

RESEARCH ARTICLE

***Neopestalotiopsis clavispora*에 의한 딸기 뿌리썩음병 한국 내 발생**박경미¹, 한인영¹, 이석민¹, 최시림¹, 김민철², 이흥수^{1*}¹경남농업기술원 환경농업연구과, ²경상대학교 응용생명과학부**Crown and Root Rot of Strawberry Caused by *Neopestalotiopsis clavispora* in Korea**Kyoungmi Park¹, Inyoung Han¹, Seok-Min Lee¹, Si-Lim Choi¹, Min Chul Kim², Heungsu Lee^{1*}¹Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services, Jinju 52733, Korea²Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

*Corresponding author: lhs2khk@korea.kr

ABSTRACT

The occurrence of the crown and root rot on strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) has been reported in greenhouses in Sancheong and Hamyang, Gyeongnam province, Korea in June, 2019. The infected plants showed browning rot of the inner crown and root, causing delayed development, lack of growth, and poor rooting. The browning rot of the inner crown and root can sometimes lead to wilting and collapsing of plants. Fungi were isolated from the symptomatic root and crown. Based on the results of morphological and phylogenetic analyses, the causal agent of the disease was identified to be *Neopestalotiopsis clavispora*. The fungal isolates were then used for inoculation into strawberry plants to determine the causal agent of the crown and root rot as per Koch's postulates. The inoculated strawberry plants showed the same symptoms as the originally infected plants, and the fungal pathogen re-isolated from the lesions showed the same morphological characteristics as the original pathogen. This is the first report on the occurrence of crown and root rot on strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) caused by *N. clavispora* in Korea.

Keywords: Crown and Root Rot, Identification, *Neopestalotiopsis clavispora*, Pathogenicity, Strawberry

**OPEN ACCESS**pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2019 December, 47(4):427-35
<https://doi.org/10.4489/KJM.20190047>Received: October 23, 2019
Revised: December 02, 2019
Accepted: December 02, 2019

© 2019 THE KOREAN SOCIETY OF MYCOLOGY.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

딸기(*Fragaria × ananassa* Duch.)는 장미과의 영년생 작물로서 비타민 C, 무기질 및 항산화물질 등이 다량 함유되어 있는 과채류로 맛과 향이 좋아서 전 세계적으로 인기 있는 원예작물 중 하나이다[1,2]. 국내에서는 과채류가 적은 겨울철에도 재배, 생산 및 식용할 수 있어 2014년 국내 재배면적이 6,875ha이고 총 생산액이 13,359억원을 차지할 정도로 농가에서도 고소득 작물로 인기가 높다[3]. 국내에서 재배되고 있는 딸기는 비닐하우스 시설 내에서 주로 재배되고 있으며, 온실내부

의 온난 다습한 환경은 시들음병, 잿빛곰팡이병, 작은뿌리파리 유충 등 여러 병해충의 발생을 조장하여 딸기 생산에 많은 피해를 주고 있다. 그 중 *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*와 *Verticillium dahliae* Kleb.에 의한 시들음병과 *Colletotrichum fragariae*에 의한 탄저병, *Phytophthora cactorum*에 의한 역병은 딸기 재배기간 중 주로 뿌리와 관부(crown)를 침해하여 썩게 만들고 진전되면서 식물체 전체를 고사시켜 경제적 피해를 크게 주는 병해들이다[4]. 2019년 5월~6월경에 산청과 함양 지역의 딸기 육묘 재배하우스에서 식물체가 시드는 증상이 심하게 발생하였다. 발병 식물체는 뿌리 활착을 정상적으로 하지 못하여 생육이 늦었으며, 지상부는 시들고 고사되며 지하부의 뿌리는 썩고 관부는 갈변을 띠면서 외부에서 내부로 썩어 들어가는 *P. cactorum*에 의한 역병과 유사한 증상을 나타내었다[4]. 이병주를 수집하여 뿌리와 관부의 갈변 조직으로부터 병원균을 분리하고 균학적 특징 및 병원성을 검정한 결과, *Neopestalotiopsis clavispora*에 의한 뿌리썩음병으로 동정되어 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

병원균의 분리 및 배양

경남지역 딸기 주요 재배지역인 산청(35°14'08.6"N, 127°53'40.1"E)과 함양(35°40'34.8"N, 127°40'25.4"E) 등지의 딸기 육묘 재배 포장에서 뿌리썩음 증상을 나타내는 딸기의 뿌리와 관부를 채집하여 병원균을 분리하였다. 뿌리와 관부의 이병부분을 0.5 cm³ 크기로 잘라 70% 에탄올에 30~60 초간 침지한 후 멸균수로 씻은 다음 1% NaOCl 용액으로 1분간 소독하고 멸균수에 3회 세척한 후 멸균된 필터페이퍼로 수분을 제거하였다. 표면소독된 조직은 물한천배지(Water agar) 위에 올려 놓고 25°C 항온기에 48시간 동안 배양한 다음, 병든 조직에 형성된 균사의 끝부분을 떼어 내어 다시 감자한천배지(PDA)에 옮겨 5일간 배양하고 이것을 다시 2회 이상 계대배양을 통해 순수분리하였다.

병원균 특성 조사 및 동정

분리균주의 배양적 특성을 조사하기 위해 감자한천배지(PDA; Difco Potato dextrose agar 39 g, D.W. 1000 mL), PDA배지에서 28°C 암조건에서 5일정도 배양된 균총의 선단부분을 8 mm cork borer로 떼어 내어 PDA배지의 중앙에 접종하였다. 분리균주의 온도별 균사생장 정도를 알아보기 위하여 15°C, 20°C, 25°C, 28°C, 30°C에서 7일간 암배양 하면서 생장된 균총의 반경을 5반복으로 측정하였다. 배지별 균사생장 정도를 알아보기 위하여 PDA, 옥수수가루한천배지(CMA; BBL™ Corn meal agar 17 g, D.W. 1000 mL), V8배지(V8 juice 200 mL, CaCO₃ 3 g, Agar 18 g, D.W. 1000 mL)에 각각 접종하여 생장된 균총의 반경을 5반복으로 측정하였다. 병원균의 형태적 특성을 조사하기 위하여, 순수 분리된 병원균을 28°C PDA배지에서 14일간 배양한 후 광학현미경으로 분생포자의 형태를 관찰하였다.

분리된 병원균의 분자생물학적 동정 및 계통학적 분석을 위해, 배양한 균으로부터 genomic DNA를 추출한 뒤 polymerase chain reaction (PCR)을 진행하였다. 분리된 병원균의 동정을 위하여 진균류의 속 및 종간 동정에 일반적으로 사용되는 internal transcribed spacer (ITS) 영역과 함께

최근 진균류의 종 특이적 분자 지표로 사용되는 β -tubulin 유전자가 사용되었다. ITS 영역의 증폭에는 ITS1F/ITS4 primer pair를 이용하였으며[5], β -tubulin 유전자는 Bt2a/Bt2b primer pair를 사용하여 증폭하였다[6]. PCR반응의 조건은 ITS 영역과 β -tubulin 유전자 모두 동일 조건으로 수행하였으며, 먼저 94°C에서 4분간 pre-denaturation을 진행한 후 94°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension을 1 cycle로 하여 총 35회 진행하였다. 이후 72°C에서 final extension을 7분간 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동을 한 후 ethidium bromide로 염색하고, UV illuminator 상에서 목적하는 DNA 단편의 증폭여부를 확인하였다. 증폭이 확인된 PCR산물은 EXOSAT-IT (GE Healthcare, Amersham, UK)을 이용하여 정제 후 염기서열 분석(Bioneer, Korea)을 의뢰하였다. 분석된 염기서열은 NCBI의 BLAST search를 통해 GenBank에 등록되어 있는 종들과의 유사도를 확인하였다. 계통학적 분석을 수행하기 위해 NCBI에 등록된 여러 근연종의 rDNA ITS 영역의 염기서열을 수집하고, MEGA X 프로그램을 사용하여 딸기에서 분리한 균주와 근연종들 간의 유연관계 분석을 수행하였으며, neighbor-joining 알고리즘을 사용한 계통수를 작성하였다[7,8]. 병원균의 동정은 분리 병원균의 분생포자 형태적 특징과 rDNA ITS 영역과 β -tubulin 유전자의 염기서열 분석을 통해 최종적으로 동정하였다.

병원성 검정

병원성 검정을 위하여 28°C PDA배지에서 14일간 배양된 분리균주의 분생포자층을 PBS buffer에 현탁시켜 1×10^6 conidia/mL로 농도를 조정하여 포자현탁액을 만들어 접종원으로 사용하였다. 식물체는 실제 농가에서 가장 많이 재배하고 있는 딸기 품종 설향을 21일간 육묘한 묘목을 한 주씩 화분에 심고 7일간 유리온실에서 안정화시킨 다음, 3주는 크라운 부분에 상처를 주고 3주는 상처를 주지 않은 상태에서 포자현탁액을 관주 접종하고 7일 간격으로 2회 접종하였다. 대조구는 처리구와 같이 상처 유·무 각각 3주씩 포자현탁액 대신 멸균수를 접종하였다. 접종된 식물체는 온실에서 병반 형성 정도를 한 달간 지속적으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

딸기 뿌리썩음병 발생 및 증상

2019년 5월~6월경에 경남지역 딸기 주요 재배지역인 산청군 단성면과 함양군 서상면 딸기 육묘 재배하우스 2개 포장에서 *P. cactorum*에 의한 역병 발생과 유사한 증상을 나타내면서 지하부의 뿌리는 썩고 관부는 갈변을 띄면서 심할 경우 고사되는 피해가 조사되었다. 발병포장의 병 발생 정도는 각각의 포장에서 지상부가 고사되면서 지하부 뿌리와 크라운이 갈변되는 증상을 보이는 딸기 육묘 10주씩 채취하여 병환부의 조직을 현미경으로 검사하였다. 함양 발병 포장에서는 묘목 10주 중 6주의 병환 부위에서 *Neopestalotiopsis* sp.의 분생포자를 관찰하였고 산청군 단성면의 포장에서는 2주의 식물체에서 *Neopestalotiopsis* sp.의 분생포자가 관찰되었고 포장 내 전체 발생 정도는 5% 이내로 대체로 미미하였다(Table 1). 발병 식물체의 관부를 절단하였을 때 병반이 외부에서 내부로 썩어 들어가고 양·수분의 흡수를 저해하면서 지상부의 생육이 저해되고 잎이 시드는 증상을 나타내었다(Fig. 1).

Table 1. Incidence of crown and root rot by *Neopestalotiopsis clavispora* in strawberry in disease areas

Location	Area (m ²)	Date surveyed	Disease incidence ^a
Sancheong	1,322	Jun. 2019	+
Hamyang	1,983	Jun. 2019	++

+ : Less than 1% of plant infected; ++ : 1~5% of plant infected



Fig. 1. Symptoms of crown and root rot on strawberry caused by *Neopestalotiopsis clavispora*. A, Strawberry field affected with root and crown rot; B, Symptoms of slow development and lack of growth; C, Symptoms of wilting and collapse; D, Symptoms of root and crown rot.

병원균의 분리 및 배양

뿌리와 관부의 갈변 부위를 광학현미경으로 검경한 결과 *Neopestalotiopsis*의 분생포자를 확인하였다(Fig. 2A). 발병정도가 다소 높았던 함양 서상면 포장에서 병징을 나타내는 수집된 딸기 시료의 뿌리와 관부로부터 3종의 진균을 분리하였고, 1종은 *Neopestalotiopsis* sp.의 특성을 나타내었고 나머지 부생균으로 흔히 존재하는 *Tricoderma* sp. 1종과 *Plectosphaerella* sp. 1종이 분리되었다. 분리된 *Plectosphaerella* sp. 는 추후 ITS 염기서열 분석을 통해 *P. cucumerina*로 동정되었으며 딸기에 병원성을 나타내는 것은 알려져 있지 않으며, 추가적인 병원성 검정에서도 병원성을 나타내지 않았다. 이후 실험은 *Neopestalotiopsis* sp.의 특성을 가지는 1종의 균을 분석하였다. 분리된 병원균을 PDA 배지에 7일 정도 배양하면 배지 표면에, 흰색에 연한 주황빛의 기중균사를 가진 균총이 형성되는데 균총의 끝부분에서 기중균사가 안쪽으로 형성되었다(Fig. 2B). 이러한 병원균을 분리하고 재이식하여 균사체에서 형성된 흑색의 분생포자층 또는 검은색의 점액질 형태로 형성된 분생포자층을 확인하였다.

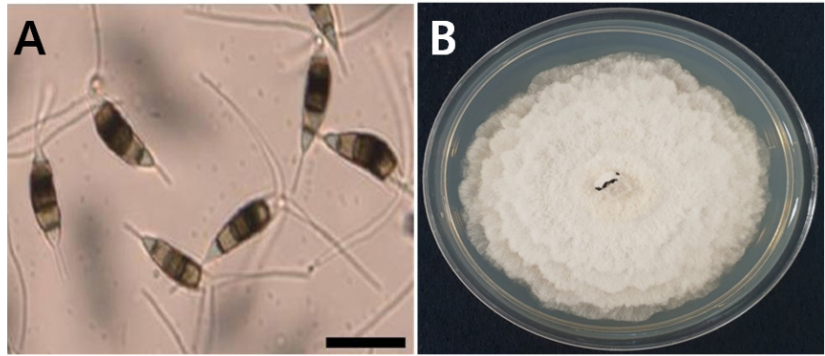


Fig. 2. Cultural and morphological features of *Neopestalotiopsis clavispora* isolate. A, Conidia of *N. clavispora*, (scale bar: 20 μm); B, Cultural morphology on PDA medium.

병원균의 특성 및 동정

분리된 병원균을 광학현미경으로 관찰한 결과, 분생포자는 대부분 방추형으로 주로 곧은 형태를 나타내거나 간혹 약간 굽은 것도 있으며 4개의 격막에 의해 5세포로 이루어져 있었다. 분생포자는 유색의 중앙 3세포 (Three median cells)와 투명한 상부 및 하부세포로 되어 있고 양쪽 끝에 부속사(appendage)를 가지고 있다. 분생포자 중앙의 3세포 중 상위 2세포는 어두운 갈색으로 착색되어 있고 하위 1세포는 올리브색 또는 옅은 갈색으로 대부분 상위 2세포가 하위 1세포보다 색이 더 진하였다. 양쪽 끝에 위치한 2개 세포는 무색으로 투명하였으며, 분생포자의 길이는 18.2-26.7 μm 이었다(N=20). 선단의 무색 세포에는 무색의 부속사(appendage)가 2-4개 정도 붙어 있었으며, 기부쪽 세포에도 대부분 무색 1개의 곧은 부속사가 착생되어 있었다. 이러한 형태적 특성은 이전에 보고된 *Neopestalotiopsis clavispora*의 특징과 거의 유사하여(Fig. 2A, Table 2) 딸기에서 분리한 병원균은 *N. clavispora*일 것으로 추측되었다[15]. 병원균에 대한 온도별 균사생장 정도를 조사한 결과, 균사 성장 최적온도 조건은 25°C와 28°C로 나타났으며(Table 2), 두 온도 조건에서 균사 생장량과 기중균사 형성에는 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 Yusuda가 보고한 *Pestalotiopsis* spp.의 균사생장량이 25°C보다 28°C가 높다는 결과와는 차이가 있었으나[9], 30°C에서 생육이 매우 저해되는 결과와는 일치하였다. 또한 배지별 균사생장 정도를 조사한 결과, 모든 배지에서 생장 정도가 비슷하였으나 그 중 PDA 배지에서 기중균사의 형성과 분생포자의 형성 정도가 가장 우수하였고 (Table 3), 포자 형성량도 많아 PDA 배지가 접종원 배지로서의 이용이 효과적일 것이라는 Hopkins와 McQuilken의 연구결과와 일치하였다[10].

Table 2. Comparison of morphological characteristics of pathogen isolated from the strawberry plants in this study with *Neopestalotiopsis clavispora* previously reported

Characteristics	Present fungus	<i>Neopestalotiopsis clavispora</i> ^a
Conidia		
Shape	five celled, fusiform, straight or curved	five celled, fusiform
Length(μm)	18.2-26.7 (23.1 \pm 2.5)	22.7
Three median cells		
Length(μm)	10.1~19.7 (14.9 \pm 3.0)	
Color	Olivaceous or pale brown with the upper two colored cell darker brown	Pale brown, upper two colored cell darker brown
Appendages		
Number of apical appendages	2-4	2-4
Length of basal(μm) appendages	6.2-9.8 (8.0 \pm 1.0)	9.5

^aSource of description[15].

Table 3. Mycelial growth of *Neopestalotiopsis* isolated from strawberry plants in this study

Medium	Mycelial growth (diameter, mm/5days)				
	15°C	20°C	25°C	28°C	30°C
Potatodextrose agar	2.3±0.08	3.1±0.15	3.7±0.16	3.7±0.20	1.1±0.09
V8 juice agar (20%)	2.1±0.10	3.2±0.07	3.8±0.14	3.8±0.11	1.7±0.15
Corn meal agar	1.9±0.10	2.6±0.07	3.1±0.12	3.1±0.15	1.9±0.10

Values are presented as mean±standard deviation.

Neopestalotiopsis sp.의 특성을 보이는 분리한 병원균 1종의 정확한 동정을 위하여 genomic DNA를 추출하여 ITS1F/ITS4 primer set을 활용하여 rDNA ITS 영역의 염기서열 분석을 실시하였으며, *Neopestalotiopsis* 속 내 정확한 종 동정을 위하여 Bt2a/Bt2b primer set을 활용하여 β -tubulin 유전자 염기서열도 추가적으로 분석하였다. 그 결과, 분리한 병원균의 ITS 영역과 β -tubulin 유전자의 염기서열 모두 *N. clavispورا*로 등록되어 있는 균주들의 염기서열과 >99% 일치하는 것으로 확인되었다. GMPKM-F-8 균주의 β -tubulin 유전자의 염기서열은 *N. clavispورا*로 등록된 Genbank accession number KY271054, KU096880, MK620300와 100%의 유사도를 나타내었다. *N. clavispورا*는 *P. clavispورا*에서 최근 *N. clavispورا*로 재 명명되었다[11]. 분리한 병원균 *N. clavispورا*와 근연종들 간의 유연관계와 계통수 작성을 수행한 결과, 딸기 뿌리썩음 병반에서 분리한 병원균은 국외에서 *N. clavispورا*로 등록된 Genbank accession number MK940250, LC209216와 같은 그룹을 형성하였으며, 다른 근연종과 확실하게 구분되었다(Fig. 3). 따라서, 형태학적 특징 및 계통학적 유연관계 분석 결과를 종합한 결과, 딸기 뿌리썩음 병반으로부터 분리한 병원균은 *N. clavispورا*인 것으로 최종 확인되었다. 분리한 균주 GMPKM-F-8의 분석된 ITS 영역과 β -tubulin 유전자의 DNA 염기서열은 NCBI GenBank에 각각 accession no. MN637866과 MN689250으로 등록하였다. 딸기 뿌리썩음병에서 분리한 *N. clavispورا* 균주(GMPKM-F-8)는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터(KACC 48795)에 기탁·등록하였다.

병원성 검정

크라운 부위에 상처를 준 다음 딸기 뿌리썩음 병반으로부터 분리한 병원균의 포자현탁액을 관주 처리한 딸기 묘목에서 뿌리와 관부가 갈변되면서 썩고 최종적으로는 접종 후 한달 이내에 지상부가 고사되는 병징을 나타내었으며, 무처리구 6주에서는 병징을 나타내지 않았다(Fig. 4). 상처를 내지 않고 병원균을 접종한 3주의 딸기 식물체는 병 발생이 잘 되지 않았다. 병반이 형성된 관부 내부 갈변 부분의 시료를 광학현미경으로 검정한 결과, 동일한 *N. clavispورا*의 분생포자가 관찰되었다. 이상과 같이 딸기 뿌리썩음병을 일으키는 병원균의 형태적 특징과 염기서열 분석 및 동정, 병원성 검정을 기초로 *N. clavispورا*으로 동정되었다. 딸기에서 *Pestalotiopsis*속 또는 *Neopestalotiopsis*속 균에 의한 병해는 딸기 잎마름병(또는 점무늬병)과 과실썩음병 등이 보고되었고[12,13], *N. clavispورا*에 의한 딸기의 뿌리썩음병은 스페인, 아르헨티나, 우루과이 등에서 발생 보고되었으나[15,16], 우리나라에서는 기주 미기록 종이다. 따라서 발병 및 병징, 병원성 검정, 균학적 특징 및 염기서열 분석 등의 결과를 바탕으로 이 병을 우리나라에서 지금까지 보고되지 않은 ‘*N. clavispورا*에 의한 딸기 뿌리썩음병’으로 명명하고자 한다.

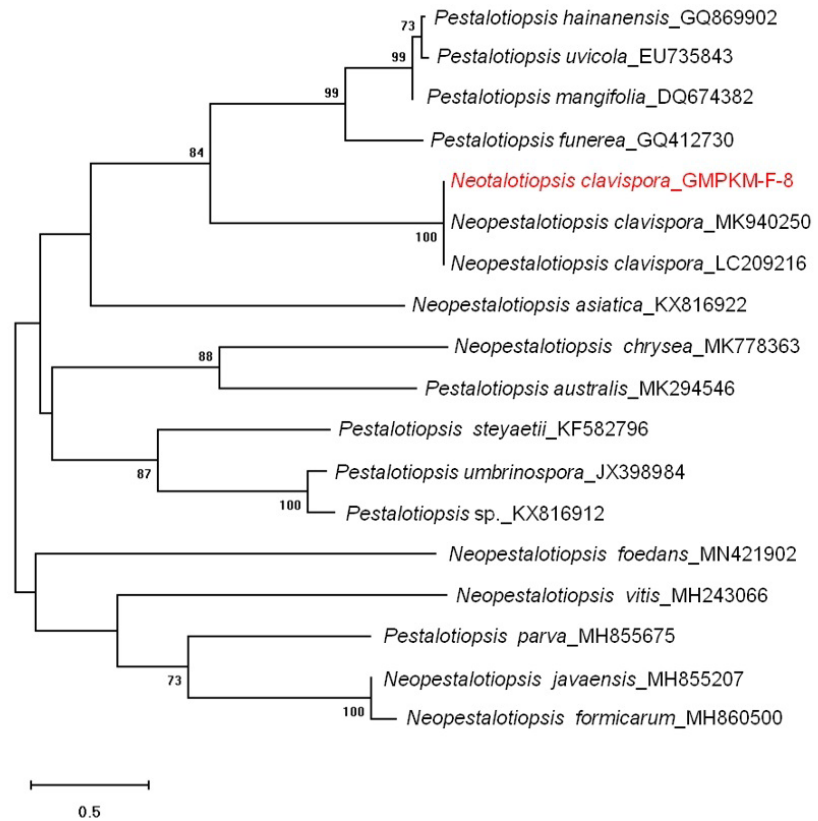


Fig. 3. Phylogenetic tree of rDNA ITS sequence from *Pestalotiopsis* sp. and other reference sequences obtained from GenBank at NCBI. Bootstrap values were represented under each branch. Sequence obtained in this study was indicated in red.

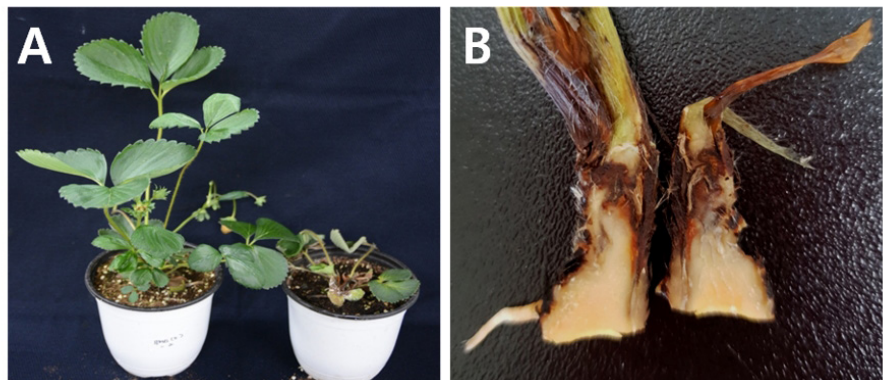


Fig. 4. Pathogenicity test of *Neopestalotiopsis clavispора* isolate on strawberry plants. A, Growth of non-inoculated (left) and inoculated with *P. clavispора*; B, Root and crown rot by inoculation.

적요

최근 경남 산청, 함양의 딸기 재배지역의 육묘하우스에서 딸기 묘목의 뿌리와 관부를 썩게 하고 지상부의 생육을 저해하며 최종적으로 식물체를 시들게 하는 뿌리썩음병(가칭)증상이 발생하였다. 이러한 병반을 나타내는 딸기 식물체 뿌리와 관부로부터 병원균을 분리하고 균학적 특성을 조사하였으며, 유전자 염기서열 분석과 계통학적 분석을 수행하였다. 그 결과, 딸기 육묘과정에

서 발생한 뿌리썩음병(가칭)의 병원균은 *Neopestalotiopsis clavispora*로 확인되었으며, 건전한 딸기 식물체를 대상으로 접종실험을 수행한 결과 딸기에 대한 병원성을 확인하였다. 지금까지 국내에서 *N. clavispora*에 의한 딸기 뿌리썩음병이 보고되지 않았으므로 본 연구결과를 바탕으로 이 병을 딸기뿌리썩음병으로 국내 최초로 보고한다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was carried out with the support of the Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Department (Project No. PJ012826092019), Rural Development Administration (RDA), Republic of Korea.

REFERENCES

1. Azodanlou R, Darbellay C, Luisier J, Villettaz J, Amado R. Quality assessment of strawberries (*Fragaria* species). *J Agric Food Chem* 2003;51:715-21.
2. Francisco AR, Blanco PR, Munoz BJ, Caballero LJ. The strawberry plant defense mechanism: a molecular review. *Plant Cell Physiol* 2011;52:1873-903.
3. Nam HM, Kim HS, Kim TI, Lee EM. Comparison of environmental-friendly and chemical spray calendar for controlling diseases and insect pests of strawberry during nursery seasons. *Res Plant Dis* 2015;21:273-9.
4. Lim YS, Jung KC, Kim SH, Bark SD. Crown rot of strawberry (*Fragaria ananassa*) caused by *Phytophthora cactorum*. *Korean J Plant Pathol* 1998;14: 735-7.
5. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninski JJ, White TJ, editors. *PCR protocols, a guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press; 1990. p. 315-22.
6. Glass NL, Donaldson GC. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:1323-30.
7. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Bio Evol* 2013;30:2725-9.
8. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 2018;35:1547-9.
9. Yusuda F, Kobayashi T, Watanabe H, Izawa H. Addition of *Pestalotiopsis* spp. to leaf spot pathogens of Japanese persimmon. *J Gen Plant Pathol* 2003;69:29-32.
10. Hopkins KE, McQuilken MP. Characteristics of *Pestalotiopsis* associated with hardy ornamental plants in the UK. *Eur J Plant Pathol* 2000;106:77-85.
11. Maharachchikumbura SSN, Hyde KD, Groenewald JZ, Xu J, Crous PW. *Pestalotiopsis* revisited. *Stud Mycol* 2014;79:121-86.
12. Amrutha P, Vijayaraghavan R. Evaluation of fungicides and biocontrol agents against *Neopestalotiopsis clavispora* causing leaf blight of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2018;7:622-8.
13. Embaby EM. *Pestalotia* fruit rot on strawberry plants in Egypt. *Egypt J Phytopathol* 2007;35:99-110
14. Rodrigues FA, Silva IT, Antunes Cruz MF, Carre-Missio V. The infection process of

- Pestalotiopsis longisetula* leaf spot on strawberry leaves. J Phytopathol 2014;162:690-2.
15. Chamorro M, Aguado A, De los Santos B. First report of root and crown rot caused by *Pestalotiopsis calvispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) on strawberry in Spain. Plant Dis 2016;100:1495.
 16. Obregón VG, Meneguzzi NG, Ibañez JM, Lattar TE, Kirschbaum DS. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry plants in Argentina. Plant Dis 2018;102:1856.