*Hayati*, Maret 2002, hlm. 5-9 Vol. 9, No. 1
ISSN 0854-8587

# Variasi Genetika Galur *Peanut Stripe Potyvirus* dan Hubungan Evolusinya dengan Subkelompok *Bean Common Mosaic Virus*

## *Genetic Variation of Peanut Stripe Potyvirus Strains and Their Evolutionary Relationship with Other Bean Common Mosaic Virus Subgroup*

**HASRIADI MAT AKIN‡, SUDARSONO***

*Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Faperta, Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680*

**Diterima 17 Juli 2001/Disetujui 19 September 2001**

**Experiments were conducted to determine nucleic acid sequences of coat protein (CP) cistron and 205 nucleotides part of 3' *untranslated region* (3' UTR) of peanut stripe polyvirus (PStV) genomic RNA, to study genetic variation, and analyse phylogenetic of PStV strains from Indonesia. Sequence data were also compared with sequences of PStV from Thailand, USA, South Africa and with those of viruses within bean common mosaic virus (BCNV) subgroup. The results showed variation within strains of PStV from Indonesia was only 0-2.1% at nucleic acid of the CP cistron, 0-1.4% at amino acid of the CP, and only 0-2.1% at nucleic acid of 3' UTR, respectively. Phylogenetic trees constructed based on CP cistron data indicated PStV strains from Indonesia, Thailand, and the USA were originated from the same progenitor. However, strains from Indonesia were more related to each other. Similarly, PStV strains from Thailand and the USA were also more related to strains from the same region. Phylogenetic trees using 3' UTR data for PStV and that for BCNV subgroup showed PStV from Indonesia was closely related to black eye cowpea mosaic virus (BECMV) than to PStV from Thailand, USA, or South Africa. Nucleic acid sequence of the 3'UTR also indicated PStV from Indonesia might be a recombinant virus between progenitors PStV and BECMV.**

## PENDAHULUAN

*Peanut stripe potyvirus* (PStV) adalah salah satu penyebab penyakit belang pada kacang tanah dan merupakan penyakit endemik pada kacang tanah di Indonesia (Saleh *et al.* 1989). Pertama kali PStV dilaporkan pada tahun 1983 sebagai patogen yang menimbulkan gejala belang ringan (*mild mosaic*) pada kacang tanah di RRC (Xu *et al.* 1983). Virus ini adalah salah satu spesies dari genus *potyvirus* dan famili *potyviridae* (Francki *et al.* 1991) dengan genom berupa RNA utas tunggal positif (+ ssRNA) berukuran 10 059 nukleotida (nt) di luar ekor poliadenilat (poli-A) yang berada pada ujung 3' dari genom RNA (Gunasinghe *et al.* 1994).

Taksonomi *potyvirus*, sebagai kelompok virus tumbuhan terbesar yang menyerang tanaman, sampai saat ini masih menjadi perdebatan karena besarnya variasi antara spesies (Ward & Shukla 1990). Runutan asam amino protein selubung (*coat protein*/CP) telah dicoba digunakan untuk menilai kekerabatan 17 galur dari delapan spesies *potyvirus* (Shukla & Ward 1988). Hasil kajian menunjukkan antara spesies *potyvirus* yang berbeda terdapat tingkat kesamaan runutan asam amino dari CP sebesar 38-71% dan antara galur yang berbeda dalam spesies virus yang sama mempunyai tingkat kesamaan mencapai 99%.

Frankel *et al.* (1989) melaporkan hasil studi tingkat kesamaan runutan nukleotida pada ujung 3' *untranslated region* (3' UTR) dari genom RNA beberapa galur *watermelon mosaic virus* (WMV) dan *soybean mosaic virus* (SMV). Hasil studi menunjukkan tingkat kesamaan runutan nukleotida sebesar 39-53% untuk spesies virus yang berbeda dan 83-99% untuk galur yang berbeda dalam satu spesies virus tertentu.

Berdasarkan analisis runutan asam amino dari CP maka PStV, *blackeye cowpea mosaic virus* (BlCMV), dan *azuki bean mosaic virus* (AzMV) merupakan galur dari *bean common mosaic virus* (BCMV) (Huquenot *et al*. 1994).

Penelitian ini bertujuan menentukan runutan nukleotida bagian RNA yang menyandi CP dan sebagian dari ujung 3' UTR genom RNA berbagai galur PStV asal Indonesia. Informasi yang didapat selanjutnya digunakan untuk mempelajari keragaman genetika, penyusunan pohon filogenetika, dan hubungan evolusi antara galur PStV asal Indonesia dengan virus lainnya yang tergolong dalam subkelompok BCMV.

## BAHAN DAN METODE

**Sintesis dan Penentuan Runutan Nukleotida cDNA dari Ujung 3' Genom PStV.** Sintesis cDNA untuk bagian ujung 3' genom RNA PStV dilakukan dengan teknik *reverse tran-*

‡ Alamat kini: Jurusan Proteksi Tanaman, Faperta, Universitas Lampung, Jalan Sumantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung 35145
* Penulis untuk korespondensi, E-mail: pertaipb@bogor.indo.net.id

*scription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) menggunakan *Titan One Tube* RT-PCR Kit (Boehringer Mainheinn, Germany). Primer oligonukleotida yang digunakan untuk reaksi RT-PCR ialah PST1 (5'-GCATGCCCTCGCCATTGCAA-3') dan PST4 (5'-TACATAGCAGAATCAGCACT-3'). Dengan kedua primer tersebut, reaksi RT-PCR akan menghasilkan cDNA bagian ujung 3' dari genom RNA PStV, yaitu sebagian sistron *NIb***,** seluruh sistron CP, dan sebagian ujung 3' UTR. Hasil RT-PCR dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa menggunakan TAE sebagai bufer pelari. Potongan cDNA hasil RT-PCR yang berukuran 1200 pasang basa (bp) diisolasi dari gel agarosa, dimurnikan dengan *QIAprep Spin Kit* (QIAGEN) dan diklon pada plasmid vektor pGEM-T *Easy* (Promega, Madison-USA). Plasmid rekombinan yang didapat ditransformasikan ke *Escherichia coli* DH5α *Max Efficiency competence cells* (Life Technology, Bethesda-USA).

Penentuan runutan dari cDNA tersebut dilakukan menggunakan *Big Dye Terminator Kit* (Perkin Elmer, Brancburg-USA). Primer oligonukleotida universal T7, SP6, dan empat primer internal yang berupa PST5 (5'-GCCTTTCAG TATTCTCGCTG-3'), PST7 (5'-CAATT GACATCTGTTCA TC-3'), PST8 (5'-CTTCGTCAAAT CATGCACC-3'), dan PST10 (5'-AATGATGATGACA ATGTC-3') digunakan untuk menentukan runutan nukleotida dari kedua utas cDNA.

Komposisi label warna untuk penentuan runutan nukleotida tersebut adalah 3.2 pM masing-masing primer, 8 μl label warna BigDye, 5 μl suspensi plasmid rekombinan sebagai utas cetakan, dan 4.8 μl air bebas ion. Reaksi dilakukan menggunakan *DNA Thermal Cycler - Perkin Elmer* Model 480 dengan program untuk 25 siklus amplifikasi sebagai berikut: denaturasi pada suhu $96^0$C selama 30 detik, penempelan (*annealing*) primer pada $50^0$C selama 15 detik, dan pemanjangan primer (*primer extension*) pada $60^0$C selama 4 menit. Hasil reaksi tersebut diendapkan dengan etanol (70%) dan runutan nukleotidanya dibaca menggunakan ABI PRISM Model 377, versi 3.0. Konsensus runutan nukleotida untuk setiap galur PStV ditentukan berdasarkan data dari dua reaksi yang berbeda. Apabila dari dua reaksi tersebut terdapat perbedaan runutan nukleotida pada posisi tertentu maka reaksi yang ketiga akan dilakukan untuk menentukan konsensus runutan nukleotidanya. Analisis runutan nukleotida dari galur PStV dilakukan dengan menggunakan program komputer *Sequencher*, versi 3.0.

**Variasi Genetika Galur PStV Berdasarkan Runutan Nukleotida.** Variasi genetika berbagai galur PStV asal Indonesia, Thailand, USA, dan Afrika Selatan, serta hubungan kekerabatannya dilakukan berdasarkan analisis keragaman runutan nukleotida genom PStV yang menyandi CP dan 205 nukleotida ujung 3' UTR. Analisis data runutan nukleotida dan asam amino dalam percobaan ini dilakukan dengan paket program komputer *Australian National Genomic Information Service* (ANGIS) versi tahun 1997. Data nukleotida tambahan yang digunakan dalam analisis ialah PStV-Ib (Higgins *et al.* 1998), PStV-USA1 (*gene bank* #Z21700), PStV-USA2 (#X63559), PStV-USA3 (#U05771), PStV-T1 (#U34972), PStV-T3, PStV-T5, PStV-T6, PStV-T7, dan PStV-RSA (Higgins *et al*. 1998).

Analisis multi-pasangan (*multiple alignment*) runutan nukleotida penyandi CP dan 3' UTR serta runutan asam amino CP dilakukan dengan program CLUSTAL W. Analisis filogenetika dilakukan dengan menggunakan program PHYLIP versi 3.5. Matriks jarak genetika dihitung dengan menggunakan matriks parameter Kimura 2 dalam program komputer DNADIST untuk runutan nukleotida dan PRODIST untuk runutan asam amino CP. Filogenetika diduga dari matriks hubungan menggunakan metode *neighbour joining*. Pohon filogenetikanya digambarkan dengan program DRAWTREE dalam paket program PHYLIP. Analisis *bootstrap* dengan 100 ulangan dilakukan menggunakan program SEQBOOT dan konsensus pohon genetikanya dibuat dengan program CONSENSE. Semua program komputer tersebut tersedia dalam paket program komputer ANGIS.

**Hubungan Evolusi antara PStV dan Subkelompok BCMV.** Selain galur PStV, digunakan data dari virus dalam subkelompok BCMV seperti BCMV-NL4 (*gene bank* #L217660), BlCMV (#S66253), AzMV (#U60100), AzMV-H (#AB012663), dan *dendrobium mosaic virus* (DeMV, #U23564). Analisis multi-pasangan, analisis filogenetika, dan analisis lainnya antara data runutan nukleotida PStV dan virus dalam subkelompok BCMV dilakukan dengan metode yang telah digunakan di atas.

## HASIL

**Sintesis dan Penentuan Runutan Nukleotida cDNA dari Ujung 3' Genom PStV.** Sintesis potongan cDNA dari bagian ujung 3' genom RNA PStV untuk 15 galur PStV asal Indonesia dilakukan dengan teknik RT-PCR. Amplifikasi RT-PCR menggunakan primer PST1 dan PST4 menghasilkan potongan cDNA sebesar 1.2 kilo basa (Kb) seperti yang diharapkan. Potongan cDNA tersebut terdiri atas sebagian sistron penyandi *nuclear inclusion body* (NIb, 129 bp), seluruh sistron penyandi CP (861 bp), dan 205 bp bagian ujung 3' UTR dari genom RNA PStV (Gambar 1).

**Variasi Genetika Galur PStV Berdasarkan Runutan Nukleotida.** Hasil analisis runutan nukleotida sistron CP menunjukkan galur PStV asal Indonesia mempunyai keragaman runutan nukleotida yang rendah. Perbedaan pada tingkat nukleotida hanya 0-2.1% atau setara dengan perbedaan pada 0-17 nukleotida di antara 861 nukleotida penyusun sistron CP. Pada tingkat asam amino, keragamannya antara 0-1.4%, setara dengan perbedaan pada 0-11 posisi di antara 287 asam amino penyusun CP. Sedangkan keragaman pada ujung 3' UTR sebesar 0-2.1%, setara dengan perbedaan pada 0-5 nukleotida di antara 205 bp (Tabel 1).

Hasil analisis filogenetika menunjukkan bahwa jarak genetika berbagai galur PStV berkorelasi positif dengan asal galur PStV-nya. Galur PStV asal Indonesia mempunyai hubungan lebih dekat dengan galur PStV asal Indonesia yang

```
   1 UACAUAGCAGAAUCAGCACUAAAAACACUUUACACCAACA
       Y   I   A   E   S   A   L   K   T   L   Y   T   N
  41 AAGAACAAAAAUUGAAGAGUUGGCAAAGTAUUUUAGCUGU
     K   R   T   K   I   E   E   L   A   K   Y   L   A   V
  81 GCUUGAUUUUGACUAUGAAGUUGGGUGUGGAGAAUCUGUG
         L   D   F   D   Y   E   V   G   C   G   E   S   V
 121 CAUUUGCAGUCAGGAAGCAGCACAACACAACCACCAGUGU
       H   L   Q   S   G   S   S   T   T   Q   P   P   V
 161 UGGAUGCUGGCGUGGAUACUGCCAAGGACAACAAAGAAAA
     V   D   A   G   V   D   T   A   K   D   K   K   E   K
 201 GAGCAACAAAGGAAAAGGUCCUGAAAGCGGUGAAGGUCA
         S   N   K   G   K   G   P   E   S   G   E   G   S
 241 GGUAAUAAUAGUCGUGGAACAGAGAAUCAAUCAAUAAGAG
       G   N   N   S   R   G   T   E   N   Q   S   I   R
 281 ACAAGGAUGUGAAUGCUGGUUCAAAAGGAAAGAUUGUUCC
     D   K   D   V   N   A   G   S   K   G   K   I   V   P
 321 UCGGCUUCAGAAGAUCACAAAGAGAAUGAAUUUGCCAAUG
         R   L   Q   K   I   T   K   R   M   N   L   P   M
 361 GUGAAAGGGAAAGUGAUCUUGAAUUUAGAUCAUCUUUUAG
       V   K   G   K   V   I   T   N   L   D   H   L   L
 401 AUUACAAGCCAGAGCAAACUGAUCUUUUCAACACAAGAGC
     D   Y   K   P   E   Q   T   D   L   F   N   T   R   A
 441 AACAAAGAUGCAGUUUGAAAUGUGGUACAAUGCUGUAAAG
         T   K   M   Q   F   E   M   W   Y   N   A   V   K
 481 GGCGAGUAUGAAAUAGAUGAUGAACAGAUGUCAAUUGUGA
       G   E   Y   E   I   D   D   E   Q   M   S   I   V
 521 UGAAUGGCUUUAUGGUGUGGUGUAUUGACAAUGGCACUUC
     M   N   G   F   M   V   W   C   I   D   N   G   T   S
 561 ACCGGAUGUAAAUGGAACAUGGGUGAUGAUGGAUGGACAU
         P   D   V   N   G   T   W   V   M   M   D   G   D
 601 GAGCAAGUGGAAUAUCCUCUCAAACCAAUGGUUGAGAAUG
       E   Q   V   E   Y   P   L   K   P   M   V   E   N
 641 CAAAACCUACACUUCGUCAAAUCAUGCACCAUUUCUCAGA
     A   K   P   T   L   R   Q   I   M   H   H   F   S   D
 681 UGCAGCUGAAGCAUACAUUGAGAUGAGAAAUUCUGAGCGA
         A   A   E   A   Y   I   E   M   R   N   S   E   R
 721 CCAUACAUGCCUAGGUAUGGAUUGCUCCGGAAUUUGAGGG
       P   Y   M   P   R   Y   G   L   L   R   N   L   R
 761 AUAAAAAUCUAGCUCGCUACGCUUUCGACUUCUAUGAAGU
     D   K   N   L   A   R   Y   A   F   D   F   Y   E   V
 801 AACUUCCAAGACAUCAGAUCGUGCAAGGGAAGCAGUAGCA
         T   S   K   T   S   D   R   A   R   E   A   V   A
 841 CAGAUGAAGGCAGCAGCCCUCAGCAAUGUUAACAGCAAGU
       Q   M   K   A   A   A   L   S   N   V   N   S   K
 881 UGUUUGGACUUGAUGGGAAUGUGGCAACAACCAGCGAGAA
     L   F   G   L   D   G   N   V   A   T   T   S   E   N
 921 UACUGAAAGGCACACUGCAAGGCACGUUAAUCAAAACAUG
         T   E   R   H   T   A   R   D   V   N   Q   N   M
 961 CACACACUUCUUGGCAUGGGUUCCCCGCAGUAGAGGUUGG
       H   T   L   L   G   M   G   S   P   Q      3'UTR
1001 GUAAACUGACCACAGUUAGCAUCUCGCGUCGCUGAAUAAU
1041 UUCAUAUAGUAAUCUUUUAUGUUCUCUUUAGUUUCAGUGU
1081 GGUUUUUACCACCUUUGUAUUACUAUUGUGAUAGUGUGGU
1121 UAGUCCACCAACAUAUUGUGAGUACUUUAUGUUUAUGAGU
1161 AAGCCGGAAGAACCAUUGCAAUGGCGAGGGCAUGC
```

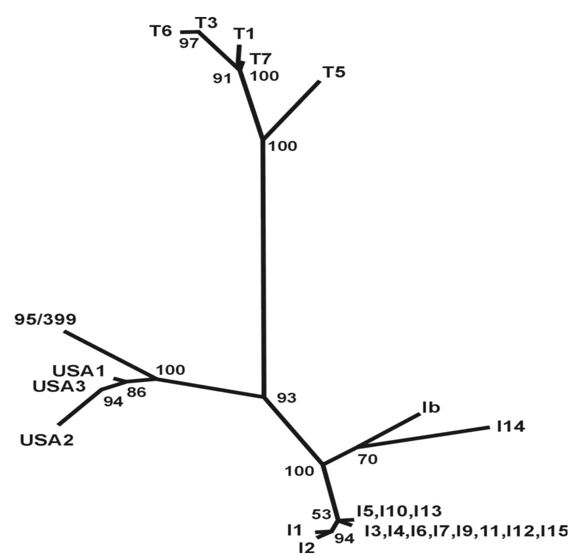
Gambar 1. Representasi runutan nukleotida sistron *coat protein* (CP) galur *peanut stripe virus* (PStV) dari Indonesia (PStV-I1) dan prediksi runutan asam amino CP. Asam amino valin (**V**), serta glutamin-serin (**QS**): merupakan runutan konsensus situs pemotongan oleh protease untuk memisahkan *nuclear inclusion bodies* (NIb) dengan CP. Kodon **UAG** merupakan kodon stop yang mengakhiri translasi.

lain. Demikian juga sebaliknya, galur PStV asal Thailand atau USA juga lebih dekat dengan galur lainnya yang satu [redacted]sal (Gambar 2). P[redacted] filogenetika juga menunjukkan galur P[redacted]tV asal Indonesia [redacted]pat dipisahkan dalam dua subkelomp[redacted]ok. Subkelompok [redacted]diri atas PStV-Ib (galur Malang) dan PS[redacted]V-IPS14 (galur [redacted]mantan Tengah) sedangkan subkelom[redacted]ok II terdiri atas 12 galur PStV yang lain. Hal ini didukung dengan didapatkannya nilai *bootstrap* 100 yang memisahkan kedua kelompok tersebut sehingga masing-masing grup membentuk kelompok monofiletik berbeda.

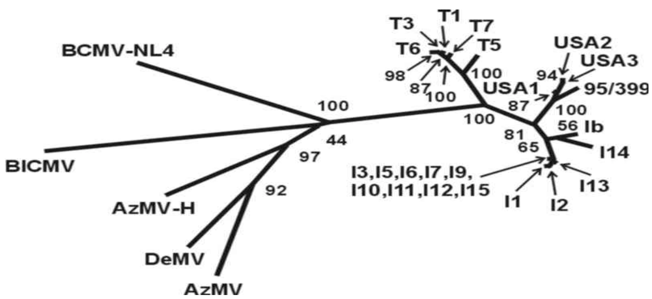
**Hubungan Evolusi antara PStV dan Subkelompok BCMV.** Pohon filogenetika yang dibuat berdasarkan runutan nukleotida sistron CP PStV dan virus lain dalam subkelompok BCMV menunjukkan galur PStV asal Indonesia, Thailand, dan USA mempunyai hubungan lebih dekat dibandingkan dengan BCMV-NL4, BlCMV, AzMV, AzMV-H, dan DMV (Gambar 3). Persentase perbedaan runutan nukleotida sistron CP dan runutan asam amino CP antara PStV asal Indonesia dengan Thailand sebesar 4.5-5.7% dan 2.4-5.3%, sedangkan dengan PStV asal USA sebesar 2.6-5.3% dan 2.1-3.5% (Tabel 2). Akan tetapi berdasarkan runutan nukleotida 3' UTR, PStV dari Indonesia mempunyai hubungan lebih dekat dengan BCMV-NL4 dan BlCMV dibandingkan dengan PStV asal Thailand atau USA. Tingkat kesamaan runutan nukleotida 3' UTR dari PStV asal Indonesia dengan PStV Thailand sebesar 93.0-94.2% dan dengan yang dari USA sebesar 90.9-92.6%. Sebaliknya, tingkat kesamaannya dengan BCMV-NL4 mencapai antara 94.5-95.5% dan dengan BlCMV mencapai 97.1-97.5%. Persentase perbedaan runutan nukleotida sistron CP dan 3' UTR serta runutan asam amino CP antara PStV asal Indonesia dengan virus lainnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Tingkat perbedaan runutan nukleotida dan asam amino *coat protein* (CP) serta runutan nukleotida ujung 3' *untranslated region* (3' UTR) antara berbagai galur *peanut stripe virus* (PStV) asal Indonesia, Thailand dan USA.

| Asal galur PStV | Persentase perbedaan berdasarkan runutan | | |
|---|---|---|---|
| | Nukleotida CP | Asam amino CP | Nukleotida 3` UTR |
| Indonesia | 0 - 2.1% | 0 - 1.4% | 0 - 2.1% |
| Thailand | 0.1 - 2.0% | 0 - 5.2% | 0 - 0.9% |
| USA | 0.3 - 0.8% | 0.7 - 1.4% | 0.4 - 1.2% |



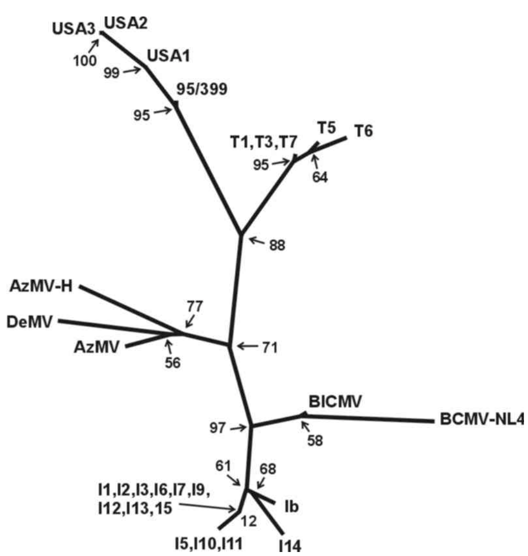

Gambar 2. Pohon filogenetika *peanut stripe virus* berdasarkan runutan nukleotida sistron *coat protein*. I1-I15 dan Ib: berbagai galur *peanut stripe virus* (PStV) dari Indonesia, T1-T7: galur PStV dari Thailand, USA1-USA3: galur PStV dari USA, dan 95/399: galur PStV dari Afrika Selatan.




Gambar 3. Pohon filogenetika subkelompok *bean common mosaic virus* (BCMV) berdasarkan runutan nukleotida sistron *coat protein* (CP). I1-I15 dan Ib: berbagai galur *peanut stripe virus* (PStV) dari Indonesia, T1-T7: galur PStV dari Thailand, USA1-USA3: galur PStV dari USA, dan 95/399: galur PStV dari Afrika Selatan. BCMV-NL4, *blackeye cowpea mosaic virus* (BlCMV), *azuki bean mosaic virus* (AzMV), AzMV-H, dan *dendrobium mosaic virus* (DeMV): berbagai galur BCMV.

Tabel 2. Tingkat perbedaan runutan nukleotida dan asam amino *coat protein* (CP) serta runutan nukleotida ujung 3' *untranslated region* (3' UTR) antara galur *peanut stripe virus* (PStV) asal Indonesia, Thailand, dan USA serta virus lain dalam subkelompok *bean common mosaic virus* (BCMV).

| Pembandingan PStV asal Indonesia dengan | Persentase perbedaan berdasarkan runutan | | |
|---|---|---|---|
| | Nukleotida CP | Asam amino CP | Nukleotida 3` UTR |
| PStV asal Thailand | 4.5 - 5.7% | 2.4 - 5.3% | 5.8 - 7.0% |
| PStV asal USA | 2.6 - 3.3% | 2.1 - 3.5% | 7.4 - 9.1% |
| PStV asal Afrika Selatan | 3.0 - 3.6% | 2.8 - 3.1% | 6.6 - 7.0% |
| BCMV-NL4 | 11.0 - 11.1% | 8.7 - 9.8% | 4.5 - 5.5% |
| *Blackeye cowpea mosaic virus* (BlCMV) | 11.6 - 12.9% | 9.1 - 10.1% | 2.5 - 2.9% |
| *Azuki bean mosaic virus* (AzMV) | 12.1 - 12.9% | 9.1 - 9.5% | 4.5 - 4.9% |
| AzMV-H | 11.1 - 11.3% | 8.0 - 8.7% | 5.8 - 6.2% |
| *Dendrobium mosaic virus* (DeMV) | 11.9 - 12.9% | 8.8 - 9.5% | 5.3 - 5.8% |




Gambar 4. Pohon filogenetika subkelompok *bean common mosaic virus* (BCMV) berdasarkan runutan nukleotida 3' *untranslated region* (3' UTR). I1-I15 dan Ib: berbagai galur *peanut stripe virus* (PStV) dari Indonesia, T1-T7: galur PStV dari Thailand, USA1-USA3: galur PStV dari USA, dan 95/399: galur PStV dari Afrika Selatan. BCMV-NL4, *blackeye cowpea mosaic virus* (BlCMV), *azuki bean mosaic virus* (AzMV), AzMV-H, dan *dendrobium mosaic virus* (DeMV): berbagai galur BCMV.

Analisis filogenetika berdasarkan runutan nukleotida perbatasan antara sistron CP dan 3' UTR (sepanjang 242 nukleotida) antara PStV dan anggota dari subkelompok BCMV juga menunjukkan galur PStV asal Indonesia mempunyai jarak genetika yang lebih dekat dengan BCMV-NL4 atau BlCMV (Gambar 4). Jarak genetika yang lebih dekat antara PStV asal Indonesia dan BlCMV dibandingkan dengan PStV lainnya memberikan indikasi bahwa PStV asal Indonesia kemungkinan merupakan virus rekombinan antara progenitor PStV dan BlCMV. Rekombinasi terjadi pada ujung 3' UTR dari genom RNAnya.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan kelanjutan dari studi terdahulu tentang variasi biologi galur PStV yang berasal dari berbagai daerah di Indonesia (Akin & Sudarsono 1997). Galur PStV yang dianalisis memperlihatkan keragaman yang tinggi untuk tipe gejala infeksi pada daun kacang tanah, tetapi runutan nukleotida sistron CP dari galur PStV tersebut memperlihatkan keseragaman yang tinggi. Keseragaman runutan nukleotida di antara galur PStV juga dilaporkan teramati di antara berbagai galur PStV dari Thailand (Higgins *et al*. 1998).

Informasi tentang tingkat kesamaan yang tinggi antara sistron CP dari berbagai isolat PStV asal Indonesia memungkinkan pengembangan satu strategi yang sama bagi pengendalian virus ini, yaitu dengan menggunakan rekayasa genetika. Mekanisme resistensi terhadap virus pada tanaman transgenik pembawa gen CP berkorelasi dengan tingkat kesamaan runutan nukleotida gen CP pada tanaman transgenik dan pada genom virus. Tingkat kesamaan runutan nukleotida yang tinggi antara gen CP yang terintegrasi dalam genom tanaman dan sistron CP pada genom virus menjamin efektivitas gen CP untuk melindungi tanaman transgenik dari infeksi virus. Dengan demikian, penggunaan gen CP yang berasal dari salah satu galur PStV Indonesia dan regenerasi kacang tanah transgenik pembawa gen CP PStV diharapkan menghasilkan tanaman transgenik resisten terhadap semua galur PStV asal Indonesia. Pengembangan kacang tanah transgenik pembawa gen CP dari isolat PStV asal Indonesia saat ini sedang dilakukan. Dalam beberapa tahun mendatang tanaman transgenik kacang tanah yang resisten terhadap PStV diharapkan akan dapat diperoleh.

Analisis multi-pasangan runutan nukleotida sistron CP dan sebagian dari 3' UTR serta runutan asam amino CP PStV menunjukkan bahwa tingkat keseragaman di antara berbagai galur PStV asal Indonesia (tingkat kesamaan antargalur 97.9-100%) sama besarnya dengan keseragaman antar galur PStV dari Thailand (98-99.9%), tetapi sedikit lebih rendah dibandingkan dengan keseragaman antargalur PStV dari USA (99.2-99.7%). Namun demikian, hasil analisis filogenetika menunjukkan galur PStV dari masing-masing negara tersebut membentuk kelompok monofiletik sendiri yang ditunjukkan oleh nilai *bootstrap* 93 (Felsenstein 1985). Meskipun demikian, pohon filogenetika mengindikasikan galur PStV asal Indonesia, Thailand, dan USA tetap mempunyai tetua yang sama, kemudian terpisah di lokasi geografi yang berbeda.

Hasil penelitian ini juga memperkuat hasil penelitian sebelumnya yang menduga bahwa PStV-Ib dari Indonesia merupakan virus rekombinan yang berasal dari progenitor PStV dan BlCMV (Revers *et al.* 1996). Dari data runutan nukleotida yang dianalisis mengindikasikan peristiwa rekombinasi antara kedua genom RNA tersebut terjadi pada posisi basa ke 9764 dari genom RNA PStV atau pada posisi 38 nukleotida *downstream* dari stop kodon. Tidak ditemukan galur PStV dari Indonesia yang mempunyai runutan nukleotida 3' UTR yang sama dengan galur PStV dari Thailand atau USA mengindikasikan peristiwa rekombinasi antara PStV dan BlCMV telah terjadi sebelum PStV masuk ke Indonesia.

Rekombinasi antargenom RNA dari spesies virus merupakan salah satu penyebab terjadi variasi biologi virus tanaman (Strauss & Strouss 1988, Revers *et al*. 1996). Enzim *RNA-dependent RNA-polymerase* (RdRp) merupakan enzim yang diperlukan dalam proses replikasi genom RNA virus. Dalam replikasi RNA, dengan bantuan enzim tersebut, rekombinasi antar-RNA dilaporkan dapat terjadi dengan frekuensi cukup tinggi (Rao & Hall 1993). Rekombinasi antara PStV dengan BlCMV diduga dapat terjadi ketika kedua virus tersebut secara bersamaan menginfeksi tanaman kacang-kacangan. Kedelai (*Glycine max* L.) atau *blackeye cowpea* (*Vigna unguiculata*) telah dilaporkan sebagai inang alami PStV dan BlCMV (Edwardson & Christie 1991). Jika PStV dan BlCMV secara bersamaan menginfeksi tanaman inang tersebut, rekombinasi antara genom PStV dan BlCMV sangat mungkin untuk terjadi.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan beberapa hal berikut: (i) hasil analisis keragaman genetika antara galur PStV dari Indonesia berdasarkan runutan nukleotida dari sistron CP dan 3' UTR menunjukkan keragaman yang rendah, (ii) galur PStV dari Indonesia, Thailand, dan USA mempunyai progenitor sama, (iii) galur PStV asal Indonesia merupakan salah satu galur BCMV yang menginfeksi kacang tanah dan diduga merupakan virus rekombinan antara progenitor PStV dengan BlCMV.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Sebagian penelitian ini dibiayai oleh *Graduate Team Research Grant*, *University Research for Graduate Education Project*, Departemen Pendidikan Nasional, Republik Indonesia dan oleh ACIAR PN9439, *Australian Centre for International Agricultural Research*, Australia atas nama Dr Sudarsono.

## DAFTAR PUSTAKA

Akin HM, Sudarsono. 1997. Characterization of peanut stripe virus (PStV) isolates originated from various provinces in Indonesia. *Indon J Trop Agric* 8:13-14.

Edwardson JR, Christie RG. 1991. *A Monograph on the Potyvirus Group*. Research Monograph. Florida: Agronomy Department, Florida Agricultural Experiment Station, University of Florida.

Frankel MJ, Ward CW, Shukla DD. 1989. The use of 3' non-coding nucleotide sequences in taxonomy of potyviruses: application to watermelon mosaic virus 2 and soybean mosaic virus-N. *J Gen Virol* 70:2775-2783.

Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution* 39:783-791.

Francki RIB, Fauquet CM, Knudson DL, Brown F. 1991. Classification and nomenclature of viruses. *Archived Virol* 2:351-356.

Gunasinghe UB, Flasinski S, Nelson RS, Cassidy BS. 1994. Nucleotide sequence and genome organization of peanut stripe potyvirus. *J Gen Virol* 75:2519-2526.

Higgins CM, Cassidy BG, Teycheney P-Y, Wongkaew S, Dietzgen RG. 1998. Sequence of the coat protein of five peanut stripe virus (PStV) strain from Thailand and their relationship with other bean common mosaic virus sequences. *Archived Virol* 143:1655-1667.

Huquenot C, Furneux MT, Hamilton RI. 1994. Coat protein properties of cowpea aphid-borne mosaic virus and blackeye cowpea mosaic virus confirm the existence of two major subgroups of aphid-transmitted legume potyviruses. *J Gen Virol* 75:3555-3560.

Rao ALN, Hall TC. 1993. Recombination and polymerase error facilitate restoration of infectivity in brome mosaic virus. *J Virol* 67:969-979.

Saleh N, Middleton K, Baliadi Y, Horn N, Reddy DVR. 1989. Research on peanut stripe virus in Indonesia. Di dalam: *Research on Peanut Stripe Virus Disease of Groundnut*. Proceeding of the Second Coordinators Meeting. Malang, 23-28 Agu 1989. hlm 9-10.

Revers F, Gall O Le, Candresse T, Romancer M Le, Dunez J. 1996. Frequent occurrence of recombination potyvirus strains. *J Gen Virol* 77:1953-1965.

Shukla DD, Ward CW. 1988. Amino acid sequence homology of coat proteins as a basis for identification and classification of the potyvirus group. *J Gen Virol* 69:2703-2710.

Strauss JH, Strouss EG. 1988. Evolution of RNA viruses. *Annu Rev Microbiol* 42:657-683.

Ward CW, Shukla DD. 1990. Taxonomy of potyvirus: current problems and some solutions. *Intervrology* 32:269-296.

Xu Z, Yu Z, Lui J, Barnett OW. 1983. A virus causing peanut mild mottle in Hubei province, China. *Plant Disease* 67:1029-1032.