

CMDV: Platform truput tinggi untuk pembiak baka (CMDV: High-throughput platform for breeder)

Siti Zainab Jantan, Rabiatul Adawiah Zainal Abidin,
Norzihan Abdullah dan Marzukhi Hashim

Pengenalan

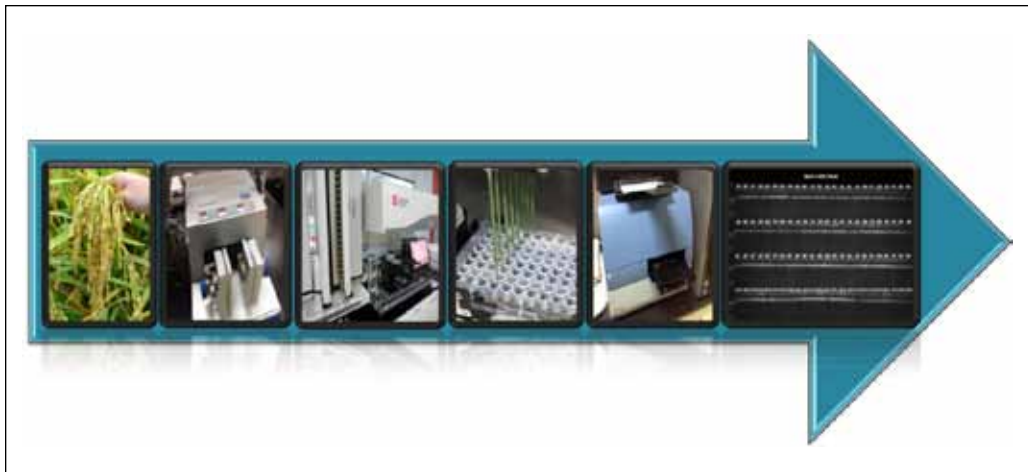
Teknologi penenotipan adalah teknik analisis molekul yang berasaskan jujukan DNA dengan menggunakan platform penenotipan yang bersesuaian. Teknologi penenotipan semakin kerap digunakan dalam bidang pembiakbakaan berbantuan pemilihan (MAS) kerana ia membantu pembiak baka melakukan pemilihan trait bagi ciri yang dihajati dalam masa yang singkat melalui penggunaan penanda molekul. Antara penanda molekul yang kerap digunakan dalam MAS ialah penanda polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) dan mikrosatelit (SSR).

Justeru, penubuhan Pusat Penemuan dan Pengesanan Penanda Molekul (CMDV) merupakan platform terbaik kepada MARDI bagi meningkatkan kualiti tanaman untuk mengenal pasti varieti yang berhasil tinggi, rintang terhadap penyakit dan serangga perosak. CMDV merupakan pusat sehenti yang mula beroperasi pada bulan Ogos 2011 yang menjalankan penyelidikan dan menawarkan perkhidmatan penenotipan tanaman, ternakan dan akuakultur. Pusat ini dilengkapi dengan pelbagai peralatan makmal dan platform penenotipan yang berskala tinggi menerusi jalinan kerjasama antara MARDI dan Malaysian Biotechnology Corporation yang dimeterai pada tahun 2009.

Kaedah umum penenotipan berskala tinggi

Kaedah penenotipan berskala tinggi di makmal CMDV telah dioptimasi berpandukan protokol dan prosedur standard operasi yang bersesuaian. Kaedah umum penenotipan dimulakan dengan penyediaan sampel sama ada daun, tisu, biji benih atau darah. Kemudian DNA diekstrak daripada sampel dengan menggunakan peralatan robotik yang berkapasiti tinggi (*Gambar rajah 1*). Penggunaan peralatan robotik sangat penting supaya proses pengekstrakan dapat dijalankan dengan lebih cepat dan tepat serta mampu mengekstrak 1,000 sampel dalam sehari.

Selepas pengekstrakan DNA, kawalan kualiti DNA dijalankan dengan menggunakan peralatan *Fluoroskan* dan *Gel Imager*. Kawalan kualiti adalah penting bagi memastikan kualiti dan kuantiti DNA yang diperolehi mencukupi untuk proses seterusnya. Langkah seterusnya adalah amplifikasi DNA melalui proses tindak balas berantai polimerase (PCR) dengan menggunakan mesin *Applied Biosystems*. Selepas proses PCR, penenotipan DNA dilakukan dengan menggunakan platform yang bersesuaian seperti ABI 3730xl dan *Sequenom Mass Array* bergantung kepada penanda molekul yang dipilih sama ada SSR atau SNP.



Gambar rajah 1. Pengekstrakan DNA berskala tinggi dengan menggunakan peralatan robotik



Gambar rajah 2. Tiga platform pengenotipan utama di CMDV yang digunakan bagi pembangunan penanda molekul SNP, SSR dan AFLP

Platform pengenotipan

Terdapat tiga jenis platform pengenotipan di CMDV iaitu ABI 3730xl (AFLP dan SSR), *Sequenom Mass Array* (SNP) dan *Illumina iScan* (SNP). Setiap platform menghasilkan jumlah data yang berbeza dan berskala besar. Misalnya platform ABI 3730xl DNA Analyzer mampu menghasilkan sejumlah 24,576 data mikrosatelit atau AFLP manakala *Sequenom Mass Array* mampu menghasilkan 100,000 data SNP. Bagi platform *Illumina iScan* pula, terdapat panel SNP Infinium yang boleh mencapai tahap multipleks sehingga 700,000 SNP.

Kelebihan penggunaan platform pengetipan ini dapat menyokong pembangunan penanda molekul SNP, SSR dan AFLP kerana setiap platform berupaya membangunkan panel SNP, SSR dan AFLP yang dikehendaki dalam kuantiti yang besar, berkualiti tinggi dan pantas (*Gambar rajah 2*).

Sistem pengurusan maklumat makmal (LIMS) dan bioinformatik

Pengurusan data dan maklumat aktiviti pengetipan makmal CMDV diurus secara sistematik dan efisien dengan menggunakan sistem pengurusan maklumat makmal (LIMS). Sistem LIMS membantu pengguna mengesan maklumat sampel dan pelanggan, mengurus inventori makmal serta penjaan innois dan laporan.

Selain itu, CMDV turut membangunkan pangkalan data dalaman yang digunakan untuk tujuan penyimpanan data genomik, peta genetik, peta fizikal dan maklumat janaplasma yang merupakan medium yang bermanfaat kepada penyelidik CMDV bagi mencari maklumat yang berkaitan dengan penanda molekul, gen dan jujukan DNA (*Gambar 1*).

Pembiakbakaan SMART (SMART breeding)

Selection with Markers and Advanced Reproductive Technology atau dikenali sebagai SMART ialah pemilihan dengan penanda molekul dan teknologi pembiakbakaan canggih yang menggunakan pendekatan penggunaan penanda molekul sebagai sasaran secara langsung pemilihan ciri-ciri yang diinginkan. Teknik ini merupakan satu kaedah alternatif yang tidak menggantikan pembiakbakaan secara konvensional, tetapi membantu menjadikannya lebih berkesan dan sistematik. SMART menggabungkan teknologi MAS (pembiakbakaan berbantuan pemilihan) dan MAB (pembiakbakaan silang balik) yang dibantu dengan penggunaan penanda molekul seperti SSR dan SNP.

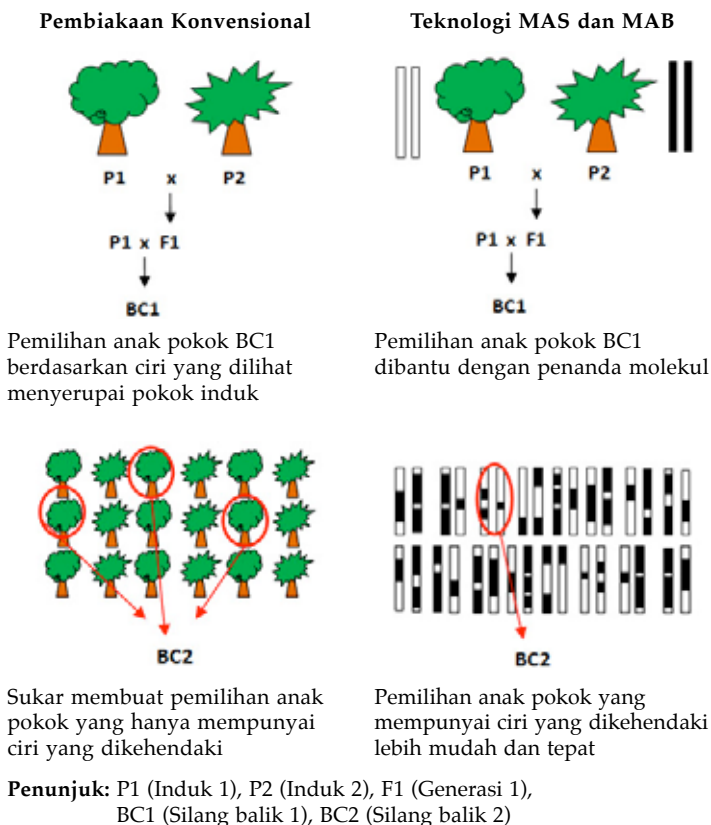
Penanda molekul berupaya mengesan perbezaan genetik antara individu dan kebiasaannya terletak berdekatan dengan gen bagi ciri-ciri tertentu. Penggunaan penanda molekul ini dapat membantu pembiak baka mengenal pasti sama ada tanaman atau ternakan mereka mempunyai ciri-ciri yang diinginkan untuk pembiakbakaan. Seterusnya, pembiak baka boleh mengaplikasi teknologi MAS dan MAB ini dengan menggunakan kemudahan platform yang terdapat di CMDV. Perbandingan pembiakbakaan tanaman secara konvensional dengan teknologi MAS dan MAB adalah seperti dalam *Jadual 1* dan *Gambar rajah 3*.



Gambar 1. Pengurusan data dan maklumat aktiviti pengetipan disokong melalui penggunaan LIMS manakala pembangunan penanda molekul dibantu melalui penggunaan pangkalan data genomik tanaman dan ternakan

Jadual 1. Perbandingan pembiakbakaan tanaman secara konvensional dengan teknologi MAS dan MAB

Pembiakbakaan Konvensional	Teknologi MAS dan MAB
1) Mengambil masa 10 – 25 tahun untuk menghasilkan varieti baharu bergantung kepada jenis tanaman.	1) Mengambil masa 7 – 10 tahun untuk menghasilkan varieti baharu bergantung kepada jenis tanaman
2) Memilih tumbuhan berdasarkan ciri-ciri yang boleh dilihat atau diukur, namun sukar kerana kadangkala dipengaruhi oleh faktor persekitaran.	2) Membantu pemilihan tumbuhan yang spesifik terhadap ciri yang dikehendaki dengan penggunaan penanda molekul serta tidak dipengaruhi oleh faktor persekitaran.
3) Perlu menunggu anak pokok matang untuk menguji kehadiran ciri yang dikehendaki.	3) Ciri yang dikehendaki boleh diuji di peringkat anak pokok.
4) Ciri-ciri yang tidak diinginkan turut dipindahkan ke anak pokok.	4) Ciri-ciri yang tidak diinginkan boleh dihapuskan dengan teknologi MAS.
5) Tidak mempunyai kaedah untuk mengenal pasti ciri yang dikawal oleh beberapa gen.	5) Boleh mengenal pasti ciri yang dikawal oleh beberapa gen.



Gambar rajah 3. Perbandingan ringkas pembiakbakaan tanaman secara konvensional dengan teknologi MAS dan MAB

Kesimpulan

Penggunaan teknologi penenotipan merupakan antara teknologi yang boleh dimanfaatkan dalam menghasilkan baka yang baik dan bermutu tinggi. Ia secara tidak langsung dapat membantu meningkatkan produktiviti negara dalam memenuhi pasaran tempatan dan seterusnya menjana pendapatan negara melalui pengeksportan bekalan makanan. Negara luar seperti Jepun, China, Amerika Syarikat, Kanada dan Belanda telah lama mengaplikasikan teknologi penenotipan dalam pertanian moden mereka. Antara tanaman yang terlibat adalah seperti padi, gandum, jagung, barli, cili dan kanola. Kerjasama penyelidikan yang erat di kalangan penyelidik biologi molekul, pembiak baka, bioinformatik dan teknologi maklumat adalah penting bagi memastikan kejayaan hasil aplikasi teknologi penanda molekul.

Penghargaan

Penghargaan kepada MARDI dan Malaysian Biotechnology Corporation Sdn. Bhd. (Biotech Corp.) yang telah membiayai dan menyokong melaksanakan perolehan teknologi penanda molekul daripada DNA Landmarks, Kanada.

Bibliografi

- Bernardo, R. (2008). Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years. *Crop Science* 48(5): 1649
- Hariyati, T., Kusnadi, J. dan Arumingtyas, E.L. (2013). *Genetic diversity of hybrid durian resulted from cross breeding between Durio kutejensis and Durio zibethinus based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs)*, m.s. 153 – 157
- Jiang, G. (2013). *Advances in crop science and technology plant marker-assisted breeding and conventional breeding : challenges and perspectives*, 1 (3): 1 – 2
- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments a poor man's approach to genotyping for research and high-throughput diagnostics, m.s. 1 – 2
- Van Bers, N.E.M. dan Crooijmans, R.P.M. (2012). SNP marker detection and genotyping in tilapia. *Molecular Ecology Resources* 12(5): 932 – 41

Ringkasan

Teknologi pengenotipan melalui penggunaan platform pengenotipan berskala tinggi telah digunakan secara meluas dalam bidang pertanian moden. Ia diperlukan bagi meningkatkan aktiviti pembiakbakaan dalam sektor tanaman, ternakan dan akuakultur. Platform pengenotipan yang berskala tinggi di CMDV, MARDI dapat menyokong pembangunan penanda molekul SNP dan SSR melalui platform *Sequenom*, *Illumina* dan ABI 3730xl. Teknologi pengenotipan ini diharap dapat meneraju dan meningkatkan bidang penyelidikan di Malaysia supaya penghasilan baka yang baharu dan bermutu tinggi boleh dihasilkan dalam jangka masa yang lebih singkat.

Summary

Genotyping technology through the application of high throughput genotyping platform has been widely used in modern agriculture. It is needed to enhance our current breeding activity in crop, livestock and aquaculture sectors. The high throughput genotyping platform at CMDV, MARDI have supported the development of SNP and SSR markers through the application of *Sequenom*, *Illumina* and ABI 3730xl platforms. It is hoped that this genotyping technology can spear head and enhance the agricultural research in Malaysia for the production of novel and high quality breeds in a shorter period.

Pengarang

Siti Zainab Jantan

Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,

Peti Surat 12304, 50774 Kuala Lumpur

E-mel: zainabj@mardi.gov.my

Rabiatul Adawiah Zainal Abidin, Norzihan Abdullah dan Marzukhi Hashim

Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,

Peti Surat 12304, 50774 Kuala Lumpur