

## Research

# Ciri Adaptasi Anatomi Daun *Bougainvillea spectabilis* W. Yang Dijangkiti Virus *Bougainvillea chlorotic vein-banding*

Noraini Talip<sup>1\*</sup>, Jayasrie Eyamalay<sup>1</sup>, Mohamad Ruzi Abdul Rahman<sup>2</sup>, Mohd Nizam Mohd Said<sup>1</sup>, Haja Maideen Kader Maideen<sup>1</sup>, Nik Norhazrina Nik Mohd Kamil<sup>1</sup>, Aqilah Mustafa Bakray<sup>1</sup>, Shamsul Khamis<sup>1</sup>, Ahmad Fitri Zohari<sup>1</sup>, Nur Farah Ain Zainee<sup>1</sup>, Hamidun Bunawan<sup>3</sup> and Nurnida Mohd Kamal<sup>2</sup>

1. Department of Biological Sciences and Biotechnology, Faculty of Science and Technology, 43600 UKM Bangi, Selangor
  2. Bangi Botanic Gardens, Faculty of Science and Technology, 43600 UKM Bangi, Selangor
  3. Institut Biologi Sistem (INBIOSIS), Universiti Kebangsaan Malaysia, UKM 43600 Bangi, Selangor, Malaysia
- \*Corresponding author: [ntalip@ukm.edu.my](mailto:ntalip@ukm.edu.my)

### ABSTRAK

Kajian anatomi daun telah dijalankan ke atas *Bougainvillea spectabilis* yang dijangkiti virus *Bougainvillea chlorotic vein-banding* (BCVB). Objektif kajian ialah untuk mengenal pasti ciri adaptasi anatomi daun *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCVB melalui perbandingan dengan ciri anatomi daun sihat dan mengenalpasti sel dan tisu yang beradaptasi terhadap kehadiran virus. Kaedah kajian melibatkan hirisan dengan mikrotom gelongsor pada lamina, petiol dan tulang daun, siatan epidermis adaksial dan abaksial daun, penjernihan peruratan, pewarnaan, pelekapan dan cerapan di bawah mikroskop cahaya. Hasil kajian menunjukkan, kandungan klorofil sangat rendah pada lamina dan tepi daun, pertambahan bilangan berkas vaskular, tisu vaskular, dan sel kolenkima, serta kerosakan dinding sel pada daun yang dijangkiti. Hasil cerapan ciri anatomi epidermis abaksial daun menunjukkan daun dijangkiti virus mempunyai bilangan, indeks dan saiz stomata yang rendah berbanding daun sihat. Hasil kajian juga membuktikan perubahan pada bentuk dinding epidermis abaksial dan penebalan dinding sel epidermis adaksial daun yang dijangkiti virus BCVB. Kehadiran hablur dan peruratan tertier kelihatan kurang jelas dicerap pada daun yang dijangkiti virus. Perubahan pada sel dan tisu pada daun yang dijangkiti virus BCVB merupakan tindak balas terhadap jangkitan dan adaptasi daun terhadap jangkitan virus. Hasil kajian ini boleh digunakan sebagai rujukan untuk mengesan jangkitan BCVB dan kaedah kawalan yang boleh dilakukan kepada sel dan tisu yang dijangkiti.

**Kata kunci:** Penyakit *Bougainvillea*, mekanisme pertahanan, adaptasi daun, anatomi daun

### Article History

Accepted: 18 February 2024

First version online: 31 March 2024

### Cite This Article:

Talip, N., Eyamalay, J., Abdul Rahman, M.R., Mohd Said, M.N., Kader Maideen, H.M., Nik Mohd Kamil, N.N., Mustafa Bakray, A., Khamis, S., Zohari, A.F., Zainee, N.F.A., Bunawan, H. & Mohd Kamal, N. 2024. Ciri adaptasi anatomi daun *Bougainvillea spectabilis* W. yang dijangkiti virus *Bougainvillea chlorotic vein-banding*. Malaysian Applied Biology, 53(1): 45-54. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v53i1.2879>

### Copyright

© 2024 Malaysian Society of Applied Biology

### ABSTRACT

Leaf anatomy studies were conducted on *Bougainvillea spectabilis* infected with *Bougainvillea chlorotic vein-banding* (BCVB) virus. The objective of the study is to identify the anatomical adaptation characteristics of *B. spectabilis* leaves infected with the BCVB virus through comparison with the anatomical characteristics of control leaves and to identify cells and tissues that are adapted to the presence of the virus. The research method involves sectioning with a sliding microtome on the lamina and margin, petiole and midrib, epidermal peels of the adaxial and abaxial epidermis, leaf clearing to observe the venation, staining, mounting, and observation under a light microscope. The results of the study show that in infected leaves, the chlorophyll content is very low in the lamina and leaf margin, an increase in the number of vascular bundles, vascular tissue, and collenchyma cells, as well as cell wall damage. The results of observation of the anatomical characteristics of the abaxial epidermis of leaves show that leaves infected with the virus have a lower index number, and size of stomata compared to healthy leaves. The results of the study also proved changes in the shape of the abaxial epidermal wall and the thickening of the adaxial epidermal cell wall of leaves infected with the BCVB virus. The presence of crystals and tertiary veins is less clearly observed in virus-infected leaves. Changes in cells and tissues in leaves infected with BCVB virus are a response to infection and leaf

adaptation to virus infection. The results of this study can be used as a reference to detect BCVB virus infection and control methods that can be performed on infected cells and tissues.

**Key words:** *Bougainvillea* disease, defending mechanism, leaf adaptation, leaf anatomy

## PENGENALAN

*Bougainvillea spectabilis* W. ialah spesies daripada famili Nyctaginaceae yang merupakan pokok renek atau pemanjat, biasanya mempunyai batang berduri. Berasal dari Brazil dan tumbuh secara meluas di kawasan tropika dan subtropika (Tsai *et al.*, 2008). Dikenali sebagai bunga kertas kerana mempunyai brakta petal yang nipis dan teksturnya seperti kertas. Nama *Bougainvillea* diambil sempena nama Louis Antoine de Bougainvillea yang merekodkan penemuannya pada tahun 1768 (Chew 2010). Genus ini mempunyai lebih daripada 100 kultivar dan 18 spesies (Vargas & Petricevich 2018). Daun berselang, setentang, fasikulat pada dahan, mempunyai petiol atau terdapat juga spesies yang hampir sesil (Douglas & Spellenberg 2010). Pangkal daun simetri atau hampir simetri dengan infloresen simos, asemos atau berbunga secara tunggal. Bunga tiada brakta atau mempunyai tiga brakta yang selalunya menonjol dan ciri bunganya sempurna atau tidak sempurna (Douglas & Spellenberg 2010). Popular sebagai tumbuhan hiasan dalam industri landskap kerana morfologi dan warna bunganya yang pelbagai daripada warna putih, merah jambu, ungu atau kuning (Chew 2010; Yusop *et al.*, 2019), warna dengan warna ungu atau magenta lebih kerap ditemui (Ghogar & Jiraungkoorskul 2017). Industri landskap *B. spectabilis* sering terganggu disebabkan oleh virus patogen tumbuhan yang menjejaskan penghasilan bunga dan daunnya dan salah satu virus tersebut ialah *Bougainvillea spectabilis chlorotic vein-banding* (BCVB).

Virus BCVB yang mengakibatkan penyakit *Bougainvillea chlorotic vein-banding* telah direkodkan di Brazil pada tahun 2001 dan menunjukkan simptom jangkitan seperti *mottling*, klorosis, dan *vein-banding* pada genus *Bougainvillea* terutamanya pada daun *B. spectabilis* (Tsai *et al.*, 2008). Virus ini jenis basilus dan bersaiz 125-130 nm × 30-40 nm dan biasanya dijumpai dalam sitoplasma sel mesofil (Rivas *et al.*, 2005). Rivas *et al.* (2005) melaporkan analisis filogenetik menunjukkan virus BCVB merupakan spesies *Badnavirus* yang baharu. *Badnavirus* terdiri daripada 25 spesies dan majoritinya boleh dijumpai di kawasan tropika (Alexandre *et al.*, 2015). Virus ini didapati tersebar melalui cantuman tunas (Bhat *et al.*, 2016). Menurut Tsai *et al.* (2008), BCVB telah dikenal pasti di Taiwan dan dibuktikan merupakan *Badnavirus* yang sama dengan patogen yang ditemui di Brazil. Simptom virus BCVB telah dilaporkan pada daun *B. spectabilis* di kampus Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India pada tahun 2009 dan penemuan ini kemudiannya disahkan sebagai *Badnavirus* berdasarkan jujukan homologi (Alexandre *et al.*, 2015). Pada 2018 pula, simptom penyakit seperti klorosis, *vein-banding* dan *mottling* telah dikenal pasti pada daun *B. spectabilis* di beberapa kolej kediaman di Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi (Yusop *et al.*, 2019). Analisis perincian BLAST dalam kajian molekul yang dijalankan menunjukkan virus ini berkongsi identiti nukleotid 100% dengan virus BCVB daripada kajian Taiwan (DQ103759). RNA diekstrak menggunakan kit *QIAGEN RNeasy Plant Mini* daripada daun yang dijangkiti virus BCVB untuk mendapatkan jujukan virus yang lengkap dan hasil menunjukkan kehadiran virus BCVB dan merupakan laporan pertama yang mengesahkan kehadiran virus BCVB di Malaysia (Yusop *et al.*, 2019). Kajian anatomi ini dilakukan ke atas struktur daun secara terperinci untuk menganalisis perbandingan ciri anatomi daun *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCVB dengan ciri anatomi daun pokok sihat, juga bagi menentukan sel dan tisu daun yang terlibat dan ciri anatomi yang beradaptasi terhadap kehadiran virus BCVB.

## BAHAN DAN KAEDAH

### Bahan

Sampel daun kajian diambil daripada pokok *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCVB dan mempunyai simptom seperti bintik-bintik klorotik, *vein-banding* dan klorosis (Rajah 1 & 2). Sampel daun sihat juga diambil, kedua-dua sampel daun diambil daripada beberapa lokaliti (Jadual 1).

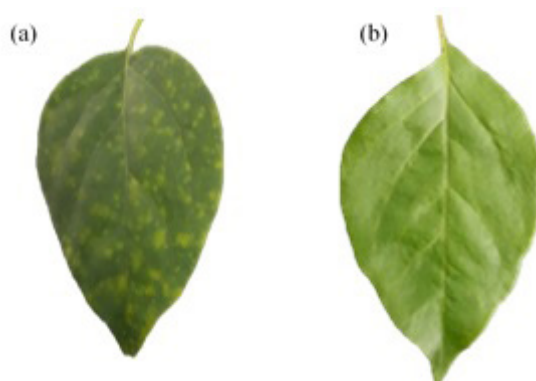
### Kaedah

Kaedah yang digunakan mengikut Johansen (1940), Sass (1958) dan Noraini *et al.* (2022). Sampel daun ditetapkan dalam larutan penetap AA dengan nisbah 1:3 (30% asid asetik: 70% alkohol) selama 48 jam. Ketebalan 20 µm hirisan mikrotom gelongsor untuk keratan rentas lamina, petiol, tulang dan tepi daun. Penjernihan dengan peluntur Clorox selama 15 minit, pewarnaan dengan Safranin dan Alcian Blue, penyahairan dengan siri rendaman alkohol 50%, 70%, 95% dan 100%, pelekapan dengan

pelekap Euparal, pengeringan oven pada suhu 60 °C dan cerapan di bawah mikroskop cahaya. Bagi peruratan tengah dan tepi daun, sampel dipotong pada ukuran 1 cm × 1 cm pada bahagian tengah dan tepi daun, direndam dalam larutan Basic Fuchsin (1% Basic Fuchsin: 10% KOH), dikeringkan pada suhu 60 °C, penyahairan, pewarnaan dengan Safranin, pelekapan dengan pelekap Canada Balsam, pengeringan dalam ketuhar pada suhu 60 °C. Slaid dicerap di bawah mikroskop Leica Diaplan dan imej dirakam pada pembesaran x4, x10, x20, x40 dan x100 menggunakan perisian Analisis Docu.



Rajah 1. Simptom virus BCVB pada daun *Bougainvillea spectabilis*



Rajah 2. Sampel daun *B. spectabilis*. (a) Daun dijangkiti virus BCVB. (b) Daun sihat.

Jadual 1. Sampel dan lokaliti kutipan

Bil	No. sampel	Lokaliti	Tarikh kutipan
1.	J1-J12	Nilai, Negeri Sembilan	19 November 2019
2.	J13-J17	Putrajaya	19 November 2019
3.	J18-J30	UKM Bangi, Selangor	20 November 2019
4.	J31-J37	Raub, Pahang	20 November 2019

## HASIL

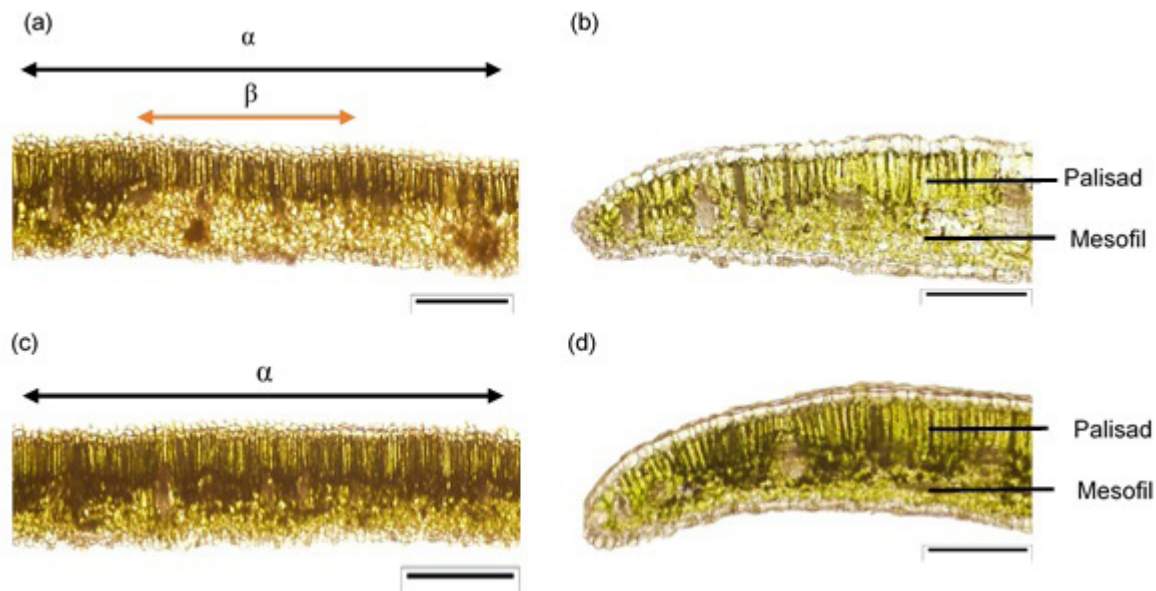
### Perubahan kandungan klorofil

Klorofil ialah pigmen fotosintetik yang hadir pada tumbuhan, berfungsi menyerap dan menyimpan cahaya dalam bentuk tenaga yang disimpan untuk proses fotosintesis (Yi et al., 2018). Perbandingan kandungan klorofil pada lamina dan tepi daun yang dijangkiti virus dan yang sihat boleh dirujuk pada Rajah 3a dan 3b dan Rajah 3c dan 3d. Hasil kajian menunjukkan kandungan klorofil kurang padat tengah lamina daun yang dijangkiti virus berbanding pada daun sihat. Kandungan klorofil pada tengah lamina daun dijangkiti virus berada pada paras minimum pada bahagian yang terdapat bintik klorotik. [Panjang bintik klorotik ( $\beta$ ) = 1336.79  $\mu\text{m}$ ], [Panjang lamina daun ( $\alpha$ ) = 2222.02  $\mu\text{m}$ ]. Peratus Panjang bintik klorotik/Panjang lamina daun ialah 60.16%. Kandungan klorofil pada lamina daun sihat adalah maksimum [Panjang lamina daun ( $\alpha$ ) = 2222.02]. Pengurangan kehadiran klorofil ketara diperhatikan pada daun yang dijangkiti berbanding klorofil pada daun sihat. Hasil kajian jelas menunjukkan bahawa

warna kekuningan kerana jangkitan virus adalah disebabkan berlakunya kehilangan atau pengurangan kandungan klorofil dan hal ini boleh menjejaskan pokok yang dijangkiti.

### Struktur sel

Tisu pengangkutan merupakan tisu yang paling terdedah kepada virus dan menjadi salah satu kawasan jangkitan paling utama pada tumbuhan setelah jangkitan mula berlaku. Rajah 4a dan 4b menunjukkan keratan rentas tulang daun dan Rajah 4c dan 4d menunjukkan petiol, daun dijangkiti virus dan daun sihat. Tisu vaskular jelas mengalami perubahan daripada segi bilangan dan susunan berkas vaskular. Pertambahan bilangan berkas vaskular berlaku pada tulang daun dan petiol yang dijangkiti.



**Rajah 3.** Keratan rentas lamina dan tepi daun *B. spectabilis*. (a & b) Lamina dan tepi daun dijangkiti. (c & d) Lamina dan tepi daun sihat. Skala: (a) – (d) = 200 µm.

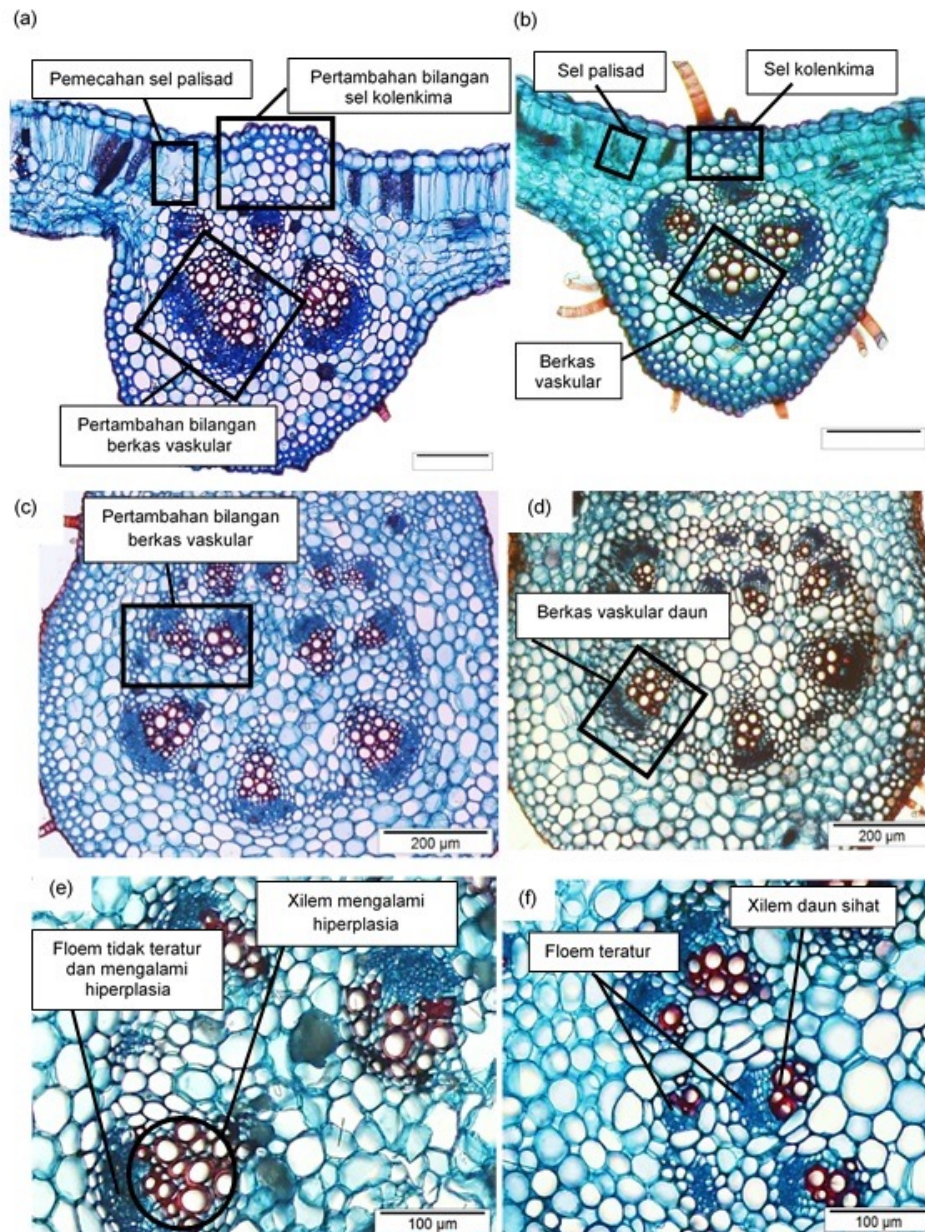
Julat bilangan berkas vaskular pada tulang daun dijangkiti adalah 3-6, dan 2-3 berkas vaskular pada daun sihat. Julat untuk bilangan berkas vaskular yang dicerap pada petiol daun dijangkiti adalah 8-11 dan 5-10 pada daun sihat (Rajah 4c & 4d). Tisu floem dan xilem pada berkas vaskular yang dijangkiti juga mengalami hiperplasia (Rajah 4e). Hiperplasia merupakan keadaan berlakunya pertambahan bilangan sel secara mendadak. Selain daripada itu, koordinasi floem yang tidak teratur juga boleh dicerap (Rajah 4e). Sel palisad pecah dan pertambahan sel kolenkima dicerap pada tulang daun yang dijangkiti. Julat bilangan sel kolenkima pada daun dijangkiti adalah 20-30 sel, manakala pada daun sihat 16-19 sel.

### Indeks stomata

Stomata berfungsi mengawal kehilangan air dan terlibat dalam penyerapan karbon dioksida (Haworth, Kingston & McElwain 2011). Patogen yang menjangkiti tumbuhan biasanya akan memasuki tumbuhan melalui bukaan liang stomata tersebut. Secara tidak langsung stomata terdedah kepada jangkitan patogen dan juga bertindak balas kepada jangkitan tersebut. Antara yang terjejas ialah kepadatan dan indeks stomata yang dikira menggunakan formula berikut:

$$\text{Indeks stomata (SI)} = \frac{\text{Bilangan stoma}}{\text{Bilangan stoma} + \text{Bilangan sel epidermis}} \times 100$$

Indeks stomata pada epidermis abaksial daun yang dijangkiti adalah rendah berbanding indeks stomata pada epidermis abaksial daun sihat iaitu 9.67% berbanding 14.63%. Indeks stomata yang rendah menunjukkan taburan stomata kurang padat (Rajah 5). Oleh yang demikian stomata didapati hadir kurang padat pada permukaan epidermis abaksial daun yang dijangkiti berbanding pada epidermis abaksial daun sihat. Hal ini sebenarnya merupakan adaptasi tumbuhan untuk mengurangkan bilangan stomata yang akan meningkatkan lagi kemasukan patogen penyakit.

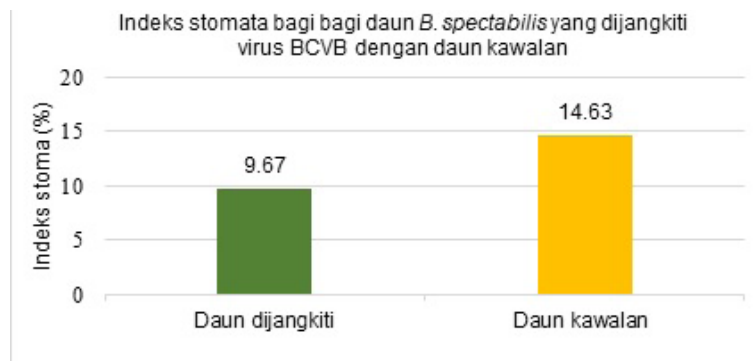


**Rajah 4.** Keratan rentas tulang daun *B. spectabilis*. (a) Tulang daun dijangkiti virus. (b) Tulang daun sihat. Keratan rentas petiol *B. spectabilis*. (c) Petiol daun dijangkiti virus. (d) Petiol daun sihat. (e) Xilem dan floem yang dijangkiti. (f) Xilem dan floem daun sihat. Skala: (a) & (b)= 200 µm, (c) & (d)= 100 µm.

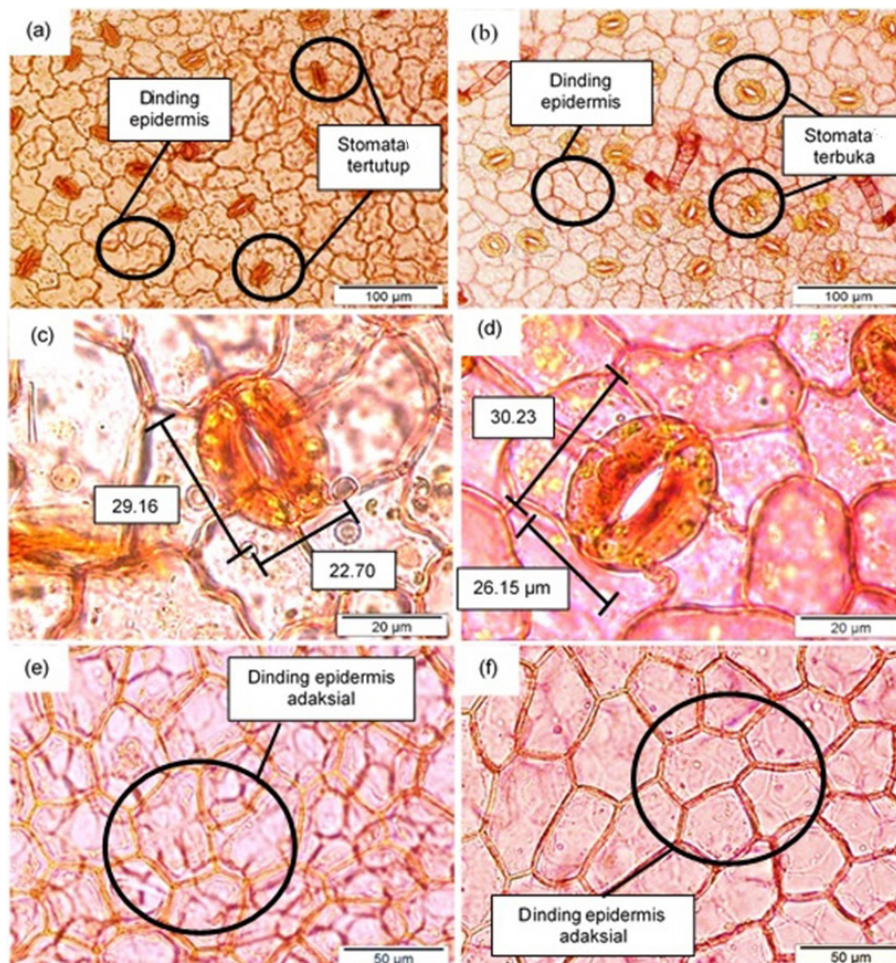
Hanya 13-16 stomata dijumpai pada permukaan epidermis abaksial daun yang dijangkiti, manakala pada permukaan epidermis abaksial daun sihat terdapat 18-27 stomata yang dicerap pada pembesaran x20 (Rajah 6a dan 6d). Penutupan liang stomata juga dapat dicerap pada stomata yang hadir pada daun yang dijangkiti virus, manakala liang stomata terbuka pada daun sihat. Kehadiran virus akan dikesan oleh tumbuhan dan akan bertindak balas dengan menutup liang stomata. Stomata pada daun sihat mempunyai kepanjangan dalam julat 26.18-35.26 µm dan lebar dalam julat 24.10-28.28µm (Rajah 6d). Manakala stomata pada daun yang dijangkiti mempunyai julat kepanjangan stomata 22.35-33.19 µm dan julat 19.88 µm-25.62 µm lebar (Rajah 6c). Ini menunjukkan saiz stomata daun sihat lebih tinggi berbanding daun dijangkiti virus BCBV. Selain itu, perubahan pada bentuk dinding epidermis abaksial daun yang dijangkiti dapat dilihat pada Rajah 6e. Rajah 6f menunjukkan dinding epidermis adaksial daun sihat. Penebalan dinding epidermis adaksial boleh dicerap daripada daun yang dijangkiti virus. Dinding epidermis adaksial yang dijangkiti mempunyai penebalan pada julat 2.42 µm-4.85 µm. Dinding epidermis adaksial daun sihat pula mempunyai penebalan pada julat 2.41 µm-3.81 µm.

### Peruratan daun dan kehadiran hablur

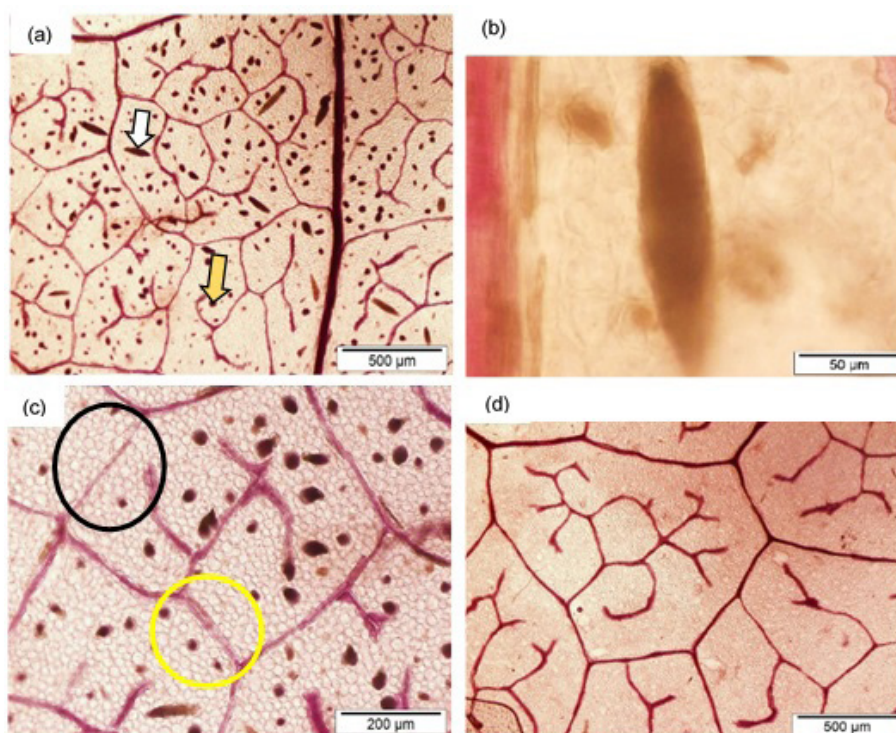
Hablur boleh ditemui dalam bentuk rafid, drus dan hablur tunggal (Noraini *et al.*, 2019) dan berfungsi sebagai salah satu mekanisme tindak balas pertahanan tumbuhan. Hasil cerapan peruratan daun yang dijangkiti virus menunjukkan kehadiran hablur jenis rafid dan juga drus dan ciri ini tidak dicerap pada peruratan daun sihat (Rajah 7a – 7d). Hasil kajian yang ditunjukkan pada Rajah 7c membuktikan bahawa daun yang dijangkiti, peruratannya akan semakin pudar dan akhirnya lenyap terutama pada peruratan tertier di kawasan daun yang mengalami jangkitan virus yang kronik. Hal ini menunjukkan kerosakan dan kemusnahan pada sistem tisu vaskular akibat jangkitan virus yang pastinya akan mengganggu fisiologi tumbuhan. Kehilangan tisu vaskular juga merupakan kaedah adaptasi tumbuhan terhadap jangkitan virus bagi mengelakkan sebaran virus terus berlaku melalui tisu vaskular.



**Rajah 5.** Indeks stomata bagi daun *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCBV dengan daun sihat.



**Rajah 6.** Epidermis abaksial daun *B. spectabilis*. (a) Daun yang dijangkiti. (b) Daun sihat. Stomata. (c) Purata lebar dan panjang stomata daun dijangkiti. (d) Purata panjang dan lebar stomata daun sihat. Epidermis adaksial daun *B. spectabilis*. (e) Daun dijangkiti. (f) Daun sihat Skala: (a) & (b) = 100  $\mu$ m. Skala: (c) & (d) = 20  $\mu$ m Skala: (e) & (f) = 50  $\mu$ m.



**Rajah 7.** Peruratan daun *B. spectabilis*. (a) Peruratan daun dijangkiti membuktikan kehadiran hablur rafid. (b) hablur rafid (anak panah putih). (c) Drus (dalam bulatan kuning) dan kehilangan urat daun (bulatan hitam). (d) Daun sihat. Skala: (a) & (c)=500 µm, (b) =50 µm.

**Jadual 2.** Perbandingan ciri anatomi daun *B. spectabilis* dijangkiti virus BCVB dengan daun sihat

Aspek	Daun yang dijangkiti virus BCVB	Daun sihat
Kandungan klorofil	Kandungan klorofil pada kepadatan 60.16%	Kandungan klorofil pada kepadatan 100%
Sel kolenkima	20-30 sel	16-19 sel
Sel palisad	Dinding sel palisad pecah (kandungan sel bebas)	Tidak pecah
Bilangan berkas vaskular	Tulang daun: 3-6	Tulang daun: 2-3
Sel floem	Petiol: 8-11 Susunan floem tidak teratur dan mengalami hiperplasia	Petiol: 5-10 Susunan lebih teratur dan tiada hiperplasia berlaku
Sel xilem	Mengalami hiperplasia	Tiada perubahan
Indeks stomata	9.67%	14.63%
Taburan stomata	13-16	18-27
Dinding epidermis abaksial	Perubahan pada bentuk dinding epidermis abaksial	Tiada perubahan
Purata saiz stomata (Panjang x lebar)	29.16 x 22.70 µm	30.23 x 26.15 µm
Ukuran dinding epidermis adaksial	2.42 µm-4.85 µm	2.41 µm-3.81 µm
Peruratan	Hablur dan drus hadir.  Urat tertier tidak jelas atau hilang.	Hablur dan drus tidak hadir. Urat tertier jelas.

## PERBINCANGAN

### Kandungan klorofil

Degradasi atau penyusutan klorofil merupakan fenomena biasa yang berlaku semasa jangkitan virus (Ananthu & Umamaheswaran 2019). Perubahan pada komponen dan fungsi kloroplas merupakan penyebab utama simptom klorosis, ini termasuk perbezaan pada kehadiran dan pengurangan pigmen klorofil (Zhao et al., 2016). Kandungan klorofil adalah salah satu petunjuk bagi aktiviti fotosintesis (Jabeen

*et al.*, 2017). Klorofil dan karotenoid ialah pigmen penting dalam tumbuhan tinggi yang bertanggung jawab dalam perubahan warna tumbuhan daripada hijau ke kuning. Hasil kajian ini mendapati daun *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCVB mempunyai kandungan klorofil yang rendah pada lamina dan juga tepi daun dan fenomena ini dikenali sebagai degradasi klorofil. Hasil yang sama diperolehi dalam kajian Ananthu dan Umamaheswaran (2019) yang menunjukkan kandungan klorofil yang rendah direkodkan pada daun halia yang dijangkiti patogen.

Hasil kajian terdahulu oleh Ramiah *et al.* (1972) juga menunjukkan penyusutan kandungan klorofil pada tumbuhan yang dijangkiti virus seperti daun *Cucurbita pepo*, *Abelmoschus esculentus* dan *Glycine max*. Hasil kajian Dantre *et al.* (1996) juga menunjukkan penurunan kandungan klorofil pada daun kacang soya yang dijangkiti oleh virus *Yellow Mosaic*. Menurut Dasgupta (1988), kekurangan kandungan klorofil berlaku akibat peningkatan aktiviti enzim klorofilase dalam sel tumbuhan yang dijangkiti. Rangsangan klorofilase yang menyerang klorofil, menghalang perkembangan kloroplas. Kegagalan perkembangan kloroplas menyebabkan kandungan klorofil menurun dalam tumbuhan yang dijangkiti virus lalu warna daun menjadi kekuningan. Kloroplas juga berfungsi dalam tindak balas pertahanan tumbuhan yang menjadi sasaran patogen (Sheffield 1933). Penurunan kandungan kloroplas akibat kehilangan klorofil akan menjejaskan fungsi kloroplas secara langsung termasuk mengganggu dalam proses fotosintesis. Oleh itu, apabila klorofil menyusut selain proses fotosintesis terjejas, hal ini juga menjadi simptom kepada jangkitan virus BCVB ke atas daun *B. spectabilis*.

### Sel kolenkima

Kajian terdahulu membuktikan serangan patogen akan meningkatkan kadar transpirasi dalam hos tumbuhan. Hal ini berlaku akibat pemusnahan kutikel daun, peningkatan ketelapan sel dan kegagalan stomata berfungsi. Patogen yang menyerang tumbuhan, memusnahkan kutikel dan epidermis daun yang membawa kepada kehilangan air yang tidak terkawal (Sharma 2004). Noraini *et al.* (2019) dan Venning (1949) menyatakan, transpirasi merupakan salah satu faktor yang boleh meningkatkan bilangan lapisan sel kolenkima dalam tumbuhan. Pertambahan sel kolenkima pada tulang daun dapat dicerap dalam kajian ini sebagai kesan jangkitan virus BCVB. Penambahan sel kolenkima mungkin disebabkan oleh peningkatan kadar transpirasi oleh patogen yang menjangkiti tumbuhan. Selain itu, sel kolenkima menjadi tempat penyimpanan sebatian pertahanan yang mengandungi hidroksiprolin (*Hydroxyproline-rich glycoprotein-HRGP*), iaitu sebatian yang biasa dijumpai dalam dinding sel tumbuhan. Sebatian HRGP mengawal pergerakan patogen yang dapat memasuki ruang antara sel (Leach *et al.* 1982). Menurut kajian Mazau dan Tugaye (1986), sebatian HRGP ialah molekul linear dan berfungsi menguatkan dinding sel. Sebatian HRGP juga mengandungi kandungan asid amino yang tinggi dan mempunyai sifat polikasi yang mendapat aglutinat zarah bercaj negatif. Polikasi merupakan keadaan yang mana sesuatu kation mengandungi lebih daripada satu caj positif. Kedua-dua ciri HRGP ini memainkan peranan penting dalam mekanisme pertahanan tumbuhan.

Hasil kajian ini menunjukkan bahawa tumpukan sebatian HRGP ialah tindak balas umum tumbuhan kepada parasit seperti fungi, bakteria dan virus. Kadar transpirasi yang tinggi dan kehadiran sebatian HRGP pada dinding sel kolenkima mungkin membawa kepada pertambahan sel tersebut. Namun hanya pertambahan sel kolenkima dapat dilihat dan tiada penebalan dinding sel kolenkima yang ketara dicerap daripada kajian ini. Hasil kajian jelas menunjukkan pertambahan sel kolenkima juga merupakan adaptasi daun *B. spectabilis* kepada virus BCVB.

### Sel palisad

Hasil kajian menunjukkan terdapat sel mesofil palisad yang pecah pada daun dijangkiti virus BCVB. Ini ialah proses lisis yang biasa berlaku pada sel-sel yang dijangkiti virus dan virus dilepaskan daripada sel yang dijangkiti apabila pemecahan sel berlaku (Carters & Saunders 2019). Dalam kitaran lisis, virus melekat pada sel perumah dan menginjeksi DNA virus tersebut. Virus menggunakan metabolisme sel perumah untuk mereplikasi virus DNA dan membentuk protein. Sel perumah akan pecah atau mengalami lisis akibat virus dan pemecahan sel membawa kepada penyebaran virus kepada sel perumah yang lain bagi meneruskan kitaran lisis. Oleh itu, pemecahan sel dalam daun dijangkiti berlaku kerana kitaran lisis virus yang dapat menyebarkan jangkitan ke sel bersebelahan.

### Berkas vaskular

Hasil kajian menunjukkan tisu vaskular daun dijangkiti virus mengalami perubahan struktur dan pertambahan bilangan berkas vaskular. Pertambahan berkas vaskular berkait rapat dengan peningkatan asid gibberelik. Asid gibberelik (GA) merupakan hormon yang dapat merangsang pertumbuhan dan



perkembangan tumbuhan (Gupta & Chakrabarty 2013). Tindakbalas antara perumah dan parasit menyebabkan peningkatan hormon GA (Frankenberger & Arshad 2019). Menurut kajian oleh Doaigey et al. (2013), peningkatan kandungan GA mempamerkan peningkatan dan pembesaran berkas vaskular pada tulang daun *Phoenix dactylifera* L. Kandungan GA juga dikatakan dapat meningkatkan penghasilan enzim hidrolitik yang membebaskan tenaga bagi pertumbuhan yang membawa kepada pembahagian sel. Peningkatan bilangan berkas vaskular pada daun *B. spectabilis* dijangkiti dalam kajian ini juga jelas menunjukkan disebabkan oleh peningkatan asid giberelik.

### Tisu floem dan xilem

Tisu vaskular yang terdiri daripada floem dan xilem memainkan peranan dalam pengangkutan makanan dan minuman kepada tumbuhan. Hasil kajian menunjukkan floem dan xilem mengalami hiperplasia, menjadi tidak tersusun dan bertaburan secara rawak bagi daun yang dijangkiti. Menurut Banttari dan Zeyen (1971), hasil keratan rentas daun *Linum usitatissimum* yang dijangkiti virus *Oat blue dwarf* menunjukkan perkembangan floem yang abnormal. Elemen floem mengalami hiperplasia seperti yang berlaku dalam kajian ini juga pernah dilaporkan oleh Esau (1976) ke atas *Spinacia oleracea* yang dijangkiti virus *Curly top*. Hasil kajian oleh Reusche et al. (2021) menunjukkan tisu xilem mengalami hiperplasia pada berkas vaskular *Arabidopsis thaliana* yang dijangkiti patogen *Verticillium*. Penambahan tisu xilem berlaku akibat daripada peningkatan aktiviti kambium. Menurut Sumbali dan Mehrotra (2009), tumbuhan koko yang dijangkiti penyakit *swollen shoot* juga menunjukkan tisu xilem mengalami hiperplasia.

Hiperplasia floem dan xilem biasanya berlaku kerana peningkatan aktiviti kambium dalam sel dan tisu tumbuhan yang dijangkiti (Cutler et al., 2008; Noraini et al., 2019). Hiperplasia floem dapat meningkatkan keefisienan pengangkutan makanan manakala hiperplasia xilem dapat meningkatkan kapasiti pengangkutan air pada daun yang dijangkiti. Oleh itu, jelas bahawa hiperplasia atau peningkatan tisu floem dan xilem merupakan tindak balas tisu vaskular kepada jangkitan virus yang mana jangkitan tersebut telah meningkatkan aktiviti kambium yang membawa kepada pertambahan tisu xilem dan floem. Menurut Betsch et al. (2021), penambahan xilem juga mampu meningkatkan kapasiti penyimpanan air dalam daun yang dijangkiti virus

### Stomata

Hasil cerapan ke atas sel epidermis abaksial daun *B. spectabilis* dijangkiti menunjukkan bilangan dan indeks stomata yang rendah berbanding dengan daun sihat. Kajian oleh Murray et al. (2016) menunjukkan kepadatan stomata dan indeks stomata yang rendah bagi daun *Nicotiana tabacum* yang dijangkiti virus *Tobacco mosaic*. Pengurangan indeks stomata dilaporkan sebagai salah satu tindak balas tumbuhan bagi mencegah jangkitan virus. Pengurangan kepadatan stomata dan indeks stomata berlaku akibat kadar transpirasi yang minimum. Tumbuhan menghasilkan daun dengan kepadatan dan saiz stomata yang rendah bagi mencegah jangkitan patogen (McKown et al., 2014; Dutton et al., 2019). Jangkitan meningkat apabila daun mempunyai kepadatan stomata yang tinggi. Hasil kajian ini juga menunjukkan bukan sahaja kepadatan stomata yang rendah malahan penutupan liang stomata pada daun dijangkiti virus BCVB.

Liang stomata bertanggung jawab dalam pertukaran gas dan juga merupakan laluan masuk patogen, bagi menghadkan jangkitan patogen, seterusnya penutupan stomata akan berlaku. Penutupan liang stomata menyebabkan perubahan fisiologi berlaku dalam stomata seperti penurunan dalam saiz dan kepadatan stomata. Perubahan ini menyebabkan kapasiti pertukaran gas dalam tumbuhan tersebut menurun secara kekal (Muir 2019). Kajian Melotto et al. (2017) juga menyatakan tumbuhan dapat mengawal kolonisasi patogen secara fizikal dengan menutup stomata. Oleh itu, kekurangan kepadatan dan saiz stomata serta penutupan stomata ialah adaptasi stomata kepada jangkitan virus, dan penutupan stomata dapat mengurangkan kemasukan patogen ke dalam tumbuhan, salah satu mekanisme pertahanan tumbuhan.

### Epidermis abaksial dan adaksial daun

Hasil kajian menunjukkan perubahan struktur sel epidermis abaksial yang dijangkiti virus BCVB. Virus memerlukan metabolisme sel tumbuhan untuk bereplikasi. Kitaran replikasi ini menghasilkan perubahan pada tindakan kimia dan struktur dalam sel perumah. Jangkitan virus mengaruhkan perubahan dalam struktur sel dan ini merupakan tindak balas perumah (Lesemann 1999). Kitaran replikasi virus dalam sel perumah menyebabkan perubahan pada struktur sel daun *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCVB.

Hasil cerapan pada dinding epidermis adaksial menunjukkan peningkatan ketebalan pada dinding

sel pada epidermis permukaan daun dijangkiti virus. Jangkitan virus mencetuskan beberapa tindak balas terutama pada metabolisme dinding sel tumbuhan dan kajian oleh Koziel *et al.* (2018) juga menunjukkan perubahan dinding sel sebagai ciri adaptasi terhadap jangkitan virus. Dalam kajian tersebut, dinding sel kentang yang dijangkiti virus *Potato Y* menunjukkan penebalan dinding sel yang tidak sekata. Penebalan dinding sel yang dijangkiti patogen merupakan tindak balas pertahanan untuk mengurangkan pergerakan virus daripada menjangkiti sel-sel lain (Koziel *et al.*, 2018). Hasil kajian jelas menunjukkan penebalan dinding sel epidermis ialah adaptasi kepada kehadiran virus dan merupakan mekanisme pertahanan tumbuhan terhadap serangan virus.

#### **Peruratan dan kehadiran hablur**

Ciri anatomi peruratan daun *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCVB menunjukkan penghasilan hablur drus dan rafid serta kehilangan banyak cabang peruratan tertier. Penghasilan hablur kalsium oksalat memainkan peranan penting dalam tumbuhan. Hablur ini berfungsi dalam mengawal kandungan kalsium, memberi perlindungan kepada tumbuhan dan penyah toksikan besi (Noraini *et al.* 2019). Tumbuhan menghasilkan hablur kalsium oksalat dalam pelbagai jenis dan bentuk seperti hablur pasir, rafid, drus, stiloid dan primastik (Noraini *et al.*, 2019; Franceschi & Horner 1980). Penghasilan hablur kalsium oksalat juga telah dibuktikan dalam banyak kajian sebagai tindak balas pertahanan daripada herbivor. Kajian Flores (2001) menunjukkan penghasilan kalsium oksalat meningkat dalam biji *Sida rhombifolia* L. sebagai pertahanan daripada herbivor. Kajian Nakata (2013) membuktikan penghasilan kalsium oksalat dapat melindungi tumbuhan daripada herbivor dan mengurangkan penyerapan besi dari dalam tanah. Hasil kajian ini jelas menunjukkan penghasilan hablur rafid dan drus adalah merupakan tindak balas terhadap jangkitan virus dan penyusutan peruratan tertier adalah untuk mengurangkan sebaran virus BCVB di dalam sel dan tisu tumbuhan.

#### **KESIMPULAN**

Kajian anatomi ke atas daun *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCVB serta daun sihat membuktikan perubahan dan juga adaptasi sel dan tisu terhadap jangkitan virus. Perubahan dalam kandungan klorofil, struktur sel, sel epidermis dan peruratan daun dapat dicerap dalam kajian ini. Daun dijangkiti virus menunjukkan kandungan klorofil rendah berbanding daun sihat manakala sel kolenkima pula bertambah pada daun dijangkiti virus sebagai tindak balas pertahanan daripada virus. Pertambahan berkas vaskular berkait rapat dengan peningkatan asid giberelik (GA) dalam sel dijangkiti virus BCVB. Xilem dan floem mengalami hiperplasia akibat peningkatan aktiviti kambium dalam sel dijangkiti virus. Indeks, saiz dan bilangan stomata lebih rendah pada daun dijangkiti berbanding daun sihat. Penutupan liang stomata, perubahan bentuk dinding epidermis abaksial, penebalan dinding sel adaksial dan penghasilan hablur dicerap pada daun dijangkiti virus. Semua perubahan ciri anatomi yang dicerap pada *B. spectabilis* yang dijangkiti virus BCVB merupakan mekanisme pertahanan dan adaptasi tumbuhan terhadap serangan virus ini. Kesimpulannya, kajian ini telah memberi maklumat mengenai perubahan yang berlaku pada ciri anatomi daun dan maklumat ini boleh digunakan untuk mengesan pokok yang dijangkiti virus BCVB dan juga berguna untuk menyediakan kaedah sihat penyakit yang lebih efisien.

#### **PENGHARGAAN**

Penghargaan kepada Makmal Mikroskopi dan Ilustrasi dan Taman Botani Bangi, Fakulti Sains dan Teknologi, UKM Bangi, Selangor, Malaysia atas kemudahan penyelidikan yang disediakan.

#### **PENYATAAN ETIKA**

Tidak berkaitan.

#### **KONFLIK KEPENTINGAN**

Penulis mengisytiharkan tiada konflik kepentingan.

#### **RUJUKAN**

- Alexandre, M.A.V., Duarte, L.M.L. & Harakava, R. 2015. Genetic diversity of Badnaviruses associated with Bougainvillea in Brazil. *Journal of Phytopathology*, 164: 125-130. <https://doi.org/10.1111/jph.12394>
- Ananthu, N. & Umamaheswaran, K. 2019. Effect of viral infection on carbohydrate and chlorophyll contents in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6): 862-867. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.806.104>

- Banttari, E.E. & Zeyen, R.J. 1971. Histology and ultrastructure of flax crinkle. *Phytopathology*, 61: 1249-1252. <https://doi.org/10.1094/Phyto-61-1249>
- Betsch, P., Bonal, D., Breda, N., Montpied, P., Peiffer, M., Tuzet, A. & Granier, A. 2021. Drought effects on water relations in beech: The contribution of exchangeable water reservoirs. *Agriculture For Meteorology*, 151: 531-543. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2010.12.008>
- Bhat, A.I., Hohn, T. & Selvarajan, R. 2016. Badnaviruses: the current global scenario. *Viruses*, 177(8): 1-29. <https://doi.org/10.3390/v8060177>
- Carters, J.B. & Saunders, A.V. 2019. *Virology: Principles and Applications*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- Chew, S. 2010. Anatomical features of *Bougainvillea* (Nyctaginaceae). *Studies by Undergraduate Researchers at Guelph*, 4: 72-78. <https://doi.org/10.21083/surg.v4i1.1239>
- Dantre, R.K., Keshwal, R.L. & Khare, M.N. 1996. Biochemical changes induced by yellow mosaic virus in resistant and susceptible cultivars of soybean. *Indian Journal of Virology*, 12: 47-49.
- Dasgupta, M.K. 1988. *Principle of Plant Pathology*. Allied Publishers, Sriniketan.
- Doaigey, A.R., Al-Whaibi, M.H., Siddiqui, M.H., Al Sahli, A.A. & El-Zaidy, M.E. 2013. Effect of GA3 and 2,4-D foliar application on the anatomy of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedling leaf. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20: 141-147. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.12.001>
- Douglas, N. & Spellenberg, R. 2010. A new tribal classification of Nyctaginaceae. *Taxon*, 59(3): 905-910. <https://doi.org/10.1002/tax.593018>
- Dutton, C., Horak, H., Hepworth, C., Mitchell, A., Ton, J., Hunt, L. & Gray, J.E. 2019. Bacterial infection systemically suppresses stomatal density. *Plant, Cell & Environment*, 42: 2411-2421. <https://doi.org/10.1111/pce.13570>
- Esau, K. 1976. Hyperplastic phloem and its plastids in spinach infected with the Curly Top Virus. *Annals of Botany*, 40(3): 637-644. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085174>
- Flores, B.M. 2001. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). *Annals of Botany*, 3(88): 387-391. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1492>
- Franceschi, V.R. & Horner, H.T. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *Botanical Review*, 46: 361-427. <https://doi.org/10.1007/BF02860532>
- Frankenberger, W.T. & Arshad, M. 2019. *Phytohormones in Soils Microbial Production & Function*. RC Press, New York. <https://doi.org/10.1201/9780367812256>
- Ghogar, A. & Jiraungkoorskul, W. 2017. Antifertility effect of *Bougainvillea spectabilis* or paper flower. *Pharmacognosy Review*, 11: 19-22. [https://doi.org/10.4103/phrev.phrev\\_44\\_16](https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_44_16)
- Gupta, R.K. & Chakrabarty, S.K. 2013. Gibberellic acid in plant. *Plant Signaling Behavior*, 8(9): e25504. <https://doi.org/10.4161/psb.25504>
- Haworth, M., Kingston, C.E. & McElwain, J.C. 2011. Stomatal control as a driver of plant evolution. *Journal of Experimental Botany*, 8(62): 2419-2423. <https://doi.org/10.1093/jxb/err086>
- Jabeen, A., Kiran, T.V., Subrahmanyam, D., Lakshmi, D.L., Bhagyanarayana, G. & Krishnaveni, D. 2017. Variations in chlorophyll and carotenoid contents in tungro infected rice plants. *Journal of Research and Development*, 1(5): 1-17.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York and London.
- Kozieł, K.O., Kozieł, E. & Lockhart, B.E.L. 2018. Plant cell wall dynamics in compatible and incompatible potato response to infection caused by Potato virus Y (PVYNTN). *International Journal of Molecular Sciences*, 19: 1-23. <https://doi.org/10.3390/ijms19030862>
- Leach, J.E., Cantrell, M.A. & Sequeira, L. 1982. A hydroxylamine-rich bacterial agglutinin from potato: Its localization by immunofluorescence. *Physiological Plant Pathology*, 21: 319-325. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(82\)90066-2](https://doi.org/10.1016/0048-4059(82)90066-2)
- Lesemann, D.E. 1999. Virus specific cytological effects in infected plant cells. *Plant Physiology*, 39: 41-45.
- Mazau, D. & Tugaye, E.T. 1986. Hydroxyproline-rich glycoprotein accumulation in the cell walls of plants infected by various pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 29: 147-157. [https://doi.org/10.1016/S0048-4059\(86\)80017-0](https://doi.org/10.1016/S0048-4059(86)80017-0)
- McKown, A. D., Guy, R.D., Quamme, L., Klapste, J., La Mantia, J., Constabel, C.P., El-Kassaby, Y.A., Hamelin, R.C., Zifkin, M. & Azam, M.S. 2014. Association genetics, geography and ecophysiology link stomatal patterning in *Populus trichocarpa* with carbon gain and disease resistance trade-offs. *Molecular Ecology*, 23: 5771-5790. <https://doi.org/10.1111/mec.12969>
- Melotto, M., Zhang, L., Oblessuc, P.R. & He, S.Y. 2017. Stomatal defense a decade later. *Plant Physiology*, 174: 561-571. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01853>
- Metcalfe, C.R. & Chalk, L. 1979. *Anatomy of the Dicotyledons*. Jil. 1. Ed. 2. Clarendon Press, Oxford.

- Muir, C.D. 2019. A stomatal model of anatomical tradeoffs between photosynthesis and pathogen defense. *The Present Server for Biology*, 1: 1-17 (Preprint). <https://doi.org/10.1101/871228>
- Murray, R.R., Emblow, M.S.M, Hetherington, A.M. & Foster, G.D. 2016. Plant virus infections control stomatal development. *Scientific Report*, 6: 34507. <https://doi.org/10.1038/srep34507>
- Nakata, P.A. 2003. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, 164: 901-909. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00120-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00120-1)
- Noraini, T., Mohamad Ruzi, A.R. & Muhammad Amirul Aiman, A.J. 2019. *Anatomi dan Mikroskopik Tumbuhan*. Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi.
- Noraini, T., Nur Syahirah, M. & Mohamad Ruzi, A.R. 2022. *Teknik Pengawetan dan Histologi Tumbuhan*. Penerbit UKM, Bangi.
- Ramiah, M.P., Vidhyasekharan & Kandaswamy, T.K. 1972. Changes in photosynthetic pigments of bhindi infected by yellow vein mosaic disease. *Madras Agricultural Journal*, 59: 402-404.
- Reusche, M., Thole, K., Janz, D., Truskina, J., Rindfleisch, S., Drubert, C., Polle, A., Lipka, V. & Teichmann, T. 2021. Verticillium infection triggers vascular-related nac domain7-dependent de novo xylem formation and enhances drought tolerance in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 24: 3823-3837. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.103374>
- Rivas, E.B, Duarte, L.M.L., Alexandre, M.A.V., Fernandes, F.M.C., Harakava, R. & Chagas, M.C. 2005. A new *Badnavirus* species was detected in Bougainvillea in Brazil. *Journal of General Plant Pathology*, 71: 438-440. <https://doi.org/10.1007/s10327-005-0227-y>
- Sass, J.E. 1958. *Botanical Microtechnique*. Jil.3. Oxford & IBH Publishing Co, Calcutta. <https://doi.org/10.31274/isudp.25>
- Sharma, P.D. 2004. *Plant Pathology*. Rastogi Publication, Meerut.
- Sheffield, F.N.L. 1933. The development of assimilatory tissue of solanaceous hosts infected with aucuba mosaic to tomato. *Annals of Applied Biology*, 20: 57-69. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1933.tb07427.x>
- Sumbali, G & Mehrotra, R.S. 2009. *Principles of Microbiology*. Tata McGraw Hill, New Delhi.
- Tsai, C.H., Su, H.J., Wu, M.L., Feng, Y.C. & Hung, T.H. 2008. Identification and detection of *Bougainvillea spectabilis* chlorotic vein-banding virus in different Bougainvillea cultivars in Taiwan. *Annals of Applied Biology*, 153: 187-193. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00251.x>
- Vargas, R.A. & Petricevich, V.L. 2018. A review on phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018: 9070927. <https://doi.org/10.1155/2018/9070927>
- Venning, F.D. 1949. Stimulation by wind motion of collenchyma formation in celery petioles. *Botanical Gazette*, 110: 511-514. <https://doi.org/10.1086/335551>
- Yusop, M.S.M., Ersoy, R., Akbar, M.A., Saad, M.F.M., Goh, H.H., Baharum, S.N. & Bunawan, H. 2019. First report of Bougainvillea chlorotic vein-banding virus causing chlorosis and vein banding of *Bougainvillea spectabilis* in Malaysia. *Plant Disease*, 103: 1-3. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-19-0292-PDN>
- Zhao, J., Zhang, X., Hong, Y. & Liu, Y. 2016. Chloroplast in plant-virus interaction. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1565. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01565>