

INTERAKSI GEMINIVIRUS PADA KEJADIAN INOKULASI GANDA

INTERACTION OF TWO GEMINIVIRUSES IN MIX INOCULATION INCIDENCE

Sri Hendrastuti Hidayat, Rina Rachmawati, Puji Lestari, dan Noor Aidawati

Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan,
Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jalan Kamper, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

Incidence of geminivirus infection has been caused severe losses on various economically important crops. This losses may cause by single infection or mix infection of several strain of geminiviruses. In this experiment we used two strain of geminiviruses, geminivirus infecting chillipepper from Segunung, West Java and geminivirus infecting tomato from Lembang, West Java (GVToL), to study the effect of geminivirus mix infection on the symptom expression and the capability of each strain to multiply in the host cell. Coefficient of dissimilarity between this two strain of geminiviruses is 7.5. When the two strain of geminiviruses was inoculated together to tomato plants by insect vector, Bemisia tabaci, the symptoms on infected plants is slightly different but less severe than those on plants inoculated with each strain separately. Detection with polymerase chain reaction (PCR) followed by restriction enzyme digest of PCR product revealed that GVToL multiply better in the infected host cell.

Keywords : *Bemisia tabaci, geminivirus, polymerase chain reaction*

INTISARI

Kejadian infeksi geminivirus telah diketahui dapat menyebabkan kerugian ekonomis pada beberapa tanaman budidaya yang penting. Kerugian tersebut dapat disebabkan oleh infeksi tunggal geminivirus maupun infeksi ganda oleh beberapa strain geminivirus. Untuk mempelajari pengaruh inokulasi ganda geminivirus terhadap kemunculan gejala penyakit dan kemampuan masing-masing strain geminivirus untuk bermultiplikasi di dalam jaringan inang dilakukan penelitian menggunakan dua strain geminivirus yaitu geminivirus asal cabai rawit dari Segunung, Jawa Barat dan geminivirus asal tomat dari Lembang, Jawa Barat (GVToL). Menurut analisis keragaman diketahui bahwa kedua geminivirus tersebut memiliki koefisien perbedaan sebesar 7.5. Kedua geminivirus tersebut diinokulasikan ke tanaman tomat menggunakan serangga vektor *Bemisia tabaci*. Gejala infeksi pada tanaman tomat yang diinokulasi dengan dua strain geminivirus sedikit berbeda tetapi tidak lebih parah dibandingkan gejala pada tanaman tomat yang diinokulasi dengan masing-masing strain geminivirus secara tunggal. Walaupun demikian geminivirus yang lebih berhasil bermultiplikasi di dalam tanaman tomat yang diinokulasi adalah GVToL. Hal tersebut ditunjukkan berdasarkan hasil deteksi dari tanaman yang diinokulasi ganda menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) yang dilanjutkan dengan pemotongan produk PCR dengan enzim restriksi.

Kata kunci : *Bemisia tabaci, geminivirus, polymerase chain reaction*

PENGANTAR

Geminivirus yang ditularkan melalui kutu kebul *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) merupakan patogen penting pada komoditas tanaman sayuran dan pangan, terutama di daerah tropis dan subtropis (Wyatt & Brown 1996). Pada daerah tersebut, geminivirus dapat menimbulkan kerusakan yang besar pada pertanian karena tingginya tingkat populasi *B. tabaci* yang berperan sebagai serangga vektor. Di Israel, serangan *Tomato yellow leaf curl geminivirus* (TYLCV) pada tanaman tomat mengakibatkan kehilangan hasil sampai 100% (Pico *et al.* 1996). Sekitar 90-100% pertanian tomat pada lahan komersial di Venezuela terinfeksi oleh *Tomato yellow mosaic virus* (TYMV) pada saat fase pembungaan (Uzcategui & Lastra 1977). Di Indonesia sendiri, penyakit krupuk pada tembakau menjadi sangat penting sejak tahun 1984 karena serangan virus krupuk dapat menyebabkan daun-daun tembakau tidak dapat lagi digunakan sebagai pembungkus cerutu (Trisusilowati *et al.*, 1990).

Seperti halnya pada infeksi virus yang lain, geminivirus dapat menginfeksi tanaman baik secara tunggal ataupun bersama-sama (multi infeksi atau infeksi ganda). Hasil pengujian menggunakan teknik molekuler menunjukkan bahwa telah terjadi infeksi ganda (*mixed infection*) antara *Tomato dwarf leaf curl virus* (TDLCV) dan *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) pada lahan percobaan tomat dan lada di Israel (Roye *et al.*, 1999). Pada kejadian infeksi ganda, masing-masing virus akan menginfeksi tanaman inang setelah berhasil masuk ke dalam jaringan inang. Keberhasilan infeksi masing-masing virus ditentukan oleh interaksi intermolekuler yang terjadi selama replikasi DNA virus, aktivasi proses transkripsi, dan pergerakan genom virus dalam inang (Hill 1998). Jika dua virus menginfeksi satu tanaman secara bersama-sama, maka akan terjadi interaksi antara kedua-

virus dan tanaman inang yang diekspresikan dalam bentuk gejala. Gejala yang terbentuk akibat infeksi ganda dapat lebih parah atau tidak lebih parah daripada gejala yang dihasilkan oleh infeksi tunggal. Selain berpengaruh terhadap gejala, infeksi ganda seringkali memicu terbentuknya suatu pseudorekombinan. Rekombinasi (pseudorekombinasi) atau pengaturan kembali segmen genom merupakan salah satu mekanisme alami evolusi genom dari virus multipartit.

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh inokulasi ganda strain geminivirus terhadap kemunculan gejala penyakit. Dalam penelitian ini digunakan metode deteksi berdasarkan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) untuk mempelajari kemampuan masing-masing strain tersebut untuk bermultiplikasi di dalam jaringan inang. Teknik PCR dengan menggunakan primer universal telah terbukti dapat digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi geminivirus dari tanaman yang berbeda dan tempat yang berbeda (Rojas *et al.*, 1993; Wyatt & Brown 1996; Roye *et al.* 1999; Hidayat *et al.*, 1999). Amplifikasi DNA melalui teknik PCR yang dikombinasikan dengan teknik *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) dapat menganalisis keragaman suatu kelompok virus sampai ke tingkat strain. Diharapkan dengan menggunakan teknik ini, pola enzim restriksi DNA untuk infeksi ganda geminivirus juga dapat divisualisasi sehingga bila terjadi pseudorekombinasi dapat di deteksi.

BAHAN DAN METODE

Perbanyakan Sumber Inokulum Geminivirus dan Serangga Vektor. Dua isolat geminivirus yang digunakan dalam penelitian terdiri atas geminivirus cabai rawit Segunung (GVCrS), yaitu isolat geminivirus yang menginfeksi tanaman cabai rawit di Segunung, Bogor, Jawa Barat, dan geminivirus tomat Lembang (GVToL), yaitu isolat-

geminivirus yang menginfeksi tanaman tomat di Lembang, Bandung, Jawa Barat. Isolat-isolat geminivirus tersebut diperbanyak pada tanaman tomat melalui penularan dengan serangga vektor *B. tabaci*.

B. tabaci dipelihara pada tanaman brokoli (*Brassica oleracea*) dalam kurungan kedap serangga. Pemeliharaan *B. tabaci* dan prosedur penularan geminivirus dengan serangga vektor dilakukan sesuai dengan prosedur yang dilakukan oleh Pico *et al.*, (1999).

Penularan dengan Serangga Vektor. Pada saat penularan virus secara tunggal, *B. tabaci* dewasa diberi periode akuisisi pada tanaman tomat bergejala selama 48 jam. Setelah itu *B. tabaci* dipindahkan ke tanaman tomat sehat sebanyak 10 ekor/tanaman yang kemudian ditutup dengan kurungan kain kasa, dan serangga dibiarkan melalui periode inokulasi selama 48 jam pada masing-masing tanaman. Setelah periode inokulasi *B. tabaci* dimatikan dengan penyemprotan air. Untuk penularan virus secara ganda, periode akuisisi dilakukan selama 48 jam secara terpisah pada tanaman sumber inokulum GVT_oL dan GVCrS. Setelah periode akuisisi, sebanyak 5 ekor *B. tabaci* diambil dari masing-masing tanaman sumber inokulum dan dipindahkan ke tanaman tomat sehat. Periode inokulasi pada tanaman sehat dilakukan selama 48 jam. Tanaman tomat dipelihara sampai timbul gejala kemudian tanaman tersebut dijadikan bahan dalam pengujian selanjutnya. Sebagai kontrol, tanaman tomat diinokulasi dengan serangga yang bebas virus. Pengamatan dilakukan terhadap periode inkubasi, tipe gejala dan kejadian penyakit.

Ekstraksi Asam Nukleat dari Jaringan Daun. Ekstraksi asam nukleat dari jaringan tanaman dilakukan dengan menggunakan metode non Phenol. Sampel daun ($\pm 0,5-1$ g) dimasukan ke dalam tabung ependorf kemudian ditambahkan 500 ml bufer (100 mM Tris pH 8,

50 mM EDTA, 500 mM NaCl) dan beta mercaptoethanol (5%). Kemudian suspensi disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C dan diambil supernatannya. Ke dalam supernatan ditambah 33 ml SDS sampai konsentrasi akhir mencapai 1% dan kemudian divorteks, lalu diinkubasi selama 10 menit pada suhu 65°C. Setelah diinkubasi, ke dalam suspensi ditambah 0,3 volume 5 M KoAC, divorteks, disentrifugasi 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C dan diambil supernatannya. Langkah ini dilakukan dua kali. Setelah itu, ke dalam supernatan yang diperoleh ditambahkan 0,5 volume isopropanol, divorteks dan diinkubasi pada suhu -20°C selama 10 menit. Setelah itu dilakukan sentrifugasi 12.000 rpm 10 menit pada suhu 4°C. Dari hasil sentrifugasi diambil peletnya dan dicuci dengan menambahkan 500 ml etanol (70%), disentrifugasi 12.000 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C, dan dibuang supernatannya. Pelet yang diperoleh diresuspensi dengan 300 ml dH₂O. Suspensi tersebut digunakan untuk amplifikasi dengan PCR.

Amplifikasi DNA dengan PCR. Metode PCR digunakan untuk mengamplifikasi sebagian dari genom geminivirus dengan menggunakan sepasang primer universal untuk geminivirus yaitu PALiv 1978 (5'GCATCTGCAGGCCCACTYGTCTTYCCNGT3') dan PARic715 (5'GATTCTGCAGTDAIRTTYTCRCCATCCA3') yang dirancang berdasarkan perbandingan sekuen DNA beberapa geminivirus pada daerah genom yang menyandikan gen replikasi dan protein selubung. Metode amplifikasi DNA dilakukan mengikuti metode yang dilakukan oleh Rojas *et al.* (1993). Reaksi PCR (volume total 25 μ l) dilakukan dengan mencampurkan 18 μ l dH₂O, sepasang primer universal masing-masing 1 μ l dan 5 μ l templat DNA ke dalam *Ready to-go PCR Beads* (Amersham Pharmacia Biotech) yang mengandung 1,5 unit *Taq DNA polymerase*, 10 mM Tris-HCl (pH-

9), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 200 µl *stabilizer* termasuk BSA. PCR dilakukan pada kondisi reaksi sebagai berikut: satu siklus optimasi pada suhu 94°C selama 1 menit, 30 siklus yang terdiri dari tahap denaturasi DNA pada suhu 94°C selama 1 menit, tahap penempelan primer ke DNA target pada suhu 55°C selama 2 menit, dan tahap pemanjangan DNA pada suhu 72°C selama 2 menit, serta satu siklus lanjutan pada suhu 72°C selama 10 menit yang diakhiri pada suhu 4°C untuk penyimpanan. Hasil PCR divisualisasi pada 1% gel agarose dalam 0,5x bufer TBE (Tris-borate EDTA) dengan voltase 80 volt (Sambrook *et al.*, 1989) dan diamati dengan UV transiluminator setelah diwarnai dengan etidium bromida.

Analisis Hasil Pemotongan Asam Nukleat dengan Enzim Restriksi Endonuklease. Enzim restriksi yang digunakan dalam pengujian ini adalah *EcoRI*, *HindIII*, *Pst I*, dan *Bam HI*. Metode pemotongan DNA yang digunakan adalah metode yang dilakukan oleh Sambrook *et al.* (1989). Sebanyak 4 µl larutan DNA hasil amplifikasi dengan PCR dimasukkan ke dalam tabung mikro dan ditambah dengan 7,5 µl dH₂O, 1 µl 10x *restriction enzim digestion buffer*, dan enzim restriksi sebanyak 2,5 µl. Setelah inkubasi pada suhu 37°C minimal selama 24 jam, dilakukan visualisasi dengan elektroforesis pada gel agarose (1,5%). Selanjutnya analisis hasil pemotongan dengan enzim restriksi tersebut dilakukan menggunakan program NTSYS versi 2.1. melalui analisis *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Infeksi Geminivirus pada Tanaman Tomat. Pada percobaan penularan virus secara tunggal kedua isolat geminivirus, GVToL dan GVCrS, dapat menginfeksi tanaman tomat. Gejala awal umumnya terlihat-

pada daun yang muda dan kemudian berkembang ke daun yang lebih tua. Secara umum, gejala yang ditimbulkan kedua isolat hampir sama yaitu tepi daun melengkung ke atas atau ke bawah, permukaan daun tidak rata, ukuran daun mengecil dan pertumbuhan tanaman terhambat. Namun terdapat sedikit perbedaan gejala dan masa inkubasi antara tanaman yang terinfeksi GVCrS dan GVToL. Gejala daun melengkung ke bawah terlihat pada tanaman tomat yang terinfeksi GVCrS namun tidak terlihat pada tanaman tomat yang terinfeksi GVToL. Perbedaan lain tampak pada warna daun yang terinfeksi, dimana daun tanaman tomat yang terinfeksi GVToL menjadi berwarna hijau kekuningan sedangkan warna daun tomat yang terinfeksi GVCrS tidak berubah. Masa inkubasi GVCrS pada tanaman tomat berkisar antara 11-16 hari dan kejadian penyakit mencapai 100%. Infeksi GVToL pada tanaman tomat memerlukan masa inkubasi yang lebih lama, yaitu 12-20 hari dan kejadian penyakit hanya mencapai 80% setelah 4 minggu inokulasi (Tabel 1). Menurut Polston & Anderson (1997) gejala yang disebabkan oleh infeksi geminivirus sangat bervariasi tergantung pada strain dari virus, kultivar dan umur tanaman pada waktu terinfeksi dan kondisi lingkungan. Strain virus yang berbeda terbukti dapat menyebabkan variasi gejala.

Inokulasi ganda pada tanaman tomat ditunjukkan dengan munculnya gejala yang merupakan gabungan dari gejala tanaman yang terinfeksi oleh masing-masing isolat secara tunggal. Gejala yang ditimbulkan meliputi daun melengkung ke atas dan ke bawah, permukaan daun tidak rata, warna daun menguning dengan masa inkubasi berkisar antara 12-20 hari. Walaupun kejadian penyakit mencapai 100% namun keparahan penyakit tampak lebih ringan daripada tanaman yang diinfeksi secara tunggal baik oleh GVCrS maupun GVToL. Hasil ini sesuai dengan percobaan pseudorekombinasi antara *Tomato mottle geminivirus* (ToMoV) dan *Bean dwarf mosaic geminivirus* (BDMV)

Tabel 1 Hasil penularan geminivirus isolat Segunung (GVCrS) dan Lembang (GVToL) pada tanaman tomat (*L. esculentum*)

Jenis Infeksi/ Isolat Geminivirus	Masa Inkubasi (Hari)	Kejadian Penyakit (%) ^a	Gejala ^b
Inokulasi Tunggal :			
GVCrS	11 – 16	100	LA, LB, KD
GVToL	12 – 20	80	LA, KN, KD
Inokulasi Ganda :			
GVCrS dan GVToL	12 – 20	100	LA, LB, KN

^a Kejadian penyakit dihitung dengan rumus $KP = \frac{\text{tanaman terinfeksi}}{\text{jumlah tanaman}} \times 100\%$

^b LA: lengkung ke atas; LB: lengkung ke bawah; KN: menguning; KD=kerdil

yang dilakukan oleh Gilbertson *et al.*, (1993). Pseudorekombinan yang terbentuk dengan mengkombinasikan DNA A dan DNA B dari kedua virus tidak menimbulkan gejala yang lebih parah daripada strain asli. Gejala yang tidak lebih parah tersebut mengindikasikan bahwa kombinasi heterologus tidak dapat berinteraksi dengan baik. Hal tersebut dimungkinkan karena komponen DNA B tidak dapat direplikasi dengan baik pada proses replikasi yang berhubungan dengan protein AL 1, komponen dari DNA A. Namun pada percobaan inokulasi ganda GVCrS dan GVToL, terjadinya pseudorekombinasi antara molekul genom kedua strain virus belum dapat ditentukan. Meskipun gejala yang dihasilkan oleh inokulasi ganda merupakan gabungan dari gejala tanaman yang terinfeksi secara tunggal, namun petunjuk tersebut belum cukup untuk dapat menentukan terjadinya infeksi ganda, sehingga diperlukan pengujian yang lebih akurat yaitu analisis pola enzim restriksi.

Penurunan tingkat keparahan gejala yang dihasilkan dari proses rekombinasi juga didapatkan dari studi yang melibatkan TYLCV dan *Tomato yellow leaf curl – Sardinia Virus* (TYLCV-Sar) (Monci *et al.*, 2002). Penurunan tingkat keparahan gejala pada infeksi ganda diduga merupakan mekanisme yang penting di alam. Tanaman inang dengan gejala ringan dapat bertahan lebih baik, sehingga keberadaan virus dalam tanaman inang dapat lebih terjaga. Hal tersebut bersama-sama dengan berkurangnya

efisiensi *B. tabaci* menularkan virus dari tanaman inang dengan gejala yang parah dapat menyebabkan meningkatnya kemungkinan rekombinan virus tersebar di alam.

Analisis DNA dengan PCR. Tanaman tomat yang diinokulasi dengan GVCrS dan GVToL terbukti terinfeksi. Hal tersebut ditunjukkan dengan diperolehnya fragmen DNA berukuran 1,6 kb setelah melalui proses amplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer universal geminivirus PAL1v 1978 dan PAR1c 715. Fragmen DNA dengan ukuran tersebut sesuai dengan ukuran yang diharapkan bila DNA geminivirus diamplifikasi dengan menggunakan primer tersebut. Analisis DNA dengan teknik PCR juga dapat memvisualisasi DNA virus hasil inokulasi ganda GVCrS dan GVToL pada tanaman tomat. Fragmen DNA berukuran 1,6 kb tampak setelah visualisasi pada gel agarose. Fragmen dengan ukuran seperti ini sama dengan fragmen geminivirus yang menginfeksi tanaman secara tunggal.

Teknik PCR terbukti dapat digunakan untuk mendeteksi terjadinya infeksi ganda virus dalam suatu tanaman. Teknik PCR ini juga digunakan Mehta *et al.*, (1994) untuk mendeteksi infeksi ganda antara TYLCV dan ToMoV, dan kedua virus tersebut dapat ditemukan di dalam seekor kutu kebul. Teknik PCR juga memungkinkan Monci *et al.*, (2002) mendeteksi isolat rekombinan TYLCV dan TYLCSV. Primer PAL1v 1978 dan PAR1c -

715, yang digunakan dalam reaksi amplifikasi, merupakan primer universal geminivirus yang dirancang berdasarkan sekuen DNA beberapa geminivirus (Rojas *et al.*, 1993). Pasangan primer tersebut mengamplifikasi bagian genom geminivirus yang mencakup daerah *common region*, sebagian gen yang mengkode replikasi dan sebagian gen yang mengkode selubung protein. Hasil amplifikasi dengan pasangan primer PAL1v 1978 dan PAR1c 715 juga mencakup bagian genom non fungsional yang disebut *intergenic region*. Diketahui bahwa pseudorekombinasi antar dua geminivirus sering terjadi di daerah *intergenic region* tersebut. Analisis genom menunjukkan bahwa rekombinasi antara TYLCSV dan TYLCV terjadi di daerah *intergenic region* (Monci *et al.* 2002).

Analisis Pola Enzim Restriksi (RFLP). Hasil analisis pola enzim restriksi geminivirus asal Segunung (GVCrS) dan asal Lembang (GVToL) hasil inokulasi tunggal di tanaman tomat menunjukkan pola yang berbeda. Keempat enzim yang memotong kedua strain virus tersebut tidak ada yang menghasilkan fragmen pemotongan DNA yang sama. Dari hasil RFLP tersebut terlihat bahwa GVCrS dan GVToL merupakan dua isolat yang berbeda (Tabel 2).

Hasil visualisasi elektroforesis pada gel agarose menunjukkan bahwa pola enzim restriksi DNA hasil inokulasi ganda sama seperti pola enzim restriksi DNA GVToL (Tabel 2). Pada gel tidak tampak pola pemotongan isolat GVCrS. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi GVToL dalam tanaman inang lebih tinggi daripada konsentrasi GVCrS. Hal tersebut dapat terjadi karena beberapa faktor, antara lain konsentrasi virus yang dibawa oleh serangga vektor. Walaupun dalam proses inokulasi jumlah vektor yang digunakan sama, namun konsentrasi virus yang ditularkan tidak dapat dipastikan sama. Dalam hal ini berarti konsentrasi GVToL yang-

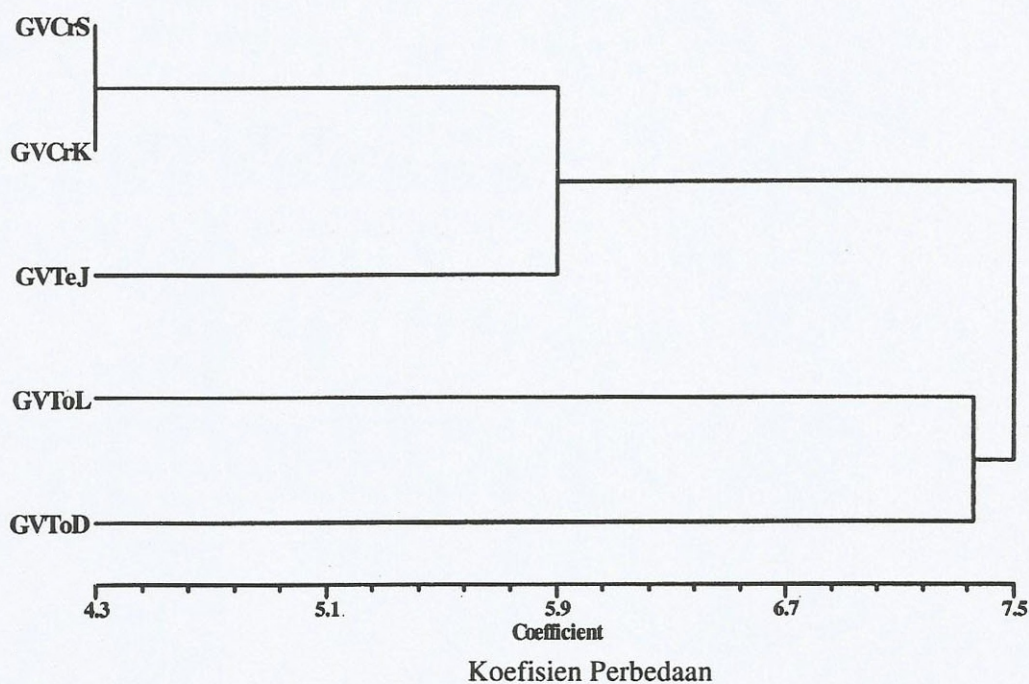
ditularkan oleh kutukebul lebih tinggi. Faktor lain lebih pada mekanisme yang terjadi di dalam jaringan tanaman inang setelah virus berhasil masuk ke tanaman inang. Kesuksesan infeksi virus ditentukan oleh kemampuan virus untuk mengkode gen inang dalam proses replikasi dan kemampuan pergerakan virus antar sel inang. Bila ada lebih dari satu virus yang menginfeksi suatu tanaman, maka virus yang dapat mengkode gen inang lebih baik dan dapat bergerak lebih baik dalam jaringan inang menjadi virus yang dominan. Meskipun dari hasil pola enzim restriksi DNA pada kejadian infeksi ganda tidak terlihat pola pemotongan yang baru, namun belum bisa dipastikan tidak terjadi pseudorekombinasi. Pseudorekombinasi mungkin dapat terjadi pada bagian genom yang lain yang tidak dapat dipotong oleh keempat enzim yang digunakan. Karena tidak ada situs pengenalan yang sesuai, maka ada tidaknya pseudorekombinasi tidak dapat dideteksi.

Berdasarkan hasil pemotongan produk PCR dengan beberapa enzim restriksi di atas kemudian dilakukan analisis keragaman dengan mengikut sertakan beberapa geminivirus yang lain, yaitu geminivirus tembakau Jember, Jawa Timur (GVTeJ), geminivirus tomat Darmaga, Jawa Barat (GVToD), dan geminivirus cabai rawit Kaliurang, Yogyakarta (GVCrK). Koefisien perbedaan kelima geminivirus tersebut menunjukkan bahwa salah satu faktor yang menentukan hubungan kekerabatan geminivirus adalah jenis tanaman inang, dimana GVCrS dan GVCrK yang menyerang cabai rawit berada dalam satu kelompok, GVToL dan GVToD yang menyerang tomat berada dalam satu kelompok yang lain, sementara GVTeJ yang menyerang tembakau lebih dekat hubungannya ke kelompok geminivirus yang menyerang cabai rawit (Gambar 1).

Tabel 2 Hasil pemotongan beberapa isolat geminivirus dengan beberapa enzim restriksi

Isolat geminivirus	Ukuran pita DNA/enzim restriksi (bp)				
	Tidak dipotong	BamHI	EcoRI	HindIII	Pst I
GVCrS	1600	1000, 600	800, 600, 200	1600	1600
GVCrK	1600	1000, 600	800, 600, 200	1600	1000, 600
GVTeJ	1600	1000, 600	700, 500, 400	1600	1000, 600
GVTolL	1600	1100, 500	850, 750	1600	1200, 400
GVTodD	1600	1020, 580	670, 550, 380	1600	1600

GVCrS : isolat geminivirus cabai rawit dari Segunung, Jawa Barat
 GVCrY : isolat geminivirus cabai rawit dari Kaliurang, Yogyakarta
 GVTeJ : isolat geminivirus tembakau dari Jember, Jawa Timur
 GVTolL : isolat geminivirus tomat dari Lembang, Jawa Barat
 GVTodD : isolat geminivirus tomat dari Darmaga, Jawa Barat



Gambar 1 Dendrogram lima geminivirus berdasarkan karakter pola pita DNA produk PCR yang dipotong dengan beberapa enzim restriksi menggunakan analisis UPGMA. GVCrS = Geminivirus cabai rawit dari Segunung, Bogor, Jawa Barat; GVCrK = Geminivirus cabai rawit dari Kaliurang, Yogyakarta; GVTeJ = Geminivirus tembakau dari Jember; GVTolL = Geminivirus tomat dari Lembang, Bandung, Jawa Barat; GVTodD = Geminivirus tomat dari Darmaga, Bogor, Jawa Barat.

KESIMPULAN

Penelitian inokulasi ganda ini menunjukkan bahwa geminivirus yang hubungan kekerabatannya tidak dekat, GVCrS dan GVToL, dapat menginfeksi tanaman tomat secara bersama-sama. Infeksi kedua geminivirus tersebut menyebabkan gejala lebih ringan dibandingkan bila masing-masing geminivirus tersebut menginfeksi secara tunggal. Walaupun demikian geminivirus yang berasal dari tanaman tomat, GVToL, tampaknya memiliki kemampuan yang lebih baik untuk bereplikasi atau bergerak di dalam sel tanaman tomat yang terinfeksi. Penelitian mengenai infeksi ganda geminivirus perlu mendapat perhatian untuk mendapatkan informasi mengenai dinamika populasi geminivirus di alam. Selain itu pengetahuan tentang infeksi ganda dapat bermanfaat dalam pengembangan strategi pengendalian virus, terutama dalam usaha pemuliaan tanaman untuk mendapatkan varietas tahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Gilbertson RL, Hidayat SH, Paplomatas EJ, & Rojas MR. 1993. Pseudorecombination between infectious cloned DNA components of tomato mottle and bean dwarf mosaic geminivirus. *J. Gen. Virol.* 74:23 – 31.
- Hidayat SH., Rusli ES, & Aidawati N. 1999. Penggunaan primer universal dalam *polymerase chain reaction* untuk mendeteksi virus geminivir pada cabai. Di dalam *Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*. Purwokerto, 16 – 18 September 1999: 355 – 359.
- Hill JE, Strandberg JO, Hiebert E, & Lazarowitz SG. 1998. Asymmetric infectivity of pseudorecombinants of cabbage leaf curl virus and squash leaf curl virus : implications for bipartite geminivirus evolution and movement. *Virology* 250: 283 – 292.
- Mehta P, Wyman JA, Nakhla MK, & Maxwell DP. 1994. Polymerase chain reaction detection of viruliferous *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae) with two tomato-infecting geminivirus. *J. Econ. Entomol.* 87(5): 1285-1290.
- Monci F, Campos SS, Castillo JN, & Moriones E. 2002. A natural recombinant between the geminivirus tomato yellow leaf curl Sardinia virus and tomato yellow leaf virus exhibits a novel pathogenic phenotype and is becoming prevalent in Spanish population. *Virology* 303: 317 – 326.
- Pico B., Diez MJ, & Nuez F. 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The tomato yellow leaf curl virus. A review. *Science Horticulture* 67: 151 – 196.
- Polston JE, & Anderson PK. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in Western Hemisphere. *Plant Dis.* 81 (12): 1358 – 1369.
- Rojas MR, Gilbertson RL, Russel DR, & Maxwell DP. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminivirus. *Plant Dis.* 77: 340 – 347.
- Roye ME, Wernecke ME, McLaughlin WA, Nakhla MK, & Maxwell DP. 1999. Tomato dwarf leaf curl virus, a new bipartite geminivirus associated with tomatoes and peppers in Jamaica and mixed infection with tomato yellow leaf curl virus. *Plant Pathol* 48(3): 370 – 378.

Sambrook J, Fitsch EF, & Maniatis T. 1989. *Molecular cloning : A Laboratory Manual*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Trisusilowati EB., Suseno R, Sosromarsono S, Barizi, Soedarmadi, & Nur MA. 1990. Transmission, serological aspects and morphology of the tobacco krupuk virus. *Indon. J. Agric.* (2):75-79.

Uzcategui RC, & Lastra R. 1977. Transmission and physical properties of the causal agent of mosaico amarillo del tomate (tomato yellow mosaic). *Phytopathology* 68: 985 – 988.

Wyatt SD, & Brown JK. 1996. Detection of subgroup III geminiviruses isolates in leaf extracts by degenerate primer and polymerase chain reaction. *Phytopathology* 86:1288-1293.