal sănătos.
4. Realizarea de observaţii cu privire la simptomele manifestate de către plantele inoculate, simptomele ar

trebui să fie aceleaşi ca cele iniţiale observate pe plantele de cultură de pe care s-a izolat patogenul.

5. Reizolarea patogenului de pe noul material vegetal bolnav – cultura ar trebui să fie la fel ca şi cea originală purificată.

O parte importantă a procesului de diagnoză a bolii o reprezintă reproducerea bolii în timpul testului de patogenitate pentru a permite finalizarea şi confirmarea postulatului lui Koch. Boala poate fi reprodusă prin inocularea patogenului pe suprafaţa organelor plantelor în cazul în care coincide cu mecanismul de infecţie a acestuia sau prin introducerea patogenului direct în plantă (http://www.aciar.gov.au).

În ceea ce priveşte putregaiul uscat al tuberculilor de cartof (*Solanum tuberosum* L.), pentru testarea patogenităţii, se inserează un disc de miceliu cu diametrul de 3mm pe suprafaţa tuberculului de cartof, după ce în prealabil acesta a fost crestat într-un mod steril pe o lungime de 5 mm şi o adâncime de 2-3 mm. Tuberculii inoculaţi se incubează la o temperatură de 18-19^{o}C, iar simptomele încep să se dezvolte după o perioadă de 3 până la 5 zile, urmând să se facă o reizolare a ciupercii(http://ndrs.org.uk).

Factorii de care se ţin cont în testarea patogenităţii sunt: temperatura, excesul sau lipsa apei, toxicitatea sau deficienţa de nutrienţi, o încărcare nerealistă cu inocul a solului (fie prea puţin sau fie prea mult) şi condiţiile generale de creştere (http://www.aciar.gov.au).

BIBLIOGRAFIE

1. Andrews S., J.I. Pitt, 1986, Selective medium for isolation of *Fusarium* species and dematiaceous hyphomycetes from cereals, Applied Environmental Microbiology 51 (6), p. 1235-1238.
2. Boyd A.E.W., 1972, Potato storage diseases, Rev. Plant Pathol., 51: p. 297-321.
3. Booth C., 1977, *Fusarium*: Laboratory guide to identification of the major species, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
4. Burgess L.W., C.M. Liddell, 1983, Laboratory manual for *Fusarium* research, *Fusarium* Research Laboratory, Departament of Plant Pathology and Agricultural Entomology, The University of Sydney, Australia.

5. Desjardins A.E., 1995, Population structure of *Gibberella pulicaris* (anamorph *Fusarium sambucinum*) from potato tuber dry rot in North America and Europe. *American Potato Journal* 72: p. 145-156.
6. Dungan F.M., 2006, The identification of fungi: an illustrated introduction with keys, glossary and a guide to literature, American Phytopathological Society Press: St. Paul, Minnesota.
7. Hulea Ana, 1969, Ghid pentru laboratoare de micologie şi bacteriologie, Editura Agrosilvică, Bucureşti.
8. Kommedahl T., H.K. Abbas, P.M. Burnes, C.J. Mirocha, 1988, Prevalence and toxigenicity of *Fusarium* spp. from soils of Norway near the Arctic Circle, *Mycologia* 80: p. 790-794.
9. Leslie J.F., B.A Summerell, 2006, The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing: Oxford.
10. Lim, G., 1972, *Fusarium* populations in intensively cultivated soils, *Tropical Agriculture* 49: p. 77-80.
11. McMullen, M.V.P., R.W. Stack, 1983, Effect of isolation techniques and media on the differential isolation of *Fusarium* species. *Phytopathology* 73: p. 458-462.
12. Nelson, P.E., T.A. Tossoun, W.F.O. Marasas, 1983, *Fusarium* species, an illustrated manual for identification, The Pennsylvania State University Press, University Park and London.
13. Nelson, P.E., 1991, History of *Fusarium* systematic, Phytopathology, 81: p. 1045-1048.
14. Summerell B.A., J.F. Leslie, D. Backhouse, W.L. Bryden, L.W. Burgess, 2001, *Fusarium*: Paul E. Nelson memorial symposium, American Phytopathological Society Press: St. Paul, Minnesota.

***http://www.aciar.gov.au
***http://www.microbiologybytes.com
*** http://ndrs.org.uk
***http://www.plant-disease.ippc.orst.edu
***http://www.potatodiseases.org
***http://www.speciesfungorum.org
***http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu