

## Capítulo 23

# *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (Xanthomonadales: Xanthomonadaceae)

ABI SOARES DOS ANJOS MARQUES, LUCAS DA RESSURREIÇÃO GARRIDO

### Identificação da praga

O “mal-de-Pierce” da videira é causado pela bactéria *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*. Durante muitos anos, acreditou-se ser um vírus o agente causal da doença. Essa situação permaneceu desde o final da década de 1930 até o início de 1970, quando experimentos demonstraram que havia supressão de sintomas pelo uso de antibióticos e erradicação do agente causal por tratamento térmico (Pearson; Goheen, 1988). Nos anos seguintes, estudos com microscopia eletrônica (Mollenhauer; Hopkins, 1974) permitiram a visualização de bactérias no xilema de plantas infectadas e em 1978 a bactéria foi cultivada (Davis et al., 1980), possibilitando completar os postulados de Koch. A bactéria é gram-negativa, limitada ao xilema da planta, apresenta crescimento lento e é nutricionalmente fastidiosa, requerendo fatores de crescimento. As células

bacterianas em forma de bastonete são muito pequenas, medindo 0,1-0,5 µm x 1,0-5,0 µm, não formam esporos, são imóveis e não flageladas (Wells et al., 1987). O processo de infecção é sistêmico, limitando-se ao xilema da planta (Pearson; Goheen, 1988).

### Nome científico

- *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*.

### Posição taxonômica

- Domínio: Bacteria.
- Filo: Proteobacteria.
- Classe: Gammaproteobacteria.
- Ordem: Xanthomonadales.
- Família: Xanthomonadaceae.
- Gênero: *Xylella*.
- Espécie *Xylella fastidiosa*.
- Subespécie *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*.

### Situação taxonômica da espécie

A taxonomia de *X. fastidiosa* tem sido revisada, baseada em dados da diversidade genética obtida por técnicas de sequenciamento multiloco (Yuan et al., 2010). Esses estudos demonstram que a bactéria é geneticamente diversa e consiste de, provavelmente, seis subespécies (*fastidiosa*, *multiplex*, *pauca*, *sandyi*, *tashke* e *morus*), das quais as subespécies *fastidiosa* e *multiplex* foram, inicialmente, consideradas nomes válidos. As demais continuaram sob estudos comparativos (Bull et al., 2012). Posteriormente, quatro subespécies foram aceitas, distribuídas em regiões geográficas distintas para cada subespécie e mostrando um alto grau de especificidade de hospedeiro (Almeida; Nunney, 2015). Recentemente, uma revisão das subespécies de *X. fastidiosa* foi proposta, baseada em análise genômica comparativa (Marceletti; Schortichini, 2016).

Acredita-se que a subespécie *fastidiosa* seja nativa do sul da América Central (Nunney et al., 2010), associada principalmente com o mal-de-Pierce em videiras (Pierce's disease) e com a escaldadura-das-folhas-da-amendoeira (Almond leaf scorch). A subespécie *multiplex*, nativa de regiões temperadas e subtropicais da América do Norte, está associada com queimas em diversas árvores, incluindo o nanismo-do-pessegueiro (Phony peach disease) e a escaldadura-das-folhas-da-ameixeira (Plum leaf scorch). Enquanto isso, sugere-se que a subespécie *pauca* seja nativa da América do Sul, compreendendo as estirpes causadoras da clorose-variegada-citrus (CVC) e da atrofia-dos-ramos-do-cafeeiro (Nunney et al., 2012). A última subespécie *sandyi*, possivelmente origina-se da região sul dos Estados Unidos (Yuan et al., 2010) e está associada com a escaldadura-das-folhas-do-Eleandro (Oleander leaf scorch).

### Sinonímias

- *X. fastidiosa* subsp. *piercei* (Schaad et al., 2004a; 2004b).

### Hospedeiros

*X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* infecta diferentes espécies vegetais além da videira (*Vitis vinifera*), incluindo a amendoeira (*Prunus dulcis*), a alfafa (*Medicago sativa*), *Acer* spp., entre outras (Schuenzel et al., 2005). Isolados provenientes de videira foram transmitidos com sucesso para 75 de 100 espécies testadas (Janse; Obradovic, 2010). De acordo com European Food Safety Authority (EFSA, 2016), a lista atual de espécies de plantas para *X. fastidiosa* consiste de 359 espécies de plantas incluindo híbridos de 204 gêneros e 75 diferentes famílias botânicas. Esse relatório menciona como hospedeiros da subespécie *fastidiosa*, em plantas naturalmente infectadas, as seguintes espécies: *Sambucus canadenses*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Ratibida columnifera*, *Humulus scandens*, *Diplocyclos palmatus*, *Mallotus paniculatus*, *Cercis occidentalis*, *Lupinus aridorum*, *Medicago sativa*, *Spartium junceum*, *Magnolia grandiflora*, *Morus rubra*, *Metrosideros* sp., *Prunus avium*, *Prunus dulcis*, *Prunus pérsica*, *Coffea arábica*, *Citrus sinensis*, *Citrus* sp. e, da família *Vitaceae* *Ampelopsis brevipedunculata*, *Vitis aestivalis*, *Vitis giardiana*, *Vitis labrusca*, *Vitis rotundifolia*.

## Distribuição geográfica da praga

O mal-de-Pierce, causado por *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, tem sido confirmado, nos Estados Unidos, em todos os estados banhados pelo Golfo do México, da Flórida ao Texas, além do Novo México, Arizona e Califórnia. Está relatada no norte do México e Costa Rica, mas provavelmente já esteja espalhada por toda América Central, assim como na Venezuela (Cabi, 2018) e Taiwan (Su et al., 2013) (Figura 1). Por outro lado, a distribuição das demais subespécies de *X. fastidiosa* é bem mais abrangente. Sua presença era conhecida nas Américas, mas nos dois últimos anos, foi registrada ocorrência na Ásia e na Europa (França, Itália, Alemanha e Espanha) (Cabi, 2018).



**Figura 1.** Distribuição geográfica de *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*.

## Biologia da praga

De modo geral assume-se, para *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, aspectos da biologia da praga descritos para a espécie.

## Ciclo biológico da praga

A bactéria é inoculada no xilema da planta hospedeira por insetos que se alimentam da seiva do xilema, onde prolifera, seja nas raízes, ramos e

folhas. Os vasos são bloqueados pelos agregados bacterianos, além de tiloses e gomoses formados pela planta. Outros fatores que contribuem para o desenvolvimento dos sintomas são: a produção de exopolissacarídeos e poligalacturonases, responsáveis pela degradação de membranas e oclusão do xilema; interferência no transporte de água; desbalanceamento do regulador do crescimento e produção de fitotoxinas (Tyson et al., 1985; Goodwin; Purcell, 1992; Leite et al., 2002; Janse; Obradovic, 2010; Nascimento et al., 2016). Severin (1949) citado em Cabi (2018) mostrou que estirpes do patógeno causador do mal-de-Pierce são eficientemente adquiridas pelos insetos vetores, não requerendo um período latente e persistindo na forma infecciosa em insetos adultos indefinidamente. O patógeno pode se perpetuar em diversas plantas hospedeiras, incluindo plantas infestantes.

Sendo *X. fastidiosa* uma bactéria limitada ao xilema, a translocação pelo sistema vascular da planta hospedeira é um fator essencial para sua sobrevivência e pode estar relacionado com a sua virulência, pois isolados dos patógenos avirulentos, apresentam uma taxa de multiplicação e de translocação menor comparado aos isolados virulentos do patógeno (Hopkins, 1989). O mecanismo pelo qual o patógeno se movimenta dentro dos vasos do xilema não é bem conhecido. A velocidade de translocação parece estar relacionada à estirpe da bactéria, à resistência e idade da planta (Fry; Milholland, 1990).

### **Estratégias reprodutivas da praga**

Nenhuma espécie de videira (*Vitis* spp.) é conhecida por ser imune a estirpes causadoras do mal-de-Pierce, mas espécies americanas usadas como porta-enxerto (*V. aestivalis*, *V. berlandieri*, *V. candicans* e *V. rupestris*) e híbridos derivados dessas são tolerantes e algumas podem até mostrar alto grau de resistência, como *V. rotundifolia* (Pearson & Goheen, 1988). Amendoeira e alfafa podem ser hospedeiras de estirpes que atacam a videira, mas a doença causada por *X. fastidiosa* nas três espécies de cultura, são independentes nas áreas da Califórnia, EUA, sugerindo que diferenças biológicas ainda não foram identificadas (Purcell, 1980). Alta percentagem (> 75% daquelas testadas) de culturas, plantas silvestres e espécies de plantas invasoras podem carregar a estirpe causadora do mal-de-Pierce sem apresentar sintomas (gramíneas silvestres, tiririca, lírios, arbustos e árvores) (Cabi, 2018). Plantas

hospedeiras podem ser classificadas quanto à multiplicação, translocação do patógeno e expressão de sintomas como: propagativa ou não propagativa, sistêmica ou não-sistêmica e sintomática ou assintomática (Purcell; Saunders, 1999). Espécies propagativa e sistêmica são os melhores hospedeiros para aquisição da bactéria pelo vetor eficiente. A eficiência da aquisição é proporcional à população das células bacterianas dentro do tecido da planta (Hill; Purcell, 1997).

Todos os insetos vetores do patógeno apresentam aparelho bucal sugador alimentando-se diretamente no xilema das plantas, adquirindo a bactéria rapidamente em menos de duas horas de alimentação. A bactéria adere-se às partes bucais e é liberada diretamente quando o inseto se alimenta a seguir. Multiplica-se no vetor, mas não circula em sua hemolinfa. Por meio da microscopia eletrônica de varredura foram encontrados agregados de bactérias sobre o forro cuticular de várias porções do tubo digestivo anterior (estomodeo) da cigarrinha *Graphocephala atropunctata*. Os insetos jovens perdem a capacidade de transmitir a bactéria após a ecdise, o que foi atribuído à troca da cutícula interna do estomodeo que ocorre durante este processo (Purcell, 1989).

### **Tipo de dispersão**

A transmissão por insetos, a qual se dá de forma persistente, é considerada o principal fator da disseminação de *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*. Nessa forma de transmissão, as ninfas e adultos, ao se alimentar da seiva do xilema de uma planta infectada tornam-se capazes de transmitir a bactéria durante toda a vida, a qual se multiplica e permanece no aparelho bucal dos insetos (Almeida, et al., 2005). Por outro lado, a dispersão a longas distâncias e entrada em novas áreas deve-se ao movimento de plantas e materiais de propagação vegetativa, infectados.

A bactéria tem um amplo espectro de hospedeiros, assim como de vetores, o que aumenta sua capacidade de dispersão e dificulta prevenir a introdução via partes da planta. A bactéria é transmitida naturalmente para as plantas por cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae e Cercopidae). Em plantas como pessegueiro e videira, *X. fastidiosa* é transmitida pelas cigarrinhas

da subfamília Cicadellinae (Janse; Obradovic, 2010). Uma grande diferença na eficiência de transmissão de *X. fastidiosa* é observada entre as cigarrinhas que ocorrem em *Citrus* (CVC) e as cigarrinhas de videira (mal-de-Pierce). Os vetores de *X. fastidiosa* em videira apresentam até 90% de eficiência, enquanto que em citros, a eficiência máxima verificada foi de 12% (Yamamoto et al., 2002). Hill e Purcell (1997) constataram que, para a aquisição e subsequente transmissão de *X. fastidiosa* por *G. atropunctata* em videira, é necessária uma população de aproximadamente  $10^4$  unidades formadoras de colônias (UFC) /g de tecido do ramo da planta fonte. Almeida et al. (2001) constataram que a população de células viáveis de *X. fastidiosa* em plantas de laranja doce é cerca de 100 a 1000 x mais baixa que a relatada em videira e sugeriram que esse fator poderia reduzir a eficiência do patógeno pelos vetores em citros.

### **Mecanismos de sobrevivência em condições adversas**

A *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* sobrevive nos habitats dos insetos-vetores onde plantas hospedeiras adequadas ocorrem. As estirpes do mal-de-Pierce podem ser encontradas na vegetação marginal dos vinhedos, pastagens, campos de feno ou outras plantas ornamentais da paisagem. Na Califórnia, EUA, espécies como *Draeculacephala minerva* e *Carneiocephala fulgida* habitam permanentemente pastagens ou em plantas infestantes no vinhedo, enquanto que *G. atropunctata*, multiplica-se em videira, mas sobrevive, durante o inverno, em hospedeiros silvestres (Cabi, 2018).

A colonização de um hospedeiro por *X. fastidiosa* nem sempre equivale ao desenvolvimento da doença e, foi sugerida a existência de uma fase endofítica (Chatterjee et al., 2008). Assim, hospedeiros não sintomáticos ou aqueles cujo desenvolvimento de sintomas é lento, limitam a efetividade de procedimentos de quarentena e podem se constituir em reservatório para a manutenção da praga no ambiente.

### **Condições edafoclimáticas ideais para o desenvolvimento**

A modelagem da distribuição de *X. fastidiosa* na Califórnia, EUA (Hoddle, 2004) permitiu construir um modelo para prever o seu potencial de disseminação para outras regiões do mundo. Baixa temperatura no inverno foi

considerada como o fator limitante para o estabelecimento da bactéria. Por outro lado, pode tornar-se um problema sério, nas regiões quentes da UE. O mal-de-Pierce ocorre apenas em áreas com inverno moderado, presumivelmente devido à sobrevivência da bactéria em plantas hospedeiras (Purcell, 1980). Invernos úmidos promovem a sobrevivência de altas populações de vetores e favorecem a disseminação da doença para a região com verão seco. Em clima temperado com temperaturas moderadas no inverno, as infecções de *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, estabelecidas nas videiras no início da estação de crescimento, tendem a persistir até o ano seguinte (Purcell, 1981). Os vetores que sobrevivem durante o inverno são importantes para o sucesso de infecções no início da estação seguinte. A falta de vetores potenciais que consigam sobreviver no estágio adulto e capazes ocasionar novas infecções em plantas lenhosas, pode explicar a ausência da disseminação natural para as regiões de clima temperado.

### **Adaptabilidade: plasticidade**

*X. fastidiosa* tem presumivelmente alcançado o limite de sua distribuição natural na América do Norte, tal que material infectado para plantio apresenta baixo risco de introdução e estabelecimento. Contudo, no Brasil devido ao clima tropical e subtropical, com invernos amenos, diversidade de espécies hospedeiras e de vetores, este patógeno pode se representar em um grande risco para a vitivinicultura nacional. Da mesma forma, na Europa há grandes áreas de videiras suscetíveis que estão em risco, caso a bactéria seja introduzida, via material vegetativo ou em outras espécies assintomáticas de plantas, das quais o vetor possa se alimentar. Estacas de videira com o mal-de-Pierce podem apresentar-se viáveis e aparentemente "sadias" por três meses e ainda ser positiva nos testes utilizando PCR-tempo-real para detecção *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (Montague et al., 2016). Outro ponto de grande importância, na prevenção do estabelecimento dessa subespécie em novas regiões, é o cuidado de não introduzir o inseto-vetor que sobreviva durante o inverno, capaz de carregar o patógeno, durante o período de dormência das plantas e disseminar novas infecções na primavera. A cigarrinha, *Homalodisca vitripennis*, é um exemplo desse risco, em pouco tempo invadiu a Califórnia, EUA, e depois rapidamente tornou-se abundante na Polinésia Francesa e no Hawaii (Mizell et al., 2008). Essa cigarrinha tem uma

extensa gama de hospedeiros e os modelos predizem que poderá estabelecer-se no sul da Europa e nas regiões subtropical e tropical da África e Ásia (Hoddle, 2004).

### **Sintomas, sinais e danos**

Na videira, os sintomas do mal-de-Pierce variam, dependendo do cultivar e das condições climáticas. Apresentam-se como a súbita seca de grande parte da folha, tornando-se marrons a necróticas e, a periferia dos tecidos torna-se amarelada com faixas avermelhadas. A necrose é frequentemente presente na margem das folhas, ocasionado a sua posterior queda, mas deixando o pecíolo ligado aos ramos. Outros sintomas são desfolha, reduções no crescimento, maturação irregular dos frutos e ramos, perda de vigor e morte da planta (Pearson; Goheen, 1988). Os cachos murcham ou tornam-se mumificados e os ramos secam a partir das extremidades. Plantas severamente afetadas podem morrer em um a dois anos (EPPO, 2016).

Nos EUA, entre 1994 e 2000, mais de (400 ha) de vinhedos no norte da Califórnia foram afetados, resultando em \$ 30 milhões em danos, segundo Webster & Nation, (2000) citado por Bruening et al. (2014). Nas áreas onde *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* ocorre naturalmente, *V. vinifera* e *V. labrusca* não podem ser cultivadas porque são rapidamente infectadas, devido à alta taxa de disseminação natural sendo a principal limitação da produção de uvas no sul dos Estados Unidos. O manejo das atividades visando o controle da doença pelos produtores de uvas da Califórnia é estimado em \$ 104 milhões/ano e pela indústria de citros do Brasil em \$120 milhões/ano (IPCC, 2017).

### **Métodos de controle**

As medidas fitossanitárias e preventivas devem ser reforçadas com outras ações profiláticas baseada na experiência de países com histórico da doença, considerando a ampla gama de hospedeiros, inúmeros insetos-vetores, presença de plantas com a bactéria em estado latente e grande movimento global de material vegetativo. O controle químico curativo da bactéria não é possível, devendo ser priorizada a utilização de cultivares resistentes, adoção de medidas culturais e higiênicas, além do controle químico e biológico dos

insetos-vetores com parasitoides de ovos, *Gonatocerus* sp., que pode ser utilizado, mas sua população fortemente diminuída no inverno na Califórnia, quando a produção dos ovos dos insetos-vetores é baixa. A remoção de plantas doentes contribui apenas em parte para a solução do problema, pois a introdução do patógeno pode ocorrer de áreas vizinhas ou vir de outros hospedeiros. Outras práticas culturais estão descritas por Janse e Obradovic (2010), como a redução do estresse da planta por meio da sanidade, manejo da copa, adequada nutrição, a redução ou imobilização do ferro que proporciona uma forma de reduzir a severidade da doença prevenindo a formação do biofilme nos vasos do xilema, eliminação de plantas hospedeiras e de plantas doentes e a realização da poda após a remoção anterior.

## Métodos de produção de material propagativo

As inspeções nos vinhedos no Hemisfério Norte são realizadas durante o final do verão e início do outono, enquanto plantas mantidas em ambientes internos podem ser inspecionadas ou monitoradas o ano inteiro. As amostras para testes de laboratório devem conter ramos ou estacas com folhas maduras (10 a 25 folhas). Amostras de plantas assintomáticas podem ser coletadas na proporção de 4 a 10 ramos. Procedimentos de higiene é importante quando se coleta amostras para análise. Em particular as ferramentas devem ser desinfetadas entre as amostras coletadas. A amostragem de hemípteros na Europa deve ser realizada entre o final da primavera e início do outono. Depois da coleta os insetos nas armadilhas, os mesmos devem ser enxaguados com uma solução de álcool/acetona para remoção de resíduos da cola. Se os insetos não forem processados imediatamente por PCR devem ser armazenados em 95%-99% de etanol ou em -20 °C (Eppo, 2016) e para identificação morfológica etanol 70%.

Durante a produção de mudas, o método de proteção cruzada com estirpes fracas do patógeno pode ser utilizado para imunização de plantas. No início do verão de 1997, um plantio de Carbernet Sauvignon enxertadas no porta-enxerto Freedom foi estabelecido na Flórida utilizando estirpes avirulentas de *X. fastidiosa*. Após quarenta e oito meses todas as plantas do controle não imunizadas estavam mortas, enquanto que apenas uma planta

imunizada havia morrido (Hopkins; Purcell, 2002). O tratamento com água quente (50 °C/20 min, 45 °C/180 min) elimina o patógeno de estacas de videira (Goheen et al., 1973). Tratamento de videiras com antibióticos não é efetivo o bastante para uso comercial e tem características desfavoráveis a saúde e ao ambiente.

## **Processo pós-colheita/transformação primária**

Vetores podem também ser carregados por longas distâncias em plantas ou frutos de videira, pessegueiro ou outras plantas. Ovos de vetores inseridos dentro de tecidos de plantas são difíceis para detecção visual, porém a bactéria não é transmitida através dos ovos do vetor. Logo, deve-se evitar o transporte de insetos-vetores adultos no material vegetativo ou frutas. Tratamentos em pré-colheita e ou pós-colheita são recomendados para o controle de insetos vetores (Kamas, 2010).

## **Condicionamento e transporte**

A preservação e transporte de amostras para análise deve ser realizada adotando-se os procedimentos: agitar os ramos a fim de garantir que os mesmos não transportem espécies vetores adultos ou juvenis que possam escapar para fora da região de coleta; colocar as amostras em containers fechados; manter em temperatura fria para evitar a desidratação; transportar as amostras ao laboratório o mais breve possível (Eppo, 2016).

## **Vias de ingresso**

Os países produtores de uvas devem proibir ou severamente restringir a importação de material para plantio de videira oriundos de países, onde a *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* ocorre. Como recomendado pela EPPO (Cabi, 2018), se material vegetativo for importado sob licença, o mesmo deve ser mantido em quarentena pós-entrada por dois anos e deve mostrar-se livre do patógeno. Plantas importadas e frutas devem estar livres de vetores, possivelmente pelo uso de um tratamento apropriado.

O risco apresentado pela bactéria em outros hospedeiros ainda terá que ser avaliado mais profundamente e os serviços de inspeções devem estar conscientes que hospedeiros sintomáticos e assintomáticos também constituem um risco (Cabi, 2018). Logo, a análise de germoplasma importando deve contemplar as informações da distribuição da doença pelo mundo, a lista de espécies hospedeiras do patógeno, entre outras medidas. Torna-se importante o cruzamento de informações, a fim de evitar a entrada do patógeno por hospedeiros secundários provenientes de áreas endêmicas da doença.

## Inspeção e detecção

O método mais sensível e confiável para detecção de *X. fastidiosa* é pela PCR (Minsavage et al., 1994). Pooler et al. (1997) demonstraram que uma amostra muito maior de tecido da planta pode ser processada por PCR, evitando problemas com inibidores e a distribuição irregular da bactéria na planta, o que pode afetar a detecção quando se utiliza pequenas amostras. Li et al. (2013) desenvolveram dois ensaios baseado na TAqMan, um alvo da região 16S rDNA, para identificação de *X. fastidiosa* a nível de espécies hospedeiras e estirpes. Sondas de hibridização de DNA e primers específicos para *X. fastidiosa* foram desenvolvidos (Firrao; Bazzi, 1994; Minsavage et al., 1994). O patógeno pode também ser detectado em seus insetos vetores (Yonce; Chang, 1987). A caracterização e identificação de estirpes principalmente empregando métodos moleculares (Chen et al., 1992; Henderson et al., 2001; Colleta-Filho; Machado, 2001; Colleta-Filho; Machado, 2003) avançará indefinidamente com o progresso tecnológico, tornando as técnicas mais precisas e baratas. Diferentes métodos de diagnóstico usados ou desenvolvidos para detecção e identificação de *X. fastidiosa* são detalhados em Janse (2010). Recentes avanços incluem detecção molecular "on-site" usando PCR em tempo real (Yaseen et al., 2015).

O patógeno pode ser detectado, microscopicamente (luz ou eletrônica), em vasos em secções cruzadas de pecíolos (French et al., 1977), por exame da seiva do xilema espremida ou mesmo a coloração de ramos ou pecíolos em lâminas de microscopia (Lima et al., 1996). A coleta da seiva do xilema de estacas ou brotos com uma bomba de pressão de Scholander permite testar

tamanhos maiores de amostras e evitar inibidores para PCR (Bextine; Miller, 2004). Esta técnica consiste em retirar a seiva dos vasos do xilema, após a remoção da região do floema, coloca-se a seguir a extremidade do material através do furo da bomba e então submetida à pressão adequada para extração da seiva. O material coletado pode então ser utilizado diretamente na análise de ELISA ou extração do DNA / PCR. Métodos como a enxertia em plantas indicadoras suscetíveis ou testes de vetores são ainda disponíveis e pode ter seu lugar em esquemas de certificação em que indicadores lenhosos são rotineiramente utilizados. O cultivo em meio PW (Davis et al., 1983) também pode ser empregado. A identificação da bactéria pode ser confirmada por SDS-PAGE (Bazzi et al., 1994). Métodos serológicos são menos sensíveis (10 a 100 vezes) do que a cultura, mas são o meio mais rápido de detectar e identificar a bactéria, por ELISA ou o uso de anticorpos fluorescentes (Sherald; Lei, 1991). As estirpes diferem em reação quantitativa ao antígeno e em facilidade e eficiência da cultura.

## Situação regulatória no mundo

A EPPO considera *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* como uma praga quarentenária ausente (A1) (Cabi/Eppo, 2018) e também é considerada uma praga quarentenária para o COSAVE. No Brasil, esta praga exótica e de extrema importância, não faz parte da lista A1, possivelmente por existir subespécies que infectam outros hospedeiros (p.ex. citrus, café e ameixeira) e não a videira. A UE está consciente, que a entrada deste patógeno na região ocasionará grande mortalidade de plantas de videira e tornará extensas áreas inadequadas para o cultivo de *V. vinifera*. Os insetos-vetores da América do Norte não ocorrem na UE, porém, como a capacidade de candidatos a vetores é tão inespecífica, é certo que algum Cicadellinae europeu (*Cicadella viridis*) ou Cercopidae possa transmitir a bactéria caso a estirpe que infecta videira seja introduzida. No Brasil existem potenciais cigarrinhas-vetores do patógeno ocorrendo nos vinhedos do Vale do São Francisco, como *Homalodisca spootii* (Ringenberg et al., 2014), além de espécies que ocorrem em pomares de citros, ameixeira e plantações de cafeeiro, *Bucephalagonia xanthophis*, *Dilobopterus costalimai*, *H. ignorata*, *Oncometopia facialis*, *Hortensia similis*, *Acrogonia virescens* (Marucci et al., 2002; Yamamoto et al., 2002).

Modelos de distribuição de espécies sugerem que *X. fastidiosa* na Itália tem o potencial para espalhar por extensas áreas da Itália. O clima mediterrâneo é particularmente adequado para o estabelecimento da *X. fastidiosa* em Portugal, Espanha, Corsa, Albânia, Montenegro, Grécia e Turquia, tão bem, como em todos os países do norte da África e do meio leste (Bosso et al., 2016).

## **Antecedentes de interceptações**

Não há antecedentes de interceptação de *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, pelas Estações Quarentenárias brasileiras, credenciadas pelo Mapa.

## **Probabilidade de introdução e dispersão no Brasil**

A bactéria *Xylella fastidiosa* ocorre em um grande número de plantas cultivadas, árvores, ornamentais e outras plantas silvestres. No Brasil *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* é responsável por doenças importantes como a clorose-variegada-dos-citrus (CVC), o atrofiamento-dos-ramos-do-cafeeiro, pela escaldadura-das-folhas-da-amexeira, entre outras doenças. Também são encontradas algumas espécies de cigarrinhas vetoras que poderão transmitir estirpes de *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*. Até o momento, não existem relatos da ocorrência do mal-de-Pierce nos vinhedos do Brasil, contudo, acredita-se que estirpes patogênicas à videira estejam na iminência de entrar no país. O risco de introdução em material vegetativo de videira ou outra espécie hospedeira, especialmente na forma latente não deve ser subestimado, bem como a introdução de vetores com o material propagativo não deve ser excluída (Janse; Obradovic, 2010).

A introdução de novos vetores pode radicalmente mudar a epidemiologia da doença causada por *X. fastidiosa*, como demonstrado no sul da Califórnia no final dos anos 1990 (Blua et al., 1999; Purcell; Saunders, 1999). Abundância de vetores, preferência de plantas hospedeiras, eficiência de transmissão e de voo do inseto-vetore inverno ameno são componentes chave da taxa de disseminação e sobrevivência de *X. fastidiosa*.

## Potenciais consequências econômicas para o Brasil

A praga, *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, é considerada de alto risco para a viticultura brasileira, pelo potencial destrutivo em condições extremamente favoráveis como as encontradas na região do Vale São Francisco, bem como no sul e sudeste do Brasil. A vitivinicultura brasileira está alicerçada em duas espécies *V. labrusca* e *V. vinifera*, ambas suscetíveis à doença em questão. Como no Brasil não há invernos rigorosos a distribuição da doença poderá ocorrer rapidamente após a sua introdução. O impacto econômico e social será significativo, tendo em vista que a atividade é desenvolvida na sua maioria por pequenos produtores. Um monitoramento de insetos vetores (Hemiptera, Cicadellidae, Cicadellinae; Hemiptera, Cercopidae) de *X. fastidiosa* em vinhedos do Vale São Francisco revelou que *Homalodisca spooiti* prevaleceu sobre as demais espécies e pode se tornar um importante vetor da bactéria, caso essa seja introduzida no país, além disso ocorre durante todo ano e alimentar-se nas partes verdes da copa da videira (Ringenberg et al., 2014).

## Referências

- ALMEIDA, R. P. P.; PEREIRA, E. F.; PURCELL, A. H.; LOPES, J. R. S. Multiplication and movement of a citrus strain of *Xylella fastidiosa* within sweet orange. **Plant Disease**, v. 85, n. 4, p. 382-386, 2001.
- ALMEIDA, R. P. P.; BLUA, M. J.; LOPES, J. R. S.; PURCELL, A. H. Vector transmission of *Xylella fastidiosa*: Applying fundamental knowledge to generate disease management strategies. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 98, p. 775-786, 2005.
- ALMEIDA, R. P. P.; NUNNEY L. How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? **Plant Disease**, v. 99, n. 11 p.1457-1467, 2015.
- BAZZI, C.; STEFANI, E.; ZACCARDELLI, M. SDS-PAGE: a tool to discriminate *Xylella fastidiosa* from other endophytic grapevine bacteria. **Bulletin OEPP**, v. 24, n. 1, p.121-127, 1994.
- BEXTINE, B. R.; MILLER, T. A. Comparison of whole-tissue and xylem fluid collection techniques to detect *Xylella fastidiosa* in grapevine and oleander. **Plant Disease**, v. 88, p. 600-604, 2004.

BLUA, M. J.; PHILLIPS, P. A.; REDAK, R. A. A new sharpshooter threatens both crops and ornamentals. **California Agriculture**, v. 53, n. 2, p. 22-25, 1999.

BOSSO, L.; FEBBRARO, M. D. I.; CRISTINZIO, G.; ZOINA, A.; RUSSO, D. Potential distribution of *Xylella fastidiosa* in Italy: a maximum entropy model. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 55, n. 1, p. 62-72, 2016.

BRUENING, G.; KIRKPATRICK, B.C.; ESSER, T.; WEBSTER, R.K. Cooperative efforts contained spread of Pierce's disease and found genetic resistance. **California Agriculture**, v. 68, n. 4, p. 134-141, 2014.

BULL, C. T.; De BOER, S. H.; DUNNY, T. P.; FIRRAO, G.; FISCHER-LE SAUX, M.; SADDLER, G. S.; SCORTICHINI, M.; STEAD, D. E.; TAKIKAWA, Y. List of new names of plant pathogenic bacteria (2008-2010). **Journal of Plant Pathology**, v. 94, p. 21-27, 2012.

CABI. ***Xylella fastidiosa* (Pierce's disease grapevines)**. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International, 2018. Disponível em: <[www.cabi.org/isc/datashhet/57195](http://www.cabi.org/isc/datashhet/57195)>. Acesso em: 15 fev. 2018.

CABI/EPPO. ***Xylella fastidiosa***. In: Data Sheets on Quarantine Pests. Disponível em: <[https://www.eppo.int/QUARANTINE/data\\_sheets/bacteria/XYLEFA\\_ds.pdf](https://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/bacteria/XYLEFA_ds.pdf)>. Acesso em: 08 mar. 2018.

CHATTERJEE, S.; ALMEIDA, R. P. P.; LINDOW, S. Living in two worlds: The plant insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. **Annual Review of Phytopathology**, v. 46, p. 243-271, 2008.

CHEN, J.; CHANG, C. J.; JARRET, R. L.; GAWEL, N. Genetic variation among *Xylella fastidiosa* strains. **Phytopathology**, v. 82, n. 9, p. 973-977, 1992.

COLLETA FILHO, H. D.; MACHADO, M. A. Hospedeiros, transmissão e técnicas de diagnóstico da bactéria *Xylella fastidiosa*. **Laranja**, v. 22, p. 121-132, 2001.

COLLETA FILHO, H. D.; MACHADO, M. A. Geographical genetic structure of *Xylella fastidiosa* from *Citrus* in São Paulo State, Brazil. **Phytopathology**, v. 93, n. 1, p. 28-34, 2003.

DAVIS, M. J.; PURCEL, A. H.; THOMSON, S. V. Isolation media for the Pierce's disease bacterium. **Phytopathology**, v. 70, n. 5, p. 425-429, 1980.

DAVIS, M. J.; RAJU, B. C.; BRLANSKY, R. H.; LEE, R. F.; TIMMER, L. W.; NORRIS, R. C.; MCCOY, R. E. Periwinkle wilt bacterium: axenic culture, pathogenicity and relationships to other Gram-negative, xylem-inhabiting bacteria. **Phytopathology**, v. 73, n. 11, p. 1510-1515, 1983.

LIMA, J. E. O. de; MIRANDA, V. S.; ROBERTO, S. R.; CARLOS, E. F. Distribuição de *Xylella fastidiosa* no cafeeiro, nas regiões cafeeiras, eseu isolamento *in vitro*. **Fitopatologia**, v. 21, n. 3, p. 392-393, 1996.

EPPO. PM 3/82 (1) Inspection of places of production for *Xylella fastidiosa*. **EPPO Bulletin**, v. 46, n. 3, p. 407-418, 2016. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/epp.12328/full>>. Acesso em: 01 mar. 2018.

EFSA. Update of a database of host plants of *Xylella fastidiosa*: 20 November 2015. **EFSA Journal**, v. 14, n. 2, p. 4378, 2016. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4378/epdf>>. Acesso em: 15 fev. 2018.

FIRRAO, G.; BAZZI, C. Specific identification of *Xylella fastidiosa* using the polymerase chain reaction. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 33, n. 1, p. 90-92, 1994.

FRENCH, W. J.; CHRISTIS, R. G.; STASSI, D. L. Recovery of rickettsialike bacteria by vacuum infiltration of peach tissues affected with phony disease. **Phytopathology**, v. 67, n. 7, p. 945-948, 1977.

FRY, S. M.; MILHOLLAND, R. D. Multiplication and translocation of *Xylella fastidiosa* in petioles and stems of grapevines resistant, tolerant, and susceptible to Pierce's disease. **Phytopathology**, v. 80, p. 6165, 1990.

GOHEEN, A. C.; NYLAND, G.; LOWE, S. K. Association of a rickettsialike organism with Pierce's disease of grapevines and alfalfa dwarf and heat therapy of the disease in grapevines. **Phytopathology**, v. 63, n. 3, p. 341-345, 1973.

GOODWIN, P.; PURCELL, A. H. Pierce's disease. In: FLAHERTY, D. L. (Ed.). **Grape Pest Management**. 2. ed. Oakland: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 1992. p. 76-84.

HENDSON, M.; PURCELL, A. H.; CHEN, D. Q.; SMART, C.; GUILHABERT, M.; KIRKPATRICK, B.; Genetic diversity of Pierce's disease strains and other pathotypes of *Xylella fastidiosa*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 2, p. 895-903, 2001.

HILL, B. L.; PURCELL, A. H. Populations of *Xylella fastidiosa* in plants required for transmission by an efficient vector. **Phytopathology**, v. 87, n. 12, p. 1197-1201, 1997.

HODDLE, M. S. The potential adventive geographic range of glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca coagulata* and the grape pathogen *Xylella fastidiosa*: implications for California and other grape growing regions of the world. **Crop Protection**, v. 23, p. 691-699, 2004.

HOPKINS, D. L. *Xylella fastidiosa*: xylem-limited bacterial pathogen of plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 27, p. 271-90, 1989.

HOPKINS, D. L.; PURCELL, A. H. *Xylella fastidiosa*: cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases. **Plant Disease**, v. 86, n. 10, p. 1056-1066, 2002.

IPCC. **Facing the treat of *Xylella fastidiosa* together**. Italy, Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; International Plant Protection Convention, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/57b015e7-bbe3-458e-a26b-c5c2e55e7d46>>. Acesso em: 02 mar. 2018.

JANSE, J D.; OBRADOVIC, A. *Xylella fastidiosa*: its biology, diagnosis, control and risks. **Journal of Plant Pathology**, v. 92, S1.35-S1.48, 2010.

JANSE, J. D. Diagnostic methods for phytopathogenic bacteria of stone fruits and nuts in COST 873. **EPPO Bulletin**, v. 40, n. 1, p. 68-85, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2338.2009.02356.x/full>>. Acesso em: 01 mar. 2018.

KAMAS, J. (Ed.). **Pierce's disease overview & management guide**: A resource of grape growers in Texas and others Eastern US growing region. Texas Pierce's disease; Texas A&M Agri Life, [2010]. Disponível em: <<https://aggie-horticulture.tamu.edu/fruit-nut/files/2010/10/Texas-Grape-Growers-PD-Management-Guide.pdf>>. Acesso em: 08 mar. 2018.

LEITE, B.; ISHIDA, M. I.; ALVES, E.; CARRER, H.; PASCHOLATI, S. F.; KITAJIMA, E. W. Genomic and X-ray microanalysis indicate that Ca<sup>2+</sup> and thiols mediate the aggregation and adhesion of *Xylella fastidiosa*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 645-650, 2002.

LI, W. B.; TEIXEIRA, D. C.; HARTUNG, J. S.; HUANG, Q.; DUAN, Y.P.; ZHOU, L. J.; CHEN, J. C.; LIN, H.; LOPES, S.; AYRES, A. J.; LEVY, L. Development and systematic validation of qPCR assays for rapid and reliable differentiation of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 92, n. 1, p.79-89, 2013.

MARCELETTI, S.; SCORTICHINI, M. Genome-wide comparison and taxonomic relatedness of multiple *Xylella fastidiosa* strains reveal the occurrence of three subspecies and a new *Xylella* species. **Archives of Microbiology**, v. 198, p. 803-812, 2016.

MARUCCI, R. C.; CAVICHIOLI, R. R.; ZUCCHI, R. A. Espécies de cigarrinhas (Hemiptera, Cicadellidae, Cicadellinae) em pomares de citros da região de

Bebedouro, SP, com descrição de uma espécie nova de *Acrogonia* Stål. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 46, n. 2, p. 149-164, 2002.

MINSAVAGE, G. V.; THOMPSON, C. M.; HOPKINS, D. L.; LEITE, R. M. V. B. C.; STALL, R. E. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. **Phytopathology**, v. 84, n. 5, p. 456-461, 1994.

MIZELL, R. F.; TIPPING, C.; ANDERSEN, P. C.; BRODBECK, B. V.; HUNTER, W. B.; NORTHFIELD, T. Behavioral model for *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae): optimization of host plant utilization and management implications. **Environmental Entomology**, v. 37, n. 5, p. 1049-1062, 2008.

MOLLENHAUER, H. H.; HOPKINS, D. L. Ultrastructural study of Pierce's disease bacterium in grape xylem tissue. **Journal of Bacteriology**, v. 119, p. 612-618, 1974.

MONTAGUE, T.; HELLMAN, E. W.; APPEL, D.; KRAWITZKY, M. Asexual propagation of grapevine transmits Pierce's disease pathogen (*Xylella fastidiosa*) to rooted cuttings. **International Journal of Fruit Science**, v. 16, n. 2, p. 135-149, 2016.

NASCIMENTO, R.; GOURAN, H.; CHAKRABORTY, S.; GILLESPIE, H. W.; ALMEIDA-SOUZA, H. O.; TU, A.; RAO, B. J.; FELDSTEIN, P. A.; BRUENING, G.; GOULART, L. R.; DANDEKAR, A. M. The type II secreted lipase / esterase LesA is a key virulence factor required for *Xylella fastidiosa* pathogenesis in grapevine. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-16, 2016.

NUNNEY, L.; YUAN, X. L.; BROMLEY, R.; HARTUNG, J.; MONTERO-ASTÚA, M.; MOREIRA, L.; ORTIZ, B.; STOUTHAMER, R. Population genomic analysis of a bacterial plant pathogen: novel insight into the origin of Pierce's disease of grapevine in the U.S. **PLoS ONE**, v. 5, n. 11, p. 1-9, 2010.

NUNNEY, L.; YUAN, X. L.; BROMLEY, R. E.; STOUTHAMER, R. Detecting genetic introgression: high levels of intersubspecific recombination found in *Xylella fastidiosa* in Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 13, p. 4702-4714, 2012.

PEARSON, R. C.; GOHEEN, A. C. **Compendium of Grape Diseases**. St Paul: APS Press, 1988. 93 p.

POOLER, M. R.; MYUNG, I. S.; BENTZ, J.; SHERALD, J.; HARTUNG, J. S. Detection of *Xylella fastidiosa* in potential insect vectors by immunomagnetic separation and nested polymerase chain reaction. **Letters in Applied Microbiology**, v. 25, n. 2, p.123-126, 1997.

PURCELL, A. H. Environmental therapy for Pierce's disease of grapevines. **Plant Disease**, v. 64, n. 4, p. 388-390, 1980.

PURCELL, A. H. Vector preference and inoculation efficiency as components of resistance to Pierce's disease in European grape cultivars. **Phytopathology**, v. 71, n. 4, p. 429-435, 1981.

PURCELL, A. H. Homopteran transmission of xylem-inhabiting bacteria. **Advances in Disease Vector Research**, v. 6, p. 243-266, 1989.

PURCELL, A. H.; SAUNDERS, S. Harvested grape clusters as inoculum for Pierce's disease. **Plant Disease**, v. 79, n. 2, p. 190-192, 1995.

PURCELL, A. H.; SAUNDERS, S.R. Glassy-winged sharpshooters expected to increase plant disease. **California Agriculture**, v. 3, n. 2, p. 26-27, 1999.

RINGENBERG, R.; LOPES, J. R. S.; MÜLLER, C.; AZEVEDO-FILHO, W. S. de; PARANHOS, B. A. J.; BOTTON, M. Survey of potential sharpshooter and spittlebug vectors of *Xylella fastidiosa* to grapevines at the São Francisco River Valley, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, p. 212-218, 2014.

SCHAAD, N. W.; POSTNIKOVA, E.; LACEY, G.; FATMI, M.; CHANG, C. J. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. **Systematic Applied Microbiology**, v. 27, p. 290-300, 2004a.

SCHAAD N. W.; POSTNIKOVA, E.; LACEY, G.; FATMI, M.; CHANG, C. J. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. [correction] *fastidiosa* [correction] subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. **Erratum in Systematic Applied Microbiology**, v. 27, n. 6, p. 763, 2004b.

SCHUENZEL, E. L.; SCALLY, M.; STOUTHAMER, R.; NUNNEY, L. A multigene phylogenetic study of clonal diversity and divergence in North American strains of the plant pathology pathogen *Xylella fastidiosa*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 3832-3839, 2005.

SHERALD, J. L.; LEI, J. D. Evaluation of a rapid ELISA test kit for detection of *Xylella fastidiosa* in landscape trees. **Plant Disease**, v. 75, n. 2, p. 200-203, 1991.

SU, CHIOU-CHU; CHANG, CHUNG-JAN; CHANG, CHE-MING; SHIH, HSIEN-TZUNG; TZENG, KUO-CHING; JAN, FUH-JYH; KAO, CHIN-WEN; DENG WEN-LING. Pierce's

disease of grapevines in Taiwan: isolation, cultivation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*. **Journal of Phytopathology**, v. 161, n. 6, p. 389-396, 2013.

TYSON, G. E.; STOJANOVIC, B. J.; KUKLINSKI, R. F.; DIVITTORIA, T. J.; SULLIVAN, M. L. Scanning electron microscopy of Pierce's disease bacterium in petiolar xylem of grape leaves. **Phytopathology**, v. 75, p. 264-269, 1985.

WELLS, J. M.; RAJU, B. C.; HUNG, H. Y.; WEISBURG, W. G.; MANDELCO-PAUL, L.; BRENNER, D. J. *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov.: Gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 37, n. 2, p.136-143, 1987.

YAMAMOTO, P. T.; ROBERTO, S. R.; PRIA JÚNIOR, W. D.; FELIPPE, M. R.; MIRANDA, V. S.; TEIXEIRA, D. C.; LOPES, J. R. S. Transmission of *Xylella fastidiosa* by *Acrogonia virescens* and *Homalodisca ignorata* (Hemiptera: Cicadellidae) to citrus plants. **Summa Phytopathologica**, v. 28, n. 2, p. 178-181, 2002.

YASEEN, T.; DRAGO, S.; VALENTINI, F.; ELBEAINO, T.; STAMPONE, G.; DIGIARO, M.; D'ONGHIA, A. M. On-site detection of *Xylella fastidiosa* in host plants and in "spy insects" using the real-time loop-mediated isothermal amplification method. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 54, n. 3, p. 488-496, 2015.

YONCE, C. E.; CHANG, C. J. Detection of xylem-limited bacteria from sharpshooter leafhoppers and their feeding hosts in peach environs monitored by culture isolations and ELISA techniques. **Environmental Entomology**, v. 16, n. 1, p. 68-71, 1987.

YUAN, X. L.; MORANO, L.; BROMLEY, R. SPRING-PEARSON, S.; STOUTHAMER, R.; NUNNEY, L. Multilocus sequence typing of *Xylella fastidiosa* causing Pierce's disease and oleander leaf scorch in the United States. **Phytopathology**, v. 100, n. 6, p. 601-611, 2010.

WEBSTER, R. K.; NATION, S. P. Report of the University of California Pierce's Disease Research and Emergency Response Task Force. UC Office of the President. 2000. 62 p.