

MODIFIKASI FAKTOR TRANSLASI UNTUK MENINGKATKAN KETAHANAN TANAMAN TERHADAP VIRUS PATOGEN

Ifa Manzila

*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber
Daya Genetik Pertanian*

Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

PENDAHULUAN

Serangan virus patogen pada tanaman bukan hal baru dalam bidang pertanian. Cikal bakal bidang ilmu virologi dimulai dari identifikasi virus yang menginfeksi tanaman tembakau pada akhir abad ke-19 (Rybicki 2015). Adolf Mayer adalah orang yang pertama kali melakukan kajian penyakit mosaik tembakau yang dapat menular antar tanaman seperti halnya infeksi bakteri. Pada tahun 1992, Dmitri Ivanovsky berhasil membuktikan adanya agen infeksi nonbakteri penyebab penyakit mosaik tembakau. Hasil penelitian Ivanovsky diperkuat oleh temuan Martinus Beijerinck yang menunjukkan bahwa agen infeksi tersebut mampu bereproduksi dan berkembang biak di sel inang dari tanaman tembakau, yang kemudian menamakannya dengan istilah virus. Akhirnya pada tahun 1935, untuk pertama kalinya Wendell Meredith Stanley berhasil melakukan pemurnian dan kristalisasi virus mosaik tembakau, sehingga dianugerahi hadiah Nobel Kimia pada tahun 1946. Keberhasilan Stanley memurnikan virus penyebab penyakit mosaic tembakau

memicu perkembangan pesat bidang ilmu virology (Rybicki 2015).

Virus adalah suatu nukleoprotein yang memperbanyak diri hanya di dalam sel hidup dan mampu menyebabkan penyakit (Agrios, 2005). Virus tidak hanya bersifat patogenik terhadap tanaman tetapi juga hewan dan manusia, bahkan serangga, fungi, dan bakteri dapat terinfeksi oleh virus (Ghabrial & Suzuki, 2009). Hingga saat ini sudah teridentifikasi lebih dari 2000 jenis virus, dan hampir setengahnya diketahui bersifat patogenik terhadap tumbuhan (Agrios, 2005). Satu jenis virus dapat menginfeksi satu atau lebih spesies tanaman, dan setiap spesies tanaman dapat terserang oleh berbagai jenis virus. Bahkan tanaman dapat terinfeksi oleh lebih dari satu jenis virus pada saat yang bersamaan.

Virus dikategorikan sebagai mikroorganisme paling sederhana, baik dari sisi material genetik yang dimiliki maupun kelengkapan organel untuk mendukung kehidupannya. Kebanyakan jenis virus hanya memiliki asam nukleat dan protein yang menjadi pelindung asam nukleat itu sendiri (Agrios, 2005). Tidak ada organel pendukung yang mampu membuat virus hidup secara mandiri. Meskipun genom virus mengkodekan sejumlah protein esensial, seperti *coat proteins*, *movement proteins*, *replication enzymes*, tetapi kapasitas pengkodeannya sangat terbatas, sehingga setiap tahapan siklus hidupnya sangat bergantung pada faktor inang (Hashimoto *et al.* 2016). Oleh karena itu, sifat patogenik virus umumnya tidak disebabkan oleh kematian sel inang akibat dimakan atau keracunan oleh virus, tetapi dengan memanfaatkan substansi seluler selama replikasi virus, mengambil ruang dalam sel, dan mengganggu proses seluler (Agrios 2005).

Kesederhanaan genom virus dibandingkan mikroorganisme lain penyebab penyakit tanaman menyebabkan virus harus menggunakan mesin transkripsi dan translasi inang untuk menyelesaikan setiap siklus hidupnya. Kedekatan mesin transkripsi dan translasi virus-inang ini yang menyebabkan pengembangan pestisida yang secara khusus mentargetkan virus sangat sulit

dilakukan (Hashimoto *et al.* 2016), karena setiap pestisida yang efektif terhadap virus akan beresiko tinggi terhadap inangnya. Oleh karena itu, hingga saat ini belum tersedia teknologi yang efektif untuk penanggulangan virus. Akibatnya, sebagian besar penyakit menular yang muncul pada tanaman disebabkan oleh virus dibandingkan mikroba patogen lainnya (Anderson *et al.* 2004). Hal ini dapat dilihat dari 1) peningkatan kejadian, distribusi geografi, dan kisaran inang; 2) perubahan patogenisitas dan virulensi; serta 3) jenis virus yang baru ditemukan atau dikenali (Daszak *et al.* 2000). Misalnya, virus gemini yang pertama kali dilaporkan menginfeksi tanaman tembakau di Jawa Timur pada tahun 1932 (Trisusilowati *et al.* 1990), saat ini sudah menyebar diseluruh Indonesia dan menyerang sejumlah besar tanaman Famili Solanaceae, Leguminosae dan Compositae (Sulandari *et al.* 2006).

Hewan dan manusia mampu mengatasi serangan virus melalui sistem kekebalan tubuhnya (Maule *et al.* 2007), namun pada tanaman banyak yang masih gagal dalam mengatasi invasi virus yang mengkolonisasi sel-sel tubuhnya. Salah satu potensi dalam mengendalikan invasi dan kolonisasi virus dalam sel dan jaringan tanaman adalah dengan memanfaatkan sifat ketergantungan virus terhadap mesin transkripsi dan translasi inangnya (Hashimoto *et al.* 2016). Sejumlah tanaman yang memiliki mesin transkripsi dan translasi tidak cocok dengan virus patogen gagal diinvasi oleh virus. Sifat ketahanan yang dimediasi oleh *Eukaryotic translation initiation factor (eIF4E)* pertama kali ditemukan pada mutan *Arabidopsis thaliana* yang tahan terhadap *tobacco etch virus (TEV; Potyvirus)* (Lellis *et al.* 2002). Menurut Hashimoto *et al.* (2016), sifat ketahanan yang terkait dengan mekanisme interaksi transkripsi dan translasi antara virus dan inangnya dikendalikan oleh gen-gen resesif yang jumlahnya sangat banyak di tanaman. Kang *et al.*, 2005 melaporkan bahwa hampir setengah dari alel yang bertanggung jawab terhadap sifat ketahanan ta-

naman terhadap virus dikendalikan oleh gen-gen resesif. Resistensi resesif yang diperantarai eIF4E juga dilaporkan pada tanaman lada (*Capsicum annuum*), selada (*Lactuca sativa*), dan tomat liar (*Solanum habrochaites*) (Ruffel *et al.* 2005; Nicaise *et al.* 2003) terhadap potyvirus. Selain itu, mekanisme ketahanan tanaman melalui eIF4E dilaporkan terhadap virus mosaik mentimun (CMV; Cucumovirus) di Arabidopsis (Yoshii *et al.* 2004); dua carmovirus, *turnip crinkle virus* (TCV) di Arabidopsis (Yoshii *et al.* 1998) dan *melon necrotic spot virus* (MNSV) dalam melon (*Cucumis melo*) (Nieto *et al.* 2006); dua bymoviruses, virus mosaik ringan barley (BaMMV) dan virus mosaik kuning barley (BYMV) di barley (*Hordeum vulgare*) (Kanyuka *et al.* 2005; Stein *et al.* 2005); dan virus mottle padi kuning (RYMV; Sobemovirus) dalam beras (*Oryza sativa*) (Albar *et al.* 2006) (Truniger & Aranda 2009; Sanfaçon 2015).

Peran faktor inisiasi translasi eukariotik (eIF) dan isoformnya sebagai gen ketahanan resesif yang sudah banyak dieksploitasi dari berbagai tanaman terbukti efektif mengendalikan infeksi sejumlah spesies virus (Hashimoto *et al.* 2016). Namun, strategi pengendalian antivirus menggunakan gen resesif membutuhkan sumber daya genetik sebagai sumber gen eIF4E. Perbaikan sifat ketahanan resesif pada tanaman dapat dilakukan melalui persilangan, mutagenesis, dan seleksi (Piron *et al.* 2010). Ulasan ini membahas jenis-jenis virus penting tanaman, mekanisme interaksi virus-inang, peran sifat gen resesif yang dimediasi oleh gen eIF, strategi pemuliaan melalui modifikasi eIF, dan perspektif pengembangannya ke depan.

VIRUS PATOGEN PENTING PADA KOMODITAS UTAMA PERTANIAN DAN VARIASI GENOMNYA

Ada enam jenis komoditas tanaman yang menjadi prioritas Kementerian Pertanian untuk dipacu produksinya agar target

swasembada dapat tercapai, yaitu padi, jagung, kedelai, tebu, bawang merah dan cabai. Salah satu kendala utama peningkatan produksi enam komoditas prioritas tersebut adalah serangan virus patogen. Jenis-jenis virus pada tanaman sangat beragam baik dari tipe genom maupun variasi strain yang ada di lapangan. Pada tanaman padi, virus tungro menjadi masalah utama. Pada musim tanam 1969-1992 penyakit tungro dilaporkan menginfeksi pertanaman seluas 244.904 ha di sejumlah daerah, seperti Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Bali, Jawa, Nusa Tenggara, Maluku, Irian Jaya (Hasanuddin *et al.*1997). Kemudian pada tahun 2006, serangan tungro kembali menyerang tanaman padi seluas 5.917 ha di Jawa dan Bali (Suprihatno *et al.* 2010). Hingga saat ini, penyakit tungro yang disebabkan oleh dua jenis virus, yaitu *rice tungro bacilliform virus* (RTBV) dan *rice tungro spherical form virus* (RTSV), masih menjadi masalah utama karena ketersediaan varietas padi tahan tungro masih terbatas. Selain tungro, ada dua jenis virus yang sering menyerang di lapang, yaitu *rice ragged stunt virus* (RGSV) dan *rice grassy stunt virus* (RSSV) yang ditularkan oleh wereng batang coklat.

Pada tanaman kedelai sedikitnya ada 67 jenis virus, tetapi yang sudah diketahui ada di Indonesia adalah *Soybean mosaic virus* (SMV) (Andayanie 2012), *Soybean stunt virus* (SSV)/*Cucumber mosaic virus* galur soybean (CMV-S) (Asadi *et al.* 2003), *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) (Akin 2003). Bahkan berdasarkan hasil penelitian Sulandari *et al.* (2006) di rumah kaca, ditemukan juga bahwa *Gemini virus* dapat menginfeksi kedelai. Di lapangan, intensitas serangan dan kehilangan hasil akibat SMV dan SSV bervariasi mulai ringan hingga berat tergantung musim, strain virus, varietas tanaman yang terserang, dan umur tanaman pada saat terinfeksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kehilangan hasil kedelai akibat infeksi penyakit virus SMV dan SSV dapat mencapai 40-70% (Rahayu 1989; Soenartiningasih *et al.* 1991; Kuswardana *et al.* 1994). Budi daya cabai juga menghadapi

ancaman serangan virus di lapangan. Ada 10 jenis virus cabai yang sudah endemik di sentra-sentra produksi cabai di Indonesia, *pepper yellow leaf curl virus* (PepYLCV), *cucumber mosaic virus* (CMV) (*Cucumovirus*), *chili veinal mottle virus* (ChiVMV) (*Potyvirus*), *potato virus y* (PVY) (*Potyvirus*), *potato virus x* (PVX) (*Potexvirus*), *tomato mosaic virus* (ToMV) (*Tobamovirus*), *tobacco etch virus* (TEV) (*Potyvirus*), kelompok *Geminivirus*, *tomato spotted wilt virus* (TSWV) (*Tospovirus*), *tobacco rattle virus* (TRV) (*Tobravirus*), dan *tomato ringspot virus* (TomRV) (*Nepovirus*) (Murayama 1998). Tetapi yang paling menjadi masalah adalah virus kuning keriting (PepYLCV) yang disebabkan oleh virus jenis Begomovirus. Sampai saat ini belum ada laporan varietas-varietas cabai yang banyak ditanam di lapang bersifat tahan virus kuning keriting. Sedangkan pada komoditas jagung, tebu, dan bawang merah belum ada serangan virus yang mengkhawatirkan. Tabel 3.6 menunjukkan jenis-jenis virus dan variasi genomnya pada komoditas tanaman prioritas. Virus *pathogen* tanaman umumnya bergenom +ssRNA, yang jumlahnya mencapai 65% dari total virus *pathogen* tanaman, diikuti oleh virus bergenom ssDNA (17%), ssRNA (10%) dan dsRNA (5%) (Hul 2001).

Serangan dan upaya pengendalian virus menjadi dilemma tersendiri dalam budi daya tanaman. Ketiadaan metode pengendalian kuratif yang efektif terhadap virus menyebabkan tanaman yang terserang virus harus dieradikasi total untuk menghilangkan sumber inokulum. Tetapi metode ini kurang disukai oleh petani karena langsung memupus harapan petani dalam memetik hasil budi dayanya, akibatnya pertanaman bergejala virus dibiarkan saja tanpa ada upaya untuk memutus siklus penularan. Upaya untuk menekan luas serangan sering dilakukan dengan pengendalian populasi serangga vektor menggunakan pestisida. Tetapi cara ini sering bermasalah dengan lingkungan dan organisme bukan sasaran sehingga aplikasi menjadi terbatas. Penggunaan varietas tahan virus adalah cara paling efektif dan

Tabel 3.6. Jenis virus dan genomnya pada komoditas prioritas pertanian

Komoditas	<i>Viral diseases</i>	<i>Genus</i>	<i>Family</i>	Ukuran	Genom	<i>Reference</i>	
Kedelai	Alfalfa mosaic virus (AMV)	Alfavirus	Alfamoviridae	2.188 bp	ssRNA	Neeleman <i>et al.</i> (1991)	
	Bean pod mottle virus (BPMV)	Comovirus	Comoviridae	3662 bp	(+)ssRNA	MacFarlane <i>et al.</i> (1991)	
	Bean yellow mosaic virus (BYMV)	Potyvirus	Potyviridae	9.532 bp	(+)ssRNA	Guyatt <i>et al.</i> (1996)	
	Tobacco Streak virus (TSV)	Ilarvirus	Ilarviridae	3.356 bp	(+)ssRNA	Rageshwari <i>et al.</i> (2016)	
	Cowpea chlorotic mottle virus (CCMV)	Bromovirus	Bromoviridae	3.171 bp	(+) ssRNA	Dzianott <i>et al.</i> (1991)	
	Mung bean yellow mosaic virus (MYMV)	Begomovirus	Geminiviridae	2.649 bp	SSDNA	Lovejot <i>et al.</i> (2014)	
	Peanut mottle virus (PeMoV)	Potyvirus	Potyviridae			Nam <i>et al.</i> (2011)	
	Peanut stripe virus (PSV)	Potyvirus	Potyviridae			Nam <i>et al.</i> (2011)	
	Peanut stunt virus (PSV)	Cucumovirus	Cucumoviridae	2.089 bp	(+)SSRNA	Nam <i>et al.</i> (2011)	
	Soybean chlorotic mottle virus (SbCMV)	Caulimovirus	Caulimoviridae	8.178 bp	DNA	Takemoto <i>et al.</i> (2001)	
	Soybean crinkle leaf virus (SCLV)	Begomovirus	Geminiviridae	2.737 bp	ssDNA	Samretwanich <i>et al.</i> (2001)	
	Soybean dwarf virus (SbDV)	Luteovirus	Luteoviridae	2.073 bp	(+)ssRNA	Thekke <i>et al.</i> (2009)	
	Soybean mosaic virus (SMV)	Potyvirus	Potyviridae	9.588 bp	(+)ssRNA	Jayaram, <i>et al.</i> (1992)	
	Padi	Rice black streaked dwarf virus (RBSDV)		Reoviridae	4501 bp	dsRNA	Zhang <i>et al.</i> (2001)
Rice dwarf virus (RDV)			Reoviridae	1163 bp	dsRNA	Chu <i>et al.</i> (1990)	
Rice gall dwarf virus (RGDV)			Reoviridae	4505 bp	dsRNA	Moriyasu, <i>et al.</i> (2007)	
Rice ragged stunt virus (RRSV)			Reoviridae	3849 bp	dsRNA	Upadhyaya, <i>et al.</i> (1997)	
Rice grassy stunt virus (RGSV)			<i>Tenuivirus</i>	9760 bp	(-) ssRNA	Toriyama, <i>et al.</i> 1998	
Rice hoja blanca virus (RHBV)/ <i>Tenuivirus</i>			<i>Tenuivirus</i>	3620 bp	(-) ssRNA	International Center for Tropical Agriculture (CIAT) (2017)	
Rice stripe virus (RSV)			<i>Tenuivirus</i>	8970 bp	(-) ssRNA	Hibino H (1996) Zhang, <i>et al.</i> (2007)	
Rice transitory yellowing virus (RTYV)			<i>Rhabdoviridae</i>	14.042 bp	(+) ssRNA	Huang, <i>et al.</i> (2003)	
Rice tungro spherical virus (RTSV)			<i>Secoviridae</i>	12.222 bp	(+) ssRNA	Shen, <i>et al.</i> (1993)	
Rice tungro bacilliform virus (RTBV)			Caulimoviridae	8002 bp	dsDNA	Hay, <i>et al.</i> (1991)	
Jagung		maize dwarf mosaic virus (MDMV)		potyviruses	RNA	Potyviridae	Sai, <i>et al.</i> (1995)
		Sugarcane mosaic virus (SMV)	potyviruses	Potyviridae	9583 bp	RNA	Chaves-Bedoya, <i>et al.</i> (2011) Ravi <i>et al.</i> (2009)
Cabai		Chilli veinall mottle virus (ChiVMV)	Potyvirus.	Potyviridae	9702 bp	RNA	
		Cucumber mosaic virus (CMV)	Cucumovirus	Bromoviridae	2982 bp	ssRNA, dsRNA	Jung <i>et al.</i> (2018)
Bawang	Pepper Yellow Leaf Curl Virus	Begomovirus	Geminiviridae	2900 bp	ssDNA	Solahudin <i>et al.</i> (2015)	
	Garlic Common Latent Virus (GCLV)	Tymovirales	Betaflexiviridae	8638 bp	SSRNA	Wylie <i>et al.</i> (2012)	
	Onion Yellow Dwarf Virus (OYDV)	Potyvirus	Potyviridae	10 kb	(+) ssRNA	Kumar <i>et al.</i> (2015)	

tepat. Pendekatan perlu dukungan sumber gen yang dapat digunakan dalam perakitan varietas tahan. Gen-gen ketahanan virus sangat beragam dan sudah banyak diidentifikasi, baik yang berasal dari sumber gen alam maupun hasil mutasi. (Siddappa *et al.* 2011)

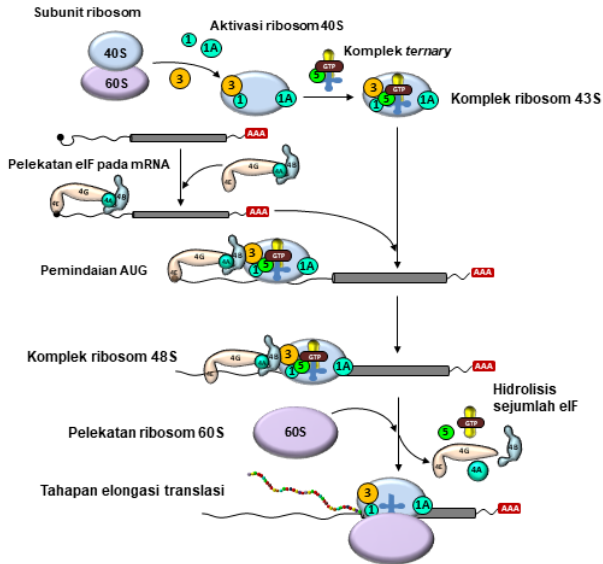
INTERAKSI MOLEKULER VIRUS DENGAN TANAMAN INANG

Proses interaksi molekuler virus dengan tanaman inang dimulai pada saat virus sudah mencapai sitoplasma sel. Hal ini berbeda dengan virus hewan atau manusia di mana interaksi molekulernya sudah terjadi sejak awal penetrasi sel yang dimediasi reseptor permukaan sel inang dan aktivitas *endocytic* untuk masuk ke dalam sel (Colil & Fontes 2017). Virus tanaman masuk secara pasif ke dalam sitoplasma melalui pelukaan fisik oleh faktor lingkungan atau vektor (serangga, tungau, nematoda, dan cendawan). Di dalam sitoplasma sel, partikel virus akan melepaskan selubung protein dan mengeluarkan genomnya untuk ditranslasi menjadi sejumlah protein penting yang diperlukan pada tahapan transkripsi dan replikasi. Proses ini berlangsung dengan tahapan yang berbeda antar jenis virus tergantung jenis genomnya. Pada golongan virus bergenom +ssRNA, seperti potyvirus, genom yang dilepaskan ke dalam sitoplasma akan segera ditranslasi menjadi 11 jenis protein, yaitu: (1) Protein P1 (serin protease); (2) Protein HC-Pro yang memiliki aktivitas protease untuk membungkam RNA *silencing* dan penularan virus oleh serangga vektor; (3) Protein P3 yang terlibat dalam pergerakan virus antar sel tanaman; (4) Protein P3N-PIPO yang bersatu dengan protein P3 untuk pergerakan virus; (5) Protein CI sebagai RNA helicase dengan aktivitas ATPase; (6) Protein NIa-Pro (enzim protease); (7) Protein VPg yang terkait pada ujung 5 dari genom virus; (8) Protein Nib yang berperan sebagai RNA dependent RNA polymerase (RdRP); (9) Selubung protein (CP); (10) Protein 6K1; dan (11) 6K2 yang belum diketahui fungsinya (Urcuqui-Inchim *et al.* 2001). Hal ini disebabkan oleh genom +ssRNA memiliki orientasi yang sama dengan mRNA tanaman.

Virus yang bergenom ssDNA seperti *Begomovirus*, sekuen DNA-nya akan segera ditranskrip menjadi mRNA menggunakan

enzim RNA polymerase dari inangnya. Selanjutnya mRNA akan diterjemahkan menjadi: (1) *DNA replication initiation proteins* – AC1/Rep (*replication initiator*) dan AC3/REn (*replication enhancer*); (2) *Host gene regulation* dan *silencing suppressor proteins* – AC2/TrAP (*transcription activator*), AC4 dan *pre-coat protein* AV2; (3) *Viral assembly protein* – AV1/CP (*coat protein*)⁵; dan (4) *Intra-cellular* dan *inter-cellular viral movement protein* – BC1/NSP (*nuclear shuttle protein*) dan BV1/MP (*movement protein*). Sedangkan pada virus bergenom –ssRNA, genomnya akan ditranskrip/dicetak menjadi +ssRNA sebelum ditranslasikan.

Proses translasi genom virus dilakukan dengan memanfaatkan *internal ribosome entry site* (IRES) sebagaimana dijelaskan pada Gambar 3.14 (Thiebeauld *et al.* 2007). Prosesnya diawali dengan pemisahan formasi ribosom 80S menjadi 40S dan 60S. Selanjutnya 40S akan diaktivasi untuk pembentukan kompleks preinisiasi 43S melalui penempelan faktor inisiasi translasi (eIF) 1, eIF1A, eIF3, dan eIF5, serta kompleks *ternary* (yang terdiri dari Met-tRNAi^{Met}, eIF2, dan GTP) pada ribosom 40S. Pada saat yang bersamaan, sejumlah faktor inisiasi translasi (eIF4A, eIF4B, eIF4E dan eIF4G) juga akan berinteraksi dengan mRNA (+ssRNA) di ujung sekuen 5'. Faktor inang eIF4B akan memandu mRNA berikatan dengan kompleks 43S pada posisi pelekatan eIF3 di ribosom 40S. Tahapan berikutnya, kompleks ribosom 43S akan melakukan pemindaian mRNA untuk mencari *start* kodon dan membentuk kompleks ribosom 48S yang akan memasang Met-tRNAi^{Met} dengan sekuen kodon AUG di mRNA. Segera setelah kompleks 48S terbentuk, ribosom 60S akan berikatan dengan kompleks ribosom 48S yang disertai dengan pelepas sejumlah faktor inisiasi dan protein regulator lainnya sehingga terbentuk kompleks ribosom 80S untuk memulai elongasi translasi. Proses ini akan terus ber-siklus mengikuti proses ekspresi gen yang diperlukan oleh sel-sel tanaman (Jackson *et al.* 2010). Kajian detail proses ini telah diulas oleh Thiebeauld *et al.* (2007).



Gambar 3.14. Mesin inisiasi translasi tanaman inang yang dimanfaatkan oleh virus patogen (Thiebeauld et al. 2007 dengan modifikasi)

Mesin translasi inang akan digunakan oleh virus untuk mentranslasi genomnya karena virus tidak memiliki perangkat tersebut. Proses replikasi, transkripsi dan translasi genom virus terjadi di dalam lingkungan mikro subseluler, seperti di dalam retikulum endoplasma, mitokondria, vakuola, peroksisom, kloroplas, tonoplas/lisosom, atau membrane plasma (Tabel 3.7) (de Castro *et al.* 2013; Wang 2016; Romero-Brey & Bartenschlager 2014), kecuali virus RNA utas tunggal negatif dari genus Nucleorhabdovirus yang bereplikasi di dalam *membrane* inti sel (Carbonell *et al.* 2015). Lingkungan mikro subseluler diperlukan untuk meningkatkan efisiensi proses replikasi dan menjadi tempat berlindung virus terhadap sistem pertahanan sel inang. Lingkungan mikro subseluler ini dinamakan viroplasma (Blanchard & Roingear 2013; de Castro *et al.* 2013). Di dalam lingkungan subseluler tersebut, proses penggandaan melibatkan *protein*

Tabel 3.7. Situs replikasi beberapa jenis virus dalam organel sel tanaman

Famili	Genus	Virus	Membrane yang digunakan untuk replikasi virus
<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfavirus</i>	<i>Alfalfa mosaic virus</i> (AMV)	<i>Vacuolar membrane</i>
	<i>Bromovirus</i>	<i>Brome mosaic virus</i> (BMV)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
	<i>Cucumovirus</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV)	<i>Vacuolar membrane</i>
<i>Potyviridae</i>	<i>Cucumovirus</i>	<i>Tomato aspermy virus</i> (TAV)	<i>Vacuolar membrane</i>
	<i>Potyvirus</i>	<i>Plum pox virus</i> (PPV)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
<i>Rhabdoviridae</i>		<i>Tobacco etch Virus</i> (TEV)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
	<i>Cytorhabdovirus</i>	<i>Lettuce necrotic yellow virus</i> (LNYYV)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
	<i>Nucleorhabdovirus</i>	<i>Pottato yellow dwarf virus</i> (PYDV)	<i>Nuclear membrane</i>
<i>Secoviridae</i>		<i>Sanchus yellow net virus</i> (SYNV)	<i>Nuclear membrane</i>
	<i>Comovirus</i>	<i>Copea mosaic virus</i> (CPMV)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
<i>Tombusviridae</i>	<i>Nepovirus</i>	<i>Grapevine fanleaf virus</i> (GFL)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
	<i>Carmovirus</i>	<i>Melon necrotis spot virus</i> (MNSV)	<i>Mitochondria</i>
		<i>Pelargonium flower break virus</i> (PFBV)	<i>Mitochondria</i>
<i>Tymoviridae</i>		<i>Red clover necrotic mosaic virus</i> (RCNMV)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
		<i>Carnation Italian ringspot virus</i> (CIRV)	<i>Mitochondria</i>
		<i>Cucumber necrotic virus</i> (CNV)	<i>Peroxisome</i>
		<i>Cymbidium ringspot virus</i> (CymRSV)	<i>Peroxisome</i>
		<i>Tomato bushy stunt virus</i> (TBSV)	<i>Peroxisome</i>
<i>Umbraviridae</i>	<i>Umbravirus</i>	<i>Lettuce speckles mottle virus</i> (LSMV)	<i>Vacuolar membrane</i>
	<i>Tymovirus</i>	<i>Turnip Yellow Mosaic virus</i> (TYMV)	<i>Chloroplas outer membrane</i>
<i>Unassignet</i>	<i>Benyvirus</i>	<i>Beet necrotic yellow vein virus</i> (BNYVV)	<i>Mitochondria</i>
<i>Virgaviridae</i>	<i>Pecluvirus</i>	<i>Peanut clump virus</i> (PCV)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
	<i>Tobamovirus</i>	<i>Cucumber green mottle mosaic virus</i> (CGMMV)	<i>Mitochondria</i>
		<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV)	<i>Endoplasmic reticulum</i>
		<i>Tobacco rattle virus</i> (TRV)	<i>Mitochondria</i>

replikase, genom virus, dan sejumlah protein regulator dari inang. Kebanyakan virus RNA utas tunggal positif mampu mengambil alih dan memodifikasi membran sitoplasma sel inang menjadi situs fungsional untuk berlangsungnya proses *translasi*, pengolahan, dan sintesis RNA (den Boon *et al.* 2010). Viroplasma tidak saja dibentuk oleh virus bergenom RNA utas tunggal positif tetapi juga oleh virus RNA utas tunggal negative dan virus DNA utas ganda (*cauliflower mosaic virus*) (Bak *et al.* 2013).

PERAN FAKTOR TRANSLASI DALAM MEKANISME KETAHANAN TANAMAN TERHADAP VIRUS

Kesederhanaan genom virus yang tidak memberikan perangkat memadai untuk menyelesaikan siklus hidup secara mandiri menyebabkan sangat tergantung pada faktor inang atau eksternal. Faktor-faktor eksternal yang menentukan siklus virus mencakup aspek penularan, penggandaan, dan perpindahan partikel virus. Ketidak mampuan dalam memanfaatkan faktor eksternal pada aspek-aspek tersebut menyebabkan virus gagal menginfeksi dan berkembang untuk menimbulkan penyakit. Oleh karena itu, Gomez *et al.* (2009) mengklasifikasi sifat ketahanan tanaman terhadap virus menjadi tiga, yaitu: (1) Ketahanan terhadap transmisi virus antar tanaman; (2) Ketahanan terhadap penggandaan virus; dan (3) Ketahanan terhadap translokasi atau akumulasi partikel virus. Sejumlah peneliti telah berhasil mengidentifikasi gen yang mengendalikan sifat-sifat ketahanan tersebut, termasuk diantaranya gen yang terkait dengan faktor inisiasi translasi.

Edward & Steffenson (1996) melaporkan gen resesif *rsm1* pada tanaman barley yang mampu mengendalikan *barley stripe mosaic virus* (BSMV) melalui penghambatan proses transmisi melalui benih. Hal yang sama juga dilaporkan terhadap *Pea seedborne mosaic virus* (PSbMV) pada kacang kapri (*Pisum sativum*) yang gagal ditransmisikan melalui benih. Virus-virus tular benih umumnya menginfeksi langsung embrio tanaman inang yang belum sempurna, kemudian melakukan penggandaan di dalam embrio, dan terus bertahan selama proses pematangan embrio (Gomez *et al.* 2009). Gen *rsm1* yang posisinya berada di dekat sentromer kromosom 7 diduga berperan dalam penggandaan protein dan perpindahan partikel virus yang bersifat lokal maupun posisi yang jauh (Cui *et al.* 2009). Tetapi pada beberapa kasus, penularan virus melalui benih tidak saja dapat disebabkan

oleh infeksi embrio, tetapi berkaitan dengan stabilitas virus selama proses pembentukan dan pemasakan biji, penyimpanan dan perkecambahannya (Gomez *et al.* 2009).

Gen-gen yang terkait dengan faktor inisiasi translasi yang berperan penting dalam pengendalian sifat ketahanan terhadap multiplikasi dan translokasi virus sudah banyak diidentifikasi. Informasi detail tentang hal tersebut dapat dibaca pada ulasan Garcia-Ruiz (2018) tentang *Susceptibility Genes to Plant Viruses*. Ada tiga gen faktor inang yang terlibat dalam pengendalian translasi virus, yaitu eIF3, eIF4G dan eIF4G2. eIF3 berperan dalam mendaur ulang peran ribosom untuk memulai proses translasi (Thiébeauld *et al.* 2009). Proses ini dimulai dengan pelekatan eIF3 pada ribosom 40S untuk menginisiasi proses translasi dengan membentuk kompleks ribosom 43S yang akan berinteraksi dengan mRNA. Sedangkan eIF4G bersama dengan faktor inang lainnya akan berikatan dengan ujung 5' mRNA dan berperan dalam memandu mRNA berinteraksi dengan kompleks ribosom 43S yang dilanjutkan dengan pemindaian situ *start* kodon. eIF4G juga diketahui berinteraksi dengan protein virus *transactivator viroplasm* (TAV) yang mendorong proses translasi untuk segera dimulai (Ryabova *et al.* 2006) serta mencegah lepasnya ikatan eIF3 pada ribosom 40S hingga proses elongasi translasi selesai (Park *et al.* 2004). Oleh karena itu, mutasi pada eIF3 menyebabkan tanaman tahan terhadap *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) dan beberapa virus dari golongan *pararetroviruses* (Thiébeauld *et al.* 2009). Mutasi eIF4G pada *A. thaliana* menyebabkan tanaman tahan terhadap infeksi *potyvirus* (Nicaise *et al.* 2007).

Faktor inisiasi elongasi (eIEF1A) diketahui berikatan dengan *RNA-dependent RNA polymerase* virus dan ujung 3' RNA *tobacco mosaic virus* (TMV) untuk pembentukan kompleks replikasi. Inaktivasi eIEF1A menggunakan *gen silencing* pada tanaman tembakau (*Nicotiana benthamiana*) mengakibatkan penurunan sangat nyata akumulasi dan penyebaran TMV dalam tanaman tanpa mem-

Tabel 3.8. Faktor inisiasi translasi tanaman yang dimanfaatkan untuk proses translasi, replikasi dan translokasi virus patogen

Faktor inang	Fungsi seluler	Faktor virus	Sistem inang	Pustaka
Translasi RNA virus				
eIF3	Aktivasi translasi mRNA polycistronic	CaMV TAV	Yeast	Thiébeauld <i>et al.</i> 2009
eIF4G and eIF4G2	Inisiasi translasi	LMV and PPV VPg RTSV	<i>A. thaliana</i> <i>O. sativa</i>	Nicaise <i>et al.</i> 2007 Lee <i>et al.</i> 2010
Pembentukan kompleks replikasi virus				
eEF1A	Elongasi translasi	TMV126K and 30 UTR of genomic RNA TuMV N1b TBSV RdRp BaMV RNA (30 UTR) TMV 126K and genomic RNA TYMV 30 UTR	<i>N. benthamiana</i> <i>A. thaliana</i> Yeast <i>N. benthamiana</i> <i>N. benthamiana</i> Vigna unguiculata	Yamaji <i>et al.</i> 2010 Thivierge <i>et al.</i> 2008 Li <i>et al.</i> 2010 Lin <i>et al.</i> 2007 Yamaji <i>et al.</i> 2010 Matsud dan Dreher, 2004
Virus movement				
eIF(iso)4E	Inisiasi translasi	TuMV VPg PevMoV, PVY VPg TEV VPg TuMV TVMV, ChiVMV	<i>A. thaliana</i> Capsicum spp. <i>A. thaliana</i> Capsicum spp. Brassica rapa Capsicum spp	Kushner <i>et al.</i> 2003 Ruffel <i>et al.</i> 2006 Estevan <i>et al.</i> 2014 Kim <i>et al.</i> 2014 Rubio <i>et al.</i> 2009; Ruffel <i>et al.</i> 2006
Virus accumulation				
eEF1A eEF1B	Elongasi translasi	SMV P3	Glycine max	Zhao <i>et al.</i> 2017

pengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Yamaji *et al.* 2010). Hasil penelitian yang sama juga dilaporkan oleh Thivierge *et al.* (2008) terhadap TuMV yang proses replikasinya terjadi di *membrane* vesikel sitoplasma. Proses tersebut terjadi melalui interaksi kompleks antara eIEF1A dengan sejumlah faktor virus dan inang lain seperti VPg-Pro, eIF(iso)4E, poly(A)-binding protein, dan *protein heat shock cognate* 70-3 (Thivierge *et al.* 2008).

Translokasi atau pergerakan virus antar sel juga melibatkan melibatkan faktor inisiasi translasi. Lellis *et al.* (2002) melaporkan bahwa genom potyvirus berinteraksi dengan mikrotubulus melalui interaksi VPg-eIF(iso)4E-eIF(iso)4G untuk pergerakan virus sel pada *A. thaliana*. Tanaman *A. thaliana* yang mengalami mutasi

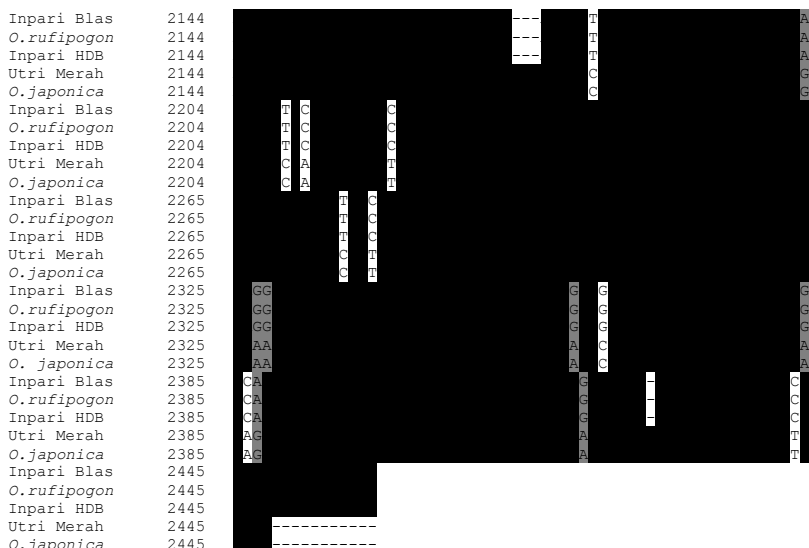
eIF(iso)4E kehilangan kerentanannya terhadap TEV dan TuMV akibat partikel virus tidak terdistribusi secara merata pada sel-sel daun dibandingkan dengan tipe liarnya. Tanam kentang (Ruffel *et al.* 2006) dan cabai (Ruffel *et al.* 2002) yang mengalami mutasi eIF(iso)4E juga dilaporkan menjadi tahan terhadap infeksi *potato virus Y* (PVY) dan *pepper veinal mottle virus* (PVMV).

PEMANFAATAN MODIFIKASI FAKTOR TRANSLASI DALAM MENINGKATKAN KETAHANAN TANAMAN DAN STRATEGI PEMULIAAN

Perbaikan sifat ketahanan tanaman dengan memodifikasi faktor translasi telah dilaporkan efektif menghambat perkembangan virus di dalam tanaman. Proses modifikasi faktor translasi dapat dilakukan melalui persilangan konvensional maupun mutasi. Pencarian sumber gen ketahanan yang terkait eIF dapat dilakukan pada tanaman Budi daya atau kerabat liarnya, baik yang telah mengalami mutasi alami atau buatan. Metode pencarian ini dapat dilakukan dengan teknik *targeting induced local lesions in genome (tilling)* untuk mengidentifikasi mutasi titik pada gen-gen target, *eco-tilling* untuk identifikasi variasi genetik dari populasi alami, dan teknologi *next generation sequencing* (Pestova *et al.* 1996; Wilson *et al.* 2000)

Sifat ketahanan padi liar *Oryza rufipogon* terhadap penyakit tungro dilaporkan berhubungan dengan *eIF4G* yang mengalami dileksi dan mutasi alami pada sekuen nukleotida dan asam aminonya dibandingkan *O. sativa*. Varietas Hal ini ditunjukkan oleh sifat ketahanan Inpari HDB dan Inpari Blas yang merupakan hasil persilangan antara *O. rufipogon* dengan IR64. Peningkatan ketahanan kedua varietas tersebut terhadap tungro disebabkan oleh introgresi gen *eIF4G* asal *O. rufipogon*. Gen *eIF4G* pada *O. rufipogon* yang berukuran 5292 bp. Hasil analisis sekuen gen *eIF4G* diposisi nukleotida 2144-2459 bp menunjukkan ada empat titik

delesi nukleotida diposisi nukleotida pada posisi 2173-2175 dan 2428-2429, serta 16 titik mutasi yang tersebar di beberapa posisi sekuen nukleotida. Dileksi dan mutasi sekuen nukleotida *eIF4G* ini juga menyebabkan perubahan pada sekuen asam aminonya. Delesi asam amino pada *eIF4G* *O. rufipogon* terjadi pada serin (S) posisi 671 dan mutasi alanin/valin (A/V) posisi 673, treonin/alanin (T/A) posisi 723, glutamine/prolin (Q/P) posisi 742, dan isoleusin/prolin (I/V) posisi 754 (Manzila & Priyatno, 2015). Pada proses translasi, protein *eIF4G* membentuk ikatan kompleks dengan *eIF4F* yang akan berikatan dengan VPg RNA virus untuk memulai proses scanning AUG (Thiebeauld *et al.* 2007). Disamping itu, *eIF4G* juga berasosiasi dengan protein MNK-1, CBP80, CBP20, PABP, dan *eIF3* (Lomakin *et al.* 2000). *eIF4G* secara langsung mengikat mRNA dan memiliki beberapa wilayah bermuatan positif untuk fungsi ini (Contreras *et al.* 2008).



Gambar 3.15. Mutasi dan dileksi *eIF4G* pada *O. rufipogon* yang menyebabkan resistensi terhadap virus tungro (Manzila & Priyatno 2015)

Analisis SNP pada galur-galur mutan cabai tahan virus *Chilli veinal motle virus* (ChiVMV) juga mengidentifikasi adanya mutasi titik di beberapa nukleotida yang kodekan eukaryotic *Capsicum annuum*-translation initiation factor 4E (Pvr1). Galur-galur mutan cabai tersebut menunjukkan sifat ketahanan imun berdasarkan hasil deteksi virus menggunakan PCR dan ELISA. Galur mutan tahan ChiVMV terbukti tidak mengandung virus yang diinfeksi pada tanaman dengan menggunakan Aphid. Ketiadaan virus dalam jaringan tanaman mutan tahan diduga karena proses transkripsi dan replikasi terganggu.

Resistensi resesif yang dimediasi oleh eIF4E pertama kali ditemukan pada mutan *A. thaliana* yang menunjukkan kehilangan kerentanan terhadap TEV yang disebabkan oleh kekurangan gen eIFiso4E, sebuah isoform dari eIF4E (Lellis *et al.* 2002). Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa resistensi yang diperantarai eIF4E terhadap *potyvirus* ditemukan pada beberapa kultivar tahan tanaman termasuk cabai (*C. annuum*), selada (*L. sativa*), dan tomat liar (*S. habrochaites*) (Ruffel *et al.* 2002, 2005; Nicaise *et al.* 2003). Selain *potyvirus*, resistensi yang dimediasi eIF4E juga dilaporkan terhadap virus lain, seperti CMV; Cucumovirus (Yoshii *et al.* 2004); TCV dan MNSV (Nieto *et al.* 2006); *barley middle mosaic virus* (BaMMV) dan *barley yellow mosaic virus* (BYMV) (Kanyuka *et al.* 2005; Stein *et al.* 2005); dan (Albar *et al.* 2006). Resistensi yang diperantarai eIF4E efektif terhadap virus yang berinteraksi secara khusus dengan setidaknya satu dari eIF4E. Tetapi pada *A. thaliana*, keterlibatan selektif dari eIF4E terjadi pada genera virus yang sama, yaitu *potyvirus* dan Polerovirus (Sato *et al.* 2005; Nicaise *et al.* 2007; Reinbold *et al.* 2013). Hal ini menunjukkan bahwa interaksi spesifik antara virus-virus ini dan eIF4E berkembang setelah spesies-spesies virus menyimpang dari satu sama lain.

Galur	Posisi SNP									
	466	469	487	489	495	539	574	609	617	626
A	T	T	T	G	G	G	T	G	G	G
B	T	G	T	G	A	A	A	G	G	G
C	T	T	T	G	G	A	T	G	G	G
D	T	T	T	G	G	A	T	G	G	G
E	T	T	T	G	G	A	T	G	G	G
G	T	T	T	G	G	G	T	G	G	G
H	T	T	T	G	G	G	T	G	G	G
I	T	G	T	G	G	A	T	G	G	G
J	G	G	C	A	G	A	T	T	C	A
Gelora	T	T	T	G	G	G	T	G	G	G

Gambar 3.16. Mutasi titik nukleotida eIF4E pada galur-galur mutan cabai tahan ChiVMV (Manzila 2018)

Meski sejumlah virus tanaman dapat memanfaatkan eIF4E inangnya, tetapi karena adanya redundansi fungsional parsial antara isoform eIF4E, mutasi eIF4E tidak selalu memberikan perlawanan terhadap semua virus tanaman (Mayberry *et al.* 2011; Martínez-Silva *et al.* 2012). Selain itu, karena peran penting dari eIF4E dalam kelangsungan hidup tanaman, mutasi baik eIF4E atau eIF4G dan isoformnya sering menimbulkan kematian pada embrio tanaman (Nicaise *et al.* 2007; Patrick *et al.* 2014). Oleh karena kegunaan eIF4E sebagai gen resesif resisten yang terbatas, sehingga penting untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi target genetika tambahan yang dapat memediasi resistansi resesif terhadap berbagai jenis virus yang lebih luas tanpa menimbulkan efek negatif pada tanaman.

KESIMPULAN

Inisiasi translasi tanaman inang merupakan salah satu faktor kunci untuk menghambat perkembangan virus dalam jaringan tanaman. Sejumlah gen resesif yang efektif mengendalikan virus tanaman berkaitan dengan faktor inisiasi translasi. Kemampuan virus menginfeksi dan berkembang dalam sel tanaman dilakukan

dengan mengakuisisi mesin translasi dan transkripsi tanaman inang. Tanaman yang mengalami modifikasi mesin translasi dan transkripsinya sehingga tidak dikenali oleh virus akan bersifat tahan. Tetapi karena mesin translasi dan transkripsi merupakan *house keeping gene*, maka upaya modifikasi mesin tersebut harus tidak berpengaruh negatif terhadap proses fisiologis tanaman. Pemanfaatan mesin translasi dan transkripsi yang sudah termodifikasi dapat diperoleh dari sumber alami maupun buatan dengan teknik mutasi, baik yang bersifat acak maupun spesifik. Identifikasi mesin translasi dan transkripsi yang termodifikasi dapat dilakukan dengan pendekatan *tilling*, *eco-tilling*, dan *next generation sequencing*. Teknologi penyuntingan genom (CRISPR) memungkinkan modifikasi gen-gen faktor translasi yang lebih spesifik tanpa menimbulkan efek negatif perkembangan tanaman. Oleh karena itu, pemanfaatan gen-gen ketahanan yang terkait faktor translasi dan transkripsi virus sangat prospektif untuk program pemuliaan pengembangan tanaman tahan virus.

PUSTAKA

- Agrios GN. (2005). *Plant Pathology*. Ed ke-5. New York (USA): Elsevier Academic Press.
- Akin MH. (2003). Respons beberapa genotipe kedelai terhadap CPMMV (Copea mild mottle virus). *J Hama Penyakit Tumbuhan Tropika*. 3:47-50.
- Albar L, Bangratz-Reyser M, Herbrard E, Ndjiondjop MN, Jones M, Ghesquiere A. (2006). Mutation in the eIF(iso)4G translation initiation factor confer high resistance of rice to rice yellow mottle virus. *Plant J*. 47:417-426. Doi:10.1111/j.1365.313x.2006.02792.x.
- Andyanie WR. (2012). Penyakit mosaik kedelai dan pengelolaan *Soybean mosaic virus* terbawa benih. Dalam: Prosiding Seminar

- Nasional Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Bogor (Indonesia): Pusat penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. hlm. 335-347.
- Bak A, Gargani D, Macia JL, Malouvet E, Vernerey MS, Blanc S, Drucker M. (2013). Virus factories of Cauliflower mosaic virus are virion reservoirs that engage actively in vector-transmission. *J Virol.* 87:12207-12215. <http://jvi.asm.org>.
- Blanchard E, Roingard P. (2013). Virus-induced double-membrane vesicles: Virus-induced DMVs. *Cellular Microbiology.* Wiley 2014, 17 (1), pp.45-50. <10.4161/auto.4782>. <inserm- 01575078>
- Calil IP, Fontes EPB. (2017). Plant immunity against viruses: antiviral immune receptors in focus. *Annals Bot.* 119:711-723. doi:10.1093/aob/mcw200, available online at www.aob.oxfordjournals.org.
- Carbonell A, Garcia JA, Mateo CS, Hernandez C. (2014). Plant Virus RNA Replication.
- Contreras V, Richardson MA, Hao E, Keiper BD. (2008). "Depletion of the cap-associated isoform of translation factor eIF4G induces germline apoptosis in *C. elegans*". *Cell Death Differentiation.* 15:1232–1242. doi:10.1038/cdd.2008.46.
- Contreras L, Ritter A, Boehmwald F, Dennett G, Guitton N, Moenne A, Pineau Ch, Potin P, Correa JA. (2008). Two-dimensional gel electrophoresis analysis of brown algal protein extracts (Phaeophyceae). *J Phycol.* 44:1315-1321.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife threats to biodiversity and human health. *Science.* 287:443-449.
- de Castro, IF, Volonte L, Risco C. (2013).Virus factories: biogenesis and structural design. *Cell Microbiol.* 15:24-34.

- den Boon JA, Diaz A, Ahlquist P. (2010) Cytoplasmic viral replication complexes. *Cell Host Microbe*. 8:77-85.
- Estevan J, Marena A, Callot C, Lacombe S, Moretti A, Caranta C, Gallois JL. (2014). Specific requirement for translation initiation factor 4e or its isoform drives plant host susceptibility to Tobacco etch virus. *BMC Plant Biol*. 14, 67.
- Ghabrial SA, Suzuki N. (2009). Viruses of plant pathogenic fungi. *Annu Rev Phytopathol*. 47:353-384. doi: 10.1146/annurev-phyto-080508-081932.
- Goodfellow I, Chaudhry Y, Gioldasi I, Gerondopoulos A, Natoni A, Labrie L, Laliberte JF, Roberts L. (2005). Calicivirus translation initiation requires an interaction between vpg and eif 4 e. *EMBO Rep*. 6:968-972.
- Harper F, Gaudin Y, Danielle Xavier LB, Vidy A, Pomier C, Obiang L. (2009). "Transcription and Replication Evidence that NBs Are Sites of Viral (NBs) in Rabies Virus-Infected Cells: Functional Characterization of Negri Bodies". *J Virol*. 83:7948-7958. doi:10.1128/JVI.00554-09.
- Hashimoto M, Neriya Y, Keima T, Iwabuchi N, Koinuma H, Hagiwara, Komoda Y. (2016). EXA1, a GYF domain protein, is responsible for loss of susceptibility to plantago asiatica mosaic virus in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*. doi: 10.1111/tpj.13265.
- Hull R. (2001). "Classifying reverse transcribing elements: a proposal and a challenge to the ICTV". *Archives of Virology*. Springer Wien. 146:2255-2261. doi:10.1007/s007050170036
- Ivan BL, Christopher UT, Hellen & Tatyana VP. (2000). "Physical Association of Eukaryotic Initiation Factor 4G (eIF4G) with eIF4A Strongly Enhances Binding of eIF4G to the Internal Ribosomal Entry Site of Encephalomyocarditis Virus and Is

- Required for Internal Initiation of Translation". *Mol Cell Biol.* 20:6019–6029. doi:10.1128/MCB.20.16.6019-6029.2000.
- Jackson RJ, Christopher UT, Hellen & Tatyana VP. (2010). The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 11:113-127. doi:10.1038/nrm2838.
- Kang BC, Yeam I, Frantz JD, Murphy JF, Jahn MM. (2005). The *pvv1* locus in *Capsicum* encodes a translation initiation factor eIF4E that interacts with *Tobacco etch virus* VPg. *Plant J.* 42:392-405.
- Kanyuka K, Druka A, Caldwell DG, Tymon A, McCallum N, Waugh R. (2005). Evidence that the recessive bymovirus resistance locus *rym4* in *baeley* corresponds to the eukaryotic translation initiation factor 4E gene. *Mol Plant Pathol.* 6:449-458. Doi:10.1111/j.1364-3703.2005.002.x.
- Kim SH, MacFarlane S, Kalinina NO, Rakitina DV, Ryabov EV, Gillespie T, Haupt S, Brown JWS, Taliensky M. (2007). Interaction of a plant virus-encoded protein with the major nucleolar protein fibrillarin is required for systemic virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104:11115-11120.
- Kushner DB, Lindenbach BD, Grdzlishvili VZ, Noueir AO, Paul SM, Ahlquist P. (2003). Systematic, genome-wide identification of host genes affecting replication of a positive-strand RNA virus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 100:15764-15769.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics.* 23:2947-2948.
- Lee JH, Muhsin M, Atienza GA, Kwak DY, Kim SM, De Leon TB, Angeles ER, Coloquio E, Kondoh H, Satoh K, Cabunagan, RC,

- Cabauatan PQ, Kikuchi S, Leung H, Choi IR. (2010). Single nucleotide polymorphisms in a gene for translation initiation factor (eIF4G) of rice (*Oryza sativa*) associated with resistance to Rice tungro spherical virus. *Mol Plant Microbe Interact.* 23:29-38.
- Lellis AD, Kasschau KD, Whitham SA, Carrington JC. (2002). Loss-of-susceptibility mutants of *Arabidopsis thaliana* reveal an essential role for eIF(iso)4E during potyvirus infection. *Current Biol.* 12:1046-1051. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(02\)00898-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(02)00898-9).
- Li Z, Pogany J, Tupman S, Esposito AM, Kinzy TG, Nagy PD. (2010). Translation elongation factor 1A facilitates the assembly of the tombusvirus replicase and stimulates minus-strand synthesis. *PLOS Pathog.* 6, e1001175.
- Lin JW, Ding MP, Hsu YH, Tsai CH. (2007). Chloroplast phosphoglycerate kinase, a gluconeogenic enzyme, is required for efficient accumulation of Bamboo mosaic virus. *Nucleic Acids Res.* 35:424-432.
- Lomakin IB, Hellen CUT, Pestova TV. (2000). Physical association of eukaryotic initiation factor 4G (eIF4G) with eIF4A strongly enhances binding of eIF4G to the internal ribosomal entry site of encephalomyocarditis virus and is required for internal initiation of translation. *Mol Cell Biol.* 20:6019-6029.
- Manzila I, Priyatno TP. (2015). Identification of eIF4G Gene of *Oryza rufipogon* origin on Rice Varieties Inpari HDB and Inpari Blas. *J Fitopat Ind.* 11:187-195 DOI: 10.14692/jfi.11.6.187.
- Marcotrigiano J, Gingras AC, Sonenberg N, Burley SK. (1999). Cap-dependent translation initiation in eukaryotes is regulated by a molecular mimic of eIF4G. *Mol Cell.* 3:707-716.
- Martínez-Silva AV, Aguirre-Martínez C, Flores-Tinaco CE, Alejandri-Ramírez ND, Dinkova TD. (2012). Translation

- initiation factor At eIF(iso)4F is involved in selective mRNA translation in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plos ONE* 7:e31606, doi:10.1371/journal.pone.0031606.
- Matsuda D, Dreher TW. (2004). The tRNA-like structure of turnip yellow mosaic virus RNA is a 30-translational enhancer. *Virology*. 321:36-46.
- Maule AJ, Caranta C, Boulton MI. (2007). Sources of natural resistance to plant viruses: status and prospects. *Mol Plant Pathol*. 8: 223-231. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00386.x>.
- Mayberry LK, Allen ML, Nitka KR, Campbell L, Murphy PA, Browning KS. (2011). Plant cap Binding complexes eukaryotic initiation factors eIF4F and eIFISO4F: molecular specificity of subunit binding. *J Biol Chem*. 286:42566-42574, doi: 10.1074/ibc.M111,280099.
- Merits A, Guo D, Järvekülg L, Saarma M. (1999). Biochemical and genetic evidence for interactions between Potato A potyvirus-encoded proteins P1 and P3 and proteins of the putative replication complex. *Virology*. 263:15-22.
- Nicaise V, Gallois JL, Chafiai F, Allen LM, Schurdi-Levraud V, Browning KS. (2007). Coordinated and selective recruitment of eIF4F and eIF4G factors for potyvirus infection in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 581,1041-1046, doi: 10.1016/j.febslet.2007.02.007.
- Nicaise V, German-Retana S, Sanjuan R, Dubrana MP, Mazier M, Maisonneuve B. (2003). The eukaryotic translation initiation factor 4E control lettuce susceptibility to the potyvirus Lettuce Mosaic Virus. *Plant Physiol*. 132:1272-1282. doi: 10.1104/pp.102.017855.
- Nicaise V, Gallois JL, Chafiai F, Allen LM, Schurdi-Levraud V, Browning KS, Candresse T, Caranta C, Le Gall O, German-

- Retana S. (2007). Coordinated and selective recruitment of eIF4E and eIF4g factors for potyvirus infection in *Arabidopsis thaliana*. FEBS Lett. 581:1041-1046.
- Nieto C, Morales M, Orjeda G, Clepet C, Monfort A, Sturbois B, Puigdomènech P, Pitrat M, Caboche M, Dogimont C, Garcia-Mas J, Aranda MA, Bendahmane. (2006). An eIF4E allele confers resistance to an uncapped and non-polyadenylated RNA virus in melon. Plant J. 48:452-62. Epub 2006 Oct 5.
- Nieto C, Morales M, Orjeda G, Clepet C, Monfort A, Sturbois B, Puigdomènech P, Pitrat M, Caboche M, Dogimont C. (2006). An eIF4E allele confers resistance to an uncapped and nonpolyadenylated RNA virus in melon. Plant J. 48:452-462. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02885.x>.
- Patrick RM, Mayberry LK, Choy G, Woodard LE, Liu JS, White A. (2014). Two *Arabidopsis* loci encode novel eukaryotic initiation factor 4E isoforms that are functionally distinct from the conserved plant eukaryotic initiation factor 4E. Plant Physiol. 164:1820-1830, doi:10.1104/pp.113.227785.
- Pestova TV, Hellen CU, Shatsky IN. (1996). Canonical eukaryotic initiation factors determine initiation of translation by internal ribosomal entry. Mol Cell Biol. 16:6859-6869. [PubMed: 8943341].
- Piron F, Nicolai M, Minoia S, Piednoir E, Moretti A, Salgues A. (2010). An induced mutation in tomato eIF4E leads to immunity to two potyviruses. PloS ONE. 5:e 11313. Doi:10.1371/journal.pone.0011313
- Reinbold C, Lacombe S, Ziegler Graff V, Scheidecker D, Wiss L, Beuve M. (2013). Closely related poleroviruses depend on distinct translation initiation factors to infect *Arabidopsis thaliana*. Mol Plant Microbe Interact. 26:257-265. doi: 10.1094/MPMI-07-12-0174-R.

- Rubio M, Nicolai M, Caranta C, Palloix A. (2009). Allele mining in the pepper gene pool provided new complementation effects between pvr2-eIF4E and pvr6-eIFISO4E alleles for resistance to pepper veinal mottle virus. *J Ge. Virol.* 90:2808-2814.
- Ruffel S, Dussault MH, Palloix A, Moury B, Bendahmane A, Robaglia C. (2002). A. Natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E(eIF4E). *Plant J.* 32:1067-1075, doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01499.x.
- Ruffel S, Gallois JL, Lesage M, L, Caranta C. (2005). The recessive potyvirus resistance gene pot-lis the tomato orthologue of the pepper pvr2-eIF4E gene. *Mol Genet Genomics.* 274,346-353. doi: 10.1007/s00438-0050003.x
- Ruffel S, Gallois JL, Moury B, Robaglia C, Palloix A, Caranta C. (2006). Simultaneous mutations in translation initiation factors eIF4E and eIF(iso) 4E are required to prevent pepper veinal mottle virus infection of pepper. *J Gen Virol.* 87, 2089-2098.
- Rybicki. 2015. A short history of the discovery of viruses. Cape Town (South Africa): Buglet Press. University of Cape Town. 63 pp.
- Sanfacon H. (2015). Plant translation factor and virus resistance. *Viruses.* 7:3392-3419. Doi: 10.3390/v7072778.
- Sato M, Nakhara K, Yoshii M, Ishikawa M, Uyeda I. (2005). Selective involvement of members of the eukaryotic initiation factor 4E family in the infection of *Arabidopsis thaliana* by potyviruses. *FEBS Lett.* 579:1167-1171. doi: 10.1016/j.febslet.2004.12.086.
- Siddappa S, Sreevathsa R, Topegowda RK, Makarla. (2011). Strategies for viral disease resistance in crop plants. *Asian Austral J Plant Sci. Biotechnol.* 5:73-78.

- Stein N, Perovic D, Kumlehn J, Pellio B, Stracke S, Streng S, Ordon F, Graner A. (2005). The eukaryotic translation initiation factor 4E confers multiallelic recessive bymovirus resistance in *Hordeum vulgare* (L.). *Plant J.* 42:912-922.
- Sulandari S, Suseno R, Hidayat SH, Harjosudarmo J, Sosromarsono S. (2006). Deteksi dan kajian kisaran inang virus penyebab penyakit daun keriting kuning cabai. *Hayati.* 13:1-6.
- Thiebeauld O, Pooggine MM, Ryabova LA. (2007). Alternative translations Strategies in Plant Viruses. *Plant Viruses. Global Science Book.* 20 page.
- Thiébeauld O, Schepetilnikov M, Park HS, Geldreich A, Kobayashi K, Keller M, Hohn T, Yabova LA. (2009). A new plant protein interacts with eIF3 and 60s to enhance virus-activated translation re-initiation. *EMBO J.* 28:3171-3184.
- Thivierge K, Cotton S, Dufresne PJ, Mathieu I, Beauchemin C, Ide C, Fortin MG, Laliberté JF. (2008). Eukaryotic elongation factor 1a interacts with Turnip mosaic virus RNA-dependent RNA polymerase and VPg-pro in virus-induced vesicles. *Virology.* 377:216-225.
- Trisusilowati, EB, Suseno S, Sasromarsono S, Barizi, Soedarmadi, Nur MA. (1990). Transmission, serological aspects and morphology of the tobacco krupuk virus. *Indones J Agric.* 2:38-42.
- Truniger N, Aranda MA. (2009). Recessive resistance to plant viruses. *Adv Virus Res.* 75,119-159.doi:10.1016/S0065-3527(09)07504-6.
- Urcuqui-Inchima S, Maia IG, Drugeon G, Haenni AL, Bernardi F. (1999). Effect of mutations within the Cys-region of potyvirus helper component- proteinase on the self-interaction. *J Gen Virol.* 80:2809-2812.

- Valkonen JPT, Kyle MM, Slack SA. (1996). Comparison of resistance to potyviruses within Solanaceae: infection of potatoes with tobacco etch potyvirus and peppers with potato A and Y potyviruses. *Ann Appl Biol.* 129:25-38.
- Wang A. (2015) Dissecting the molecular network of virus-plant interactions: the complex roles of host factors. *Ann Rev Phytopathology.* 53:45-66.
- Wilson JE, Pestova TV, Hellen CUT, Sarnow P. (2000). Initiation of protein synthesis from the A site of the ribosome. *Cell.* 102:511-520. [PubMed: 10966112].
- Yamaji Y, Sakurai K, Hamada K, Komatsu K, Ozeki J, Yoshida A, Yoshii A, Shimizu T, Namba S, Hibi T. (2010). Significance of eukaryotic translation elongation factor 1a in Tobacco mosaic virus infection. *Arch Virol.* 155:263-268.
- Yoshii M, Nishikiori M, Tomita K, Yoshioka N, Kozuka R, Naito S, Ishikawa M. (2004). The *Arabidopsis cucumovirus* multiplication 1 and 2 loci encode translation initiation factors 4E and 4G. *J Virol.* 78:6102-6111. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.12.6102-6111.2004>.
- Yoshii M, Yoshioka N, Ishikawa M, Naito S. (1998). Isolation of an *Arabidopsis thaliana* mutant in which the multiplication of both cucumber mosaic virus and turnip crinkle virus is affected. *J Virol.* 72:8731-8737.
- Zhao S, Hong W, Wu J, Wang Y, Ji S, Zhu S, Wei C, Zhang J, Li Y. (2017). A viral protein promotes host SAMS1 activity and ethylene production for the benefit of virus infection. *eLife.* 6, e27529.