بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه کردستان
دانشکده کشاورزی
گروه گیاهپزشکی

عنوان:

مطالعه مقایسه‌ای خصوصیات فنوتیپی و مولکولی باکتری مولد پوسیدگی نرم در استان های کردستان و آذربایجان غربی

پژوهشگر

صغری حنانی

استاد راهنما

دکتر بهروز حریقی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی

تیر ماه ۱۳۹۰

کلیه حقوق مادی و معنوی مترتب بر نتایـج مطالعات،

ابتکارات و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع

این پایان‌نامه (رسـاله) متعلق به دانشـگاه کردستان است.

تعهد نامه

اینجانب صغری حنانی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی دانشگاه کردستان، دانشکده کشاورزی گروه گیاهپزشکی تعهد می نماییم که محتوای این پایان نامه نتیجه تلاش و تحقیقات خود بوده و از جایی کپی برداری نشده و به پایان رسانیدن آن نتیجه تلاش و مطالعات مستمر اینجانب و راهنمایی و مشاوره اساتید بوده است.

با تقدیم احترام

صغری حنانی

۱۳۹۰ / ۴ / ۲۷

قم آ ن ت را ی نا ندوارزای ی دار ری ی

رر م با ی

و

ما م او ن ع م

و .ی سای دو شان دارم

پاس اری

پاس راوری‌را ورانازودن‌اوعا ر، سابا ان‌از مارش ستی‌او وان‌وتلاش ان‌ازادای ق‌او ماره‌ار.

ا ون ف‌ویاری راور عال‌ان و ش اجام‌ریده‌ا ت، ودلازم ی‌دام‌ازما ی‌اسایدو روارای ریدن‌آن ا ای ده‌ار رردای مام.

آغاز راکاری، شبان‌و ما .جا .رروما اقدرم‌و وا و ا م راارج ی م‌و پاس ت ی‌ی شان وش ی‌ند ان عی‌را اشان‌قدم ی م.

اززمات‌اتادرا ما ناب‌آ ی‌د مر وز ی راه رون‌ان‌پایان ایاری ودر، ی‌مام. ن‌ازخام ندس‌لادن ل از ات‌ارز ندشان ه یار دم پاس ارم.

ازآ ی ندس‌عی مر ی پاس .ی‌سا رت و ی شان ل رادارم‌واز راورعا ت مری، عا ت‌و ول را ای اشان وا تارم.

ازخام ندس .کا ی‌وآ ی ندس‌حار وی پاس غ ی‌ی‌و یارشان ی م.

ازدو تان م، آ تا دی‌طاع، م ی، یلاس ی، گلاو زار، ساور یدی‌و مد ی‌یا با ا ی ما ود و بات‌آراش ا ام درن‌ها رردای ی‌مام.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

مقدمه ۱

فصل اول (پیشینه و تاریخچه تحقیق) ۳

۱-۱-بیماری پوسیدگی نرم ۳

۱-۱-۱- علائم بیماری ۴

۱-۱-۲- همه گیر شناسی و چرخه بیماری ۶

۱-۲-گیاه میزبان ۸

۱-۲-۱-خصوصیات سیب زمینی ۸

۱-۲-۲-خصوصیات چغندر قند ۸

۱-۲-۳-خصوصیات گوجه فرنگی ۸

۱-۲-۴-خصوصیات هویج ۸

۱-۳-بیماری‌های مهم سیب زمینی ۹

۱-۳-۱-بیماری‌های باکتریایی سیب زمینی ۹

۱-۳-۲-بیماری‌های مهم چغندر قند ۹

۱-۳-۳-بیماری‌های باکتریایی چغندر قند ۹

۱-۳-۴-بیماری‌های گوجه فرنگی ۹

۱-۳-۵-بیماری‌های باکتریایی گوجه فرنگی ۹

۱-۴-دامنه میزبانی باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم و ساق سیاه ۹

۱-۵-موقعیت تاکسونومیکی عامل بیماری..... ۱۰

۱-۵-۱-خصوصیات جنس *Pectobacterium*..... ۱۱

۱-۵-۲-خصوصیات زیرگونه *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*..... ۱۴

۱-۵-۳- خصوصیات *Pectobacterium atrosepticum*..... ۱۵

۱-۵-۴- خصوصیات جنس *Dickeya* sp..... ۱۵

۱-۶-مطالعات DNA پلاسمیدی و ژنومی در *Pectobacterium*..... ۱۶

۱-۷-مکانیسم های بیماری..... ۲۲

۱-۷-۱-ترشح آنزیم‌های تجزیه کننده‌ی دیواره سلولی..... ۲۳

۱-۹-مدیریت بیماری..... ۲۴

فصل دوم (مواد و روش‌ها) ۲۶

۲-۱-نمونه برداری ۲۶

۲-۲-جداسازی باکتری از نمونه‌های گیاهی آلوده ۲۵

۲-۳-خالص سازی و نگهداری جدایه‌ها ۲۷

۲-۴-بررسی خصوصیات فنوتیپی جدایه‌ها ۲۸

۲-۵-جداسازی DNA کروموزومی..... ۲۸

۲-۶-تعیین کیفیت DNA استخراجی..... ۲۹

۲-۷-الکتروفورز DNA کروموزومی..... ۲۹

۲-۷-۱-تهیه ژل آگارز و انجام الکتروفورز..... ۳۰

۲-۷-۲-رنگ آمیزی ژل و مشاهده باندها..... ۳۰

۲-۸-واکنش زنجیره‌ای پلیمراز Polymerase chain reaction (PCR)..... ۳۰

۲-۸-۱-آغازگرها..... ۳۰

۲-۸-۲-تهیه ترکیبات واکنش و انجام PCR..... ۳۱

۲-۸-۳-چرخه‌های حرارتی PCR..... ۳۱

۲-۹-تجزیه و تحلیل مشاهدات..... ۳۲

۲-۱۰-تجزیه خوشه‌ای..... ۳۲

۲-۱۰-۱-هدف از تجزیه خوشه‌ای..... ۳۳

۲-۱۱-محاسبه ضریب کوفئنتیک..... ۳۳

فصل سوم (نتایج) ۳۴

۳-۱-نشانه‌های بیماری..... ۳۴

۳-۲-جداسازی جدایه‌ها..... ۳۵

۳-۳-خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی..... ۳۶

۳-۴-بررسی روابط ژنتیکی بین استرین‌ها..... ۴۰

۳-۴-۱-تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی..... ۴۰

۳-۵-بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها با استفاده از تکنیک rep-PCR..... ۴۰

فصل چهارم (بحث و نتیجه گیری)..... ۴۸

۴-۱-شناسایی جنس باکتری مورد مطالعه.....۴۸

۴-۲- مقایسه نتایج حاصل از خصوصیات بیوشیمیایی با مطالعات قبلی.....۵۰

۴-۳- مقایسه نتایج حاصل از rep-PCR با مطالعات قبلی صورت گرفته.....۵۳

۴-۴-نتیجه گیری.....۵۴

۴-۵-پیشنهادات.....۵۵

منابع.....۵۶

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول۱-۱:خصوصیات باکتری‌شناسی دو جنس *Pectobacterium,Dickeya*.....۱۶

جدول۲-۱: توالی آغازگرهای مورد استفاده در rep-PCR.....۳۰

جدول۲-۲: مقادیر حجمی مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.....۳۱

جدول۲-۳: چرخه‌های حرارتی آغازگرهای REP,ERIC و BOX ۳۱

جدول۳-۱: کد جدایه‌ها و منطقه جداسازی آن‌ها.....۳۶

جدول۳-۲: مقایسه نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل دندروگرام خصوصیات بیوشیمیایی وفنوتیپی..... ۳۸

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل۱-۱: چرخه بیماری باکتری عامل پوسیدگی نرم.....۷

شکل۱-۲: درخت فیلوژنی جنس‌های *Erwinia، Pectobacterium، Brenneria، Pantoea* و *Enterobacter* **بر اساس داده‌های حاصل از توالی ژن** 16S rDNA.....۱۳

شکل۱-۳: ساختار توالی و آغازگرهای REP.....۱۸

شکل۱-۴: ساختار توالی و آغازگرهای ERIC.....۱۸

شکل۱-۵: نشان دهنده‌ی میزان تشابهت ژنتیکی در سه گونه از جنس *Pectobacterium*۲۲

شکل ۲-۱: رنگ سبز متالیک تشکیل شده توسط پکتوباکتریوم بر روی محیط کشت EMB.....۲۷

شکل۳-۱: علائم بیماری حاصل از پکتوباکریوم در گیاه چغندرقند.....۳۵

شکل۳-۲: دندروگرام نتایج حاصل از آزمایشات بیوشیمیایی فیزیولوژیکی و فنوتیپی به همراه استرین‌های استاندارد.....۳۹

شکل ۳-۳: دندروگرام مربوط به آغازگر REP **با استفاده از ضریب دایس و ضریب کوفئنتیک ۸۶٪**.....۴۱

شکل ۳-۴: انگشت نگاری DNA **جدایه‌های عامل پوسیدگی نرم با آغازگر**REP **روی ژل آگارز ۱/۵ ٪**.....۴۲

شکل۳-۵: دندروگرام مربوط به آغازگر ERIC **با استفاده از ضریب جاکارد و ضریب کوفئنتیک ۸۵٪**.....۴۳

شکل۳-۶: انگشت نگاری DNA **جدایه‌های عامل پوسیدگی نرم با آغازگر**ERIC **روی ژل آگارز ۱/۵ ٪**.....۴۴

شکل ۳-۷: دندروگرام حاصل از آغازگر BOX **با استفاده از ضریب دایس و ضریب**

کوفئنتیک ۸۰٪.....۴۵

شکل۳-۸: انگشت نگاری DNA جدایه‌های عامل پوسیدگی نرم با آغازگرBOX روی ژل آگارز ۱/۵ ٪.....۴۶

شکل۳-۹: دندروگرام ترکیبی استفاده از هر سه پرایمر REP, ERIC و BOX با استفاده از ضریب جاکارد و ضریب کوفئنتیک ۸۵٪.....۴۷

چکیده

باکتری‌های *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*، *Pectobacterium atrosepticum* و *Dickeya chrysanthemi* عوامل بیماری پوسیدگی نرم و ساق سیاه در بسیاری از محصولات مهم تجاری در طول فصل رشد، حمل و نقل و انبار هستند. این باکتری‌ها بیمارگرهای فرصت طلب هستند که تمایل به ایجاد بیماری در مواقعی که مقاومت گیاه میزبان شکسته شده باشد را دارند. در این تحقیق ۱۰۹ جدایه از غده و ساقه‌ی گیاهان سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، هویج و چغندرقند دارای علائم بیماری از مناطق مختلف استان کردستان و آذربایجان غربی جمع‌آوری گردید. خصوصیات فنوتیپی، بیوشیمیایی و انگشت‌نگاری DNA در مورد همه‌ی جدایه‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. مطابق خصوصیات افتراقی فنوتیپی جدایه‌ها *Pectobacterium*، *Dickeya* و جنس‌های حدواسط شناسایی شدند. بر اساس آنالیزهای نتایج خصوصیات بیوشیمیایی و فنوتیپی جدایه‌ها به چهار گروه تقسیم شدند. ۳۱ جدایه برای مطالعه تنوع ژنتیکی بر اساس توالی‌های تکرار شونده در rep-PCR انتخاب شدند. برای انگشت‌نگاری ژنتیکی از آغازگرهای REP، ERIC و BOX استفاده شد. الگوهای به‌دست آمده از rep-PCR بر اساس ضریب دایس تجزیه شدند و دندروگرام‌ها با استفاده از نرم افزار NTSYS ver 2/02 و روش UPGMA رسم شدند. آغازگرهای REP، ERIC و BOX به ترتیب هفت، شش و پنج گروه را تشخیص دادند. انگشت‌نگاری انجام شده توسط REP-PCR توانایی جدا کردن جدایه‌ها را حتی در سطح زیرگونه دارد. نتایج آزمون‌های فنوتیپی و ژنتیکی انجام شده، تنوع بالایی را میان جدایه‌ها نشان داد و میان اثر انگشت ژنتیکی جدایه‌ها با منطقه نمونه‌برداری آن‌ها ارتباط خاصی دیده نشد.

کلمات کلیدی: پوسیدگی نرم، ساق سیاه، *Pectobacterium carotovorum*، *Dickeya chrysanthemi*، rep-PCR

مقدمه

بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی(soft rot)، در سال ۱۹۰۱ توسط جونز از روی هویج گزارش گردید [۵۷]. باکتری عامل بیماری در سطح مزرعه، مراحل بعد از برداشت و در شرایط انبار به سبزی‌ها، میوه ها، اندام‌های ذخیره‌ای و گیاهان زینتی که دارای بافت گوشتی هستند حمله کرده و ایجاد خسارت می‌کند [۴]. دامنه میزبانی بسیار وسیعی داشته و تاکنون در ۱۶ خانواده از گیاهان دولپه‌ای متعلق به ۱۱ راسته و ۱۱ خانواده از گیاهان تک‌لپه‌ای متعلق به شش راسته‌ی مختلف گزارش شده است [۳۲ و ۱۲۶] و محدودیت یا ویژگی میزبانی(host specificity) ندارد [۱۱۰]. علائم بیماری در میزبان‌های مختلف کمابیش یکسان می‌باشد، در منطقه‌ی مورد حمله لکه کوچک آبسوخته ظاهر می‌شود که پس از پیشرفت بیماری بافت آن ناحیه نرم می‌شود. اپیدرم در برخی از میوه‌ها و غده‌ها ممکن است سالم به نظر برسد ولی بافت داخلی آن کاملاً نرم و لزج است. در هوای خشک به علت از دست رفتن سریع آب، میوه‌ها یا غده‌های آلوده خشک و چروکیده می‌شوند و آلودگی در مزرعه بصورت کوتولگی، پژمردگی و مرگ اندام‌های هوایی گیاهان بیمار ظاهر می‌شود [۵]. زخم‌ها و یا روزنه‌های طبیعی مانند عدسک‌ها محل ورود این عامل به داخل گیاه بوده که بعد از ورود در

داخل بافت‌های آوندی و فضای بین سلولی بافت پارانشیم قرار می‌گیرد و با اضمحلال پکتین موجود در تیغه میانی باعث لهیدگی (maceration) می‌شود [۹۲]. *Pectobacterium* می‌تواند به صورت اپی‌فیت و اندوفیت در گیاهان و یا ساپروفیت در داخل خاک و آب زندگی کند [۱۱۰و۱۱۱].

جنس *Erwinia* برای اولین بار توسط Erwin F. Smith شناسایی گردید و در سال ۱۹۱۷ توسط وینسلو و همکاران به عنوان عامل بیمارگر گیاهی معرفی گردید این نام از سال ۱۹۴۵ تا ۱۹۹۰ میلادی برای این جنس مورد استفاده قرار گرفت [۵۵]. در اواخر ۱۹۹۰ میلادی برای مطالعه خصوصیات فیلوژنی اروینیاها از توالی ژن 16S rRNA استفاده شد و بر اساس داده‌های بدست آمده یک گروه مجزا که توانایی تولید آنزیم‌های پکتولیتیک را داشتند، تحت نام *Pectobacterium* به وجود آمدند [۵۹ و ۶۸]. در سال ۲۰۰۵ نیز بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گونه‌ی *Erwinia chrysanthemi* به یک جنس جدید تحت عنوان *Dickeya chrysanthemi* منتقل گردید[۹۹ و ۸۱]. باکتری های

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* (syn *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*)
Pectobacterium atrosepticum (syn *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*)
Dickeya chrysanthemi (syn *Erwinia chrysanthemi*)

باعث ایجاد پوسیدگی نرم و ساق سیاه(Blackleg) در گیاهان میزبان می‌شوند [۹۰] و در هر شرایط آب و هوایی یافت می‌شوند، مناطق گرمسیر و سردسیر اروپا، آسیا، برزیل و بسیاری از کشورهای دیگر مناطقی هستند که وجود این عوامل را گزارش کرده‌اند [۴۵]. عامل بیماری بر روی سیب‌زمینی، از اکثر مناطق ایران شامل استان‌های اردبیل، همدان، خوزستان، اصفهان، کردستان، گیلان و آذربایجان غربی گزارش شده است. این سه باکتری هتروژن بوده و مطالعات ژنتیکی مفصلی در مورد آن‌ها انجام شده است.

فصل اول

پیشینه و تاریخچه تحقیق

۱-۱- بیماری پوسیدگی نرم

بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی، اولین بار در سال ۱۹۰۱ در امریکا توسط جونز روی هویج و تحت نام پوسیدگی نرم هویج گزارش گردید و در سال ۱۹۰۲، ون هال در هلند و اپل در آلمان به طور جداگانه عامل بیماریزا را شناسایی کردند [۵۷]. این بیماری در همه کشورهایی که هویج کشت می‌شود، وجود دارد. باکتری عامل بیماری به سبزی‌ها، میوه ها و گیاهان زینتی که دارای بافت گوشتی هستند حمله کرده و ایجاد خسارت می‌کند [۴]. در ایران حجارود برای اولین بار پوسیدگی نرم غده سیکلامن را بررسی و عامل بیماری را پکتوباکتریوم شناسایی کرد [۱۲]. متعاقب آن امانی نیز از غده‌های آلوده سیکلامن باکتری عامل بیماری را جدا کرده و بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی آن را *Erwinia carotovora* تشخیص داد [۶].

مطالعاتی در خصوص پوسیدگی نرم غده و بیماری ساق سیاه سیب‌زمینی توسط بهار و دانش در اصفهان و غده‌های جمع‌آوری شده از مناطق مهم سیب‌زمینی کاری کشور توسط فریدونی انجام شده و زیرگونه‌های *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* , *Pectobacterium atrosepticum* به عنوان عامل بیماری معرفی گردیدند [۷ و۲۱]. تقوی در سال ۱۳۷۸ نیز با بررسی هایی که بر روی سیب زمینی‌های استان زنجان انجام داد توانست باکتری *Pectobacterium atrosepticum* را شناسایی کند [۱۱]. ظهوری پرالک در سال ۱۳۸۲، *P. atrosepticum* و *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* را عامل ایجاد خسارت در مزارع سیب زمینی استان فارس معرفی کرد [۲۰]. تقوی در سال ۱۳۸۵ اولین گزارش از وجود *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* و *Dickeya chrysanthemi* در نخیلات استان فارس را ارائه نمود [۸]. خشک دامن در سال ۲۰۰۸ میلادی برای اولین بار *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* را عامل بیماری پوسیدگی غلاف و ساقه برنج در شالیزارهای استان گیلان معرفی نمود [۶۷]. اروینیاهای مولد پوسیدگی نرم علاوه بر این که در مزرعه و گلخانه‌ها باعث ایجاد بیماری می‌شوند، در مراحل پس از برداشت و حتی در شرایط انبار نیز خسارت قابل توجهی را به میزبان وارد می‌کنند [۱۱۰].

۱-۱-۱- علائم بیماری

در مورد اروینیاها مطالعات زیادی صورت گرفته است زیرا این باکتری‌ها باعث ایجاد خسارت در گیاهان مهمی از قبیل سیب زمینی و چغندرقند می‌شوند. ایجاد بیماری در این محصولات باعث ایجاد خسارت اقتصادی بسیار زیادی می‌شود. هر سه گونه‌ی *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (syn *E. carotovora* subsp. *carotovora*), *Pectobacterium atrosepticum* (syn *E. carotovora* subsp. *atroseptica*), *D. chrysanthemi* (syn *E. chrysanthemi*)

سیب‌زمینی را آلوده می‌کنند و توانایی ایجاد پوسیدگی نرم و ساق سیاه در میزبان را دارند [۹۰]. در شرایط سرد و مرطوب مهمترین عامل ایجاد کننده بیماری ساق سیاه، *P. atrosepticum* می‌باشد و علائم از غده‌های مادری منشاء می‌گیرند [۵۱]. اروینیاهای مولد پوسیدگی نرم باعث ایجاد پژمردگی، کلروز، کاهش رشد، پوسیدگی ساقه و پوسیدگی نرم در بسیاری از محصولات می‌شوند [۵۶].

برای سالیان متمادی تصور بر این بود که اروینیا فقط دارای زیرگونه *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* و گونه *P. atrosepticum* می‌باشد که زیر گونه اولی دارای دامنه‌ی میزبانی وسیع و گونه دوم دامنه‌ی میزبانی محدود به سیب‌زمینی دارد ولی بعدها با توجه به خصوصیات بیوشیمیایی و مطالعات مولکولی زیر گونه‌های دیگری نیز برای این باکتری شناسایی شد [۴۰]. *D. chrysanthemi* به عنوان عامل پوسیدگی نرم و *Pseudomonas fluorescence* به صورت همراه با این باکتری در گیاهان آلوده وجود دارند [۶۶].

علائمی که *P. atrosepticum* و *D. chrysanthemi* ایجاد می‌کنند بسیار متنوع می‌باشد. این دو باکتری می‌توانند باعث کاهش چشمگیر رشد، کلروز، پژمردگی، پوسیدگی غده و ساقه، خشک شدن ساقه‌ها و نهایتاً مرگ گیاه گردند. تولید این علائم توسط *P. atrosepticum* بیشتر از *D. chrysanthemi* مشاهده شده است. شناسایی این باکتری‌ها توسط مشاهدات چشمی در سطح مزرعه کار غیرقابل اعتمادی می‌باشد [۴۳].

علائم بیماری در میزبان‌های مختلف کمابیش شبیه به هم هستند. ابتدا در منطقه‌ی مورد حمله لکه کوچک آبسوخته ظاهر می‌شود که تدریجاً بزرگ و عمیق‌تر شده و یا اینکه کمی تاول زده به نظر می‌رسند. سطح خارجی برخی از میوه‌ها و غده‌ها ممکن است سالم به نظر برسد در صورتیکه داخل آن به توده‌ای نرم و لزجی تبدیل شده است. در هوای خشک به علت از دست رفتن سریع آب، میوه‌ها یا غده‌های آلوده خشک و چروکیده می‌شوند و آلودگی در مزرعه با کوتولگی، پژمردگی و مرگ اندام‌های هوایی گیاهان بیمار جلب توجه می‌کند [۵].

در هویج بافت‌های پارانشیمی خیلی سریع مورد حمله باکتری قرار می‌گیرند و سایر بافت‌ها مقاومت بیشتری دارند. سلول‌های مورد حمله آبسوخته می‌شوند، تیغه میانی آن منهدم شده و سلول‌ها از یکدیگر جدا شده به توده آبکی نرم و لزجی تبدیل می‌شوند. اپیدرم معمولاً متصل باقی می‌ماند، بافت‌های پوسیده خاکستری تا قهوه ای به نظر می‌رسند و بسته به میکروارگانیسم‌های ثانویه که بافت را مورد حمله قرار می‌دهند ممکن است از بافت‌های آلوده بوی نامطبوعی به مشام برسد. فساد در طول محور ریشه توسعه می‌یابد و اگر ریشه‌ها از وسط نصف شوند یک مرز مشخص بین بافت سالم و آلوده مشاهده می‌گردد [۴].

در سیب زمینی، گیاهان آلوده علائم مشخصی را نشان می‌دهند. برگ‌ها زرد شده و به طرف بالا لوله‌ای می‌شوند، گیاهان آلوده تمایل به راست ایستادن دارند ابتدا بخش زیرزمینی ساقه سیاه شده ولی با توسعه بیماری رنگ سیاه جوهری به طول چند سانتیمتر به طرف بالای ساقه پیشروی می‌کند (ساق سیاه Blackleg). در مواردی که آلودگی شدید باشد گیاه پژمرده شده و از بین می‌رود. دسته‌های آوندی تغییر رنگ می‌دهند، در بوته‌های آلوده بافت غده در محل اتصال استولون نرم و تیره رنگ می‌شود. در برش طولی غده، تغییر رنگ و فساد بافت‌ها در امتداد محور طولی مشاهده می شود که به طور نامنظم به طرف خارج توسعه می‌یابد [۱۱۰].

در چغندرقند عامل بیماری به بافت آوندی دمبرگ و ریشه‌ها حمله می‌کند و سبب پوسیدگی شدید می‌شود. بافت آوندی ریشه‌ها نکروزه شده و نواحی اطراف آن‌ها در مجاورت هوا به رنگ صورتی در می‌آید. بارزترین نشانه بیماری پوسیدگی نرم ریشه چغندرقند آن است که ریشه از قسمت انتهایی شروع به پوسیدن و سیاه شدن می‌کند [۴].

در گوجه فرنگی گیاه به صورت یک طرفه دچار پژمردگی شده و زخم‌های نامنظم آبسوخته ای در محل انشعاب ساقه‌ها ایجاد می‌شود. برگ‌ها حالت لوله‌ای پیدا می‌کنند و مناطق بالای زخم‌ها به تدریج پژمرده شده و از بین می‌روند. میوه‌های موجود در این بخش‌ها دچار لهیدگی شده ولی اپیدرم بافت سالم باقی می‌ماند. در گیاهان خانواده شب‌بو و پیاز بوی گوگرد در اثر آلودگی به مشام می‌رسد [۵].

۱-۱-۲- همه‌گیر شناسی و چرخه بیماری

گیاهان آلوده‌ی باقی مانده در سطح مزرعه و غده‌های پوسیده از مهمترین منابع اولیه آلودگی می‌باشند. باکتری بذرزاد می‌باشد و آلودگی نهان در غده‌های بذری مهمترین عامل در گسترش بیماری می‌باشد [۴۴]. سیستم آوندی، عدسک و زخم‌های چوب‌پنبه‌ای شده بافتهائی هستند که این عوامل در داخل آن‌ها بقاء می‌یابند [۸۸]. باکتری می‌تواند بصورت اپی فیت در سطح گیاهان و یا ساپروفیت در داخل خاک و آب زندگی کند [۱۱۰و۱۱۱]. باکتری از طریق زخم‌ها و یا روزنه‌های طبیعی مانند عدسک‌ها وارد گیاه می‌شود و بعد از ورود در داخل بافت‌های آوندی و فضای بین سلولی بافت پارانشیم قرار می‌گیرد [۹۲]. وجود آب، درجه حرارت مناسب و اکسیژن برای تکامل و ایجاد بیماری