

# Soijapavun kääpiökasvuviruksen (SbDV) ensihavainto Suomessa

Annika Luoto, Helsingin yliopisto, Ruokavirasto

Jari Valkonen, Helsingin yliopisto

Mikko Lehtonen ja Johanna Santala, Ruokavirasto

## Soijapavun kääpiökasvuvirus (SbDV)

Soijapavun kääpiökasvuvirus (SbDV) on luteovirus-sukuun kuuluva, yksijuosteinen positiivinen RNA-virus. Virus leviää pysyvällä tavalla kirvavektorin avulla nilarajoitteisesti ja kykenee infektoimaan useita palkokasvilajeja. SbDV havaittiin ensimmäisenä Japanissa, jossa se aiheutti merkittäviä satotappioita soijapavulla (Tamada, 1969). Nykyään viruksen tiedetään levinneen jokaiselle mantereelle. Euroopassa virusta on raportoitu esiintyvän Saksassa (Abraham ym. 2007) ja Isossa-Britanniassa (Fowkes ym. 2021).

## SbDV havaittiin valkoopilalta pikku-RNA-sekvensoinnilla

Heinäkuussa 2018 kerättiin Tyrnävän perunapeltojen ympäristöstä valkoopilalehtinäytteitä, joiden värivirheellisyys viittasi virusoireiseen. Valkoopilalehtinäytteet analysoitiin viruslöydösten varmistamiseksi pikku-RNA (sRNA) –analysoinnin (Kreuze ym. 2009) sekä RT-PCR:n avulla.

RNA-molekyylien eristäminen tehtiin EZNA micro RNA kit:lla (Omega Bio-Tek, GA, USA). Pikku-RNA:n analysointia varten koottiin sekvenssikirjasto käyttäen TruSeq small RNA library prep kit:ia (Illumina, CA, USA) ja näytteet syväsekvensoitiin Illumina MiSeq –laitteistolla. Sekvensoinnilla saatiin näytettä kohden keskimäärin 1,3 miljoonaa lyhyttä sekvenssipätkää (readiä), joista 27 % oli 18-25 nukleotidin mittaisia. Näistä readeistä koostettiin VirusDetect –ohjelmiston (Zheng ym., 2017) avulla pidempiä koostesekvenssejä, joita verrattiin sekvenssitietokannoista löytyviin virussekvensseihin.

Tutkimuksessa analysoitiin kuusi oireellista valkoopilanäytettä, joista viidestä löytyi SbDV. VirusDetect-ohjelmiston avulla näytettä kohden muodostui 26-39 koostesekvenssiä (pituudeltaan 301-469 nukleotidia), jotka linjautuivat tietokannasta löytyneeseen SbDV-isolaattiin (GenBank referenssinumero JN674402), joka on aiemmin kuvattu valkoopilalla Yhdysvalloissa. Koostesekvenssit kattoivat näytteestä riippuen 35,5 %-65,3 % kyseisen isolaatin kokogenomista ja nukleotidien samankaltaisuus oli 94,4-97,3 %.

SbDV-löydös varmistettiin lisäksi RT-PCR:n avulla käyttämällä etualukkeita MDF ja MYF, sekä taka-aluketta MUR (Schneider ym. 2011). Tutkimuksessa käytettiin SuperScript III One-Step RT-PCR System with the Platinum Taq –reagensseja valmistajan ohjeiden mukaan.

Ne viisi näytettä, joista löytyi pikku-RNA –analyysissä SbDV, tuottivat RT-PCR –testissä odotetut kokoisen, noin 400 emäsparin mittaisen tuotteen. Näytteet, jotka olivat pikku-RNA –analyysissä negatiivisia SbDV:n suhteen, eivät tuottaneet PCR-tuotteita.

Kahden PCR-tuotteen suorasekvensointi tuotti 347 ja 361 emäsparin pituiset sekvenssit (GenBank: MZ355392 ja MW929169). Nämä sekvenssit olivat 95,7 % ja 95,2 % samankaltaiset verrattuna SbDV-isolaattiin (referenssinumero AB038148), joka aiheuttaa keltalehtisyyttä soijapavulla ja jonka levittäjänä toimii hernekirva (*Acyrtosiphon pisum*).

## Ensihavainto Suomessa

Tämä on ensimmäinen SbDV-havainto Suomessa. Pikku-RNA –analyysissä kaikki suomalaisista näytteistä peräisin olevat koostesekvenssit linjautuivat lähes täydellisesti (100 % peittävydellä ja  $\geq 99$  % nukleotidien samankaltaisuudella) saksalaisen SbDV-isolaatin kuoriproteiiniin (referenssinumero EF466131). Kyseisen isolaatin on raportoitu leviävän hernekirvan välittämänä valkoopilasta härkäpapuun (Abraham ym. 2007).

SbDV:ta levittävä hernekirva on Suomessa yleinen kirvalaji. Vaikkakin nykykäsityksen mukaan SbDV aiheuttaa merkittäviä satotappioita ainoastaan soijapavulla (Tamada, 1969), on virus potentiaalinen uhka myös muille palkokasveille. Suomessa, jossa herneen ja härkäpavun viljelypinta-ala on kasvanut viimeisten vuosien aikana, voi SbDV levitessään näyttäytyä muun muassa herne- (Tian ym. 2017) ja härkäpapakasvuston (Abraham ym. 2007) kasvun hidastumisena.

## Lisätietoa:

Luoto, A., Lehtonen, M., Valkonen, J. & Santala, J. 2021. First report of Soybean dwarf virus infecting white clover (*Trifolium repens*) in Finland. Plant Disease. 2021 Jun 15. Saatavilla verkossa: [First report of Soybean dwarf virus infecting white clover \( Trifolium repens\) in Finland - PubMed \(nih.gov\)](#)

Luoto, A. 2021. Palkokasvien virukset Suomessa. Pro Gradu –tutkielma. Saatavilla verkossa: [Palkokasvien virukset Suomessa \(helsinki.fi\)](#)



Abraham, A. D., Menzel, W., Vetten, H. J. & Saucke, H. 2007. First Report of Soybean dwarf virus (Genus Luteovirus) Infecting Faba Bean and Clover in Germany. Plant disease 91 (8): 1059-1059.

Fowkes, A. R., McGreig, S., Pufal, H., Duffy, S., Howard, B., Adams, I.P., Macarthur, R., Weekes, R. & Fox, A. 2021. Integrating High throughput Sequencing into Survey Design Reveals Turnip Yellows Virus and Soybean Dwarf Virus in Pea (*Pisum Sativum*) in the United Kingdom. Viruses 13(12):2530.

Kreuze, J.F., Perez, A., Untiveros, M., Quispe, D., Fuentes, S., Barker, I. & Simon, R. 2009. Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: a generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses. Virology 388(1):1-7.

Schneider, W. L., Damsteegt, V. D., Stone, A. L., Kuhlmann, M., Bunyard, B. A., Sherman, D. J., Graves, M. V., Smythers, G., Smith, O. P. & Hatziloukas, E. 2011. Molecular analysis of soybean dwarf virus isolates in the eastern United States confirms the presence of both D and Y strains and provides evidence of mixed infections and recombination. Virology 412 (1): 46-54.

Tamada, T., Goto, T., Chiba, I. & Suwa, T. 1969. Soybean dwarf, a new virus disease. Ann. Phytopath. Soc. Japan 35: 282-285.

Tian, B., Gildow, F. E., Stone, A. L., Sherman, D. J., Damsteegt, V. D. & Schneider, W. L. 2017. Host Adaptation of Soybean Dwarf Virus Following Serial Passages on Pea (*Pisum sativum*) and Soybean (*Glycine max*). Viruses 9 (6): 155-168.

Zheng, Y., Gao, S., Padmanabhan, C., Li, R., Galvez, M., Gutierrez, D., Fuentes, S., Ling K.S., Kreuze, J. & Fei, Z. 2017. VirusDetect: An automated pipeline for efficient virus discovery using deep sequencing of small RNAs. Virology. 500:130-138.