

## Hoe gevaarlijk is *Xylella fastidiosa* voor Europa en voor Nederland?

Maria Bergsma-Vlami<sup>1</sup>  
& Bram de Hoop<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bacteriologie, Nationaal Referentie Centrum (NRC), NVWA

<sup>2</sup> Team Internationale Kennis Toezicht Externen, NVWA

### Samenvatting

*Xylella fastidiosa* wordt gezien als één van de meest schadelijke plantenpathogenen wereldwijd die kan voorkomen in meerdere plantensoorten. Deze ziekteverwekker heeft een quarantainestatus in de Europese Unie (EU) en was tot zeer recentelijk niet aanwezig in Europa. Hoewel er lang gedacht werd dat *X. fastidiosa* een exotisch pathogeen was, werd deze bacterie eind 2013 ontdekt in olijfbomen (Figuur 1) in Apulië, in de provincie Lecce in Italië. Naast de besmette olijfbomen zijn ook oleanders (Figuur 2) en amandebomen besmet bevonden. Het gedetecteerde genotype van *X. fastidiosa* in Italië, de zogenaamde CoDiRO-stam, wordt beschouwd als een genetische variant binnen de ondersoort *X. fastidiosa* subsp. *pauca* en is identiek aan een variant die eerder gevonden is op oleander in Costa Rica. Dit was de eerste uitbraak van *X. fastidiosa* binnen de EU. De uitbraak in Italië verspreidde zich langzaam gedurende 2014 en 2015. Alle zuidelijke EU lidstaten vreesden dat de stam CoDiRO in Apulië kon overgaan naar druif- en citrusgaarden. In de EU zijn daarom direct noodmaatregelen ingesteld vanaf begin 2014, specifiek gericht op het inperken en zo mogelijk uitroeien van deze ziekte in olijfgaarden in Italië. Helaas blijkt uitroeien van de bacterie in Lecce praktisch onmogelijk te zijn, gezien het grote areaal in Zuid Italië dat reeds besmet is en de weerstand van de lokale bevolking tegen rigoureuze maatregelen zoals kaalkap van olijfbomen in een straal van 100 m rond besmette bomen.

Op basis van deze noodmaatregelen zijn alle EU-lidstaten verplicht om jaarlijks een survey uit te voeren. Omdat de handel van planten voor opplant beschouwd wordt als de belangrijkste route voor de introductie van *X. fastidiosa* in nieuwe gebieden, heeft Nederland gekozen om surveys uit te voeren op geïmporteerde planten uit de risicogebieden, met name uit Centraal en Zuid Amerika. In het kader van de survey zijn de meest risicovol plantengenera geselecteerd en zijn meerdere monsters genomen (Tabel 1) bij een aantal bedrijven in Nederland. Op basis van onderzoek uitgevoerd door het NRC in de tweede helft van 2014, is *X. fastidiosa* aangetoond in *Coffea arabica*-sierplanten afkomstig uit Costa Rica en Honduras (Figuur 3). Gedurende 2014 en begin 2015 zijn meerdere partijen koffie-sierplanten afkomstig uit deze twee landen onderschept door Nederland maar ook

door andere lidstaten. Meerdere ondersoorten van *X. fastidiosa* werden in de *Coffea arabica*-planten gevonden in Nederland, in alle gevallen te herleiden tot import uit Costa Rica of Honduras. De aanwezigheid van deze *X. fastidiosa*-ondersoorten is recent bevestigd op *Coffea* sp.-planten geïmporteerd in Italië vanuit Costa Rica via Nederland.

Frankrijk heeft uitbraken vastgesteld in de zomer en herfst van 2015 in Corsica op *Polygala myrtifolia* (vleugeltjesbloem) (Figuur 4), een zeer gangbare perkplant in zuid Europa en daarnaast op heesters die algemeen voorkomen zoals *Spartium junceum* (Figuur 5) en *Cytisus racemosus*. De aantastingen worden veroorzaakt door *X. fastidiosa* subsp. *multiplex*, een ondersoort verschillend van de Apulische stam CoDiRO. Eind 2015 zijn ook *P. myrtifolia*-besmettingen vastgesteld in de omgeving van Nice. Mede naar aanleiding van deze vondsten in Frankrijk is op 17 december 2015 de EU-noodmaatregel (2015/789) aangepast. De belangrijkste aanpassing betreft een plantenspooortplicht, met ingang van 31 maart 2016, voor alle waardplanten die in de EU besmet zijn bevonden.

De recente uitbraken van *X. fastidiosa* in olijfbomen in Italië en in *Polygala myrtifolia* in Frankrijk vormen een significante wijziging in de geografische verspreiding van deze ziekte. *X. fastidiosa* wordt beschouwd als een opkomende bedreiging, niet alleen voor de EU-lidstaten in het warme zuiden maar voor Europa in zijn geheel. Een uitbraak van *X. fastidiosa* in Nederland lijkt niet waarschijnlijk. Toch is dit niet volledig uit te sluiten. Potentiële vector-insecten die *X. fastidiosa* kunnen overdragen zijn in Nederland aanwezig en actief in de warmere perioden van het jaar. Een gereede kans op een uitbraak in Nederland, indien besmet plantmateriaal wordt geïntroduceerd, bestaat juist gedurende deze periode. Dan kan *X. fastidiosa* een groot risico vormen vanwege de verstrekkende maatregelen die vanuit de EU vereist zijn. Bij een uitbraak van *X. fastidiosa* moeten alle waardplanten binnen 100 meter van de besmetting vernietigd worden. Daarnaast mag geen handel van planten gerealiseerd worden binnen een zone van 10 km tot 5 jaar na een uitbraak. Belangrijkste prioriteit voor de Nederlandse plantentelers en plantenhandelaren is het voorkomen van introductie van besmette planten. Het vrije verkeer van plantmateriaal in de EU maakt het extra belangrijk



*Figuur 1. Aantastingen van Xylella fastidiosa op olijfbomen, Apulië, oktober 2014 (Jeroen van de Bilt, NVWA).*

dat de teelt en handel in Nederland zelf meer inzet op preventie. De Nederlandse fyto-sanitaire autoriteiten worden niet geïnformeerd over dergelijk verkeer en kunnen hierdoor moeilijk gerichte controles uitvoeren.

### Inleiding

*Xylella fastidiosa* werd voor het eerst beschreven in 1987 in de Verenigde Staten (Wells *et al.*, 1987) als de ziekteverwekker van Pierce's Disease (PD) van *Vitis vinifera* (druif). Begin jaren '90, in Brazilië, werd *X. fastidiosa* geassocieerd met Citrus Variegated Chlorosis (CVC) op citrus. Op basis van de huidige kennis, is *X. fastidiosa* voornamelijk een soort van de Amerikaanse continenten (Almeida & Nunney, 2015). Meldingen uit Iran op amandel en druif (Amanifar *et al.*, 2014) en uit India op amandel (Jindal & Sharma, 1987) zijn bevestigd, maar genetische informatie ontbreekt. Sinds 2012 hebben verschillende Europese landen koffie-sierplanten vanuit Centraal en Zuid America onderschept (EPPO 2012; 2015a; 2015b; Bergsma *et al.*, 2015; Jacques *et al.*, 2016). Daarnaast vormen

de recente uitbraken van *X. fastidiosa* in olijfbomen in Italië (Saponari *et al.*, 2013; Loconsole *et al.*, 2014; Martelli *et al.*, 2016; EFSA, 2016b) en in *Polygala myrtifolia* in Frankrijk (EPPO, 2015c) een significante wijziging in de geografische verspreiding van deze ziekte.

Een belangrijk kenmerk van *X. fastidiosa* is de mogelijkheid van infectie zonder zichtbare symptomen in de plant. Dit kan van korte duur zijn, maar symptomen kunnen ook maanden of jaren afwezig zijn, of zelfs in het geheel niet zichtbaar worden zoals met *Coffea* sp.-planten is vastgesteld (Bergsma *et al.*, 2015). Dit fenomeen wordt latentie genoemd. Door de latente infecties ontstaat het risico dat *X. fastidiosa* volledig onopgemerkt kan worden geïntroduceerd in nieuwe gebieden. De belangrijkste route voor de introductie van *X. fastidiosa* in nieuwe gebieden is de handel van planten voor opplant. Toetsing van geïmporteerd plantmateriaal is een effectieve optie om de risico van introductie en verspreiding te verminderen (EFSA, 2015a; EU, 2015a).



Figuur 2. Aantastingen van *Xylella fastidiosa* op *Nerium oleander*, Apulië, oktober 2014 (Jeroen van de Bilt, NVWA).

*X. fastidiosa* kan voorkomen in meerdere plantensoorten en plantaardige producten (Purcell & Hopkins, 1996). Meer dan 300 plantensoorten worden vermeld (EFSA, 2015a; EFSA, 2016a) als potentiële waardplanten van *X. fastidiosa*. De meest uitgebreide lijst van waardplanten van *X. fastidiosa* in Europa wordt regelmatig bijgewerkt (EU, 2016) en is beschikbaar op [http://ec.europa.eu/food/plant/plant\\_health\\_biosecurity/legislation/emergency\\_measures/xylella-fastidiosa/susceptible\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/xylella-fastidiosa/susceptible_en.htm).

### EU-noodmaatregelen

*X. fastidiosa* is voor de EU al jarenlang een belangrijk quarantaine-organisme met bijbehorende wetgeving en dit geldt ook voor belangrijke vectoren (niet-Europese *Cicadellidae*), zoals *Carneiocephala fulgida* Nottingham, *Draeculacephala minerva* Ball en *Graphocephala atropunctata* Signoret (EU, 2000).

Vrijwel direct nadat de uitbraak in Italië bekend werd, heeft de Europese Commissie aanvullende noodmaatregelen ingesteld, inclusief een verbod van alle mogelijke planten voor opplant uit besmette gebieden in Italië (EU, 2014a). Nog niet eerder werd een dergelijk snel besluit genomen door de Commissie om verspreiding van plantenziekten tegen te gaan. Dit werd ingegeven door de volgende overwegingen: 'Gezien de aard van het organisme in kwestie zal het zich waarschijnlijk snel op grote schaal verspreiden. ... Zolang geen

specifiekere gegevens over waardplanten, vectoren, trajecten en risicobeperkende opties beschikbaar zijn, is het raadzaam verplaatsingen uit gebieden met mogelijk besmette planten te verbieden.' (EU, 2014a). Mede door dit besluit kwamen onderzoek en controles in een stroomversnelling en werd dit besluit vervangen door een nieuwe besluit (EU, 2014b). Dit besluit betekende een versoepeling. Medio 2014 was er meer duidelijkheid over de CoDiRO-stam die voorkomt in Italië en werd alleen de lijst met bekende waardplanten in Italië gereguleerd, te weten *Catharanthus* G. Don, *Nerium* L., *Olea* L., *Prunus* L., *Vinca* L., *Malva* L., *Portulaca* L., *Quercus* L. en *Sorghum* L. In de periode daarna zijn meerdere waardplanten vastgesteld voor de CoDiRO-stam en is de bijlage van het Commissiebesluit meerdere malen aangepast. In Italië wordt een nationale noodtoestand uitgeroepen en een nationale coördinator wordt verantwoordelijk voor de uitroeiing met inzet van onder meer politie en bosautoriteiten. Medio 2015 wordt echter duidelijk dat uitroeiing in de provincie Lecce (hak van Zuid Italië) niet langer als reëel wordt gezien door de Italiaanse autoriteiten. Tegelijk wordt de roep vanuit andere lidstaten groter om strengere maatregelen in te stellen voor plantmateriaal uit deze regio. Om die reden worden de maatregelen verder aangescherpt en verbreed (EU, 2015a; EU, 2015b). Zo wordt de handel van meer dan 200 plantgeslachten (planten voor opplant, met uitzondering van zaden) verboden vanuit de provincie Lecce en aanpalende uitbraken (met 10 km-zone). Deze lijst is gebaseerd op een risicobeoordeling van EFSA (EFSA, 2015a).



Figuur 3. Bladverschroeiingsverschijnselen veroorzaakt door *Xylella fastidiosa* op *Coffea arabica*-planten (Maria Bergsma-Vlami, NVWA).



Figuur 4. Bladverschroeiingsverschijnselen veroorzaakt door *Xylella fastidiosa* op *Polygala myrtifolia* (vleugeltjesbloem), Frankrijk, (Maria Bergsma-Vlami, NVWA).

In augustus 2015 wordt vervolgens de uitbraak van *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* vastgesteld op Corsica op perkplanten van *Polygala myrtifolia*, in particuliere tuinen en bij tuincentra. Deze planten zijn veelal jaren geleden geleverd vanuit Italiaanse kwekers. In Frankrijk gaan aanvankelijk alle alarmbellen af omdat men bevreesd is voor de CoDiRO-stam en de grote impact op olijfbomen, of erger, een andere *X. fastidiosa*-stam die mogelijk druivenplanten zou kunnen aantasten. Binnen twee weken stelt Frankrijk vast dat sprake is van een andere stam, waarbij olijf, druif en citrus vooralsnog niet bekend zijn als waardplant. Naar aanleiding hiervan is het laatste besluit van de Commissie wederom aangepast, om rekening te houden met verschillen in waardplantreeks van de *X. fastidiosa*-stammen in Frankrijk en Italië (EU, 2015c). Eind januari 2016 heeft Frankrijk 239 vondsten vastgesteld. Deze uitbraak bestaat meestal uit besmette *Polygala myrtifolia*-planten met enkele andere besmette planten van andere soorten in de omgeving. Uitbraken beperken zich tot Corsica (ruim 220) en een aantal rond Nice (zo'n 10). In Corsica zijn ook planten in de natuur besmet bevonden, onder meer *Spartium junceum* (Figuur 5), maar rond Nice beperken vondsten zich tot *Polygala myrtifolia*. Tot dusverre zijn er geen uitbraken in de buurt van belangrijke productie- of veredelingsbedrijven van uitgangsmateriaal.

De uitbraken in Frankrijk en Italië hebben gemeenschappelijk dat de exacte bron niet is vastgesteld en dat de besmetting al langere tijd aanwezig was, tenminste meerdere jaren en wellicht nog langer. Tegelijkertijd is duidelijk dat sprake is geweest van verschillende besmettingsbronnen voor Frankrijk en Italië.

### *Polygala myrtifolia*

In Zuid Europa is dit een zeer populaire perk- en patio plant, van origine afkomstig uit Zuid Afrika en al ruim 100 jaar bekend in Zuid Europa. *P. myrtifolia* is zeer populair bij particulieren en in openbaar groen, vanwege de lange bloeitijd. De plant sterft makkelijk af bij temperaturen onder 5 graden Celsius, maar heeft wel een winterperiode nodig onder 12 graden Celsius voor een goede bloei.

Frankrijk heeft een zeer uitgebreide traceringsuitgevoerd van de handel van *P. myrtifolia*. Jaarlijks worden zo'n 150.000 planten verhandeld, waarbij producenten vooral zijn gevestigd in Spanje, Italië en Frankrijk. Ook Nederlandse handelaren zijn betrokken bij deze handel.

### Biologie

Het geslacht *Xylella* bevat slechts een soort, *Xylella fastidiosa*, een bacterie die optimaal twee verschillende niches koloniseert, namelijk de xyleemvaten van planten en de voordarm van xyleem-voedende vectorinsecten (Chatterjee *et al.*, 2008). Het betreft een zeer traaggroeiende Gram-negatieve, strict aërobe, staafvormige bacterie met een optimale groei van 26-28 graden Celsius (Wells *et al.*, 1987). Na infectie van een plant koloniseert *X. fastidiosa* het houtvatweefsel (xyleem) van de bladeren, stengels en wortels (Aldrich *et al.*, 1992; Holland *et al.*, 2014). Deze endofyt (over)leeft in de houtvaten van de geïnfecteerde planten waar verstopping van de xyleemvaten wordt veroorzaakt door de formatie van biofilms (Chatterjee *et al.*, 2008). Verder wordt transport van water en nutriënten ernstig verstoord, waardoor plantdelen, en

uiteindelijk de hele plant, afsterft (EFSA, 2015a). De verdeling van de bacterie in de planten lijkt niet homogeen te zijn en ook het bacteriële inoculum na infectie van de waardplant lijkt niet stabiel te blijven gedurende het hele jaar (Hopkins, 1981; Purcell & Hopkins, 1996). *X. fastidiosa* is niet zaad-overdraagbaar (Coletta-Filho *et al.*, 2014; Cordeiro *et al.*, 2014). Ook lijkt mechanische overdracht minder waarschijnlijk te zijn (Krell *et al.*, 2007). *X. fastidiosa* kan verspreid worden met besmet plantmateriaal maar ook door verschillende xyleem-voedende vectorinsecten (Purcell, 1979). Transport van besmet plantmateriaal zorgt voor de verspreiding over grotere afstand en vectorinsecten voor verspreiding over kortere afstand.

### Vectoren

Onder natuurlijke omstandigheden wordt *X. fastidiosa* uitsluitend overgedragen door xyleem-voedende insecten (orde Hemiptera, suborde Homoptera), behorend tot de drie families van Aphrophoridae, Cercopidae (spuugbeestjes), Cicadellidae (cicaden, waaronder de xyleem-voedende onderfamilie Cicadellinae, en mogelijk Deltocephalinae) (Redak *et al.*, 2004). Alle xyleem-voedende insecten moeten worden beschouwd als potentiële vectoren van *X. fastidiosa* (Purcell, 1979), maar sommige soorten in Europa zijn meer waarschijnlijke kandidaten vanwege hun brede geografische verspreiding, algemeen voorkomen en hun waardplantspectrum. Met name de cicaden zijn zeer overvloedig in Europa. Over het algemeen kunnen cicaden niet ver vliegen op eigen kracht maar worden ze vaak megedragen door de wind en daarom kunnen ze over grote afstanden infecties van *X. fastidiosa* overbrengen (EFSA, 2013). Het spuugbeest *Philaenus spumarius* is de enige vector van *X. fastidiosa* die tot nu toe geïdentificeerd is in Europa (Saponari *et al.*, 2014). Op basis van experimenten uitgevoerd in Italië is de overdracht van de Apulische stam CoDiRO van plant naar plant m.b.v. *Philaenus spumarius* aangetoond. De bacterie kleeft aan de monddelen en kan op een volgende plant worden overgedragen bij de volgende voeding. Vectoren zorgen voor overdracht van *X. fastidiosa* op een permanente manier juist omdat:

1. in het insect geen latente periode nodig is tussen acquisitie en infectie (Hill & Purcell, 1995; Almeida *et al.*, 2005),
2. de bacterie het lichaam van het insect niet systemisch koloniseert, maar zich beperkt tot de monddelen,
3. eenmaal besmet, volwassen vectoren *X. fastidiosa* kunnen overdragen tijdens hun hele verdere leven (EFSA, 2015a).

Het is belangrijk om de overdracht en ecologie (incl. seizoensgebondenheid) van de potentiële vectoren goed op kaart te brengen, evenals hun waardplantvoorkeur. Dergelijke informatie kan nuttig zijn voor de bestrijding van vectoren en van *X. fastidiosa*. Daarnaast is er bepaalde onzekerheid over het overwinteringsgedrag van de verschillende potentiële vectoren in Europa. Op basis van literatuuronderzoek uitgevoerd door EFSA (EFSA, 2013) verwacht men dat de meeste potentiële vectoren in Nederland vermoedelijk overwinteren als ei. Omdat *X. fastidiosa* niet wordt overgedragen via het eistadium, zal *X. fastidiosa* zich in Nederland vermoedelijk minder snel verspreiden dan in Amerika omdat elk voorjaar vectorpopulaties opnieuw geïnfecteerd moeten raken om de bacterie over te kunnen dragen.

### Genetische variatie binnen de soort *Xylella fastidiosa*: ondersoorten

Slechts twee van de ondersoorten van *X. fastidiosa* zijn tot nu met geldige namen beschreven door de International Society of Plant Pathology Committee on the Taxonomy of Plant Pathogenic Bacteria (ISPP-CTPPB) (Bull *et al.*, 2012):

1. *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, de veroorzaker van de Pierce's Disease op druif, en
2. *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex*, de veroorzaker van leaf scorch in *Prunus* spp.

Daarnaast en op basis van een DNA:DNA hybridisatie-analyse, is er een derde geaccepteerde ondersoort van *X. fastidiosa* (Schaad *et al.*, 2004):

3. *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, de veroorzaker van de CVC op citrus en bladverschroeiing op *Coffea* spp.

Sinds 2004, zijn er aanvullende ondersoorten van *X. fastidiosa* voorgesteld op basis van Multi Locus Sequence Typing (MLST)-analyse (Sally *et al.*, 2005; Yuan *et al.*, 2010):

4. *Xylella fastidiosa* subsp. *sandyi*, de veroorzaker van bladverschroeiing op oleander (Schuenzel *et al.*, 2005)
5. *Xylella fastidiosa* subsp. *tashke*, de veroorzaker van ziekte op de siergewas *Chitalpa tashkentensis* (Randall *et al.*, 2009)
6. *Xylella fastidiosa* subsp. *morus*, de veroorzaker van ziekte op mulberry (Hernandez-Martinez *et al.*, 2007; Nunney *et al.*, 2014).

Een nieuwe genetische variant is recentelijk gevonden in Taiwan in *Pyrus* spp., maar moet waar-

schijnlijk worden geclassificeerd als een aparte soort (Su *et al.*, 2014).

Binnen de soort *X. fastidiosa* zijn er verschillende stammen (genotypen) die waardplant-gebonden zijn of een voorkeur hebben voor een bepaalde waardplant. Stammen uit druif zijn voor zo ver bekend niet ziekteverwekkend voor perzik en stammen uit perzik tot zover bekend, ook niet voor druif. Maar aan de andere kant zijn ook verschillende genotypen (stammen) binnen een ondersoort van *X. fastidiosa* in staat om verschillende waardplanten aan te tasten (Nunney *et al.*, 2013). Terwijl de biologie van de verschillende ondersoorten van *X. fastidiosa* hetzelfde is, zijn er grote verschillen in gewasspecificiteit tussen deze



*Figuur 5. Aantastingen van Xylella fastidiosa op Spartium junceum, Corsica, februari 2016 (Bram de Hoop, NVWA).*

ondersoorten. De waardplantgebondenheid van *X. fastidiosa*-stammen is zeer beperkt bestudeerd en lang niet volledig.

Een essentieel kenmerk van *X. fastidiosa* betreft de hogere frequentie van recombinitie van genetisch materiaal tussen stammen (Kung & Almeida, 2011; Nunney *et al.*, 2014; Jacques *et al.*, 2016). Dit is van bijzonder belang, omdat de Apulische stam en de stam van Corsica en Frankrijk genetisch verschillend zijn (verschillende ondersoorten). Het risico van recombinitie en de ontwikkeling van nieuwe genetische varianten van dit pathogeen is daardoor zeer waarschijnlijk indien beide stammen in hetzelfde gebied voorkomen. Daarom is het cruciaal om alle genetische veranderingen of recombinaties die binnen de populaties van *X. fastidiosa* op verschillende locaties in Europa ontstaan, nauwlettend in de gaten te houden.

### **Waardplanten van *Xylella fastidiosa*: een ziekteverwerker van vele gewassen**

*X. fastidiosa* heeft een zeer brede waardplantenreeks, die op dit moment bestaat uit planten behorend tot 69 families, 187 geslachten en meer dan 300 plantensoorten (EFSA, 2015a; EFSA, 2016a). Het is bekend dat niet alle geïnfecteerde planten symptomen vertonen en gevoelig zijn voor deze ziekteverwerker. Natuurlijke vegetatie kan een belangrijk besmettingsreservoir van *X. fastidiosa* zijn (Purcell & Saunders, 1999). Er is tot een bepaald niveau sprake van waardplant-specificiteit, maar de mechanismen van deze specificiteit zijn nog niet volledig bekend. De waardplantenreeksen van meerdere ondersoorten van *X. fastidiosa* kunnen overlappen.

### **Schade en ziektebeelden**

Er zijn verschillende ziektebeelden (symptomen) bekend die veroorzaakt kunnen worden door *X. fastidiosa*. Afhankelijk van de waardplant kan de ziekte zich daardoor op verschillende manieren openbaren. Omdat de bacterie een vaatweefselpathogeen is die het xyleem koloniseert en daarmee transport van water en oplosbare minerale voedingsstoffen blokkeert komt een infectie met *X. fastidiosa* in het algemeen tot uiting door verdorring, bladverschroeiing (leaf scorching), bladverwelking, en uiteindelijk afsterving van de geïnfecteerde planten.

Bij de bladverschroeiing vindt een bruinverkleuring van bladranden (Figuur 3) en van uiteinden van bladeren plaats. In een vroeg stadium van



Figuur 6. 'Crespera'-verschijnselen veroorzaakt door *Xylella fastidiosa* op *Coffea arabica* (Maria Bergsma-Vlami, NVWA).

infectie kan het blad lichte vergeling vertonen. Symptoombeoordeling geeft geen uitsluitsel over de gezondheidssituatie van planten bij doorvoer of handel. Onopvallende of jonge infecties kunnen onopgemerkt blijven. Specifiek op koffie veroorzaakt *X. fastidiosa*, naast de typische bladverschroeiing, de ziektebeelden 'crespera'. Symptomen van 'crespera' variëren van mild tot ernstig krullende bladranden, chlorose en misvorming van bladeren (Figuur 6) maar ook de ontwikkeling van asymmetrische bladeren (Montero-Astúa *et al.*, 2008). Aanwijzing voor de aanwezigheid van vector-insecten is een wittig poeder op de oppervlakten van de plant. Meer informatie over de verschillende ziektebeelden (symptomen) die

veroorzaakt kunnen worden door *X. fastidiosa* is te vinden in de datasheet *Xylella fastidiosa* (NVWA, 2014).

### Bestrijding

Bestrijding van *X. fastidiosa* in het open veld lijkt in veel gevallen praktisch onmogelijk te zijn. Gewasbeschermingsmiddelen tegen *X. fastidiosa* zijn niet beschikbaar. In Amerika vindt bestrijding van *X. fastidiosa* plaats door 1. het verwijderen van de bronnen van inoculum (bijvoorbeeld besmetten partijen worden vernietigd), 2. gebruik van gezond plantmateriaal en 3. de beheersing van de vectoren. Een vergelijkbare manier van bestrijding wordt nu uitgevoerd in Italië (EFSA, 2016c). Specifiek voor *Vitis* sp. is een standaardbehandeling met heet water (HWT) eerder voorgesteld (EFSA, 2015b). Toch is een volledige bestrijding na aantasting niet mogelijk omdat de aantaster endofytisch (binnen) in de plant aanwezig is. Het grootste risico op verdere verspreiding bestaat uit besmet plantmateriaal waarbij tevens vectoren aanwezig zijn op het plantmateriaal. De prioriteit voor de Nederlandse plantentelers en plantenhandelaren moet duidelijk gericht zijn op preventie. Dit betreft onder meer het nemen van gerichte bedrijfshygiënische maatregelen, een goede bestrijding van zuigende insecten en het uitsluitend handel voeren met betrouwbare partners en gerenommeerde bedrijven.

### Vondsten in Nederland

Op 6 oktober 2014 is *X. fastidiosa* aangetoond in vier planten afkomstig van één partij van 113 sierplanten *Coffea arabica* die in april 2014 zijn geïmporteerd uit Costa Rica. Hierbij moet worden opgemerkt dat in de meeste gevallen de bacterie symptomeloos aanwezig was. Naderhand zijn meerdere besmette zendingen *Coffea* sp. aangetroffen (Tabel 1), allen te herleiden tot Costa Rica of Honduras. Onderzoek door het NRC wees uit dat er meerdere ondersoorten van *X. fastidiosa* gedetecteerd konden worden. De aanwezigheid van meerdere ondersoorten van *X. fastidiosa* is recent bevestigd op *Coffea* sp.-planten geïmporteerd in Italië vanuit Costa Rica via Nederland (Loconsole *et al.*, 2016). Er waren geen aanwijzingen van mogelijke natuurlijke verspreiding in besmette zendingen *Coffea* sp. Zo konden geen vectoren worden vastgesteld en was sprake van een gesloten kasteelt. *X. fastidiosa* kon niet aangetoond worden in monsters van geïmporteerde planten die behoren tot de risicovolle plantengenera, anders dan *Coffea* sp., en afkomstig uit de risicogebieden (Tabel 1).



Kwekerijen en tuincentra	Andere inspecties
14x <i>Coffea</i> sp.	Import 2x <i>Brassica</i> sp.
1x <i>Areca</i> sp.	Import 1x <i>Codiaeum variegatum</i>
1x <i>Brunfelsia</i> sp.	Import 6x <i>Codiaeum variegatum</i>
3x <i>Cistus incanus</i>	Import 9x <i>Dracaena</i> sp.
2x <i>Citrus calamandino</i>	Import 2x <i>Erodium</i> sp.
1x <i>Elaeagnus x ebbingei</i>	Import 6x <i>Ficus</i> sp.
1x <i>Fatsia</i> sp.	Import 1x <i>Hedera</i> sp.
1x <i>Ficus</i> sp.	Import 2x <i>Hydrangea</i> sp.
1x <i>Mangifera indica</i>	Import 1x <i>Lavendula</i> sp.
12x <i>Nerium oleander</i>	Import 1x <i>Mangifera indica</i>
35x <i>Olea europea</i>	Import 1x <i>Nandina domestica</i>
4x <i>Polygala myrtifolia</i>	Import 7x <i>Phoenix roebelenii</i>
2x <i>Prunus avium</i>	Import 7x <i>Sansevieria trifasciata</i>
2x <i>Prunus domestica</i>	Import 5x <i>Schefflera arboricola</i>
1x <i>Prunus laurocerasus</i>	Import 2x <i>Veronica</i> sp.
3x <i>Prunus lusitanica</i>	Import 2x <i>Vinca</i> sp.
1x <i>Rosa</i> sp.	Import 6x <i>Yucca</i> sp.
4x <i>Rosmarinus officinalis</i>	Import 2x <i>Salvia nemorosa</i>
1x <i>Tillandsia usneoides</i>	Import 5x <i>Coffea</i> sp.
1x <i>Vitis vinifera</i>	Export 1x <i>Quercus subur</i>
	Export 3x <i>Rubus</i> sp

**Tabel 1: Lijst van plantensoorten geïnspecteerd in Nederland**

### Elektronenmicroscopie

Door middel van elektronenmicroscopie zijn de cellen van *X. fastidiosa* rechtstreeks in de bladsteel van geïnfecteerde *Coffea* sp.-bladeren gelocaliseerd (Figuur 7). Verdere karakterisering van *X. fastidiosa* uit de *Coffea* sp.-planten d.m.v. een Multilocus Sequence Analyse (MLSA) heeft drie verschillende genotypen aangetoond, namelijk twee genotypen van *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* en een derde genotype van *X. fastidiosa* subsp. *pauca*. De aanwezigheid van meerdere genotypen van *X. fastidiosa* is recent bevestigd op *Coffea* sp.-planten geïmporteerd in Italië vanuit Costa Rica via Nederland (Loconsole *et al.*, 2016).

### *Xylella fastidiosa* hoog op de agenda

Het onderwerp *X. fastidiosa* staat in Nederland hoog op de agenda. Binnen het topsector T&U-project (KV1509-030) wordt onderzoek verricht aan *X. fastidiosa*, namelijk een snellere diagnose voor grootschalige screening en waardplantonderzoek. Internationaal is dit onderwerp terug te vinden in twee EU Horizon 2020-projecten (www.ec.europa/research/horizon2020): 1) het POnTE-project en 2) een nieuw geformuleerde call voor 2016 SFS-09-2016 die op POnTE moet aansluiten, getiteld 'Spot on critical outbreak of pests: The case of *Xylella fastidiosa*'. Het gaat om een project met een looptijd van vier jaar en een totaalbudget van €5 M. De nieuwe call richt zicht op onder-



Figuur 7. Typische cellen van *Xylella fastidiosa* in twee houtvaten van de bladsteel van *Coffea arabica*-blad met bladverschroeiingsverschijnselen. Analyse uitgevoerd d.m.v. Transmission Electron Microscopy (TEM) bij het Wageningen Electron Microscopy Centre, WUR, in opdracht van NWWA (OS 2015330).

zoekselementen die complementair zijn met het POnTE-project.

Daarnaast zijn er binnen het EU-programma Eupresco twee relevante onderwerpen: een gericht op vectoren van bacteriële ziekteverwekkers en de andere op de ziekteverwekker *X. fastidiosa* zelf. Onderzoek naar genetische variatie en epidemiologische aspecten worden genoemd binnen dit project. Naast het ontwikkelen van betrouwbare en snelle protocollen voor het aantonen van *X. fastidiosa* in plant en in vector, is kennis van de biologie van het pathogeen, van de vector en van de waardplanten cruciaal.

### Referenties

- Aldrich JH, Gould AB & Martin FG 1992. Distribution of *Xylella fastidiosa* within roots of peach. *Plant Disease* 76: 885-888.
- Almeida RPP & Nunney L 2015. How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? *Plant Disease* 99: 1457-1467.
- Almeida RPP, Blua MJ, Lopes JR & Purcell AH 2005. Vector transmission of *Xylella fastidiosa*: applying fundamental knowledge to generate disease management strategies. *Annals of the Entomological Society of America* 98: 775-786.
- Amanifar N, Taghavi M, Izadpanah K & Babaei G 2014. Isolation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa* from grapevine and almond in Iran. *Phytopathologia Mediterranea* 53: 318-327.
- Bergsma-Vlami M, Bilt van de JLJ, Tjou-Tam-Sin NNA, Vos-

- senberg van de BTLH & Westenberg M 2015. *Xylella fastidiosa* in *Coffea arabica* ornamental plants imported from Costa Rica and Honduras in the Netherlands. *Journal of Plant Pathology* 97: 395.
- Bull CT, De Voer SH, Denny TP, Firrao G, Fischer-Le Saux M, Saddler GS, Scortichini M, Stead DE & Takikawa Y 2012. List of new names of plant pathogenic bacteria (2008–2010). *Journal of Plant Pathology* 94: 21–27.
- Chatterjee S, Almeida RPP & Lindow S 2008. Living in two Worlds: The plant and insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. *Annual Review of Phytopathology* 46: 243-271.
- Coletta-Filho HD, Alves Carvalho S, Carvalho Silva LF & Machado MA 2014. Seven years of negative detection results confirm that *Xylella fastidiosa*, the causal agent of CVC, is not transmitted from seeds to seedlings. *European Journal of Plant Pathology* 139(3): 593-596.
- Cordeiro AB, Sugahara VH, Stein B & Leite Junior RP 2014. Evaluation by PCR of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* transmission through citrus seeds with special emphasis on lemons (*Citrus limon* (L.) Burm. F). *Crop Protection* 62: 86-92.
- EFSA 2013. Statement of EFSA on host plants, entry and spread pathways and risk reduction options for *Xylella fastidiosa* Wells et al. *EFSA Journal* 11(11), 3468.
- EFSA 2015a. 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* 2015; 13(1):3989, 262 pp., doi:10.2903/j.efsa.2015.3989.
- EFSA 2015b. Scientific opinion on hot water treatment of *Vitis* sp. for *Xylella fastidiosa*. 13(9):4225, 10 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4225.
- EFSA 2016a. Scientific report on the update of a database of host plants of *Xylella fastidiosa*: 20 November 2015. *EFSA Journal* 2016; 14(2):4378, 40 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4378.
- EFSA 2016b. Pilot project on *Xylella fastidiosa* to reduce risk assessment uncertainties. Maria Saponari, Donato Boscia, Giuseppe Altamura, Giusy D'Attoma, Vincenzo Cavalieri, Giuliana Loconsole, Stefania Zicca, Crescenza Dongiovanni, Francesco Palmisano, Leonardo Susca, Massimiliano Morelli, Oriana Potere, Antonia Saponari, Giulio Fumarola, Michele Di Carolo, Danilo Tavano, Vito Savino, Giovanni P. Martelli, 2016. EN-1013. 60 pp.
- EFSA 2016c. Statement on treatment solutions to cure *Xylella fastidiosa* diseased plants. 14(4):4456, 12 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4456.
- EPPO 2012. EPPO Reporting Service 2012/165 *Xylella fastidiosa* detected in a containment facility in France <https://gd.eppo.int/reporting/article-2371>.
- EPPO 2015a. EPPO Reporting Service 2015/144 and 2015/161 *Xylella fastidiosa* detected in *Coffea* spp. plants imported into the Netherlands.
- EPPO 2015b. EPPO Reporting Service 2015/181 *Xylella fastidiosa* detected in *Coffea* spp. plants imported into Switzerland. <https://gd.eppo.int/reporting/article-5128>.
- EPPO 2015c. EPPO Reporting Service 2015/180 *Xylella fastidiosa* detected in in Alpes-Maritimes, mainland France. <https://gd.eppo.int/reporting/article-5128>.
- EU 2000. Annex IAI, b-1. Richtlijn 2000/29/EG van de Raad, van 8 mei 2000. betreffende de beschermende maatregelen tegen het binnenbrengen en de verspreiding in de Gemeenschap van voor planten en voor plantaardige producten schadelijke organismen (PB L 169 van 10.7.2000, blz. 1).
- EU 2014a. Uitvoeringsbesluit van de Commissie van 13 februari 2014 betreffende maatregelen ter preventie van de verspreiding in de Unie van *Xylella fastidiosa* (Well et Raju) (Kennisgeving geschied onder nummer C(2014) 726) (2014/87/EU).
- EU 2014b. Uitvoeringsbesluit van de Commissie van 23 juli 2014 betreffende maatregelen om het binnenbrengen en de verspreiding in de Unie van *Xylella fastidiosa* (Well et Raju) te voorkomen (Kennisgeving geschied onder nummer C(2014) 5082) (2014/497/EU).
- EU 2015a. Guidelines for the survey of *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) in the Union Territory.
- EU 2015b. Uitvoeringsbesluit (EU) 2015/789 van de Commissie van 18 mei 2015 betreffende maatregelen om het binnenbrengen en de verspreiding in de Unie van *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) te voorkomen (Kennisgeving geschied onder nummer C(2015) 3415).
- EU 2015c. Uitvoeringsbesluit (EU) 2015/2417 van de Commissie van 17 december 2015 tot wijziging van Uitvoeringsbesluit (EU) 2015/789 betreffende maatregelen om het binnenbrengen en de verspreiding in de Unie van *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) te voorkomen (Kennisgeving geschied onder nummer C(2015) 9191).
- EU 2016. Commission database of host plants found to be susceptible to *Xylella fastidiosa* in the Union territory available at [http://ec.europa.eu/food/plant/plant\\_health\\_biosecurity/legislation/emergency\\_measures/xylella-fastidiosa/susceptible\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/xylella-fastidiosa/susceptible_en.htm).
- Hernandez-Martinez R, de la Cerda KA, Costa HS, Cooksey DA & Wong FP 2007. Phylogenetic relationships of *Xylella fastidiosa* strains isolated from landscape ornamentals in Southern California. *Phytopathology* 97: 857-864.
- Hill BL & Purcell AH 1995. Acquisition and retention of *Xylella fastidiosa* by an efficient vector, *Graphocephala atropunctata*. *Phytopathology* 85: 209-212.
- Holland RM, Christiano RSC, Gamliel-Atinsky E & Scherm H 2014. Distribution of *Xylella fastidiosa* in blueberry stem and root sections in relation to disease severity in the field. *Plant Disease* 98: 443-447.
- Hopkins DL 1981. Seasonal concentration of Pierce's disease bacterium in grapevine stems, petioles, and leaf veins. *The American Phytopathological Society* 71: 415-418.
- Jacques MA, Denancé N, Legendre B, Morel E, Briand M, Mississippi S, Durand K, Olivier V, Portier P, Poliakov F & Crousillat D 2016. New coffee plant-infecting *Xylella fastidiosa* variants derived via homologous recombination. *Applied Environmental Microbiology* 82(5):1556-1568.
- Jindal KK & Sharma RC 1987. Outbreaks and new records. Almond leaf scorch-a new disease from India. *FAO Plant Protection Bulletin* 35(2):64-65.
- Krell RK, Boyd EA, Nay JE, Park YL & Perring TM 2007. Mechanical and Insect Transmission of *Xylella fastidiosa* to *Vitis vinifera*. *American Journal of Enology and Viticulture* 58: 211-216.
- Kung SH & Almeida RPP 2011. Natural competence and recombination in the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Applied and*

- Environmental Microbiology 77: 5278–5284.
- Loconsole G, Potere O, Boscia D, Altamura G, Djelouah K, Elbeaino T, Frasheri D, Lorusso D, Palmisano F, Pollastro P, Silletti MR, Trisciuzzi N, Valentini F, Savino V & Saponari M 2014. Detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees by molecular and serological methods. *Journal of Plant Pathology* 96: 7–14.
- Loconsole G, Saponari M, Boscia D, D'Attoma G, Morelli M, Martelli GP & Almeida RPP 2016. Intercepted isolates of *Xylella fastidiosa* in Europe reveal novel genetic diversity. *European Journal of Plant Pathology*, in press, e-pub.: DOI 10.1007/s10658-016-0894-x.
- Martelli GP, Boscia D, Porcelli F & Saponari M 2016. The olive quick decline syndrome in south-east Italy: a threatening phytosanitary emergency. *European Journal of Plant Pathology* 144: 235–243.
- Montero-Astúa M, Chacon-Diaz C, Aguilar E, Rodriguez CM & Garita L 2008. Isolation and molecular characterization of *Xylella fastidiosa* from coffee plants in Costa Rica. *Journal of Microbiology* 46: 482–490.
- Nunney L, Vickermann DB, Bromley RE, Russell SA, Hartman JR, Morano LD & Stouthamer R 2013. Recent radiation and host plant specialization in *Xylella fastidiosa* native to the United States. *Applied and Environmental Microbiology* 79: 2189–2200.
- Nunney L, Schuenzel EL, Scally M, Bromley RE & Stouthamer R 2014. Large-scale intersubspecific recombination in the plant-pathogenic bacterium *Xylella fastidiosa* is associated with the host shift to mulberry. *Applied and Environmental Microbiology* 80: 3025–3033.
- NVWA, 2014. Datasheet *Xylella fastidiosa*.
- Purcell AH 1979. Leafhopper vectors of xylem-borne plant pathogens. Pages 603–625 in: *Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents*. K. Maramorosch and K. F. Harris, eds. Academic Press, New York.
- Purcell AH & Hopkins DL 1996. Fastidious xylem-limited bacterial plant pathogens. *Annual Reviews of Phytopathology* 34: 131–151.
- Purcell AH & Saunders SR, 1999. Fate of Pierce's disease strains of *Xylella fastidiosa* in common riparian plants in California. *Plant Disease* 83: 825–830.
- Randall JJ, Goldberg NP, Kemp JD, Radionenko M, French JM, Olsen MW & Hanson SF 2009. Genetic analysis of a novel *Xylella fastidiosa* subspecies found in the southwestern United States. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 5631–5638.
- Redak RA, Purcell AH, Lopes JRS, Blua MJ, Mizell III RF & Andersen PC 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Review of Entomology* 49: 243–270.
- Saponari M, Boscia D, Nigro F & Martelli GP 2013. Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (southern Italy). *Journal of Plant Pathology* 95: 668.
- Saponari M, Loconsole G, Cornara D, Yokomi RK, De Stradis A, Boscia D, Bosco D, Martelli GP, Krugner R & Porcelli F 2014. Infectivity and transmission of *Xylella fastidiosa* Salento strain by *Philaenus spumarius* L. (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. *Journal of Economic Entomology* 107: 1316–1319.
- Scally M, Schuenzel EL, Stouthamer R & Nunney L 2005. Multilocus sequence type system for the plant pathogen *Xylella fastidiosa* and relative contributions of recombination and point mutation to clonal diversity. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 8491–9.
- Schaad NW, Postnikova E, Lacy G, Fatmi MB & Chang CJ 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* [corrected], subsp. nov. *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov. and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. *Systematic Applied Microbiology* 27, 290–300. [Subsp. *piercei* corrected by subsp. *fastidiosa* in *Systematic Applied Microbiology* 27, 763].
- Schuenzel EL, 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*. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 3832–3839.
- Su CC, Deng WL, Jan FJ, Chang CJ, Huang H & Chen J 2014. Draft genome sequence of *Xylella fastidiosa* pear leaf scorch strain in Taiwan. *Genome Announcements* 2(2):e00166–14.
- Yuan X, Morano L, Bromley R, Spring-Pearson S, Stouthamer R & Nunney L 2010. Multilocus sequence typing of *Xylella fastidiosa* causing Pierce's disease and oleander leaf scorch in the United States. *Phytopathology* 100: 601–611.
- Wells JM, Raju BC, Hung HY, Weisburg WG, Mandelco-Paul L & Brenner DJ 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.