

**ISSR-PCR FINGERPRINTING OF
Kappaphycus Doty AND *Eucheuma* J. Agardh
SEAWEED VARIETIES FROM SABAH,
MALAYSIA**

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



MOHD ZARIFI BIN MOHAMAD

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2014**

**ISSR-PCR FINGERPRINTING OF
Kappaphycus Doty AND *Eucheuma* J. Agardh
SEAWEED VARIETIES FROM SABAH,
MALAYSIA**

MOHD ZARIFI BIN MOHAMAD



PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**THESIS SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT FOR THE DEGREE OF MASTER
OF SCIENCE**

**BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2014**

ABSTRACT

ISSR-PCR FINGERPRINTING OF *Kappaphycus* Doty AND *Eucheuma* J. Agardh SEAWEED VARIETIES FROM SABAH, MALAYSIA

Kappaphycus Doty and *Eucheuma* J. Agardh seaweeds are commonly cultivated for carrageenan production in Malaysia, where more than twenty varieties of *Kappaphycus* Doty and *Eucheuma* J. Agardh seaweeds are cultivated in seaweed farms in Sabah. Identification of the different varieties of *Kappaphycus* Doty and *Eucheuma* J. Agardh seaweeds is important because certain seaweed varieties of the same species show desired qualities such as higher carrageenan content, higher growth rate, and resistant to disease. Therefore, the present study aims to characterize *Kappaphycus* Doty and *Eucheuma* J. Agardh seaweed varieties based on the genetic fingerprinting generated by using inter-simple sequence repeat – polymerase chain reaction (ISSR-PCR) method. ISSR-PCR is a powerful tool in the study of genetic diversity and variation, which involves the use of microsatellite sequences as primers in a PCR to generate highly polymorphic markers. In this study, twelve ISSR primers were screened, where only eight primers were able to produce distinct and reproducible patterns of polymorphic bands. A total of 1494 bands of 180 to 4600 bp were successfully amplified, of which 94.3% were polymorphic. A dendrogram generated using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average based on a distance measure of total character difference showed a clear differentiation among the cultivar varieties of *Kappaphycus* Doty seaweed only, however *Eucheuma* J. Agardh seaweed varieties have the same band profiles. Interestingly, 22 identical variety-specific ISSR bands were obtained from 30 seaweed samples tested and this would provide molecular tools for seaweed varieties authentication in future. As a conclusion, ISSR-PCR fingerprint is a powerful method for the identification and molecular classification of *Kappaphycus* Doty and *Eucheuma* J. Agardh seaweed varieties. The data obtained from ISSR analysis can be used in breeding technology and various other applications for development of seaweed industries.

ABSTRAK

Rumpai laut Kappaphycus Doty dan Eucheuma J. Agardh kebiasaannya disemai di Malaysia untuk penghasilan carrageenan, yang mana lebih daripada 20 variasi rumpai laut Kappaphycus Doty dan Eucheuma J. Agardh disemai di ladang rumpai laut sekitar Sabah. Pengenalpastian terhadap perbezaan setiap variasi rumpai laut Kappaphycus Doty dan Eucheuma J. Agardh adalah penting kerana sesetengah variasi rumpai laut daripada spesies yang sama menunjukkan kualiti yang dikehendaki seperti tinggi kandungan carrageenan, tinggi kadar pertumbuhan, dan tahan terhadap penyakit. Oleh sebab itu, kajian ini bertujuan untuk mengenalpasti variasi rumpai laut Kappaphycus Doty dan Eucheuma J. Agardh berdasarkan profil genetik yang dihasilkan melalui kaedah pengulangan antara jujukan ringkas – tindakbalas berantai polimerase (ISSR-PCR). ISSR-PCR adalah satu teknik berkesan untuk mengkaji kepelbagaian dan variasi genetik, yang melibatkan penggunaan jujukan mikrosatelit sebagai primer di dalam PCR bagi menghasilkan penanda yang sangat polimorfik. Dalam kajian ini, 12 primer ISSR disaring dan hanya 8 primer yang mampu menghasilkan band yang jelas dan banyak. Sejumlah 1494 band dengan saiz 180 hingga 4600 bp telah berjaya digandakan, yang mana 94.3% adalah polimorfik. Dendogram yang dibentuk menggunakan "Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average" berdasarkan sukatan jarak daripada keseluruhan perbezaan sifat menunjukkan perbezaan jelas diantara variasi rumpai laut Kappaphycus Doty sahaja, manakala variasi rumpai laut Eucheuma J. Agardh hanya menghasilkan profil band yang sama. Apa yang menarik sekali ialah 22 band ISSR yang spesifik-variasi telah diperolehi daripada ujikaji ke atas 30 sampel rumpai laut dan ini menyumbang kepada teknik molekular dalam pengesahan variasi rumpai laut di masa akan datang. Secara kesimpulannya, ISSR-PCR adalah satu kaedah yang berkesan untuk pengenalpastian dan klasifikasi secara molekular bagi variasi rumpai laut Kappaphycus Doty dan Eucheuma J. Agardh. Data yang diperolehi juga boleh digunakan dalam teknologi pembiakan dan beberapa aplikasi lain untuk pembangunan industri rumpai laut.