

Keragaman Genetik dan Virulensi Virus Tungro pada Tanaman Padi di Indonesia

Genetic Diversity and Virulences of Tungro Viruses on Rice in Indonesia

R. Heru Praptana¹ dan I Nyoman Widiarta²

¹Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan
Jl. Tentara Pelajar No. 1, Bogor, Indonesia
E-mail: herujuly@yahoo.com

²Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan
Jl. Merdeka 147, Bogor, Indonesia
E-mail: manwidiarta@yahoo.com

Naskah diterima 7 April 2017, direvisi 11 Juni 2017, dan disetujui diterbitkan 13 Juni 2017

ABSTRACT

Tungro virus disease is endemic in some rice-producing areas in Indonesia. The disease is caused by two different types of viruses, RTBV and RTSV, both are transmitted by green leafhopper. Genetic diversity and degree of virulences of the tungro viruses occur in the endemic areas of geographically diverse environments. Genetic diversity of the viruses do not correlate with their virulences. The virulence of tungro viruses was determined by specific interaction of the two types of tungro viruses, the vectors of the viruses and the resistance type of varieties. Informations on the genetic diversity and virulence of the tungro viruses from various endemic areas are needed to determine the disease control strategy and to apply more appropriate recommendation of resistant varieties. The information is also useful for disease epidemic monitoring and early detection of the presence of tungro viruses, and to be used as a basis in breeding for tungro virus resistant varieties, using conventional or genetic engineering techniques.

Keywords: *Rice, tungro viruses, genetic diversity, virulence, resistant varieties.*

ABSTRAK

Insidensi penyakit tungro masih sering terjadi di beberapa sentra produksi padi di Indonesia sehingga menjadi salah satu kendala dalam peningkatan produksi padi nasional. Tungro disebabkan oleh dua zarah virus yang berbeda yaitu RTBV dan RTSV, yang keduanya hanya dapat ditularkan oleh wereng hijau. Keragaman genetik dan virulensi virus tungro dapat terjadi dalam suatu daerah endemis dan diantara daerah endemis yang secara geografis berbeda. Keragaman genetik virus tungro tidak berkorelasi terhadap virulensinya. Virulensi virus tungro ditentukan oleh interaksi spesifik dari dua jenis virus tungro yang menginfeksi, vektor yang menularkannya dan ketahanan varietas. Informasi keragaman genetik dan virulensi virus tungro dari berbagai daerah endemis di Indonesia sangat diperlukan untuk mengetahui sebaran virus tungro berdasarkan virulensinya, sebagai pertimbangan dalam pengendalian tungro menggunakan varietas tahan yang sesuai atau varietas tahan spesifik isolat virus tungro, pemantauan epidemi dan deteksi dini keberadaan virus tungro di daerah endemis, serta menjadi dasar dalam perakitan varietas tahan virus tungro baik secara konvensional maupun melalui teknik rekayasa genetik.

Kata kunci: Padi, virus tungro, keragaman genetik, virulensi, varietas tahan.

PENDAHULUAN

Tungro merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman padi yang saat ini masih menjadi kendala dalam upaya peningkatan produksi padi nasional. Tungro disebabkan oleh infeksi dua zarah virus yang berbeda, yaitu virus batang (*Rice Tungro Bacilliform Virus*, RTBV) dan virus bulat (*Rice Tungro Spherical Virus*, RTSV) yang keduanya hanya dapat ditularkan oleh wereng hijau (vektor), terutama *Nephotettix virescens* (Distant) secara semipersisten. Luas penularan tungro pada pertanaman padi pada MT 2009/10-2014 mencapai 4418 ha yang tersebar di 33 provinsi (Gabriel *et al.* 2015). Penularan tungro pada MT 2016/2017 diperkirakan 674 ha, tersebar di 16 provinsi dengan lima wilayah penularan terluas di Jawa Barat, Sumatera Barat, Jawa Timur, Bali, dan Sulawesi Selatan (Kusprayogie *et al.* 2016).

Penggunaan varietas tahan (virus tungro dan vektor) efektif mengendalikan tungro (Angeles *et al.* 2008), ramah lingkungan, dan mudah diterima petani (Khoury and Makkouk 2010). Pengendalian tungro menggunakan beberapa varietas tahan dengan berbagai sumber gen ketahanan sesuai diterapkan di daerah endemis di Asia Tenggara (Azzam and Chancellor 2002). Salah satu hambatan dalam penggunaan varietas tahan adalah durabilitas ketahanan yang menurun akibat tekanan seleksi populasi dan variasi virulensi patogen (Fabre *et al.* 2012). Keceragaman varietas tahan yang ditanam di suatu wilayah juga akan mempermudah vektor untuk beradaptasi dan mempercepat mutasi virus tungro, sehingga ketahanan varietas tidak dapat berlangsung lama. Ketahanan varietas juga bersifat spesifik isolat di daerah tertentu. Artinya, suatu varietas menunjukkan reaksi tahan di daerah tertentu tetapi belum tentu tahan terhadap isolat virus tungro di daerah lain. Hal tersebut mengindikasikan adanya variasi virulensi virus tungro dari berbagai daerah yang berbeda. Durabilitas ketahanan varietas menjadi perhatian penting dalam pengendalian penyakit sehingga pemilihan tetua sebagai sumber dan kombinasi gen ketahanan berdasarkan kesesuaian interaksi patogen dengan ketahanan varietas sangat diperlukan dalam strategi perakitan varietas tahan (Palloix *et al.* 2009, Zhang *et al.* 2009).

Selama ini kejadian tungro sering ditemukan pada varietas yang sama di beberapa daerah endemis yang secara geografis berbeda dengan tingkat keparahan penularan yang bervariasi. Keragaman virulensi virus tungro di berbagai daerah endemis merupakan informasi penting untuk menentukan strategi pengendalian yang berkaitan dengan penggunaan varietas tahan (Druka dan Hull 2010, Sharma *et al.* 2011). Interaksi patogen dengan ketahanan varietas merupakan dasar utama dalam penyusunan strategi pengelolaan varietas tahan di suatu

wilayah untuk mencegah terjadinya epidemi penyakit (Papaix *et al.* 2011). Pengendalian tungro menggunakan varietas tahan harus disesuaikan dengan variasi virulensi virus tungro, sehingga diperlukan ketersediaan dan pemetaan dalam distribusi varietas tahan. Informasi keragaman genetik dan virulensi virus tungro dari berbagai daerah endemis di Indonesia diperlukan untuk mengetahui sebaran virus tungro berdasarkan virulensinya. Hal ini penting sebagai pertimbangan dalam pengendalian tungro menggunakan varietas tahan yang sesuai, pemantauan epidemi tungro di daerah endemis, dan menjadi dasar dalam perakitan varietas tahan virus tungro, baik secara konvensional maupun rekayasa genetik.

Tulisan ini membahas keragaman genetik dan virulensi virus tungro, hubungan antara keragaman genetik dengan virulensi virus tungro, serta pengelolaan virus tungro berdasarkan keragaman genetik dan virulensinya mendukung pengendalian dan pemantauan penyakit tungro pada tanaman padi.

KERAGAMAN GENETIK VIRUS TUNGRO

Keragaman genetik virus tungro dapat terjadi karena adanya perubahan sekuen nukleotida penyusun DNA atau RNA virus tungro, mutasi, rekombinasi atau migrasi gen. Perubahan sekuen nukleotida dapat menyebabkan perubahan protein yang diekspresi, sehingga mempengaruhi reaksinya terhadap tanaman padi seperti perubahan virulensi (Garcia-Arenal *et al.* 2003). Keragaman genetik RTSV tidak berkorelasi dengan RTBV karena tingkat variasi nukleotida yang tinggi pada genom RNA RTSV (Druka and Hull 2010). Analisis keragaman genetik virus tungro telah dilakukan di beberapa negara Asia dan Asia Tenggara. Di Indonesia, telah dilakukan karakterisasi keragaman genetik sekuen gen *coat protein* (CP) pada isolat RTBV dari beberapa daerah endemis yang berbeda (Suprihanto 2005, Suprihanto *et al.* 2007). Praptana *et al.* (2014) juga telah mengidentifikasi keragaman genetik RTBV berdasarkan sebagian sekuen ORF2 dan RTSV pada sebagian sekuen gen CP2 dari beberapa isolat virus tungro asal daerah endemis yang berbeda.

Keragaman genetik RTBV dari empat daerah di India telah diketahui berdasarkan perbedaan dari sekuen utuh maupun sekuen gen CP (Sharma *et al.* 2011). Analisis keragaman genetik terhadap beberapa isolat RTBV dari daerah endemis yang berbeda di India menunjukkan adanya keragaman genetik antarisolat (Mangrauthia *et al.* 2012, Banerjee *et al.* 2012). Isolat RTBV dari India tergabung dalam kelompok yang terpisah jauh dengan isolat asal Thailand, Malaysia, dan Filipina (Sharma *et*

al. 2011). Isolat baru RTBV dari Chinsura mempunyai kedekatan genetik dengan kelompok isolat RTBV asal Asia Selatan dan berkerabat jauh dengan kelompok isolat RTBV asal Asia Tenggara (Banerjee *et al.* 2011). Keragaman genetik RTBV telah terdeteksi di antara beberapa daerah endemis dengan geografi yang berbeda (Arboleda and Azzam 2000, Nath *et al.* 2002, Joshi *et al.* 2003, Druka and Hull 2010, Sharma *et al.* 2011), demikian juga RTSV (Verma and Dasgupta 2007). Keragaman genetik dan virulensi virus tungro di Asia Tenggara berbeda dengan Asia Selatan (Azzam and Chancellor 2002).

Analisis PCR-RFLP telah dilakukan terhadap sekuen gen CP pada delapan isolat RTBV dari daerah yang berbeda di Indonesia, yaitu Jabar-1, Jabar-2, Jateng, Jatim, Bali, NTB, Kalsel, dan Sulsel menggunakan enzim *EcoRV* dan *PstI* (Suprihanto 2005), serta isolat dari tiga daerah endemis yang berbeda, yaitu Medan, Serang, dan Manokwari menggunakan enzim *EcoRV*, *NsiI* dan *PstI* yang menunjukkan keragaman genetik antarisolat (Suprihanto *et al.* 2007). Teknik PCR-RFLP telah digunakan untuk mengetahui variabilitas RTBV dari berbagai daerah di India yang menunjukkan adanya infeksi campuran antara strain RTBV yang berbeda di dalam satu daerah endemis. Analisis PCR-RFLP telah dilakukan terhadap sebagian sekuen ORF3 dan ORF4 pada enam isolat RTBV dari daerah endemis yang berbeda di India, yaitu West Bengal, Tamil Nadu, Punjab, Andhra Pradesh, Orissa, dan Assam menggunakan enzim *MseI*, yang menunjukkan keragaman molekuler antarisolat (Joshi *et al.* 2003). Analisis PCR-RFLP terhadap sekuen CP1 - CP2 pada kelompok isolat RTSV dari dua provinsi di Filipina, yaitu North Cotabato dan Nueva Ecija, serta kelompok isolat dari dua daerah endemis di Indonesia, yaitu Bali dan Subang menggunakan enzim *BstYI* dan *HindIII*, menunjukkan keragaman genetik antarkelompok isolat (Azzam *et al.* 2000a).

Berdasarkan teknik RFLP dan analisis sekuen sebagian dari genomnya, RTBV di Asia dibagi menjadi dua kelompok, yaitu *Indian subcontinent* dan *Southeast Asia continent* (Fan *et al.* 1996). Analisis sekuen utuh dua isolat RTBV dari daerah yang berbeda di India menunjukkan terjadi sejumlah insersi (*insertions*), delesi (*deletions*), dan substitusi (*substitutions*) pada daerah intergen (*intergenic regions*) yang membedakan antara keduanya (Nath *et al.* 2002). Analisis sekuen utuh dari strain RTSV-Vt6 dan RTSV-A-Shen menunjukkan antara keduanya mempunyai homologi 90% pada sekuen nukleotida dan 95% pada asam amino (Isogai *et al.* 2000). Analisis sekuen dan kekerabatan terhadap dua isolat RTSV dari daerah yang berbeda di India menunjukkan keduanya berhubungan erat dengan strain RTSV-Vt6 dari Filipina (Verma and Dasgupta 2007).

Variasi basa nukleotida pada sekuen ORF2 juga terjadi pada enam strain RTBV dari Filipina, yaitu Phi-1, Phi-2, Phi-3, G1, G2 dan Ic yang dibandingkan dengan strain Serdang dari Malaysia (Cabauatan *et al.* 1999). Analisis sekuen pada *intergenic region* dan sebagian sekuen ORF1 dari beberapa isolat RTBV yang berasal dari Indonesia (Subang), Malaysia (Serdang), Filipina dan Vietnam menunjukkan sejumlah variasi basa nukleotida (Azzam *et al.* 2000b). Substitusi basa nukleotida juga terjadi pada sebagian sekuen ORF4 beberapa isolat RTBV dari wilayah yang sama di Filipina (Villegas *et al.* 1997). Perbedaan signifikan antara isolat RTBV dari *Indian subcontinent* dengan Asia Tenggara adalah terjadinya *deletions* 64 bp pada sekuen ORF4 yang merupakan isolat dari Asia Tenggara (Fan *et al.* 1996). Substitusi sejumlah basa nukleotida di bagian ujung C-terminal pada *ribonuclease H* menyebabkan perubahan dua jenis asam amino yang membedakan antara RTBV isolat West Bengal dan Andhra Pradesh (Nath *et al.* 2002). Substitusi basa nukleotida yang terjadi pada ORF2 dari RTBV isolat West Bengal, Andhra Pradesh, dan Kanyakumari tidak menyebabkan perubahan asam amino dan kesamaan sekuen asam amino dari ketiganya sebesar 100% (Sharma *et al.* 2011).

Analisis sekuen CP1 beberapa isolat RTSV dari daerah endemis di Bali, Subang, North Cotabato, Nueva Ecija, dan koleksi IRRI menunjukkan variasi basa nukleotida antar dan intraisolat (Azzam *et al.* 2000a). Analisis homologi sekuen ORF2 RTBV isolat DIY, NTB, dan Sulteng menunjukkan kesamaan basa nukleotida dan asam amino pada ketiga isolat, berturut-turut 94-98% dan 97-100%. Dibandingkan dengan isolat dari Malaysia, Filipina, Thailand, dan India, ketiga isolat tersebut memiliki kesamaan genetik 77-95% berdasarkan sekuen basa nukleotida dan 82-98% berdasarkan asam amino. Keragaman dan hubungan kekerabatan genetik ketiga isolat tersebut tidak berkorelasi dengan perbedaan geografi daerah endemis. Keragaman genetik ketiga isolat RTBV dari Indonesia berbeda dengan kelompok RTBV dari Malaysia, Filipina, Thailand, dan India (Praptana *et al.* 2014).

KERAGAMAN VIRULENSI VIRUS TUNGRO

Virulensi virus ditentukan oleh keberadaan sejumlah gen yang bertanggung jawab terhadap patogenisitas, sehingga perbedaan virulensi menunjukkan keragaman genetik virus (Valkonen 2002). Membedakan kemampuan dalam menginfeksi dan tingkat keparahan gejala yang ditimbulkan merupakan tahap yang diperlukan dalam identifikasi keragaman virus tungro (Azzam and Chancellor 2002). Perbedaan strain virus tungro merupakan salah satu faktor yang menyebabkan variasi

keparahan gejala tungro (Choi *et al.* 2009). Variasi gejala dan respon tanaman menjadi dasar untuk menentukan strain virus tungro yang berbeda (Cabauatan *et al.* 1998).

Empat strain RTBV dari Filipina, yaitu L, G1, G2, dan Ic, menyebabkan gejala kerdil dan perubahan warna daun dengan tingkat keparahan yang berbeda antara strain satu dengan lainnya. Infeksi RTBV strain Ic pada varietas FK135 menyebabkan tanaman tumbuh sangat kerdil, jumlah anakan berkurang, dan klorosis pada ujung daun. Infeksi oleh strain G1 dan G2 mengakibatkan tanaman tumbuh agak kerdil dan tetap hijau. Infeksi oleh strain Ic pada varietas TN1 mengakibatkan gejala agak kerdil, sedangkan infeksi oleh strain G2 mengakibatkan gejala sangat kerdil dan daun berwarna kuning oranye. TKM6 merupakan varietas padi yang rentan terhadap strain RTSV-Vt6 dan tahan terhadap RTSV-A-Shen. Tanaman TKM6 yang diinfeksi RTSV-Vt6 dan RTBV menunjukkan gejala sangat kerdil dan berwarna kuning oranye (Cabauatan *et al.* 1995). Strain Vt6 yang berasal dari Mindanao merupakan strain RTSV yang paling virulen di antara strain atau isolat RTSV yang lain pada varietas tahan (Isogai *et al.* 2000).

Berdasarkan tingkat keparahan gejala terdapat indikasi variasi virulensi virus tungro dari daerah yang berbeda terhadap varietas tahan. Hasil penularan virus tungro isolat Jawa Barat (Jabar), Jawa Tengah (Jateng), Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY), Jawa Timur (Jatim), dan Bali menggunakan koloni vektor asal Subang pada lima varietas tahan tungro (Tukad Petanu, Tukad Unda, Tukad Balian, Kalimas, dan Bondoyudo) menunjukkan variasi virulensi antarisolat tersebut (Widiarta *et al.* 2004). Berdasarkan variasi virulensi virus tungro dari 15 daerah endemis terhadap golongan varietas tahan, berdasarkan sumber tetua tahan, diketahui virulensi isolat virus dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu sangat ganas, ganas, dan lemah (Widiarta dan Pakki 2015). Isolat virus tungro Sulawesi Utara termasuk sangat ganas, sedangkan isolat Bali, DIY, Banten, dan Kalimantan Selatan termasuk ganas. Hasil penularan isolat virus tungro asal Manokwari, Medan, dan Serang pada varietas TN1 dan FK 135 menggunakan koloni vektor dari Subang juga menunjukkan variasi virulensi antarisolat (Suprihanto *et al.* 2007). Hasil uji multilokasi varietas Tukad Petanu di beberapa daerah endemis menunjukkan perbedaan virulensi virus tungro dari Bali, Jabar, dan Nusa Tenggara Barat (Choi 2004).

Hasil uji kesesuaian varietas tahan melalui penularan buatan menggunakan vektor koloni Subang menunjukkan varietas Utri Merah, Utri Rajapan, Habiganj dan ARC sesuai untuk isolat Jabar, Jateng, Jatim, dan Bali, namun ARC tidak sesuai untuk isolat DIY (Widiarta *et al.* 2004). Varietas Utri Merah 16680, Utri Rajapan, ARC 11544 dan

Tukad Unda memberikan respons ketahanan yang sama setelah diinokulasi dengan isolat dari Sulawesi Selatan (Sulsel), Sulawesi Barat (Sulbar), Sulawesi Tengah (Sulteng), dan Sulawesi Tenggara (Sultra) menggunakan koloni vektor asal Sidrap, sehingga ketiga varietas tersebut sesuai untuk keempat isolat (Praptana *et al.* 2008). Hasil penelitian menunjukkan tidak semua varietas sesuai dengan semua isolat virus tungro. Patogenisitas virus tungro dari beberapa daerah endemis di Indonesia bervariasi pada beberapa varietas tetua tahan tungro. Varietas Utri Merah 16680, Utri Merah 16682, Utri Rajapan, ARC 11554, ARC 12596 dan TKM 6 sesuai untuk semua isolat, sedangkan varietas yang lain hanya sesuai untuk beberapa isolat tertentu. Isolat Jateng, Sulteng, dan NTB mampu menginfeksi semua varietas dan virulensi isolat Jateng paling tinggi dibanding isolat lain (Praptana *et al.* 2013).

Berdasarkan keragaman genetik pada virus tungro diperlukan varietas tahan dengan latar belakang genetik yang berbeda untuk menjaga durabilitas ketahanannya (Azzam and Canechellor 2002). Oleh karena itu, tidak semua varietas tahan dapat digunakan untuk mengendalikan tungro di semua daerah endemis, namun harus disesuaikan dengan variasi virulensinya. Beberapa varietas tahan tungro yang sudah dilepas seperti Tukad Petanu dianjurkan untuk ditanam di seluruh daerah endemis; Tukad Unda di Nusa Tenggara Barat dan Sulawesi Selatan, sedangkan Tukad Balian hanya sesuai dikembangkan di Bali dan Sulawesi Selatan (Widiarta *et al.* 2004). Dengan demikian informasi ketahanan dan kesesuaian varietas tahan terhadap masing-masing isolat virus tungro yang berasal dari berbagai daerah endemis diperlukan sebagai dasar pengendalian dan perakitan varietas tahan tungro spesifik isolat.

HUBUNGAN KERAGAMAN GENETIK DENGAN VIRULENSI VIRUS TUNGRO

Membandingkan sekuen nukleotida antarisolat virus yang berbeda virulensi biasa digunakan untuk identifikasi gen yang berhubungan dengan virulensi (Valkonen 2002). Jika tingkat kesamaan asam amino <70% dengan isolat yang sudah diidentifikasi berarti isolat tersebut merupakan spesies yang berbeda (van Regenmortel *et al.* 2000). Keragaman genetik RTBV dan RTSV ditunjukkan oleh variasi basa nukleotida penyusun sekuen DNA dan asam amino yang terbentuk. Masing-masing isolat virus tungro mempunyai jenis asam amino spesifik yang membedakan antara isolat yang satu dengan lainnya. Adanya sejumlah asam amino yang berbeda di antara isolat, baik RTBV maupun RTSV, akan menghasilkan ekspresi protein yang berbeda. Hal tersebut mengindikasikan adanya interaksi

spesifik antara kedua virus tungro, virus tungro dengan tanaman, dan virus tungro dengan vektor, baik dalam proses infeksi maupun penularan, pada lingkungan masing-masing daerah endemis.

Namun demikian, korelasi antara keragaman genetik dengan virulensi tidak dapat hanya dilihat dari salah satu virus tungro, karena keparahan gejala ditentukan oleh infeksi kedua virus. Oleh karena itu, kekerabatan genetik antarisolat virus tungro tidak berkorelasi dengan virulensi. Hasil analisis sekuen gen CP pada RTSV Vt6 dan A-Shen yang sangat berlawanan virulensinya menunjukkan CP pada kedua strain tersebut tidak berkorelasi dengan virulensi (Isogai *et al.* 2000). Tingkat kesamaan basa nukleotida dan asam amino dari ORF2 antara RTBV isolat Filipina dan G2 adalah 100%, namun masing-masing dapat menimbulkan gejala yang berbeda. Lain halnya RTBV strain G1 dan Ic, dalam genom keduanya hanya terdapat sedikit variasi basa nukleotida, namun penularan masing-masing strain dengan vektor dan RTSV yang sama pada varietas FK 135 menghasilkan gejala yang berbeda (Cabauatan *et al.* 1999). Perbedaan tingkat keparahan gejala juga dapat disebabkan oleh beberapa isolat *Cauliflower Mosaic Virus* (CaMV) dengan perbedaan sekuen basa nukleotida antarisolat sebesar 5% (Frischmuth 2002).

Keragaman dan hubungan kekerabatan genetik virus tungro tidak berkorelasi dengan perbedaan geografis daerah endemis dan virulensi (Praptana *et al.* 2014). Diduga virulensi virus tungro melibatkan interaksi sejumlah gen dalam genom dan interaksi kedua partikel virus. Virulensi virus dapat ditentukan oleh beberapa gen yang terekspresi secara bersama-sama (Valkonen 2002). RTBV tidak memiliki kekerabatan serologi dengan RTSV, dan keduanya dapat menginfeksi satu sel tanaman secara bersama-sama tanpa mengakibatkan proteksi silang antara keduanya (Hasanuddin 2008). Ekspresi ORF2 RTBV berperan dalam mengikat asam nukleat. Viabilitas RTBV berkorelasi dengan kemampuan ORF2 untuk berinteraksi dengan CP dan diduga berperan dalam proses kapsidasi (Herzog *et al.* 2000). Perbedaan sejumlah asam amino antara isolat perlu dibuktikan korelasi dengan virulensi melalui penelitian lebih lanjut. Diduga terdapat sejumlah basa nukleotida yang berbeda di sepanjang bagian genom lainnya pada masing-masing isolat sehingga memungkinkan adanya perbedaan sejumlah asam amino. Oleh karena itu, analisis sekuen pada bagian genom yang lain dari setiap isolat diperlukan untuk memperoleh data keragaman molekular virus tungro yang lebih lengkap.

Variasi insidensi tungro pada berbagai varietas akibat infeksi beberapa isolat virus merupakan hasil interaksi spesifik antara isolat virus tungro, koloni vektor, dan

varietas tahan tertentu. Beberapa varietas yang diinokulasi dengan isolat virus tungro tertentu menggunakan koloni vektor yang berbeda menghasilkan respons yang sama atau berbeda jika diinokulasi dengan beberapa isolat menggunakan koloni vektor dari asal isolat masing-masing. Demikian juga dengan penularan beberapa isolat virus tungro pada satu atau lebih varietas menggunakan koloni vektor yang sama, menghasilkan respons yang sama atau berbeda. Beberapa varietas dapat memberikan respons ketahanan yang sama terhadap infeksi isolat virus tungro tertentu walaupun memiliki latar belakang gen ketahanan yang berbeda. Setiap koloni vektor mempunyai kemampuan menularkan virus yang berbeda dengan koloni yang lain. Berdasarkan insidensi tungro diketahui variasi efisiensi kemampuan penularan virus tungro antarkoloni vektor dari Jabar, Jateng, DIY, Jatim, Bali, NTB dan Sulsel pada berbagai golongan varietas tahan dengan isolat Bogor sebagai sumber inokulum (Widiarta *et al.* 2004).

PENGELOLAAN VIRUS TUNGRO BERDASARKAN KERAGAMAN GENETIK DAN VIRULENSI

Varietas Tahan Spesifik Isolat Virus Tungro

Perbaikan ketahanan perlu diarahkan pada varietas yang bersifat spesifik isolat untuk mengatasi isolat virus tungro di daerah endemis tertentu. Hal ini karena adanya perbedaan strain virus yang berbeda secara genetik, sehingga berpengaruh pada variasi virulensi yang terlihat dari variasi keparahan gejala tungro (Choi *et al.* 2009). Keragaman dan kekerabatan genetik isolat RTBV dan RTSV di berbagai daerah endemis merupakan informasi yang sangat penting untuk menentukan strategi pengendalian menggunakan varietas tahan (Sharma *et al.* 2011), baik melalui perakitan dan perbaikan varietas tahan spesifik isolat virus tungro, pergiliran varietas tahan maupun penanaman multivarietas. Untuk menjaga durabilitas ketahanan, diperlukan beberapa varietas tahan dengan latar belakang genetik yang berbeda (Azzam and Cancellor 2002). Diversifikasi varietas tahan dengan latar belakang genetik yang berbeda dengan keragaman gen ketahanan terhadap virus tungro yang beragam genetik dan virulensi berperan penting dalam pengendalian penyakit ini secara berkelanjutan (Skelsey *et al.* 2005).

Perbaikan dan perakitan varietas tahan tungro menggunakan materi tetua tahan yang telah diketahui kesesuaiannya terhadap berbagai isolat dari daerah endemis menghasilkan beberapa varietas tahan tungro spesifik isolat dengan latar belakang genetik yang berbeda (Praptana dan Muliadi 2013). Oleh karena itu, perlu dilakukan pemilihan tetua sebagai sumber dan kombinasi

gen ketahanan berdasarkan kesesuaian interaksinya dengan patogen (Palloix *et al.* 2009). Ketersediaan beberapa varietas tahan tungro dengan berbagai gen ketahanan mendukung program pergiliran varietas dalam pengendalian tungro, memperluas preferensi konsumen, dan menjaga durabilitas ketahanan terhadap virus dan wereng hijau. Perakitan dan perbaikan varietas tahan spesifik isolat virus tungro serta pergiliran varietas tahan membutuhkan informasi tentang keragaman genetik dan virulensi isolat dan keragaman gen ketahanan terhadap virus tungro.

Tingkat ketahanan suatu varietas terhadap virus tungro dan virulensinya berpengaruh terhadap tingkat keparahan penularan. Suatu varietas dikatakan sesuai untuk isolat virus tungro tertentu jika memberikan respons tahan. Terdapat indikasi variasi virulensi virus tungro dari beberapa daerah endemis di Indonesia sehingga diperlukan beberapa varietas tahan berdasarkan kesesuaiannya terhadap isolat virus tungro tertentu. Kesesuaian varietas tahan terhadap mendukung usaha pengendalian tungro spesifik isolat (Widiarta *et al.* 2004).

Penanda Genetik dan Deteksi Dini untuk Pemantauan Epidemi Tungro

Kompleksitas interaksi antara virus tungro, vektor, varietas, dan lingkungan berpengaruh terhadap keragaman genetik virus tungro. Informasi keragaman genetik virus tanaman dan perubahan yang terjadi akibat interaksinya dengan vektor, varietas, dan lingkungan diperlukan dalam pemantauan ketahanan varietas (Schneider and Roossinck 2001). Patogenisitas virus terhadap setiap varietas tahan di suatu wilayah perlu dipantau secara berkala karena ada indikasi perubahan tingkat patogenisitas yang ditunjukkan oleh suatu varietas yang sebelumnya tahan menjadi tidak tahan (Janzac *et al.* 2009).

Keragaman molekuler RTBV dan RTSV berdasarkan analisis PCR-RFLP dapat menjadi dasar untuk mendeteksi dan memantau penyebaran virus tungro. Pola potongan pita DNA pada masing-masing isolat dapat digunakan sebagai penanda (*marker*) dalam identifikasi keragaman isolat di daerah endemis yang sama maupun di daerah baru yang tidak ada penularan sebelumnya, dari musim ke musim dan pada berbagai varietas. Kombinasi potongan pita DNA RTBV dan RTSV pada suatu daerah endemis tungro dapat dikorelasikan dengan insiden penyakit tungro. Perubahan komposisi dan keragaman genetik RTBV dan RTSV telah diamati pada musim kemarau dan musim hujan di suatu daerah di Filipina (Azzam *et al.* 2000b). Keragaman isolat RTBV di daerah yang sama telah terdeteksi melalui analisis PCR-

RFLP dengan waktu pengambilan sampel dan dari varietas yang berbeda (Joshi *et al.* 2003). Analisis PCR-RFLP biasa digunakan untuk mendeteksi atau membuktikan mutasi spesifik pada *restriction site* yang ditambahkan atau dihilangkan setelah diketahui peta restriksi sekuen DNA hasil PCR yang akan dianalisis (McPherson and Moller 2006).

Sekuen DNA spesifik dari isolat virus tungro dapat digunakan sebagai template dalam pembentukan DNA rekombinan untuk pembuatan antibodi spesifik yang digunakan untuk deteksi dini virus tungro melalui teknik serologi. Pembuatan antibodi virus tungro dapat dilakukan dengan teknik PCR-*cloning*. Antibodi diperlukan untuk deteksi dini dan pemantauan epidemi virus tungro, dan dibutuhkan dalam jumlah banyak untuk seleksi ketahanan galur padi dalam perakitan varietas tahan virus tungro. Fung *et al.* (2017) telah berhasil membuat DNA rekombinan dari CP2 RTSV yang terekspresi dalam *E. coli* membentuk antiserum dan sangat berguna dalam produksi antibodi spesifik isolat RTSV.

Rekayasa Genetik untuk Pengendalian Virus Tungro

Rekayasa genetik untuk mendapatkan tanaman tahan virus yang diekspresikan berdasarkan gen virus yang dimasukkan ke dalam tanaman (*pathogen derived resistance*, PDR) (Sasaya *et al.* 2014) atau memindahkan gen virus ke dalam tanaman melalui teknik *protein-mediated resistance* dan *RNA-mediated resistance* (Dai and Beachy 2009) telah banyak dilakukan.. Sekuen gen virus tungro dapat dimodifikasi sebagai bahan transgen untuk mendapatkan varietas padi tahan virus tungro. Beberapa PDR yang dapat digunakan dalam perakitan tanaman transgenik adalah *coat protein-mediated resistance* (CP-MR), *replicase protein-mediated resistance* (Rep-MR), *movement protein-mediated resistance* (MP-MR), *satellite RNA* (sat RNA), dan *defective-interfering viral nucleic acids* (Zhang *et al.* 2009). Teknologi perakitan tanaman transgenik untuk ketahanan terhadap virus yang telah banyak dilakukan adalah *small RNA based genetic engineering* (SRGE) (Khalid *et al.* 2017).

Saat ini beberapa teknik rekayasa genetik yang telah digunakan untuk merakit tanaman padi transgenik tahan virus tungro adalah *coat protein mediated resistance* (Sivamani *et al.* 1999, Ganesan *et al.* 2009), *RNA interference-mediated resistance* (Tyagi *et al.* 2008, Verma *et al.* 2012, Roy *et al.* 2012, Le *et al.* 2015), dan *virus-induced gene silencing* (VIGS) (Purkayastha *et al.* 2010), untuk ketahanan terhadap RTBV.

KESIMPULAN

Keragaman genetik dan virulensi virus tungro dapat terjadi dalam suatu daerah endemis dan di antara daerah endemis yang secara geografis berbeda. Keragaman genetik virus tungro tidak berkorelasi dengan virulensinya. Virulensi virus tungro ditentukan oleh interaksi spesifik antara dua jenis virus tungro yang menginfeksi, vektor yang menularkan, dan ketahanan varietas padi. Informasi keragaman genetik dan virulensi virus tungro menjadi dasar dalam perakitan varietas spesifik isolat, pemantauan dan deteksi dini virus tungro, serta rekayasa genetik untuk mendapatkan varietas tahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Angeles, E.R., R.C. Cabunagan, R.E. Tabien, and G.S. Khush. 2008. Resistance to tungro vectors and viruses. p. 117-141. *In*: Tiongco, E.R., E.R. Angeles, and L.S. Sebastian (eds.). Rice tungro virus disease: a paradigm in disease management. Science City of Munoz, Nueva Ecija: Philippine Rice Research Institute and Honda Research Institute Japan Co. Ltd., 2008.
- Arboleda, M. and O. Azzam. 2000. Inter- and intra-site genetic diversity of natural field populations of rice tungro bacilliform virus in the Philippines. *Archives of Virology* 145: 275-289.
- Azzam, O., M.L.M. Yambao, M. Muhsin, K.L. McNally, and K.M.L. Umadhy. 2000a. Genetic diversity of rice tungro spherical virus in tungro-endemic provinces of the Philippines and Indonesia. *Archives of Virology* 145:1183-1197.
- Azzam, O., M. Arboleda, K.M.L. Umadhy, J.B. de los Reyes, F.S. Cruz, A. Mackenzie, and K.L. McNally. 2000b. Genetic composition and complexity of virus populations at tungro-endemic and outbreak rice sites. *Archives of Virology* 145:2643-2657.
- Azzam, O. and T.C.B. Chancellor. 2002. The biology, epidemiology and management of rice tungro disease in Asia. *Plant Disease* 86:88-100.
- Banerjee, A., S. Roy and J. Tarafdar. 2011. Phylogenetic analysis of Rice tungro bacilliform virus ORFs revealed strong correlation between evolution and geographical distribution. *Virus Genes* 43(3): 398-408.
- Banerjee, A., S. Roy, and J. Tarafdar. 2012. The large intergenic region of Rice tungro bacilliform virus evolved differentially among geographically distinguished isolates. *Virus Genes*. 44(2):312-318.
- Cabauatan, P.Q., R.C. Cabunagan, and H. Koganezawa. 1995. Biological variants of rice tungro viruses in the Philippines. *Phytopathology* 85(1):77-81.
- Cabauatan, P.Q., M. Arboleda, and O. Azzam. 1998. Differentiation of rice tungro bacilliform virus strains by restriction analysis and DNA hybridization. *J. Virol. Methods* 76:121-126.
- Cabauatan, P.Q., U. Melcher, K. Ishikawa, T. Omura, H. Hibino, H. Koganezawa, and O. Azzam. 1999. Sequence changes in six variants of rice tungro bacilliform virus and their phylogenetic relationships. *J. General Virol.* 80:2229-2237.
- Choi, R.I. 2004. Current status of rice tungro disease research and future program. p. 3-14. *In*: Hasanuddin, A., I.N. Widiarta, dan Sunihardi (eds.). Strategi Pengendalian Penyakit Tungro: Status dan Program. Prosiding Seminar Nasional Status Program Penelitian Tungro Mendukung Keberlanjutan Produksi Padi Nasional. Makassar, 7-8 September 2004.
- Choi, I.R., P.Q. Cabauatan, and R.C. Cabunagan. 2009. Rice tungro disease. *Rice Fact Sheet IRRI*, Sept. 2009:1-4.
- Dai, S. and R.N. Beachy. 2009. Genetic engineering of rice to resist rice tungro disease. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 45:517-524.
- Druka, A. and R. Hull. 2010. Variation of rice tungro viruses: Further evidence of two rice tungro Bacilliform virus strains and possibly several rice tungro spherical virus variants. *J. Phytopathol.* 146(4):175-178.
- Fabre, F., E. Rousseau, L. Mailleret, and B. Moury. 2012. Durable strategies to deploy plant resistance in agricultural landscapes. *New Phytol.* 193(4):1064-1075.
- Fan, Z., G. Dahal, I. Dasgupta, J. Hay, and R. Hull. 1996. Variation in the genome of rice tungro bacilliform virus: Molecular characterization of six isolates. *J. General Virol.* 77:847-854.
- Frischmuth, T. 2002. Recombination in plant DNA viruses. p. 339-363. *In*: Khan, J.A. and J. Diikstra (eds.). Plant viruses as molecular pathogens. Haworth Press, 2002.
- Fung, Y.S., C.C. Huay, E. Poilli, and M.S.H. Sum. 2017. Expression and the antigenicity of recombinant coat proteins of tungro viruses expressed in *Escherichia coli*. *J. Virol. Methods* 240:69-72.
- Gabriel, D.R., B.L. Ashar, and D. Darmadi, 2011. Prakiraan serangan OPT utama padi pada MT 2015. *Majalah Peramalan OPT* 14/1/Mei/2015.
- Ganesan, U., S.S. Suri, S. Rajasubramaniam, M.V. Rajam, and I. Dasgupta. 2009. Transgenic expression of coat protein gene of rice tungro bacilliform virus in rice reduces the accumulation of viral DNA in inoculated plants. *Virus Genes*. 39(1):113-9.
- García-Arenal, F., A. Fraile, and J.M. Malpica. 2003. Variation and evolution of plant virus populations. *Internat'l. Microbiol.* 6:225-232.
- Hasanuddin, A. 2008. Perbaikan ketahanan varietas padi terhadap penyakit tungro. *Iptek Tanaman Pangan* 3(2):215-228.
- Herzog, E., O. Guerra-Peraza, and T. Hohn. 2000. The rice tungro bacilliform virus gene II product interacts with the coat protein domain of the viral gene III polyprotein. *J. Virol.* 74(5):2073-2083.
- Isogai, M., P.Q. Cabauatan, C. Masuta, I. Uyeda, and O. Azzam. 2000. Complete nucleotide sequence of rice

- tungro spherical virus genome of the highly virulent strain Vt6. *Virus Genes*. 20(1):79-85.
- Janzac, B., F. Fabre, A. Palloix, and B. Moury. 2009. Constraints on evolution of virus avirulence factors predict the durability of corresponding plant resistances. *Mol. Plant Pathol.* 10(5):599-610.
- Joshi, R., V. Kumar, and I. Dasgupta. 2003. Detection of molecular variability in rice tungro bacilliform viruses from India using polymerase chain reaction/-restriction fragment length polymorphism. *J. Virol. Methods* 109:89-93.
- Khalid, A., Q. Zhang, M. Yasir, and F. Li. 2017. Small RNA based genetic engineering for plant viral resistance: application in crop protection. *Frontiers in Microbiology* 8(43):1-11.
- Khoury, W.E. and K. Makkouk. 2010. Integrated plant disease management in developing countries. *J. Plant Pathol.* 92(4):35-42.
- Kusprayogie, Y., D. Darmadi, dan Sujiono. 2016. Prakiraan serangan OPT utama padi MT 2016/2017. *Majalah Peramalan OPT 16/2/Oktobre/2016*.
- Le, D.T., H.D. Chu, and T. Sasaya. 2015. Creation of transgenic rice plants producing small interfering RNA of rice tungro spherical virus. *GM Crops & Food* 6:47-53.
- Mangrauthia, S.K., P. Malathi, S. Agarwal, B. Sailaja, J. Singh, G. Ramkumar, D. Krishnaveni, and S.M. Balachandran. 2012. The molecular diversity and evolution of rice tungro bacilliform virus from Indian perspective. *Virus Genes*. 2012 45(1):126-138.
- McPherson, M.J. and S.G. Moller. 2006. *PCR*, Second Edition. Taylor & Francis Group. 305 p.
- Nath, N., S. Mathur, and I. Dasgupta. 2002. Molecular analysis of two complete rice tungro bacilliform virus genomic sequences from India. *Arch. Virology* 147:1173-1187.
- Palloix, A., V. Ayme, and B. Moury. 2009. Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytologist* 183:190-199.
- Papaix, J., H. Goyeau, P.D. Cheyron, H. Monod, and C. Lannou. 2011. Influence of cultivated landscape composition on variety resistance: an assessment based on wheat leaf rust epidemic. *New Phytologist* 191:1095-1107.
- Praptana, R.H., T.L. Fauziah, A. Muliadi, A. Bastian, dan Burhanuddin. 2008. Kesesuaian tetua padi tahan virus tungro. *Prosiding Seminar Nasional Penyakit Tungro: Revitalisasi Strategi Pengendalian Penyakit Tungro Mendukung Upaya Peningkatan Produksi Beras Nasional*, Makassar, 5-6 September 2007.
- Praptana, R.H., Y.B. Sumardiyono, S. Hartono, dan A. Trisyono. 2013. Patogenisitas virus tungro pada varietas tetua padi tahan tungro. *J. Fitopatologi Indonesia* 9(6):186-192.
- Praptana, R.H. dan A. Muliadi. 2013. Durabilitas ketahanan varietas padi terhadap penyakit tungro. *IPTEK Tanaman Pangan* 8(1):1-7.
- Praptana, R.H., Y.B. Sumardiyono, S. Hartono, A. Trisyono, dan I. N. Widiarta. 2014. Keragaman virulensi dan konstruksi molekuler virus tungro pada Padi dari Daerah Endemis. *J. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 33(2):93-101.
- Purkayastha, A., S. Mathur, V. Verma, S. Sharma, and I. Dasgupta. 2010. Virus-induced gene silencing in rice using a vector derived from a DNA virus. *Planta*, Published online: 25 September 2010.
- Roy, S., A. Banerjee, J. Tafardar and B.K. Senapati. 2012. Transfer of transgenes for resistance to rice tungro disease into high-yielding rice cultivars through genes-based marker-assisted selection. *Journal of Agricultural Science* 150(5): 610-618.
- Sasaya, T., E.N. Nagaoka, H. Saika, H. Aoki, A. Hiraguri, O. Netsu, T.U. Ichiki, M. Onuki, S. Toki, K. Saito and O. Yatou. 2014. Transgenic strategies to confer resistance against viruses in rice plant. *Frontiers in Microbiology* 4(409):1-11.
- Schneider, W.L. and M.J. Roossinck. 2001. Genetic Diversity in RNA Virus Quasispecies is Controlled by Host-Virus Interactions. *J. Virol.* 75(14):6566-6571.
- Sharma, S., R. Rabindran, S. Robin, and I. Dasgupta. 2011. Analysis of the complete DNA sequence of rice tungro bacilliform virus from southern India indicates it to be a product of recombination. *Arch. Virology*. Published online: 25 August 2011.
- Sivamani, E., H. Huet, P. Shen, C.A. Ong, A. de Kochko, C. Fauquet, and R.N. Beachy. 1999. Rice plant (*Oryza sativa* L.) containing rice tungro spherical virus (RTSV) coat protein transgenes are resistant to virus infection. *Molecular Breeding* 5:177-185.
- Skelsey, P., W.A.H. Rossing, G.J.T. Kessel, J. Powell, and W. van der Werf. 2005. Influence of host diversity on development of epidemics: An evolution and elaboration of mixture theory. *Phytopathology* 95:328-338.
- Suprihanto. 2005. Diferensiasi beberapa isolat rice tungro virus dengan kultivar padi diferensial dan PCR-RFLP. Tesis. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Suprihanto, I.N. Widiarta, dan D. Kusdianan. 2007. Virulensi virus tungro dari tiga daerah endemis di Indonesia. *Prosiding Seminar Apresiasi Hasil Penelitian Padi Menunjang P2BN 2007*.
- Tyagi, H., S. Rajasubramaniam, M.V. Rajam, and I. Dasgupta. 2008. RNA-interference in rice against Rice tungro bacilliform virus results in its decreased accumulation in inoculated rice plants. *Transgenic Res.* 17(5):897-904.
- Valkonen, J.P.T. 2002. Natural resistance to viruses. p. 367-397. *In: Khan, J.A. and J. Diikstra (ed.). Plant Viruses as Molecular Pathogens*. Haworth Press, 2002.

- van Rogenmortel, M.H., C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, E.B. Carsten, M.K. Estes, S.M. Lemon, J. Maniloff, M.A. Mayo, D.J. Pringle, and C.R. Wickner. 2000. *Virus taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses*. Academic Press, New York. 1162 pp.
- Verma, V. and I. Dasgupta. 2007. Sequence analysis of the complete genomes of two Rice tungro spherical virus isolates from India. *Archives of Virology* 152:645-648.
- Verma, V., S. Sharma, S.V. Devi, S. Rajasubramaniam, and I. Dasgupta. 2012. Delay in virus accumulation and low virus transmission from transgenic rice plants expressing rice tungro spherical virus RNA. *Virus Genes* 45(2):350-359.
- Villegas, L.C., A. Druka, N.B. Bajet, and R. Hull. 1997. Genetic variation of rice tungro bacilliform virus in the Philippines. *Virus Genes* 15(3):195-201.
- Zhang, H., G. Li, W. Li, and F. Song. 2009. Transgenic strategies for improving rice disease resistance. *African J. Biotechnol.* 8(9):1750-1757.
- Widiarta, I.N., Burhanuddin, A.A. Daradjat, dan A. Hasanuddin. 2004. Status dan program penelitian pengendalian terpadu penyakit tungro. p.61-89. *In: Hasanuddin, A., I.N. Widiarta, dan Sunihardi (eds.). Strategi Pengendalian Penyakit Tungro: Status dan Program, Prosiding Seminar Nasional Status Program Penelitian Tungro Mendukung Keberlanjutan Produksi Padi Nasional*. Makassar, 7–8 September 2004.
- Widiarta, I.N. dan S. Pakki. 2015. Variasi virulensi virus tungro bersumber dari inokulum di daerah endemis tungro di Indonesia. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 15(1):1-9.