Agricultural Sci. J. 49 : 4 (Suppl.) : 147-150 (2018) ว. วิทย. กษ. 49 : 4 (พิเศษ) : 147-150 (2561)

การสร้างสารพิษฟูโมนิซินของเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่พบในเมล็ดข้าวโพด
Fumonisins Production of *Fusarium* spp. in Maize Kernels

สุพี วนศิรากุล[1] สมศิริ แสงโชติ[1] และอรอุมา เพียซ้าย[1]
Suphi Wanasirakul[1], Somsiri Sangchote[1] and Onuma Piasai[1]

Abstract

The aims of this study were to identify *Fusarium* species in maize kernels produced in Thailand and to evaluate their potential in fumonisins production. Six maize kernels samples at harvesting stage were collected from growers' farm located in Suphan Buri and Nakhon Ratchasima province. It was found that all of the maize kernels samples were contaminated with *Fusarium* spp. between 10.0 and 83.5% and 34 *Fusarium* isolates were detected. Identification of *Fusarium* isolates was based on morphological characteristics presented on PDA and CLA (carnation leaf-piece agar). They were *F. verticillioides* (17 isolates), *F. proliferatum* (11 isolates), *F. subglutinans* (1 isolate), *F. fujikuroi* (1 isolate) and *Fusarium* spp. (4 isolates). Of these 16 *Fusarium* isolates were investigated for their fumonisins productivity on YES (yeast extract sucrose agar) and maize kernels. Toxin production was analysed by ELISA (Enzyme- Linked Immunosorbent Assay) technique. Fumonisins on YES was detected between 0.9 and 279.5 µg/g associating with 15 isolates. The highest fumonisins content was produced by *F. verticillioides* (F301) at 279.5 µg/g and the lowest content was produced by *F. subglutinans* (F316) at 0.9 µg/g, whereas *F. fujikuroi* (F322) showed no fumonisins production. Fourteen *Fusarium* isolates were able to produce fumonisins on maize kernels in the range 47.3-66.1 µg/g, whereas *F. subglutinans* (F316) and *F. fujikuroi* (F322) did not produce fumonisins.

Keywords: Maize, *Fusarium*, fumonisins production

บทคัดย่อ

การศึกษาเชื้อราสกุล *Fusarium* ที่พบปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพดและการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium* ที่พบในเมล็ดข้าวโพด และศึกษาความสามารถในการสร้างสารพิษฟูโมนิซินของเชื้อราที่พบ ทำการเก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดจากแปลงเกษตรกรในระยะเก็บเกี่ยวจากจังหวัดสุพรรณบุรี และนครราชสีมา รวม 6 ตัวอย่าง พบว่ามีเชื้อรา *Fusarium* spp. ปนเปื้อนในทุกตัวอย่าง ปริมาณ 10.0 – 83.5% แยกเชื้อรา *Fusarium* ได้จำนวน 34 ไอโซเลท จำแนกชนิดเชื้อราจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหาร PDA และ CLA (carnation leaf-piece agar) ได้เป็น *Fusarium verticillioides* จำนวน 17 ไอโซเลท *F. proliferatum* จำนวน 11 ไอโซเลท *F. fujikuroi* จำนวน 1 ไอโซเลท *F. subglutinans* จำนวน 1 ไอโซเลท และ *Fusarium* spp. จำนวน 4 ไอโซเลท ตรวจสอบความสามารถในการสร้างสารพิษฟูโมนิซินของเชื้อรา *Fusarium* จำนวน 16 ไอโซเลท ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YES (yeast extract sucrose agar) และเมล็ดข้าวโพดบด วิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยวิธี ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) พบเชื้อรา 15 ไอโซเลทมีการสร้างสารพิษในอาหาร YES โดยพบว่า *F. verticillioides* (F301) สามารถสร้างสารพิษได้สูงสุด 279.5 ไมโครกรัมต่อกรัม *F. subglutinans* (F316) สร้างสารพิษในปริมาณต่ำสุด 0.9 ไมโครกรัมต่อกรัม และเชื้อรา *F. fujikuroi* (F322) ไม่สร้างสารพิษฟูโมนิซิน เมื่อตรวจสอบการสร้างสารพิษของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพด โดยทำการปลูกเชื้อและบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบเชื้อรา *Fusarium* จำนวน 14 ไอโซเลท สามารถสร้างสารพิษปริมาณตั้งแต่ 47.3 - 66.1 ไมโครกรัมต่อกรัม และพบว่าเชื้อรา *F. subglutinans* (F316) และ *F. fujikuroi* (F322) ไม่สร้างสารพิษฟูโมนิซินในเมล็ดข้าวโพด

คำสำคัญ: ข้าวโพด *Fusarium* การสร้างสารพิษฟูโมนิซิน

คำนำ

เชื้อรา *Fusarium* เป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญในข้าวโพดสามารถเข้าทำลายทั้งราก ลำต้นและฝัก พบได้ในทุกระยะการเจริญเติบโต แต่ที่พบเป็นสาเหตุของโรคในฝักหรือเมล็ด ได้แก่ โรค Fusarium ear rot เกิดจากเชื้อรา *Fusarium verticillioides*, *F. subglutinans* และ *F. proliferatum* และโรค Gibberella ear rot เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *F.*

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900
[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Bangkok 10900

graminearum และ *F. culmorum* โดยฝักหรือเมล็ดข้าวโพดที่ถูกเชื้อรากลุ่มนี้เข้าทำลายจะพบเส้นใยสีขาวหรือชมพูขึ้นปกคลุมบนฝัก และอาจพบอาการรอยขีดสีขาว (starburst) บนเมล็ด (Munkvold, 2003) เชื้อราเหล่านี้พบระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวโพดทั่วโลกทั้งในทวีปยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย และเอเชีย การเจริญของเชื้อราทำความเสียหายโดยตรงกับผลิตผลเกษตร ทำให้เกิดการเน่าเสีย เมล็ดเสื่อมคุณภาพ การนำไปใช้ประโยชน์ทั้งการแปรรูปเป็นอาหารคนและอาหารสัตว์ลดลง (Channaiah and Maier, 2014) นอกจากนี้หากสภาวะแวดล้อมเหมาะสม เชื้อราบางชนิดอาจสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เป็นพิษไว้ในผลิตผลเกษตรได้อีกด้วย สารพิษที่เชื้อราสร้างขึ้น เรียกว่า สารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxins) ซึ่งสารพิษจากเชื้อราที่พบเป็นปัญหากับเมล็ดข้าวโพดในหลายประเทศทั่วโลก ได้แก่ สารพิษฟูโมนิซิน (fumonisins) หากมีการปนเปื้อนของสารพิษในเมล็ดข้าวโพดและนำเมล็ดเหล่านั้นไปใช้เป็นอาหารสัตว์ สัตว์จะได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกายทำให้เจ็บป่วยหรือล้มตาย ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ และหากมนุษย์บริโภคเนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ มนุษย์อาจได้รับสารพิษเหล่านั้นด้วย (กรมวิชาการเกษตร, 2560)

สารพิษฟูโมนิซินพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1988 โดย Gelderblom *et al*. (1988) สร้างโดยเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* เช่น *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. anthophilum*, *F. globosum*, *F. napiforme*, *F. nygamai*, *F. oxysporum*, *F. subglutinans* และ *F. thapsinum* เป็นต้น แต่ที่สามารถสร้างสารพิษฟูโมนิซินได้ในปริมาณสูง ได้แก่ *F. verticillioides* และ *F. proliferatum* (Desjardins, 2006) ฟูโมนิซินเป็นสารพิษที่ก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์ มีความเป็นพิษต่อตับ ไต และระบบประสาท (กรมวิชาการเกษตร, 2560) และมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งที่หลอดอาหาร (Marasas *et al*., 1981) ในหลายประเทศมีการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษฟูโมนิซินในผลิตผลเกษตร ส่วนใหญ่พบการเข้าทำลายของเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* ซึ่งเป็นกลุ่มที่สร้างสารพิษชนิดนี้ สำหรับประเทศไทยพบการปนเปื้อนของเชื้อรา *Fusarium* หลายชนิดในเมล็ดข้าวโพด ซึ่งอาจเป็นชนิดที่สามารถสร้างหรือไม่สร้างสารพิษ ฉะนั้นการศึกษาการสร้างสารพิษฟูโมนิซินของเชื้อรา *Fusarium* ที่พบในเมล็ดข้าวโพดของประเทศไทยจะทำให้ทราบชนิดของราที่สามารถสร้างสารพิษฟูโมนิซิน และใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษจากเชื้อรา ตลอดจนใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาแนวทางป้องกัน เพื่อลดความเสี่ยงที่อาจจะได้รับสารพิษทำให้มีความปลอดภัยต่อสุขภาพมนุษย์และสัตว์

อุปกรณ์และวิธีการ

การจำแนกชนิดเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่พบปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพด

เก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดในระยะเก็บเกี่ยวจากจังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 2 ตัวอย่าง และนครราชสีมา จำนวน 4 ตัวอย่าง แยกเชื้อราโดยวิธี direct plate method ฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดด้วย 1% sodium hypochlorite วางตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา DG18 (dichloran18% glycerol agar) จำนวน 10 เมล็ดต่อจานเลี้ยงเชื้อ รวม 400 เมล็ดต่อตัวอย่าง บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราในวันที่ 4 ของการบ่ม เลี้ยงเชื้อราที่เจริญจากสปอร์เดี่ยวบนอาหาร PDA และ CLA (carnation leaf-piece agar) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จำแนกชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยเปรียบเทียบลักษณะที่พบจาก The *Fusarium* Laboratory ของ Leslie *et al*. (2006)

การตรวจสอบความสามารถในการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน

ตรวจสอบการสร้างสารพิษในอาหาร YES (yeast extract sucrose agar) โดยเลี้ยงเชื้อรา *Fusarium* spp. บนอาหาร YES บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เจาะชิ้นวุ้นที่มีโคโลนีของเชื้อราเจริญ จำนวน 4 ชิ้น (agar plug) ใส่ในหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร สกัดด้วย methanol: acetonitrile: water (25: 25: 50) เขย่าเป็นเวลา 60 นาที ปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที กรองสารสกัดด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยวิธี ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปของ Veratox® NEOGEN

ตรวจสอบการสร้างสารพิษในเมล็ดข้าวโพด โดยตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* spp. อายุ 7 วัน ที่เจริญบนอาหาร PDA ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 3 ชิ้น ใส่ลงในเมล็ดข้าวโพดบดปริมาณ 25 กรัม ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และปรับค่า water activity ให้เท่ากับ 0.95 แล้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน สกัดด้วย 80% methanol นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยวิธี ELISA

ผล

การจำแนกชนิดเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่พบปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพด

พบการปนเปื้อนของเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 10.0-83.5% แยกเชื้อรา *Fusarium* ได้ 34 ไอโซเลท จำแนกชนิดเชื้อราจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้เป็น *F. verticillioides* (17 ไอโซเลท) *F. proliferatum* (11 ไอโซเลท) *F. subglutinans* (1 ไอโซเลท) *F. fujikuroi* (1 ไอโซเลท) และ *Fusarium* spp. (4 ไอโซเลท) (Table 1) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังนี้

Table 1. Contamination of *Fusarium* spp. in maize kernels and the species *Fusarium* identifiled by morphological characteristics.

Sample	Location	*Fusarium* contamination (%)	No. of isolates	Species of *Fusarium**				
				Fv	Fp	Fs	Ff	*Fusarium* spp.
1	Suphan Buri	10.0	3	1	2			
2	Suphan Buri	40.8	5	2	1	1	1	
3	Nakhon Ratchasima	39.8	4	2	1			1
4	Nakhon Ratchasima	35.5	7	3	3			1
5	Nakhon Ratchasima	40.0	5	3	2			
6	Nakhon Ratchasima	83.5	10	6	2			2
total		41.6	34	17	11	1	1	4

*Fv= F. verticillioides, Fp= F. proliferatum, Fs= F. subglutinans, Ff= F. Fujikuroi

F. verticillioides โคโลนีบนอาหาร PDA เริ่มแรกมีสีขาว เมื่อแก่มีสีชมพูถึงม่วง macroconidia รูปร่างยาวเรียว มี 4-6 เซลล์ เซลล์ที่ฐานมีลักษณะแบบ foot-shaped สร้าง microconidia รูปไข่หรือกระบอง ปลายฐานเรียบ มีเซลล์เดียว เกิดแบบ false heads หรือเรียงต่อกัน chains ยาว บน monophialides

F. proliferatum โคโลนีบนอาหาร PDA เริ่มแรกมีสีขาว เมื่ออายุมากขึ้นมีสีชมพูถึงม่วง macroconidia รูปร่างยาวเรียว มี 4-6 เซลล์ microconidia รูปร่างกระบอง ปลายฐานเรียบ มีเซลล์เดียว เกิดแบบ false heads หรือ chains บน monophialides และ polyphialides

F. subglutinans โคโลนีบนอาหาร PDA เริ่มแรกมีสีขาว เมื่อแก่มีสีชมพูถึงม่วง มีเส้นใยสีขาวปกคลุม macroconidia รูปร่างยาวเรียว มี 4-6 เซลล์ microconidia รูปไข่ เซลล์เดียว เกิดแบบ false heads บน monophialides และ polyphialides

F. fujikuroi โคโลนีบนอาหาร PDA เริ่มแรกมีสีขาวถึงน้ำตาลอ่อนๆ เมื่อแก่มีสีม่วงถึงม่วงแดง สร้าง pigment สีน้ำตาลถึงม่วงแดง macroconidia รูปร่างยาวเรียว มี 4-6 เซลล์ microconidia รูปไข่หรือกระบอง มี 1-2 เซลล์ เกิดแบบ false heads และ chains สั้น บน monophialides และ polyphialides

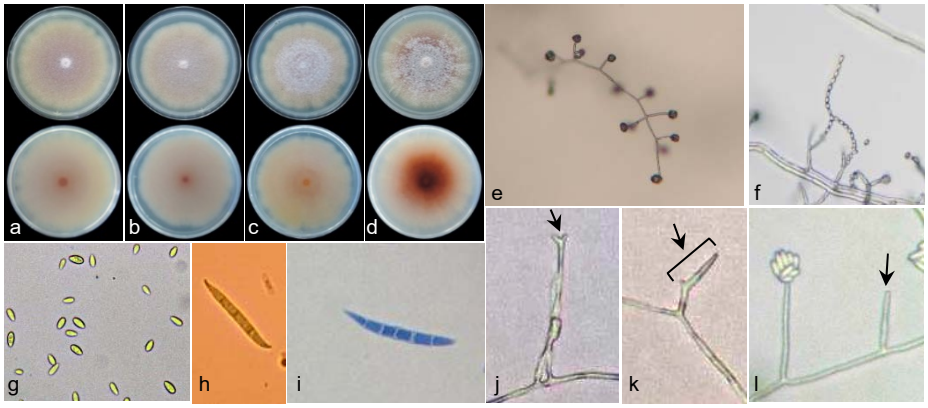

Figure 1. Morphological characteristics of *Fusarium* spp. (a-d) colony on PDA after 7 days at 25 °C; *F.verticilioides*, *F.proliferatum*, *F.subglutinans* and *F.fujikuroi*, respectively, (e) microconidia forms in false heads, (f) microconidia forms in chains, (g) oval-shaped microconidia, (h) 3 septate macroconidia, (i) 5 septate macroconidia, (j-k) polyphialides, (l) monophialide

การตรวจสอบความสามารถในการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน

พบการสร้างสารพิษของเชื้อรา *Fusarium* ในอาหาร YES และเมล็ดข้าวโพดบด ปริมาณ 0.9-279.5 และ 47.3-66.1 µg/g ตามลำดับ ซึ่ง *F. verticillioides* และ *F. proliferatum* ทุกไอโซเลทที่นำมาทดสอบมีการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน โดย *F. verticillioides* (F301) สามารถสร้างสารพิษในอาหาร YES ได้สูงสุด 279.5 µg/g และ *F. verticillioides* (F328) สร้างสารพิษในเมล็ดข้าวโพดได้สูงสุด 66.1 µg/g รา *F. subglutinans* (F316) สร้างสารพิษในอาหาร YES ได้ในปริมาณต่ำ 0.9 µg/g แต่ไม่พบการสร้างสารพิษในเมล็ดข้าวโพด และไม่พบการสร้างสารพิษในอาหาร YES และเมล็ดข้าวโพดของรา *F. fujikuroi* (F322) (Table 2)

Table 2. Concentration of fumonisins on YES and maize kernels produced by *Fusarium* spp. isolated from maize kernels.

Isolates	Species of *Fusarium**	Fumonisins concentration (μg/g)		Isolates	Species of *Fusarium**	Fumonisins concentration (μg/g)	
		YES	Maize kernels			YES	Maize kernels
F107	Fv	162.9	56.3	F328	Fv	142.0	66.1
F301	Fv	279.5	62.5	F401	Fv	66.1	55.4
F303	Fv	194.3	64.1	F402	Fv	59.4	56.3
F304	Fv	48.0	55.9	F403	Fp	83.9	47.3
F306	Fp	38.8	52.1	F405	Fp	19.3	63.2
F316	Fs	0.9	0	F407	Fv	11.9	61.0
F319	Fv	55.6	54.6	F410	Fp	60.6	56.6
F322	Ff	0	0	F413	Fv	78.8	59.1

*Fv= F. verticillioides, Fp= F. proliferatum, Fs= F. subglutinans, Ff= F. Fujikuroi

วิจารณ์ผล

เชื้อรา *Fusarium* ที่พบปนเปื้อนในตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดมากที่สุด ได้แก่ *F. verticillioides* รองลงมาคือ *F. proliferatum* ซึ่งทั้งสองชนิดเป็นสาเหตุหลักของโรค Fusarium ear rot ของข้าวโพด และมีความเกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซิน (Munkvold, 2003) รา *Fusarium* ที่พบจัดอยู่ใน section Liseola ซึ่งแต่ละชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมาก มีเพียงบางลักษณะที่แตกต่างกัน เช่น *F. verticillioides* จะพบการสร้าง microconidia บน monophialides ขณะที่ *F. proliferatum* พบสร้างทั้งบน monophialides และ polyphialides และการสร้าง microconidia แบบ chains ของ *F. verticillioides* จะยาวกว่า *F. proliferatum* ส่วน *F. subglutinans* จะไม่พบการสร้าง microconidia แบบ chains (Leslie *et al*., 2006) การสร้างสารพิษฟูโมนิซินพบว่า *F. verticillioides* และ *F. proliferatum* สามารถสร้างสารพิษได้ในปริมาณค่อนข้างสูง ซึ่ง Desjardins (2006) รายงานไว้ว่า *F. verticillioides* และ *F. proliferatum* มีศักยภาพในการสร้างสารพิษฟูโมนิซินได้สูงกว่า *Fusarium* ชนิดอื่น *F. subglutinans* สร้างสารพิษฟูโมนิซินในอาหาร YES ได้ในปริมาณต่ำ และไม่พบการสร้างสารพิษในเมล็ดข้าวโพดบด ส่วน *F. fujikuroi* ไม่พบการสร้างสารพิษทั้งในอาหาร YES และเมล็ดข้าวโพดบด สอดคล้องกับการศึกษาของ Chulze *et al.* (1998) ที่พบว่า *F. verticillioides* สร้างสารพิษฟูโมนิซินได้สูงสุดเฉลี่ย 2,000 μg/g *F. proliferatum* สร้างสารพิษได้เฉลี่ย 1,690 μg/g และ *F. subglutinans* สร้างสารพิษฟูโมนิซินได้น้อยที่สุดเฉลี่ย 5 μg/g

สรุป

เชื้อรา *Fusarium* spp. เป็นสาเหตุของโรคทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวโพด โดยพบ *F. verticillioides* ปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพดสูงสุด รองลงมาคือ *F. proliferatum* และทุกไอโซเลทของ *F. verticillioides* และ *F. proliferatum* ที่นำมาตรวจสอบการสร้างสารพิษฟูโมนิซินสามารถสร้างสารพิษได้ทั้งในอาหาร YES และในเมล็ดข้าวโพดบด ซึ่ง *F. verticillioides* มีความสามารถในการสร้างสารพิษฟูโมนิซินได้สูงสุด *F. subglutinans* สร้างสารพิษฟูโมนิซินในอาหาร YES ได้ในปริมาณน้อย แต่ไม่พบการสร้างสารพิษในเมล็ดข้าวโพดบด และไม่พบการสร้างสารพิษของรา *F. fujikuroi*

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2560. สารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ. 90 น.

Channaiah, L. H. and D.E. Maier. 2014. Best stored maize management practices for the prevention of mycotoxin contamination. pp. 78- 88. *In* J. F. Leslie and A. F. Logrieco (eds.). Mycotoxin Reduction in Grain Chains. New Delhi, India.

Chulze, S.N., M.L. Ramirez, M.A. Pascale and A. Visconti. 1998. Fumonisin production by, and mating populations of *Fusarium* section *Liseola* isolates from maize in Argentina. Mycol. Res. 102: 141-144.

Desjardins, A. E. 2006. *Fusarium* Mycotoxins Chemistry, Genetics, and Biology. The American Phytopathological Society, U.S.A. 260 p.

Gelderblom, W.C., K. Jaskiewicz, W.F. Marasas, P.G. Thiel, R.M. Horak, R. Vleggaar and N.P. Kriek. 1988. Fumonisins--novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. Appl. and Environ. Microbiol. 54(7): 1806-1811.

Leslie, J.F., B.A. Summerell and S. Bullock. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Wile-Blackwell Publishing. 388 p.

Marasas, W. F. O., F. C. Wehner, S. J. van Rensburg and D. J. Schalkwyk. 1981. Mycoflora of corn produced in human esophageal cancer area in Transkei, Southern Africa. Phytophathology 71: 792-796.

Munkvold, G.P. 2003. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. Eur. J. of Plant Pathol. 109: 705-713.