CC BY

Short Scientific article

Identification of the citrus yellow vein clearing viral disease in Fars Province

MOHAMMAD MEHDI FAGHIHI[1], MOHAMMAD SALEHI[2], NAZANIN SADAT EBADI✉[3]

1, 2, 3✉: Plant Protection Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Zarghan, Iran.

Abstract

Citrus yellow vein clearing virus (CYVCV) is an emerging citrus pathogen that has spread to several countries, including north of Iran, over the past two decades. During 2023, the typical symptoms of the citrus yellow vein clearing disease including stunted growth, and vein clearing preceded by a water-soaked appearance on the lateral veins of the abaxial leaf surface was observed in sour orange trees in an urban area in Shiraz (Fars Province). To detect the virus, reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was conducted using a specific primer pair targeting the coat protein (CP) gene. An approximately 610 bp fragment of the coat protein gene was amplified from symptomatic sour orange samples but not from the samples of healthy trees. Sequencing of one PCR product and a BLASTn search of the resulting sequence against the GenBank (NCBI) database revealed the highest identity to sequences of *Citrus yellow vein clearing virus* isolates. This is the first report of the occurrence of citrus yellow vein clearing disease in Fars Province. The virus may be present in other parts of southern Iran, which calls for expanded diagnostic screening and monitoring.

Key words: Citrus, *Mandarivirus*, RT-PCR, Shiraz

مقاله پژوهشی کوتاه

شناسایی بیماری ویروسی رگبرگ روشنی زرد مرکبات در استان فارس

محمد مهدی فقیهی[۱]، محمد صالحی[۲]، نازنین سادات عبادی[۳]✉

۱- عضوهیئت علمی بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زرقان، ایران

۲- عضوهیئت علمی بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زرقان، ایران

۳- کارشناس تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زرقان، ایران

چکیده

ویروس رگبرگ روشنی زرد مرکبات (*Citrus yellow vein clearing virus*, CYVCV) یکی از بیمارگرهای نوظهور در مرکبات است که در دو دهه اخیر در برخی از کشورهای دنیا و از جمله شمال ایران گسترش یافته است. طی سال ۱۴۰۲ علایم مشخص بیماری رگبرگ روشنی زرد مرکبات شامل کاهش رشد درخت همراه با رگبرگ روشنی و آبسوختگی نواحی رگبرگ‌های پشت برگ در تعدادی از درختان نارنج فضای سبز شهر شیراز مشاهده شد. آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با نسخه‌برداری معکوس (RT-PCR) با استفاده از RNA استخراج شده از برگ‌های دارای علایم با آغازگرهای اختصاصی ژن پروتئین پوششی ویروس مذکور منجر به تکثیر قطعه‌ای در حدود ۶۱۰ جفت‌باز در این نمونه‌ها شد. تحت همین شرایط در درختان بدون علایم چنین قطعه‌ای تکثیر نشد. تعیین توالی نوکلئوتیدی یکی از محصولات تکثیر یافته در RT-PCR و جستجو با برنامه بلاست در ژن‌بانک نشان داد که این توالی با توالی‌های متناظر آن در سایر جدایه‌های ویروس CYVCV بیشترین شباهت را دارد. این اولین گزارش از وقوع بیماری رگبرگ روشنی زرد مرکبات در استان فارس است. وجود این بیماری در درختان مرکبات سایر نقاط جنوب کشور قابل انتظار است.

واژه‌های **کلیدی**: شیراز، مرکبات، *Mandarivirus*، RT-PCR

مقدمه

ویروس رگبرگ روشنی زرد مرکبات (*Citrus yellow vein clearing virus,* CYVCV) یکی از بیمارگرهای ویروسی مهم مرکبات محسوب می‌شود که در سال‌های اخیر در تعدادی از کشورهای دنیا، از جمله ایران، گزارش شده است. این ویروس نگرانی‌هایی را در تجارت بین المللی مرکبات و همچنین در جابه‌جایی قلمه‌ها، پیوندک‌ها و مواد تکثیری گیاهی ایجاد کرده است (Liu et al., 2020). علایم ناشی از این ویروس بسته به نوع میزبان و شرایط محیطی می تواند به صورت کوتولگی و کاهش رشد و عملکرد، زردی و روشنی رگبرگ‌ها و آبسوختگی در نقطه مقابل آن در پشت برگ، چروکیدگی و بدشکلی برگ و بافت مردگی در رگبرگ ها باشد. نارنج (*C. aurantium*) و لمون (*Citrus lemon*) علایم ویروس را به‌خوبی نشان می‌دهند در حالی که بسیاری از مرکبات ممکن است آلوده و بدون علایم باشند یا علایم کمتری را نشان بدهند. تاکنون روش موثر و قطعی برای درمان این بیماری وجود ندارد و با توجه به وجود ناقلین طبیعی به‌طور معمول در باغ‌های مرکبات، بیماری می‌تواند به‌راحتی در شرایط طبیعی نیز گسترش پیدا کند. علاوه بر این، ویروس در برخی از گیاهان زراعی و علف‌های هرز نیز ممکن است پایدار باقی بماند (Onelge et al., 2016).

CYVCV عضوی از خانواده *Alphaflexiviridae* و از جنس *Mandarivirus* و دارای پیکره‌های خمش‌پذیر و RNA تک‌رشته‌ای است. این ویروس با ویروس لکه حلقوی هندی مرکبات (*Indian citrus ringspot virus*) که ویروسی دیگر از جنس *Mandarivirus* است، در توالی ژنوم حدود ۷٤ درصد تشابه دارد (Meena et al., 2019). پروتئین پوششی CYVCV به عنوان یک سرکوب‌گر خاموشی ژن در گیاه عمل می‌کند و در شدت علایم در میزبان موثر است (Ur Rehman et al., 2019).

CYVCV می‌تواند از طریق پیوند و با ابزارآلات به‌صورت مکانیکی منتقل شود. انتقال این ویروس در طبیعت با چندین گونه شته مانند شته سبز مرکبات (*Aphis spiraecola*)، شته جالیز (*A. gossypii*)، شته سیاه مرکبات (*Toxoptera aurantii*)، شته سیاه یونجه (*A. craccivora*) و سفیدبالک مرکبات (*Dialeurodes citri*) گزارش شده است (Maghsoudi et al., 2022). این ویروس با بذر منتقل نمی شود (Zhou et al., 2015).

اولین گزارش از بیماری رگبرگ روشنی زرد مرکبات، در سال ۱۹۸۸ روی لمون و نارنج در پاکستان بوده است (Catara et al., 1993). سپس بیماری در کشورهای ترکیه (Onelge, 2002)، هند (Alshami et al., 2003)، چین (Chen et al., 2014)، ایران (Bani Hashemian and Aghajanzadeh, 2017)، قبرس، کره جنوبی (Alas et al., 2019) و ایتالیا (Cinque et al., 2024) گزارش شد. این بیماری در سال ۲۰۲۲ در ایالت کالیفرنیا در آمریکا نیز در فضای سبز شهری روی مرکبات مشاهده شد و هرچند انتشار آن به باغ‌های تجاری گزارش نشد، ولی همچنان یک تهدید محسوب می‌شود (Sun and Yokomi, 2023).

بیماری رگبرگ روشنی زرد مرکبات در سال ۱۳۹۵ از ایران گزارش شد و در سال‌های اخیر وقوع بیماری در مرکبات شمال کشور بیشتر شده است (Bani Hashemian and Aghajanzadeh, 2017).

در سال ۱٤۰۲ علایم شبیه به بیماری ویروسی رگبرگ روشنی زرد مرکبات در درختان نارنج فضای سبز شهر شیراز مشاهده شد. با توجه به اینکه این بیماری از چند سال قبل در شمال کشور وجود داشته است و می‌تواند تهدیدی برای درختان نارنج و سایر مرکبات باشد، در اولین گام، ردیابی و شناسایی مولکولی ویروس عامل بیماری در درختان نارنج دارای علایم، ضروری به‌نظر می‌رسید و لذا این مطالعه با این هدف انجام شد.

روش بررسی

در بهار سال ۱۴۰۲ در فضای سبز شیراز (استان فارس) از درختان نارنج دارای علایم مشکوک به ویروس رگبرگ روشنی زرد مرکبات (CYVCV) و درختان بدون علایم، نمونه‌های برگ جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. به‌منظور انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با نسخه‌برداری معکوس (RT-PCR)، استخراج RNA کل از شش نمونه برگ از درختان دارای علایم و دو نمونه برگ از درختان بدون علایم با استفاده از کیت استخراج RNA کل (شرکت دنازیست، ایران) براساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. تبدیل RNA به DNA مکمل (cDNA) با استفاده از کیت سنتز cDNA (شرکت سیناکلون، ایران) مطابق با رویه موجود در آن انجام شد. سپس، ردیابی ویروس با آزمون RT-PCR با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی YVCPf 5′- TACCGCAGCTATCCATTTCC -3 ′/ YVCPr 5′- GCAGAAATCCCGAACCACTA-3′ که قطعه حدود ۶۰۰ جفت‌بازی از ژن پروتئین پوششی CYVCV را تکثیر می‌کند انجام و محصول واکنش در ژل آگارز یک درصد بررسی شد (Bani Hashemian et al., 2022; Chen et al., 2014).

چرخه دمایی PCR شامل ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس (یک چرخه)، و ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی اولیه ۱ دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس، اتصال آغازگر ۳۰ ثانیه در ۵۴ درجه سلسیوس و مرحله گسترش ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و مرحله گسترش نهایی ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس بود.

مقدار مواد لازم برای هر واکنش ۲۰ میکرولیتری PCR معمولی شامل ۱۰ میکرولیتر مستر میکس PCR (آمپلیکون، دانمارک)، ۶ میکرولیتر آب مقطرسترون، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر و ۲ میکرولیتر cDNA الگو بود.

جهت تایید صحت ردیابی ویروس، تعیین توالی یکی از قطعات تکثیر شده در PCR و ترسیم درخت تبارزایی انجام شد. بدین منظور، یکی از محصولات PCR به‌دست آمده به طور مستقیم برای تعیین توالی (از دو طرف) به شرکت کدون ژنتیک (ایران، تهران) ارسال شد. در نهایت قطعه تعیین توالی شده با استفاده از نرم‌افزار بایوادیت (BioEdit 7.7.1) ویرایش و در مجموعه داده NCBI بلاست و مقایسه و در ژن‌بانک ثبت شد.

همچنین، برای مشخص کردن جایگاه تاکسونومیکی CYVCV از استان فارس و مقایسه با توالی‌های موجود در ژن‌بانک، درخت تبارزایی براساس ترادف‌های به‌دست آمده از ژن پروتئین پوششی جدایه استان فارس و جدایه های مختلف این ویروس در ایران و دنیا ترسیم شد. بدین منظور، هم‌ردیفی توالی ها با استفاده از گزینه ClustalW در نرم افزار MEGA12 انجام و در نهایت درخت تبارزایی به روش آنالیز حداکثر درست‌نمایی (maximum likelihood) با استفاده از این نرم افزار (Tamura *et al.*, 2021) ترسیم شد.

نتایج و بحث

بررسی‌ها در فضای سبز شهر شیراز نشان داد که علایم بیماری ویروسی رگبرک روشنی زرد مرکبات در درختان نارنج به‌طور پراکنده وجود دارد. این علایم به‌صورت کوتولگی درختان، زردی و روشنی رگبرگ‌های فرعی در سطح رویی برگ‌های جوان (در مجاورت نور مشخص‌تر است) به همراه نواحی متناظر آب‌سوخته در زیر برگ‌ها در نواحی رگبرگ‌ها و چروکیدگی برگ‌های مسن مشاهده شدند (شکل ۱). در ردیابی مولکولی CYVCV با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با نسخه‌برداری معکوس (RT-PCR) و آغازگرهای اختصاصی ژن پروتئین پوششی، قطعه حدود ۶۱۰ جفت‌باز از این ژن در نمونه‌های برگ درختان دارای علایم تکثیر شد، در حالی که در نمونه‌های برگ درختان نارنج سالم و بدون علایم این قطعه تکثیر نشد (شکل ۲).

یکی از محصولات PCR (از جدایه SH1) به‌دست آمده با آغازگرهای YVCPf/YVCPr، از دو طرف تعیین توالی و پس از ویرایش تحت شماره‌دسترسی LC897981.1 در ژن‌بانک ثبت شد. جستجوی بلاست (BLAST) با توالی به‌دست آمده

نشان داد که این توالی با توالی‌های متناظر آن در جدایه‌های CYVCV در ژن‌بانک، بیشترین شباهت را داشتند و بدین ترتیب وجود CYVCV در درختان نارنج دارای علایم تایید شد. بیشترین شباهت نوکلئوتیدی این توالی (۹۸/۵۶ درصد) با جدایه SOU از نارنج در استان مازندران (KX902486) بود. درخت تبارزایی حاصل از روش آنالیز آماری حداکثر درست‌نمایی بر اساس توالی‌های به‌دست آمده از ژن پروتئین پوششی از جدایه‌های ایرانی CYVCV و برخی از جدایه‌های موجود در ژن‌بانک نشان داد که جدایه‌های ایرانی CYVCV در در جایگاه‌های مختلفی قرار گرفتند که ناشی از تفاوت و تنوع نوکلئوتیدی این ژن در جدایه‌ها می‌باشد. جدایه CYVCV از استان فارس (SH1) با جدایه CYVCV از استان مازندران روی نارنج و نارنگی کلمانتین در یک زیرگروه جای گرفتند (شکل ۳).

در سال‌های اخیر، وقوع و گسترش بیماری رگبرگ روشنی زرد مرکبات در باغ‌ها و درختان مرکبات فضای شهری، در شمال کشور در میزبان‌های مختلف شامل نارنج، لمون، پرشین لایم، نارنگی کلمانتین و انشو گزارش شده است (Bani Hashemian and Aghajanzadeh, 2020). این بیماری نسبتاً جدید است و در حال حاضر گسترش آن محدود به تعدادی از کشورهای دنیا است. پراکنش سریع و خسارت شدید این بیماری به‌خصوص در چین و ترکیه، دو کشور مهم تولید کننده لیمو، باعث شد تا به‌عنوان تهدید جدیدی برای مرکبات دنیا در نظر گرفته شود (Onelge, 2002.; Chen et al., 2014). بر اساس دانش موجود، راه درمان یا کنترل شیمیایی برای این بیماری وجود ندارد و مدیریت بر مبنای روش‌های پیشگیرانه و کشت ارقام مقاوم یا متحمل به‌جای انواع حساس انجام می‌شود.

CYVCV انواع مرکبات را آلوده می‌کند و روی برخی از گونه‌های مرکبات مانند نارنج، لمون اورکا و پرشین لایم علایم شدیدتری ایجاد می‌کند، در صورتی که برخی از ارقام مانند لیموشیرین، مکزیکن لایم و نارنگی پیج ممکن است علایم خفیف‌تری داشته یا بدون علایم باشند (Bani Hashemian et al., 2022).

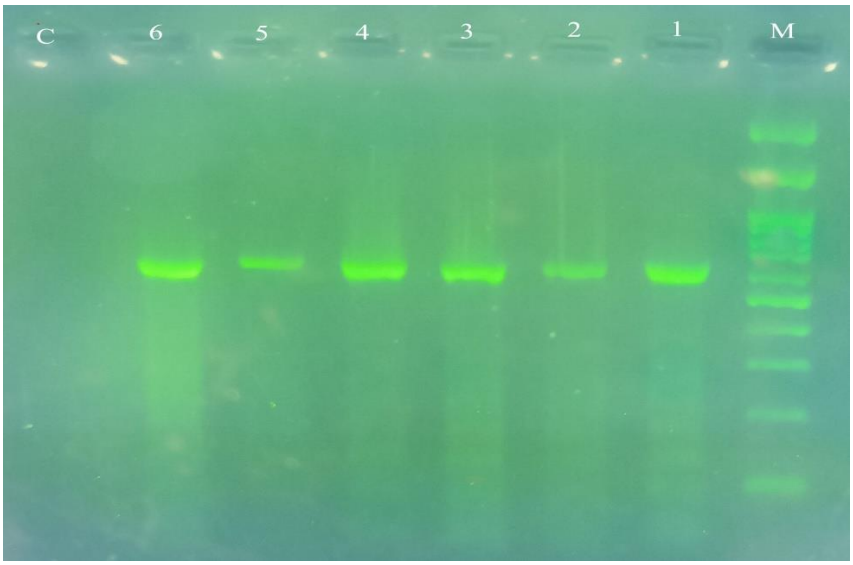
تهیه نهال و پیوندک از مناطق آلوده، خطر تکثیر و گسترش ویروس را به دنبال دارد. از این جهت، مدیریت بیماری از طریق پیشگیری از گسترش آن به کانون‌های جدید با تولید و عرضه پیوندک و نهال سالم، نظارت مستمر بر نهالستان‌ها و معرفی ژنوتیپ‌های متحمل یا مقاوم باید مورد توجه قرار گیرد.

به‌طورکلی، در وقوع و گسترش CYVCV در درختان مرکبات در شمال کشور نقش ناقل را نمی‌توان نادیده گرفت. شته‌های ناقل بیماری در شمال و جنوب کشور وجود دارند و می‌توانند در انتقال طبیعی ویروس در باغ‌های مرکبات به‌خصوص در مسافت‌های کوتاه نقش مهمی داشته باشند. تشخیص نوع رابطه ویروس و ناقل و برهمکنش آنها نیاز به مطالعات بیشتری دارد. طی چند سال گذشته، احتمالاً بیماری بیشتر به‌وسیله پیوندک یا جابه‌جایی نهال‌های آلوده به استان فارس گسترش یافته است. بنابراین، اقدامات قرنطینه‌ای به‌منظور جلوگیری از انتقال نهال و پیوندک‌های آلوده مرکبات به مناطق سالم، باید در دستور کار دستگاه‌های اجرایی قرار گیرد و از نهال‌های سالم و گواهی شده استفاده شود.

این اولین گزارش از وجود بیماری رگبرگ روشنی زرد مرکبات در استان فارس است. وجود این بیماری در سایر مناطق جنوبی کشور که مرکبات حساس و به‌خصوص نارنج کشت می‌شود دور از انتظار نیست. بنابراین، پایش و ردیابی مستمر ویروس از روی علایم مشخص آن در میزبان‌های حساسی مانند نارنج و پرشین لایم و همچنین با استفاده از روش‌های مولکولی نظیر RT-PCR در نهالستان‌های مرکبات، فضای سبز شهری و باغ‌ها از اولویت‌های آینده می‌باشد.

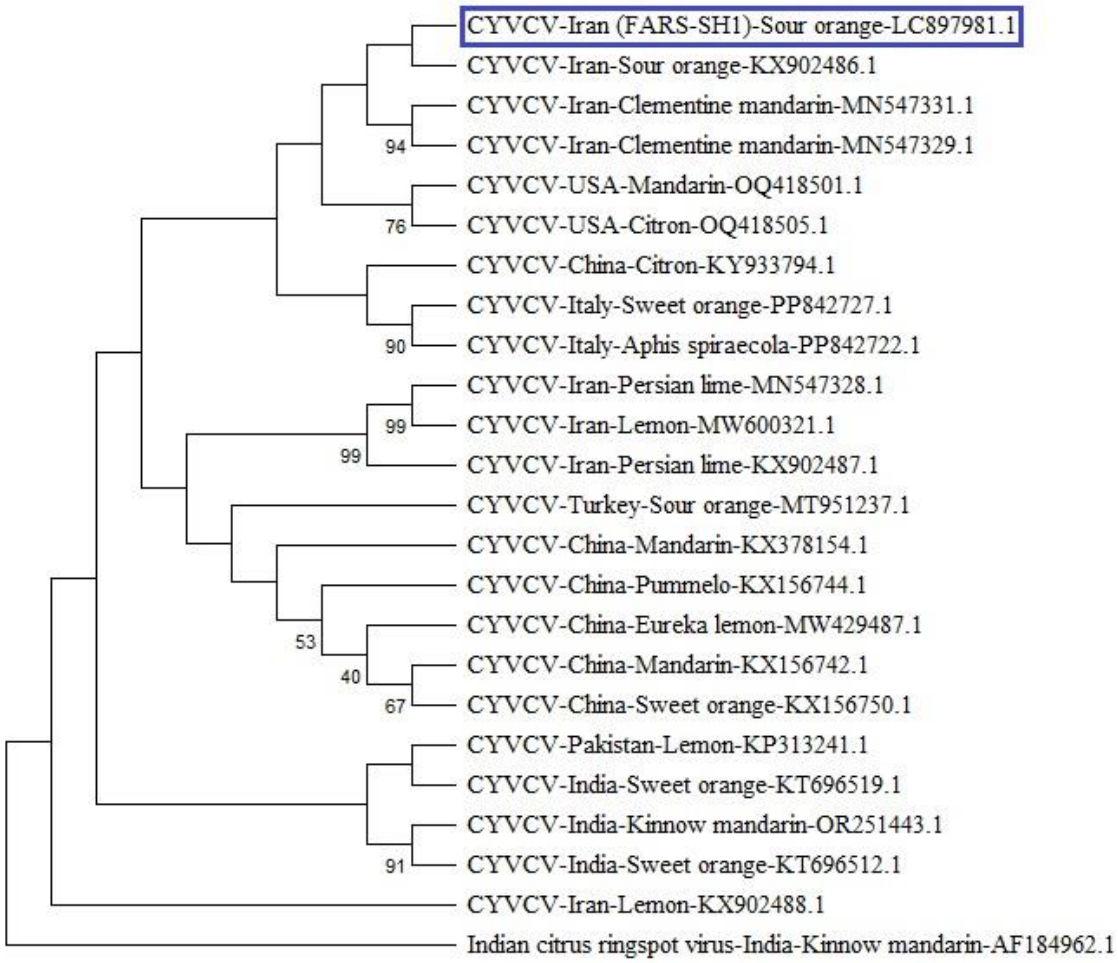
شکل ۱: A: درخت نارنج سالم با رشد طبیعی (سمت راست) در مقایسه با درخت نارنج آلوده به ویروس رگبرگ روشنی زردی مرکبات با علایم کاهش رشد و کوتولگی (سمت چپ)؛ B: زردی و روشنی رگبرگ‌ها در سطح رویی برگ‌های نارنج؛ C: نواحی متناظر آبسوخته در پشت برگ‌های دارای علایم رگبرگ زردی ؛ D: علایم چروکیدگی در برگ نارنج آلوده به ویروس.

Figure 1. A: Healthy sour orange tree (right) with natural gowth compared to CYVCV-infected sour orange (left) showing stunting; B: Leaf vein clearing; C: Water soak of the vein in lower surface of the leaf; D: Symptom of wrinkling on the sour orange leaf.



شکل ۲: الکتروفورز ژل آگاروز محصول PCR (حدود ۶۰۰ جفت‌باز) از ژن پروتئین پوششی ویروس رگبرگ روشنی زرد مرکبات با جفت آغازگر اختصاصی YVCPf / YVCPr. راهک‌های ۱ تا ۶: درختان نارنج دارای علایم؛ راهک C: درخت نارنج سالم؛ M: مارکر ۳ کیلوجفت‌باز (SL7041، سیناکلون).

Figure 2: Agarose gel electrophoresis for PCR products (approximately 600 bp) of the coat orotein (cp) gene of *Citrus yellow vein clearing virus* amplified using the specific primer pair YVCPf / YVCPr. Line 1-6: Symptomatic sour orange trees; Line C: A healthy sour orange tree (negative control); M: 3 kb ladder (SL7041, Sinaclon).



شکل ۳: درخت تبارزایی به‌دست آمده بر اساس قسمتی از توالی ژن پروتئین پوششی از جدایه ویروس رگبرگ روشنی زرد مرکبات از استان فارس و سایر توالی‌های متناظر آن در ژن‌بانک که با نرم‌افزار MEGA12 به روش حداکثر درست‌نمایی با بوت‌استرپ ۱۰۰۰ مرتبه رسم شده است. جدایه فارس با مستطیل آبی رنگ مشخص شده است.

Figure 3: Tree derived based on the coat protein sequences from *Citrus yellow vein clearing virus* isolates related to sour orange from Fars Province and other sequences available in GenBank, drawn using MEGA12 software with the Maximum Likelihood method with 1000 bootstrap replicates. The Fars isolate marked with blue rectangle.

سپاس‌گزاری

نویسندگان از بخش تحقیقات گیاهپزشکی و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس که شرایط انجام این پژوهش را مهیا کردند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

ALAS, T., S. BALOGLU, B.K. CAGLAR, and A. GUNES, 2019. Detection and characterization of *Citrus tatter leaf virus* (CTLV) and *Citrus yellow vein clearing virus* (CYVCV) in citrus trees from Cyprus. Saudi Journal of Biological Sciences, 26: 995-998. DOI:10.1016/j.sjbs.2019.02.001

ALSHAMI, A., Y. AHLAWAT, and R. PANT, 2003. A hitherto unreported yellow vein clearing disease of citrus in India and its viral etiology. Indian Phytopathology 56:422-427.

BANI HASHMIAN, S.B., and S. AGHAJANZADEH, 2017. Occurrence of *Citrus yellow vein clearing virus* in citrus species in Iran. Journal of Plant Pathology 99(1):290. DOI: 10.4454/JPP.V99I1.3849.

BANI HASHEMIAN, S. M., and S. AGHAJANZADEH, 2020. Identification of *Citrus yellow vein clearing virus* in Mazandaran province. Scientific Journal of Plant Protection. 43(2):49-61. (In Persian). DOI: https://doi.org/ 10.22055/PPR.2020.15997.

BANI HASHEMIAN, S.M., A. ROUHIBAKHSH, N. PAJOUHESH, and M. GHASEMI, 2022. Reaction severity and infection symptoms in citrus cultivars susceptible to *Citrus yellow vein clearing virus* in the greenhouse conditions. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 45(3): 1-14. DOI: https://doi.org/ 10.22055/ppr.2022.17660.

CATARA, A.A., A. AZZARO, M. DAVINO, and G. POLIZZI, 1992. Yellow vein clearing of lemon in Pakistan. In Proceedings of the 12th Conference, International Organization of Citrus Virologists, New Delhi, India, 23–27 November 1992; University of California: Riverside, CA, USA, 1993; pp. 364–367.

CHEN, H.M., 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 98:1747. DOI: https://doi.org/10.1094/PDIS-04-14-0343-PDN.

CINQUE, M., M. MINUTOLO, C. PUGLIESE, R.V. GRIFFO, F. DI SERIO, B. NAVARRO, and D. ALIOTO, 2024. First report of *Citrus yellow vein clearing virus* on Citrus in Italy. Plant Disease 108:12, 3666. DOI:10.1094/PDIS-06-24-1208-PDN

KUMAR, S., G. STECHER, M. SULESKI, M. SANDERFORD, S. SHARMA, and K. TAMURA, 2024. Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 12 for adaptive and green computing. Molecular Biology and Evolution 41: 1-9. DOI: https://doi.org/10.1093/molbev/msae263

LIU, C., H. LIU, J. HURST, M.P. TIMKO, and ZHOU, C, 2020. Recent advances on *Citrus yellow vein clearing virus* in Citrus. Horticultural Plant Journal 6:216–222. DOI: 10.1016/j.hpj.2020.05.001.

MAGHSOUDI, R., S. NASSROLLAHNEJAD, S. AGHAJANZADEH, and S.M. BANI HASHEMIAN, 2023. Transmissibility of *Citrus yellow vein clearing virus* by three dominant citrus aphids. Iranian Journal of Plant Protection Science 54 (1):101-115. DOI: http//doi.org/ 10.22059/IJPPS.2023.353042.1007016.

MEENA, R.P., K. PRABHA, and V.K. BARANWAL, 2019. Genome characterization of *Citrus yellow vein clearing virus*: Limited heterogeneity of viral genomes in *Mandarivirus*-infecting different citrus species. 3 Biotechnology 9:348. DOI: 10.1007/s13205-019-1876-4.

ÖNELGE, N., 2002. First report of yellow vein clearing of lemons in Turkey. Journal of Turkian Phytopathology 32:53-55.

ÖNELGE, N., O. BOZAN, and P. GÖK-GÜLER, 2016. First report of *Citrus yellow vein clearing virus* infecting new natural host plants in Turkey. Journal of Plant Pathology 98:373. DOI:10.4454/JPP.V98I2.016.

SUN, Y., and R.K. YOKOMI, 2023. Whole genome sequence of *Citrus yellow vein clearing virus* CA1 isolate. BMC Research. Notes 16:166. DOI: 10.1186/s13104-023-06443-7.

SUN, Y., and R. YOKOMI, 2024. Genotype sequencing and phylogenetic analysis revealed the origins of *Citrus yellow vein clearing virus* California isolates. Viruses 16:188. DOI: https://doi.org/10.3390/ v16020188

UR REHMAN, A., Z. LI, Z, YANG, M. WAQAS, G. WANG, W. XU, F. LI, and N. HONG, 2019. The coat protein of *Citrus yellow vein clearing virus* interacts with viral movement proteins and serves as an RNA silencing suppressor. Viruses 11:329. DOI: 10.3390/v11040329.

ZHOU, Y., H.M. CHEN, X.F. WANG, Z.A. LI, M. TANG, and C.Y. ZHOU, 2015. Lack of evidence for seed transmission of *Citrus yellow vein clearing virus* despite its frequent detection in seed tissues. Journal of Plant Pathology 97: 1-3. DOI:10.4454/JPP.V97I3.023.

ZHOU, Y., H.M. CHEN, M.J. CAO, X.F. WANG, X. JIN, K.H. LIU, and C.Y. ZHOU, 2017. Occurrence, distribution, and molecular characterization of *Citrus yellow vein clearing virus* in China. Plant Disease 101:137–1431. DOI: 10.1094/PDIS-05-16-0679-RE.