ATTI *Giornate Fitopatologiche*, 2018, 2, 671-680

# IDENTIFICAZIONE DI *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *OPUNTIARUM* SU NUOVI OSPITI DELLE FAMIGLIE CACTACEAE ED EUPHORBIACEAE

D. BERTETTI[1], M. L. GULLINO[1,2], A. GARIBALDI[1]
[1]Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale (Agroinnova)
Università degli Studi di Torino, Largo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)
[2]DiSAFA - Università degli Studi di Torino, Largo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)
domenico.bertetti@unito.it

## RIASSUNTO

*Fusarium oxysporum* è stato isolato, per la prima volta in Italia, da piante succulente appartenenti alle famiglie delle Cactaceae (*Astrophytum myriostigma*, *Cereus marginatus* var. *cristata*, *C. peruvianus monstruosus* e *C. peruvianus florida*) e delle Euphorbiaceae (*Euphorbia mammillaris*) coltivate presso aziende liguri. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di identificare la *forma specialis* di appartenenza dei nuovi isolati di *F. oxysporum*. Lo studio è stato condotto con isolati monoconidici, saggiati in prove di patogenicità e utilizzati per l'analisi filogenetica basata sul fattore di elongazione 1α (TEF) e sulla regione IGS (*Intergenic spacer*). *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* è stato identificato per i quattro nuovi ospiti appartenenti alle Cactaceae. Inoltre, la stessa *forma specialis* è stata identificata, per la prima volta, su un ospite (*Euphorbia mammillaris*) non appartenente alle Cactaceae.
**Parole chiave:** piante ornamentali, piante succulente, parassiti terricoli, fusariosi

## SUMMARY

*FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *OPUNTIARUM* ON NEW HOSTS BELONGING TO THE CACTACEAE AND EUPHORBIACEAE FAMILIES

*Fusarium oxysporum* was recently isolated on new succulent plants belonging to the Cactaceae family (*Astrophytum myriostigma*, *Cereus marginatus* var. *cristata*, *C. peruvianus monstruosus* and *C. peruvianus florida*) and to the Euphorbiaceae (*Euphorbia mammillaris*) grown in farms located in Liguria (Northern Italy). The aim of this work was the identification of the *forma specialis* of these *F. oxysporum* isolates. Phylogenetic analyses based on the TEF gene and the intergenic spacer (IGS) were carried out on single-spore isolates. The latter ones were tested also in pathogenicity assays. *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* was identified for the first time on the four hosts belonging to Cactaceae. Furthermore, this *forma specialis* was identified for the first time on *Euphorbia mammillaris*, belonging to Euphorbiaceae.
**Keywords:** ornamentals, succulent plants, soil-borne pathogens, Fusarium wilt

## INTRODUZIONE

La coltivazione delle piante ornamentali è una risorsa economica interessante per il nostro paese, dove rappresenta un importante comparto del settore agricolo, con il 5,4% della produzione totale (INEA, 2014). Nel 2010, la Liguria contava 4.271 aziende agricole produttrici di piante ornamentali, dislocate su circa 2.670 ettari (ISTAT, 2010). In questa regione sono numerose le specie ornamentali coltivate e, tra queste, anche le piante succulente. Le numerose nuove specie introdotte per diversificare le coltivazioni, l'effetto della globalizzazione e le produzioni intensive determinano l'aumento del numero di potenziali ospiti e l'introduzione di nuovi parassiti fungini. Tra questi vi è *Fusarium oxysporum* di cui sono state descritte più di 120 differenti *forme speciales* (Baayen et al., 2000; O'Donnell et al., 2009). L'identificazione delle diverse *formae speciales* e delle razze fisiologiche di *F.*

*oxysporum*, in passato basata soltanto su prove di suscettibilità varietale che sfruttano la loro specificità e le discriminano in base agli ospiti che infettano (Recorbet et al., 2003), è ora affiancata da strumenti diagnostici molecolari (Lievens et al., 2012). Per identificare le *formae speciales* di *F. oxysporum* sono stati sviluppati diversi marcatori basati su particolari sequenze di acido desossiribonucleico (DNA) (Baayen et al., 2000; Groenewald et al., 2006). Per condurre le analisi filogenetiche vengono studiati diversi geni come l'elongation factor 1α (TEF) e le regioni IGS (Intergenic Spacer).

Negli ultimi anni, attacchi di *F. oxysporum* sono stati riscontrati su cinque nuovi ospiti coltivati presso aziende situate nella provincia di Imperia. I nuovi ospiti sono piante succulente appartenenti alle Cactaceae: *Astrophytum myriostigma* (Garibaldi et al., 2015b), *Cereus peruvianus monstruosus* (Garibaldi et al., 2011), *C. peruvianus florida* (Garibaldi et al., 2015a) e *C. marginatus* var. *cristata* (Garibaldi et al., 2014). A queste si aggiunge *Euphorbia mammillaris* delle Euphorbiaceae (Garibaldi et al., 2015c). Lo scopo di questo lavoro è stato quello di identificare la *forma specialis* di questi nuovi isolati di *F. oxysporum*.

## MATERIALIE METODI

### Isolati impiegati

Gli isolati di *F. oxysporum* di partenza sono stati ottenuti da piante coltivate in aziende di Bordighera, Vallecrosia e Ventimiglia (IM), utilizzando i substrati colturali PDA (Potato Dextrose Agar) e/o Komada (Komada, 1975). Sono stati scelti due isolati per ogni nuovo ospite. Inoltre, due ceppi di *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* sono stati impiegati come riferimenti: il primo isolato da *Echinocactus grusonii* (Polizzi e Vitale, 2004; collezione Prof. G. C. Polizzi, Università di Catania), il secondo da *Zygocactus truncatus* (CBS 743.79; collezione CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center, Olanda). Per ciascun isolato scelto, erano ottenuti i ceppi monoconidici utilizzati in questo lavoro (tabella 1).

Tabella 1. Isolati monoconidici di *Fusarium oxysporum* utilizzati

| Isolati impiegati | Ospite | Origine degli isolati |
|---|---|---|
| DB13GIU05-22M | *C. marginatus* | Ventimiglia, Imperia |
| DB13GIU06-26M | *C. marginatus* | Ventimiglia, Imperia |
| DB210211-18M | *C. peruvianus monstruosus* | Bordighera, Imperia |
| DB220211-21M | *C. peruvianus monstruosus* | Bordighera, Imperia |
| DB14OTT05-M1 | *A.myriostigma* | Vallecrosia, Imperia |
| DB14OTT07-M1 | *A. myriostigma* | Vallecrosia, Imperia |
| DB14NOV08-M1 | *C. peruvianus florida* | Vallecrosia, Imperia |
| DB14NOV09-M1 | *C. peruvianus florida* | Vallecrosia, Imperia |
| DB14OTT16-M1 | *E. mammillaris* | Vallecrosia, Imperia |
| DB14OTT17-M1 | *E. mammillaris* | Vallecrosia, Imperia |
| Polizzi-31M * | *E. grusonii* | Prof. Polizzi, Università di Catania |
| CBS 743.79 * | *Z. truncatus* | CBS-KNAW, Olanda |

* Isolati di *Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum* di riferimento

**Saggi di patogenicità**

Gli isolati elencati in tabella 3 sono stati inoculati artificialmente su piante di *Schlumbergera truncata* (tre piante per isolato) notoriamente suscettibile a *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* (Lops et al., 2013). Le piante di *S. truncata* venivano inoculate ferendo i fusti con aghi infetti (tre lesioni/pianta), seguendo il metodo descritto da Talgø e Stensvand (2013). Inoltre, i due *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* di riferimento sono stati inoculati sui cinque nuovi ospiti segnalati recentemente in Liguria, seguendo la stessa metodologia riportata (tabella 4). Le piante testimone erano ferite con aghi sterilizzati. Tutte le piante erano mantenute in serra, a temperature medie giornaliere variabili da 23 a 25°C. Alla comparsa dei primi sintomi sulle piante inoculate, ogni 4-7 giorni erano effettuati rilievi, misurando il diametro dell'area marcescente. La gravità degli attacchi era valutata con una scala da 0 a 100 (0 = assenza di marciume; 25 = diam. 0 - 5 mm; 50 = diam. 6 - 10 mm; 75 = diam. 11 - 20 mm; 100 = diam. > 21 mm). Quindi, l'indice di malattia veniva calcolato utilizzando la seguente formula: $(25n_1 + 50n_2 + 75n_3 + 100n_4)$ / numero totale di piante utilizzate, dove n indica il numero di marciumi che hanno totalizzato 25 ($n_1$), 50 ($n_2$), 75 ($n_3$), 100 ($n_4$) della scala. Infine, ogni specie saggiata era assegnata una delle seguenti classi di suscettibilità: R = Resistente (indice di malattia 0-5); PR = Parzialmente Resistente (indice di malattia 6-20); MS = Moderatamente Suscettibile (indice di malattia 21-50); S = Suscettibile (indice di malattia 51-75); AS = Altamente Suscettibile (indice di malattia 76-100).

**Estrazione del DNA**

L'estrazione di DNA è stata eseguita usando il "Fungal DNA Mini Kit" della E.Z.N.A (Omega Bio-Tek). Ogni isolato elencato in tabella 1 è stato coltivato in 50 mL di PDB (*Potato Dextrose Broth*) a 25°C, per 6 giorni. Successivamente, ogni coltura è stata filtrata, trasferendo 50 µg di micelio in microtubi da 2mL contenenti 400 µL di *buffer* di lisi e due biglie di tungsteno (Qiagen Stainless Steel Beads, 5 mm). L'omogeneizzazione è stata eseguita utilizzando un *TissueLyser* della Qiagen per 4 minuti (con 30 movimenti / sec) e dal lisato ottenuto è stato estratto il DNA. La concentrazione ottenuta è stata misurata tramite *NanoDrop* e il DNA conservato a -20°C.

**Amplificazione PCR**

L'analisi filogenetica è stata basata sul TEF e sulle regioni IGS. I *primer* utilizzati per amplificare il TEF sono stati gli EF1 e EF2 (tabella 2).

Tabella 2. Primers utilizzati per amplificare i geni di poligalatturonasi

| Gene | Primer | Sequenze Nucleotidiche (5'→3') | Origine |
|---|---|---|---|
| EF-1α | Ef1 | ATGGGTAAGGAAGACAAGAC | O'Donnell et al., 1998 |
| | Ef2 | GGAAGTACCAGTGATCATGTT | |
| IGS | CNS1 | CCAGAGTGCCGATACCGATT | Appel e Gordon, 1995 |
| | CNL12 | GCTTAGYGAACAKGGAGTG | |

Il termociclatore usato è stato un T100 della Biorad e la PCR è stata eseguita con 10 ng di DNA genomico, 1 µL di concentrazione 10 µM di ogni *primer*, 1 unità di DNA polimerasi Taq (Qiagen), 2 µL di buffer da PCR 10X, 1 µL di dNTPs (concentrazione finale: 0,25 mM) e 0,8 µL di $MgCl_2$, per un volume finale di 20 µL. Il programma usato per l'amplificazione

comprendeva i seguenti passaggi: un passaggio iniziale di 5 min a 94°C, 35 cicli composti da 1 min a 94°C, 1 min a 58°C e 1 min a 72°C, e un passaggio finale di 7 min a 72°C. La PCR eseguita per amplificare la regione IGS è stata preparata con 30 ng di DNA genomico, 5 µL di concentrazione 10 µM dei *primer* CNL12 e CNS1, tre unità di DNA polimerasi Taq (Qiagen), 5 µL di *buffer* da PCR 10X, 5 µL di dNTPs (concentrazione finale: 0,25 mM) e 10 µL di soluzione Q 5X per amplificare le regioni ricche di G-C, per un volume finale di 50 µL. Un testimone negativo è stato inserito in tutti gli esperimenti, e il risultato dell'amplificazione è stato controllato tramite corsa elettroforetica su gel di agarosio 1% (Agarose D-1 LOW EEO, Eppendorf). I prodotti della PCR sono stati purificati con il "QIAquick PCR purification kit" della Qiagen e quindi analizzati tramite NanoDrop e mandati alla Macrogen per essere sequenziati (http://www.macrogen.com/eng/). Il TEF è stato sequenziato in entrambe le direzioni, mentre per la regione IGS si sono usati anche i *primer* interni CNS e CRU.

**Allineamento e analisi filogenetica**

E' stato usato Blastn (NCBI) con i parametri standard per identificare sequenze simili a quelle ottenute con l'amplificazione, quindi è stata eseguita l'analisi filogenetica. Le sequenze sono state allineate con Clustalw, usando il programma Mega6 (Tamura et al., 2013), con parametri standard, dopodiché sono state corrette e ripulite manualmente in ogni allineamento e Mega6 è stato usato per ottenere un albero filogenetico tramite il metodo "Neighbor joining". Si sono impostate 1000 ripetizioni di "bootstrap" ed è stata attivata l'opzione "pairwise deletion", mentre le distanze evolutive sono state calcolate con il metodo di Tajima-Nei, usando come unità di misura il numero di sostituzioni nucleotidiche per ogni sito. L'analisi ha compreso i due *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* di riferimento e le sequenze derivate da varie *formae speciales* di *F. oxysporum* scaricate da GenBank.

## RISULTATI

**Saggi di patogenicità**

*S. truncata* presentava elevata suscettibilità a tutti gli isolati saggiati, mostrando marciumi attorno alle ferite estesi fino al fusto, da cui *F. oxysporum* veniva costantemente reisolato (tabella 3).

Tabella 3. Test di patogenicità condotto su piante di *S. truncata* inoculate con isolati di *Fusarium oxysporum* ottenuti da piante succulente

| Isolati di *Fusarium oxysporum* inoculati (specie di provenienza) | Suscettibilità di *S. truncata* |
|---|---|
| Testimoni | R* |
| DB13GIU05-22M (*C. marginatus*) | AS |
| DB13GIU06-26M (*C. marginatus*) | AS |
| DB210211-18M (*C. peruvianus monstruosus*) | AS |
| DB220211-21M (*C. peruvianus monstruosus*) | AS |
| DB14OTT07-M1 (*A. myriostigma*) | AS |
| DB14NOV09-M1 (*C. peruvianus florida*) | AS |
| DB14OTT16-M1 (*E. mammillaris*) | AS |
| *F. opuntiarum* Polizzi-31M (*E. grusonii*) | AS |
| *F. opuntiarum* CBS 743.79 (*Z. truncates*) | AS |

*R = Resistente (indice di malattia 0–5); PR = Parzialmente Resistente (indice di malattia 6–20); MS = Moderatamente Suscettibile (indice di malattia 21–50); S = Suscettibile (indice di malattia 51–75); AS = Altamente Suscettibile (indice di malattia 76–100)

I testimoni rimanevano sani. Inoltre, tutte le nuove specie succulente saggiate mostravano vari gradi di suscettibilità ai due isolati di *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* di riferimento (tabella 4).

Tabella 4. Suscettibilità di piante succulente artificialmente inoculate con isolati di *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* di riferimento

| Specie saggiate | Isolati di *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* saggiati | | |
|---|---|---|---|
| | Testimoni | Polizzi-31M | CBS 743.79 |
| *A. myriostigma* | R* | AS | AS |
| *C. marginatus* | R | MS | MS |
| *C. peruvianus monstruosus* | R | MS | S |
| *C. peruvianus florida* | R | AS | AS |
| *E. mammillaris* | R | MS | MS |

*R = Resistente (indice di malattia 0–5); PR = Parzialmente Resistente (indice di malattia 6–20); MS = Moderatamente Suscettibile (indice di malattia 21–50); S = Suscettibile (indice di malattia 51–75); AS = Altamente Suscettibile (indice di malattia 76–100)

**Analisi filogenetica della regione EF-1α**

Da ciascun isolato saggiato, l'amplificazione del gene EF-1α ha prodotto sequenze di 750 bp, depositate su Genbank (tabella 5). Queste, dopo un multi-allineamento con le sequenze di altre *formae speciales* disponibili su Genbank, sono state utilizzate per l'analisi filogenetica. Da questa è risultato che gli isolati ottenuti da *A. myriostigma*, *C. peruvianus monstruosus*, *C. peruvianus florida*, *C. marginatus* var. *cristata* ed *E. mammillaris* si sono raggruppati con gli isolati di *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* di riferimento (valore di bootstrap: 99%) (figura 1).

Tabella 5. Accession numbers delle sequenze *EF-1α* e IGS ottenute dagli isolati di *Fusarium oxysporum* monoconidici utilizzati e depositati in GenBank

| Isolati impiegati | Accession numbers in GenBank | |
|---|---|---|
| | *EF-1α* | IGS |
| DB13GIU05-22M | KU575888 | KU575870 |
| DB13GIU06-26M | KU575889 | KU575871 |
| DB210211-18M | KU575886 | KU575872 |
| DB220211-21M | KU575887 | KU575873 |
| DB14OTT05-M1 | KU575882 | KU575876 |
| DB14OTT07-M1 | KT183483 | KU575877 |
| DB14NOV08-M1 | KU575885 | KU575878 |
| DB14NOV09-M1 | KT183484 | KU575879 |
| DB14OTT16-M1 | KT183485 | KU575880 |
| DB14OTT17-M1 | KU575883 | KU575881 |
| Polizzi-31M * | KU575890 | KU575868 |
| CBS 743.79 * | KU575891 | KU575869 |

* Isolati di *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* di riferimento

**Analisi filogenetica della regione IGS**

Da ciascun isolato si è ottenuta una sequenza di 1994 bp (paia di basi), poi depositata su Genbank (tabella 5) e utilizzata per l'analisi filogenetica. Per questa analisi, si è aggiunta un'ulteriore sequenza di riferimento (Genbank accession number FJ985530.1) (O'Donnell et al., 2009). Anche in base all'analisi delle sequenze IGS, tutti i nuovi isolati si sono raggruppati con *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum*, con elevato valore di "bootstrap" (figura 2).

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I test di patogenicità hanno dimostrato che tutti i nuovi isolati sono patogeni su *S. truncata*, fornendo risultati analoghi ai ceppi di *F. opuntiarum* di riferimento (tabella 3). Questi ultimi si sono dimostrati patogeni su tutte le specie succulente inoculate (tabella 4). Nell'albero filogenetico costruito in base alle sequenze IGS, tutti i nuovi isolati studiati si sono raggruppati con la sequenza di riferimento fornita da O'Donnell (O'Donnell et al., 2009), mentre gli isolati di *F. opuntiarum* di riferimento si raggruppano in un gruppo più vicino (figura 2). L'analisi con Blast su *Fusarium* ID (http://isolate.fusariumdb.org/) ha mostrato come i nostri nuovi isolati siano simili al ceppo NRRL29274 proveniente da *Cereus*, mentre gli isolati di *F. opuntiarum* di riferimento utilizzati sembrano essere vicini al ceppo NRRL29112 isolato da *Cactus*. Questo comportamento suggerisce una possibile differenziazione di *F. oxysporum* all'interno della *forma specialis opuntiarum*, dipendente dalla specie ospite. Tale ipotesi richiede ulteriori studi.

*F. oxysporum* è stato identificato come agente di marciume su radice e fusto su diverse Cactaceae: *E. grusonii* in Inghilterra (Hazelgrove, 1979), *Z. truncatus* negli Stati Uniti (Moorman e Klemmer, 1980), *S. truncata* (Petrone et al., 2007) e *Hylocerus undatus* in Argentina (Wright et al., 2007). Inoltre, *F. oxysporum* su Cactaceae è stato identificato come appartenente alla *forma specialis opuntiarum* su *Zygocactus* e *Rhipsalidopsis* in Germania (Gerlach, 1972), su *Opuntia ficus-indica* in Brasile (Souza de et al., 2010), su *E. grusonii* (Polizzi e Vitale, 2004) e *S. truncata* in Italia (Lops et al., 2013). Alcuni ceppi di *F. oxysporum* isolati in alcuni paesi europei da *Euphorbia* spp. spontanee si sono dimostrati patogeni quando inoculati artificialmente in prove di lotta biologica su piante di *Euphorbia esula* (Cesar, 1996). *F. oxysporum* è stato anche isolato da *Euphorbia pulcherrima* (Orlikowski et al., 2007). Tuttavia, la *forma specialis* di appartenenza di questi isolati non è mai stata studiata. Fino ad oggi, *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum* è stato identificato solo su Cactaceae e non su ospiti appartenenti ad altre famiglie, mentre in questo lavoro viene riportato, per la prima volta, su *E. mammillaris* (Euphorbiaceae). Le *formae speciales* di *F. oxysporum* vengono di solito assegnate in base alla loro capacità di infettare l'ospite specifico. Tuttavia, l'acquisizione di geni di patogenicità tramite trasferimento orizzontale è comune in *F. oxysporum* Complex (Van der Does e Rep, 2007). Inoltre, il genoma di *F. oxysporum*, comparato con *F. verticilloides*, è circa il 70% più esteso, con un maggior numero di regioni intergeniche e la possibilità di riordinare il suo genoma per l'elevata presenza di elementi trasponibili, in risposta alla pressione selettiva e alla coltivazione intensiva di specie ospiti (Daboussi e Capy, 2003).

Sia i test di patogenicità, sia le analisi filogenetiche condotte hanno consentito di includere i nuovi isolati ottenuti da piante succulente in *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum*. Poiché un gran numero di specie succulente sono coltivate nelle stesse aziende, esiste il rischio che questo parassita si diffonda tra gli ospiti suscettibili sopra elencati. In questo caso, le strategie per evitare la diffusione di questo parassita sono particolarmente raccomandate, specialmente durante la fase di taleaggio. Infine, vi è la necessità di verificare la suscettibilità al parassita

delle altre specie succulente, soprattutto Cactaceae ed Euphorbiaceae, maggiormente diffuse in coltura, per fornire ai coltivatori un elenco di specie e cultivar resistenti e / o tolleranti.

Figura 1. Albero filogenetico con isolati di *F. oxysporum* da Cactaceae ed Euphorbiaceae costruito con sequenze di geni dell'elongation Factor *EF-1α*. ▲ Sequenze ottenute dagli isolati di riferimento; ■ Sequenze ottenute da Genbank; ♦ Sequenze ottenute dagli isolati studiati in questo lavoro

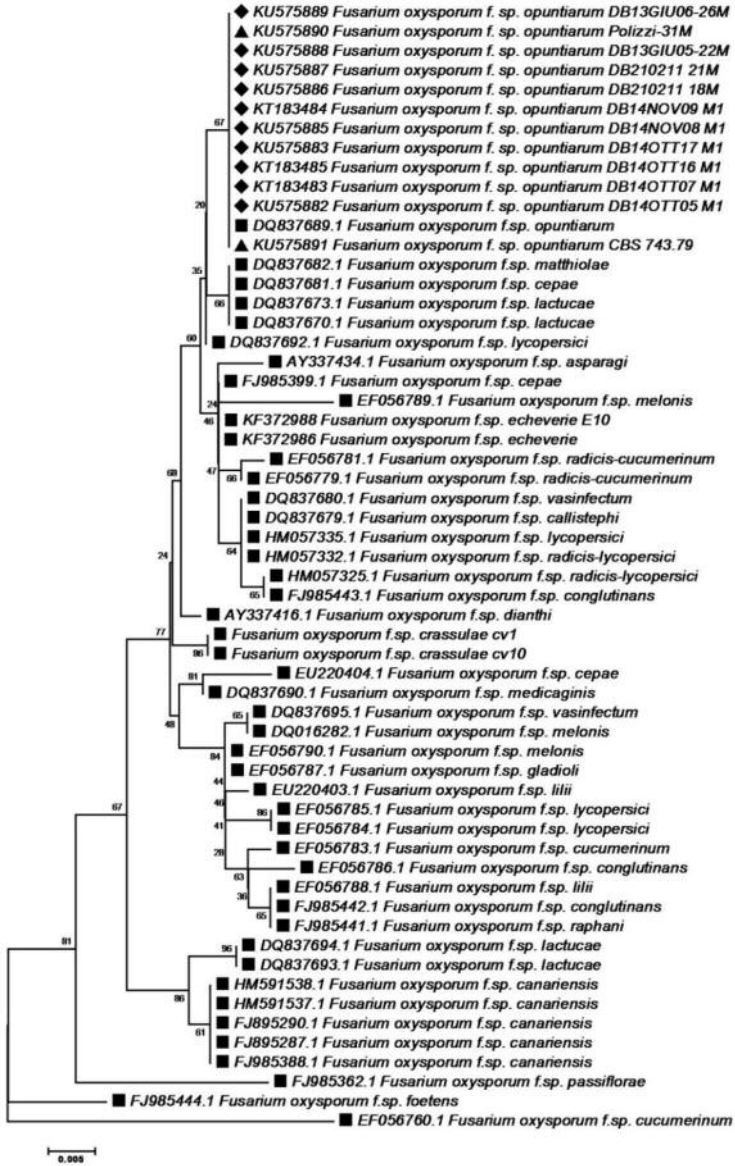
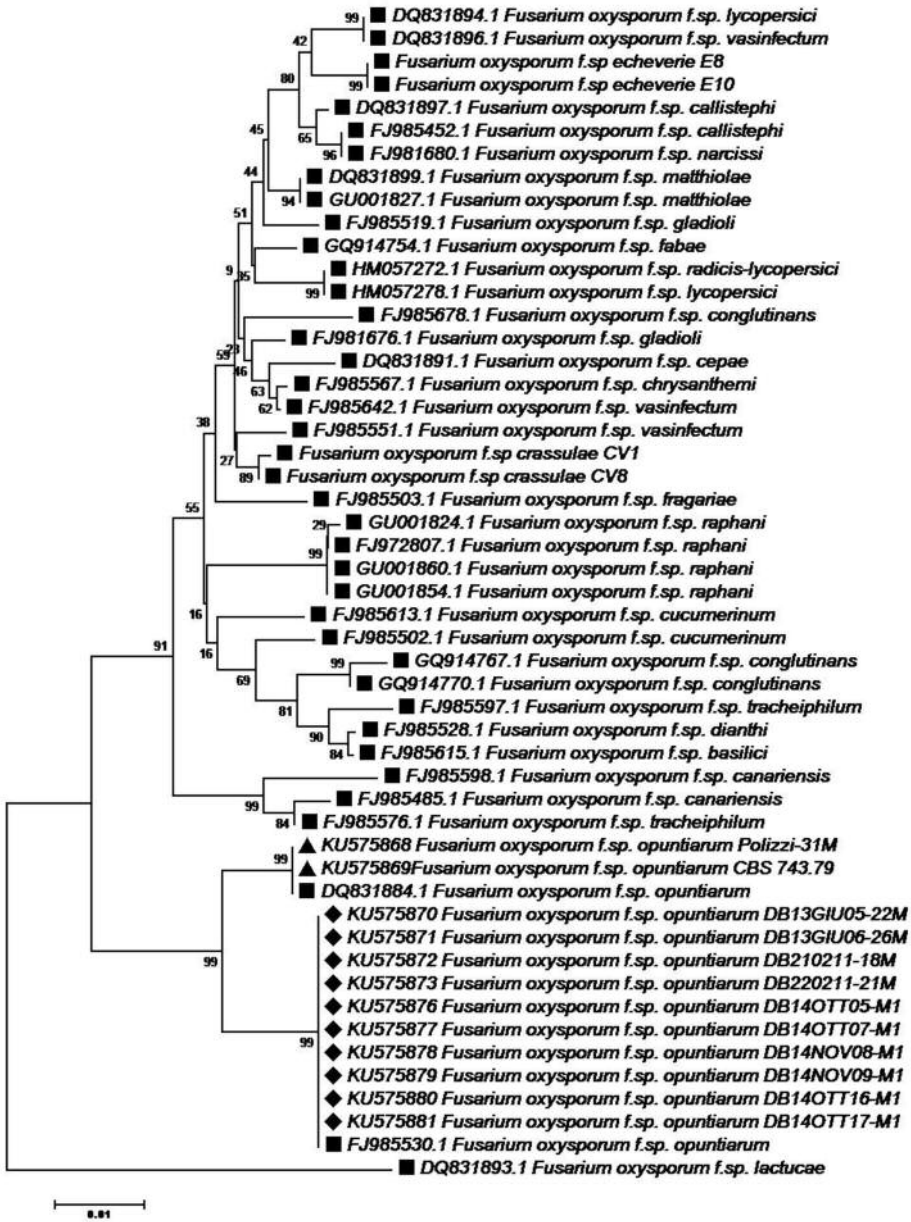


Figura 2. Albero filogenetico con isolati di *F. oxysporum* ottenuti da Cactaceae ed Euphorbiaceae basato su sequenze delle regioni IGS (Intergenic spacer). ▲ Sequenze ottenute da isolati di riferimento; ■ Sequenze ottenute da Genbank; ♦ Sequences ottenute dagli isolati studiati in questo lavoro



**Ringraziamenti**
Lavoro svolto nell'ambito del progetto "Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions" (EMPHASIS), realizzato con il contributo del programma di Ricerca e Innovazione dell'Unione Europea Horizon 2020 (Contratto N. 634179). Gli autori ringraziano il Prof. Giancarlo Polizzi, Università di Catania, per aver fornito uno degli isolati utilizzati in questo lavoro.

## LAVORI CITATI

Appel D. J., Gordon T. R., 1995. Intraspecific variation within populations of *Fusarium oxysporum* based on RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rDNA. *Experimental Mycology*, 19, 120-128.

Baayen R. P., O'Donnell K., Bonants P. J. M., Cigelnik E., Kroon L. P. N. M., Roebroeck J. A., Waalwijk C., 2000. Gene genealogies and AFLP analysis in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and non-monophyletic *formae speciales* causing wilt and rot disease. *Phytopathology*, 90, 891-900.

Caesar A. J., 1996. Identity, pathogenicity, and comparative virulence of *Fusarium* spp. related to stand declines of leafy spurge (*Euphorbia esula*) in the Northern Plains. *Plant Disease*, 80, 395-1398.

Daboussi M. J., Capy P., 2003. Transposable elements in filamentous fungi. *Annual Review of Microbiology*, 57, 275–299.

Garibaldi A., Pensa P., Bertetti D., Poli A., Gullino, M. L., 2011. First report of basal stem rot of Apple Cactus (*Cereus peruvianus monstruosus*) caused by *Fusarium oxysporum* in Italy. *Plant Disease*, 95, 877.

Garibaldi A., Pensa P., Bertetti D., Ortu G., Gullino M. L., 2014. First report of dry and soft rot of *Cereus marginatus* var. *cristata* caused by *Fusarium oxysporum* in Italy. *Plant Disease*, 98, 1441.

Garibaldi A., Bertetti D., Pensa P., Ortu G., Gullino M. L., 2015a. First Report of *Fusarium oxysporum* on *Cereus peruvianus florida* in Italy. *Journal of Plant Pathology*, 97 (Supplement), S70.

Garibaldi A., Bertetti D., Pensa P., Ortu G., Gullino M. L., 2015b. First Report of *Fusarium oxysporum* Causing Wilt on *Astrophytum myriostigma* in Italy. *Plant Disease*, 100, 215.

Garibaldi A., Bertetti D., Pensa P., Ortu G., Gullino M. L., 2015c. First Report of *Fusarium oxysporum* Causing Wilt on *Euphorbia mammillaris* var. *variegata* in Italy, *Journal of Plant Pathology*, 97 (4 Supplement), S68.

Gerlach W., 1972. *Fusarium* rot and other fungal diseases of horticulturally important cacti in Germany. *Phytopathologische Zeitschrift*, 74, 197-217.

Groenewald S., Van Den Berg N., Marasas W. F. O., Viljoen A., 2006. The application of high throughput AFLPs in assessing genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Mycological Research*, 110, 297-305.

Hazelgrove A. J., 1979. A dry rot disease of *Echinocactus grusonii* caused by *Fusarium oxysporum* Schlect. *National Cactus and Succulent Journal*, 34, 37-39.

INEA, 2014. L'agricoltura italiana conta 2014, Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, Roma.

ISTAT, 2010. *L'Agricoltura in Liguria*. Rapporto sui dati provvisori del 6° Censimento generale dell'Agricoltura in Liguria. 2011. Regione Liguria, Collana Convergenze & Divergenze, 15.

Komada H., 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soils. *Review of Plant Protection Research*, 8, 114-125.

Lievens B., Hanssen I. M., Rep M., 2012. Recent developments in the detection and identification of *formae speciales* and races of *Fusarium oxysporum*: from pathogenicity testing to molecular diagnostics. *In*: Fusarium wilts of greenhouse vegetable and ornamental crops (Gullino M. L., Katan J., Garibaldi A. coord.). APS Press, St. Paul, MN, USA, 47-55.

Lops F., Cibelli F., Raimondo M. L., Carlucci A., 2013. First report of stem wilt and root rot of *Schlumbergera truncata* caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum* in southern Italy. *Plant Disease*, 97, 846.

Moorman G. W., Klemmer R. A., 1980. *Fusarium oxysporum* causes basal stem rot of *Zygocactus truncatus*. *Plant Disease*, 64, 1118-1119.

O'Donnell K., Kistler H. C., Cigelnik 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 of the United States of America*, 95, 2044-2049.

O'Donnell K., Gueidan C., Sink S., Johnston P. R., Crous P. W., Glenn A., Riley R., Zitomer N. C., Colyer P., Waalwijk C., van der Lee T., Moretti A., Kang S., Kim H. S., Geiser D. M., Juba J. H., Baayen R. P., Cromey M. G., Bithell S., Sutton D. A., Skovgaard K. R., Kistler P., Elliott H. C., Davis M., Sarver M. B. A. J., 2009. A two locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. *Fungal Genetics and Biology*, 46, 936-948.

Orlikowski L. B., Skrzypczak C., Valiuskaite A., Sroczyn´ski M., 2007. *Fusarium* rot - new disease of poinsettia in Poland. *Progress in Plant Protection*, 47, 212-215.

Petrone M. E., Lori G., Wright E. R., Rivera M. C., 2007. First report of stem and root rot of *Schlumbergera truncata* caused by *Fusarium oxysporum* in Argentina. *Journal of Plant Pathology*, 89 (3, Supplement), S70.

Polizzi G., Vitale A., 2004. First report of basal stem rot of golden barrel cactus caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum* in Italy. *Plant Disease*, 88, 85.

Recorbet G., Steinberg C., Olivain C., Edel V., Trouvelot S., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S., Alabouvette C., 2003. Wanted: pathogenesis-related marker molecules for *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*, 159, 73-92.

Souza de A. E. F., Nascimento L. C., Araújo E., Lopes E. B., Souto F. M., 2010. Occurrence and identification of the etiologic agents of plant diseases in cactus (*Opuntia ficus-indica* Mill.) in the semi-arid region of Paraiba. *Biotemas*, 23, 3, 11-20.

Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30, 2725-2729.

Talgø, V., and Stensvand, A. 2013. A simple and effective inoculation method for *Phytophthora* and fungal species on woody plants. *OEPP/EPPO Bulletin*, 43 (2), 276-279.

Van der Does H. C., Rep M., 2007. Virulence Genes and the Evolution of Host Specificity in Plant-Pathogenic Fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20, 10, 1175-1182.

Wright E. R., Rivera M. C., Ghirlanda A., Lori G. A., 2007. Basal rot of *Hylocereus undatus* caused by *Fusarium oxysporum* in Buenos Aires, Argentina. *Plant Disease*, 91, 323.