

# *Xylella fastidiosa*, um problema emergente na Europa

João Pedro Luz

Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Castelo Branco, Portugal

j.p.luz@ipcb.pt



## Abstract

*Xylella fastidiosa* is an insect-borne plant pathogenic bacterium associated with serious diseases in a wide range of plants. This bacterium was detected in olive trees in Apulia, southern Italy, in October 2013, and was the first time the bacterium was reported in the European Union. Since then, it has also been found in Corsica and the Provence-Alpes-Côte d'Azur region of southern France and in Spain (Balearic Islands). Several control measures are being adopted to prevent the bacterium from spreading throughout the rest of Europe, particularly in Portugal.

## Resumo

A bactéria conhecida, atualmente, como *Xylella fastidiosa* Wells et al. teve várias identidades anteriormente. Na década de 90 do século XIX, foi reconhecido a presença de um microrganismo diminuto nas doenças de Pierce

na vinha e de Phony no pessegueiro. Entre 1936 e 1959, foi provada a transmissão por enxertia de raiz e por insetos, mas o agente causal é considerado um vírus (Hutchins et al., 1953). Em 1971, o mesmo agente é considerado um organismo semelhante a micoplasma (MLO), porque o antibiótico tetraciclina suprime a doença de Pierce. Em 1973, a microscopia eletrônica revela uma bactéria tipo *Rickettsia* nos tecidos do xilema associados às doenças de Pierce e Phony Peach (Hopkins et al., 1973; Nyland et al., 1973). Em 1978, foram definidos meios de cultura seletivos e uma bactéria foi isolada a partir de tecidos de xilema de videira infetados. Seguidamente, em 1980, uma bactéria no xilema foi associada com a seca/queima de folhas do ulmeiro, mas somente em 1987, um novo gênero e espécie são descritos por Wells et al. com o nome *Xylella fastidiosa*. Em 2004, subespécies de *X. fastidiosa* são descritas com base na patogenicidade, características filogenéticas e relação com o DNA. É uma espécie complexa, atualmente com seis subespécies que variam conforme a distribuição geográfica e os hospedeiros: *fastidiosa*, *multiplex*, *pauca*, *sandyi*, *morus* e *tashke* e com 79 estirpes diferentes, estando a aumentar em áreas geográficas distintas.

As principais características fenotípicas são: bastonetes curtos retos (0,25-0,35 x 0,9-3,5 µm), Gram-negativos, catalase positivos, oxidase negativos, não formadores de esporos, não móveis, aflagelados, aeróbios obrigatórios e com parede celular ondulada (*rickettsialike*). O tempo de geração em cultura é de 0,45 a 1,98 dias e a temperatura ótima de crescimento de 26°C-28°C. A bactéria desenvolve-se estrita e sistemicamente no xilema, cresce muito lentamente nos meios de cultura e é transmitida por insetos vetores.

*X. fastidiosa* pode infetar mais de 350 espécies de plantas pertencentes a 60 famílias e 190 gêneros, algumas mais importantes são: citrinos, pessegueiro, videira, amendoeira, mirtilo, cafeeiro, cerejeira, ameixeira, oliveira, sobreiro, azinheira, carvalhos, *Acer* spp., loendro, esteva, ulmeiro, alecrim, rosmarinho e piorno.

As diversas subespécies têm diferentes hospedeiros. Assim, a subsp. *fastidiosa* aparece em videira, luzerna, amendoeira, cerejeira; a subsp. *multiplex* em amendoeira, pessegueiro, carvalhos, azinheira, sobreiro, mirtilo, cerejeira, ameixeira, ulmeiros e oliveira; a subsp. *pauca* em citrinos, cafeeiro e oliveira; a subsp. *sandyi* em loendro e cafeeiro; a subsp. *morus* em amoreira; e a subsp. *tashke* em *Chitalpa tashkentensis* Ellis & Wisura.

*X. fastidiosa* disseminou-se na Europa, primeiro em outubro de 2013, tendo sido detetada em oliveiras na região da Apúlia, no sul da Itália, e em abril de 2015 afetava toda a província de Lecce e outras zonas da Apúlia.

A doença foi chamada Síndrome do Declínio Rápido da Oliveira (OQDS); em italiano, Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olivo (CoDiRO). No início de 2015, tinha infetado até um milhão de árvores na região sul da Apúlia, mas amendoeiras e loendros também testaram positivo para *X. fastidiosa*. Em julho de 2015, *X. fastidiosa* apareceu na Córsega em *Polygala myrtifolia* L. e, em agosto de 2016, foram detetados 279 focos da infeção. Em outubro de 2015, chegou à França continental, perto de Nice, também em *P. myrtifolia*; em agosto de 2016, a bactéria foi detetada na Alemanha em *Nerium oleander* L. (loendro) e em outubro de 2016, foram detetadas em Maiorca, Menorca e Ibiza as subspp. *fastidiosa*, *multiplex* e *pauca* em zambujeiro, cerejeira, ameixeira, oliveira, alecrim e *P. myrtifolia*.

Tendo em conta que a bactéria vive nos vasos xilémicos do hospedeiro, os principais danos causados são a desidratação/seca quando os vasos xilémicos das folhas ficam bloqueados, mas as bactérias formam biofilmes e também se movem contra a corrente do fluxo xilémico. A doença causa a morte dos gomos e rebentos, distribuídos aleatoriamente no início, mas que se expande para o resto da copa, resultando no colapso e morte das árvores. Nos pomares/zonas afetados, quase todas as plantas hospedeiras apresentam sintomas.

As principais doenças causadas por *X. fastidiosa* são: doença de Pierce na videira, clorose variegada dos citrinos, phony peach, bacterial leaf scorch (*Quercus* spp.), doenças de leaf scorch (queimaduras foliares) em loendro, cerejeira, amendoeira, ameixeira, cafeeiro e plantas ornamentais e o Síndrome do Declínio Rápido da Oliveira (OQDS ou CoDiRO).

*X. fastidiosa* é transmitida, de modo persistente, sem período de incubação, por insetos vetores que se alimentam do fluido xilémico através da armadura bucal picadora-sugadora, no processo de ingestão-egestão. No sul da Itália, *Philaenus spumarius* L. (Hemiptera: Aphrophoridae), altamente polífago e amplamente difundido, é a única espécie atualmente identificada na Europa como vetor de *X. fastidiosa*. Outros vetores, que existem também em Portugal, poderão ser *Cicadella viridis* L. (Hemiptera: Cicadellidae) e *Aphrophora alni* Fällén e *A. salicina* Goeze (Hemiptera: Aphrophoridae).

Para realizar o diagnóstico poderão usar-se várias técnicas, tais como: observação microscópica do fluido xilémico; cultura em meios seletivos; técnicas serológicas – ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática), IF (imunofluorescência), DTBIA (imunoenensaio por transferência de direta); e técnicas moleculares – PCR (reação em cadeia da polimerase) e PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR). A observação microscópica é possível porque as populações aumentam sensivelmente no fluido xilémico com

o desenvolvimento dos sintomas. A cultura em meio seletivos, como sejam PWG, BCYE e PD2, é uma técnica muito sensível, mas o crescimento é muito lento (2 a 4 semanas) e é facilmente contaminável. O PCR é o teste padrão para diagnóstico, mas normalmente requer tecidos sintomáticos. Numa breve avaliação dos diferentes métodos de diagnóstico podemos referir que a técnica de cultura é muito sensível (pode detetar números muito baixos de células bacterianas), o ELISA é o melhor processo para tecido sintomático, o PCR convencional é sensível, mas é mais demorado e o qRT-PCR (tempo real) é tão sensível quanto PCR convencional, mas mais rápido e sem géis, o que o torna o principal método usado em tecidos assintomáticos.

Os principais meios de luta concentram-se na luta legislativa, cultural e química. A deteção precoce é muito importante para um plano de erradicação eficaz. Em Portugal, temos vários fatores facilitadores da entrada de *X. fastidiosa*, como sejam: invernos pouco rigorosos; presença de insetos-vetores, como *Philaenus spumarius* e *Cicadella viridis* e outros; e presença de hospedeiros preferenciais como oliveira, vinha, amendoeira, loendros, *Quercus* spp., que são culturas de grande importância económica.

Na Europa, a luta legislativa baseia-se na Decisão da Comissão n.º 2015/789 – Medidas para impedir a introdução e propagação na União Europeia de *Xylella fastidiosa*, alterada pelas decisões n.º 2015/2417 e n.º 2016/764 e, em Portugal, no Decreto-Lei n.º 154/2005 – Diretiva n.º 2000/29/CE – Medidas de proteção fitossanitária destinadas a evitar a introdução e dispersão no território nacional e comunitário, de organismos prejudiciais aos vegetais. Em junho de 2016, a DGAV elaborou o Plano de contingência para *Xylella fastidiosa* e seus vetores. As medidas de erradicação baseiam-se no estabelecimento de duas zonas demarcadas, a zona infetada e a zona tampão. Na zona infetada, num raio de 100 m das plantas infetadas, deverão ser eliminadas todas as plantas sintomáticas e as possíveis plantas hospedeiras. Na zona tampão, num raio de 10 Km à volta da zona infetada, deverão ser monitorizadas plantas assintomáticas, através de um plano de amostragens. Em ambas as zonas, deverá ser restringido o movimento de vegetais, proibir a replantação com plantas hospedeiras e eliminar os insetos vetores antes da eliminação das plantas atacadas.

Na luta cultural deverá se:

- reduzir o stresse no hospedeiro e manter o vigor das plantas;
- remover plantas infetadas e hospedeiros alternativos;
- não plantar hospedeiros;
- usar cultivares mais resistentes.

### A luta química assentará:

- na erradicação de vetores, embora com resultados inconclusivos; poderá ser útil para reduzir a taxa de propagação para plantações adjacentes;
- no uso do antibiótico oxitetraciclina, mas as injeções de tronco só proporcionam alívio temporário dos sintomas e não funcionam bem em plantas com doença avançada, devendo ser repetidas anualmente;
- na interrupção do biofilmes.

### Bibliografia

- Anderson, P.C.; French, W.J. (1987) – Biophysical characteristics of peach trees infected with phony peach disease. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 31: 25-40.
- Bradbury, J.F. (1991) – CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No. 1049. CAB International, Wallingford, UK.
- Cambra, M. (2017) – La detección de la bacteria *Xylella fastidiosa* en Mallorca pone en grave peligro a la agricultura española si no se actúa adecuadamente (I). *Phytoma España*, 286: 14-15.
- Chang, C.J.; Walker, J.T. (1988) – Bacterial leaf scorch of northern red oak: isolation, cultivation, and pathogenicity of a xylem-limited bacterium. *Plant Disease*, 72: 730-733.
- Davis, M.J.; Raju, B.C.; Brlansky, R.H.; Lee, R. F.; Timmer, I. W.; Norris, R.C.; McCoy, R.E. (1983) – Periwinkle wilt bacterium: axenic culture, pathogenicity, and relationships to other gram-negative, xylem-inhabiting bacteria. *Phytopathology*, 73: 1510-1515.
- Freitag, J. H. (1951) – Host range of the Pierce's disease virus of grapes as determined by insect transmission. *Phytopathology*, 41: 920-934.
- French, W.J.; Christie, R.G.; Stassi, D.L. (1977) – Recovery of rickettsia-like bacteria by vacuum infiltration of peach tissues affected with phony diseases. *Phytopathology*, 67: 945-948.
- Goheen, A.C.; Nyland, G.; Lowe, S.K. (1973) – Association of rickettsia-like organism with Pierce's disease of grapevines and alfalfa dwarf and heat therapy of the disease in grapevines. *Phytopathology*, 63: 341-345.
- Hopkins, D.L. (1988) – *Xylella fastidiosa*: a xylem-limited bacterial pathogen of plants. *Annual Review of Phytopathology*, 27: 271-290.
- Hopkins, D.L.; Mollenhauer, H.H.; French, W.J. (1973) – Occurrence of a rickettsia-like bacterium in the xylem of peach trees with phony disease. *Phytopathology*, 63: 1422-1423.
- Hutchins, L.M.; Cochran, W.F.; Turner, W.F.; Weinberger, J.H. (1953) – Transmission of phony disease virus from tops of certain affected peach and plum trees. *Phytopathology*, 43: 691-696.
- Kostka, S.J.; Tattar, T.A.; Sherald, J.L.; Hurtt, S.S. (1986) – Mulberry leaf scorch, new disease caused by a fastidious xylem-inhabiting bacterium. *Plant Disease*, 70: 690-693.
- Leu, L.S.; Su, C.C. (1993) – Isolation, cultivation, and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*, the causal bacterium of pear leaf scorch disease in Taiwan. *Plant Disease*, 77: 642-646.
- Minsavage, G.V.; Thompson, C.M.; Hopkins, D.L.; Leite, R.M.V.B.C.; Stall, R.E. (1994) – Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. *Phytopathology*, 84: 456-461.
- Nyland, G.A.; Goheen, A.C.; Lowe, S.K.; Kirkpatrick, H.C. (1973) – The ultrastructure of a rickettsialike organism from a peach-tree affected with phony disease. *Phytopathology*, 63: 1275-1278.
- OEPP (1989) – Data sheets on quarantine organisms No. 166, *Xylella fastidiosa*. *EPPO Bulletin*, 19: 677-682.
- EPPO (1990) – Specific quarantine requirements. *EPPO Technical Documents* No. 1008.

- Purcell, A.H.; Frazier, N.W. (1985) – Habitats and dispersal of the principal leafhopper vectors of Pierce's disease bacterium in the San Joaquin Valley. *Hilgardia*, 53: 1-32.
- Raju, B.C.; Goheen, A.C.; Frazier, N.W. (1983) – Occurrence of Pierce's disease bacteria in plants and vectors in California. *Phytopathology*, 73, 1309-1313.
- Raju, B.C.; Wells, J.M. (1986) – Diseases caused by fastidious xylem-limited bacteria and strategies for management. *Plant Disease*, 70: 182-186.
- Severin, H. H. P. (1949) – Transmission of the virus of Pierce's disease by leafhoppers. *Hilgardia*, 19: 190-202.
- Sherald, J.L.; Lei, J.D. (1991) – Evaluation of a rapid ELISA test kit for detection of *Xylella fastidiosa* in landscaping trees. *Plant Disease*, 75: 200-203.
- Sherald, J.L.; Wells, J.M.; Hurtt, S.S.; Kostka, S.J. (1987) – Association of fastidious xylem-limited bacteria with leaf scorch in red maple. *Plant Disease*, 71: 930-933.
- Wells, J.M.; Raju, B.C.; Hung, H.Y.; Weisburg, W.G.; Mandelco-Paul, L.; Brenner, D.J. (1987) – *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov.: gram-negative, xylem-limited fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 37: 136-143.
- Wells, J.M.; Raju, B.C.; Nyland, G. (1983) – Isolation, culture and pathogenicity of the bacterium causing phony disease of peach. *Phytopathology*, 73: 859-862.
- Yonce, C.E.; Chang, C.J. (1987) – Detection of xylem-limited bacteria from sharpshooter leafhoppers and their feeding hosts in peach environs monitored by culture isolations and ELISA techniques. *Environmental Entomology*, 16: 68-71.