

دارای رتبه علمی-پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

تعیین الگوی پروتئوزوم سویه های فوزاریوم ورتی سیلیوئیدس توکسین زای جدا شده از ذرت های مناطق
مختلف ایران به روش SDS-PAGE

چکیده

زمینه و هدف: برخی از گونه های فوزاریوم دارای اجزاء آلرژنی قوی بوده و گونه هایی نیز توکسین های متفاوتی مانند انواع فومونیزین و T_2 -toxin تولید می نمایند. از بین گونه های آلرژیک زاء، فوزاریوم سولانی دارای اهمیت زیادی می باشد و از میان گونه های توکسین زاء، فوزاریوم ورتی سیلیوئیدس (جیرلا مونیلیفرم) شدیداً توکسین زا بوده و بر روی برخی از محصولات کشاورزی انواع فومونیزین B_1 و B_2 را تولید می نماید. هدف از این مطالعه بررسی الگوی پروتئوزوم جدایه های قارچ فوزاریوم ورتی سیلیوئیدس از ذرت های مناطق مختلف ایران بود.

روش بررسی: در این مطالعه تعداد ۲۰ جدایه قارچ فوزاریوم ورتی سیلیوئیدس مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه ها در مطالعه قبلی از محصول ذرت مناطق مختلف ایران جدا گردیده بود. ابتدا میزان پروتئین نمونه ها از طریق روش برادفورد تعیین و سپس با استفاده از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید در حضور سدیم دو دسیل سولفات وزن ملکولی آنها مشخص گردید.

یافته ها: براساس نتایج بدست آمده، تعداد باندهای پروتئینی حاصل از عصاره شامل ۵۰ باند با وزن ملکولی بین ۷ تا ۱۵۷ کیلودالتون می باشد که حداکثر باندهای پروتئینی به جدایه های با کد F_4 و F_{10-C} با شدت توکسین زایی متوسط و حداکثر باندهای پروتئینی به جدایه های دارای کد M_2-a ، K_6 و A_7-b با شدت های توکسین زایی به ترتیب ضعیف، متوسط و قوی تعلق دارند.

نتیجه گیری: مقایسه الگوی پروتئوزوم جدایه ها با دسته بندی براساس شدت توکسین زایی بیانگر عدم وجود همبستگی بین الگوی پروتئینی آنها و میزان سم زایی جدایه ها می باشد. بدین معنی که با این الگونی توان قارچ های مذکور را از نظر توکسین زایی طبقه بندی نمود.

واژه های کلیدی: الگوی پروتئینی، فوزاریوم ورتی سیلیوئیدس، SDS-PAGE

روشنک داعی قزوینی

استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

علیرضا خسروی

استاد قارچ شناسی، مرکز تحقیقات قارچ شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ایران

سیدامیر غیاثیان

دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، ایران

نویسنده مسئول: روشنک داعی قزوینی

پست الکترونیک: roshanak1043@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۲۴۸۰۱۱۸۹

آدرس: دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

دریافت: ۹۳/۱۲/۱

ویرایش پایانی: ۹۳/۱۲/۲۵

پذیرش: ۹۴/۱/۱۷

آدرس مقاله

داعی قزوینی ر، خسروی ع، غیاثیان س ا "تعیین الگوی پروتئوزوم سویه های فوزاریوم ورتی سیلیوئیدس توکسین زای جدا شده از ذرت های مناطق مختلف ایران به روش SDS-PAGE" مجله علوم آزمایشگاهی، فروردین و اردیبهشت ۹۴، دوره

نم (شماره ۲): ۶۹-۶۱

مقدمه

فوزاریوم ورتی سیلیویدس یک قارچ کپکی غیر بیماریزا ولی به شدت توکسین زا می باشد که اغلب موجب بروز بیماری در برخی از محصولات کشاورزی بخصوص ذرت و سورگوم (ذرت خوشه ای) و نیز آلودگی جیره های دامی می گردد. این قارچ قادر است با تولید انواع فومونیزین های B_1 , B_2 , B_3 و در این محصولات و نیز سایر محصولات موجب بروز خسارات اقتصادی فراوان به کشاورزان و نیز تولید کنندگان مواد غذایی گردد(۱). علاوه بر زیان های اقتصادی وارده توسط مطالعات اپیدمیولوژیک انجام شده گزارش هایی مبنی بر ارتباط آماری قوی بین میزان بالای آلودگی ذرت به فوزاریوم های مولد فومونیزین ها با سرطان مری در نواحی آندمیک بیماری همچون چین، آفریقای جنوبی و ایالات متحده وجود دارد(۲). همچنین فوزاریوتوکسین ها موجب عوارض متنوعی در حیوانات به ویژه نشخوارکنندگان گردند(۳). با توجه به اهمیت میزان بالای مایکوتوکسین های ایجاد شده توسط این قارچ و دامنه متفاوت آن در جدایه ها، مطالعات بیشتر در این مورد ضروری به نظر می رسد. هدف از این مطالعه، بررسی الگوی پروتئوزوم سویه های جدا شده قارچ فوزاریوم ورتی سیلیویدس از نمونه های ذرت جمع آوری شده در مناطق مختلف ایران با استفاده از روش SDS-PAGE می باشد، تا بدین وسیله بتوان وجود یا عدم وجود همبستگی بین الگوی پروتئینی سویه ها را در مقایسه با شدت توکسین زایی آنها بیان نمود.

روش بررسی

تهیه جدایه و محیط کشت: تعداد ۲۰ جدایه قارچ فوزاریوم ورتی سیلیویدس که در مطالعه قبلی از نمونه های ذرت جمع آوری شده از مناطق مختلف ایران بدست آمده و در مرکز قارچ شناسی کشور آفریقای جنوبی به ثبت رسیده بودند با کدهای $A12$, $A10$, $A8-c$, $A7-b$, $A4$, $AL-b$, $F15-a$, $F14-a$, $F10-c$, $F8$, $F5-b$, $F4$, $A17$, $A13-a$, $F19$, $F18-a$, $M2-a$, $M5-b$, $KL-a$ و $K6$ مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). ابتدا جدایه های لیوفیلیزه شده در محیط پتیتودکستروز آگار (PDA) کشت داده شد و به مدت ۷ روز در دمای $27^{\circ}C$ قرار گرفت. پس از رشد مناسب و

اسپورولاسیون کافی، نمونه ها جهت انبوه سازی به ارلن های محتوی ۳۰۰ میلی لیتر محیط سابورودکستروزبرات و به مدت ۱۰-۷ روز در بن ماری شیکردار (Innova, USA) و دمای $27^{\circ}C$ انتقال یافت. سپس کلنی های قارچی حاصله از هر نمونه توسط پمپ خلاء، صاف گردید و توده های قارچی مربوط به هر نمونه هر کدام ۳ بار با آب مقطر استریل شستشو داده شد و سپس نمونه ها جهت استفاده بعدی در فریزر $20^{\circ}C$ - نگهداری گردیدند.

تهیه عصاره و تعیین مقدار پروتئین نمونه ها: سوسپانسیون حاوی اسپورها و میسلیم های هر نمونه ابتدا توسط دانه های شیشه ای (به قطر ۵/۵mm) بخوبی شکسته و پس از حصول اطمینان از میزان شکستگی سلولها حداقل به میزان ۷۰٪ با استفاده از میکروسکوپ نوری، جهت جداسازی پس مانده ها و سلولهای شکسته نشده طی سه مرحله در سانتریفوژ یخچال دار (Centurion, UK) در $25000g$ به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفت. مایع رویی پس از اندازه گیری مقدار پروتئین آن در هر نمونه با روش برادفورد در لوله های کوچک وارد و در فریزر $20^{\circ}C$ - نگهداری گردید.

روش SDS-PAGE: از این روش برای جداسازی پروتئین ها و تعیین وزن ملکولی آنها استفاده گردید. ابتدا با ساخت محلول های A (آکریل آمید ۲۹/۲ گرم و بیس آکریل آمید ۰/۸ گرم) ، B (Tris-Hcl ۲ مولار با $pH=8/8$ ، ۷۵ میلی لیتر، ۱۰٪ SDS ۴ میلی لیتر و آب مقطر ۲۱ میلی لیتر) و C (Tris-Hcl ۱ مولار با $pH=6/8$ ، ۵۰ میلی لیتر ، ۱۰٪ SDS ۴ میلی لیتر و آب مقطر ۴۶ میلی لیتر) با فرمول های ذکر شده مبادرت به تهیه ژل جدا کننده ۱۰٪ (محلول A ۵/۳ میلی لیتر، محلول B ۱/۵ میلی لیتر، آب مقطر ۳/۹ میلی لیتر، تیمید ۱۰ میکرولیتر، پرسولفات آمونیوم ۵۰ میکرولیتر) و نیز ژل ذخیره کننده (محلول A ۰/۶ میلی لیتر، محلول C ۱/۵ میلی لیتر، آب مقطر ۳/۹ میلی لیتر، تیمید ۱۰ میکرولیتر، پرسولفات آمونیوم ۵۰ میکرولیتر) گردید. تعداد ۲۰ نمونه مورد بررسی پس از اندازه گیری پروتئین و خواندن جذب نوری و نیز تهیه رقت یکنواخت از آنها، هر کدام به مقدار ۲۵ میکرولیتر در لوله های اپندرف تقسیم گردید و به مدت یک دقیقه در آب جوش

بین ۷ تا ۱۵۷ کیلودالتون بود. اغلب باندها به جز تعدادی از آنها قوی و مشخص بودند (شکل ۱ و ۲). بر این اساس اجزاء پروتئینی تشکیل دهنده عصاره جدایه های فوزاریوم ورتی سیلیویدس شامل باندهای: ۷ و ۸ و ۹ و ۱۰ و ۱۱ و ۱۲ و ۱۳ و ۱۳/۵ و ۱۴ و ۱۴/۵ و ۱۵ و ۱۶ و ۱۷ و ۱۸ و ۱۹ و ۲۱ و ۲۲/۵ و ۲۳ و ۲۴ و ۲۵ و ۲۷ و ۲۸ و ۳۰ و ۳۱/۵ و ۳۲ و ۳۳ و ۳۴ و ۳۶ و ۳۷/۵ و ۴۰ و ۴۳ و ۴۶ و ۴۹ و ۵۰ و ۵۲ و ۵۳ و ۵۴ و ۵۵ و ۵۸ و ۵۹ و ۶۰ و ۶۱ و ۷۵ و ۱۰۴ و ۱۰۷ و ۱۲۰ و ۱۳۰ و ۱۳۵ و ۱۴۵ و ۱۵۷ کیلودالتونی می باشد. همچنین

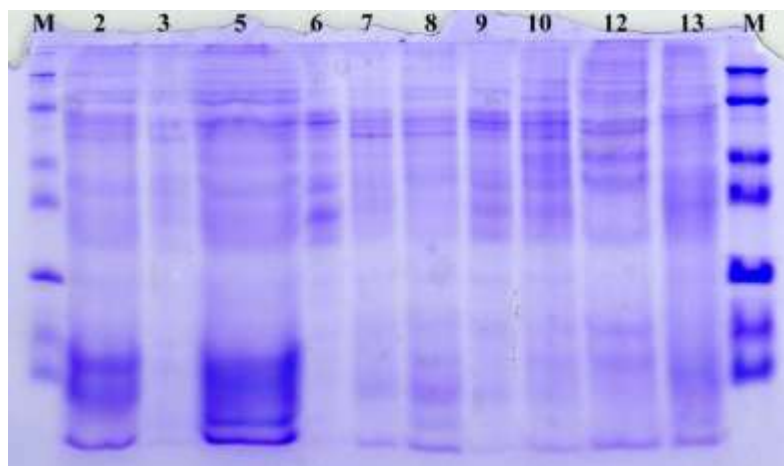
باندهای ۱۵ و ۱۴ و ۱۲ کیلودالتونی در کلیه جدایه ها حضور دارند (جدول ۲). جدایه های شماره ۱ و ۴ واجد حداکثر باندهای پروتئینی (۲۳ باند) با کدهای F4 ، F10-C و با شدت توکسین زایی متوسط و جدایه های شماره ۱۱ و ۱۳ و ۱۴ واجد حداقل باندهای پروتئینی (۱۲ باند) با کدهای A7-b ، k6، M2-a با شدت های توکسین زایی قوی، متوسط و ضعیف بودند. براساس آزمون آماری t-student test، ارتباط معنی داری بین شدن توکسین زایی فوزاریوم های تحت مطالعه و الگوی پروتئینی جدایه ها مشاهده نگردید. الگوهای پروتئینی متفاوتی در سه دسته جدایه های توکسین زای (قوی، متوسط و ضعیف) مشاهده شد.

قرار گرفت. مقدار ۲۵ میکرولیتر از بافر نمونه، (Tris-Hcl ۱ مولار با pH=۶/۸ ، ۱ میلی لیتر ، ۱۰% SDS ۲ میلی لیتر، سوکروز ۸۰ درصد ۱ میلی لیتر ، بروموفنل اشباع ۴ قطره و آب مقطر ۱۵ میلی لیتر) به لوله های محتوی عصاره های پروتئینی افزوده و در هر چاهک، ۵۰ میکرولیتر از مخلوط توسط سوزن هامپلتون وارد گردید. جهت تعیین وزن ملکولی از نشانگر SM0431 از شرکت fermentase کشور اسپانیا در چاهک های اول و آخر هر ردیف استفاده شد. جهت مشاهده وضوح بهتر باندها به علت تراکم بودن آنها یک بار نیز از ژل ۱۲/۵ درصد استفاده گردید.

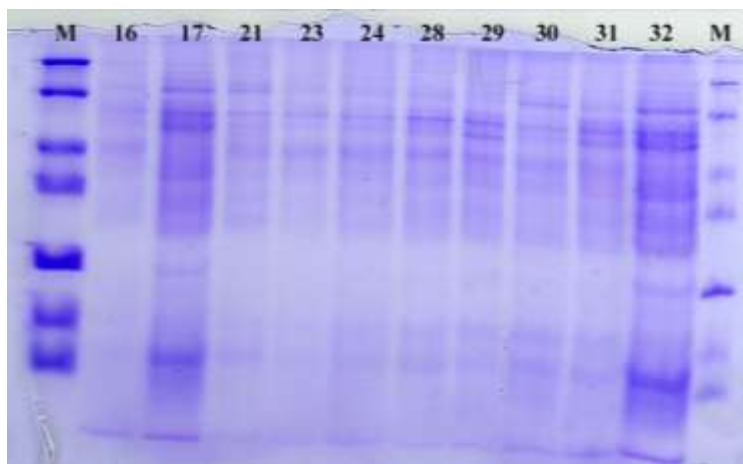
تعیین وزن ملکولی پروتئین ها: وزن ملکولی پروتئین های هر نمونه و نیز دانسیتمتری آن توسط نرم افزار UVI gel start MW متعلق به شرکت (UK و Cambridge و UVT Tec. LTd.) انجام پذیرفت. از آزمون آماری t-student test جهت تعیین ارتباط بین شدت توکسین زایی و الگوی پروتئینی جدایه ها استفاده گردید.

یافته ها

پس از تعیین وزن ملکولی باندهای پروتئینی حاصله از ۲۰ جدایه فوزاریوم ورتی سیلیویدس، در مجموع، تعداد ۵۰ باند پروتئینی در عصاره ها مشخص گردید که وزن ملکولی آنها



شکل ۱- الگوی الکتروفورزی جدایه های شماره های ۱ تا ۱۰ فوزاریوم ورتی سیلیویدس با استفاده از SDS-PAGE به روش SM0431



شکل ۲- الگوی الکتروفورزی جدایه های شماره ۲۰ تا ۱۱ فوزاریوم ورتی سیلیوییدس با استفاده از مارکر SDS-PAGE به روش SM0431

جدول ۱- گروه بندی جدایه های فوزاریوم ورتی سیلیوییدس از نظر شدت تولید فومونیزین B1 به سه گروه (ضعیف $\mu\text{g/g}$ ≤ 1000 متوسط $1000 < \mu\text{g/g} \leq 5000$ و قوی $\mu\text{g/g} > 5000$ به بالا)

ردیف	شماره نمونه	کد نمونه	میزان FB1	شدت توکسین زائی	تعداد باندهای پروتئینی
۱	۳۰	A12	۲۳۳	ضعیف	۲۳
۲	۷	F14-a	۲۵۸		۱۷
۳	۸	F15-a	۳۰۹		۱۹
۴	۳۱	A13-a	۳۲۳		۲۳
۵	۲۳	M2-a	۳۹۶		۱۷
۶	۱۳	A4	۴۰۴		۲۱
۷	۳	F5-b	۴۱۱		۱۸
۸	۱۰	F19	۴۱۸		۱۶
۹	۹	F18-a	۶۶۶		۲۰
۱۰	۲۴	M5-b	۷۲۰		۱۹
۱۱	۲۹	A10	۷۸۸	متوسط	۱۲
۱۲	۳۲	A17	۸۴۹		۱۵
۱۳	۶	F10-c	۱۸۵۴		۱۲
۱۴	۲	F4	۲۳۷۱		۱۲
۱۵	۲۱	K6	۳۵۶۳		۱۷
۱۶	۵	F8	۳۶۵۳		۱۳
۱۷	۱۷	KL-a	۵۶۷۵		۱۵
۱۸	۲۸	A8-c	۵۷۹۵		۱۴
۱۹	۱۶	A7-b	۸۲۲۰		۱۳
۲۰	۱۲	AL-b	۹۶۶۱	قوی	۱۷

MW No.	7	8	9	10	11	12	13	13.5	14	14.5	15	16	17	18	19	21	22.5	23	24	25	27	28	30	31.5	32	33	total	
۱	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	23	
2	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	17	
3	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	19	
4	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	23	
5	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	17	
6	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	21	
7	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	18	
8	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	16	
9	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	20	
10	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	19	
11	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	12	
12	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	15	
13	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	12	
14	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	12	
15	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	17	
16	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	13	
17	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	15	
18	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	14	
19	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	13	
20	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	17	
	3	6	7	8	9	20	8	4	20	6	20	11	11	5	7	10	5	6	2	4	4	5	7	5	11	4	333	
									-																		16	Total
																												M

MW	34	36	38	40	43	46	49	50	52	52	54	55	58	59	60	61	75	104	107	120	130	135	145	157	total	
No.																										
1	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	23	
2	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	17	
3	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	19	
4	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	23	
5	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	17	
6	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	21	
7	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	18	
8	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	16	
9	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	20	
10	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	19	
11	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	12	
12	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	15	
13	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	12	
14	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	12	
15	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	17	
16	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	13	
17	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	15	
18	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	14	
19	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	13	
20	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	17	
	5	5	7	4	8	6	6	3	3	4	3	4	8	4	3	8	10	6	5	5	6	4	5	3	333	Total
																									16	M

بحث

میانگین باندهای تولید شده ۱۶ بوده و حداکثر باند ایجاد شده یعنی ۲۳ باند مربوط به جدایه های شماره ۱ و ۴ و حداقل باندهای ایجاد شده یعنی ۱۲ باند به جدایه های شماره ۱۱ و ۱۳ و ۱۴ اختصاص دارد. مشاهدات و محاسبات آماری نشان داد که بین تعداد باندهای ایجاد شده، الگوی پروتئینی این جدایه ها و شدت توکسین زایی آنها ارتباط معنی داری وجود ندارد.

بنابراین با این الگو قادر به شناسایی جدایه های فوزاریوم ورتی سیلیویدس نمی باشیم. گرچه برخی از یافته ها در ارتباط با سایر گونه های فوزاریوم نتایج دیگری را در برداشته است. فتاحی نیا ، آقامیریان و همکاران بین جدایه های قارچ فوزاریوم سولانی جدا شده از هوای ایران و باندهای آلرژنیک ارتباط معناداری را به دست آوردند و بر این اساس الگوی پروتئینی مشخصی را جهت شناسایی جدایه های آلرژیک زای فوزاریوم سولانی معرفی نمودند (۵ و ۶). Verma و همکاران مهمترین جزء پپتیدی آلرژن را از فوزاریوم سولانی جدا کردند (۷). تا بحال براساس مراجعه به منابع اطلاعاتی گوناگون

مطالعه پروتئینی بین جدایه های مختلف فوزاریوم ورتی سیلیویدس در سطح دنیا صورت پذیرفته است.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که گرچه جدایه ها در یک گونه (ورتی سیلیویدس) قرار می گیرند ولی تنوع پروتئین های بدست آمده از آنها متفاوت می باشد. این تفاوت شاید در ارتباط با توانایی میزان تهاجم قارچ به بافت گیاه و شدت توکسین زایی از نظر سموم دیگر مانند T2-Toxin و زیرالنون باشد (۶). بنابراین مطالعات آینده با تکنیک های کامل تر مانند الکتروفورز دو بعدی نشان خواهد داد که آیا الگوی پروتئینی می تواند تعیین کننده شدت توکسین زایی سموم و الگوی تهاجم بافتی در گیاه باشد یا خیر؟

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات همکاران محترم دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران و آزمایشگاه قارچ شناسی بخاطر کمک های بی دریغ شان صمیمانه سپاسگزاری می نمایم.

References

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Manual on the application of the HACCP System in mycotoxin prevention and control. Food and Nutrition paper. 2001;73:1-48
2. Jurgenson, J. E., K. A. Zeller, and J. F. Leslie. 2002. Expanded map of *Gibberella moniliformis* (*Fusarium verticillioides*). *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1972–1979.
3. Ghiasian S.A, Parivash Kord-bacheh P, Rezayat S.M, Maghsood A.H, Taherkhani H. Mycoflora of Iranian Maize Harvested in the Main Production Areas in 2000. *Mycopathologia*, 2004; 158: 113–121.
4. Shokri H, Khosravi A.R, M. Mansouri M. Effects of *Zataria multiflora* and *Geranium pelargonium* essential oils on growth-inhibiting of some toxigenic fungi; Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 2011, Vol. 12, No. 3, Ser. No. 36.
5. Aghamirian M.R., Zaini F. Preparation of somatic antigen from *Fusarium solani* for serological diagnosis of fusariosis. *Scientific journal of hamedan university of medical sciences and health services*. 2005 , Volume 12 , Number 3 ; 24- 28.
6. Fatahinia A M, Khosravi A.R., Yadegari M.H. Comparison of the cytoplasmic proteins of *Fusarium solani* isolate, obtained from air and food sources in Iran by SDS - PAGE. *Scientific research Iranian veterinary journal*. 2009 , Volume 4 , Number 5 (22); 42 -48.
7. Verma J, Sridhara S, Singh B.P, Pasha S, Gangal S.V, Arora N. *Fusarium solani* major allergen peptide IV-1 binds IgE but does not release histamine. *Clin Exp Allergy*, (2001) Jun; 31(6):920-7.

