

## Kesan Jangkitan Virus Sauropus Yellowing (SaYV) kepada Anatomi Daun *Sauropus androgynus* (L.) Merr.

(Effects of Sauropus Yellowing Virus (SaYV) Infection on Leaf Anatomy of *Sauropus androgynus* (L.) Merr.)

NORAINI TALIP<sup>1,\*</sup>, RAJ KUMAR<sup>1</sup>, HAMIDUN BUNAWAN<sup>2</sup>, MOHAMAD RUZI ABDUL RAHMAN<sup>3</sup>, NORDAHLIA ABDULLAH SIAM<sup>4</sup> & SYAZWANI BASIR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jabatan Sains Biologi dan Bioteknologi, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

<sup>2</sup>Institut Biologi Sistem (INBIOSIS), Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

<sup>3</sup>Taman Botani Bangi, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

<sup>4</sup>Forest Research Institute of Malaysia (FRIM), 42200 Kepong, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 24 April 2024/Diterima: 5 Julai 2024

### ABSTRAK

Kajian anatomi perbandingan daun dilakukan ke atas daun *Sauropus androgynus* yang dijangkiti virus Sauropus yellowing (SaYV). Objektif kajian ialah untuk mengenal pasti ciri anatomi daun yang dijangkiti virus SaYV dan daun sihat (kawalan) serta menentukan ciri anatomi yang berubah dengan jangkitan virus SaYV. Kajian melibatkan keratan rentas lamina, petiol dan tepi daun menggunakan mikrotom gelongsor, teknik penjernihan untuk peruratan dan siatan epidermis untuk epidermis adaksial dan abaksial daun. Hasil kajian menunjukkan pengurangan peratusan pigmen klorofil pada lamina dan tepi daun, hiperplasia tisu vaskular pada tulang daun dan petiol, hiperplasia sel kolenkima dan pertambahan kepadatan hablur drus pada berkas vaskular lamina, tulang daun dan tisu mesofil. Terdapat kerosakan pada urat sekunder dan tertier daun akibat jangkitan virus. Hasil cerapan pada epidermis abaksial daun dijangkiti menunjukkan ketumpatan dan indeks stoma (SI) yang rendah berbanding daun sihat. Kajian ini membuktikan berlaku pengubahsuaian ciri anatomi *S. androgynus* akibat jangkitan virus SaYV sebagai respons terhadap jangkitan virus. Hasil kajian dapat memberi manfaat kepada pengusaha pertanian dan boleh menjadi rujukan dalam pengurusan penyakit pertanian terutama untuk kawalan penyakit pada awal jangkitan virus.

Kata kunci: Bahan ergastik; cekur manis; mekanisme pertahanan tumbuhan; patogen tumbuhan; simptomatik

### ABSTRACT

A comparative leaf anatomy study was performed on *Sauropus androgynus* leaves infected with Sauropus yellowing virus (SaYV). The objective of the study was to identify the anatomical features of leaves infected with SaYV virus and healthy leaves (control), as well as to determine the anatomical features that change with SaYV virus infection. The study involved cross-sectioning of the lamina, petiole, and leaf margin using a sliding microtome, clearing techniques for leaf venation, and epidermal peels for the adaxial and abaxial epidermis. The results of the study showed a reduction in the percentage of chlorophyll pigment on the lamina and leaf margin, vascular tissue hyperplasia on the leaf midrib and petiole, collenchyma cell hyperplasia, and an increase in the density of druses on the vascular bundles of the lamina, leaf midrib, and mesophyll tissue. There is damage to secondary and tertiary leaf veins due to virus infection. Observation results on the abaxial epidermis of infected leaves show a low stomatal density and index (SI) compared to healthy leaves. This study proves that there is a modification of the anatomical features of *S. androgynus* due to SaYV virus infection in response to the virus infection. The results of the study can benefit agricultural operators and can be a reference in the management of agricultural diseases, especially for disease control at the beginning of virus infection.

Keywords: *Cekur manis*; ergastic substance; plant defense mechanism; plant pathogen; symptomatic

### PENGENALAN

*Sauropus androgynus* L. Merr. (Euphorbiaceae) ialah syrub yang popular sebagai tanaman sayuran dan ulaman terutama di negara Vietnam, Laos, Cambodia, Filipina, Malaysia, Indonesia, Thailand dan serantau Asia Tenggara (Lin, Hsiao & Kuo 2009). Nama sinonimnya ialah *Breyenia*

*androgyna* (L.) Chakrab. & N.P Balakrm, manakala nama vernakularnya ialah star gooseberry, sweet leaf bush, phak waan baan di Thailand, katuk di Indonesia, binahian di Filipina, dom nghob di Cambodia dan nama tempatannya di Malaysia ialah cekur manis (Bunawan et al. 2015).

Daunnya jarang dimakan mentah, biasanya akan digoreng, dimasak air ataupun masak lemak. Daunnya dilaporkan mempunyai kandungan vitamin dan mineral yang tinggi berdasarkan kajian oleh Padmavathi dan Rao (1990). Zhang et al. (2020) melaporkan spesies ini telah digunakan dalam perubatan tradisi untuk rawatan demam, meningkatkan penghasilan susu ibu selepas bersalin dan juga digunakan dalam rawatan kesukaran membuang air kecil. Penggunaan spesies ini secara besar-besaran telah dilakukan di Taiwan untuk mengatasi masalah obesiti dan telah dibuktikan berkesan. Hal ini telah mengakibatkan penggunaannya secara berlebihan sehingga dikatakan telah menyebabkan peningkatan kes kerosakan paru-paru (Lai et al. 1996).

Hasil kajian lain juga menunjukkan pengambilan daun spesies ini boleh mengurangkan kandungan glukosa dan seterusnya boleh membantu dalam usaha penurunan berat badan (Sai & Srividya 2002). Soka et al. (2010) melaporkan bahawa pengambilan sayuran ini dapat meningkatkan pengekspresan gen untuk penghasilan susu ibu. Terdapat banyak kajian nilai ubatan spesies ini pernah dilakukan seperti Andarwulan et al. (2010), Bhaskar, Ramesh dan Rajeshwari (2009) dan Selvi dan Bhaskar (2012) yang melaporkan vitamin yang terdapat dalam sayuran ini dan juga keupayaannya untuk membantu menyembuhkan luka.

Spesies ini juga dilaporkan menjadi hos kepada beberapa genotip begomovirus dan polevirus novel berdasarkan kajian oleh Knierim et al. (2015, 2014) ke atas sampel *Sauropus* di Thailand. Hasil kajian tersebut telah membuktikan bahawa simptom kekuningan dan pergulungan pada daun *S. androgynus* adalah disebabkan oleh jangkitan polerovirus yang mengganggu penghasilan kloroplas dan memberi tekanan kepada sel palisad sehingga daun menunjukkan simptom keilatan (penggulungan). Walker et al. (2021) telah mengesahkan *Sauropus yellowing* (SaYV) disebabkan oleh polevirus novel daripada famili Solemoviridae.

Menurut 'International Committee on Taxonomy of Viruses' polerovirus terdiri daripada 31 spesies yang menjangkiti pelbagai spesies tumbuhan melalui sebaran kutu daun (Fereses & Raccach 2015; Ghosh et al. 2019). Dan simptom jangkitan yang boleh dikenal pasti adalah warna kekuningan pada lamina daun dan pada peruratan daun terutama di antara urat daun primer, sekunder dan tertier, daun juga akan menggulung atau menjadi sedikit merekut (keikalan daun), pertumbuhan daun akan terbantut dan daun tersebut akan kekal pada peringkat pertumbuhan ketika ia dijangkiti.

Kajian anatomi ke atas daun *S. androgynus* pernah dijalankan di India tetapi hanya tertumpu kepada ciri umum daun untuk kajian taksonomi tumbuhan bagi tujuan pengekaman dan pengelasan (Agrawal et al. 2014). Satunya kajian yang dilakukan di Malaysia ke atas spesies ini ialah oleh Bunawan et al. (2015) mengenai kesan toksikologi pengambilan berlebihan sayuran tetapi masih

tiada kajian anatomi dijalankan, apatah lagi kajian anatomi berkaitan kesan jangkitan dan adaptasi tumbuhan pada peringkat sel dan tisu akibat jangkitan *Sauropus yellowing* (SaYV). Kajian seumpama ini amat penting bagi memahami penyakit dan virus perosak yang boleh menjejaskan tanaman sayuran ini yang merupakan salah satu sumber makanan di Malaysia. Hasil kajian boleh dijadikan panduan untuk melihat kesan jangkitan bagi tujuan kawalan penyakit yang perlu dilakukan oleh pengusaha sayuran di samping menyokong usaha SDG2 iaitu keterjaminan makanan.

Objektif kajian ini ialah untuk mengenal pasti perbandingan ciri anatomi daun yang dijangkiti virus SaYV dan dibandingkan dengan daun sihat (daun kawalan) untuk menentukan ciri anatomi yang terubah suai dengan kehadiran virus SaYV. Bahagian sel dan tisu yang terjejas boleh mempengaruhi kaedah kawalan dan pengurusan penyakit tanaman *S. androgynus*. Hasil kajian ini boleh membantu dalam merancang rawatan awal dan kaedah rawatan yang berkesan sama ada melalui semburan, rawatan pada tanah atau membuang bahagian tanaman yang dijangkiti untuk mengelak jangkitan terus merebak. Jika bahagian daun menunjukkan jangkitan yang melibatkan tisu vaskular maka cara dan kaedah kawalan terbaik ialah melalui membuang daun yang dijangkiti bagi mengelakkan sebaran penyakit berlaku. Jika bahagian permukaan daun yang paling terkesan maka kaedah semburan dengan racun perosak ialah kaedah paling cekap untuk kawalan penyakit.

#### BAHAN DAN KAEDAH

Lima replikasi daun masing-masing daripada lima pokok *S. androgynus* berbeza dipilih dalam kajian ini merupakan sampel daun sihat dan daun yang mempunyai simptom penyakit (daun yang menunjukkan tanda-tanda sudah rosak akibat jangkitan virus). Daun ini diperoleh daripada tanaman *S. androgynus* di Nurseri Taman Botani Bangi, Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi, Selangor. Daun yang dijangkiti SaYV akan mempunyai simptom tompok kekuningan atau warna kuning-keputihan dan juga simptom penggulangan daun (keikalan daun) (Rajah 1).

Kaedah anatomi daun melibatkan pengawetan potongan daun pada bahagian petiol, lamina, tengah dan tepi daun menggunakan larutan penetap AA dengan nisbah 1:3 (30% Asid Asetik: 70% Alkohol) selama sekurang-kurangnya 48 jam dan hirisan dilakukan dengan menggunakan mikrotom gelongsor jenama Reichert. Hirisan dilakukan ke atas petiol, tulang, tengah dan tepi daun pada ketebalan 20 µm. Bagi peruratan, daun dipotong pada ukuran 1 cm × 1 cm pada tengah dan tepi daun, direndam dalam larutan Basic Fuchsin (1% Basic Fuchsin: 10% kalium hidroksida (KOH)). Manakala bagi kajian epidermis daun, teknik kikisan dan rendaman larutan Jeffery (asid dikromat (100 mg), asid nitrik pekat (100 mL) pekat, air suling (100 mL)) digunakan.



RAJAH 1 Sampel daun *S. androygnus*. A) Sampel daun sihat (kawalan). B) Sampel daun dijangkiti SaYV.

Penyediaan slaid melibatkan pewarnaan menggunakan Safranin dan Alcian Blue, penyahairan dengan rendaman siri alkohol 50%, 70%, 95%, 100% alkohol dan larutan Xilen, pelekapan slaid kaca dilakukan menggunakan pelekap Euparal dan slaid dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama dua minggu. Imej sel dirakamkan pada pembesaran x4, x10, x20, x40 dan x100 menggunakan perisian AnalySIS Docu Windows NT 6.1 (Serial A163903-2AC2F69B). Kaedah kajian ini mengikut kaedah Noraini, Nur Syahirah dan Mohamad Ruzi (2022) dan ciri anatomi dihuraikan mengikut Noraini, Mohamad Ruzi dan Muhammad Amirul Aiman (2019).

#### HASIL DAN PERBINCANGAN

Ringkasan perbandingan ciri anatomi daun sihat dan daun yang dijangkiti virus boleh dirujuk pada Jadual 1. Sebanyak sepuluh ciri anatomi menunjukkan kesan jangkitan virus iaitu peratusan pigmen klorofil, penambahan sel berkas vaskular, bilangan lapisan sel kolenkima, ketebalan sel epidermis, susunan lapisan sel palisad, kedudukan hablur drus, indeks dan saiz stomata, lapisan dinding epidermis adaksial dan peruratan tertier lamina.

#### PIGMEN KLOOROFIL

Klorofil merupakan pigmen hijau yang bertindak sebagai fotoreseptor dalam fotosintesis, mempengaruhi serapan sinar matahari dan pemindahan tenaga untuk menghasilkan karbohidrat melalui tindak balas kimia. Perbandingan peratusan pigmen klorofil secara relatif berdasarkan perbezaan warna daun sihat dan daun yang dijangkiti boleh dijadikan salah satu parameter ukuran jangkitan penyakit pada tumbuhan (Waheeda et al. 2022). Daun sihat berwarna hijau dan daun yang dijangkiti biasanya mempunyai bintik berwarna kekuningan atau putih-kekuningan. Perbezaan kepadatan pigmen klorofil pada daun yang dijangkiti virus berbanding daun sihat boleh dirujuk pada Rajah 2(A) & 2(C)) dan Rajah 2(B) & 2(D). Pigmen klorofil pada daun sihat adalah lebih padat berbanding daun yang dijangkiti

virus. Menurut Balachandran et al. (1997), punca utama berlaku pengurangan pigmen klorofil pada daun adalah disebabkan oleh kerosakan pada mekanisme pembentukan kloroplas. Semakin meningkat degradasi pigmen klorofil, maka akan mengurangkan aktiviti biosintesis, dan seterusnya berlakunya klorosis pada tumbuhan. Kesan degradasi klorofil juga akan menyebabkan gangguan pada pengangkutan elektron dan menyebabkan gangguan terhadap proses fotosintesis dan seterusnya membantutkan perkembangan pokok (Das, Lin & Wong 2019; Palanisamy, Michael & Krishnaswamy 2009; Radwan et al. 2008). Oleh kerana itu, pokok yang dijangkiti virus menunjukkan ciri bantut dan pertumbuhan yang terencat. Kajian oleh Yusop et al. (2023), terhadap jangkitan virus *Hibiscus chlorotic ringspot* ke atas *Hibiscus rosa-sinensis* juga menunjukkan kesan kerosakan kepada kloroplas dan pembentukan pigmen klorofil dan seterusnya menurunkan kadar fotosintesis. Kajian lain berkaitan jangkitan virus oleh Funayama-Noguchi (2001) dan Funayama-Noguchi dan Terashima (2006) juga membuktikan daun yang dijangkiti virus menunjukkan peratusan pigmen klorofil yang rendah. Oleh itu, jelas dalam kajian ini jangkitan virus juga telah menunjukkan pengurangan peratus pigmen klorofil dalam daun *S. androygnus*.

#### STRUKTUR TISU VASKULAR

Menurut White (2012), virus memerlukan laluan masuk ke dalam tumbuhan dan salah satu laluan masuk tersebut adalah tisu vaskular pada petiol dan tulang daun yang akan mengakibatkan jangkitan virus yang sistemik. Penyebaran virus pula berlaku melalui dua cara iaitu melalui pergerakan dari sel ke sel melalui plasmodesmata atau melalui floem (Gilbertson & Lucas 1996). Hasil kajian ini menunjukkan tisu vaskular yang dijangkiti mengalami perubahan pada bilangan berkas vaskularnya. Bilangan berkas vaskular bertambah pada petiol dan tulang daun yang dijangkiti dan ciri ini dikenali sebagai hiperplasia. Bilangan berkas vaskular pada petiol dan tulang daun sihat ialah dalam julat 7-8 berkas vaskular manakala pada daun dijangkiti

Aspek	Daun dijangkiti virus SaYV	Daun sihat (daun kawalan)
Kandungan klorofil	Pigmen klorofil sangat padat	Pigmen klorofil kurang padat
Sel kolenkima	12-14 lapisan sel	6-9 lapisan sel
Lapisan palisad	Kurang jelas	Jelas dan tersusun
Tisu vaskular	Berlaku hiperplasia Penambahan bilangan berkas vaskular 11-19	Tiada perubahan Bilangan berkas vaskular 7-8
Indeks stoma	25.66%	35.71%
Taburan stoma	26-28	29-31
Purata saiz stoma (panjang × lebar)	27.38 × 16.92 µm	25.21 × 16.03 µm
Peruratan dan taburan hablur drus	Urut tertier tidak jelas dan sebahagian hilang Hablur drus hadir dengan kepadatan yang tinggi khususnya pada bahagian peruratan daun	Urut tertier jelas Hablur jenis drus hadir bertaburan secara rawak

JADUAL 1. Perbandingan ciri anatomi daun dijangkiti virus SaYV dan daun sihat

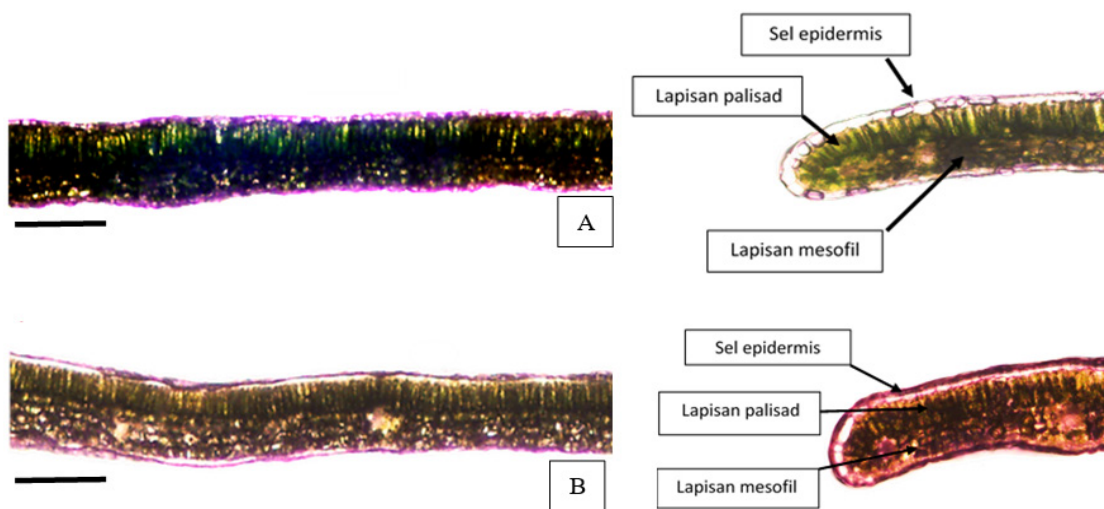
sebanyak 11-19 berkas vaskular (Rajah 3(B) & 3(D)). Hiperplasia tisu floem merupakan mekanisme tumbuhan untuk meningkatkan kecekapan pengangkutan dalam berkas vaskular (EI-Banna et al. 2014). Pertambahan bilangan berkas vaskular tersebut mengakibatkan pertambahan saiz dan perubahan bentuk luaran petiol dan tulang daun. Penambahan bilangan tisu vaskular juga merupakan salah satu adaptasi terhadap serangan virus bagi meningkatkan kecekapan sistem pengangkutan dalam tumbuhan. Berdasarkan kajian ke atas *Arabidopsis* yang dijangkiti virus *V. longisporum* VL43 menunjukkan bahawa hiperplasia tisu xilem telah meningkatkan kapasiti penyimpanan air dan toleransi tumbuhan tersebut kepada kemarau (Reusche et al. 2014). Hal ini jelas menunjukkan bahawa hiperplasia berlaku sebagai respon tumbuhan terhadap jangkitan virus untuk meneruskan kelangsungan hidup spesies tumbuhan yang dijangkiti virus tersebut.

#### LAPISAN SEL KOLENKIMA DAN SEL EPIDERMIS

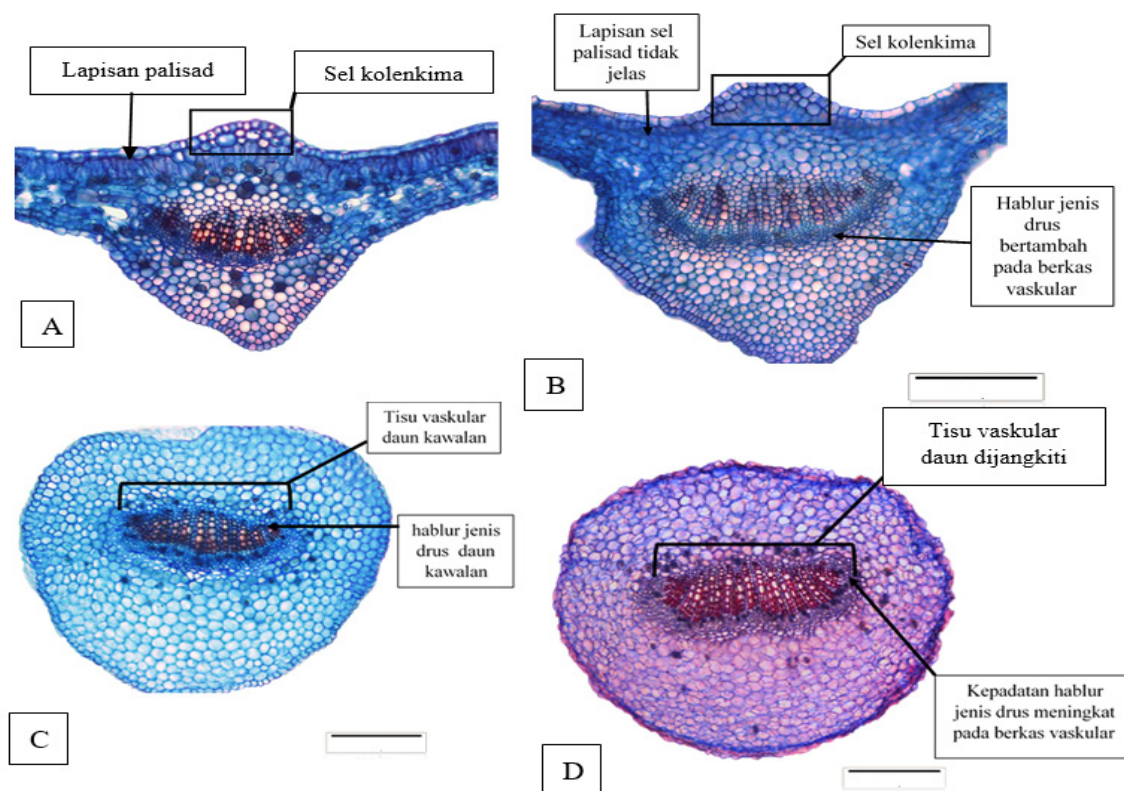
Bilangan lapisan sel kolenkima pada tulang daun dan petiol dijangkiti lebih tinggi dengan 12-14 lapisan berbanding 6-9 lapisan pada daun sihat. Pertambahan lapisan sel kolenkima dianggap tindak balas daun *S. androgynus* kepada jangkitan virus SaYV dan merupakan salah satu cara adaptasi jangkitan virus. Kajian terdahulu oleh Yusop et al. (2023) ke atas sampel daun *Hibiscus rosa-sinensis* yang dijangkiti virus menunjukkan ia mempunyai epidermis yang lebih tebal berbanding sampel daun sihat. Lapisan sel kolenkima merupakan salah satu struktur daun yang bertindak sebagai sistem sokongan dan perlindungan kepada tumbuhan. Peningkatan bilangan sesuatu jenis sel

di dalam tumbuhan juga merupakan mekanisme pertahanan tumbuhan dan mampu menghalang penyebaran virus antara sel.

Epidermis daun juga dilihat menebal pada daun yang dijangkiti virus. Epidermis ialah lapisan perlindungan pada tumbuhan daripada jangkitan patogen dengan kehadiran lapisan lilin, kutikel dan dinding sel (Andersen et al. 2018). Dinding sel terdiri daripada selulosa, hemiselulosa, pektin dan beberapa glikoprotein seperti *hydroxyproline-rich glycoprotein* (HRGP) dan *glycine-rich protein* (GRPs), yang memainkan peranan sebagai benteng pertahanan daripada patogen (Vorwerk, Somerville & Somerville 2004). HRGP merupakan protein khas dinding sel yang akan melarut apabila berlaku pencerobohan oleh patogen bagi mengukuhkan dinding sel (Brisson, Tenhaken & Lamb 1994). Beberapa kajian membuktikan peningkatan HRGP dalam tisu tumbuhan adalah disebabkan oleh serangan kebanyakan patogen termasuk virus (Kang & Buchenauer 2003). Penemuan ini disokong oleh Jeandet (2015), Liu, Luo dan Zheng (2018) dan Shailasree et al. (2004) yang membuktikan HGRP sebagai mekanisme pertahanan terhadap serangan penyakit. Penghasilan HGRP dapat memperkuat fungsi dinding sebagai rintangan terhadap serangan patogen. Serangan patogen juga meningkatkan rembesan hormon etilena yang membantu menghasilkan protein HGRP dan menghasilkan beberapa komponen lain yang berfungsi untuk melawan patogen seperti fitoaleksin, kitinase dan lignin. Hormon etilena juga dapat meningkatkan penghasilan HGRP dan merupakan hormon yang terlibat dalam merangsang protein untuk menebalkan dinding sel tumbuhan.



RAJAH 2. Keratan rentas daun. A) Lamina daun sihat. B) Lamina daun dijangkiti virus. C) Tepi daun sihat. D) Tepi daun dijangkiti virus. Skala: 200  $\mu$ m



RAJAH 3. Keratan rentas tulang daun. A) Daun sihat, B) Daun dijangkiti virus. Keratan rentas petiol. C) Daun sihat, D) Daun dijangkiti virus. Skala: A&B=200  $\mu$ m

Hasil kajian menunjukkan susunan sel palisad yang sangat rapat diperhatikan dan ini juga merupakan mekanisme pertahanan kepada serangan virus. Selain daripada itu, ruang udara antara sel palisad juga menjadi semakin rendah dan turut mengakibatkan hiperplasia dan hipertropi pada sel mesofil. Kajian oleh Rodrigues, Queiroz-Voltan dan Guerreiro (2015) ke atas daun kopi akibat jangkitan *Pseudomonas syringae* Pv. Garcae juga menunjukkan perubahan ciri anatomi yang sama seperti yang ditunjukkan dalam kajian ini ke atas *S. androygnus* oleh jangkitan virus SaYV.

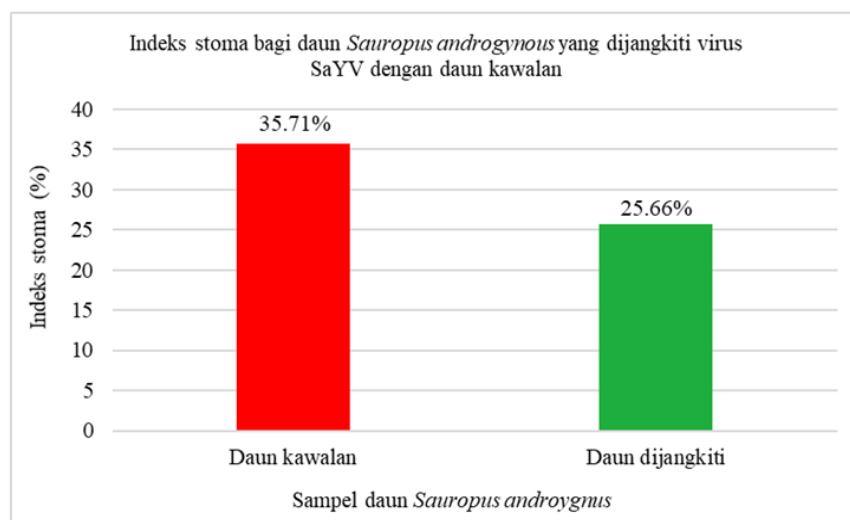
#### INDEKS STOMA (SI)

Kompleks stoma terdiri daripada dua sel pengawal yang berbentuk seperti ginjal dan dikelilingi oleh sel subsidiari, merupakan pori mikroskopik yang terdapat pada bahagian aerial tumbuhan yang terlibat dalam proses mengawal kemasukan gas karbon dioksida dan kadar transpirasi tumbuhan (Murray et al. 2016; Noraini, Mohamad Ruzi & Muhammad Amirul Aiman 2019). Pada masa yang sama, stoma juga menjadi laluan kemasukan bakteria dan patogen ke dalam sistem tumbuhan. Oleh yang demikian, serangan virus mempengaruhi ketumpatan stoma serta nilai indeks stoma (SI) pada tumbuhan. SI akan mengalami perubahan mengikut peringkat pertumbuhan sesuatu spesies dan keadaan persekitaran seperti jumlah cahaya, kelembapan dan peratus karbon dioksida (Lake et al. 2001; Simon et al. 2020). Murray et al. (2016) menunjukkan perubahan berlaku pada bukaan, ketumpatan dan SI memberi kesan terhadap keupayaan air dalam tumbuhan (WUE) semasa jangkitan. Kepadatan dan SI diukur menggunakan formula berikut:

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

Perbandingan SI pada lapisan epidermis abaksial daun dijangkiti dengan daun sihat pada skala pembesaran 100  $\mu\text{m}$  menunjukkan taburan stoma pada epidermis abaksial daun sihat tinggi berbanding daun dijangkiti, 35.7% berbanding 25.66% (Rajah 4). Penemuan ini menunjukkan kepadatan stoma berkurang apabila daun dijangkiti. Julat bilangan stoma yang dicerap pada daun dijangkiti adalah 26-28 berbanding 29-31 pada daun sihat. Jangkitan virus dalam hos telah mengakibatkan penurunan dalam ketumpatan stoma, SI dan kadar transpirasi (Murray et al. 2016). Ini merupakan refleksi hos bagi menghalang penyebaran virus. Selain daripada serangan virus, faktor persekitaran juga mempengaruhi ketumpatan serta SI (Casson & Hetherington 2010; Pillitteri & Torii 2012). Ini memberi penjelasan bahawa perkembangan stoma daripada aspek ketumpatan dan SI merupakan adaptasi daun mengikut persekitaran. Penurunan ketumpatan stoma juga berkorelasi dengan peningkatan rintangan kepada serangan patogen (Jyosthna et al. 2004; Mahajan & Dhillon 2003; Stenglein et al. 2005). Jelas ketumpatan dan SI, merupakan antara adaptasi ciri anatomi daun melawan jangkitan patogen.

Saiz stoma pada daun dijangkiti virus SaYV adalah lebih kecil secara relatif berbanding saiz stoma pada daun sihat dan liang stoma kekal tertutup pada daun dijangkiti walaupun diambil pada waktu yang sama dengan daun sihat (Rajah 5). Menurut Glazebrook (2005), daya ketahanan tumbuhan kepada jangkitan akan berlaku apabila laluan transduksi isyarat diaktifkan oleh fitohormon seperti asid salistik, asid jasmonik dan etilena. Asid absisik (ABA) merupakan hormon terpenting dalam tumbuhan darat untuk mengatasi stres abiotik (Cuming & Stevenson 2015; Gouveia et al. 2017). Menurut Halim et al. (2006) dan Melotto et al. (2006), asid salistik dan asid absisik berperanan menutup liang stoma apabila berlakunya



RAJAH 4. Indeks stoma (SI) daun sihat (daun kawalan) dan daun dijangkiti virus SaYV

serangan patogen dan terdapat pergerakan patogen ke arah liang stoma yang terbuka. Kajian terdahulu juga membuktikan bahawa tumbuhan beradaptasi dengan menjadikan stoma sebagai salah satu strategi bagi menghalang serangan patogen (McLachlan, Kopischke & Robatzek 2014; Melotto et al. 2006). Kesimpulannya, penurunan ketumpatan dan SI serta peningkatan saiz stoma pada daun *S. androygnus* merupakan adaptasi daun tersebut kepada jangkitan virus.

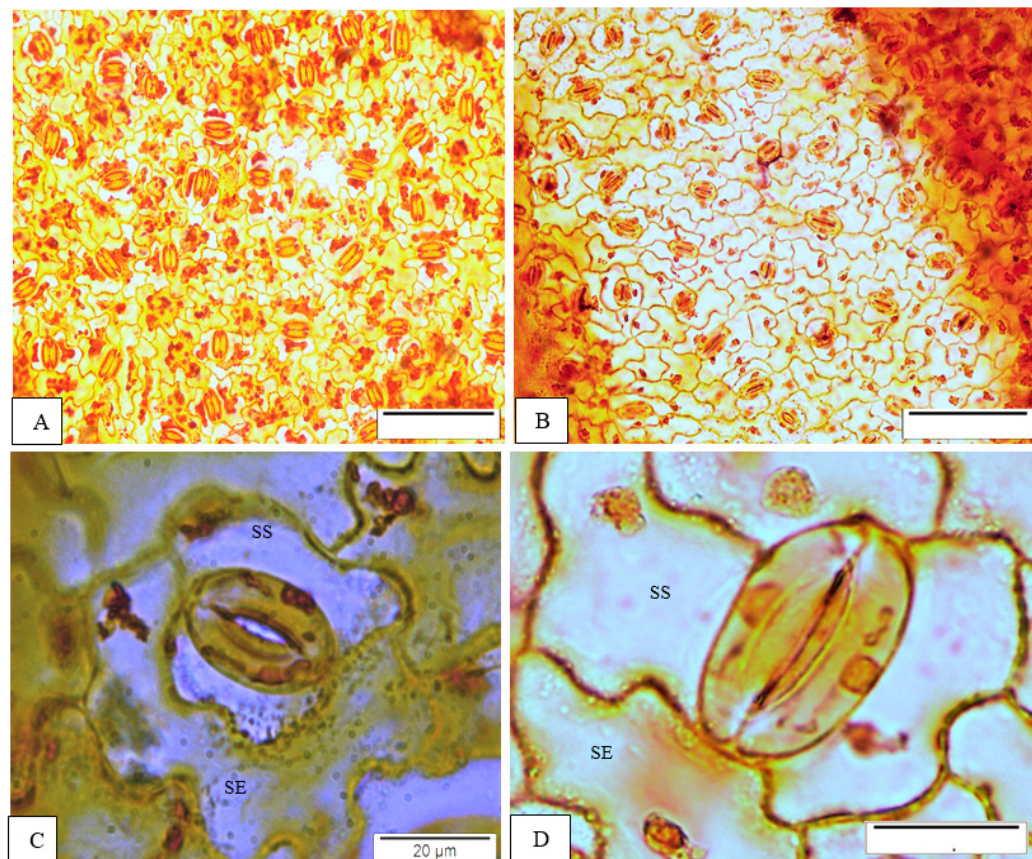
#### PERURATAN DAUN DAN KEHADIRAN HABLUR

Kalsium oksalat atau hablur dapat ditemui dalam lebih daripada 215 famili tumbuhan dan boleh ditemui pada pelbagai bahagian tumbuhan seperti pada bunga (Franceschi & Nakata 2005), daun (Katayama et al. 2007), batang (Pattar & Jayaraj 2012) dan akar (Franceschi & Horner 1980). Hablur kalsium oksalat dalam tumbuhan berperanan sebagai mekanisme pertahanan kepada haiwan herbivor, penyahtoksikan besi dan terlibat dalam mengawal kandungan kalsium (Nakata 2003). Hablur kalsium oksalat ialah bahan ergastik yang terlibat dalam fisiologi tumbuhan, dijumpai pada tumbuhan tertentu sahaja dan antara bentuk

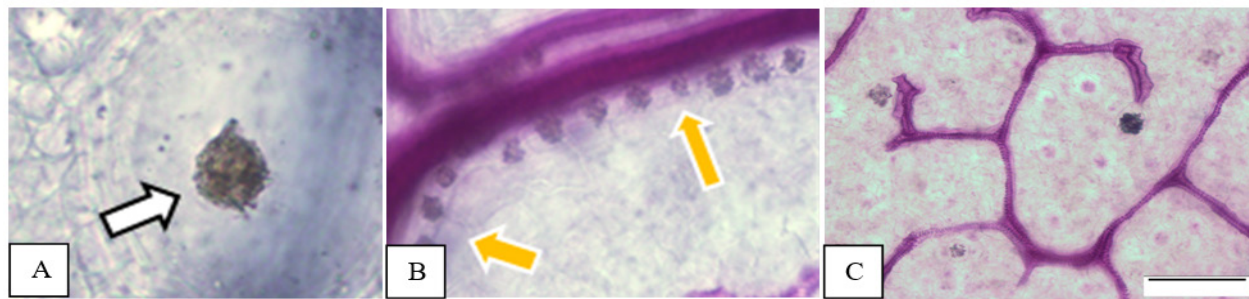
hablur kalsium oksalat ialah drus dan rafid (Noraini, Mohamad Ruzi & Muhammad Amirul Aiman 2019).

Pengumpulan drus ialah sebagai salah satu mekanisme pertahanan yang berkesan terhadap patogen kerana drus boleh merosakkan dinding sel patogen secara fizikal dan menjadikannya lebih mudah terdedah kepada mekanisme pertahanan yang lain (Rajah 6). Drus bertindak sebagai penghalang fizikal untuk menghalang penembusan patogen ke dalam tisu tumbuhan, tepi tajam drus boleh merosakkan dinding sel patogen dan menghalangnya daripada memasuki tisu tumbuhan. Kehadiran drus juga berkaitan dengan mekanisme pertahanan pada tisu xilem dan floem yang menyebabkan drus sering ditemui pada peruratan primer, sekunder dan tertier. Drus akan mengaruhkan kerosakan pada peruratan terutama peruratan sekunder dan tertier bagi mengawal dan menghalang jangkiti virus (Leszczuk et al. 2014).

Hasil kajian juga menunjukkan kehadiran hablur jenis drus pada berkas vaskular daun sihat dan juga daun yang dijangkiti virus SaYV. Beza antara keduanya ialah pada daun sihat hablur drus bertaburan secara rawak dalam sel mesofil span dan sel palisad pada lamina, tetapi pada daun



RAJAH 5. Epidermis abaksial daun: A) Daun sihat, B) Daun dijangkiti. Stoma: C) Daun sihat, D) Daun dijangkiti. SE: Sel epidermis. SS: Sel subsidiari. Skala: A&B=50 µm. C&D=20 µm



RAJAH 6. Drus. A) Drus tunggal, B) Stegmata, drus pada peruratan primer, C) Drus pada peruratan sekunder dan tertier

yang dijangkiti virus SaYV kepadatan hablur drus lebih tinggi dan kebanyakan hablur drus berada di sepanjang peruratan daun atau berdekatan urat daun terutama pada peruratan daun primer (Rajah 6(B)) dan peruratan sekunder serta tertier (Rajah 6(C)). Hablur drus yang tersusun sejajar dengan peruratan dipanggil stigmata (Rajah 6(B)).

Hasil kajian ini juga menunjukkan kerosakan pada urat sekunder dan tertier akibat jangkitan virus. Hal ini menunjukkan kemusnahan dan kerosakan yang berlaku pada tisu xilem dan floem yang mengakibatkan kemusnahan pada urat sekunder dan tertier. Oleh itu, kehadiran hablur drus dan kehilangan peruratan sekunder dan tertier adalah merupakan adaptasi daun *S. androgynus* kepada jangkitan virus SaYV.

#### KESIMPULAN

Melalui kajian ini telah dibuktikan berlaku perubahan pada ciri anatomi daun sebagai respon kepada jangkitan virus. Perubahan ciri anatomi yang berlaku pada daun termasuklah dalam pengurangan peratusan kepadatan pigmen klorofil akibat kerosakan sistem penghasilan kloroplas oleh virus, berlaku kepadatan lapisan palisad sehingga mengakibatkan keikalan daun dan penambahan lapisan sel kolenkima untuk perlindungan maksimum daripada jangkitan virus. Keefisienan fungsi tisu vaskular dipertingkatkan melalui hiperplasia yang meningkatkan bilangan berkas vaskular pada petiol dan tulang daun yang dijangkiti virus. Penglibatan hormon tertentu berkemungkinan memberi kesan terhadap perubahan ciri anatomi daun terutama pada berkas vaskular untuk menentang jangkitan virus. Penurunan pada ketumpatan, saiz dan SI stoma pada lapisan epidermis abaksial juga merupakan adaptasi kepada jangkitan virus.

Hasil kajian ini boleh dijadikan rujukan awal dalam merangka langkah kawalan dan pengurusan penyakit tanaman dengan menggabungkan penemuan ciri anatomi dengan faktor molekul dan aktiviti enzim yang terlibat. Langkah berkesan perlu dilaksanakan bagi melindungi tanaman daripada ancaman perosak dan penyakit serta

memastikan pengeluaran sumber makanan sayuran yang berkualiti. Berdasarkan hasil kajian, langkah awal yang boleh diambil untuk mengelakkan jangkitan virus SaYV dengan pantas merebak ialah dengan membuang bahagian yang mempunyai daun yang terkena jangkitan virus kerana jangkitan virus dilihat lebih pantas tersebar melalui plasmodesma antara dinding sel pada lapisan epidermis, sel palisad dan sel kolenkima berbanding melalui tisu vaskular.

#### PENGHARGAAN

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

#### RUJUKAN

- Agrawal, S.K., Karthikeyan, V., Parthiban, P. & Nandhini, R. 2014. Multivitamin plant: pharmacognostical standardization and phytochemical profile of its leaves. *Journal of Pharmacy Research* 8(7): 920-925.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D.A., Bolling, B. & Wijaya, H. 2010. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry* 121(4): 1231-1235.
- Andersen, E.J., Ali, S., Byamukama, E., Yen, Y. & Nepal, M.P. 2018. Disease resistance mechanisms in plants. *Genes* 9(7): 339.
- Balachandran, S., Hurry, V., Kelley, S., Osmond, C., Robinson, S., Rohozinski, J., Seaton, G. & Sims, D. 1997. Concepts of plant biotic stress. Some insights into the stress physiology of virus-infected plants, from the perspective of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 100(2): 203-213.
- Bhaskar, A., Ramesh, K. & Rajeshwari, S. 2009. Wound healing profile of *Sauropus androgynus* in Wistar rats. *Journal of Natural Remedies* 9(2): 159-164.
- Brisson, L.F., Tenhaken, R. & Lamb, C. 1994. Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance. *The Plant Cell* 6(12): 1703-1712.



- Bunawan, H., Bunawan, S.N., Baharum, S.N. & Noor, N.M. 2015. *Sauropus androgynus* (L.) Merr. induced bronchiolitis obliterans: From botanical studies to toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015: 714158.
- Casson, S.A. & Hetherington, A.M. 2010. Environmental regulation of stomal development. *Current Opinion in Plant Biology* 13(1): 90-95.
- Cuming, A.C. & Stevenson, S.R. 2015. From pond slime to rain forest: The evolution of ABA signalling and the acquisition of dehydration tolerance. *New Phytologist* 206(1): 5-7.
- Das, P.P., Lin, Q. & Wong, S.M. 2019. Comparative proteomics of Tobacco mosaic virus-infected *Nicotiana tabacum* plants identified major host proteins involved in photosystems and plant defence. *Journal of Proteomics* 194: 191-199.
- El-Banna, O.H.M., Awad, M., Abbas, M., Waziri, H. & Darwish, H. 2014. Anatomical and ultrastructural changes in tomato and grapevine leaf tissues infected with *Tomato ringspot virus*. *Egyptian Journal Virology* 11: 102-111.
- Fereres, A. & Raccach, B. 2015. *Plant Virus Transmission by Insects*. Chichester: John Wiley & Sons. hlm. 1-12.
- Franceschi, V.R. & Horner, H.T. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *The Botanical Review* 46(4): 361-427.
- Franceschi, V.R. & Nakata, P.A. 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and function. *Annual Review of Plant Biology* 56: 41-71.
- Funayama-Noguchi, S. 2001. Ecophysiology of virus-infected plants: A case study of *Eupatorium makinoi* infected by geminivirus. *Plant Biology* 3(03): 251-262.
- Funayama-Noguchi, S. & Terashima, I. 2006. Effects of *Eupatorium* yellow vein virus infection on photosynthetic rate, chlorophyll content and chloroplast structure in leaves of *Eupatorium makinoi* during leaf development. *Functional Plant Biology* 33(2): 165-175.
- Gilbertson, R.L. & Lucas, W.J. 1996. How do viruses traffic on the 'vascular highway'? *Trends in Plant Science* 1(8): 250-251.
- Ghosh, S., Kanakala, S., Lebedev, G., Kontsedalov, S., Silverman, D., Alon, T., Mor, N., Sela, N., Luria, N. & Dombrovsky, A. 2019. Transmission of a new polerovirus infecting pepper by the whitefly *Bemisia tabaci*. *Journal of Virology* 93(15): 488-419.
- Glazebrook, J. 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 43: 205-227.
- Gouveia, B.C., Calil, I.P., Machado, J.P.B., Santos, A.A. & Fontes, E.P. 2017. Immune receptors and co-receptors in antiviral innate immunity in plants. *Frontiers in Microbiology* 7: 2139.
- Halim, V., Vess, A., Scheel, D. & Rosahl, S. 2006. The role of salicylic acid and jasmonic acid in pathogen defence. *Plant Biology* 8(03): 307-313.
- Jeandet, P. 2015. Phytoalexins: Current progress and future prospects. *Molecules* 20(2): 2770-2774.
- Jyosthna, M., Reddy, N.E., Chalam, T. & Reddy, G. 2004. Morphological and biochemical characterization of *Phaeoisariopsis personata* resistant and susceptible cultivars of groundnut (*Arachis hypogaea*). *Plant Pathology Bulletin* 13(4): 243-250.
- Kang, Z. & Buchenauer, H. 2003. Immunocytochemical localization of cell wall-bound thionins and hydroxyproline-rich glycoproteins in *Fusarium culmorum*-infected wheat spikes. *Journal of Phytopathology* 151(3): 120-129.
- Katayama, H., Fujibayashi, Y., Nagaoka, S. & Sugimura, Y. 2007. Cell wall sheath surrounding calcium oxalate crystals in mulberry idioblasts. *Protoplasma* 231(3): 245-248.
- Knierim, D., Maiss, E., Menzel, W., Winter, S. & Kenyon, L. 2015. Characterization of the complete genome of a novel polerovirus infecting *Sauropus androgynus* in Thailand. *Journal of Phytopathology* 163(9): 695-702.
- Knierim, D., Tsai, W., Maiss, E. & Kenyon, L. 2014. Molecular diversity of poleroviruses infecting cucurbit crops in four countries reveals the presence of members of six distinct species. *Archives of Virology* 159(6): 1459-1465.
- Lai, R.S., Chiang, A.A., Wu, M.T., Wang, J.S., Lai, N.S., Lu, J.Y., Ger, L.P. & Roggli, V. 1996. Outbreak of bronchiolitis obliterans associated with consumption of *Sauropus androgynus* in Taiwan. *The Lancet* 348(9020): 83-85.
- Lake, J.A., Quick, W., Beerling, D.J. & Woodward, F.I. 2001. Signals from mature to new leaves. *Nature* 411: 154.
- Leszczuk, A., Szczuka, E., Stanisławek, K., Mazurkiewicz, I. & Kasprzyk, A. 2014. Calcium oxalate crystals in the stem of *Sida hermaphrodita* (L.) Rusby (Malvaceae). *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Sectio C-Biologia* 69(1). <http://dx.doi.org/10.2478/umcsbio-2013-0003>
- Lin, L., Hsiao, Y. & Kuo, C.G. 2009. *Discovering Indigenous Treasures: Promising Indigenous Vegetables from Around the World*. Taiwan.: AVRDC-The World Vegetable Center Publication.
- Liu, Q., Luo, L. & Zheng, L. 2018. Lignins: Biosynthesis and biological functions in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 19(2): 335-351.
- Mahajan, M. & Dhillon, M. 2003. Relation of leaf epidermal characteristics with susceptibility and resistance of potato (*Solanum tuberosum*) to late blight disease (*Phytophthora infestans*). *Indian Journal of Agricultural Science* 73(12): 656-660.

- Mclachlan, D.H., Kopischke, M. & Robatzek, S. 2014. Gate control: Guard cell regulation by microbial stress. *New Phytologist* 203(4): 1049-1063.
- Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K. & He, S.Y. 2006. Plant stoma function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell* 126(5): 969-980.
- Murray, R.R., Emblow, M.S., Hetherington, A.M. & Foster, G.D. 2016. Plant virus infections control stomal development. *Scientific Reports* 6: 34507.
- Nakata, P.A. 2003. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science* 164(6): 901-909.
- Noraini, T., Nur Syahirah, M. & Mohamad Ruzi, A.R. 2022. *Histologi dan Teknik Pengawetan Tumbuhan*. Bangi: Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Noraini, T., Mohamad Ruzi, A.R. & Muhammad Amirul Aiman, A.J. 2019. *Anatomi dan Mikroskopik Tumbuhan*. Bangi: Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Padmavathi, P. & Rao, M.P. 1990. Nutritive value of *Sauropus androgynus* leaves. *Plant Foods for Human Nutrition* 40(2): 107-113.
- Palanisamy, P., Michael, P.I. & Krishnaswamy, M. 2009. Physiological response of Yellow vein mosaic virus-infected bhendi [*Abelmoschus esculentus*] leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 74(2): 129-133.
- Pattar, P.V. & Jayaraj, M. 2012. Pharmacognostic and phytochemical investigation of *Sida cordifolia* L. threatened medicinal herb. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(1): 114-117.
- Pillitteri, L.J. & Torii, K.U. 2012. Mechanisms of stomal development. *Annual Review of Plant Biology* 63: 591-614.
- Radwan, D.E.M., Lu, G., Fayez, K.A. & Mahmoud, S.Y. 2008. Protective action of salicylic acid against bean yellow mosaic virus infection in *Vicia faba* leaves. *Journal of Plant Physiology* 165(8): 845-857.
- Reusche, M., Truskina, J., Thole, K., Nagel, L., Rindfleisch, S., Braus-Stromeyer, S.A., Braus, G.H., Teichmann, T. & Lipka, V. 2014. Infections with the vascular pathogens *Verticillium longisporum* and *Verticillium dahliae* induce distinct disease symptoms and differentially affect drought stress tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany* 108: 23-37.
- Rodrigues, L.M.R., Queiroz-Voltan, R.B. & Guerreiro, O. 2015. Anatomical changes on coffee leaves infected by *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. *Summa Phytopathologica* 41: 256-261.
- Sai, K. & Srividya, N. 2002. Blood glucose lowering effect of the leaves of *Tinospora cordifolia* and *Sauropus androgynus* in diabetic subjects. *Journal of Natural Remedies* 2(1): 28-32.
- Selvi, V.S. & Bhaskar, A. 2012. Characterization of anti-inflammatory activities and antinociceptive effects of papaverine from *Sauropus androgynus* (L.) Merr. *Global Journal of Pharmacology* 6(3): 86-192.
- Shailasree, S., Kini, K.R., Deepak, S., Kumudini, B. & Shetty, H.S. 2004. Accumulation of hydroxyproline-rich glycoproteins in pearl millet seedlings in response to *Sclerospora graminicola* infection. *Plant Science* 167(6): 1227-1234.
- Simon, N.M., Sugisaka, J., Honjo, M.N., Tunstad, S.A., Tunna, G., Kudoh, H. & Dodd, A.N. 2020. Altered stomal patterning accompanies a trichome dimorphism in a natural population of *Arabidopsis*. *Plant Direct* 4(9): e00262.
- Soka, S., Alam, H., Boenjamin, N., Agustina, T.W. & Suhartono, M.T. 2010. Effect of *Sauropus androgynus* leaf extracts on the expression of prolactin and oxytocin genes in lactating balb/c mice. *Lifestyle Genomics* 3(1): 31-36.
- Stenglein, S.A., Arambarri, A.M., Sevillano, M.D.C.M. & Balatti, P.A. 2005. Leaf epidermal characters related with plant's passive resistance to pathogens vary among accessions of wild beans *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* (Leguminosae-Phaseoleae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 200(3): 285-295.
- Vorwerk, S., Somerville, S. & Somerville, C. 2004. The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. *Trends in Plant Science* 9(4): 203-209.
- Waheeda, A.W., Noraini, T., Basir, S., Muhamad Afiq, A., Mohd Faiz, M.S. & Bunawan, H. 2022. Disease development and discovery of anatomically resistant features towards bacterial leaf streak in rice. *Agriculture* 12(5): 629. <https://www.mdpi.com/2077-0472/12/5/629>
- Walker, P.J., Siddell, S.G., Lefkowitz, E.J., Mushegian, A.R., Adriaenssens, E.M., Alfenas-Zerbini, P., Davison, A.J., Dempsey, D.M., Dutilh, B.E., Garcia, M.L., Harrach, B., Harrison, R.L., Hendrickson, R.C., Junglen, S., Knowles, N.J., Krupovic, M., Kuhn, J.H., Lambert, A.J., Łobocka, M., Nibert, M.L., Oksanen, H.M., Orton, R.J., Robertson, D.L., Rubino, L., Sabanadzovic, S., Simmonds P, Smith, D.B., Suzuki, N., Van Dooerslaer, K., Vandamme, A.M., Varsani, A. & Zerbini, F.M. 2021. Changes to virus taxonomy and to the International Code of Virus Classification and Nomenclature Ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2021). *Archives of Virology* 166(9): 2633-2648.
- White, P.J. 2012. Long-distance transport in the xylem and phloem. In *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, (Edisi-3), disunting oleh Marschner, P. Amsterdam: Academic Press. hlm. 49-70.

- Yusop, M.S.M., Lanisa, N., Talip, N., Mat Saad, M.F., Abas, A., Sarian, M.N. & Bunawan, H. 2023. The complete genome sequence, molecular detection, and anatomical analysis of Hibiscus chlorotic ringspot virus infecting *Hibiscus rosa-sinensis* in Peninsular Malaysia. *Horticulturae* 9(5): 569.
- Zhang, B.D., Cheng, J.X., Zhang, C.F., Bai, Y.D., Liu, W.Y., Li, W., Koike, K., Akihisa, T., Feng, F. & Zhang, J. 2020. *Sauropus androgynus* L. Merr. a phytochemical, pharmacological and toxicological review. *Journal of Ethnopharmacology* 257: 112778.

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: ntalip@ukm.edu.my