

Evolusi Virus Anggrek di Indonesia

MAHFUT^{1*}, MAILINDA ANGRAENI¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
Jl. Prof. Soematri Brojonegoro No. 1 Gedong Meneng Bandar Lampung, Indonesia. 35145

*Email: mahfut.mipa@fmipa.unila.ac.id

ABSTRACT

Odontoglossum ringspot virus (ORSV) is an important orchid virus worldwide. This virus has entered and infected in Indonesia, both natural orchids and hybrid orchids. Detection indicates that the virus is found in natural forests, botanical gardens and nurseries in Java, Kalimantan, Sulawesi, Bali and Papua. The following results indicate that hybrid orchids in the nursery are more susceptible to infection with ORSV than natural orchids in natural forests and botanical gardens. ORSV was found to infect more hybrid orchids, namely in 8 nursery locations, compared to natural orchids in natural forests and botanical gardens, namely only 3 locations each. The DAS-ELISA serological test showed that the mean absorbance value of ORSV infecting hybrid orchids was higher (1.125-1.152), than natural orchids in botanical gardens and natural forests, which were 0.520-0.918 and 0.520, respectively. Phalaenopsis are suitable hosts and most susceptible to infection with ORSV with an incidence of 57%, followed by Calanthe (14%), Dendrobium (9%), as well as Bulbophyllum, Calanthe, Cattleya, Oncidium, and Liparis 5% each. The *coat protein* gene sequence analysis showed that Indonesian ORSV isolates from natural forests and botanical gardens showed a higher similarity index value with isolates from other countries (100%), compared to Indonesian ORSV isolates from nurseries (99.3%). ORSV isolates from natural forests and botanical gardens had fewer mutations, namely 18% and 36%, respectively, compared to ORSV isolates from nurseries (45%). The results of the sequence analysis also indicate that the virus has evolved, even leading to speciation. Phylogenetic tree reconstruction shows that Indonesian ORSV is thought to have originated in Germany.

Keywords: coat protein; evolution; Indonesia; orchid; ORSV

INTISARI

Odontoglossum ringspot virus (ORSV) merupakan virus anggrek yang penting di dunia. Virus ini telah masuk dan menginfeksi di Indonesia, baik anggrek alam maupun anggrek hibrida. Deteksi mengindikasikan virus ini ditemukan pada lokasi hutan alam, kebun raya, dan nurseri di Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Bali, dan Papua. Hasil-hasil penelitian berikut menunjukkan bahwa anggrek hibrida pada nurseri lebih rentan terinfeksi ORSV dibandingkan anggrek alam pada hutan alam dan kebun raya. ORSV ditemukan lebih banyak menginfeksi anggrek hibrida yaitu 8 lokasi nurseri, dibandingkan anggrek alam pada hutan alam dan kebun raya yaitu masing-masing hanya 3 lokasi. Uji serologi DAS-ELISA menunjukkan rerata nilai absorbansi ORSV yang menginfeksi anggrek hibrida pada nurseri lebih tinggi (1,125-1,152), daripada anggrek alam pada kebun raya dan hutan alam yaitu masing-masing 0,520-0,918 dan 0,520. Anggrek *Phalaenopsis* merupakan inang yang cocok dan paling rentan terinfeksi ORSV dengan kejadian 57%, diikuti *Calanthe* (14%), *Dendrobium* (9%), serta *Bulbophyllum*, *Calanthe*, *Cattleya*, *Oncidium*, dan *Liparis* masing-masing 5%. Analisis sekuen gen *coat protein* menunjukkan isolat ORSV Indonesia asal hutan alam dan kebun raya menunjukkan nilai indeks similaritas yang lebih tinggi dengan isolat asal negara lain (100%), dibandingkan dengan isolat ORSV Indonesia asal nurseri (99,3%). Isolat ORSV asal hutan alam dan kebun raya mengalami kejadian mutasi yang lebih sedikit yaitu masing-masing sebesar 18% dan 36%, dibandingkan isolat ORSV asal nurseri (45%). Hasil analisis sekuen juga mengindikasikan bahwa virus telah berevolusi, bahkan mengarah terjadinya spesiasi. Rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan ORSV Indonesia diduga berasal dari negara Jerman.

Kata kunci: anggrek; *coat protein*; evolusi; Indonesia; ORSV

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan jenis tanaman hias yang memiliki permintaan tertinggi di pasaran dan diminati konsumen (Kumalawati *et al.*, 2011) di negara-negara Asia Tenggara. Permintaan anggrek cenderung meningkat setiap tahunnya. Hal ini memacu tingginya minat masyarakat untuk memelihara dan

mengelola anggrek sebagai tanaman komersial. Gangguan hama dan penyakit merupakan salah satu kendala dalam usaha pembudidayaan anggrek. Infeksi virus merupakan faktor pembatas terpenting karena dapat menurunkan kualitas tanaman. Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi oleh lebih dari 30 jenis virus. Salah satu virus yang dilaporkan paling banyak

menginfeksi dengan penyebaran yang luas di dunia termasuk di Indonesia adalah *Odontoglossum ringspotvirus* (ORSV).

ODONTOGLOSSUM RINGSPOT VIRUS (ORSV)

Odontoglossum ringspot virus (ORSV) atau disebut juga sebagai *Tobacco mosaic virus/orchid strain* (TMV-O) termasuk ke dalam Genus *Tobamovirus* (Jensen & Gold, 1951) dan Familia *Virgaviridae* (Adams *et al.*, 2009). ORSV merupakan jenis virus yang relatif baru ditemukan di Indonesia walaupun telah diketahui sejak tahun 1951. Virus ini pertama kali dilaporkan menginfeksi anggrek *Odontoglossum grande* yang menunjukkan gejala bercak bercincin di Amerika (Jensen & Gold, 1951). Penelitian ORSV di Indonesia baru dimulai tahun 1996 dan terus berlanjut sampai sekarang. Tahap penelitian ini dilakukan deteksi dan identifikasi ORSV (Inouye & Gara, 1996; Lakani *et al.*, 2010; Mahfut *et al.*, 2016^a) dan karakterisasi molekuler (Lakani *et al.*, 2010; Mahfut *et al.*, 2016^b; Mahfut *et al.*, 2017^a; Mahfut *et al.*, 2017^b; Mahfut & Daryono, 2019; Mahfut *et al.*, 2019; Mahfut, 2019; Mahfut, 2020).

Deteksi dan identifikasi virus digunakan untuk mempelajari pola infeksi ORSV, sedangkan karakterisasi molekuler digunakan untuk mengetahui perubahan nukleotida virus yang menjadi dasar untuk mempelajari evolusi ORSV di Indonesia. Keseluruhan informasi hasil penelitian tersebut digunakan untuk mempelajari pola penyebaran ORSV dan sedapat mungkin mengantisipasi infeksi ORSV pada anggrek di Indonesia.

KOLEKSI SAMPEL VIRUS

Berdasarkan data koleksi sampel ORSV yang telah dilakukan peneliti dapat dibagi menjadi tiga macam lokasi yaitu nurseri, kebun raya, dan hutan alam. Hasil identifikasi dan deteksi menunjukkan bahwa ORSV telah menginfeksi anggrek pada nurseri di Ujung Pandang (Inouye & Gara, 1996), Jawa Barat (Lakani *et al.*, 2010), Cianjur, Magelang (Mahfut *et al.*, 2016^a), anggrek pada kebun raya di Bogor (Mahfut *et al.*, 2016^a; Mahfut *et al.*, 2017^a), Purwodadi (Mahfut *et al.*, 2017^a),

Balikpapan, dan anggrek pada hutan alam di Yogyakarta (Mahfut *et al.*, 2016^a), Jayapura. Data lokasi-lokasi tersebut mempresentasikan pola infeksi dan penyebaran ORSV yang cukup luas di Indonesia.

Pemilihan lokasi pengambilan sampel tersebut didasarkan pada tipe vegetasi anggrek. Kebun Raya merupakan kawasan pelestarian alam untuk tujuan koleksi tumbuhan yang alami atau bukan alami, jenis asli dan atau bukan asli (introduksi), yang dimanfaatkan bagi kepentingan penelitian, ilmu pengetahuan, pariwisata, dan rekreasi, sehingga masih banyak dijumpai anggrek alam asli maupun introduksi. Pada lokasi hutan alam, keseluruhan vegetasi merupakan anggrek alam. Keberadaaan anggrek alam ini merupakan vegetasi asli yang dibiarkan tumbuh secara alami tanpa campur tangan manusia. Sedangkan lokasi nurseri yang merupakan pertamanan anggrek, secara keseluruhan vegetasi merupakan anggrek hibrida yang diperjualbelikan.

DETEKSI ORSV

Hasil deteksi menunjukkan bahwa ORSV menginfeksi anggrek alam di Indonesia walaupun insidensinya masih rendah yaitu: 7 sampel pada 3 lokasi kebun raya (Mahfut *et al.*, 2016^a; Mahfut *et al.*, 2016^b) dan 3 sampel pada 3 lokasi hutan alam (Mahfut & Daryono, 2014; Mahfut *et al.*, 2016^a; Mahfut *et al.*, 2016^b). ORSV lebih banyak menginfeksi anggrek hibrida sebanyak 11 sampel pada 8 lokasi nurseri (Inouye & Gara, 1996; Lakani *et al.*, 2010; Mahfut *et al.*, 2016^a; Mahfut *et al.*, 2016^b). Data pengamatan titer virus menggunakan uji serologi DAS-ELISA juga menunjukkan bahwa rerata nilai absorbansi ORSV yang menginfeksi anggrek hibrida pada nurseri lebih tinggi yaitu 1,125-1,152 (Mahfut *et al.*, 2016^b) daripada anggrek alam pada kebun raya dan hutan alam yaitu masing-masing 0,520-0,918 dan 0,520. Hal ini terkait dengan hilangnya variasi genetik akibat persilangan secara terus menerus pada anggrek hibrida sehingga lebih rentan. Frankham *et al.* (2002) menjelaskan bahwa proses ini menyebabkan ketidaksamaan fungsi biokimia atau morfologi yang mengakibatkan perbedaan pada tingkat reproduksi dan kemampuan

bertahan hidup. Variasi genetik yang rendah memberikan respon penurunan kemampuan bertahan hidup terhadap perubahan lingkungan seperti pemanasan global, polusi, adanya pesaing, hama, dan penyakit.

Secara keseluruhan, penyebaran ORSV di Indonesia meliputi anggrek-anggrek alam di hutan alam dan kebun raya, serta anggrek-anggrek hibrida di nursery. Masuknya ORSV di nursery dan kebun raya terjadi dengan campur tangan manusia melalui aktivitas introduksi dan pembelian bibit anggrek terinfeksi dari wilayah dan negara lain. Hal tersebut diperparah dengan adanya kontak manusia antara tanaman yang sehat dan yang sakit, serta kontaminasi peralatan saat pertumbuhan vegetatif maupun pemanenan bunga. Sedangkan pada hutan alam terjadi secara alami melalui biji, air, dan tanah terinfeksi, ataupun penularan mekanis oleh binatang bukan vektor. Meskipun tidak menutup kemungkinan, ORSV masuk dengan kontak manusia melalui tanah terinfeksi yang terbawa sepatu saat masuk hutan alam.

KISARAN INANG ORSV

Beberapa penelitian melaporkan bahwa ORSV telah mampu menginfeksi 27 genus anggrek di dunia. Di Indonesia, ORSV dilaporkan telah menginfeksi 7 genus anggrek yaitu: *Dendrobium* (Lakani *et al.*, 2010), *Phalaenopsis* (Inouye & Gara, 1996; Mahfut *et al.*, 2016^a; Mahfut *et al.*, 2016^b; Mahfut *et al.*, 2017^a), *Liparis* (Mahfut & Daryono, 2014), *Bulbophyllum*, *Calanthe*, *Cattleya*, dan *Oncidium* (Inouye & Gara, 1996). Berdasarkan hasil penelitian-penelitian tersebut diketahui total sampel positif terinfeksi ORSV adalah 21 sampel dengan persentase: *Phalaenopsis* (57%), *Calanthe* (14%), *Dendrobium* (9%), serta *Bulbophyllum*, *Calanthe*, *Cattleya*, *Oncidium*, dan *Liparis* masing-masing 5%. Hal ini menunjukkan bahwa Genus *Phalaenopsis* yang paling banyak mengindikasikan terinfeksi ORSV. Mahfut *et al.* (2016^b) menjelaskan bahwa anggrek *Phalaenopsis* merupakan inang yang cocok dan paling rentan terhadap infeksi ORSV, terutama jenis anggrek *Phalaenopsis amabilis*.

Phalaenopsis amabilis menjadi jenis anggrek yang paling rentan terhadap infeksi

ORSV dapat disebabkan oleh respon inang yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan virus. Menurut Hull (2002), faktor utama yang dapat memengaruhi kerentanan tanaman terhadap infeksi penyakit adalah komposisi genetik tanaman inang-virus dan kondisi lingkungan. Kandungan senyawa kimia yang dimiliki *Phalaenopsis* sp. juga diduga berperan dalam proses replikasi genom dan perkembangan virus. Selain senyawa polipeptida khas yang disandi oleh gen virus yang mengandung nitrogen, seperti pada zat pengatur tumbuh dan senyawa fenol, yang berperan penting adanya gejala sistemik sebagai hasil interaksi virus-inang, keberadaan hasil metabolisme pada *Phalaenopsis* sp. sangat melimpah yang tentu saja sangat efektif untuk sintesis virus. Mahfut *et al.* (2016^b) menyebutkan hal tersebut berkaitan dengan tekstur daun anggrek *Phalaenopsis* sp. yang lebar dan lunak karena mengandung banyak air, serta perannya sebagai penyimpan cadangan makanan.

ANALISIS GEN COAT PROTEIN

Karakterisasi molekuler berdasarkan analisis sekuen gen CP dapat digunakan untuk mengetahui kesamaan sekuen isolat ORSV dari Indonesia dengan negara lainnya. Mahfut *et al.* (2016^a) melaporkan bahwa isolat ORSV Indonesia memiliki kesamaan sekuen yang tinggi (99-100%) dengan 7 isolat dari negara lain di Asia, Amerika, dan Eropa. Isolat ORSV Indonesia asal hutan alam dan kebun raya menunjukkan nilai indeks similaritas (IS) yang lebih tinggi dengan isolat asal negara lain (100%), dibandingkan dengan isolat ORSV Indonesia asal nursery (99,3%). Hal ini menunjukkan bahwa isolat ORSV Indonesia asal nursery mengalami banyak mutasi nukleotida dibandingkan dengan isolat ORSV Indonesia asal hutan alam dan kebun raya. Sebelumnya Lakani *et al.* (2010) juga melaporkan bahwa isolat ORSV Indonesia asal nursery di Bogor memiliki IS dengan 55 isolat ORSV dari negara lainnya sebesar 98-99%.

Analisis sekuen gen CP juga digunakan untuk mengetahui mutasi nukleotida virus yang menyebabkan perubahan susunan genom sebagai hasil adaptasi alami virus terhadap

lingkungan di Indonesia (Mahfut & Daryono, 2014; Mahfut *et al.*, 2016^a; Mahfut *et al.*, 2016^b; Mahfut *et al.*, 2017^a; Mahfut *et al.*, 2017^b). Mahfut (2011) melaporkan bahwa isolat ORSV Indonesia mengalami total kejadian mutasi titik 11 kali, dengan persentase isolat ORSV asal hutan alam dan kebun raya mengalami kejadian mutasi yang lebih sedikit yaitu masing-masing sebesar 18% dan 36%, dibandingkan isolat ORSV asal nurseri (45%). Laporan tersebut menunjukkan bahwa anggrek hibrida pada nurseri lebih rentan terinfeksi ORSV dibandingkan anggrek alam pada hutan alam dan kebun raya. Hal ini terkait dengan perubahan variasi genetik pada anggrek hibrida yang mengakibatkan rentan infeksi virus.

Mahfut *et al.* (2017^a) menjelaskan bahwa gen CP bersifat *conserved* sehingga memiliki kemampuan mekanisme *offreading* seperti umumnya gen nuklear lainnya. Hal ini menyebabkan virus dapat melakukan koreksi dan memperbaiki kesalahan yang terjadi selama proses replikasi genom. Namun dengan ukuran genom virus yang relatif kecil maka adanya sedikit kesalahan akan memberikan pengaruh laju mutasi secara nyata. Laju mutasi akan menghasilkan variasi genetika virus sehingga meningkatkan probabilitas evolusi lebih cepat. Hasil analisis sekuen juga mengindikasikan bahwa virus telah berevolusi, bahkan dapat mengarah terjadinya spesiasi.

ANALISIS HUBUNGAN KEKERABATAN

Analisis sekuen nukleotida selanjutnya digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar isolat melalui rekonstruksi pohon filogenetika. Mahfut *et al.* (2016^a) dan Mahfut *et al.* (2017^a) melaporkan bahwa isolat ORSV Indonesia berada pada percabangan yang sama dengan isolat ORSV Jerman yang berarti bahwa kedua isolat ini memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Selain Jerman, isolat Indonesia juga memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan isolat dari Cina, Taiwan, Brazil, dan Amerika. Negara-negara tersebut juga dilaporkan Lakani *et al.* (2010) memiliki kedekatan dengan ORSV isolat Indonesia, termasuk negara Thailand, India, Korea Selatan, Jepang, dan Singapura.

Lakani *et al.* (2010) dan Mahfut *et al.* (2016^a) menyebutkan bahwa ORSV Indonesia diduga berasal dari negara Jerman. BPPP (2005) mencatat negara Jerman menduduki peringkat 14 sebagai pengimpor benih dan tanaman anggrek ke Indonesia sejak 1997-2001, termasuk Amerika Serikat, Brazil, Korea Selatan, Cina, Jepang, Taiwan, dan beberapa negara Asia Barat. Hal ini diperkuat oleh laporan adanya infeksi ORSV di Jerman, Amerika Serikat, Jepang, Brazil, India, Singapura, Taiwan, Korea, Cina (Rao *et al.*, 2015), dan Taiwan (Zheng *et al.*, 2010). Kemungkinan yang sama juga mendasari infeksi ORSV di negara-negara di masing-masing benua, mengingat letak geografisnya yang relatif dekat. Berdasarkan hal tersebut, cara lain yang efektif untuk melindungi dan mempertahankan status kesehatan anggrek asli di Indonesia yaitu dengan membatasi dan mengontrol impor anggrek dari negara lain.

KESIMPULAN

ORSV terdeteksi menginfeksi anggrek alam dan anggrek hibrida di Indonesia. Deteksi mengindikasikan virus ini ditemukan pada lokasi hutan alam, kebun raya, dan nursery di Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Bali, dan Papua. Hasil-hasil penelitian berikut menunjukkan bahwa anggrek hibrida pada nursery lebih rentan terinfeksi ORSV dibandingkan anggrek alam pada hutan alam dan kebun raya. Hal ini terkait dengan perubahan variasi genetik pada anggrek hibrida yang mengakibatkan rentan infeksi virus. ORSV Indonesia diduga berasal dari negara Jerman melalui kegiatan impor benih dan tanaman anggrek. Untuk melindungi anggrek alam di Indonesia, kegiatan impor anggrek dari negara lain harus dibatasi dan dikontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams MJ, Kreuze J, and Antoniw JF. 2009. Virgaviridae: A new family of rod-shaped plant viruses. *Arch. Virol.* vol 154: 1967–1972. doi: 10.1007/s00705-009-0506-6.
- BPPP. 2002. Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian.
- Butlin RK, Debelle A, Kerth C, and Schilthuizen M. 2012. What do we know about speciation? *Trends*

- in *Ecology & Evolution*. vol 27(1): 27-39. doi: 10.1016/j.tree.2011.09.002.
- Hull, R. 2002. Plant Virology, 4th ed. San Diego: Acad. Press.
- InouyeN and Gara IW. 1996. Detection and identification of viruses of Orchids in Indonesia. *Bull. Res. Inst. Bioresour.* vol 4: 109-118.
- Jensen DD and Gold HA. 1951. A Virus Ringspot of *Odontoglossum* Orchid, Symptoms, Transmission and Electron Microscopy. In The Handbook on Orchid Pests and Disease, Lawson, RH. and S. Ali (Eds.), vol 4. Cambridge: American Orchid Society.
- Kumalawati AD, Abdullah S, Daryono BS, and Mahfut. 2011. Study on Genetic Diversity and Conservation of Orchids in Wonosadi Forest, Gunung Kidul Based on Molecular Analysis. *Proceeding International Conference on Biological Science: Advances in Biological Science 2011*. pp. 72-79.
- Lakani, Suastika IG, Mattjik N, and Damayanti TA. 2010. Identification and molecular characterization of *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV) from Bogor, Indonesia. *Hayati J. Biosci.* vol 17: 101-104. 10.4308/hjb.17.2.101.
- Mahfut and Daryono BS. 2014. Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) terhadap anggrek alam di Hutan Wonosadi, Gunung Kidul. *Biogenesis*. vol 2 (2): 101-108. doi: 10.24252/bio.v2i2.475.
- Mahfut and Daryono BS. 2019. Variation symptoms and resistance response of different types on orchids (Orchidaceae) against *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) infection. *International Series on Interdisciplinary Science and Technology*. vol 4: 246–249.
- Mahfut, Daryono BS, dan Somowiyarjo S. 2017^a. Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek asli koleksi kebun raya di Indonesia. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. vol 13(1): 1-8. doi: 10.14692/jfi.13.1.1.
- Mahfut, Daryono BS, dan Somowiyarjo S. 2017^b. Identifikasi Molekuler DNA Kloroplas Pada Anggrek Terinfeksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) di Magelang, Jawa Tengah. *Prosiding Seminar Nasional Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan II Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komisariat Daerah Yogyakarta, Solo, dan Semarang 2016*. pp. 354-360.
- Mahfut, Daryono BS, Indrianto A, and Somowiyarjo S. 2019. Plant-Virus interaction on orchids infected *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) in Bogor Botanical Garden, Indonesia. *Proceeding International Conference on Science and Technology (ICoST)*, Makassar, Indonesia. pp. 1-8.
- Mahfut, Daryono BS, Joko T, dan Somowiyarjo S. 2016^b. Survei *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam tropis di Indonesia. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. vol 20(1): 1-6. 10.22146/jpti.16617.
- Mahfut, Joko T, and Daryono BS. 2016^a. Molecular characterization molecular of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) in Jawa and Bali, Indonesia. *Asian Journal of Plant Pathology*. vol 10(1-2): 9-14. doi: 10.3923/ajppaj.2016.9.14.
- Mahfut. 2019. Indonesia Darurat Konservasi: Sudah Amankah Kebun Raya Kita?. *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas Indonesia*, Makassar, Indonesia: 20 Agustus 2019. pp. 1-6.
- Mahfut. 2020. Variation of resistance responses on indicator plants against *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) infection. *International Journal of Advanced Science and Technology*. vol 29: 11780-11785.
- Rao X, Li Y, Sun J, Li X, Li M, and Xiang M. 2015. Genetic diversities of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* isolates based on the coat protein genes from orchids in Guangdong Province, China. *J. Phytopathol.* vol 163(4): 324–329. doi: 10.1111/jph.12285.
- Schilthuizen M. 2018. Beyond Human: HIREC (Human-Induced Rapid Evolutionary Change). Moordrecht, Rotterdam: Twigt GrafiMedia.
- Sih A, Ferrari MCO, and Harris DJ. 2011. Evolution and behavioural responses to human-induced rapid environmental change. *Evolutionary Applications*. vol 4: 367–387. doi: 10.1111/j.1752-4571.2010.00166.x.
- Zheng YX, Shen BN, Chen CC, and Jan FJ. 2010. *Odontoglossum ringspot virus* causing flower crinkle in *Phalaenopsis* hybrids. *Eur. J. Plant Pathol.* vol 128: 1–5.