

Express Pest Risk Analysis for
“Citrus yellow vein clearing virus”
PRA area: Italy (Campania region)



Elaborato secondo lo standard EPPO PM 5/5 “Guidelines on Pest Risk Analysis”

Approvato dal Comitato fitosanitario nazionale nella seduta del 25/26 giugno 2024

Summary¹ of the Express Pest Risk Analysis for “<i>Citrus yellow vein clearing virus</i>”			
PRA area: <i>Italy (Campania region)</i>			
Describe the endangered area: <i>(see question 14) Possibile impatto economico in Campania e nelle altre regioni agrumicole italiane: Sicilia, Puglia, Calabria, Basilicata e Sardegna. Tali aree hanno tutte condizioni ambientali simili e favorevoli anche alla presenza dei vettori.</i>			
Main conclusions			
<p>Il rischio di ingresso in nuovi areali italiani e campani è moderato. Il rischio maggiore è rappresentato dallo spostamento degli insetti vettori viruliferi, mentre lo spostamento la movimentazione delle piante da impianto costituisce un rischio minore essendo sufficientemente garantita dall’attuale quadro normativo fitosanitario di riferimento. L’impatto economico, sociale e/o ambientale del possibile insediamento e diffusione di CYVCV nel territorio italiano è di difficile quantificazione, tenuto conto delle scarse informazioni scientifiche disponibili per gli ambienti del bacino del Mediterraneo. In Campania sono risultate sintomatiche e positive principalmente piante di <i>Citrus x limon</i> in giardini privati o piccoli agrumeti.</p> <p>Prime misure fitosanitarie vanno adottate andando a prevedere indagini approfondite da realizzarsi sul territorio campano. Rivestono carattere prioritario le indagini nell’area della costiera sorrentina e della costiera amalfitana, dove la coltura del limone ha maggiore rilevanza economica, sociale e ambientale. Tali misure fitosanitarie aiuteranno a individuare eventuali nuovi focolai in una fase precoce. Tali prime misure fitosanitarie andrebbero implementate anche in altre Regioni italiane e Paesi EPPO a vocazione agrumicola. Tenuto conto della potenziale capacità di diffusione del virus, dei danni limitati e riportati allo stato attuale solo su piante di limone, si ritiene che, probabilmente, i costi delle misure di eradicazione siano superiori ai danni economici che può subire la coltura del limone.</p> <p><i>Note: If the assessment shows that phytosanitary measures are not required for your country but there are indications that other EPPO countries are at higher risk, mention it.</i></p>			
Phytosanitary risk for the <u>endangered area</u> <i>(Individual ratings for likelihood of entry and establishment, and for magnitude of spread and impact are provided in the document)</i>	High <input type="checkbox"/>	Moderate <input checked="" type="checkbox"/>	Low <input type="checkbox"/>
Level of uncertainty of assessment <i>(see section 17 for the justification of the rating. Individual ratings of uncertainty of entry, establishment, spread and impact are provided in the document)</i>	High <input type="checkbox"/>	Moderate <input checked="" type="checkbox"/>	Low <input type="checkbox"/>
<p>Other recommendations:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Inform EPPO or IPPC or EU</i> • <i>Inform industry, other stakeholders</i> • <i>State whether a detailed PRA is needed to reduce level of uncertainty (if so, state which parts of the PRA should be focused on)</i> • <i>Specify if surveys are recommended to confirm the pest status</i> • <i>State what additional work/research could help making a decision</i> 			

¹ The summary should be elaborated once the analysis is completed

Express Pest Risk Analysis:
Citrus yellow vein clearing virus
(Pest name)

Prepared by: Anna Taglienti, Andrea Gentili, Luca Ferretti e Francesco Faggioli (CREA - Centro di Ricerca Difesa e Certificazione), Carmela Carbone, Valentina Murano e Raffaele Griffo (Servizio fitosanitario Regione Campania), Maria Minutolo, Maria Cinque e Daniela Alioto (Università di Napoli Federico II - Dipartimento di Agraria)

Date: 18 Giugno 2024

Stage 1. Initiation

Reason for performing the PRA: *(e.g. interceptions, outbreak)*

La presenza dell'organismo nocivo non è nota nel territorio della UE. Nel 2024, CYVCV è stato riscontrato in alcuni giardini privati e aziende dislocate in alcune aree della regione Campania (province di Napoli, Caserta e Salerno).

PRA area: Italy (Campania region)

Stage 2. Pest risk assessment

1. Taxonomy

- Regno viruses and viroids (1VIRUK)
- Category Riboviria (1RIBVD)
- Category Orthornavirae (1ORTVA)
- Phylum Kitrinoviricota (1KITVP)
- Class Alsuviricetes (1ALSVC)
- Order Tymovirales (1TYMOO)
- Family Alphaflexiviridae (1AFLXF)
- Genus Potexvirus (1POTXG)
- Subgenus Mandarivirus (1MANRG)
- Species Potexvirus citriflavivenae - Citrus yellow vein clearing virus (CSYV00)
- Synonym: Venatura gialla degli agrumi, citrus yellow vein agent

2. Pest overview

• *Biologia del virus:* Citrus yellow vein clearing virus (CYVCV, *Potexvirus citriflavivenae*) presenta caratteristiche strutturali e genomiche che lo assegnano al subgenere *Mandarivirus*. Le particelle virali hanno forma allungata e flessuosa e un genoma a singolo filamento di RNA della lunghezza di 7531 nt organizzato in 6 ORF.

CYVCV può essere trasmesso per innesto e tramite l'utilizzo di attrezzi contaminati e ciò può causare sia una trasmissione a lunga distanza del virus, tramite materiale di propagazione asintomatico, sia la sua diffusione in campo. Quest'ultima, tuttavia, risulta principalmente legata all'attività degli insetti vettori. Il virus è stato di frequente rilevato nei tessuti dei semi ma, al momento, non ci sono prove conclusive che dimostrino che i semi contaminati dal virus possano trasmettere CYVCV (Zhou et al., 2015).

All'interno delle piante ospiti il virus si trova maggiormente concentrato nei tessuti floematici.

• *Piante ospiti:* Nell'area del PRA sono state individuate piante positive e sintomatiche di limone e piante positive ma asintomatiche di arancio dolce.

In bibliografia è riportato che il virus è in grado di infettare molte specie del genere *Citrus*, causando sintomi evidenti su limone e arancio amaro. Recentemente è stato individuato un caso di infezione naturale in *Vitis vinifera* in Turchia. Successivamente, inoculazioni sperimentali sullo stesso ospite hanno rilevato sintomi severi anche su vite, quali raccorciamento degli internodi, clorosi e necrosi fogliare e ridotto sviluppo fogliare. I seguenti ospiti erbacei sono inoltre riportati in letteratura: *Malva sylvestris*, *Ranunculus arvensis*, *Sinapis arvensis* e *Solanum nigrum*.

- **Sintomi:** Le piante di limone individuate nell'area del PRA presentavano schiarimento nervale fogliare. I sintomi da CYVCV si manifestano principalmente su limone e arancio amaro. Le foglie mostrano nervature gialle a volte idropiche e possono apparire deformi; occasionalmente, possono presentare macule anulari e necrosi delle nervature. I sintomi appaiono meno pronunciati in estate (Liu et al., 2020). Nei casi più gravi, gli alberi infetti mostrano sintomi di deperimento e riduzione della quantità e qualità dei frutti. CYVCV può causare anche deformazioni dei frutti. Nella maggior parte delle varietà di arancio dolce, pomelo e mandarino, CYVCV è latente e quindi non causa sintomi. In generale, i sintomi possono variare a seconda delle varietà, del genotipo, dei ceppi virali e delle condizioni ambientali.

- **Individuazione e identificazione:** in letteratura sono descritti sia metodi di diagnosi molecolari sia sierologici, quest'ultimi basati su tecnica ELISA oppure, *in situ*, sull'utilizzo di immunostrip. Al momento, tuttavia, non esistono metodi diagnostici validati.

La diagnosi del virus nei campioni prelevati nell'area del PRA è stata eseguita estraendo gli acidi nucleici totali a partire dai tessuti fogliari e amplificando l'RNA tramite RT-PCR utilizzando le coppie di primer CYVCV-F/CYVCV-R (Chen et al., 2014) e CYVR-07F/CYVR-07R (Meena et al., 2019). L'analisi BLAST della sequenza di un amplicone ottenuto da una pianta di limone con la coppia di primer CYVCV-F/CYVCV-R ha confermato l'identità del virus.

3. Is the pest a vector? Yes No

4. Is a vector needed for pest entry or spread? Yes No

Vettori noti di CYVCV sono *Aphis aurantii* (TOXOAU), *Aphis gossypii* (APHIGO), *Aphis spiraecola* (APHISI), *Dialeurodes citri* (DIALCI), che sono presenti nell'area del PRA. *A. craccivora* (APHICR) è inoltre riportato, in condizione sperimentali, come vettore del virus da *Citrus* spp. a legumi.

5. Regulatory status of the pest

Il virus è incluso nella Alert List dell'EPPO.

6. Distribution

Continent	Distribution (list countries, or provide a general indication, e.g. present in West Africa)	Provide comments on the pest status in the different countries where it occurs e.g. widespread, native, introduced....)	Reference
Africa	Assente		EPPO database
America	USA (California)	Restricted distribution	EPPO database
Asia	Cina (9 Province), India (3 Stati), Pakistan,	India: restricted distribution	EPPO database
Europe	Turchia	Eradicated pest, no longer present	EPPO database
Oceania	Assente		EPPO database

7. Host plants /habitats* and their distribution in the PRA area

Host Scientific name (common name) / habitats*	Presence in PRA area (Yes/No)	Comments (e.g. total area, major/minor crop in the PRA area, major/minor habitats*)	Reference
Gen. <i>Citrus</i>	Yes	Major host (<i>Citrus x aurantium</i> , <i>Citrus x limon</i>), host (other <i>Citrus</i> spp.)	EPPO database
<i>Fortunella</i> sp.	Yes	Host	
<i>Vitis vinifera</i> (vite)	Yes	Host	
<i>Phaseolus vulgaris</i> (fagiolo)	Yes	Experimental host	
<i>Vigna unguiculata</i> (fagiolo dall'occhio)	Yes	Experimental host	
<i>Malva sylvestris</i> (malva selvatica)	Yes	Wild host	
<i>Ranunculus arvensis</i> (ranuncolo)	Yes	Wild host	
<i>Sinapis arvensis</i> (senape selvatica)	Yes	Wild host	
<i>Solanum nigrum</i> (morella)	Yes	Wild host	

8. Pathways for entry

Possible pathways (in order of importance)	Short description explaining why it is considered as a pathway	Pathway prohibited in the PRA area? Yes/No	Pest already intercepted on the pathway? Yes/No
Plants for planting (except seeds, bulbs and tubers) with or without soil attached	La trasmissione è dimostrata tramite materiale di propagazione	No	No
Natural spread, hitchiking	La trasmissione è dimostrata tramite insetti vettori presenti nell'area del PRA	No	No

Rating of the likelihood of entry	Low <input type="checkbox"/>	Moderate X	High <input type="checkbox"/>
Rating of uncertainty	Low <input type="checkbox"/>	Moderate X	High <input type="checkbox"/>

9. Likelihood of establishment outdoors in the PRA area

L'organismo nocivo è considerato capace di insediarsi nella maggior parte del territorio italiano, ove sono diffuse diverse piante ospiti e sono presenti i vettori (*Aphis spiraecola*, *A. craccivora*, *A. aurantii*, *A. gossypii* e *Dialeurodes citri*). I fattori ambientali di gran parte dei territori italiani, e in particolare di quelli a vocazione agrumicola, sono, dunque, potenzialmente favorevoli all'insediamento dell'organismo nocivo in questione. Tuttavia, occorre considerare che la trasmissione a lunga distanza è legata principalmente al materiale di propagazione la cui produzione e movimentazione sul territorio sono già soggette a misure fitosanitarie. Inoltre, il controllo degli afidi vettori, in particolare nelle aree agrumicole, viene già largamente attuato per contrastare la diffusione di altri rilevanti organismi nocivi degli agrumi quali, ad esempio, il citrus tristeza virus (CTV). Tutto ciò contribuisce a mitigare il rischio di un insediamento dell'organismo.

<i>Rating of the likelihood of establishment outdoors</i>	Low <input type="checkbox"/>	Moderate X	High <input type="checkbox"/>
<i>Rating of uncertainty</i>	Low <input type="checkbox"/>	Moderate <input type="checkbox"/>	High X

10. Likelihood of establishment in protected conditions in the PRA area

<i>Rating of the likelihood of establishment in protected conditions</i>	Low <input type="checkbox"/>	Moderate X	High <input type="checkbox"/>
<i>Rating of uncertainty</i>	Low X	Moderate <input type="checkbox"/>	High <input type="checkbox"/>

11. Spread in the PRA area

- Natural spread: voli e dispersione con il vento di insetti vettori.
- Human assisted spread: movimentazione di piante, materiale di propagazione e portinnesti, attrezzi contaminati.

L'organismo nocivo è associato a molte specie del genere *Citrus* ed è trasmesso da vettori presenti nel territorio italiano. <https://gd.eppo.int/taxon/CSYV00/hosts>. In condizioni sperimentali, il tasso di trasmissione di *Dialeurodes citri* su arancio amaro è del 39% circa dopo sei mesi dall'esposizione al vettore virulifero (Zhang et al., 2019).

Inoltre, CYVCV può diffondersi anche attraverso l'innesto e la movimentazione di materiale di propagazione e portinnesti infetti, oppure attraverso strumenti e attrezzature contaminati. Sebbene non esista alcun trattamento per CYVCV, al momento la migliore misura di mitigazione è controllare i vettori e disinfettare strumenti e attrezzature.

<i>Rating of the magnitude of spread</i>	Low <input type="checkbox"/>	Moderate X	High <input type="checkbox"/>
<i>Rating of uncertainty</i>	Low <input type="checkbox"/>	Moderate <input type="checkbox"/>	High X

12. Impact in the current area of distribution

I *Citrus* spp. sono piante economicamente importanti per il bacino del Mediterraneo, coltivate per la produzione di frutti e per scopi ornamentali. La malattia indotta da CYVCV può potenzialmente avere effetti negativi sulla produzione di agrumi, influenzando la vigoria delle piante e la commerciabilità dei frutti (Chen et al., 2014; Li et al., 2017). In caso di malattia severa, le piante vanno incontro a deperimento e le malformazioni dei frutti causano perdite quantitative che possono arrivare al 50-80% (Zhang et al., 2019). Il fatto che CYVCV sia stato rilevato in vite in Turchia può potenzialmente estendere il rischio anche a questa coltura.

L'insediamento e la diffusione di CYVCV nel territorio italiano avrebbero un impatto economico, sociale e/o ambientale di difficile quantificazione. Alla data di redazione del presente documento sono risultate sintomatiche principalmente piante di *Citrus x limon*, coltura di rilevanza economica nell'area di attuale distribuzione del virus.

<i>Rating of the magnitude of impact in the current area of distribution</i>	Low <input type="checkbox"/>	Moderate X	High <input type="checkbox"/>
<i>Rating of uncertainty</i>	Low <input type="checkbox"/>	Moderate X	High <input type="checkbox"/>

13. Potential impact in the PRA area

Will impacts be largely the same as in the current area of distribution? Yes

If No

Rating of the magnitude of impact in the area of potential establishment	Low <input type="checkbox"/>	Moderate <input type="checkbox"/>	High <input type="checkbox"/>
Rating of uncertainty	Low <input type="checkbox"/>	Moderate <input type="checkbox"/>	High <input type="checkbox"/>

14. Identification of the endangered area

Possibile impatto economico nelle altre regioni agrumicole italiane: Sicilia, Puglia, Calabria, Basilicata e Sardegna

15. Overall assessment of risk

Il rischio di ingresso in nuovi areali italiani e campani è moderato. Il rischio maggiore è rappresentato dalla dispersione degli insetti vettori viruliferi, mentre lo spostamento delle piante da impianto dovrebbe essere sufficientemente garantito dall'attuale quadro normativo. Le probabilità di insediamento e la diffusione di CYVCV nel territorio italiano hanno un impatto economico, sociale e/o ambientale di difficile quantificazione, tenuto conto delle scarse informazioni scientifiche disponibili per gli ambienti del bacino del Mediterraneo. In Campania sono risultate sintomatiche e positive principalmente piante di *Citrus x limon* in giardini privati o piccoli agrumeti.

Prime misure fitosanitarie vanno adottate andando a prevedere indagini approfondite da realizzarsi sul territorio campano. Rivestono carattere prioritario le indagini nell'area della costiera sorrentina e della costiera amalfitana, dove la coltura del limone ha maggiore rilevanza economica, ambientale e sociale. Tali misure fitosanitarie aiuteranno a individuare eventuali nuovi focolai in una fase precoce. Tali prime misure fitosanitarie andrebbero implementate anche in altre Regioni italiane e altri Paesi EPPO a vocazione agrumicola.

Stage 3. Pest risk management

16. Phytosanitary measures

A seguito del rilevamento di CYVCV in Campania nel 2024 su diverse specie di agrumi in alcuni giardini e aziende in provincia di Napoli, Caserta e Salerno, si rende necessario adottare misure fitosanitarie inerenti al rafforzamento delle indagini sul territorio regionale in modo da capire la reale diffusione dell'organismo nocivo e poter meglio valutare le eventuali ulteriori misure fitosanitarie da adottare. Allo stesso tempo, anche gli altri Servizi fitosanitari italiani potenzialmente interessati dalla problematica dovrebbero predisporre gli opportuni controlli e comprendere quale sia l'effettiva diffusione del virus sul territorio italiano. Tenuto conto della potenziale capacità di diffusione del virus, dei danni limitati e riportati, allo stato attuale, solo su piante di limone, si ritiene che, probabilmente, i costi delle misure di eradicazione siano superiori ai costi dei danni alle colture del limone.

17. Uncertainty

La fonte di incertezza più rilevante nella valutazione del rischio in questo caso è considerata l'assenza del patogeno nei Paesi del bacino del Mediterraneo; dunque, le caratteristiche di insediamento e diffusione associate alle condizioni climatiche e ambientali italiane non possono essere dedotte a partire da dati provenienti da Paesi con condizioni simili.

La principale fonte di incertezza nella gestione del rischio associato a CYVCV è da ritenersi dovuta alla scarsa conoscenza della reale diffusione del virus nell'area del PRA. Per diminuire questa incertezza saranno necessari ulteriori monitoraggi sul territorio.

18. Remarks

Le misure fitosanitarie sopra esposte non si rendono necessarie per quelle regioni Italiane e Paesi dell'area EPPO non vocate all'agrumicoltura.

19. REFERENCES

- Afloukou, F.M. and Önelge, N. (2020), First report of natural infection of grapevine (*Vitis vinifera*) by citrus yellow vein clearing virus. *New Disease Reports*, 42: 5-5. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.042.005>
- H. M. Chen, Z. A. Li, X. F. Wang, Y. Zhou, K. Z. Tang, C. Y. Zhou, X. Y. Zhao, and J. Q. Yue (2014), First Report of Citrus yellow vein clearing virus on Lemon in Yunnan, China. *Plant Disease* 98:12, 1747-1747
- Li, X.-T., Su, H.-N., Tan, K.-G., Tong, X.-N. and Zhong, B.-L. (2017), Fruit Malformation of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Infected by Citrus Yellow Vein Clearing Virus. *J Phytopathol*, 165: 283-288. <https://doi.org/10.1111/jph.12560>
- Liu Cuihua, Hai Liu, John Hurst, Michael P Timko, Changyong Zhou, Recent Advances on Citrus yellow vein clearing virus in Citrus, *Horticultural Plant Journal*, Volume 6, Issue 4, 2020, Pages 216-222, ISSN 2468-0141, <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2020.05.001>
- Meena RP, Prabha K, Baranwal VK. (2020), Development of RT-PCR degenerate primers for the detection of two mandariviruses infecting citrus cultivars in India. *J Virol Methods*. 275:113753. doi: 10.1016/j.jviromet.2019.113753. Epub 2019 Oct 19. PMID: 31639373.
- Önelge N, Satar S, Elibüyük Ö, Bozan O, Kamberoğlu M (2011). Transmission studies on Citrus yellow vein clearing virus. *Proceedings of the 18th IOCV Conference, Brazil*, 11-14.
- Önelge, N., Satar, S., Elibüyük, Ö., & Bozan, O. (2011). Citrus yellow vein clearing virus: A new aphid-transmitted citrus virus. *Citrograph*, 1, 22-24.
- Önelge N, Bozan O , Gök-Güler P (2016). First report of citrus yellow vein clearing virus infecting new natural host plants in turkey. *Journal of Plant Pathology* 98(2):16. DOI:10.4454/JPP.V98I2.016
- Zhang, Y., Wang, Y., Wang, Q. et al. Identification of *Aphis spiraeicola* as a vector of Citrus yellow vein clearing virus. *Eur J Plant Pathol* 152, 841–844 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1523-7>
- Zhang, Y. H., Liu, C. H., Wang, Q., Wang, Y. L., Zhou, C. Y., & Zhou, Y. (2019). Identification of *Dialeurodes citri* as a vector of Citrus yellow vein clearing virus in China. *Plant disease*, 103(1), 65-68.
- Zhou, Y., Chen, H. M., Wang, X. F., Li, Z. A., Tang, M., & Zhou, C. Y. (2015). Lack of evidence for seed transmission of Citrus yellow vein clearing virus despite its frequent detection in seed tissues. *J. Plant Pathol*, 97, 1-3.

Appendix 1. Relevant illustrative pictures (for information)

Photo 1



Foto Prof.ssa D. Alioto

Photo 2



Foto Prof.ssa D. Alioto

