

# *XYLELLA FASTIDIOSA*

Monika Kałużna, Piotr Sobiczewski

Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice [www.inhort.pl](http://www.inhort.pl)



Objawy infekcji czereśni przez *Xylella fastidiosa* (Fot. Maria Saponari)

Ulotkę przygotowano w ramach Programu Wieloletniego 2015-2020 „**Działania na rzecz poprawy konkurencyjności i innowacyjności sektora ogrodniczego z uwzględnieniem jakości i bezpieczeństwa żywności oraz ochrony środowiska naturalnego**”, finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

Zadanie 2.1 Aktualizacja i opracowanie metodyk integrowanej ochrony roślin i Integrowanej Produkcji Roślin oraz analiza zagrożenia fitosanitarnego ze strony organizmów szkodliwych dla roślin.

Opracowanie redakcyjne i graficzne w ramach zadania 5.1 Upowszechnianie i wdrażanie wiedzy na rzecz poprawy konkurencyjności i innowacyjności sektora ogrodniczego z uwzględnieniem jakości i bezpieczeństwa żywności oraz ochrony środowiska naturalnego.

## Wstęp

*Xylella fastidiosa* jest wolno rosnącą, gram-ujemną bakterią zasiedlającą tkankę przewodzącą (ksylem) roślin – gospodarzy, przenoszoną przez owady. Dotychczas opisano cztery podgatunki tej bakterii: *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (Schaad i in. 2004), *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* (Schaad i in. 2004) i *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (Schaad i in. 2004) i *X. fastidiosa* subsp. *sandyi* (Schuenzel i in. 2005), a w oparciu o analizy genetyczne zaproponowano dwa kolejne: *X. fastidiosa* subsp. *tashke* (Randal i in. 2009) i *X. fastidiosa* subsp. *morus* (Nunney i in. 2014).

## Regulacje prawne

*Xylella fastidiosa* została umieszczona na liście A1 organizmów kwarantannowych Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin (European and Mediterranean Plant Protection Organisation – EPPO). Dokładne regulacje oraz opis tej groźnej bakterii są zamieszczone na stronie: [www.eppo.int/QUARANTINE/special\\_topics/Xylella\\_fastidiosa/Xylella\\_fastidiosa.htm](http://www.eppo.int/QUARANTINE/special_topics/Xylella_fastidiosa/Xylella_fastidiosa.htm).

W przypadku wykrycia w Polsce zasady postępowania określa Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 czerwca 2015 r. w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzenianiu się organizmu *Xylella fastidiosa* (Well i Raju), wdrażające postanowienia Decyzji wykonawczej Komisji 2014/497/UE z dnia 23 lipca 2014 r. w sprawie środków zapobiegających wprowadzaniu do Unii i rozprzestrzenianiu się bakterii *Xylella fastidiosa* (Well i Raju) (aktualizacja w Decyzji Wykonawczej Komisji Unii Europejskiej 2015/789 z dnia 18 maja 2015 r.). Rozporządzenie określa m.in.:

1. Szczegółowe sposoby postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzenianiu się *Xylella fastidiosa* (Well i Raju), w tym:
  - a) metody zwalczania i zapobiegania rozprzestrzenianiu,
  - b) metody wykrywania i identyfikacji,
  - c) sposób wyznaczania stref, w których powinny być stosowane środki w celu zwalczania lub zapobiegania rozprzestrzenianiu,
  - d) warunki prowadzenia produkcji oraz przemieszczania roślin podatnych na porażenie.
2. Wymagania specjalne, jakie powinny spełniać rośliny podatne na porażenie przez organizm szkodliwy wraz ze wskazaniem wymagań, które powinny być zawarte w świadectwie fitosanitarnym, jeżeli rośliny te są wprowadzane na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej lub przemieszczane przez to terytorium z państwa trzeciego.
3. Rośliny podatne na porażenie przez organizm szkodliwy zaopatruje się w paszport roślin lub świadectwo fitosanitarne i poddaje kontroli zdrowotności przed przemieszczaniem lub wprowadzeniem na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej.

## Pochodzenie i zasięg występowania

Po raz pierwszy *Xylella fastidiosa* została wyizolowana i opisana w Stanach Zjednoczonych w 1987 roku jako czynnik sprawczy choroby Pierce'a (PD) na winorośli (*Vitis vinifera*) (Wells i in. 1987) oraz choroby nazwanej „phony peach disease” (PPD) na brzoskwini (*Prunus persica*). Badania prowadzone w 1993 w Brazylii wykazały, że jest ona także czynnikiem sprawczym różnobarwnej choroby cytrusów „citrus variegated chlorosis” (CVC) lub choroby X cytrusów (Janse i Obradovic 2010).

Przez wiele lat występowanie *X. fastidiosa* było potwierdzone tylko w Ameryce Północnej i Ameryce Południowej. Jednak w 1994 roku bakteria została opisana także na Tajwanie jako sprawca oparzeliny liści „leaf scorch” gruszy azjatyckiej (*Pyrus pyrifolia*), a w roku 2000 – choroby Pierce'a na winorośli.

W Europie pierwsze ognisko choroby powodowanej przez tego patogena wykryto w Kosowie w 1996 r. (Berisha i in. 1996) na winorośli, jednakże nie zostało ono później potwierdzone. W roku 2013 *X. fastidiosa* została odnotowana w Puglia, we Włoszech, gdzie powoduje poważne szkody w sadach drzew oliwnych (EPPO 2013). Ponadto bakterię wykryto w tym rejonie na innych roślinach – gospodarzach, głównie ozdobnych. W roku 2014 występowanie patogena zostało stwierdzone na Kostaryce i w Meksyku (Nunney i in. 2014; Legendre i in. 2014), a w roku 2015 – na wyspie Korsyka oraz na terenie gmin Nicei i Mandelieu-la-Napoule (Alpes-Maritimes) we Francji na krzyżownicy mirtolistnej (*Polygala myrtifolia*).

Dotychczas różne podgatunki *X. fastidiosa* wykryto na prawie wszystkich kontynentach.

### **Rośliny – gospodarze**

Zakres roślin-gospodarzy *X. fastidiosa* obejmuje rośliny z 68 rodzin, 187 rodzajów i ponad 300 gatunków roślin (Stancanelli i in. 2015).

Najczęściej porażane gatunki roślin o znaczeniu gospodarczym dla Polski to winorośl (*Vitis vinifera*, *V. labrusca*, *V. riparia*) i brzoskwinia (*P. persica*), a także: grusza azjatycka (*Pyrus pyrifolia*), borówka wysoka (*Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium virgatum*), śliwa japońska (*Prunus salicina*), śliwa domowa (*Prunus domestica*), wiśnia (*Prunus cerasifera*), czereśnia (*Prunus avium*). Spośród roślin o walorach dekoracyjnych należy wymienić: oleander (*Nerium oleander*), jawor amerykański (*Platanus occidentalis*), amerykański wiąz biały (*Ulmus americana*), ambrowiec balsamiczny (*Liquidambar styraciflua*), dąb (*Quercus* spp.), klon czerwony (*Acer rubrum*), czerwoną morwę (*Morus rubra*) ([http://www.eppo.int/QUARANTINE/special\\_topics/Xylella\\_fastidiosa/Xylella\\_fastidiosa.htm](http://www.eppo.int/QUARANTINE/special_topics/Xylella_fastidiosa/Xylella_fastidiosa.htm)).

Liczne gatunki roślin dzikorosnących oraz chwastów (np.: dzikich traw, turzyc, lilii, różnego rodzaju krzewów i drzew) mogą być również gospodarzami patogena, jednak nie obserwuje się na nich objawów chorobowych.

### **Objawy chorobowe**

Ze względu na dużą liczbę porażanych gatunków roślin *X. fastidiosa* może powodować różne symptomy – od niewielkich oparzeń liści do całkowitego zamierania roślin. Może także zasiedlać rośliny bezobjawowo. Ponieważ bakteria atakuje ksylem, blokując podstawowe funkcje fizjologiczne – transport wody i składników pokarmowych – najczęstsze objawy chorobowe to: chlorozy, więdnienia, zasychanie i oparzeliny liści (głównie wierzchołków) oraz zamieranie całych roślin. W naszych warunkach klimatycznych wyraźną chlorozę i nagłe zasychanie liści można zaobserwować pod koniec lata i jesienią. Może także dochodzić do zniekształceń owoców oraz skracania międzywęzła pędów i ich wyraźnych przebarwień, a także zwijania się liści i przedwczesnej defoliacji. W wyniku rozwoju choroby zamierają pojedyncze gałęzie, a następnie całe rośliny.

#### Na winorośli

Najbardziej charakterystycznym objawem jest oparzelina liści. Najpierw pojawia się nagłe zasychanie części liścia, która następnie brązowieje, a sąsiednie tkanki żółkną lub czerwienieją. W konsekwencji zasycha prawie cały liść, którego blaszka wykrusza się i odpada, a na pędzie zostaje tylko ogonek. Chore pędy często dojrzewają nierównomiernie, przy czym mogą na nich występować brązowe i zielone plamy. W następnych latach, zakażone rośliny rozwijają się z opóźnieniem i wytwarzają karłowate, chlorotyczne pędy. Przewlekle zakażone rośliny mogą mieć małe,

znikształcone liście z widoczną chlorozą tkanek między nerwami oraz pędy ze skróconymi międzywęzłami (Hewitt i wsp. 1942; Goodwin i Purcell 1992; <http://www.cabi.org/isc/datasheet/57195>).  
Na brzoskwini

Młode pędy są skarłowaciałe i tworzą bardziej zielone, gęstsze ulistnienie (ze względu na krótsze międzywęzła) niż na zdrowych drzewach. Gałęzie boczne rosną poziomo lub opuszczają się tak, że drzewo wydaje się mieć strukturę jednorodną, zwartą i zaokrągloną. Liście i kwiaty ukazują się wcześniej, ale liście pozostają na porażonym drzewie dłużej niż na zdrowych drzewach. Porażone drzewa plonują gorzej, ich owoce są mniejsze, a po 3-5 latach takie drzewa stają się bezwartościowe (Hutchins 1933; <http://www.cabi.org/isc/datasheet/57195>).

### **Metody wykrywania i identyfikacji**

Do wykrywania i identyfikacji bakterii wykorzystuje się metody konwencjonalne (z uwzględnieniem izolacji patogena na pożywki mikrobiologiczne), metody serologiczne oraz analizy molekularne. Obserwacje objawów i hodowla bakterii na specjalnych pożywkach pół-selektywnych PD2, PW, CS20 lub BCYE (Almeida i in. 2004) są niezbędne dla potwierdzenia wystąpienia tego patogena (EPPO 2004). Jednak ze względu na długi czas hodowli *X. fastidiosa* (niektóre podgatunki rosną do trzech tygodni), w badaniach rutynowych przy dużej liczbie prób stosuje się metody serologiczne i molekularne (Loconsole i in. 2014). Metody serologiczne obejmują test immunoenzymatyczny (ELISA) (Sherald i Lei 1991), metodę DIBA (ang. dot immunobinding assay) oraz metodę western blotting (Lee i in. 1992; Chang i in. 1993) i immunofluorescencję (Carbajal et al. 2004).

Spośród analiz molekularnych najczęściej stosuje się standardową technikę PCR (Huang 2009), real-time PCR i LAMP (Francis i in. 2006; Harper i in. 2010; Guan i in. 2013).

Metody serologiczne i metody molekularne można wykonać wyłącznie w wyspecjalizowanym laboratorium.

### **Wektory**

Bakteria *X. fastidiosa* jest przenoszona prawie wyłącznie przez żywiące się sokami drewna owady należące do rzędu Hemiptera, podrzędu Auchenorrhyncha (Redak i in. 2004; Stancanelli i in. 2015, EFSA PLH Panel 2015). Na podstawie bazy danych Fauna Europaea do gatunków o najwyższym potencjale rozprzestrzeniania *X. fastidiosa* w Europie zostały zaklasyfikowane: pienik olchowiec (*Aphrophora alni*), pienik wierzbowiec (*Aphrophora salicina*), pienik ślianianka (*Philaenus spumarius*), krasanka natrawka (*Cercopis vulnerata*), bezrąbek sadowiec (*Cicadella viridis*) (Stancanelli i in. 2015). Ponadto, oprócz doniesienia na temat możliwości przenoszenia *X. fastidiosa* z nasionami owoców cytrusowych (Li i in. 2003), w literaturze brak jest jakichkolwiek doniesień dotyczących innych roślin.

### **Biologia**

*X. fastidiosa* rozmnaża się tylko w naczyniach tkanki przewodzącej korzeni, pędów, gałęzi liści. Naczynia są ostatecznie zablokowane przez skupienia bakterii (agregaty), tylozy (zatoryczki) oraz gumy wydzielane przez rośliny, co skutkuje zahamowaniem transportu wody i składników pokarmowych (Goodwin i in. 1988). Bakterie powodujące chorobę Pierce'a są pobierane przez owady w sposób trwały.

Warunki panujące zimą mają zasadnicze znaczenie w wyznaczeniu obszarów, w których *X. fastidiosa* może występować w kolejnym sezonie. Choroba Pierce'a i choroba „phone disease”

występują tylko na obszarach o łagodnych zimach. Przypuszczalnie wiąże się to z przeżywalnością bakterii w roślinach w okresie spoczynku. Wyniki doświadczeń z traktowaniem niską temperaturą porażonych winorośli wskazują, że mróz może wyeliminować bakterie bezpośrednio z roślin (Purcell 1980). Niskie temperatury zimą mogą również ograniczać występowanie potencjalnych wektorów patogena (<http://www.cabi.org/isc/datasheet/57195#20137203928>). Bakterie bardzo szybko rozprzestrzeniają się w nowo posadzonych roślinach winorośli. Rośliny, które są zainfekowane przez szczepienie chorymi zrazami zamierają w ciągu roku.

### Ochrona roślin

Nie ma żadnych środków chemicznych do zwalczania *Xylella fastidiosa*. Dlatego bardzo duże znaczenie ma produkcja i sadzenie zdrowego materiału roślinnego. Jedynym sposobem jest usuwanie i palenie porażonych roślin, a także zwalczanie wektorów. Konieczne jest w tym przypadku poznanie gatunku i biologii wektora w danym rejonie geograficznym w celu zastosowania odpowiedniej i skutecznej ochrony.

### Zagrożenie dla Polski

Ze względu na intensywną wymianę międzynarodową materiału roślinnego, a także ocieplenie klimatu, istnieje zagrożenie przeniesienia roślin zakażonych lub wektorów patogena do Polski. Uważa się, że rośliny porażone bezobjawowo są najważniejszym czynnikiem wprowadzenia *X. fastidiosa* na nowe obszary, natomiast możliwość rozprzestrzenienia patogena za pośrednictwem zakażonych owadów w przesyłkach roślin uznano za umiarkowanie prawdopodobne.

W związku z istniejącym realnym zagrożeniem wprowadzenia bakterii na terytorium naszego kraju należy w pełni respektować wszystkie zasady przedstawione w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 czerwca 2015 r. w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się organizmu *Xylella fastidiosa* (Well i Raju).

### Literatura

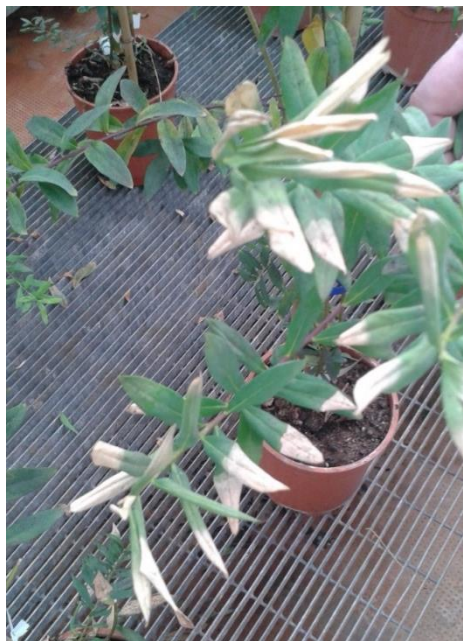
- Almeida R.P.P., Mann R., Purcell A.H. 2004. *Xylella fastidiosa* cultivation on a minimal solid defined medium. Cur. Microbiol. 48: 368-372.
- Berisha B., Chen Y.D., Xu B.Y., Chen T.A. 1996. Isolation of Pierce's disease bacteria from grapevines in Europe. Phytopathol. 86: S119.
- Carbajal D., Morano K.A., Morano L.D. 2004. Indirect immunofluorescence microscopy for direct detection of *Xylella fastidiosa* in xylem sap. Cur. Microbiol. 49: 372-375.
- Chang C.J., Garnier M., Zreik L., Rossetti V., Bové J.M. 1993. Culture and serological detection of the xylem-limited bacterium causing citrus variegated chlorosis and its identification as a strain of *Xylella fastidiosa*. Cur. Microbiol. 27: 137-142.
- de Jong Y.S.D.M. 2013. Fauna Europaea. Version 2.6. Web Service: <http://www.faunaeur.org>
- EFSA PLH Panel 2015. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. EFSA Journal 13(1): 3989 (262 pp.) DOI: 10.2903/j.efsa.2015.3989.
- EPPO 2004. Diagnostic protocols for regulated pests *Xylella fastidiosa*. EPPO Bulletin 34: 187-192. DOI: 10.1111/j.1365-2338.2004.00718.x.

- EPPO 2013. First report of *Xylella fastidiosa* in the EPPO region. Special Alert. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. [http://www.eppo.int/QUARANTINE/special\\_topics/Xylella\\_fastidiosa/Xylella\\_fastidiosa.htm](http://www.eppo.int/QUARANTINE/special_topics/Xylella_fastidiosa/Xylella_fastidiosa.htm)
- Francis M., Lin H., Cabrera-La Rosa J., Doddapaneni H., Civerolo E.L. 2006. Genome-based PCR primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa*. Eur. J. Plant Pathol. 115: 203-213.
- Goodwin P., Purcell A.H. 1992. Pierce's disease. In: Grape Pest Management, 2nd Edition. Oakland, USA: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 76-84.
- Goodwin P.H., DeVay J.E., Meredith C.P. 1988. Physiological responses of *Vitis vinifera* cv. 'Chardonnay' to infection by the Pierce's disease bacterium. Physiol. Mol. Plant Pathol. 32(1):17-32.
- Guan W., Shao J., Singh R., Davis R.E., Zhao T., Huang Q. 2013. A TaqMan-based real time PCR assay for specific detection and quantification of *Xylella fastidiosa* strains causing bacterial leaf scorch in oleander. J. Microbiol. Meth. 92: 108-112.
- Harper S.J., Ward L.I., Clover G.R.G. 2010. Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. Phytopathol. 100: 1282-1288.
- Hewitt W.B., Frazier N.W., Jacob H.E., Freitag J.H. 1942. Pierce's disease of grapevines. California Agricultural Experimental Station Circular 353: 1-32.
- Huang Q. 2009. Specific detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing oleander leaf scorch using polymerase chain reaction. Curr. Microbiol. 58: 393-398.
- Hutchins L.M. 1933. Identification and control of the phony disease of the peach. Georgia Office of State Entomol. Bulletin 78: 55.
- Lee R.F., Beretta M.J.G., Derrick K.S., Hooker M.E. 1992. Development of a serological assay for citrus variegated chlorosis: A new disease of citrus in Brazil. Proc. Florida State Horti. Soc. 105: 32-35.
- Legendre B., Mississipi S., Oliver V., Morel E., Crouzillat D., Durand K., Portier P., Poliakov F., Jacques M.A. 2014. Identification and characterisation of *Xylella fastidiosa* isolated from Coffee plants in France. Proc. Int. Sym on the European outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive, Gallipoli-Locorotondo, Italy, 21-24 October 2014, s. 27-28.
- Li W.B., Pria W.D., Lacava P.M., Qin X., Hartung J.S. 2003. Presence of *Xylella fastidiosa* in sweet orange fruit and seeds and its transmission to seedlings. Phytopathol. 93: 953-958.
- Loconsole G., Potere O., Boscia D., Altamura G., Djelouah K., Elbeaino T. i in. 2014. Large-scale inter-subspecific recombination in the plant-pathogenic bacterium *Xylella fastidiosa* is associated with the host shift to mulberry. Appl. Environ. Microbiol. 80: 3025-3033.
- Purcell A.H. 1980. Environmental therapy for Pierce's disease of grapevines. Plant Dis. 64(4): 388-390.
- Redak R.A., Purcell A.H., Lopes J.R.S., Blua M.J., Mizell III R.F., Andersen P.C. 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. Ann. Rev. Entomol. 49: 243-270.
- Schaad N.W., Postnikova E., Lacy G., Fatmi M., Chang C.J. 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. Syst. Appl. Microbiol. 27: 290-300.
- Schuenzel E.L., Scally M., Stouthamer R., Nunney L. 2005. A multigene phylogenetic study of clonal diversity and divergence in North American strains of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. Appl. Environ. Microbiol. 71: 3832-3839.
- Sherald J.L., Lei J.D. 1991. Evaluation of a rapid ELISA test kit for detection of *Xylella fastidiosa* in landscape trees. Plant Disease 75: 200-203.

- Stancanelli G., Gregoire J-C., Almeida R., Hollo G., Bosco D., Mosbach-Schulz O., Caffier D., Parnell S., Czwienczek E., Bragard C. 2015. Assessing the risk posed to plant health by *Xylella fastidiosa* in the European Union. European Food Safety Authority, Watch Letter n°33 – June 2015.
- 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. Int. J. Syst. Bacteriol. 37: 136-143.



Kolonie bakterii *X. fastidiosa* na pożywce BCYE po 12 dniach inkubacji (Fot. Monika Kałużna)



Objawy infekcji na krzyżownicy mirtolistnej (*Polygala myrtifolia*) przez *X. fastidiosa* (Fot. Monika Kałużna)



Objawy infekcji brzoskwini przez *X. fastidiosa* „phony peach disease” (Fot. M. Scortichini)





Objawy infekcji na oleandrze (*Nerium oleander* L.) przez *X. fastidiosa* (Fot. Maria Saponari)



Objawy infekcji brzoskwini przez *X. fastidiosa* „phony peach disease”  
[http://www.aces.edu/mt/peachipm/archives/2006\\_08.php](http://www.aces.edu/mt/peachipm/archives/2006_08.php)