

Penularan Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) oleh *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) pada Tanaman Jeruk Siam

I NYOMAN WIJAYA

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman, Denpasar 80232

ABSTRACT

Transmission of CVPD (*Citrus Ploem Vein Degeneration*) Disease by *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) on Citrus Siam

The desperation rate of CVPD disease on the central of citrus area in Bali were 32% per year, however the populations of *D. citri* as vector were relative low, so that the research concerning on the minimum population of *D. citri* that effective as vector were needed. The aims of this research were to know the minimum population of *D. citri* to transmit CVPD effectively, incubation periods of disease on citrus siam variety and the characteristic of pathogen on the vector. The research was carried out in the glass house of Department Plant Pest and Disease, Faculty of Agriculture Udayana University. The result showed that transmission of CVPD disease could be infected by one imago of *D. citri*, through the increase of vector population decreased the infection period of CVPD diseased. *Liberobacter asiaticum* as the pathogen of CVPD had ability to persistent on the vector.

Keywords: *D. citri*, incubation period, persistent, CVPD, citrus

PENDAHULUAN

Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) tergolong salah satu penyakit penting pada tanaman jeruk yang telah berkembang luas dan menjadi kendala utama usaha pengembangan dan peningkatan produksi jeruk di Bali. Penyebab penyakit CVPD yang juga disebut *citrus greening* atau *huanglongbin* adalah bakteri *Liberobacter* yang tergolong dalam subdivisi Protobacteria (Sandrine *et al.*, 1996). Bakteri *Liberobacter* hidup dalam floem tanaman jeruk dan menimbulkan gejala yang khas, bakteri tersebut belum bisa dibiakkan pada media buatan (Wirawan, 2001).

Penularan penyakit CVPD dilakukan oleh serangga vektor *Diaphorina citri* Kuw. (Homoptera : Psyllidae) (Tirtawidjaja & Suharjo, 1990; Wirawan, 2000). Penularan penyakit CVPD di alam bergantung pada kepadatan populasi *D. citri* sebagai serangga vektor dan keberadaan sumber inokulum (Chen, 1998). Nurhadi (1993) melaporkan bahwa patogen dapat ditularkan oleh serangga vektor dari satu tanaman ke tanaman lain setelah melalui 1) periode makan akuisisi yaitu waktu

yang diperlukan vektor untuk makan pada tanaman sakit sampai mendapatkan patogen, 2) periode makan inokulasi yaitu waktu yang diperlukan vektor untuk makan pada tanaman sehat sampai dapat menularkan patogen dan 3) periode retensi yaitu selang waktu vektor masih dapat menularkan patogen. Selanjutnya ditambahkan ketepatan vektor menusukkan stiletnya pada bagian tanaman sakit dan proporsi vektor yang infeksi mempengaruhi laju penularan penyakit CVPD.

Pada patogen yang bersifat persisten terdapat periode laten yaitu waktu yang diperlukan patogen berada dalam tubuh vektor sampai dapat ditularkan (Carter, 1973). Patogen persisten bersifat sirkulatif dalam tubuh vektor yaitu patogen masuk melalui stilet menuju saluran pencernaan, kemudian bersama protein, lemak dan unsur-unsur lainnya masuk ke darah melalui dinding saluran pencernaan di mesenteron, selanjutnya terbawa aliran darah menuju kelenjar ludah dan dikeluarkan kembali melalui stilet (Carter, 1973).

Selain melalui vektor *D. citri*, penyakit CVPD

dapat menyebar melalui bibit terinfeksi. Bibit jeruk yang tampak sehat dapat mengandung patogen CVPD, karena masa inkubasi patogen CVPD dalam tanaman inang berkisar tiga sampai lima bulan (Tirtawidjaja & Suharsodjo, 1990), sehingga diperlukan cara yang tepat dan cepat untuk mendeteksi keberadaan patogen CVPD pada bibit jeruk.

Populasi *D. citri* di pertanaman jeruk di dusun Langkan dan Katung relatif rendah berkisar 0,12 – 9,9 ekor per pohon, tetapi laju penyebaran penyakit CVPD sangat tinggi yaitu 32% per tahun, sehingga perlu diteliti jumlah minimum serangga *D. citri* yang efektif berperan sebagai vektor penyakit CVPD.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah minimum serangga *D. citri* yang dapat menularkan penyakit, masa inkubasi penyakit pada tanaman dan sifat patogen dalam tubuh serangga.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Kaca Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Udayana.

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : (1) biji jeruk 'Siam', (2) gelas plastik berdiameter 7 cm dan tinggi 10 cm untuk penanaman bibit jeruk, (3) kurungan berbentuk silinder dari plastik milar berdiameter 7,5 cm dan tinggi 13 cm dengan penutup kain batis, (4) pupuk kotoran sapi, (5) aspirator, (6) perlengkapan analisis PCR.

Jumlah serangga *D. citri* sebagai vektor penyakit CVPD

Imago *D. citri* yang infeksius diintroduksi ke dalam kurungan yang berisi bibit jeruk berumur empat minggu dengan perlakuan yaitu 1, 3 dan 5 ekor per tanaman. Imago *D. citri* tersebut diambil dari hasil perkembangbiakan pada tanaman jeruk 'Siam' terinfeksi CVPD. Tiap-tiap perlakuan diulang sebanyak 6 kali. Tanaman yang telah diinokulasi tersebut, kemudian disimpan dalam kotak kedap serangga. Dua minggu setelah inokulasi *D. citri* dimatikan dengan insektisida. Pemeliharaan tanaman dan pengamatan gejala penyakit dilakukan setiap hari. Setelah tanaman menunjukkan gejala penyakit daunnya diambil untuk digunakan dalam

analisis PCR.

Deteksi Penyakit CVPD

Infeksi bakteri *L. asiaticum* pada tanaman yang diinokulasi, dianalisis dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) melalui tahapan : 1) isolasi total DNA tanaman, 2) amplifikasi DNA dan 3) visualisasi hasil PCR.

Isolasi total DNA tanaman jeruk

Pada prinsipnya cara ini menggunakan prosedur dari Rogers & Bendich (1991). Potongan ibu tulang daun dari 3 – 5 helai daun tanaman jeruk dipotong kecil-kecil, kemudian ditaruh di dalam mortar diameter 7 cm dan disimpan selama 30 menit dalam lemari pendingin –80° C. Potongan ibu tulang daun tersebut kemudian ditumbuk sampai halus dan disuspensi dalam 0,5 ml penyangga ekstraksi yang mengandung 2% CTAB (w/v), 100 mM Tris-HCl pH 8,0, 20 mM EDTA, 1,4 M NaCl, 1% Mercaptoetanol. Suspensi ini dimasukkan ke dalam tabung mikro (1,5 ml) dan diinkubasi pada suhu 65° C selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 5000 rpm selama 5 menit dan supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke dalam tabung mikro baru. Campuran khloroform : isoamylalkohol (24 : 1) ditambahkan ke dalam supernatan dengan volume yang sama, kemudian divorteks dan disentrifugasi pada 15000 rpm selama 5 menit. Supernatan sebanyak 90 ul dipindahkan ke dalam tabung baru dan ditambahkan 10 ul NaOAc(pH 5,2) dan 200 ul etanol absolut dingin (-20°C) kemudian diinkubasi pada suhu –20°C selama 30 menit. Supernatan dibuang setelah disentrifugasi 11500 rpm selama 15 menit. Pelet DNA yang dihasilkan dicuci dengan etanol 70% (-20°C) dan disentrifugasi pada 11500 rpm selama 2 menit. Etanol dibuang selanjutnya pelet dikeringkan. Pelet tersebut disuspensi dalam 50 ul bufer TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0).

Amplifikasi DNA

DNA hasil isolasi diamplifikasi dengan teknik PCR. Reaksi PCR terdiri dari 1 ng DNA sampel, 100 p mol masing-masing primer (P 011 dan P 012c), 2 ul dNTP, 2 ul bufer PCR (10x), 0,2 ul Taq polimerase (5U/ul). Sekuen primer tersebut adalah sebagai berikut : 5'GCC

CGT ATG CAA TAC GAG CGG C3' dan 5'GCC TCG CGA CTT CGC AAC CCA T3'. Menggunakan primer ini ukuran DNA yang teramplifikasi adalah 1160 pasang basa. Reaksi ini dilarutkan dalam dH₂O menjadi volume 25 ul. Amplifikasi DNA dilakukan sebagai berikut : a) Perlakuan awal pada suhu 92°C selama 30 detik dengan satu siklus ulangan, b) Empat puluh siklus yang terdiri atas pemisahan utas DNA pada suhu 92°C selama 60 detik, penempelan primer pada DNA suhu 60°C selama 30 detik dan sintesis DNA pada suhu 72°C selama 90 detik, c) Penyesuaian atas dan bawah pada suhu 72°C selama 90 detik dengan satu siklus ulangan.

Visualisasi hasil PCR

Fragmen DNA hasil amplifikasi PCR dielektroforesis pada gel agarose 1%. Penyangga untuk elektroforesis digunakan penyangga TAE yang mengandung 40 mM sodium EDTA. Elektroforesis dilaksanakan pada 100 volt selama 1 – 2 jam (Sambrook *et al.*, 1989).

Uji Persistensi Patogen dalam Tubuh Serangga

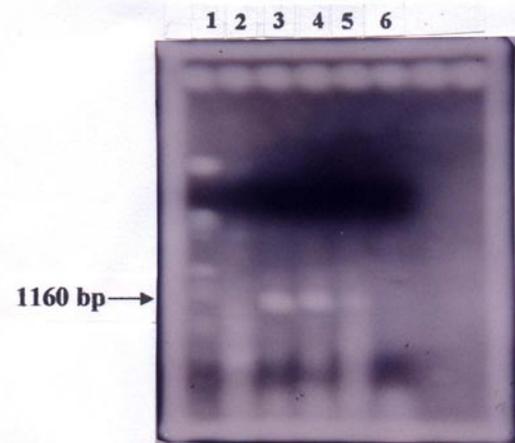
Imago *D. citri* berumur satu hari hasil pembiakan pada tanaman sehat diberi makan akusisi pada tanaman jeruk 'Siam' terserang CVPD selama tiga hari. Selanjutnya dengan menggunakan aspirator seekor serangga dipindahkan ke tanaman sehat berumur empat minggu yang ditanam pada gelas plastik dan disungkup. Serangga ini dipindahkan setiap hari pada tanaman sehat yang telah disiapkan sampai serangga tersebut mati. Perlakuan ini diulang sebanyak 6 kali. Tanaman yang telah diperlakukan dipelihara di dalam kotak serangga berinding kain batis agar tidak terkontaminasi dengan serangga lain dan dipelihara dengan baik. Sebagai kontrol digunakan serangga yang tidak diberi makan akusisi pada tanaman jeruk sakit. Pengamatan terhadap gejala penyakit dilakukan setiap hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Serangga *D. citri* yang Diperlukan untuk Menularkan Penyakit CVPD

Amplifikasi DNA yang berasal dari tanaman yang diinokulasi CVPD melalui 1, 3 dan 5 ekor imago *D. citri* infeksi menghasilkan pita DNA berukuran 1160 pasang

basa. Pita DNA tidak teramplifikasi dari perlakuan inokulasi menggunakan *D. citri* noninfeksi (Gambar 1.). Hal ini menunjukkan bahwa satu ekor imago *D. citri* sudah cukup untuk menimbulkan infeksi.



Gambar 1. Hasil Amplifikasi DNA Bakteri *D. citri* dari Serangga Vektor *D. citri* dengan Teknik PCR Menggunakan Primer 16S rDNA pada Gel Agarose. Lajur 1) DNA marker, 2) Penularan dengan 5 ekor imago tanpa patogen, 3) Penularan dengan 5 ekor imago infeksi, 4) Penularan dengan 3 ekor imago infeksi, 5)

Penularan dengan 1 ekor imago infeksi, 6) Daun jeruk sehat.

Kekhususan dan kepekaan dari metode PCR dengan primer yang digunakan dalam penelitian ini telah teruji dengan baik untuk mengamplifikasi 16S rDNA dari strain *L. asiaticum*. Primer ini sudah dicoba digunakan untuk mendeteksi beberapa penyakit tanaman jeruk lainnya seperti penyakit kanker (*Xanthomonas campestris*), penyakit puru (*Agrobacterium tumefaciens*) dan virus tristeza, tetapi ternyata tidak mengamplifikasi 16S rDNA dari bakteri dan virus tersebut (Sandrine *et al.*, 1996). Fakta ini menunjukkan bahwa metode PCR dengan menggunakan primer spesifik *Liberobacter* ini sangat efektif dan tepat untuk menentukan infeksi *Liberobacter* pada tanaman jeruk

Tanaman yang terserang CVPD memperlihatkan gejala daunnya menguning atau klorosis, warna tulang daunnya menjadi hijau tua, daunnya lebih tebal, kaku dan ukurannya menjadi lebih kecil (Gambar 2).



Hal yang sama juga dilaporkan oleh Sarwono (1995). Klorosis terjadi karena pembentukan klorofil berkurang, sehingga aktivitas fotosintesis tanaman menurun. Tanaman yang terinfeksi CVPD juga menunjukkan gejala nekrosis dan gugur daun (Marlina, 1998). Proses terjadinya klorosis diawali dengan tertularnya jaringan tanaman oleh patogen melalui stilet serangga vektor pada saat mengisap cairan tanaman. Selanjutnya patogen yang terdapat dalam floem tersebar ke bagian-bagian tanaman bersama translokasi bahan organik. Kehadiran patogen dalam jumlah yang relatif banyak dapat menimbulkan gejala klorosis bahkan terjadinya nekrosis pada floem tulang daun (Diah, 2002).

Masa Inkubasi Penyakit pada Tanaman Terinfeksi

Analisis korelasi menunjukkan terjadi korelasi yang sangat nyata ($r = -0,93^{**}$) antara jumlah vektor dengan masa inkubasi penyakit. Hal ini berarti bahwa semakin banyak jumlah vektor semakin pendek masa inkubasi penyakit.

Masa inkubasi penyakit terpendek terjadi pada tanaman yang diinokulasi 5 ekor imago yaitu 32,67 hari dan terpanjang oleh 1 ekor imago yaitu 45,75 hari (Tabel 1 dan Lampiran 1). Hal ini disebabkan karena makin banyak populasi serangga yang infeksi, maka makin banyak pula patogen yang ditularkan ke dalam jaringan tanaman sehingga menyebabkan masa inkubasi lebih cepat. Dalam kaitan ini Mahfud (1987) mengemukakan bahwa konsentrasi patogen dalam sistem tanaman merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan penularan penyebab penyakit

dalam tanaman. Laju penyebaran penyakit CVPD pada kondisi alami tergantung dari kepadatan populasi vektor, jumlah inokulum bakteri pada tanaman, lamanya periode makan akuisisi dan lamanya periode inokulasi (Chen, 1998). Penularan patogen CVPD pada tanaman di lapangan menunjukkan gejala setelah 3 sampai 5 bulan (Tirtawidjaja & Suharsojo, 1990). Hasil penelitian Marlina (1998) menunjukkan bahwa masa inkubasi patogen CVPD pada jeruk Rough Lemon 62,30 - 79,20 hari.

Tabel 1. Masa Inkubasi Patogen CVPD yang Diinokulasi Melalui Vektor *D. citri* Stadium Imago pada Bibit Jeruk Siam

Jumlah Imago <i>D. citri</i> ekor	Masa Inkubasi $\bar{x} \pm SE$ hari	Keterangan
1	45,75 ± 1,89	$r = - 0,93^{**}$
3	38,33 ± 2,42	
5	32,67 ± 2,25	

Subandiyah *et al.* (1993) melaporkan bahwa, penularan patogen CVPD pada tanaman tapak dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don) menunjukkan gejala 3 – 4 minggu setelah penularan dengan menggunakan perantara tali putri (*Cassytha filliformis* L.). Hal ini menunjukkan bahwa tanaman jeruk ‘Siam’ lebih rentan terhadap serangan penyakit CVPD.

Sifat Patogen *L. asiaticum* pada Tubuh Serangga *D. citri*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa imago *D. citri* dapat menularkan penyakit CVPD setelah mengisap tanaman sakit selama 72 jam dan dapat menularkan ke tanaman sehat selama 21 hari (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa patogen bersifat persisten dalam tubuh serangga.

Tabel 2. Masa Penularan Penyakit CVPD pada Bibit Tanaman Jeruk Siam

Penularan	Perlakuan
-----------	-----------

Hari Ke	Kontrol								
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III
1.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
2.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
3.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
4.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
5.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
6.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
7.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
8.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
9.	x	x	-	x	x	x	-	-	-
10.	x	x	-	Mati	x	x	-	-	-
11.	x	x	-		x	x	-	-	-
12.	x	x	-		x	x	-	-	-
13.	-	x	-		x	x	-	-	-
14.	-	x	-		x	x	-	-	-
15.	Mati	x	-		x	x	-	-	-
16.		-	-		x	x	-	-	-
17.		Mati	-		x	x	-	-	-
18.			-		x	-	-	-	-
19.			-		x	Mati	-	-	-
20.			Mati		x		-	-	-
21.					x		Mati	-	-
22.					-			-	-
23.					Mati			-	-
24.							Mati		-
25.									-
26.									-
27.									-
28.									-
29.									-
30.									-
31.									-
32.									Mati

Keterangan : x : menularkan - : tidak menularkan

Proses penularan patogen persisten diawali dengan terisapnya patogen bersamaan dengan cairan tanaman oleh serangga vektor pada waktu makan melalui stiletnya, kemudian masuk ke saluran pencernaan menembus dinding usus, sirkulasi dalam hemolimf dan mengkontaminasi air ludah. Bakteri mengalami periode laten dalam tubuh vektor, setelah itu vektor menjadi infeksi (Carter, 1973; Oka, 1993).

Penularan patogen melalui rantai makanan disebutkan oleh Hurd (2003) sebagai “*trophic transmission from host to host via the food chain*”. Interaksi mutualisme tersebut berlangsung sangat lama. Hipotesis yang diajukan adalah : 1) Tekanan seleksi berlangsung ke arah tanaman yang dapat menyediakan makanan terbaik bagi vektor, 2) Tekanan seleksi berlangsung ke arah serangga yang dapat menjadi tempat berkembangbiak dan menempatkan patogen pada

lokasi dalam tanaman yang paling menguntungkan bagi bakteri, 3) Tekanan seleksi berlangsung ke arah yang dapat memanipulasi vektor agar penularan terjadi secara efektif. Hipotesis tersebut di atas dapat mendukung penelitian ini karena patogen CVPD bersifat persisten dalam tubuh serangga vektor yaitu patogen CVPD dapat ditularkan selama hidupnya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

D. citri adalah vektor CVPD yang sangat efektif, karena seekor serangga telah mampu menularkan

penyakit pada tanaman jeruk dan patogen CVPD dapat ditularkan selama hidupnya. Makin banyak jumlah vektor makin cepat munculnya gejala.

Saran

Mengingat seekor imago *D. citri* sudah mampu menularkan patogen CVPD dan patogen CVPD bersifat persisten dalam tubuh serangga vektor, maka perlu dilakukan pengendalian, sejak di pembibitan sampai di pertanaman jeruk, terutama di daerah endemis serangan penyakit CVPD. Pada daerah yang masih bebas CVPD, pengendalian ditekankan kepada fungsi alami yaitu memanfaatkan musuh alami.

DAFTAR PUSTAKA

Carter, W. 1973. *Insect in Relation to Plant Diseases*. New York: John Willey & Sons.

Chen, C. N. 1998. Ecology of the insect of citrus systemic diseases and their control in Taiwan. Citrus Greening Control Project in Okinawa. Japan: *Extension Bulletin*. 459: 1 – 5.

Diah, YIGA. 2002. *Penyebaran Bakteri Liberobacter Asiaticum pada Tanaman Jeruk dalam Beberapa Tingkat Gejala Serangan Penyakit CVPD*. Tesis. Universitas Udayana, Program Studi Bioteknologi Pertanian. Denpasar.

Hurd, H. 2003. Manipulation of medically important insect vectors by their parasite. *Ann. Rev. Entomol.* 48: 141 – 162.

Mahfud, M.C. 1987. Penularan penyakit CVPD oleh *Diaphorina citri* K. *Gatra Penelitian Penyakit Tumbuhan dalam Pengendalian Secara Terpadu*. Hal. 42 – 43.

Marlina. 1998. *Respon Tiga Kultivar Jeruk terhadap Patogen CVPD (Citrus Vein Phloem Degeneration) yang Diinokulasi dengan Beberapa Cara*. Disertasi. Universitas Pajajaran. Bandung.

Nurhadi. 1993. Aspek epidemi penyakit CVPD: prediksi kecepatan perkembangan penyakit dan faktor-faktor yang mempengaruhi terhadap kecepatan perkembangan. *Penelitian Hotikultura* 5 (2) : 71-72.

Oka, I N. 1993. *Pengantar Epidemiologi Penyakit Tanaman*. Universitas Gajah Mada Press.

Yogyakarta.

Rogers, S. O. & A. J. Bendich. 1991. Extraction of DNA from plant tissues. *Plant Molecular Biology Manual*. USA: Kluwer Academic Publisher.

Sambrook, J., E. F.Fritsch, & T. Maniatis, T. 1989. *Moleculer Cloning : A Laboratory Manual*. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press. Hal. 125 – 128.

Sandrine, J., J.M. Bove, & M. Garnier. 1996. PCR detection of two candidates *Liberobacter* spesies associated with greening disease of citrus. *Moleculer an Celluler Probes*. 10: 43.

Sarwono, B. 1995. *Jeruk dan Kerabatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Subandiyah, S., S. Somowiharjo, Pusposendjojo, & Sudarmadi. 1993. Penularan CVPD pada tanaman tapak dara menggunakan tali putri dan struktur patogen berasoasi dengan CVPD pada jeruk. *Makalah Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*. Yogyakarta, 6 – 8 September 1993.

Tirtawidjaja, S. & R. Suharsojo. 1990. Penyakit CVPD merupakan bahaya laten bagi tanaman jeruk di Indonesia. *Perlindungan Tanaman Menunjang Terwujudnya Pertanian Tangguh dan Kelestarian Lingkungan*. PT. Agricon. hlm 299 – 310.

Wirawan, I G.P. 2000. *Isolasi Resisten terhadap CVPD (Citrus Vein Phloem Degeneration) dengan Metode Transformasi Menggunakan Agrobacterium tumefaciens*. Laporan Riset Unggulan Terpadu V. Universitas Udayana. Denpasar.

Wirawan, I G. P. 2001. *Bioteknologi Menjawab Tantangan Pembangunan Berbasis Teknologi*. Orasi Ilmiah Pengukuhan Guru Besar Tetap Universitas Udayana. Universitas Udayana. Denpasar.

Lampiran 1. Masa Inkubasi Penyakit CVPD pada Bibit Tanama Jeruk Siam Berumur Empat Minggu

Nomor sample ^{a)}	Masa inkubasi (hari) ^{b)}
D0.1	145

Tidak	-		
D0.2	Tidak		-
D0.3	Tidak		-
D0.4	Tidak		-
D0.5	Tidak		-
D0.6	Tidak		-
Rata-rata masa inkubasi			
D1.1	Ya		46
D1.2	Tidak		-
D1.3	Ya		43
D1.4	Ya		47
D1.5	Tidak		-
D1.6	Ya		47
Rata-rata masa inkubasi			45,75
D3.1	Ya		39
D3.2	Ya		38
D3.3	Ya		41
D3.4	Ya		34
D3.5	Ya		38
D3.6	Ya		40
Rata-rata masa inkubasi			38,33
D5.1	Ya		34
D5.2	Ya		35
D5.3	Ya		34
D5.4	Ya		29
D5.5	Ya		33
D5.6	Ya		31
Rata-rata masa inkubasi			32,67

Keterangan :

a) : D0 = perlakuan tanpa vektor

D1 = perlakuan dengan menggunakan 1 ekor vektor

D3 = perlakuan dengan menggunakan 3 ekor vektor

D5 = perlakuan dengan menggunakan 5 ekor vektor

b) : Masa inkubasi : - = tanaman tidak menunjukkan gejala, sehingga masa inkubasi

tidak bisa diukur