

Ulrike Brielmaier-Liebetanz¹, Sabine Werres¹, Stefan Wagner¹, Thomas Brand², Verena Döring³

Cylindrocladiella parva als Ursache von Absterberscheinungen an *Euonymus fortunei*

Cylindrocladiella parva as a causal agent of dieback on *Euonymus fortunei*

Zusammenfassung

Im August 2011 traten an *Euonymus fortunei* Absterberscheinungen unbekannter Ursache auf. Aus befallenen Trieben wurde ein *Cylindrocladium*-ähnlicher Pilz isoliert. Anhand seiner morphologischen Merkmale wurde der Pilz als *Cylindrocladiella parva* (P.J. Anderson) Boesewinkel identifiziert. Eine anschließende Sequenzanalyse der ITS-Region sowie des β -Tubulin-Gens bestätigte das Ergebnis. Die Pathogenität des Pilzes an *E. fortunei* 'Emerald'n Gold' wurde in mehreren Versuchsansätzen geprüft. Nach Inokulation an den Nodien nach leichter Verletzung entwickelten sich bei hoher Luftfeuchte innerhalb von sieben Wochen an zweijährigen Pflanzen deutliche Krankheitssymptome. *Cylindrocladiella parva* ließ sich aus befallenen Trieben reisolieren. Die Pathogenität dieses Erregers an *E. fortunei* ist damit nachgewiesen. Es ist das erste bekannt gewordene Auftreten von *Cylindrocladiella parva* an *E. fortunei* in Deutschland.

Stichwörter: Pathogenität, Morphologie, Sequenzierung, *Cylindrocladium*, Ziergehölz, Symptome

Abstract

In August 2011 a shoot dieback of unknown cause was observed on *Euonymus fortunei*. From the affected shoots

a fungus similar to *Cylindrocladium* was isolated. According to its morphological characteristics this fungus could be identified as *Cylindrocladiella parva* (P.J. Anderson) Boesewinkel. The subsequent sequence analysis of the ITS regions as well as the β -tubulin-gene confirmed this result. Pathogenicity of this fungus was tested in several trials on *E. fortunei* 'Emerald'n Gold'. After inoculation of wounded nodes with the fungus and incubation with high humidity two year old plants developed disease symptoms within seven weeks. *Cylindrocladiella parva* could be reisolated from infected shoots. This is the first occurrence of *Cylindrocladiella parva* on *E. fortunei* in Germany according to our knowledge.

Key words: Pathogenicity, morphology, sequence analysis, *Cylindrocladium*, ornamental shrub, symptoms

Einleitung

Im August 2011 wurden in Neupflanzungen von *Euonymus fortunei* 'Emerald'n Gold' im ersten Jahr an verschiedenen Standorten in Berlin, überwiegend auf Friedhöfen, an mehreren Tausend Pflanzen massive Absterberscheinungen beobachtet. (Abb. 1.1). Die Pflanzen stammten ursprünglich aus einem Betrieb im Ammerland (Niedersachsen), in dem fast zeitgleich vereinzelt entsprechende Schäden an *E. fortunei* auftraten. Teils waren nur einzelne

Institut

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Braunschweig¹
Landwirtschaftskammer Niedersachsen – Pflanzenschutzamt, Oldenburg²
Pflanzenschutzamt Berlin³

Kontaktanschrift

Dr. Ulrike Brielmaier-Liebetanz, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, 38104 Braunschweig, Messeweg 11/12, E-Mail: ulrike.brielmaier@jki.bund.de

Zur Veröffentlichung angenommen

13. September 2013



Abb. 1.1



Abb. 1.2



Abb. 1.3

Abb. 1. Krankheitssymptome nach natürlichem Befall an *Euonymus fortunei* 'Emerald'n Gold'

1.1 Schadbild in einer Neuanpflanzung (Foto: Pflanzenschutzamt Berlin)

1.2 schokoladenbraune Stängeläläsionen und Welke (Foto: T. BRAND)

1.3 rötliche Blattverfärbung und Welke (Foto: T. BRAND)

Triebe betroffen, in anderen Fällen die ganze Pflanze. Die erkrankten Triebe wiesen stängelumfassende schokoladenbraune Läsionen unterschiedlichen Ausmaßes auf, teilweise bis zur Triebspitze hin. Die Ausdehnung der

Läsionen verlief in erster Linie akropetal. Triebspitzenwelke, rötliche Verfärbung der Blätter, Blattfall und im Endstadium das Absterben ganzer Triebe waren die Folge (Abb. 1.2 und 1.3).

Sowohl am Pflanzenschutzamt Berlin als auch am Pflanzenschutzamt der Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Standort Oldenburg, wurde aus krankem Pflanzenmaterial ein Pilz isoliert, der aufgrund von Stielfortsätzen mit Vesikeln an den Konidienträgern in beiden Fällen der Gattung *Cylindrocladium* zugeordnet wurde. Ein Vergleich der Reinkulturen beider Pilzherkünfte unter identischen Bedingungen am Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst des Julius Kühn-Instituts (JKI) bestätigte, dass es sich bei beiden Isolaten um denselben Pilz handelt (BRIELMAIER-LIEBETANZ et al., 2013). Aufgrund der sehr kleinen Konidien wurde vermutet, dass der Pilz nicht der Gattung *Cylindrocladium* (*Cy.*) zuzurechnen ist, sondern der Gattung *Cylindrocladiella* (*Ce.*). *Cylindrocladiella*-Arten werden mit Krankheitssymptomen an verschiedenen Pflanzenarten in Verbindung gebracht. In Neuseeland wurde aus Wurzeln und Trieben absterbender Piniensämlinge eine kleinsporige Art isoliert, die von BOESEWINKEL (1982) als *Ce. infestans* beschrieben wurde. In Neuseeland wurde an Reben mit Symptomen der „black foot disease“ (Schwarzfußkrankheit) *Ce. parva* nachgewiesen und die Pathogenität des Pilzes bestätigt (JONES et al., 2012). CROUS et al. (1991) berichteten über die Bedeutung von *Cylindrocladium*- und *Cylindrocladiella*-Arten in südafrikanischen Forstbauschulen. In Infektionsversuchen erwiesen sich südafrikanische Isolate von *Ce. camelliae* und *Ce. parva* als pathogen an *Eucalyptus grandis*, *Medicago truncatula*, *Arachis hypogaea*, *Glycine max* und *Pisum sativum* (CROUS et al., 1993). Aus Europa liegen zwei Meldungen über das Auftreten von *Ce. parva* vor: In Italien wird dieser Pilz als Ursache einer Umfallkrankheit bei der Stiel-Eiche (*Quercus robur*) angesehen (SCATTOLIN und MONTECCHIO, 2007). In Spanien wurden aus Reben mit Schwarzfußkrankheit *Ce. parva* und *Ce. peruviana* isoliert. Beide Isolate riefen in Infektionsversuchen an *Vitis vinifera* Krankheitssymptome hervor (AGUSTI-BRISACH et al., 2012).

Identifizierung des Pilzes aus *Euonymus fortunei*

Die Bestimmung der beiden Pilzisolat erfolgte nach BOESEWINKEL (1982) und CROUS (2002). Zur Beschreibung der Kulturmorphologie wurden Impfstücke aus Reinkulturen der Isolate JKI-2187 (Herkunft Berlin) und JKI-2188 (Herkunft Oldenburg) auf 2% Malzextraktagar (MEA) übertragen und bei 25 °C im Dunkeln kultiviert. Zunächst entwickelte sich weißes Myzel. Durch eine sehr rasch einsetzende Chlamydosporenbildung verfärbten sich die Pilzkulturen auf der Unterseite innerhalb einer Woche gelbbraun (JKI-2187) bis ockerfarben (JKI-2188) (Abb. 2.1). Die Chlamydosporen bildeten sich in langen Ketten (Abb. 2.2), Mikrosklerotien oder Fruchtkörper waren nicht zu beobachten.



Abb. 2.1



Abb. 2.2



Abb. 2.3



Abb. 2.4

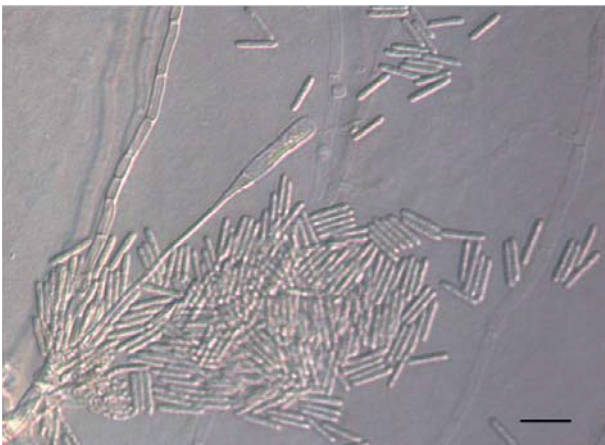


Abb. 2.5



Abb. 2.6

Abb. 2. Morphologische Charakteristika von *Cylindrocladiella parva* JKI-2187
 Balkenlänge: 15 µm
 2.1 Koloniewachstum auf Malzextraktagar im Dunkeln (Foto: Julius Kühn-Institut)
 2.2 Chlamydosporenbildung in Ketten
 2.3 und 2.4 Penicillate Konidiophoren
 2.5 Filament mit keulenförmigem Vesikel
 2.6 Konidien (Foto: Julius Kühn-Institut)

Die mikroskopischen Merkmale wurden nach sieben-tägiger Kultur auf speziellem nährstoffarmem Agar (SNA) (NIRENBERG, 1976) bei 25 °C unter NUV-Licht erfasst. Die Konidiophoren sind penicillat verzweigt (Abb. 2.3 und 2.4). Ihre Stielfortsätze (Filamente) sind schmal, und wirken aufgrund starker Lichtbrechung dickwandig. Das Filament ist nicht septiert und endet in einem keulen-bis spatelförmigen Vesikel (Abb. 2.5). Die Konidien sind hyalin, zylindrisch, haben ein Septum oder sind unseptiert und hängen in schleimigen runden, bis leicht asymmetrischen Köpfchen zusammen. Sie sind 12,7–15,7 (14,6) µm lang und 2,2–3,3 (2,7) µm breit (Abb. 2.6).

Auf Malzextrakt-Agar wurden folgende Kardinaltemperaturen für das Wachstum ermittelt:

Minimum unter 5 °C (bei 5 °C fand bei beiden Isolaten noch Wachstum statt), Maximum 35 °C, Optimum 25 °C. Aufgrund der beschriebenen Merkmale wurde der Pilz als *Cylindrocladiella parva* (P.J. Anderson) Boesewinkel identifiziert.

Die anschließenden molekularbiologischen Untersuchungen bestätigten das Ergebnis. Als Genregionen wurden zum einen die rDNA internal transcribed spacer (ITS) region ausgewählt und zum anderen das β-Tubulin-Gen. Dazu wurde aus Myzel von auf MEA kultivierten Isolaten (JKI-2187 und JKI-2188) die DNA mittels des Invisorb® Spin Plant Mini Kits (STRATEC Molecular GmbH, Berlin) isoliert. Für die Amplifikation des ITS-Abschnittes wurden die Primer ITS1 und ITS4 von WHITE et al. (1995) verwendet sowie für das β-Tubulin Gen die Primer Bt2a und Bt2b von GLAAS und DONALDSON (1995). Nach Überprüfung der erfolgreichen Amplifikation der Genabschnitte wurden diese aufgereinigt (MSB® Spin PCRapace Kit, STRATEC Molecular GmbH, Berlin) und zur Sequenzierung der Firma LGC Genomis (Berlin) geschickt. Anschließend erfolgte der Sequenzabgleich mit bereits hinterlegten Sequenzen in einer GenBank (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Beide Isolate (JKI-2187 und JKI-2188) hatten identische Basensequenzen und zeigten in der ITS1- und ITS4-Sequenz eine 99% Homologie gegenüber der Sequenz von *Ce. parva* Isolat CPC 5735 (GenBank Accession No. AY793454) und in der β-Tubulin-Sequenz eine 100% Übereinstimmung mit *Ce. parva* Isolat CPC 10956 (GenBank Accession No. AY793489).

Untersuchungen zur Pathogenität

Zur Prüfung der Pathogenität von *Ce. parva* wurden am Pflanzenschutzamt Berlin und am JKI Braunschweig, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Infektionsversuche an *Euonymus fortunei* durchgeführt.

Versuche am Pflanzenschutzamt Berlin

Versuchsordnung. Als Versuchspflanzen dienten zweijährige *Euonymus fortunei* 'Emerald'n Gold'. In einer ersten Variante (Versuch B-1) wurden die Pflanzen mit einer Konidien suspension des aus kranken *Euonymus*-pflanzen isolierten *Ce. parva* inokuliert. Zehn Pflanzen

wurden mit je 10 ml Suspension übersprüht und drei Wochen im Gewächshaus kultiviert. In dieser Zeit entwickelten die *Euonymus*-pflanzen keine Krankheitssymptome. In einer weiteren Variante (Versuch B-2) wurden den Versuchspflanzen vor dem Einsprühen mit Konidien suspension Verletzungen an Blättern und Trieben durch Hitze (Lötkolben) zugefügt. Danach wurden die Pflanzen einzeln in Tüten verpackt und zehn Tage bei 23 °C, 12 h Licht kultiviert, danach weitere drei Wochen ohne Tüten.

Ergebnis. Auf den durch Hitzebehandlung nekrotisierten Blattteilen breitete sich *Ce. parva* gut aus und sporulierte, es erfolgte jedoch keine Besiedlung von gesundem Gewebe. Die ursprünglich beobachteten Schadsymptome ließen sich nicht reproduzieren.

Versuche am Julius Kühn-Institut Braunschweig

Versuchsordnung. In zwei aufeinander folgenden Versuchen (JKI-1, JKI-2) wurden zweijährige Pflanzen der Sorte 'Emerald'n Gold' mit einem Einsporisolat *Ce. parva* JKI-2188 inokuliert. Tab. 1 gibt eine Übersicht über die Versuchsvarianten. Als Inokulum diente wässrige Konidien suspension der Dichte 10⁵/ml oder pilzbewachsene Agarstückchen. Die Konidien suspension (5 ml) wurde entweder über die gesamte Pflanze gesprüht oder an die mit Sandpapier angeraute Triebbasis gegossen. Die Inokulation mit Agarstückchen erfolgte an den Nodien oder an der Triebbasis. Für die Inokulation an den Nodien wurden an fünf Trieben pro Pflanze jeweils die beiden Blätter an einem Nodium entfernt, das Nodium mit einer Nadel angestochen und ein pilzbewachsenes Agarstückchen aufgelegt. Für die Inokulation an der Triebbasis wurde eine Rindenzunge eingeschnitten und das Impfstück eingelegt. Die Inokulationsstellen wurden mit feuchtem Zellstoff und Parafilm umwickelt. Kontrollpflanzen für die einzelnen Varianten wurden entsprechend behandelt, jedoch ohne Pilzisolat. Die Inkubation der Pflanzen erfolgte in der Klimakammer bei 21 °C/16 °C (Tag/Nacht), 90–100% relativer Luftfeuchte und 12 Stunden Licht. In den ersten drei Wochen standen die Pflanzen unter einem Folienzelt und wurden regelmäßig von oben bewässert. Für die Reisolierung wurden oberflächendesinfizierte Triebstücke vom Rand der Läsionen auf Kartoffel-Dextrose-Agar (PDA) ausgelegt und die Petrischalen bei 20 °C im Dunkeln inkubiert.

Ergebnis. Im Versuch JKI-1 entwickelten sich nach Animpfen pilzbewachsener Agarstücke an verletzten Nodien Krankheitssymptome. Sieben Wochen nach der Inokulation zeigten vier von 20 inokulierten Pflanzen Absterbeerscheinungen an einzelnen Trieben. Die Symptome stimmten mit denen der erkrankten Pflanzen überein, aus denen *Ce. parva* ursprünglich isoliert wurde. Die Pflanzen aller anderen Varianten zeigten keine Krankheitssymptome. In dem Folgeversuch JKI-2 traten die ersten Symptome bereits nach drei Wochen auf. Sieben Wochen nach der Inokulation zeigten alle 40 Pflanzen, die an den Nodien inokuliert wurden, massive Absterbeerscheinungen. Auch in diesem Versuch waren die Symp-

Tab. 1. Infektionsversuche am Julius Kühn-Institut

Versuch/ Inokulationstermin	Inokulum	Inokulationsmethode	Anzahl Pflanzen	
			inokuliert	nicht inokuliert
JKI-1/ 02.05.2012	Konidien suspension	Nadelstiche in Blätter Einsprühen	20	16
	Konidien suspension	Stutzen von Trieben Einsprühen	20	16
	Konidien suspension	leichter Verletzung der Triebbasis mit Sandpapier Angießen	20	16
	pilzbewachsenes Agarstück	Verletzung von Nodien Applikation des Agarstücks direkt auf die Wunde	20	16
JKI-2/ 23.08. 2012	pilzbewachsenes Agarstück	Verletzung von Nodien Applikation des Agarstücks direkt auf die Wunde	40	20
	pilzbewachsenes Agarstück	Applikation des Agarstücks in eine Rindenzunge an der Triebbasis	16	8

tome identisch zu den Symptomen der natürlich erkrankten *E. fortunei*: Schokoladenbraune, den Stängel umfassende Läsionen, die sich von der Infektionsstelle aus akropetal ausdehnen und zum Absterben der Triebe führen (Abb. 3). Teilweise verfärbten sich die Blätter rötlich. An Pflanzen, die an der Triebbasis inokuliert wurden, entwickelten sich keine Krankheitssymptome. Dies gilt auch für alle nicht inokulierten Kontrollpflanzen. In Versuch JKI-1 und JKI-2 ließ sich *Ce. parva* aus inokulierten Pflanzen mit Symptomen reisolieren. Die Resolate stimmten in ihren Merkmalen mit dem Ursprungsisolat überein. Damit sind die Koch'schen Postulate erfüllt.

Diskussion

Die Vermutung, dass es sich bei den Pilzisolaten aus geschädigten *E. fortunei*-Pflanzen um eine Art der Gattung *Cylindrocladium* handelt, war naheliegend, weil beide Isolate an den fertilen Hyphen Filamente mit terminalem Vesikel ausbilden. Die Konidien der Isolate JKI-2187 und JKI-2188 sind jedoch deutlich kleiner als in der Gattung *Cylindrocladium* üblich. Sie werden in runden bis leicht asymmetrischen Köpfchen durch farblosen Schleim zusammengehalten, während die Konidien von *Cylindrocladium*-Arten in geraden oder leicht gebogenen zylindrischen Clustern angeordnet sind. Ein weiterer Unterschied zu *Cylindrocladium* spp. ist das Fehlen von Septen in den Filamenten. Aufgrund dieser abweichenden morphologischen Merkmale wurden die beiden Isolate aus *E. fortunei* als *Cylindrocladiella parva* (P.J. Anderson) Boesewinkel identifiziert. BOESEWINKEL (1982) definierte die neue Gattung *Cylindrocladiella*, um kleinsporige Arten aus der Gattung *Cylindrocladium* zusammenzuführen. ANDERSON (1918) hatte ein kleinsporiges *Cylindrocladium* aus Rosen, das er zunächst als eine Zwergform von *Cy.*



Abb. 3. Reproduktion der Symptome an *Euonymus fortunei* 'Emerald'n Gold' – sieben Wochen nach Inokulation (Foto: Julius Kühn-Institut).

scoparium Morgan angesehen hatte, als *Cy. parvum* von *Cy. scoparium* abgegrenzt. *Cylindrocladium parvum* (P.J. Anderson) ist das Basionym von *Ce. parva*.

Die molekulargenetischen Untersuchungen der beiden Gen-Sequenzen ITS und β -Tubulin belegen mit sehr hoher Homologie (99% und 100%) der verwendeten Genabschnitte, dass es sich bei den Isolaten um *Ce. parva* handelt. Mit einer Homologie von 98% sind *Ce. elegans* und *Ce. lageniformis* molekulargenetisch den untersuchten Sequenzen am ähnlichsten (NCBI BLAST).

Mit den Kardinaltemperaturen min. unter 5°C, max. 35°C und opt. 25°C handelt es sich bei *Ce. parva* um eine eurythermale Art. Das heißt, der Pilz kann sich an einen breiten Temperaturbereich anpassen. Nach den Ergebnissen der eigenen Temperaturversuche scheinen Tem-

peraturen von 20–25°C besonders günstig für die Entwicklung des Pilzes zu sein. Es ist also davon auszugehen, dass Infektionen eher in den Sommermonaten zu Schäden führen.

Da es nicht in allen Infektionsversuchen zur Ausbildung von Krankheitssymptomen kam, handelt es sich bei *Ce. parva* aus *E. fortunei* vermutlich um einen Schwächeparasiten, der nur unter ganz bestimmten Bedingungen, wie z.B. hoher Luftfeuchtigkeit und Verletzung, Schäden verursacht. In den vorliegenden Infektionsversuchen entwickelten sich nur dann Symptome, wenn nach Entfernen der Blätter an den Nodien inokuliert wurde. Möglicherweise spielt auch der Entwicklungszustand der Pflanzen eine Rolle für den Infektionsverlauf.

Bisher ist nicht bekannt, ob *Ce. parva* außer *E. fortunei* weitere *Euonymus*-Arten befällt. Der aus der Literatur ersichtliche Wirtspflanzenkreis deutet darauf hin, dass der Erreger Pflanzenarten aus sehr unterschiedlichen Gattungen befallen kann. Allerdings ließen sich in Infektionsversuchen Krankheitssymptome nicht immer reproduzieren und die Ergebnisse waren uneinheitlich. So gelang es VAN COLLER et al. (2005) nicht, bei Inokulation von Rebtrieben mit *Ce. parva* die Koch'schen Postulate zu erfüllen. Dagegen konnten AGUSTI-BRISACH et al. (2012) bei Verwendung einer anderen Inokulationsmethode die Pathogenität von *Ce. parva* an Rebensämlingen nachweisen. Diese unterschiedlichen Ergebnisse bestärken die Vermutung, dass *Ce. parva* als Schwächeparasit zuzuordnen ist, der auch saprophytisch leben kann.

Seit dem Erstauftreten von *C. parva* an *E. fortunei* im Jahr 2011 wurden bis auf einen Fall auf einem Friedhof in Niedersachsen keine weiteren Schäden aus der Praxis gemeldet. Die Bedeutung von *Ce. parva* an *E. fortunei* ist somit bisher als gering einzustufen. Es ist aber zu empfehlen, *Euonymus*-Bestände, insbesondere Jungpflanzen, aufmerksam zu kontrollieren. Dabei ist zu berücksichtigen, dass auch *Botrytis* Absterbeerscheinungen verursachen kann, und eine rötliche Verfärbung der Blätter an *E. fortunei* auch eine Folge von Trockenheit oder Kälte sein kann. Bei den beschriebenen Symptomen ist auch ein Befall mit *Phytophthora* sp. nicht auszuschließen. Aus den USA wurde über ein Triebsterben an *E. japonica* berichtet, das durch eine *Phytophthora*-Art hervorgerufen wird, die eng verwandt zu *P. citrophthora* ist (KEIM et al., 1981). Bei Absterbeerscheinungen an *E. fortunei* wird zur Klärung der Ursache dringend eine Laboruntersuchung angeraten.

Danksagung

Ganz herzlichen Dank an Elvira DRESSLER für ihre große Verlässlichkeit bei den Laborarbeiten. Frau TRAUTMANN gilt unser Dank für die sehr umsichtig durchgeführten Infektionsversuche. Last not least ein Dankeschön an die Mitarbeiter der Gärtnerei, die mit viel Sorgfalt die *Euonymus*-Pflanzen für die Versuche großgezogen haben.

Literatur

- AGUSTI-BRISACH, C., S. ALANIZ, D. GRAMAJE, A. PEREZ-SIERRA, J. ARMENGOL, 2012: First report of *Cylindrocladiella parva* and *C. peruviana* associated with black-foot disease of grapevine in Spain. *Plant Disease* **96** (9), 1381.
- ANDERSON, P.J., 1918: Rose canker and its control. *Massachusetts Agricultural Experiment Station Bulletin* **183**, 11-46.
- BOESEWINKEL, H.J., 1982: *Cylindrocladiella*, a new genus to accommodate *Cylindrocladium parvum* and other small-spored species of *Cylindrocladium*. *Can. J. Bot.* **60**, 2288-2294.
- BRIELMAIER-LIEBETANZ, U., S. WAGNER, S. WERRES, 2013: First report of dieback on *Euonymus fortunei* caused by *Cylindrocladiella parva* in Germany. *Plant Disease* **97** (8), 1120.
- CROUS, P.W., A.J.L. PHILLIPS, M.J. WINGFIELD, 1991: The genera *Cylindrocladium* and *Cylindrocladiella* in South Africa, with special reference to forest nurseries. *Suid-Afrikaanse Bosbouydskrif* **157**, 69-85.
- CROUS, P.W., A.J.L. PHILLIPS, M.J. WINGFIELD, 1993: New records of *Cylindrocladium* and *Cylindrocladiella* spp. in South Africa. *Plant Pathology* **42**, 302-305.
- CROUS, P.W., 2002: Taxonomy and Pathology of *Cylindrocladium* (*Calonectria*) and allied genera. St. Paul, Minnesota, APS Press, 278 p.
- GLAAS, N.L., G.C. DONALDSON, 1995: Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* **61** (4), 1323-1330.
- JONES, E.E., D.S. BROWN, C.M. BLEACH, B. PATHROSE, C. BARCLA, M.V. JASPERS, H.J. RIDGWAY, 2012: First report of *Cylindrocladiella parva* as a grapevine pathogen in New Zealand. *Plant Disease* **96** (1), 144.
- KEIM, R., J. KLURE, G.A. ZENTMYER, 1981: A foliage blight of euonymus caused by *Phytophthora*. *California Agriculture* May-June, 16-17.
- NIRENBERG, H., 1976: Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft.* **169**, 1-117.
- SCATTOLIN, L., L. MONTECCHIO, 2007: First report of damping-off of common oak plantlets caused by *Cylindrocladiella parva* in Italy. *Plant Disease* **91** (6), 771.
- VAN COLLER, G.J., S. DENMAN, J.Z. GROENEWALD, S.C. LAMPRECHT, P.W. CROUS, 2005: Characterisation and pathogenicity of *Cylindrocladiella* spp. associated with root and cutting rot symptoms of grapevines in nurseries. *Australasian Plant Pathology* **34**, 489-498.
- WHITE, T.J., T. BRUNS, S. LEE, J.W. TAYLOR, 1995: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A., D.H. GELFAND, J.J. SNINSKY, T.J. WHITE, (Eds.). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York, Academic Press, 1990, 315-322.