

## Express-PRA zu *Citrus yellow-vein associated virus*

## – Forschung und Züchtung –

Erstellt von: Julius Kühn-Institut, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit am: 16.01.2023. Zuständige Mitarbeiterin: Dr. Gritta Schrader

**Anlass:** Beantragung einer Express-PRA durch das Land Nordrhein-Westfalen aufgrund eines Antrags auf eine Ausnahmegenehmigung der Verbringung und Verwendung des Organismus zu Forschungs- und Züchtungszwecken.

Express-Risikoanalyse (PRA)	Citrus yellow-vein associated virus		
Phytopsanitäres Risiko für DE	hoch <input type="checkbox"/>	mittel <input type="checkbox"/>	niedrig <input checked="" type="checkbox"/>
Phytopsanitäres Risiko für EU-MS	hoch <input type="checkbox"/>	mittel <input type="checkbox"/>	niedrig <input checked="" type="checkbox"/>
Sicherheit der Einschätzung	hoch <input type="checkbox"/>	mittel <input checked="" type="checkbox"/>	niedrig <input type="checkbox"/>
<b>Fazit</b>	<p>Die Zitruskrankheit Citrus yellow vein disease (CYVD) wurde 1956 nur in Kalifornien (USA) an vier Eustis Limequat-Pflanzen festgestellt. Die Krankheit kommt in der EU noch nicht vor. Der Erreger, vorläufig als Citrus yellow-vein associated virus (CYVaV) benannt, wurde erst 2013 sequenziert. Er ist bisher weder in den Anhängen der VO (EU) 2019/2072 noch bei der EPPO gelistet.</p> <p>CYVaV kann <i>Citrus</i>-Arten befallen, zumindest unter experimentellen Bedingungen aber auch z.B. Papaya, Gurken, Melonen, Tomaten, Weinreben und <i>Nicotiana benthamiana</i>. Allerdings ist eine Übertragung von CYVaV auf andere Pflanzen extrem schwierig und findet unter natürlichen Bedingungen nicht statt. Die meisten infizierten Pflanzenarten sind symptomlos.</p> <p>Es ist anzunehmen, dass sich CYVaV aufgrund ungeeigneter Klimabedingungen in Deutschland im Freiland nicht ansiedeln kann, eine Ansiedlung in südeuropäischen EU-Mitgliedstaaten ist prinzipiell möglich. Insgesamt ist eine Ansiedlung aber sehr unwahrscheinlich, da sich die RNA nicht selbständig ausbreiten kann.</p> <p>Wegen seines geringen Schad- und Ausbreitungspotenzials stellt CYVaV kein phytopsanitäres Risiko für Deutschland und andere EU-Mitgliedstaaten dar.</p> <p>CYVaV wird daher nicht als Quarantäneschadorganismus eingestuft, Artikel 29 der VO (EU) 2016/2031 ist demnach nicht anzuwenden.</p> <p>Die Anwendung guter Laborpraxis ist dennoch wichtig, da es noch eine ganze Reihe offener Fragen gibt.</p>		

Express-Risikoanalyse (PRA)	Citrus yellow-vein associated virus
<b>Voraussetzungen für Express-PRA erfüllt?</b>	Könnte Schadorganismus sein, ist nicht gelistet, ist bisher im Dienstgebiet des meldenden PSD nicht etabliert.
<b>Taxonomie, Synonyme, Trivialname</b>	<p>Tombusviridae.</p> <p>Kwon et al. (2021) waren der Ansicht, dass es sich bei dem Erreger um unklassifizierte virenähnliche RNA aus der Gattung <i>Tombus</i> (tombus-like associated RNA, tlaRNA) handelt; nach Rücksprache mit Prof. Dr. Anne E. Simon (Universität Maryland, USA) handelt es sich aber eindeutig um eine Class 2 umbravirus-like associated RNA (ulaRNA; siehe auch Liu et al. 2021 und Liu, 2021), da diese RNA, wie alle Umbraviren, im Gegensatz zu den Tombusviren kein Hüllprotein besitzt; auch weist sie ein ribosomales Frameshifting auf, was sich bei Tombusviren bzw. tlaRNAs nicht findet.</p>
<b>EPPO Code</b>	CYVAV0
<b>Liegt bereits PRA mit übertragbaren Aussagen vor?</b>	Nein.
<b>Verbreitung und Biologie</b>	<p>CYVaV wurde in der Natur nur einmal nachgewiesen, und zwar 1956 in vier Limequat-Bäumen (Weathers, 1960; Liu, 2021). Bioindizierungsexperimente und RNA-Sequenz-Analyse zeigten, dass CYVaV in der Lage ist, systemische Gelbvenensymptome in Abwesenheit von Citrus vein enation virus (CVEV) oder anderen bekannten Zitrusviren oder Viroiden zu induzieren. Diese Ergebnisse stimmen mit den frühen Berichten über einen der vier ursprünglich mit CYVD diagnostizierten Limequat-Freilandbäumen überein, die offenbar frei von Citrus porosis virus und Citrus exocortis viroid (CEVd) zu sein schienen und nicht mit anderen bekannten Viren kontaminiert waren (Weathers, 1960, 1961). Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, dass CYVaV zu einem bestimmten Zeitpunkt mit einem anderen Zitrusvirus, wie z.B. CVEV, auf die Wirtspflanzen übertragen wurde, wobei CVEV als Helfervirus für die CYVaV-Einkapselung und nachfolgende Blattlausübertragung fungiert haben könnte (Da Graça und Maharaj, 1991; Clark und da Graça, 2000, zitiert in Kwon et al.; Liu, 2021), was zur ursprünglichen Infektion der Zitrusbäume mit CYVaV in Zitrusfrüchten geführt hat. CYVaV ist sehr hitzestabil, CVEV dagegen nicht, so dass CVEV möglicherweise durch Hitzeeinwirkung aus der Pflanze eliminiert wurde, während</p>

Express-Risikoanalyse (PRA)	Citrus yellow-vein associated virus
	CYVaV stabil blieb (Prof. Dr. Anne E. Simon, Universität Maryland, USA, pers. Mitteilung; Kwon et al., 2021).
<b>Kommen Wirtspflanzen im PRA-Gebiet vor? Wenn ja, welche?</b>	<p>Zu den für CYVaV anfälligen Zitrusarten gehören laut Weathers (1960) unter anderem Eustis Limequat (<i>Citrus aurantifolia</i> x <i>Fortunella japonica</i>), Limequat (<i>Citrus aurantiifolia</i> x <i>Fortunella margarita</i>; x <i>Citrofortunella floridana</i>), <i>Citrus jambhiri</i>, Calamondin (x <i>Citrofortunella microcarpa</i>), Orange (<i>Citrus sinensis</i>), Bitterorange (<i>Citrus aurantium</i>), Grapefruit (<i>Citrus paradisi</i>), Rangpur-Limette (<i>Citrus limonia</i>), Mandarine (<i>Citrus reticulata</i>), Tangelo-Sorten (<i>C. reticulata</i> x <i>Citrus paradisi</i>), Citrange (<i>C. sinensis</i> x <i>Citrus trifoliata</i>), Kumquat (<i>Fortunella japonica</i>); außer Eustis Limequat alle nur experimentell.</p> <p>In Deutschland kommen Zitrusarten in erster Linie als Zierpflanzen in Innenräumen oder temporär im Freiland vor.</p> <p>In südlichen EU-Mitgliedstaaten stellen sie einen wichtigen wirtschaftlichen Zweig dar.</p> <p>Weitere (experimentelle) Wirtspflanzen wie Tomaten (leichte Symptome, Blätter etwas anders geformt), Gurken, Paprika, Wein (keine Symptome) sind in den EU-Mitgliedstaaten weit verbreitet. <i>Nicotiana benthamiana</i> wird häufig für virologische und genetische Experimente als Modellpflanze verwendet. Diese Pflanze lässt sich gut per Agroinfiltration infizieren und zeigt starke Symptome. Die engverwandte Art <i>N. tobacco</i> hingegen zeigt keinerlei Symptome.</p>
<b>Benötigt Schadorganismus Vektor/weitere Pflanze für Wirtswechsel? Welche? Verbreitung?</b>	<p>Nein, und es gibt offenbar auch kein Helfer-Virus (mehr). Eine Übertragung der ulaRNA auf andere (Wirts-)pflanzen ist per Agroinfiltration möglich, so wie durch Pfropfen. Eine natürliche Ausbreitung erfolgt nicht. Die RNA besitzt keine Movement-Proteine, kann sich aber mit Hilfe von mobiler Polymerase in der Pflanze fortbewegen. Versuche ergaben, dass die ulaRNA nicht durch Blattläuse übertragen wird, obwohl sie sich im Pflanzensaft befindet, was sehr wahrscheinlich daran liegt, dass sie kein Hüllprotein besitzt (Prof. Dr. Anne E. Simon, Universität Maryland, USA, pers. Mitteilung).</p>
<b>Klima im Verbreitungsgebiet vergleichbar mit PRA-Gebiet?</b>	<p>Im bekannten Verbreitungsgebiet herrscht ein subtropisches Klima vor, wie auch in den Zitrus-Anbaugebieten in der EU.</p>
<b>Wenn nein, gibt es Wirtspflanzen im geschützten Anbau?</b>	<p>In klimatisch nicht geeigneten Gebieten finden sich Zitrus-Pflanzen in Gewächshäusern, botanischen Gärten (zumeist in Kübeln, um im Winter in Gewächshäusern untergebracht zu</p>

Express-Risikoanalyse (PRA)	Citrus yellow-vein associated virus
	werden), Innenräumen, werden aber nicht (kommerziell) angebaut.
Sind Schäden im PRA-Gebiet zu erwarten?	<p>Sehr wahrscheinlich nicht, da sich CYVaV nicht unter natürlichen Bedingungen ausbreitet und eine Übertragung durch menschliche Einwirkung nur mit bestimmten Verfahren möglich ist (Pfropfen, Agroinfiltration).</p> <p>Während CYVaV bei Limequat-Bäumen und Limetten (<i>Citrus x aurantiifolia</i>) ein sichtbares Venenvergilbungssymptom induziert, zeigten infizierte Citrangen, Grapefruits, Zitronen, <i>Citrus jambhiri</i>, Orangen, Bitterorangen und Tangelos nur milde Symptome. Die Pflanzen erholten sich anschließend wieder und waren dann nicht mehr in der Lage, CYVaV zu übertragen, wenn sie auf andere Pflanzen gepfropft wurden (Weathers, 1960, Liu, 2021).</p> <p>In Versuchen blieb die Dreiblattbitterorange (<i>Citrus trifoliata</i>) nach CYVaV-Infektion symptomfrei und war nicht in der Lage, CYVaV auf anfällige Zitrusarten zu übertragen, zeigte aber nach der Veredelung mit gleichzeitig mit CYVaV- und CVEV-infizierten Limettenpflanzen schwere Venenvergilbungssymptome. Darüber hinaus waren <i>C. trifoliata</i>-Pflanzen, die sowohl mit CYVaV als auch mit CVEV infiziert waren, in der Lage, CYVaV auf gesunde Limetten mittels Pfropfung zu übertragen (Weathers, 1960, 1961, Liu, 2021).</p>
Relevanz für den Ökolandbau	Grundsätzlich können Schadorganismen von z.B. <i>Citrus</i> Relevanz für den Ökolandbau in der EU haben. In diesem Fall ist aber aufgrund der geringen Übertragungswahrscheinlichkeit des Erregers mit keinem Risiko zu rechnen.
Bemerkungen	<p>In den USA laufen derzeit Versuche, CYVaV möglicherweise als Virus-induced gene-silencing (VIGS) Vektor einzusetzen, um verheerende Citrus-Krankheiten wie z.B. Citrus Greening (Candidatus Liberibacter asiaticus) besser bekämpfen zu können (siehe z.B. <a href="https://grantome.com/grant/NSF/IOS-1912025">https://grantome.com/grant/NSF/IOS-1912025</a>; <a href="https://cals.arizona.edu/spls/content/developing-novel-virus-agents-combat-viral-bacterial-and-other-pathogens-trees-prevent">https://cals.arizona.edu/spls/content/developing-novel-virus-agents-combat-viral-bacterial-and-other-pathogens-trees-prevent</a>).</p> <p>Gute allgemeine Laborpraxis ist anzuwenden, da es noch viele offene Fragen zu der ulaRNA gibt. Die Forschung in den USA findet in vom USDA anerkannten Laboren statt mit begrenztem Zutritt, verwendete Materialien werden nach</p>

Express-Risikoanalyse (PRA)	Citrus yellow-vein associated virus
	Beendigung der Versuche autoklaviert (Prof. Dr. Anne E. Simon, Universität Maryland, USA, pers. Mitteilung).
<b>Literatur</b>	<p>KWON, S. J., BODAGHI, S., DANG, T., GADHAVE, K. R., HO, T., OSMAN, F., AL RWAHNIH M., TZANETAKIS, I.E., SIMON, A.E., VIDALAKIS, G. (2021): Complete Nucleotide Sequence, Genome Organization, and Comparative Genomic Analyses of Citrus Yellow-Vein Associated Virus (CYVaV). <i>Frontiers in microbiology</i>, 1371.</p> <p>LIU, J. (2021): Translation and Movement of an infectious umbravirus-like RNA – Citrus yellow vein associated virus. Doktorarbeit, 199 S. Online verfügbar: <a href="https://drum.lib.umd.edu/handle/1903/28424">https://drum.lib.umd.edu/handle/1903/28424</a>. Aufgerufen am 6. Januar 2023.</p> <p>LIU, J., CARINO, E., BERA, S., GAO, F., MAY, J. P., SIMON, A. E. (2021): Structural analysis and whole genome mapping of a new type of plant virus subviral RNA: umbravirus-like associated RNAs. <i>Viruses</i>, 13(4), 646.</p> <p>WEATHERS, L. G. (1960): Yellow-vein disease of citrus and studies of interactions between yellow-vein and other viruses of citrus. <i>Virology</i>, 11(4), 753-764.</p> <p>WEATHERS, L. G. (1961): Responses of citrus to concurrent infection with two or more unrelated viruses. In <i>International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010) (Vol. 2, No. 2)</i>.</p>