

Research Article

Transmission of plant pathogenic bacteria *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* from bean seed to seedling and the disease incidence in the field

Cobra Moslemkhani✉, Saman Sheidaei, Bita Oskouei



Seed and Plant Certification and Registration Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Corresponding author

✉Moslemkhany@yahoo.com

Abstract

Keywords

Disease, Legumes, Seed-borne and transmission

Seed-borne diseases have important effects on diseases epidemic and emergencing of new diseases. In the present study, the contamination of seed samples from different bean cultivars harvested from different regions of the Iran during 2022 to 2024, were monitored and the transmission of two seed-borne bacteria *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (*Cff*) in daughter plants and also in the next generation field were assessed. Disease surveys were done in different growth stages via visual field inspection. The pathogenes were detected in some of seed samples using culture method and specific PCR. The highest rate of infection with both disease agents was recorded in Yaghout and Dadfar cultivars from Lorestan and Markazi provinces, respectively. Investigation of the pathogen transmission from seed to plant under controlled greenhouse conditions by using specific PCR with primers p7X4c, p7X4c (for *Xpp*) and CffFOR2, CffREV4 (for *Cff*), showed the epiphytic and endophytic development of *Xpp* and *Cff* in different tissues of the plant including root, leaf, stem and seed. *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Cff* had successful establishment in the vascular tissue of host plant and cause developed systemic infection. Study of the disease transmission rate in the natural conditions in the field showed, only less than 50% of infected seeds produced infected plants. Despite the complete transmission of the disease in the controlled conditions in the greenhouse, the transmission rate in the field may be depends on several factors including weather conditions, bacterial population in the seed and plant resistance which needs more studies.

Received: 28 September 2024

Revised: 19 January 2025

Accepted: 26 January 2025

Available online: 12 May 2025

Cite this article:

Moslemkhani C, Sheidaei S, Oskouei B, 2025. Transmission of pathogenic bacteria *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* from bean seed to seedling and the disease incidence in the field. *J Appl Res Plant Prot* 14 (2): 177–187.

<https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2025.19799>



Copyright© 2025 University of Tabriz, Published by the University of Tabriz.

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

انتقال باکتری‌های بیمارگر *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* و *Curtobacterium flaccumfaciens* از بذر به گیاهچه لوبیا و میزان ظهور بیماری در مزرعه کبری مسلم خانی✉، سامان شیدائی، بیتا اسکویی

مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر ونهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

نویسنده مسئول: Moslemkhany@yahoo.com ✉

دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۷ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۰/۳۰ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۰۷

چکیده

عوامل بیماری‌زای بذرزاد در بروز آتی بیماری‌ها و توسعه اپیدمی آن‌ها نقش مهمی دارند. در تحقیق حاضر آلودگی نمونه‌های بذری ارقام مختلف لوبیا (از مناطق مختلف کشور در سال‌های ۱۴۰۱ تا ۱۴۰۳) پایش و انتقال دو باکتری بذرزاد *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) و *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (*Cff*) در گیاهان دختری و در مزرعه نسل بعد مورد ارزیابی واقع گردید. پایش ظهور بیماری‌ها در مزرعه، با بررسی چشمی علائم و در مواردی با بهره‌برداری از روش‌های تشخیصی کشت و آزمون PCR اختصاصی انجام شد. بیشترین میزان آلودگی هر دو عامل بیماری (در گیاهان مادری) به ترتیب در ارقام یاقوت و دادفر از استان‌های لرستان و مرکزی ثبت شد. انتقال باکتری‌های *Xpp* و *Cff* از بذر به گیاه از طریق بررسی توسعه رورستی و درون‌رستی باکتری‌ها در بافت‌های مختلف گیاه شامل ریشه، برگ، ساقه و بذر با استفاده از بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناختی پرگنه‌ها روی محیط YDC و آزمون PCR اختصاصی با آغازگرهای p7X4c، p7X4c (برای *Xpp*) و CffREV4، CffFOR2 (برای *Cff*) اثبات شد. استقرار موفق هر دو باکتری در بافت آوندی باعث توسعه سیستمیک آلودگی در گیاه شد. بررسی میزان انتقال بیماری در شرایط طبیعی مزرعه نشان داد علی‌رغم انتقال کامل بیماری در شرایط کنترل شده گلخانه، میزان انتقال در مزرعه تنها در کمتر از ۵۰ درصد بذرهای آلوده رخ داد. این کاهش نرخ انتقال می‌تواند به عوامل متعددی از جمله شرایط آب و هوایی، جمعیت باکتری در بذر و مقاومت گیاه بستگی داشته باشد که نیازمند مطالعات بیشتر است.

کلمات کلیدی: انتقال، بذرزاد، بقولات، بیماری

مقدمه

شده است. همچنین انتقال عمودی آن‌ها به نسل بعد نقش به سزایی در پراکنش جهانی این بیماری‌ها ایفا نموده است (Chen et al. 2021). بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا (Common Bacterial Blight, CBB) با عامل *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (*Xpp*) یکی از بیماری‌های بذرزاد مهم اقتصادی لوبیا در دنیا و ایران است که می‌تواند تا ۷۰ درصد خسارت به محصول وارد نماید (Lak & Dory 2013; Osdaghi & Zademohamad 2016 Bultreys & Gheysen 2020). عامل بیماری می‌تواند در پوسته بذر و حتی سطح جنین مستقر شود و از طریق بذر به نسل بعد انتقال یابد (Darrasse et al. 2018). بقاء طولانی مدت باکتری در بذر گزارش شده است و ارتباط آن با دما و رطوبت محل نگهداری بذر مشخص شده است (Marques et al. 2005). مانند سایر بیماری‌های باکتریایی، تاکنون روش شیمیایی مؤثری برای کنترل این بیماری توصیه

تبادلات بین المللی بذر، امکان گسترش و انتشار بیماری‌های خسارت‌زا و تهدید کننده منابع غذایی بشر را در سطح جهان بیش از پیش فراهم نموده است، بنابراین اتخاذ استراتژی‌های مدیریتی مؤثر به منظور کاهش آلودگی‌های بذرزاد اجتناب ناپذیر است (Tsedaley 2015; Sokhandan 2023). حبوبات به دلیل ارزش زراعی بالا، سطح وسیع تولید و اهمیت ارزش غذایی در دنیا به عنوان غذای پایه و منبع بسیار مهم پروتئین بسیار مورد توجه است. عملکرد این محصولات تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله بیمارگرهای مهم باکتریایی از قبیل *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* و *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* قرار می‌گیرد (Bastas & Sahin 2017). انتقال از طریق بذر به عنوان جزء کلیدی از چرخه زندگی این باکتری‌های بیماری‌زا معرفی

چروکیدگی به ویژه در ارقام حساس در اثر آلودگی به *Cff* گزارش شده است اما ارزیابی چشمی محموله‌های بذر نمی‌تواند ابزار مناسبی در پایش محموله‌های بذری به شمار رود و قطعاً آلودگی از طریق بذور آلوده فاقد علائم، قابلیت گسترش بیشتری خواهد داشت (Tegli et al. 2020). با عنایت به اینکه پایش آلودگی بذور لوبیا به دو باکتری مورد اشاره یکی از پیش نیازهای صدور گواهی سلامت بذور لوبیا است، تحقیق حاضر ضمن بررسی وضعیت آلودگی در مناطق تولید بذر، میزان انتقال این عوامل از بذر به گیاه را با هدف بهره‌برداری در بازنگری استانداردهای ملی گواهی بذر لوبیا مورد مطالعه قرار داده است.

مواد و روش‌ها

طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۳ از محموله‌های بذری لوبیا ارقام افق، کوشا، صدری، پاک، الماس، غفار، دادفر، یاقوت، درسا، شکوفا و صالح برداشت شده از استان‌های زنجان، لرستان، مرکزی، خراسان شمالی، فارس طبق دستورالعمل ISTA نمونه برداری شد و ۲۰۰ بذر از هر نمونه در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال در کرت‌های چهار ردیفه (فاصله ردیف‌ها از هم ۷۵ سانتی متر و فاصله بوته‌ها از هم ۲۰ سانتی متر بود) با آبیاری قطره‌ای کشت شدند. بازدید علائم بیماری به صورت دوره‌ای در اوایل، اواسط و اواخر فصل رشد انجام شد و گیاهان علائم‌دار در هر مرحله ثبت و با روبان‌های رنگی نشانه گذاری شدند. میزان وقوع بیماری به تفکیک در ارقام مختلف و بذور مناطق متفاوت ثبت شد. بذره‌ای سه کرت از ارقام یاقوت با آلودگی شدید، دادفر با آلودگی متوسط و پاک بدون علائم بیماری برداشت و برای بررسی نرخ انتقال آلودگی در نسل بعد مورد استفاده قرار گرفتند. باکتری‌های *Xpp* و *Cff* در نمونه‌های بذری اولیه (بذره‌ای مادری) و نمونه‌های بذره‌ای دخترتری کرت‌های منتخب با استفاده از آزمون‌های سلامت سنجی نظیر کشت روی محیط اختصاصی XCP1 و YDC، آزمون بیماری‌زایی و آزمون مولکولی PCR اختصاصی ارزیابی شدند.

برای ردیابی آلودگی‌های رورستی باکتریایی *Xpp* و *Cff* ابتدا بذور با دو برابر حجم خود در بافر نمکی (۰/۸۵ NaCl درصد) به مدت یک شب ترکیب شدند. سوسپانسیون بدست آمده تا شش سری رقت رقیق شد و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت در محیط کشت‌های XCP1 برای ردیابی *Xpp* و محیط YDC برای ردیابی *Cff* کشت و بعد از پنج روز پلیت‌ها از نظر وجود

نشده است؛ اما استفاده از بذور سالم از راهکارهای اصلی مقابله با گسترش و پیشگیری از بیماری است (Moslemkhani et al. 2021; Mohammadsour et al. 2018). بنابراین استفاده از روش‌های ردیابی دقیق آلودگی از اهمیت شایانی در گواهی بذور برخوردار است.

باکتری بذرزاد *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* عامل بیماری پژمردگی باکتریایی (Bacterial Wilt, BW) است که می‌تواند تا ۲۴ سال روی بذر بقاء داشته باشد و باعث کاهش عملکرد و کیفیت لوبیا شود (Sammer & Reiher 2012). این بیماری اولین بار در سال ۱۳۹۲ از مزارع لوبیا چشم بلبلی استان آذربایجان شرقی و در سال ۱۳۹۳ از مزارع لوبیا استان مرکزی گزارش شد (Lak & Dory, 2013). در حال حاضر مزارع لوبیای استان‌های زنجان، قزوین، البرز، فارس و لرستان نیز به این بیماری آلوده هستند و به دلیل بذر زاد بودن باکتری عامل پژمردگی، بیماری به سرعت در حال گسترش است. باکتری عامل پژمردگی لوبیا دارای سه سویه زرد، نارنجی و بنفش است که دو سویه زرد و نارنجی آن از ایران گزارش شده است (Osdaghi et al. 2020; Afkhamifar et al. 2023). در اثر این بیماری، پژمردگی برگ‌ها یا پژمردگی قسمتی از برگ مشاهده می‌شود؛ به ویژه این علائم در شرایط گرم روز تشدید می‌یابد و با کاهش دما برطرف می‌شود. به دلیل تجمع باکتری در آوندها انتقال آب قطع می‌شود و برگ‌ها پژمرده و قهوه‌ای می‌شوند (EPPO 1997). باکتری تولید بیوفیلیم می‌کند که تجمع آن باعث کاهش جذب مایعات توسط سلول‌ها می‌شود. بیوفیلیم نقش مهمی در بیماری‌زایی و شدت آلودگی ناشی از *Cff* در انسداد آوندی و مرگ گیاه دارد (Harding et al. 2019). این باکتری می‌تواند به صورت سیستمیک وارد جنین بذر شود و باعث ظهور علائم چروکیدگی دانه شود. این باکتری از آنزیم‌ها، توکسین و هورمون‌ها در تخریب دیواره سلولی گیاه میزبان استفاده می‌کند (Osdaghi et al. 2020).

از آنجایی که روش‌های مبارزه شیمیایی برای کنترل بیماری موفق نبوده و همچنین حساسیت تمام ارقام لوبیا به این بیماری، بنابراین استراتژی اصلی مدیریت بیماری استفاده از بذور سالم و رعایت بهداشت و تناوب به منظور پیشگیری از بروز و شیوع بیماری است (Harveson et al. 2015). *Cff* می‌تواند در آوندهای گیاهی مستقر و به صورت سیستمیک در گیاه توسعه یابد (Osdaghi et al. 2020; Afkhamifar et al. 2023). اگرچه امکان ظهور علائم آلودگی نظیر تغییر رنگ یا

پرگنه‌های مشکوک به عوامل ذکر شده، بررسی شدند. پرگنه‌های زرد رنگ دارای هاله هیدرولیز شده در محیط XCP1 به عنوان پرگنه‌های مشکوک به *Xpp* و پرگنه‌های زرد، نارنجی، قرمز به عنوان پرگنه‌های مشکوک به *Cff* برای ارزیابی‌های بعدی در محیط YDC و NSA خالص‌سازی شدند. جدایه‌های *Cff* (Ais 2n) و *Xpp* (۴۵) از کلکسیون مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال و گروه گیاهپزشکی دانشگاه ولی عصر رفسنجان به عنوان جدایه‌های مرجع استفاده شد. ردیابی باکتری‌های درون‌رستی نیز پس از ضدعفونی بذر با الکل ۷۰ درصد به مدت سی ثانیه و هیپو کلریت سدیم ۱۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. بذور ضدعفونی شده در دستگاه خرد کن، پودر شدند و به نسبت یک به ده با بافر نمکی ترکیب و در محیط کشت به روش اشاره شده کشت شدند.

اختصاصی p7X4c با توالی 5'-GGCAACACCCGATCCCTAAACAGG-3' و p7X4e با توالی 5'-CGCCGGAAGCACGATCCTCGAAG-3' و برای شناسایی *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* از آغازگرهای CffFOR2 با توالی 5'-GTTATGACTGAACTTCACTCC-3' و CffREV4 با توالی 5'-GATGTTCCCGGTGTTCTGA-3' (Audy et al. 1994; Tegli et al. 2002) استفاده شد. آزمون PCR در واکنش ۲۵ میکرو لیتری انجام می‌شود. ۱۲/۵ میکرو لیتر بافر Taq 2x Master Mix Red، ۰/۲ میکرومولار از هر کدام از جفت آغازگرهای اختصاصی و دو میکرو لیتر DNA و باقیمانده واکنش آب مورد استفاده قرار گرفت. سیکل دمایی برای *Xpp* به صورت یک سیکل در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت سه دقیقه، ۳۵ سیکل شامل یک دقیقه در ۹۴ درجه و دو دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و نهایتاً یک سیکل در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. برای ردیابی *Cff* شرایط دمایی مشابه *Xpp* بود با این تفاوت که دمایی اتصال ۴۵ ثانیه در ۶۰ درجه سلسیوس در نظر گرفته شد. محصول PCR روی ژل آگارز دو درصد حلال ژل رد، الکتروفورز و سپس وجود یا عدم وجود قطعه ۸۰۰ bp برای *Xpp* و قطعه ۳۰۶ bp برای *cff* مورد بررسی قرار گرفت (Moslemkhani et al. 2018). در تمام آزمون‌های کشت، PCR و بیماری‌زایی ضرورت از نمونه‌های کنترل مثبت و منفی برای اطمینان از اعتبار آزمون استفاده شد.

ارزیابی آلودگی در بذره‌های مادری و دختری منتخب و بررسی انتقال بیماری در مزرعه نسل بعد

بذره‌های مادری و دختری سه کرت با آلودگی شدید، متوسط و بدون علائم آلوده انتخاب و از نظر وجود آلودگی *Xpp*

پرگنه‌های مشکوک به عوامل ذکر شده، بررسی شدند. پرگنه‌های زرد رنگ دارای هاله هیدرولیز شده در محیط XCP1 به عنوان پرگنه‌های مشکوک به *Xpp* و پرگنه‌های زرد، نارنجی، قرمز به عنوان پرگنه‌های مشکوک به *Cff* برای ارزیابی‌های بعدی در محیط YDC و NSA خالص‌سازی شدند. جدایه‌های *Cff* (Ais 2n) و *Xpp* (۴۵) از کلکسیون مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال و گروه گیاهپزشکی دانشگاه ولی عصر رفسنجان به عنوان جدایه‌های مرجع استفاده شد. ردیابی باکتری‌های درون‌رستی نیز پس از ضدعفونی بذر با الکل ۷۰ درصد به مدت سی ثانیه و هیپو کلریت سدیم ۱۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. بذور ضدعفونی شده در دستگاه خرد کن، پودر شدند و به نسبت یک به ده با بافر نمکی ترکیب و در محیط کشت به روش اشاره شده کشت شدند.

بهینه سازی آزمون بیماری‌زایی

چهار روش متفاوت برای آلوده سازی بذر و گیاهچه و غلاف لوبیا بررسی شد. از رقم حساس یاقوت و جدایه‌های رفرانس جدایه‌های *Cff* (Ais 2n) و *Xpp* (۴۵) برای بهینه‌سازی آزمون بیماری‌زایی استفاده شد. در روش اول برای آلوده‌سازی بذر ابتدا در ناحیه ناف بذر با سوزن چند خراش ایجاد و سپس بذره‌های خراش داده شده به مدت نیم ساعت به صورت جداگانه در سوسپانسیون باکتری *Xpp* و *Cff* با غلظت 10^7 CFU/ml قرار داده و سپس کشت شدند. در روش دوم ۲۰ گرم خاک با ۲۰ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری با غلظت ذکر شده، ترکیب و بذر در خاک آلوده کشت می‌شود. در روش سوم برگ گیاهچه ده روزه به مدت سی ثانیه در سوسپانسیون باکتری غوطه ور می‌شود و گیاهچه‌ها تا زمان ظهور علائم بیماری بررسی می‌شوند. در آزمون بیماری‌زایی روی غلاف، با سوزن آلوده به پرگنه باکتری روی غلاف خراش ایجاد می‌شود و پس از سه روز علائم بیماری بررسی می‌شود. در تمام روش‌های قید شده گیاهان آلوده شده در دمایی 28 ± 2 با رطوبت بالای ۹۰ درصد و ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی نگهداری شدند. در تمام آزمایشات بیماری‌زایی از باکتری تازه کشت برای تهیه سوسپانسیون با غلظت 10^7 CFU/ml استفاده شد و تیمار با آب به عنوان کنترل منفی در آزمایشات در نظر گرفته شد. بهترین روش الوده‌سازی در ادامه تحقیق برای ارزیابی توان بیماری‌زایی پرگنه‌های مشکوک استفاده شد.

شناسایی جدایه‌های باکتری با استفاده کشت روی محیط XCP1 (XenoCell Proliferation 1) و YDC (Yeast)

روش ارائه شده ارزیابی شدند. برای بررسی نرخ انتقال به مزرعه

نتایج و بحث

نتایج سه سال ارزیابی نمونه‌های بذر لوبیا در سال‌های ۱۴۰۰، ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ نشان داد، بیشترین میزان آلودگی باکتریایی *Xpp* و *Cff* در تمام سال‌های ارزیابی و تمام مناطق مورد بررسی با اختلاف در رقم یاقوت مشاهده شد. در مجموع طی سه سال ارزیابی ۰/۷ درصد از بذرها کاشته شده علائم بیماری *Cff* را نشان دادند و در ۰/۵ درصد از بوته‌های مورد ارزیابی علائم آلودگی *Xpp* رؤیت شد. آلودگی هر دو باکتری در سال ۱۴۰۰ بیشتر از دو سال دیگر ارزیابی بود.

تغییرات آب و هوایی در هر سال نظیر تغییرات دما و رطوبت در توسعه شدت این بیماری‌ها اثرگذار است. تغییرات الگوی آب و هوایی به ویژه میزان بارندگی بیشترین تاثیر قطعی در توسعه اپیدمی بیماری‌های مورد اشاره را دارد (Hailu et al., 2017).

وقوع بیماری پژمردگی باکتریایی و بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا به صورت همزمان مشاهده شد. بیشترین میزان آلودگی همزمان هر دو باکتری در رقم یاقوت در حدود یک درصد از بوته‌های آلوده مورد ارزیابی مشخص شد (جدول ۱).

و *Cff* با استفاده از آزمون‌های کشت و آزمون مولکولی طبق نسل بعد، بذرها دختری سه کرت منتخب برای کشت در کرت‌هایی با شرایط مشابه ذکر شده استفاده شدند. میزان وقوع بیماری در سه مرحله رویشی گیاه (گیاهچه، گلدهی و مرحله تشکیل غلاف) ارزیابی و ثبت شدند.

بررسی روند توسعه باکتری در گیاه

انتقال و توسعه باکتری *Xpp* و *Cff* در شرایط کنترل شده گلخانه نیز با استفاده از روش آلوده سازی خاک ارزیابی شد. جمعیت باکتری در بافت گیاه ۱۵ روز بعد از کاشت در خاک آلوده به هر دو باکتری (به صورت مجزا) بررسی شد. ردیابی باکتری از بافت برگ، ساقه و ریشه گیاه انجام شد. نمونه‌های ریشه، برگ و ساقه به طور مجزا از سه تکرار بیولوژیک که در هر تکرار از سه گیاه آلوده به باکتری *Xpp* و سه گیاه آلوده به باکتری *Cff* برداشت و پس از ضدعفونی با الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و وایتکس ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه و سه مرحله شستشو، در بافر نمکی به نسبت یک (بافت گیاه) به ده (بافر) عصاره گیری شد و سری رقت عصاره در محیط کشت YDC و XCP1 کشت شدند. آب شستشوی مرحله آخر برای اطمینان از ضدعفونی دقیق برای ردیابی جمعیت درون‌رستی باکتری نیز کشت و پس از پنج روز ارزیابی انجام شد. برای اطمینان از ردیابی صحیح، برخی پرگنه‌ها با استفاده از PCR اختصاصی آزمون شدند.

جدول ۱. تعداد بوته‌های آلوده به باکتری‌های *Xanthomonas phaseoli pv. phaseoli* و *Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens* در کرت‌های آزمایشی ارقام مختلف لوبیا.

Table 1: The number of plants infected with bacteria *Xanthomonas phaseoli pv. phaseoli* and *Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens* in different bean cultivars experimental plots.

Cultivars	Year 2021			Year 2022			Year 2023		
	Total plants number	<i>Xpp</i>	<i>Cff</i>	Total plants number	<i>Xpp</i>	<i>Cff</i>	Total plants number	<i>Xpp</i>	<i>Cff</i>
Ofogh	200	1	0	-	-	-	200	0	0
Koosha	1200	0	22	3000	0	0	3200	1	3
Sadri	1400	2	12	800	0	0	-	-	-
Pak	800	0	4	400	0	0	200	0	-
Almas	1000	1	11	-	-	-	-	-	-
Ghafar	800	0	4	600	0	0	200	0	0
Dadfar	1000	8	6	600	7	1	600	1	18
Yaghout	1400	34	30	2800	30	14	2200	6	26
Dorsa	400	2	0	200	0	0	-	-	-
Shokoufa	400	1	0	200	2	0	200	0	0
Saleh	400	1	0	2200	7	0	1200	0	1
Total	9000	50	89	10800	53	8	800	8	48

حساسیت و مقاومت به بیماری را نشان داده و حتی کاهش عملکرد ناشی از بیماری در ارقام متفاوت بوده است (Lak &

نتایج پژوهش‌های انجام شده بر روی اثر باکتری *Xpp* و *Cff* روی ارقام مختلف، نشان داده ارقام درجات مختلفی از

گسترش این بیماری به ویژه از طریق کشت بذر آلوده، اکثر استان‌های تولید کننده حبوبات در اثر خسارت ناشی از آلودگی *Cff* با افت عملکرد مواجه شده اند (Osdaghi et al. 2015).

همچنین پیش از این آلودگی به باکتری *Xpp* در مناطق تحت کشت حبوبات نظیر استان‌های مرکزی، لرستان، اصفهان گزارش شده بود. با توجه به سطح پلی مورفیسم پایین جدایه‌های *Xpp* جدا شده از لوبیاهای آلوده مناطق مختلف کشور، مشخص شده احتمالاً منابع ورود این آلودگی به کشور محدود بوده و سپس از طریق کشت بذر آلوده در بین نواحی مختلف گسترش یافته است (Zamani et al. 2011).

در مجموع وجود آلودگی باکتریایی *Cff* و *Xpp* قبلاً از مزارع لوبیای استان‌های مرکزی، آذربایجان شرقی، زنجان، قزوین، البرز، فارس و لرستان گزارش شده و بذرزاد بودن بیماری دلیل بر روند توسعه سریع بیماری ذکر شده است (Lak 2016).

(Dory, 2013; Valdo et al. 2016). در مجموع تعاملات متفاوتی بین ارقام و جدایه‌های باکتری‌های *Xpp* و *Cff* گزارش شده است به طوری که در برخی ژنوتیپ‌ها درجات متفاوتی از مقاومت نسبی ثبت شده است. همچنین به دلیل تنوع و قدرت بیماری‌زایی متفاوت جدایه‌ها، واکنش ارقام و لاین‌ها نسبت به این عوامل بیماری‌زا متغیر بوده است (Osdaghi & Lak 2015; Valdo et al. 2016).

در بین استان‌ها به نسبت میزان کل گیاه ارزیابی شده، استان لرستان با ۰/۴۵ درصد آلودگی به *Xpp* و ۰/۹ درصد آلودگی به *Cff* نسبت به استان‌های مرکزی و زنجان که میزان آلودگی آنها به *Xpp* حدود ۰/۲۵ درصد و به *Cff* حدود ۰/۴۵ بود، پیشی گرفت (جدول ۲).

وقوع بیماری پژمردگی باکتریایی لوبیا در سال ۱۳۹۱ تنها در نقاط بسیار محدودی از کشور گزارش شده است؛ اما با

جدول ۲. تعداد بوته‌های آلوده به باکتری‌های *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* و *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* در نمونه‌های بذر لوبیا برداشت شده از استان‌های مختلف کشور.

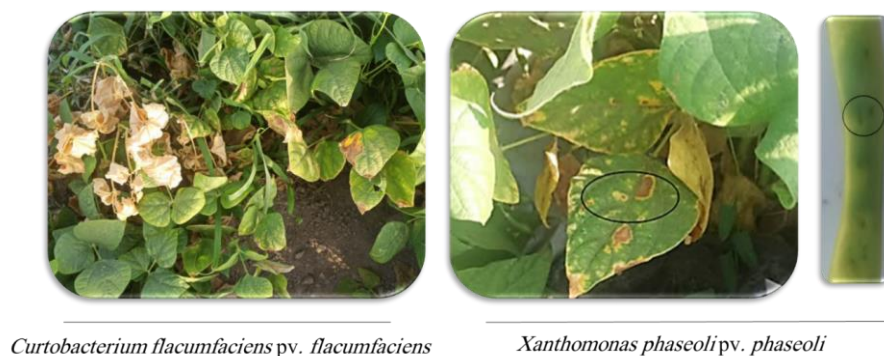
Table 2. The number of plants infected with bacteria *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in different provinces of country.

province	Year 2021			Year 2022			Year 2023		
	Total plants number	<i>Xpp</i>	<i>Cff</i>	Total plants number	<i>Xpp</i>	<i>Cff</i>	Total plants number	<i>Xpp</i>	<i>Cff</i>
Lorestan	2000	9	22	1000	8	5	1000	1	9
Zanjan	400	4	12	2000	15	0	3200	6	28
Markazi	5200	25	48	3200	9	3	2200	0	2
Fars	600	0	0	1000	6	0	1800	1	9
North Khorasan	800	12	7	1000	2	0	200	0	0
Esfahan	-	-	-	600	5	0	-	-	-
Ardabil	-	-	-	1400	8	0	-	-	-

نزدیکی بین وجود بیمارگر در محموله بذری و ظهور علائم بیماری در مزرعه وجود دارد و معمولاً همبستگی مثبت بین میزان علائم و جمعیت باکتری در بذر برقرار است (He & Munkvold 2013).

علائم بیماری CBB در مزرعه به صورت آب‌سوختگی روی غلاف‌ها و سوختگی برگ‌ها با هاله زرد رنگ مشاهده شد. در اثر آلودگی به *Cff*، علائم نکروز بین رگبرگی با حاشیه نامنظم که عمدتاً با هاله زرد رنگ نیز احاطه می‌شود و شباهت زیادی به علائم بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا داشته باشد، مشاهده شد (Júnior et al. 2012; Osdaghi et al. 2020). همچنین بروز پژمردگی یکی از اثرات بیماری‌زایی به ویژه در آلودگی *Cff* بود. علائم آب‌سوختگی روی غلاف وجه تمایز آلودگی CBB از آلودگی به *Cff* بود (شکل ۱).

آلودگی بذرهای مادری و دختری در کرت‌های منتخب در مزرعه شامل سه کرت یاقوت با آلودگی ۲۰ درصد (به هر دو بیماری BW و CBB)، دادفر با آلودگی ۱۲ درصد و پاک بدون بروز علائم بیماری، با استفاده از کشت و آزمون‌های مولکولی ارزیابی شد و آلودگی به باکتری *Xpp* و *Cff* در نمونه‌های بذری انتخاب شده (مادری و دختری) محرز شد. نمونه‌های منتخب ارقام یاقوت و دادفر به هر دو باکتری آلوده بودند و در نمونه رقم پاک آلودگی باکتریایی ردیابی نشد. جمعیت باکتری‌های ردیابی شده از حدود 10^4 CFU/gr تا 10^5 CFU/gr متغیر بود. بررسی‌ها نشان داده یک بذر آلوده در ۱۰۰۰۰ بذر می‌تواند در شرایط مساعد باعث بروز اپیدمی شود و وجود حداقل ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ باکتری در هر بذر باعث بروز بیماری در یک گیاه می‌شود (Weller & Seattler 1980). همچنین مشخص شده رابطه



شکل ۱. تصویر سمت راست مربوط به علائم بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا با عامل *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* در گیاه لوبیا به همراه ظهور علائم آب‌سوختگی رو غلاف آلوده. تصویر سمت چپ مربوط به علائم نکروز نامنظم، پژمردگی و مرگ ناشی از آلودگی با *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

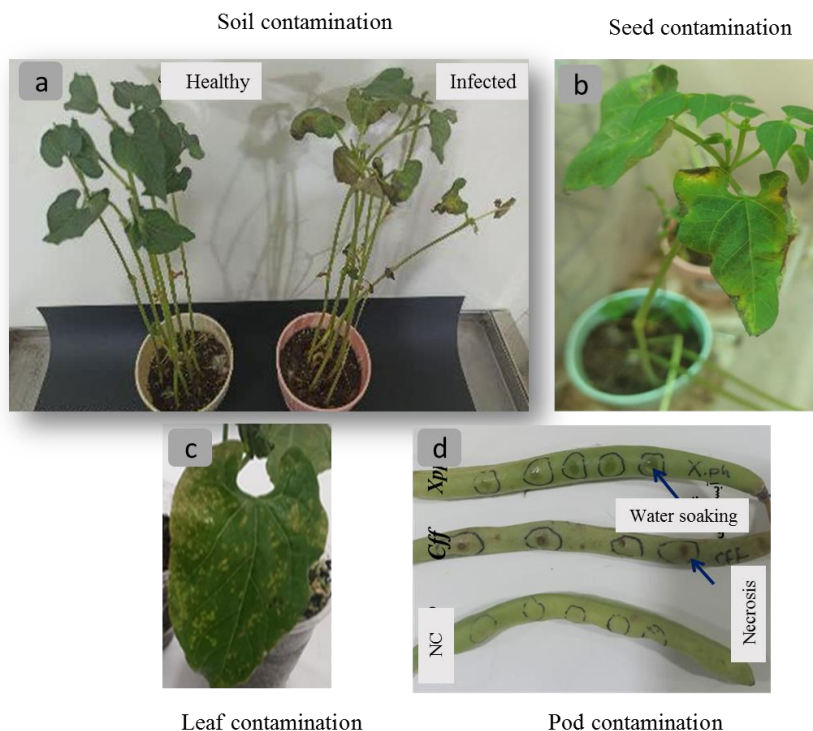
Figure 1. The image on the right shows the symptoms of common bean blight caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* in the bean plant along with the appearance of scalding symptoms on the infected pods. The image on the left shows signs of irregular necrosis, wilting and death caused by infection with *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

می‌تواند تفسیر نتایج را دشوار نماید. علائم بیماری در آزمون خاک با سه روز تاخیر ظاهر می‌شود و روند کندتری را نسبت به آلوده سازی بذری دارد. علایم پژمردگی در آلودگی *Cff* و حتی در آلودگی شدید *Xpp* نیز ظاهر می‌شود. محققان نشان داده‌اند هر دو باکتری بذرزاد *Cff* و *Xpp* در طول چرخه بیماری خود با تولید بیوفیلیم آوندها را اشغال و مسدود می‌کند و باعث محدود شدن حرکت آب و بروز پژمردگی یا در موارد شدیدتر منجر به مرگ کل گیاه می‌شود (Harding et al. 2019).

با استفاده از آزمون بیماری‌زایی، کشت و آزمون PCR اختصاصی با موفقیت آلودگی *Xpp* و *Cff* از بذور آلوده ردیابی شد (شکل ۳). آزمون PCR به خوبی قادر به ردیابی هر دو آلودگی در محموله‌های بذری بود و به ترتیب تکثیر قطعه ۸۰۰bp و ۳۰۶bp به ترتیب نشان دهنده آلودگی به *Xpp* و *Cff* است. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در ردیابی مولکولی *Xpp* باندهای غیر اختصاصی در برخی پرگنه‌های مشکوک به *Xpp* مشاهده می‌شود که نتایج تعیین توالی نشان داد عمدتاً این باندها مربوط به پرگنه‌های *Pantoea agglomerans* است که اتفاقاً رنگ و مورفولوژی پرگنه آنها روی محیط YDC بسیار شباهت به *Xpp* دارد (داده‌های منتشر نشده). برخی نمونه‌های بذری لوبیا به طور همزمان حامل هر دو باکتری بذرزاد *Cff* و *Xpp* بودند که تحقیقات رابطه هم افزایی بین این عوامل را نشان داده است و در آلودگی ترکیبی قدرت بیماری‌زایی و توسعه علایم به طرز چشمگیری افزایش می‌یابد.

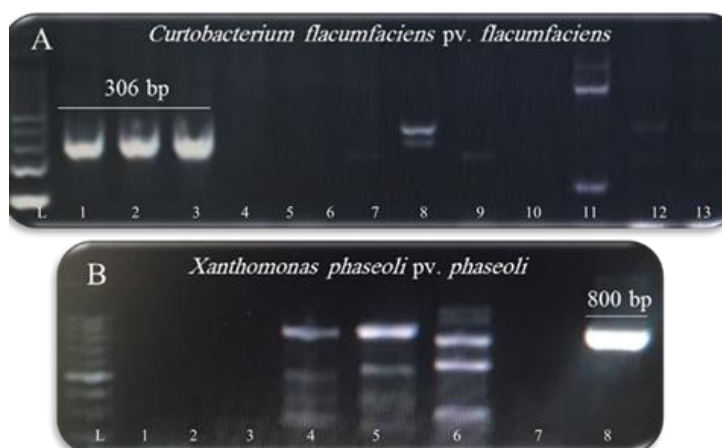
با استفاده از روش کشت و آزمون مولکولی PCR اختصاصی ردیابی هر دو باکتری با موفقیت انجام شد. پرگنه‌های *X. phaseoli* pv. *phaseoli* روی محیط XCP1 به رنگ زرد درخشان مشاهده می‌شوند که با یک ناحیه هیدرولیز شده ناشاسته از سایر باکتری‌ها قابل تمایز هستند. پرگنه‌های *Cff* ردیابی شده به رنگ‌های زرد، نارنجی و قرمز روی محیط YDC مشاهده شد. تنها یک پرگنه قرمز رنگ از *Cff* (در رقم یاقوت از لرستان) و سه پرگنه نارنجی رنگ (از ارقام دادفر و الماس از لرستان و رقم یاقوت از مرکزی) ردیابی شد و بقیه پرگنه‌ها به رنگ زرد بودند. بررسی‌های انجام شده در ایران وجود واریانت‌های متنوع رنگی باکتری *Cff* را اثبات کرده‌اند که به دلیل تولید رنگدانه‌هایی با رنگ‌های متفاوت زرد، نارنجی، قرمز، ارغوانی، صورتی قابل تمایز هستند (Osdaghi et al. 2015; Afkhamifar et al. 2023).

مقایسه چهار روش بیماری‌زایی نشان داد با استفاده از هر چهار روش می‌توان توان بیماری‌زایی باکتری *Xpp* را ارزیابی نمود (شکل ۲)، اما از روش آلوده‌سازی بذری و خاک که به روش آلودگی طبیعی نزدیک‌تر است؛ برای ادامه آزمایش‌ها استفاده شد. در بررسی بیماری‌زایی در غلاف، باکتری *Xpp* علائم آب‌سوخته ایجاد نمود در حالیکه باکتری *Cff* تنها باعث ایجاد لکه‌های نکروز روی غلاف شد (شکل ۲). همچنین ظهور علایم آب‌سوخته روی برگ و غلاف در اثر آلودگی *Xpp* تنها در رطوبت بالای ۹۰ درصد ایجاد می‌شود و در صورتی که رطوبت پایین باشد لکه‌های نکروتیک بدون علایم آب‌سوخته ظاهر می‌شود که



شکل ۲. روش‌های مختلف بیماری‌زایی باکتری *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (Xpp) بر روی لوبیا، رقم حساس یاقوت. (a) روش آلوده سازی خاک (b) آلوده سازی بذر (c) آلوده سازی از طریق غوطه ور نمودن گیاهچه در سوسپانسیون باکتری و (d) آلوده سازی غلاف که در آلودگی با Xpp علایم آب‌سختگی و در غلاف آلوده شده با *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* علائم نکروز مشاهده شد.

Figure 2. The pathogenicity test of *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (Xpp) on the bean, sensitive cultivar Yaghout. a) soil contamination method b) seed contamination c) contamination method by immersing the seedling in bacterial suspension and d) pod contamination. In pod contamination Xpp caused water soaked symptoms and in *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* infection, signs of necrosis were observed.



شکل ۳. محصول PCR تکثیر شده ۳۰۶ bp *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (ستون ۱، ۲ و ۳ تصویر A) و محصول ۸۰۰ bp باکتری *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (ستون ۸ تصویر B) روی ژل آگارز با استفاده از PCR و به ترتیب با آغازگرهای اختصاصی CffFOR2/CffREV4 و p7X4c/p7X4e. باندهای غیر اختصاصی (در ستون‌های ۴، ۵ و ۶ تصویر B) مربوط به باکتری *Pantoea agglomerans* است.

Figure 3. Results of amplified PCR product on agarose gel with specific primers CffFOR2/CffREV4 (306bp) and p7X4c/p7X4e (800bp) respectively, belong to of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (column 1, 2 and 3 of figure A) and *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (column 8 of figure B) and the non-specific bands (Column 4, 5 and 6 of figure B) in PCR detection of Xpp belong to *Pantoea agglomerans*.

ارزیابی آلودگی در بذره‌های مادری و دختری منتخب و بررسی انتقال بیماری در مزرعه نسل بعد

آلودگی به باکتری‌های *Xpp* و *Cff* در بذره‌های مادری و دختری ارقام یاقوت و دادفر که علائم بیماری را در مزرعه نشان دادند؛ با استفاده از کشت و آزمون PCR تایید شد. در بذر رقم پاک، آلودگی باکتریایی ردیابی نشد. جمعیت هر دو باکتری پس از کشت بذر آلوده در شرایط کنترل شده گلخانه در بافت درون‌رستی (ارقام یاقوت و دادفر) برگ، ساقه و ریشه ردیابی شد (جدول ۳). همچنین آلودگی باکتری *Xpp* تنها به صورت رورستی از بذر جدا شد در حالیکه آلودگی باکتری *Cff* به صورت درون‌رستی و رورستی در بذر محرز شد. بذره‌های آلوده به *Cff* از طریق آلودگی درون‌رستی و توسعه آلودگی در سیستم آوندی، تولید گیاهچه‌های آلوده می‌کنند اگرچه انتقال مکانیکی آلودگی رورستی در بافت‌های مختلف گیاه از طریق زخم نیز گزارش شده است (Soares et al. 2018).

پیش از این تحقیقات نشان داده غالباً آلودگی *Xpp* از سطح بذر ردیابی شده است. در واقع بذرهایی که به دلیل شدت زیاد آلودگی آسیب دیده‌اند؛ معمولاً در فرایند بوجاری حذف می‌شوند یا به دلیل آسیب زیاد قادر به جوانه زنی نمی‌باشند. برعکس بذره‌های فاقد علائم که حامل جمعیت 10^3 تا 10^4 CFU باکتری بیمارگر در هر بذر باشند نه تنها به گیاه اجازه

جدول ۳. میزان تقریبی جمعیت ردیابی شده باکتری‌های *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* و *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* در بذر، ساقه، برگ و ریشه.

Table 3. Approximate amount of bacterial population rate, *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, in seed stem, leaf and root.

Bacteria	Establishment of bacteria in plant tissue		The range of bacterial populations in plant tissue CFU/gr			
	Epiphyte	Endophyte	Seed	Stem	Leaf	Root
<i>Xpp</i>	+	+	10^2 - 10^3	10^7 - 10^8	10^7 - 10^9	10^4 - 10^5
<i>Cff</i>	+	+	10^3 - 10^4	10^6 - 10^8	10^6 - 10^7	10^5 - 10^6

آلودگی در بذر وجود دارد ولی به دلیل مقاومت، توسعه و تکثیر باکتری در گیاه رخ نمی‌دهد و بیماری علی‌رغم آلودگی بذر در نسل بعد مشاهده نمی‌شود؛ همچنین میزان انتقال در ارقام حساس در شرایط محیطی مساعد می‌تواند به بیش از ۷۰ درصد برسد (Camara et al. 2009; Chen et al. 2021). تحقیقات نشان داده در ارقام حساس، ۱۰۰ باکتری *Xpp* در بذر می‌تواند با موفقیت گیاه میزبان را اشغال نماید (Darrasse et al. 2007) که در صورت وجود شرایط محیطی مناسب علائم بیماری نمایان می‌شود اما در شرایط نامساعد، باکتری می‌تواند گیاه را بدون بروز علائم اشغال نماید که البته این نوع آلودگی-های پنهان نیز در بروز اپیدمی‌ها بی‌تاثیر نمی‌باشند (Darrasse

نرخ انتقال بیماری در مزرعه نسل بعد نشان داد با وجود آلودگی بذور ارقام یاقوت و دادفر به ترتیب با آلودگی ترکیبی ۲۰ (Xpp ۱۳ و Cff ۷) و ۱۲ درصد (هفت Xpp و پنج Cff) برخلاف انتظار در نسل بعد رقم یاقوت تنها شش درصد از آلودگی به *Xpp* و سه درصد علائم پژمردگی ناشی از آلودگی باکتری *Cff* مشاهده شد و در نسل دوم رقم دادفر نیز دو درصد Xpp و سه درصد *Cff* مشاهده شد. تحقیقات در شرایط کنترل شده گلخانه نشان داده اگرچه نرخ انتقال *Cff* و Xpp از گیاه به نسل بعد قطعی است؛ اما ظهور بیماری در برخی شرایط بسته به مقاومت یا حساسیت رقم و شرایط محیطی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. مثلاً در ارقام با مقاومت بالا اگرچه امکان ردیابی

به ویژه در ارقام حساس یاقوت و دادفر وجود دارد. با توجه به توسعه جمعیت درون‌رستی و رورستی هر دو بیمارگر در انواع بافت‌های گیاه نظیر برگ، ریشه، ساقه و بذر و قابلیت انتقال بیماری از بذر به نسل بعد در مزرعه، استفاده از بذر سالم و رعایت بهداشت مزرعه در حذف بقایای گیاهی آلوده به منظور کاهش زادمایه اولیه، در کنترل هر دو بیماری حائز اهمیت است.

Reference

- Afkhamifar A, Moslemkhani C, Hasanzadeh N, Razmi J, 2023. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* with antagonistic effect on *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis*, plays a dual role in the legumes-wheat rotation system. *European Journal of Plant Pathology* 4: 611–621.
- Audy P, Laroche A, Saindon G, Huang HC, Gilbertson RL, 1994. Detection of the bean common blight bacteria, *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. c. phaseoli* var. *fuscans*, using the Polymerase Chain Reaction. *Molecular Plant Pathology* 84: 1185–1192.
- Bastas KK, Sahin F, 2017. Evaluation of seedborne bacterial pathogens on common bean cultivars grown in central Anatolia region, Turkey. *European Journal of Plant Pathology* 147: 239–253.
- Bultreys A, Gheysen I, 2020. First report of *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* causing common bacterial blight of bean in Belgium. *New Disease Reports* 41: 6.
- Camara RC, Vigo SC, Maringoni AC, 2009. Plant to seed transmission of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in a dry bean cultivar. *Journal of Plant Pathology* 3: 549–554.
- Chen NW, Ruh M, Darrasse A, Foucher J, Briand M, 2021. Common bacterial blight of bean: a model of seed transmission and pathological convergence. *Molecular Plant Pathology* 12: 1464–1480.
- Darrasse A, Barret M, Cesbron S, Compant S, Jacques M, 2018. Niches and routes of transmission of *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* to bean seeds. *Plant & Soil* 422: 115–128.
- Darrasse A, Bureau C, Samson R, Morris CE, Jacques MA, 2007. Contamination of bean seeds by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* associated with low bacterial densities in the phyllosphere under field and greenhouse conditions. *European Journal of Plant Pathology* 119: 203–215.
- EPPO, 1997. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. In: Smith, IM, McNamara, DG, Scott, PR, Holderness, M (eds). Quarantine Pests for Europe. CAB International, Wallingford. Pp. 991–994.
- Hailu N, Fininsa C, Tana T, Mamo G, 2017. Effects of temperature and moisture on growth of common bean and its resistance reaction against common bacterial blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* strains). *Journal of Plant Pathology & Microbiology* 9: 1000419.
- Harding M, Nadworny P, Buziak B, Omar A, Daniels G, et al., 2019. Improved methods for treatment of phytopathogenic biofilms: metallic compounds as anti-bacterial coatings and fungicide tank-mix partners. *Molecules* 24: 2312.
- Harveson RM, Schwartz HF, Urrea CA, Yonts CD, 2015. Bacterial wilt of dry-edible beans in the central high plains of the US: Past, present, and future. *Plant Disease* 99: 1665–1677.
- He Y, Munkvold GP, 2013. Comparison of seed transmission and survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans* in common bean seeds. *Plant Health Progress* 1: 41.
- Jacques MA, Josi K, Samson R, Darrasse A, 2005. *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* is aggregated in stable biofilm population sizes in the phyllosphere of field-grown beans. *Applied & Environmental Microbiology* 71: 2008–2015.
- (et al. 2007). در واقع شرایط نامناسب محیطی نظیر دما و رطوبت، می‌تواند ظهور محدودتر علائم بیماری را در پی داشته باشد (Jacques et al. 2005) همچنین گزارشات نشان داده محل استقرار و جمعیت باکتری در بذر می‌تواند برای انتقال موفقیت آمیز از بذر به گیاهچه تعیین کننده باشد (Darrasse et al. 2018).
- در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد در بیشتر استان-های مورد ارزیابی، آلودگی به دو باکتری بیماریزی *Xpp* و *Cff*

- Júnior TS, Negrão DR, Itako AT, Maringoni AC, 2012. Pathogenicity of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* to several plant species. *Journal of Plant Pathology* 94: 427–430.
- Lak M, 2016. Introducing bean bacterial wilt in Iran. 6th National Conference on Iranian Beans. April 28, Khoram Abad, IRAN. Pp. 1–4. (In Persian)
- Lak M, Dory HR, 2013. Investigation and identification of bean genotypes resistant to common bacterial blight disease. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 44: 113–119. (In Persian with English abstract).
- Mohammadsour F, Khezri M, Ghasemi A, 2021. Evaluation of various treatments on disinfection of tomato seeds infected with *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10: 57–70 (In Persian with English abstract).
- Marques AS, Guimarães PM, Santos JP, Vieira TM, 2005. Survival and viability of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* associated with bean seeds stored under controlled conditions. *Fitopatologia Brasileira* 30: 527–531.
- Moslemkhani K, Zare L, Khaledi N, Farahani L, Hashemi Fesharaki Sh, et al., 2018. The detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and using the optimized method in monitoring the health of bean seed lots. *Iranian Journal of Seed Science & Research* 1: 69–77.
- Osdaghi E, Lak MR, 2015. A source of resistance to bacterial wilt in the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Iran. *Crop Protection* 74: 37–41.
- Osdaghi E, Taghavi SM, Fazliarab A, Elahifard E, Lamichhane JR. 2015. Characterization, geographic distribution and host range of *Curtobacterium flaccumfaciens*: an emerging bacterial pathogen in Iran. *Crop Protection* 78: 18–192.
- Osdaghi E, Young AJ, Harveson RM, 2020. Bacterial wilt of dry beans caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: A new threat from an old enemy. *Molecular Plant Pathology* 5: 605–621.
- Osdaghi E, Zademoahamad AA, 2016. *Phaseolus lunatus*, a new host of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in Iran. *Journal of Phytopathology* 1: 56–60.
- Sammer UF, Reiher K, 2012. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on soybean in Germany—a threat for farming. *Journal of Phytopathology* 6: 314–316.
- Soares RM, Fantinato GG, Ferreira EG, Marcelino-Guimarães FC, 2018. Plant-to-seed transmission of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on soybean. *Tropical Plant Pathology* 43: 376–379.
- Sokhandan Bashir N, 2023. Effect of carbon dioxide on seed transmission of Lettuce mosaic virus. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 4: 451–459 (In Persian with English abstract).
- Tegli S, Sereni A, Surico G, 2002. PCR-based assay for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in bean seeds. *Letters in Applied Microbiology* 4: 331–337.
- Tegli S, Biancalani C, Ignatov AN, Osdaghi E, 2020. A powerful lamp weapon against the threat of the quarantine plant pathogen *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. *Microorganisms* 11: 1–13.
- Tsedaley B, 2015. Review on seed health tests and detection methods of seedborne diseases. *Journal of Biology, Agriculture Healthcare* 5(5): 176–184
- Valdo SCD, Wendland A, Araújo LG, Melo LC, Pereira HS, et al., 2016. Differential interactions between *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* and common bean. *Genetics & Molecular Research* 15(4): 1–16.
- Weller DM, Seattler AW, 1980. Evaluation of seed borne *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* as primary inculca in bean blights. *Phytopathology* 70: 148–152.
- Zamani Z, Bahar M, Jacques MA, Lak MR, Akhavan A. 2011. Genetic diversity of the common bacterial blight pathogen of bean, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, in Iran revealed by rep-PCR and PCR-RFLP analyses. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 27: 2371–2378.