

# 条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)遗传多样性的 AFLP 分析\*

贺剑云<sup>1</sup> 何林文<sup>2,3</sup> 张辛<sup>4</sup> 潘光华<sup>1</sup> 许璞<sup>5</sup>  
朱建一<sup>5</sup> 张波<sup>1</sup> 王广策<sup>2</sup>

(1. 天津科技大学海洋科学与工程学院 天津 300457; 2. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071;  
3. 中国科学院研究生院 北京 100049; 4. 南京师范大学生命科学学院 南京 210097;  
5. 常熟理工学院生物与食品工程系 常熟 215500)

**摘要** 利用扩增片段长度多态性技术(AFLP)分析了 13 个条斑紫菜品系, 在 80 对引物中, 有 11 对能得到重复性好的多态性扩增条带, 共扩增出 619 条谱带, 每对引物扩增带数为 40—77 条, 并且各对引物扩增结果均显示样品间存在差异。共得到 609 条多态性条带, 多态位点的比例高达 98.38%。根据 AFLP 图谱计算了不同样品间的遗传距离(GD)和相似性系数(GS)。聚类结果显示, 品系海安与二室间的遗传相似系数较高而聚合在一起, 不同样品间的相似性系数介于 0.595—0.845 之间。结果表明, 条斑紫菜的遗传多样性极为丰富, 而部分材料间的遗传距离有随地理间距增大而逐渐增大的趋势。聚类分析结果反映了目前条斑紫菜养殖品种间存在着相互混杂。

**关键词** AFLP, 条斑紫菜, 遗传多样性, 分子标记

**中图分类号** Q341

紫菜在系统分类学上属红藻门(Rhodophyta)、原红藻纲(Protofloridaeophyceae)、红毛菜目(Bangiales)、红毛菜科(Bangiaceae)、紫菜属(*Porphyra*), 是我国最重要的栽培海藻品种之一, 年产值居各种经济海藻之首(曾呈奎, 1999; 严兴洪等, 2009)。据统计大型海藻产值约 5.6 亿美元, 其中紫菜就有 1.18 亿美元(王娟等, 2006)。目前我国北方地区的辽宁、山东和江苏以栽培条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)为主, 而南方地区的浙江和福建等地以栽培坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)为主。

近年来, 随着紫菜养殖规模的扩大, 经过多代养殖后, 紫菜品系的经济性状严重衰退, 一些重要的品质资源正在快速衰竭, 使紫菜养殖业受到了极大的影响, 直接导致了养殖户巨大的经济损失。因此发掘

高产、抗逆和抗病的优良品种成为重要问题(严兴洪等, 2009)。另外, 异地种质的无序引入导致紫菜品系混乱, 而野生种群资源也由于某些人为因素逐渐枯竭。要改变这种现状, 就必须发展紫菜的遗传标记辅助育种技术, 使人们能够随时对紫菜种质资源进行监测、鉴定并培育优质、高产、抗逆的紫菜新品种, 而所有的这些研究都必须建立在对紫菜遗传多样性研究的基础上(袁昭岚, 2005)<sup>1)</sup>。另外, 人们可以通过建立紫菜种质库, 对濒于灭绝的、优良的野生或养殖品系进行选择、分离、纯化、保存和扩增。而紫菜的自由丝状体是最适宜作为种质保存的。

紫菜的自由丝状体是二倍体阶段, 采用传统的形态学检测种质库中保存的丝状体具有很大的局限性, 无法揭示具有同样染色体数目的同一个种或同

\* 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目, 2006AA10A413 号; 国家科技支撑计划项目, 2006BAD09A04-08 号; 国家自然科学基金重点项目资助, 30830015 号。贺剑云, 硕士, E-mail: hjy985722@yahoo.cn

1) 袁昭岚, 2005. 四种紫菜自由丝状体遗传多样性的同工酶和 ISSR 研究. 苏州: 苏州大学硕士学位论文

通讯作者: 王广策, 研究员, E-mail: gcwang@qdio.ac.cn

收稿日期: 2009-09-22, 收修改稿日期: 2010-03-05

一个种内不同品系在遗传上的多样性。随着分子生物学研究水平的快速发展,分子标记技术已经广泛地应用于植物的遗传研究(李海生, 2004)。近年来发展起来的扩增片段长度多态性(Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP)标记技术, 是 1995 年由荷兰 Keygene 公司的科学家 Zabeau 和 Vos Peter 创建的(Zabeau *et al.*, 1995)<sup>1)</sup>。它结合了 RFLP 的可靠性和 RAPD 的方便性, 在生命科学研究领域中得到了广泛应用。

本研究选取 13 个较有代表性的条斑紫菜品系, 拟通过 AFLP 技术对其遗传多样性进行分析, 为进一步筛选优良品种及构建遗传图谱提供分子生物学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

13 个条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)品系样本的来源见表 1。将不同品系的条斑紫菜贝壳丝状体洗净后, 放入培养箱中, 放置于 18 的光照培养室中, 用消毒海水培养。

表 1 实验用条斑紫菜  
Tab.1 *P. yezoensis* used in AFLP analysis

样品名称	简写	样品来源	样品特点
海安	海安	江苏南通	混杂的生产性栽培品系
二室	二室	江苏南通	混杂的生产性栽培品系
海益	海益	江苏南通	混杂的生产性栽培品系
红色	红	江苏南通	红色突变株选育品系
Ygr01	绿	江苏南通	绿色突变株选育品系
Y-cm0305	8	江苏南通	诱变保存种质
Y-L0602	10	北方	高光胁迫筛选品系
Y-9970	12	江苏连云港	主产区选育品系 F <sub>2</sub>
Y-W0401	14	山东青岛	F <sub>2</sub> 保存种质
Y-L0601	16	南方	高光胁迫筛选品系
Y-J0201	21	江苏南通	主产区选育品系
Y-9970	23	江苏连云港	主产区选育品系
日本	日本	日本	境外种

### 1.2 方法

**1.2.1 基因组 DNA 的提取** 采用 CTAB 法(王勇等, 2002)提取基因组 DNA, DNA 经 1%琼脂糖凝胶电泳-EB 染色检测。

**1.2.2 基因组 DNA 的双酶切** 取 500ng 的基因组 DNA, 用 *EcoR* 和 *Mse* 进行双酶切。酶切体系(50 $\mu$ l)包括: 模版 DNA(500ng), BSA(5 $\mu$ g), 无菌双蒸水 33.75 $\mu$ l, 1 $\times$ 酶切 Buffer, 5U 内切酶 *EcoR* 0.25 $\mu$ l, *Mse* 0.5 $\mu$ l(NEB)。37 酶切 3—5h。

**1.2.3 酶切片段接头连接** 将 *EcoR* 和 *Mse* 各自的单链接头等体积混合均匀, 离心, 94 变性 3min, 37 保温 5min 后取出。酶切片段与 *EcoR* 和 *Mse* 接头在 T<sub>4</sub> 连接酶的作用下连接。18—20 (最佳温度 16 )连接过夜, 连接完成后, 65 处理 10min。

*EcoR* 和 *Mse* 接头序列为:

*EcoR* 接头: 5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3';  
3'-CTGACGCATGGTTAA-5'

*Mse* 接头: 5'-GACGATGAGTCCTGAG-3';  
3'-TACTCAGGACTCAT-5'

**1.2.4 限制性 DNA 片段预扩增** 取 4 $\mu$ l 酶切-连接产物用于预扩增, 预扩增引物 3'端带有 1 个选择性碱基。预扩反应体系(40 $\mu$ l)包括: DNA 模版 4 $\mu$ l, 无菌双蒸水 28.4 $\mu$ l, 10 $\times$ Buffer 4 $\mu$ l, 10 $\mu$ mol/L 的 dNTP 0.8 $\mu$ l, *Taq* 酶 2U, 10 $\mu$ mol/L 的引物 E+A、M+C 各 1.2 $\mu$ l。PCR 反应程序为: 94 、30s, 56 、60s, 72 、60s, 30 个循环后 72 、10min, 之后 4 保存。

**1.2.5 AFLP 选择性扩增** 预扩产物稀释 20 倍后, 进行选择性扩增。选择性扩增引物 3'端带有 3 个选择性碱基。反应总体积 20 $\mu$ l, 其中无菌双蒸水 13.7 $\mu$ l, 预扩模板 2.5 $\mu$ l, *Taq* 酶 1U, 10 $\times$  Buffer 2 $\mu$ l, *EcoR* 、*Mse* 引物各 0.6 $\mu$ l。选取 11 对引物进行扩增。PCR 程序为: 90 , 2min, 94 , 30s, 65 , 30s(每循环下降 0.7 ), 72 60s, 12 个循环后 94 、30s, 56 、30s, 72 、60s, 23 个循环。之后 4 保存备用。预扩增和选择性引物序列如表 2 所示。

**1.2.6 电泳及银染** 扩增后的样品中加入 20 $\mu$ l loading Buffer, 混合, 95 变性 5min 后立刻转移到冰浴中冷却使 DNA 解链变性。取 6 $\mu$ l 样品进行 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。电泳缓冲液为 1 $\times$  TBE, 保持恒功率预电泳 0.5h, 上样后电泳 3h, 电泳结束后, 银染及显色方法按文献(Bassam *et al.*, 1991)进行。

### 1.3 数据统计与分析方法

每一个扩增条带即为一个位点, 将 DNA 条带的有无转化成 1、0 数据(在同一位点, 当谱带存在时赋

1) Zabeau M, Vos P, 1995. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA finger printing. European Patent Application 92402629. Publication Number Ep 0534858 A1

表 2 AFLP 预扩增和选择性扩增引物及序列

Tab.2 Sequences of pre-amplification and selected amplification primers for AFLP analysis

引物名称	序列(5'-3')
预扩增引物	
E+A	GACTGCGTACCAATTCA
M+C	GATGAGTCCTGAGTAAC
选择性扩增引物	
E+AGA(A)	GACTGCGTACCAATTCAGA
E+AGT(B)	GACTGCGTACCAATTCAGT
E+AGC(C)	GACTGCGTACCAATTCAGC
E+AGG(D)	GACTGCGTACCAATTCAGG
E+ACA(E)	GACTGCGTACCAATTCACA
E+ACT(F)	GACTGCGTACCAATTCACT
E+ACC(G)	GACTGCGTACCAATTCACC
E+ACG(H)	GACTGCGTACCAATTCACG
M+CGA(1)	GATGAGTCCTGAGTAACGA
M+CGT(2)	GATGAGTCCTGAGTAACGT
M+CGG(3)	GATGAGTCCTGAGTAACGG
M+CTA(4)	GATGAGTCCTGAGTAAC TA
M+CTT(5)	GATGAGTCCTGAGTAAC TT
M+CTC(6)	GATGAGTCCTGAGTAAC TC
M+CTG(7)	GATGAGTCCTGAGTAAC TG
M+CAT(8)	GATGAGTCCTGAGTAAC AT
M+CAC(9)	GATGAGTCCTGAGTAAC AC
M+CAG(10)	GATGAGTCCTGAGTAAC AG

值为 1, 不存在时赋值为 0)。利用 NTSYS 软件来计算不同个体间的遗传相似性系数(Genetic Similarity,  $GS$ )。  $GS = 2a/(2a + b + c)$ ,  $GS$  为两个个体(群体或物种)间的遗传相似度, 其中  $a$  为两个基因型共有的多态条带数,  $b$ 、 $c$  分别为两个个体各自有带的数目。遗传距离(Gene Diversity,  $GD$ )可表述为  $GD = 1 - GS$ , 它显示了两个个体(群体或物种)基因组间不同的程度(艾华水等, 2005)。根据  $GD$  值, 按照非加权组对平均法(UPGMA)进行聚类分析, 构建聚类关系图。

## 2 结果

### 2.1 AFLP 扩增结果

从 80 对引物中筛选出扩增条带清晰、重复性好的引物 11 对, 共扩增出 619 条谱带, 其中多态性条带有 609 条, 多态位点的比例为 98.38%。每对引物扩增带数为 40—77 条, 并且每对引物的扩增结果均显示条斑紫菜样品间存在差异(表 3)。图 1 为 C3、C4、D2、H3 引物对扩增的 AFLP 指纹图谱, 图 2 为模式图。

表 3 引物对其扩增结果

Tab.3 The primer combinations and their amplified results

引物对	标记数	多态位点数	多态位点比率(%)	特异性标记数
A5	48	48	100	20
B1	67	66	98.5	19
B2	46	46	100	9
B4	63	63	100	16
C3	54	54	100	10
C4	77	77	100	15
D2	57	55	96.6	7
E4	46	46	100	16
F4	59	57	96.7	16
G4	61	61	100	16
H3	41	36	87.8	2
总计	619	609	98.4	146

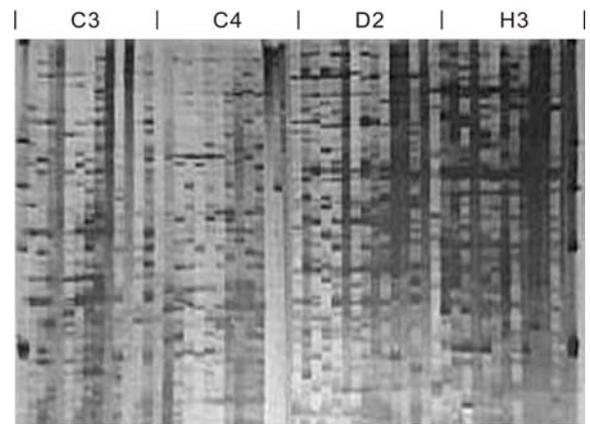


图 1 C3、C4、D2、H3 引物对扩增的 AFLP 指纹图谱  
Fig.1 AFLP fingerprinting amplified with primers C3, C4, D2 and H3

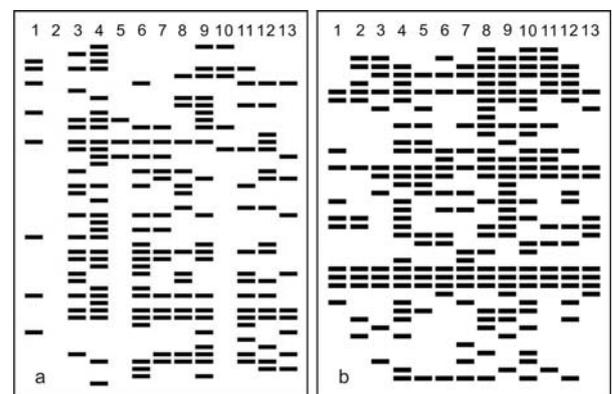


图 2 C3 引物(a)和 H3 引物(b)对扩增的 AFLP 图谱(模式图)  
Fig.2 AFLP fingerprinting amplified with primer C3 (a) and H3 (b) (schema chart)

## 2.2 遗传距离与遗传相似性系数

根据 AFLP 电泳图谱, 统计时将位于同一迁移位置的条带认为是同一遗传位点, 根据条带的有无统计数据。将有带记为 1, 无带记为 0, 转化为(1, 0)矩阵, 用 Excel 输入到 NTSYS 软件, 利用 NTSYS 软件对实验数据进行处理, 得到了 13 种条斑紫菜品系间的遗传距离和遗传相似性系数矩阵。结果见表 4, 此矩阵对角线以下为遗传距离, 对角线以上为遗传相似性系数。从表 4 可看出, 各样本间的遗传距离比较接近, 样品海安和二室间的遗传距离最小, 仅为 0.155, 样品海益和海安之间的遗传距离次之, 为 0.257。遗传距离最大的为样品 10 和海安, 16 和绿色之间, 皆为 0.405。13 个条斑紫菜样品间的相似性系数介于 0.595—0.845 之间。同为江苏南通野生型栽培品系的海安、二室与海益之间的遗传相似性系数较高, 介于 0.74—0.845 间。

## 2.3 亲缘关系树状图

以得到的 AFLP 标记为数据源, 利用 NTSYS 软件根据不同品系间的遗传相似性系数绘制 UPGMA 聚类图谱, 结果如图 3 所示。从图 3 中可以看出, 13 种条斑紫菜共聚成两大类。品系海安、二室、海益、14、红、绿、23、8 聚成一大类。其中同为江苏南通野生型栽培品系的海安、二室先与海益相聚为一支, 再与其它品系相聚。在另一个大群中, 紫菜品系 10、12、16、21 与日本聚在一起。其中品系 10 与 12 聚为一小支, 品系 16 与 21 聚为另一支, 然后两支相聚

后再与境外种日本品系聚为一大类。从亲缘关系树状图中可以看出, 不同品系的条斑紫菜聚类比较复杂, 并与品种遗传背景不完全相符。

## 2.4 特异分子标记

在众多位点中筛选出了特异性标记 146 个, 如表 3 所示, 每对引物扩增的特异性位点介于 2—20 之间。这些标记可以作为与经济性状相关的基因或片段进行筛选。这些片段的筛选、分离、克隆并转化成序列特异的标记后, 可用于检测紫菜种质材料, 从而提高选育准确性, 缩短育种周期, 为紫菜优良品系培育和性状改良提供技术依据。

## 3 讨论

对于鉴定种质库中保存的紫菜自由丝状体, 除颜色上的细微差别外, 仅依赖传统的形态性状检测具有一定的困难和局限性, 因此需要采用 DNA 分子标记技术进行研究。相对于其它 DNA 标记技术, AFLP 分子标记技术扩增效率高, 多态带比例高, 谱带清晰可辨, 而且实验结果稳定, 不受基因组来源和复杂度的影响, 重复性好, 可用于检测条斑紫菜遗传多样性及构建遗传图谱等研究(Schmint *et al.*, 2000; Powell, 1997; Mackill, 1996)。

本实验从 80 对随机引物中筛选出的 11 对引物所获得的数据, 在 DNA 水平上显示出条斑紫菜品系之间具有明显的差异。多态性位点占 98.38%, 说明条斑紫菜的遗传多样性极为丰富, 该结果与杨锐等(2005)

表 4 条斑紫菜的遗传距离和相似性系数矩阵  
Tab.4 The genetic distance and the similarity index of *P. yezoensis*

样品名称	海安	二室	海益	红	绿	23	8	10	12	14	16	21	日本
海安	—	0.845	0.743	0.628	0.619	0.617	0.664	0.595	0.616	0.688	0.62	0.643	0.651
二室	0.155	—	0.74	0.641	0.648	0.624	0.683	0.624	0.622	0.669	0.617	0.627	0.616
海益	0.257	0.26	—	0.653	0.643	0.641	0.682	0.628	0.616	0.664	0.625	0.635	0.666
红	0.372	0.359	0.347	—	0.661	0.669	0.687	0.627	0.645	0.604	0.607	0.607	0.635
绿	0.381	0.352	0.357	0.339	—	0.685	0.696	0.637	0.619	0.637	0.595	0.617	0.641
23	0.383	0.376	0.359	0.331	0.315	—	0.733	0.654	0.64	0.628	0.635	0.619	0.659
8	0.336	0.317	0.318	0.313	0.304	0.267	—	0.688	0.67	0.669	0.64	0.662	0.645
10	0.405	0.376	0.372	0.373	0.363	0.346	0.312	—	0.682	0.645	0.674	0.664	0.637
12	0.384	0.378	0.389	0.355	0.381	0.36	0.33	0.318	—	0.643	0.666	0.656	0.645
14	0.312	0.331	0.336	0.396	0.363	0.372	0.331	0.355	0.357	—	0.651	0.664	0.659
16	0.38	0.383	0.375	0.393	0.405	0.365	0.36	0.326	0.334	0.349	—	0.696	0.659
21	0.357	0.373	0.365	0.393	0.383	0.381	0.338	0.336	0.344	0.336	0.304	—	0.662
日本	0.349	0.384	0.334	0.365	0.359	0.341	0.355	0.363	0.355	0.341	0.341	0.338	—

注: 沿对角线以上为遗传相似度, 对角线以下为遗传距离

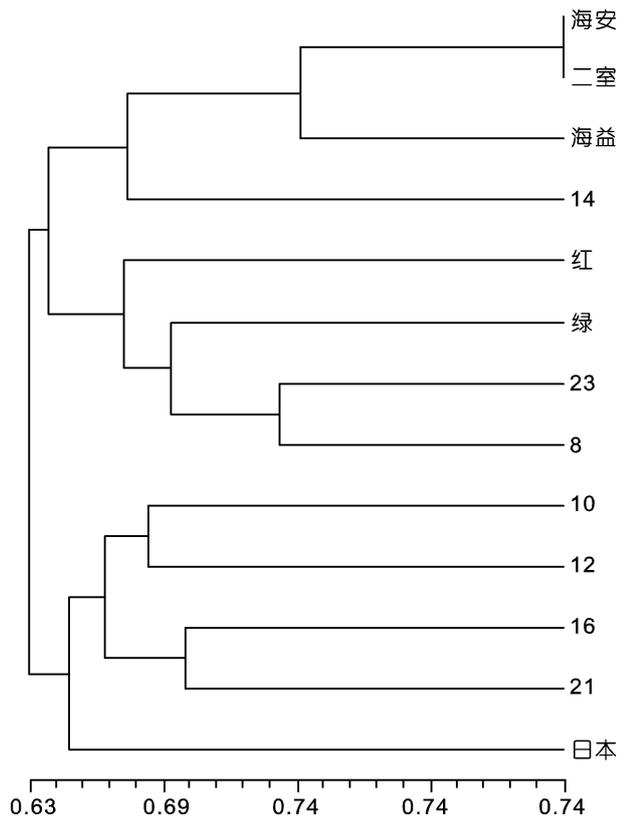


图3 不同条斑紫菜样品的 UPGMA 聚类图谱

Fig.3 Dendrogram of the *P. yezoensis* based on UPGMA cluster analysis

利用 AFLP 研究条斑紫菜的遗传变异结果相似。陈奕欣等(2007)对坛紫菜种质资源遗传多样性的 AFLP 分析中所得遗传距离为 0.264—0.398 之间。本实验所得条斑紫菜遗传距离为 0.155—0.405, 结果与其相近, 遗传距离较小, 原因可能是本研究中的条斑紫菜样品一半以上采自南通海区, 栽培地区接近, 生长环境相似, 所以亲缘关系较近, 属于物种内种群间的遗传差异。

根据遗传距离, 采用非加权组对平均法(UPGMA)得到聚类树状图(图 3), 从图 3 中可以看出, 13 个紫菜样品共聚成两大类, 海安与二室先聚在一起, 再与海益相聚。海安、二室, 海益都是江苏南通的野生型栽培品系, 地理位置很近。同样品系 10 和品系 12 也属于地理位置接近的选育品系而聚为一类, 这说明利用高光胁迫等方法, 在一致的育种目的的定向筛选下, 培育出来的紫菜品种遗传多样性也会趋于一致。高光胁迫筛选品系 16 与选育品系 21 也属于同样的原因。品系 8 与品系 23 遗传距离很近而地理位置差异较大, 究其原因, 可能是因为品系 8 是南通海区野生品种经辐射诱变后选育的, 紫菜的基因组序列发生

了改变, 经过有目的的定向选育, 出现出与品系 23 的 DNA 序列保持一致的分化。这说明人工辐射诱变在条斑紫菜遗传育种中是一种有效的手段。日本品系属于境外种, 聚类分析显示其与其他品系的亲缘关系较远, 与中国养殖品种遗传差异较大, 这可能是来源和地理环境不同造成的, 这非常有利于开展日本品系与中国养殖品系间的杂交育种(种间杂交)。

不同材料表型特征比较混乱, 聚类比较复杂, 并与品种遗传背景不完全相符, 与目前的紫菜养殖品种间相互混杂有一定关系, 海区风浪较大, 可能物种间基因交流的机会很大, 选育方法也是导致养殖品种混杂的原因。经过多次重复实验, 本实验筛选的引物对中, B1、B2、B4 可以作为下一步构建条斑紫菜遗传图谱所用的引物。

另外, 在实验中还发现了具有筛选价值的特征性标记。其中, 绿色突变株选育品系的特异性条带有: B4(97)、B4(100)、B2(155)、A5(188)等; 日本品系的特异性条带有: B1(61)、B2(168)、A5(211)、G4(371)、C4(447)等。作者将对这些条带进行回收、克隆和测序, 进一步分析这些特异性条带与其特殊生长性状间的连锁关系, 如转化为 SCAR 标记及标记条带作为探针进行杂交分析等, 作为下一步构建遗传图谱的基础。这将为条斑紫菜分子遗传育种工作提供更好的资料。

## 参 考 文 献

- 王 勇, 裴鲁青, 骆其君等, 2002. 紫菜丝状体 DNA 的提取. 海洋学报, 24(2): 146—148
- 王 娟, 戴继勋, 张义昕等, 2006. 紫菜的生殖与生活史研究进展. 中国水产科学, 13(2): 322—327
- 艾华水, 黄路生, 2005. 利用 Excel 电子数据表计算遗传相似系数的方法. 生物信息学, 05(3): 116—120
- 李海生, 2004. ISSR 分子标记技术及其在植物遗传多样性分析中的应用. 生物学通报, 39(2): 19—21
- 严兴洪, 张淑娟, 黄林彬, 2009.  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线对条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 的诱变效果与色素突变体分离. 海洋与湖沼, 40(1): 56—61
- 杨 锐, 刘必谦, 骆其君等, 2005. 利用 AFLP 技术研究条斑紫菜的遗传变异. 海洋学报, 27(3): 159—162
- 陈奕欣, 左正宏, 陈 骁等, 2007. 坛紫菜种质资源遗传多样性的 AFLP 分析. 厦门大学学报, 46(6): 831—835
- 曾呈奎, 1999. 经济海藻种质种苗生物学. 济南: 山东科学技术出版社, 1—4
- Bassam B J, Caetano-Anolles G, Gresshoff M, 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Amal Biochem, 196(1): 80—83

- Mackill D J, 1996. Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. *Genome*, 39: 969—977
- Powell W, 1997. Analysis of quantitative traits in barley by the use of amplified fragment length polymorphism. *Heredity*, 79: 48—59
- Schmint K, Jensen K, 2000. Genetic structure and AFLP variation of remnant populations in the rare plant *Pedicularis palustris* (Scrophulariaceae) and its relation to population size and reproductive components. *American J Botany*, 87(5): 678—689

## ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY OF *PORPHYRA YEZOENSIS* USING AFLP

HE Jian-Yun<sup>1</sup>, HE Lin-Wen<sup>2,3</sup>, ZHANG Xin<sup>4</sup>, PAN Guang-Hua<sup>1</sup>, XU Pu<sup>5</sup>,  
ZHU Jian-Yi<sup>5</sup>, ZHANG Bo<sup>1</sup>, WANG Guang-Ce<sup>2</sup>

(1. College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin, 300457;  
2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071; 3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049; 4. College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing, 210097;  
5. College of Biology and Foodengineering, Changshu Institute of Technology, Changshu, 215500)

**Abstract** Amplified fragment length polymorphic technique was used to analyze the genomic DNA polymorphism of 13 lines of *Porphyra yezoensis*. Eleven of the 80 AFLP primer pairs gave reproducible polymorphic DNA amplification patterns, and 619 bands were obtained. The amplified bands ranged from 40 to 77 per primer pair showed the genetic diversity among these samples. Six hundred and nine of AFLP bands were polymorphic loci. The proportion of polymorphic loci was 98.38%. The genetic distance (*GD*) and similarity coefficients (*GS*) were calculated based on the polymorphic data. UPGMA cluster indicated that samples from Haiian and Ershi were of high similarity. The *GS* between these samples was 0.595—0.845. The result shows that the genetic diversity level in *P. yezoensis* is fairly high. Similar increasing trend was found in genetic distance coefficient and geographical distance. UPGMA cluster indicates that *P. yezoensis* in our country is miscellaneous.

**Key words** AFLP, *Porphyra yezoensis*, Genetic diversity, Molecular marker