

Peningkatan sistem pertahanan terhadap penyakit mati rosot betik melalui kejuruteraan genetik tumbuhan

(Enhancement of defence system against papaya dieback disease via plant genetic engineering)

Rogayah Sekeli, Nazrul Hisham Nazaruddin, Nora'ini Abdullah, Amin Asyraf Tamizi, Noriha Mat Amin, Johari Sarip, Wee Chien Yeong, Nurain Izzati Saidi dan Roslinda Abdul Razak

Pengenalan

Betik (*Carica papaya* L.) merupakan antara buah terpenting untuk pasaran eksport. Betik Eksotika yang diperkenalkan oleh Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia (MARDI) pada tahun 1987 hasil kacukan antara Subang 6 (tempatan) dan Hawaiian Sunrise Solo (Hawai) merupakan salah satu varieti betik Malaysia yang bernilai tinggi dalam pasaran eksport. Betik Eksotika mempunyai saiz yang sederhana, rasa yang manis dengan aroma yang menarik menyebabkan ia mempunyai permintaan yang tinggi untuk pasaran tempatan dan juga eksport. Pasaran utama betik Eksotika ialah Emiriah Arab Bersatu, China dan Singapura, serta pasaran-pasaran lain seperti Hong Kong dan Thailand. Pada tahun 2001, nilai eksport buah betik Malaysia dianggarkan berjumlah sebanyak RM79 juta. Walau bagaimanapun, selepas itu nilai eksport betik mulai menurun dan penurunan nilai pasaran eksport negara ini banyak dipengaruhi oleh beberapa faktor.

Pelbagai perosak dan penyakit telah dilaporkan menjangkiti tanaman betik di Malaysia. Antara perosak utama yang dikaitkan dengan betik adalah seperti kutu trips, hamama, teritip, lalat buah dan tungau daun. Manakala penyakit-penyakit utama yang menyerang tanaman betik adalah seperti virus bintik cecincin betik (*papaya ringspot virus*), hawar buah, reput pangkal dan akar, antraknos, bintik buah dan yang paling kritikal buat masa ini adalah penyakit mati rosot betik (*papaya dieback disease*).

Penyakit mati rosot ini tersenarai bawah Akta Kuarantin Tumbuhan 1976 sebagai satu penyakit utama betik kerana sukar dikawal dan berpotensi menyebabkan kerugian pengeluaran sehingga 100%. Patogen yang menyebabkan penyakit itu telah dikenal pasti dan disahkan sebagai bakteria *Erwinia mallotivora* yang tergolong dalam keluarga Enterobacteriaceae. Bakteria ini menyerang kesemua bahagian pokok seperti pucuk, daun, batang dan buah. Bahagian yang terkena serangan akan terlebih dahulu kelihatan lecut air (*water soaked*) di beberapa bahagian dan selepas beberapa hari akan terus merebak sehingga menjangkiti bahagian-bahagian pokok lain yang akhirnya boleh menyebabkan pokok mati.

Penyakit ini mula dikesan di Malaysia pada tahun 2003 dan telah menyerang penanaman betik terutama di Johor, Melaka dan Perak sehingga menyebabkan industri pengeluaran betik untuk pasaran domestik dan eksport terjejas teruk. Varieti betik lain yang turut terjejas selain Eksotika ialah Solo, Sekaki dan Hong Kong. Amalan pertanian yang biasa seperti semburan racun perosak atau antibiotik tidak berkesan untuk mengawal penyakit ini. Oleh itu, pengesanan awal gejala penyakit dan memusnahkan pokok betik yang terjejas seolah-olah menjadi strategi kawalan yang terbaik buat masa ini. Langkah memusnahkan pokok yang terjangkit mampu mengawal penyakit ini daripada menular ke pokok-pokok yang lain. Walau bagaimanapun, langkah ini tidak sepenuhnya dapat mengawal penularan penyakit kerana dikhuatiri bakteria penyebab penyakit masih wujud di kawasan yang terkena jangkitan.

Teknologi kejuruteraan genetik untuk mempertingkatkan sistem pertahanan pokok

Bagi memberi nafas baru kepada industri betik negara dan meningkatkan lagi pasaran eksport betik, masalah penyakit mati rosot ini perlu segera ditangani. Pada masa kini, MARDI sedang giat menjalankan kajian kacukan secara konvensional untuk mendapatkan varieti betik yang rintang terhadap penyakit ini. Selain kaedah kacukan secara konvensional, beberapa pendekatan alternatif juga sedang diikhtiarkan dalam usaha membantu mendapatkan varieti betik Eksotika yang rintang terhadap penyakit ini seperti pendekatan bioteknologi moden, khususnya kejuruteraan genetik tumbuhan.

Kejuruteraan genetik merupakan satu proses di mana pengubahsuaian genetik sesuatu organisma dijalankan dengan memindahkan sesuatu maklumat genetik yang berguna daripada satu organisma ke organisma yang lain ataupun daripada organisma yang sama. Dalam proses kejuruteraan genetik tumbuhan, maklumat genetik yang dipindahkan merupakan gen-gen berpotensi yang boleh digunakan untuk meningkatkan kualiti dan mutu sesuatu tanaman dan pemindahan genetik ke tisu sasaran dijalankan secara *in vitro*.

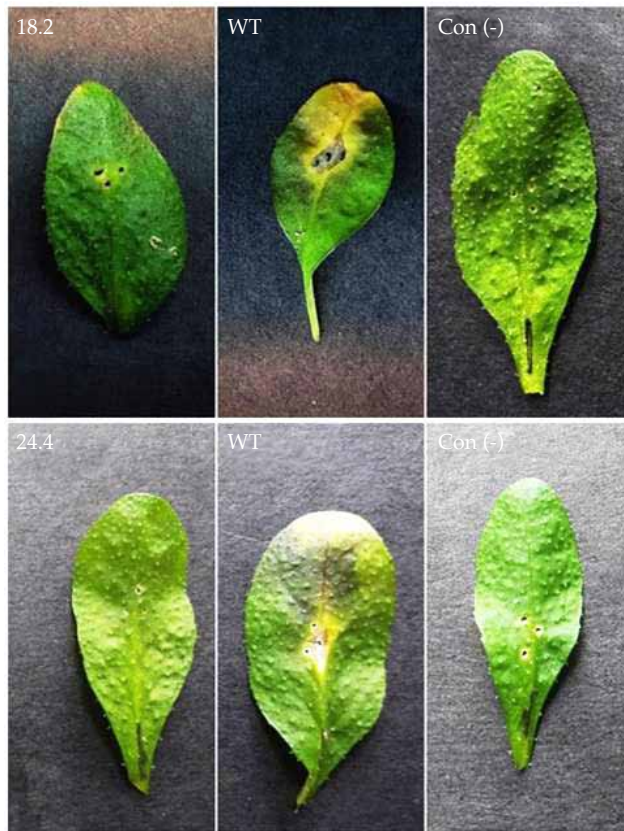
Kejuruteraan genetik tumbuhan adalah berbeza dengan kacukan secara konvensional kerana dalam proses kejuruteraan genetik, gen yang dipindahkan adalah spesifik kepada tujuan peningkatan trait yang dikehendaki. Manakala pengekspresan gen pula boleh dipertingkatkan atau disenyapkan dan bergantung kepada mod fungsi dan tapak jalan (*pathway*) gen tersebut dalam tumbuhan. Proses kejuruteraan genetik ke atas tanaman telah banyak diaplikasikan oleh saintis seluruh dunia dalam usaha memperbaiki mutu dan kualiti sesuatu tanaman. Sebagai contoh, kejayaan penyelidikan mendapatkan varieti betik transgenik yang rintang terhadap penyakit virus bintik cecincin betik (*PRSV*) oleh penyelidik dari Hawaii telah berjaya menyelamatkan industri betik di Hawaii yang terancam teruk oleh penyakit tersebut.

Aplikasi pengekspresan gen bagi meningkatkan sistem pertahanan pokok betik di MARDI

Di MARDI, khususnya di Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, kajian pengekspresan gen yang menjurus kepada pembangunan tanaman betik yang rintang terhadap penyakit mati rosot melalui kaedah kejuruteraan genetik sedang giat dijalankan. Objektif utama kajian adalah untuk membangunkan varieti betik Eksotika yang rintang terhadap penyakit mati rosot dan ini menjadi satu langkah alternatif di samping kaedah kacukan secara konvensional yang sedang giat dijalankan.

Teknologi pengekspresan gen melalui kaedah kejuruteraan genetik telah banyak dijalankan ke atas pelbagai tumbuhan di dunia dengan sasaran trait yang berbeza. Kebiasaannya manipulasi gen dijalankan bertujuan sama ada untuk meningkatkan sistem pertahanan pokok terhadap serangan serangga dan penyakit, meningkatkan sistem pertahanan terhadap cuaca ekstrem, ataupun meningkatkan kualiti hasil tanaman. Sebelum teknologi pengekspresan gen dapat diaplikasikan, gen-gen berpotensi yang menyumbang kepada trait yang dikehendaki perlu dikenal pasti, dikaji dan divalidasi terlebih dahulu. Kebiasaannya, tumbuhan model seperti *Arabidopsis*, tomato dan tembakau digunakan untuk menilai kefungsiannya gen tersebut dan setelah kefungsiannya gen berjaya dikenal pasti, barulah ia ditransformasi ke dalam pokok sasaran untuk tujuan peningkatan mutu dan kualiti tanaman tersebut.

Berdasarkan hasil penyelidikan omiks dalam Rancangan Malaysia Ke-10 (RMKe-10), dua gen yang berpotensi dan mempunyai ciri antipatogenik iaitu *AHL lactonase* telah berjaya dipencil, diklon dan divalidasi daripada bakteria antagonis (*Bacillus cereus* dan *Bacillus thuringiensis*). Analisis aktiviti antibakteria yang telah dijalankan secara *in vitro* mengesahkan yang kedua-dua gen tersebut mempunyai ciri-ciri antipatogenik dan berpotensi untuk digunakan dalam proses kejuruteraan genetik bagi membangunkan varieti betik Eksotika yang rintang kepada penyakit mati rosot. Validasi kefungsiannya kedua-dua gen telah dijalankan dengan menggunakan tumbuhan model *Arabidopsis thaliana* dengan mentransformasikan kaset gen tersebut ke dalam gamet (sel pembiakan) *Arabidopsis* menggunakan kaedah *floral dip*. Keputusan validasi menunjukkan kedua-dua gen mampu meningkatkan kerintangan pokok *Arabidopsis* yang transgenik terhadap serangan bakteria *Pseudomonas syringae* (strain DC3000) seperti dalam *Gambar 1*. Hasil validasi ini membuktikan kedua-dua gen berperanan dalam meningkatkan imuniti tumbuhan terhadap serangan bakteria dan hal ini membuka laluan kepada pembangunan varieti betik yang rintang terhadap penyakit mati rosot melalui teknik kejuruteraan genetik.



Gambar 1. Titisan *Arabidopsis* transgenik 18.2 dan 24.4 serta pokok kawalan positif (wild type) dijangkitkan oleh *P. syringae* DC3000 (OD 0.2). Pokok kawalan negatif hanya dititiskan air. Kedua-dua titisan transgenik menunjukkan ketahanan seolah-olah tiada jangkitan yang berlaku manakala pokok bukan transgenik (WT) mengalami lecuran akibat infeksi selepas empat hari

Penderiaan kuorum (*Quorum Sensing*): sistem komunikasi bakteria patogen tumbuhan

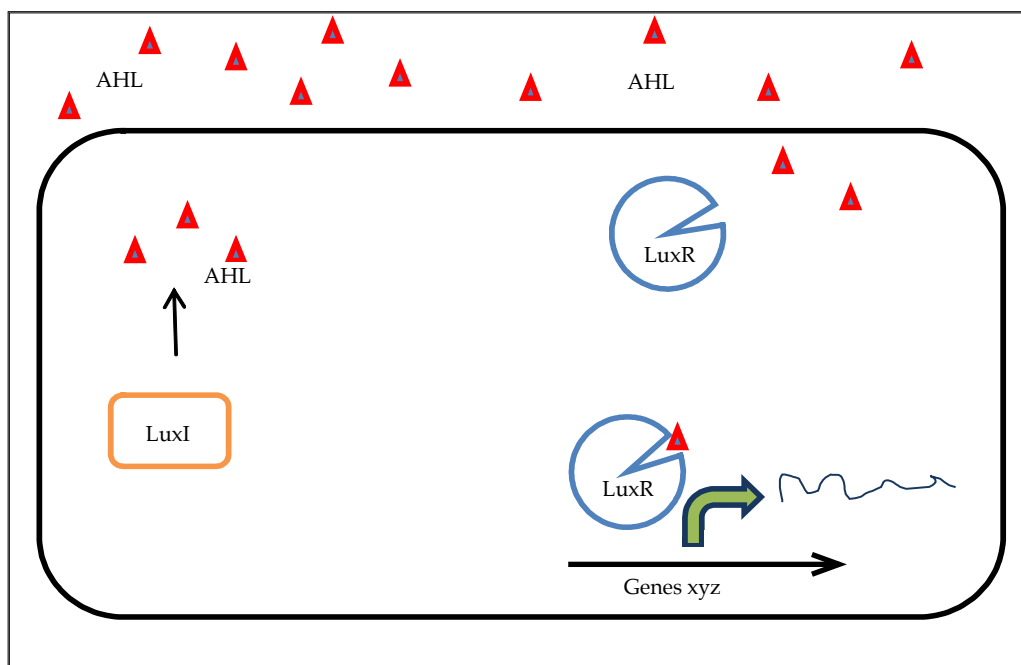
Penderiaan kuorum ialah satu mekanisme komunikasi yang digunakan setiap bakteria untuk memantau saiz koloni mereka. Mekanisme ini melibatkan pengesanan molekul pengesan (*autoinducer*) yang dirembes oleh setiap bakteria ke luar sel; kepekatan molekul pengesan akan bertambah seiring dengan pertambahan jumlah bakteria sehingga mencapai satu tahap *threshold* minimum, lalu mengaktifkan transkripsi gen-gen yang melibatkan aktiviti biokimia seperti penghasilan toksin, biofilem, faktor virulens dan sebagainya. Spesies bakteria yang berbeza mensintesis molekul pengesan berbeza. Bacteria *E. mallotivora*, yang menyebabkan penyakit mati rosot betik ialah bakteria gram-negatif yang telah dikenal pasti mensintesis N-Acyl homoserine lactone (AHL) sebagai molekul pengesan untuk proses penderiaan kuorum, seterusnya apabila mencapai nilai *threshold* minimum ia

akan mengaktifkan transkripsi gen-gen yang menyumbang kepada faktor virulensi bakteria berkenaan. Dalam bakteria gram-negatif, AHL disintesis oleh enzim yang dikenali sebagai *LuxI-like protein*. Apabila molekul-molekul AHL mula bertambah dan terikat kepada *LuxR-type protein* (protein pengesan), transkripsi gen sasaran yang virulen akan diaktifkan seperti dalam *Rajah 1*.

Pelindapkejutan kuorum (*Quorum Quenching*): mencegah bakteria patogen

Mengganggu atau merencat elemen penting dalam sistem komunikasi untuk pertumbuhan bakteria menjadi satu strategi untuk menghalang serangan bakteria patogen dan mekanisme ini dinamakan sebagai *pelindapkejutan kuorum*. Menghalang sistem komunikasi bakteria akan menyebabkan pengurangan molekul pengesan yang dirembes oleh bakteria ke persekitaran sel serta mengganggu proses transkripsi gen sasaran yang virulen. Strategi ini mampu menghalang bakteria daripada terus membiak dan menyerang tanaman.

Terdapat dua jenis enzim yang dilaporkan boleh mendegradasi AHL dan menghalang aktiviti penderiaan kuorum iaitu enzim lactonase dan acylase. *AHL-lactonase*, atau disebut sebagai AiiA, yang dihasilkan oleh spesies *Bacillus* dilaporkan bertanggungjawab mendegradasikan struktur cincin pada molekul



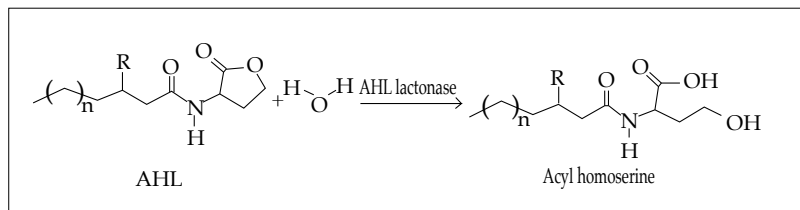
Rajah 1. Dalam bakteria gram-negatif, molekul-molekul AHL (segi tiga merah) yang dihasilkan oleh enzim LuxI-like protein dan dikesan oleh LuxR-type protein. AHL bebas bergerak dan meresap melalui membran sel dan kepekatannya akan meningkat dalam persekitaran mengikut kadar pertumbuhan sel. Apabila LuxR-type protein mengikat molekul pengesan AHL, transkripsi gen sasaran (xyz) akan diaktifkan

(Sumber: Michael et al. 2003)

homoserine lactone, menyahfungsikan molekul pengesan tersebut sekali gus melemahkan isyarat AHL seperti yang ditunjukkan dalam *Persamaan 1*. Dalam kajian ini, gen *AHL-lactonase* akan dimanipulasi untuk mengganggu penderiaan kuorum *E. mallotivora* dengan mendegradasi molekul pengesan, seterusnya mengurangkan penghasilan faktor virulen. Situasi ini akan memperlambatkan penggandaan bakteria dan memberi lebih masa untuk mekanisme pertahanan hos bertindak.

Transformasi gen *AHL lactonase* ke dalam tisu betik

Kaset gen untuk kedua-dua *AHL-lactonase* telah berjaya dibangunkan dan proses transformasi kaset gen *AHL-lactonase* ke dalam kalus embriogenik betik Eksotika juga telah dijalankan. Kaedah transformasi berperantara *Agrobacterium* dipilih untuk proses transformasi kaset gen ke dalam tisu betik memandangkan kaedah ini berkeupayaan menghasilkan pokok transgenik dengan salinan gen asing yang sedikit berbanding dengan kaedah transformasi genetik yang lain seperti *particle bombardment*. Proses transformasi tersebut telah berjaya menghasilkan 200 titisan pokok transgenik yang telah disahkan positif kehadiran gen-gen yang tertransformasi selepas analisis tindak balas berantai polimer dijalankan. Kajian pengekspresan gen dengan menggunakan *real time PCR* ke atas titisan pokok transgenik pula membuktikan gen yang ditransformasikan telah berjaya diekspreskan di dalam pokok betik Eksotika dan pengekspresan gen tidak dikesan dalam pokok kawalan.

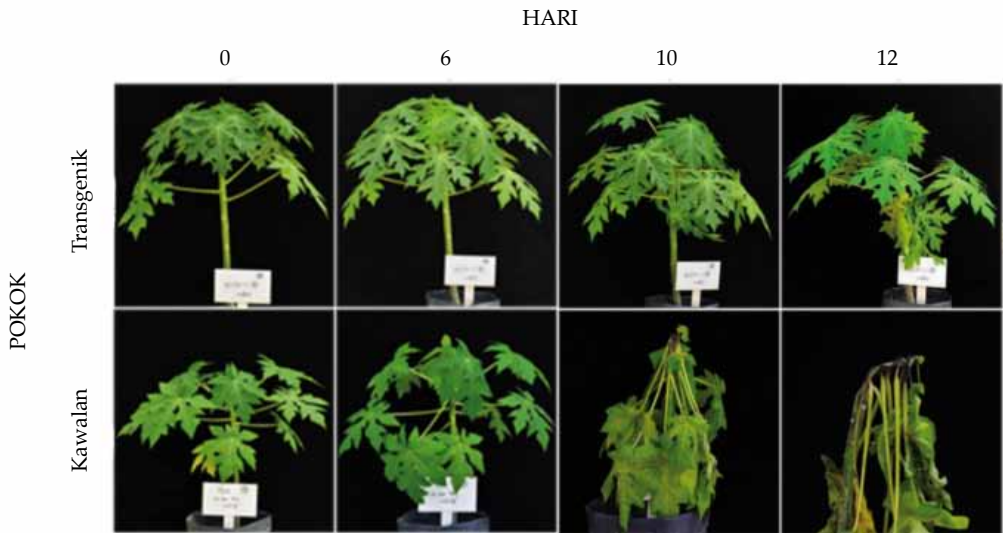


Persamaan 1. Mekanisme enzim AHL-lactonase yang bertanggungjawab menghidrolisis ikatan lactone dalam molekul AHL dan menghasilkan Acyl homoserine

(Sumber: Czajkowski dan Jafra 2009)

Penilaian kerintangan pokok transgenik terhadap penyakit mati rosot

Bagi menilai tahap kerintangan pokok-pokok transgenik yang terhasil terhadap penyakit mati rosot, pokok-pokok transgenik yang berusia 4 bulan disaring dengan bakteria *E. mallotivora* seperti dalam *Gambar 2*. Pokok transgenik disuntik dengan jarum di tiga bahagian nodal bagi mendedahkan bahagian tisu kepada persekitaran dan infeksi dengan bakteria *E. mallotivora* dijalankan dengan menggunakan teknik semburan. Keputusan kajian menunjukkan, pokok kawalan mula mengalami simptom lecur air seawal 2 hari selepas semburan bakteria dijalankan. Simptom



Gambar 2. Pokok transgenik dan pokok kawalan diinfeksi dengan patogen *E. mallotivora*. Pada pokok kawalan kesan lecuh air dikesan seawal hari ke-2 dan mula merebak ke sistem sistemik pokok yang menyebabkan pokok mati. Pokok transgenik pula mampu bertahan dan menghasilkan pucuk baru untuk terus hidup dan melawan penyakit tersebut.

kemudiannya merebak dan menjangkiti ke bahagian-bahagian lain pokok dan akhirnya pada hari ke sepuluh kesemua pokok kawalan tidak mampu bertahan, bertukar menjadi hitam dan mati. Manakala bagi titisan pokok transgenik yang berpotensi, simptom lecuh lewat diperhatikan iaitu pada hari kesepuluh.

Simptom ini cuma menyebabkan bahagian pucuk sahaja yang layu dan tidak merebak ke bahagian lain tanaman. Pokok transgenik masih mampu bertahan walaupun selepas sebulan diinfeksi dengan pertumbuhan pucuk-pucuk yang baru diperhatikan. Keputusan kajian penyaringan dengan patogen ini membuktikan gen *AHL-lactonase* yang ditransformasikan berjaya mengganggu keberkesanan komunikasi bakteria *E. mallotivora* dan mampu mengawal penyebaran bakteria ke bahagian lain dalam beberapa titisan pokok transgenik. Pucuk baru yang terhasil telah dipotong dan dibiakkan melalui kaedah kultur tisu untuk penjaan lebih banyak anak pokok yang akan digunakan dalam kajian saringan selanjutnya.

Hasil penyelidikan ini membuktikan adalah tidak mustahil untuk mendapatkan varieti betik Eksotika yang rintang terhadap penyakit mati rosot betik melalui teknik pelindapkejutan kuorum dan pendekatan kejuruteraan genetik selagi gen yang tepat digunakan dalam modifikasi genetik tersebut. Penilaian kerintangan terhadap bakteria *E. mallotivora* di peringkat ladang dan secara terbuka penting bagi menguji kemampuan sebenar titisan pokok transgenik yang terhasil. Penghasilan betik Eksotika yang rintang terhadap penyakit mati rosot betik ini mampu memberi nafas baru kepada industri betik negara seterusnya meningkatkan produktiviti betik demi kelestarian makanan pada masa hadapan.

Hala tuju penyelidikan

Bagi merealisasikan harapan untuk memperoleh betik Eksotika yang rintang terhadap penyakit mati rosot melalui kaedah bioteknologi moden ini, kajian yang lebih mendalam perlu dijalankan terutamanya dalam mengenal pasti, memencil dan validasi gen-gen berpotensi. Ketepatan dalam pemilihan gen yang digunakan dalam kajian modifikasi genetik membolehkan trait yang dihasrat dicapai. Oleh itu, penelitian yang terperinci berkaitan sumber gen yang akan digunakan dalam kajian kejuruteraan genetik perlu diberi penekanan yang serius dan disinilah pentingnya peranan teknologi omik. Dengan teknologi omik, pemahaman yang lebih komprehensif terhadap peranan gen-gen serta mekanisme biologi dalam sesuatu organisma dapat dicapai. Pemilihan gen khusus daripada sumber tumbuhan dan penggunaan sistem transformasi tanpa penggunaan gen penanda antibiotik menjadi satu keperluan terkini dan perlu diberi perhatian. Ini penting kerana gen yang diambil daripada sumber tumbuhan dan produk transgenik yang tidak mengandungi gen penanda antibiotik akan memudahkan proses penilaian biokeselamatan dan penerimaan masyarakat terhadap produk transgenik.

Penghargaan

Penulis ingin merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada MARDI atas penganugerahan dana pembangunan MARDI 21003002700001. Sekalung budi dan ucapan penghargaan juga ditujukan kepada semua kolaborator dan kakitangan sokongan di Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi khususnya En. Zaiful Farizal Zulkifli dan En. Yahya Hashim serta kakitangan MARDI Pontian khususnya En. Mohd Nizam Zubir dan En. Khairul Anuar yang telah memberi nasihat dan membekalkan biji betik Eksotika untuk tujuan penyelidikan.

Bibliografi

- Czajkowski, R. dan Jafra, S. (2009). Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. *Acta Biochim Pol.* 56: 1 – 16
- Michael, B., Smith, J.N., Swift, S., Heffron, F. dan Ahmer, B.M. (2001). SdiA of *Salmonella enterica* is a LuxR homolog that detects mixed microbial communities. *J. Bacteriol* 183: 5733 – 42
- Noriha, M.A., Hamidun B., Rohaiza, A.R. dan Indu Bala, S.J. (2011). *Erwinia mallotivora* sp., a New Pathogen of Papaya (*Carica papaya*) in Peninsular Malaysia. *Int. J. Mol. Sci.* 12(1): 39 – 45
- Noriha, M.A., Mohd Yusof, N.R., Azlinda Erny, Y., Muhammad Afiq, M. dan Rohaiza, A.R. (2014). Cloning and sequence analysis of acyl homoserine lactonase genes (*aiia*) from bacillus species isolated from tomato *rhizosphere* soil in Malaysia. International Conference on Beneficial Microbe, 27 – 29 May 2014, Parkroyal Penang Resort, Penang, Malaysia

- Rogayah, S., Nor'aini, A., Wee, C.Y., Nazrul Hisham, N. dan Noriha, M.A. (2014). Transformation of anti-pathogenic Gene into Malaysian Papaya Cv. Eksotika. International Agriculture Congress, 25 – 27 November 2014, Pullman Putrajaya Lakeside, Putrajaya, Malaysia
- Rogayah, S., Nazrul Hisham, N., Nora'ini, A., Amin Asyraf, T. dan Noriha, M.A. (2015). Genetic engineering of Eksotika papaya for resistance to papaya dieback disease. 25th Malaysian Society of Plant Physiology Conference, 18 – 20 August 2015, Sunway Lost World Hotel, Tambun, Ipoh Perak
- Chan, Y.K. dan Ong, C.A. (2003). Field performance of papaya lines selected for tolerance to ringspot virus disease. *J. Trop. Agric. and Fd. Sc.* 31(2): 129 – 137

Ringkasan

Betik Eksotika (*Carica papaya* L. cv. Eksotika) merupakan salah satu varieti betik komersial yang penting di Malaysia. Namun, industri betik negara diancam oleh penyakit mati rosot betik yang memberi kesan negatif kepada penghasilan dan pengeluaran hasil betik tempatan. Bagi mengawal penyakit ini, satu strategi alternatif untuk mengganggu sistem komunikasi atau penderiaan kuorum patogen *Erwinia mallotivora* dengan menggunakan pendekatan transgenik telah dijalankan. Gen yang berpotensi dan mempunyai ciri antipatogenik iaitu gen *AHL-lactonase* telah berjaya dipencilkan daripada dua jenis bakteria antagonis genus *Bacillus* dan divalidasi dengan pendekatan omiks. Kaset gen telah berjaya dibangun dan digunakan untuk mentransformasi kalus embriogenik betik yang berusia satu bulan dengan menggunakan kaedah transformasi berperantara *Agrobacterium*. Hasilnya, sebanyak 200 titisan betik transgenik yang positif telah berjaya diperolehi. Pokok-pokok transgenik kemudiannya diinfeksi dengan *E. mallotivora* untuk menilai tahap kerintangan terhadap patogen tersebut. Seperti yang dijangka, beberapa titisan pokok transgenik menunjukkan ketahanan terhadap patogen dan masih mampu bertahan selepas 45 hari diinfeksi manakala pokok kawalan mati selepas 7 hari. Penemuan ini membuktikan bahawa pengeluaran protein AHL-lactonase dalam titisan pokok transgenik mampu mengganggu sistem komunikasi bakteria patogen (atau dikenali sebagai *pelindapkejutan kuorum*) yang sangat penting untuk pertumbuhan dan kolonisasi patogen tersebut ke atas tumbuhan perumah.

Summary

Eksotika papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika) is one of the important varieties grown in Malaysia. However, the industry is facing a threat of papaya dieback disease which has been adversely affected the domestic papaya production and supply. Therefore, to control the disease, an alternative strategy to disrupt the communication or quorum sensing of the pathogen, *Erwinia mallotivora*, using transgenic approach was conducted. The identified anti-pathogenic gene, *AHL-lactonase*, was successfully isolated from several antagonist *Bacillus* bacteria and validated through omics approaches. Accordingly, the gene cassette was developed and being used to transform one-month-old embryogenic papaya calli via *Agrobacterium*-mediated transformation. As a result, 200 positive transgenic lines were successfully obtained and regenerated. The transgenic plants were then infected with *E. mallotivora* to assess the degree of resistance against the pathogen. As expected, several transgenic lines showed improved resistance against the pathogen as they were able to survive more than 45 days whereas the control plants died 7 days after the infection. Our findings suggest the production of AHL-lactonase protein by the transgenic plants has potential to antagonize the quorum sensing of the pathogen (a process known as quorum quenching) which is crucial for the pathogen growth and colonization toward the host plant.

Pengarang

Rogayah Sekeli

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi,

Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,

43400 Serdang, Selangor

E-mel: lynn@mardi.gov.my

Nazrul Hisham Nazaruddin, Nora'ini Abdullah, Amin Asyraf Tamizi, Noriha Mat

Amin, Wee Chien Yeong, Nurain Izzati Saidi dan Roslinda Abdul Razak

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi,

Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,

43400 Serdang, Selangor

Johari Sarip

Pusat Penyelidikan Hortikultur,

Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,

43400 Serdang, Selangor