

运用 nrDNA ITS 数据研究角叉菜属(*Chondrus*) 在红藻门中的系统进化地位*

胡自民¹ Alan T. Critchley² 段德麟¹

(1. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071; 2. Acadian Seaplants Limited, 30 Brown Ave Dartmouth B3B 1X8, Canada)

提要 测定了角叉菜属(*Chondrus*) 5 个代表种的核糖体 DNA 内转录间隔区(ITS)及 5.8S rDNA 基因序列。结果表明, 角叉菜属 ITS 区(含 ITS1、5.8S rDNA 和 ITS2)序列长度范围为 704—714bp, G+C 含量为 44.6%—45.7%, 变异位点 69 个, 信息位点 16 个; 其中, ITS1 和 ITS2 的长度范围分别为 147—149bp 和 398—404bp。5.8S rDNA 长度为 158bp, 没有变异和信息位点。由 MEGA3 构建的系统进化树(ME 和 MP)显示: 在进化尺度上, 真红藻纲的松节藻科(Rhodomelaceae)与红毛菜纲(Bangiophyceae)亲缘关系较近。在真红藻纲内, 杉藻目(Gigartinales)的进化地位相对较高, 其次是海膜科(Halymeniaceae)、石花菜科(Gelidiaceae)、红叶藻科(Delesseriaceae)和粉枝藻科(Liagoraceae)等, 而松节藻科进化地位相对较低。在杉藻目内, 杉藻科(Gigartinaceae)和胶黏藻科(Dumontiaceae)进化关系密切, 而形态学特征相似的角叉菜和马泽藻(*Mazzaella*)亲缘关系非常近。

关键词 角叉菜, 红藻, 系统进化, nrDNA ITS, 支系发育

中图分类号 Q949.29

角叉菜(*Chondrus* Stackhouse)在分类学上隶属于红藻门(Rhodophyta)、真红藻纲(Florideophyceae)、杉藻目(Gigartinales)、杉藻科(Gigartinaceae)。该属目前在全球范围内报道有 9 种, 主要分布于寒温带海域, 其中北太平洋 7 种, 北大西洋 1 种, 南太平洋 1 种(苏乔等, 2002)。角叉菜是重要的经济海藻, 藻体中含有大量的卡拉胶(达干重的 80%), 因此是制备卡拉胶的主要原料, 同时也是食品和纺织工业的重要原料(曾呈奎等, 1962)。目前, 国内对角叉菜的研究主要集中在个体发育和分类方面(纪元坤等, 1992; 李熙宜等, 1994; 栾日孝等, 1998; 苏乔等, 2001, 2002)。但是, 角叉菜作为红藻中颇具代表性的一属, 其在杉藻科和杉藻目中的进化地位如何? 杉藻目与红藻门其它目间的支系发育关系怎样? 这些红藻系统进化研究中的基本问题, 目前仍没有得到解决。因此, 从 DNA 水平上探讨这些问题不失为一种有效的尝试。

核糖体 DNA 是编码核糖体 RNA 的基因, 在植物细胞核中以重复连续排列的方式存在, 其在每个细胞中的拷贝数目在 1000—10000 之间。由于核糖体 DNA 中包含了进化速率不等的编码区、非编码转录区和非转录区, 因而可以选取其中保守程度不同的片段用于不同类属的系统发育和进化研究(Baldwin *et al.*, 1995)。ITS(Internal transcribed spacer)是核糖体 DNA 中介于 18S 和 5.8S 之间(ITS1)以及 5.8S 和 26S 之间(ITS2)的非编码转录间隔区。由于 ITS 存在于高重复的核糖体 DNA 中, 进化速度快且片段长度不大(在被子植物中小于 700bp, 在红藻中介于 700—2000bp 之间), 加上协同进化(concerted evolution)使该片段在基因组不同重复单元间十分一致, 因而被广泛应用于海藻系统分类和进化发育研究中(Yoon *et al.*, 2001; Bellorin *et al.*, 2002; Buchheim *et al.*, 2005; Hu *et al.*, 2007; Lindstrom, 2008)。

* 中国博士后科学基金项目资助, 200904501238 号; 中国科学院知识创新工程项目资助, KSCX2-yw-n-47-02 号。胡自民, 博士, E-mail: huzimin9712@163.com

通讯作者: 段德麟, 研究员, E-mail: dlduan@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2008-10-13, 收修改稿日期: 2009-02-26

本研究采用 PCR 扩增及直接测序的方法,对来自全球范围内 6 个采样点的 5 种角叉菜进行了核糖体 DNA ITS 片段的一级序列分析,探讨了角叉菜属的系统进化地位。同时,结合 GenBank 中已注册的红藻门其它代表种的 ITS 序列,分析了红藻门内不同目、科、属的系统进化关系,为深入研究整个红藻门的系统进化图式提供分子数据。

1 材料与方法

1.1 材料

分别采集了来自全球 6 个采样点的 5 种角叉菜,即 *Chondrus ocellatus*、*C. armatus*、*C. yendoi*、*C.*

pinnulatus 和 *C. crispus*, 详细来源见表 1。材料采用硅胶快速干燥法或 -20°C 冰冻法保存。此外,从 GenBank 中获得了红藻门另外 36 个代表种的 ITS 序列(GenBank 注册号分别为: AB158485、AY322146、AY497577、AY497576、AY497563、AY225290、AF317120、AF317114—AF317116、AF317110、AF317106、AF317104、AF317097、U30371、U30373、U30367、AF412023、AF412019、U59798、U59799、U59794、U59727、AF082345、AF082341、AF082320、U21243、AF126422、AF149025、AY029392、Y11954、Y11964、U30350、U30356、U30361、U30363),用于系统学分析。

表 1 实验材料及其来源
Tab.1 The origin of materials used in this study

种名	采样地点	采样日期(年.月.日)	采样人	注册号
<i>C. ocellatus</i>	中国青岛	2002.03.26	胡自民	AY699051
<i>C. armatus</i>	中国大连	2000.07.17	栾日孝	AY699054
<i>C. yendoi</i>	日本 Muroan, Charatsunai	2003.05.22	Taizo Motomura	AY699052
<i>C. pinnulatus</i>	日本 Muroan, Charatsunai	2003.07.08	Taizo Motomura	AY699053
<i>C. crispus</i>	英国 Wembury beach	2003.12.05	Murray Brown	AY699061
<i>C. crispus</i>	加拿大 Prince Edward Island	2003.09	Alan T. Critchley	AY699063

1.2 总 DNA 的提取

DNA 提取方法参见文献(Hu *et al.*, 2004)。提取的 DNA 在室温下干燥后用 TE (pH = 8.0)溶解,用 Beckman DU2650 紫外分光光度计检测 DNA 的浓度和纯度。

1.3 ITS 区的扩增

实验中使用了 1 对引物 ITS4(5' 3')GGGATCCG-TTTCCGTAGGTGAACCTGC, ITS5(5' 3')GGGATC-CATATGCTTAAGTTCAGCGGGT (Goff *et al.*, 1993)对 ITS 区段进行扩增,它们的相对位置如图 1 所示。

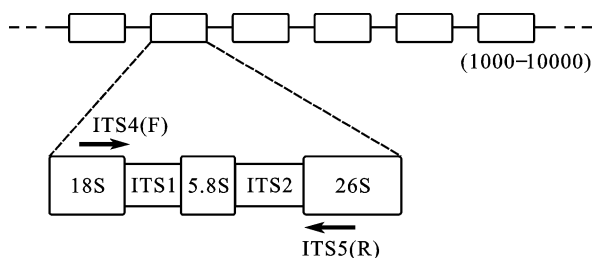


图 1 角叉菜 18S—26S rDNA 的基本结构

Fig.1 The structure of 18S—26S rDNA in *Chondrus*
箭头所示为 PCR 扩增和测序引物的相对位置

扩增反应在 Eppendorf Masterthermocycler Personal (德国)上进行。反应条件如下: 95 变性 5min;

90 变性 1min, 50 退火 2min, 5 个循环; 72 延伸 1min; 90 变性 1min, 60 退火 1min, 72 延伸 1min, 30 个循环; 72 延伸 10min。20 μl 反应体系含有: 50mmol/L KCl, 10mmol/L Tris-HCl (pH=8.3), 1.5mmol/L MgCl₂, 模板约 50ng, 2.0mmol/L dNTPs, 1.0mmol/L 引物, 1.0U *Taq* DNAase。扩增产物以 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测,在凝胶成像系统 Pharmacia BiotechImageMaster VDS 下观察并记录实验结果。

1.4 ITS 产物的纯化和序列测定

ITS 扩增产物用 Watson 纯化试剂盒进行纯化。测序反应依据双脱氧链终止法原理,序列测定在 ABI 3700 DNA 自动测序仪上完成。为保证所测序列的准确性,分别对角叉菜每一实验个体 ITS 序列的正、反链进行测序,测序引物为 ITS4-1(5' 3')CGTTTCCG TAGGTGAACC 和 ITS5。序列数据已输入美国生物信息中心(NCBI)的基因库中(GenBank)。

1.5 序列分析和系统进化树的构建

根据在近缘类群中已报道的序列资料(Goff *et al.*, 1994),确定 5 种角叉菜核糖体 DNA 两个非编码转录间隔区(ITS1 和 ITS2)和 3 个编码区(18S、5.8S 和 26S)的界点。结合从 GenBank 中获得的红藻门 36 个代表种的 ITS 序列,用 CLUSTAL X 软件进行对位排列,

运用分子进化遗传分析软件 MEGA 3(Molecular Evolutionary Genetics Analysis)(Kumar *et al.*, 2004)中 Kimura 2-Parameter Distance 参数转换成遗传距离值后用 ME(Minimum Evolution)和 MP(Maximum Parsimony)法建树。同时, 用自展法(Bootstrap)检验系统树, 自展数据集为 1000 次。

2 结果

2.1 角叉菜属 ITS 序列分析

本研究共测定了角叉菜属 5 个种的 ITS 区序列(含 ITS1、5.8S 和 ITS2)且均已在 GenBank 中注册(登录号见表 1)。统计分析结果(表 2)显示角叉菜属 ITS 序列长度范围为 704—714bp, 长度差异为 1.4%, 其中, ITS1 和 ITS2 的长度范围分别为 147—149bp 和 398—404bp。值得注意的是 ITS1 区和 ITS2 区 G+C 含量均小于 50%, 且 ITS1 区的 G+C 含量(33.9%—35.5%)明显低于 ITS2 区的 G+C 含量(45.1%—46.9%), 所测角叉菜属 ITS 区(含 5.8S) G+C 含量在 44.6%—45.7%之间。

根据 5 种角叉菜的全部 ITS 序列(ITS1 和 ITS2), 将 ITS1 和 ITS2 作为一个共同数据矩阵经 MEGA 3.0 分析得到各种间的绝对遗传距离和相对遗传距离(表 3), 结果表明, 来自两个不同采样点(England 和 Canada)

的皱波角叉菜(*C. crispus*)具有最小的碱基差异(6bp)。角叉菜属内种间 ITS 区序列长度差异最小为 10bp(*C. pinnulatus* 同 *C. armatus* 之间), 变异率 1.4%, 而采自 England 的 *C. crispus* 和采自青岛的 *C. ocellatus* 碱基差异最大(26bp), 变异率达到 3.66%。进一步分析显示 ITS1 区有 16 个变异位点, 其中 4 个为系统发育信息位点, 分别占 ITS1 序列长度(比对长度 152bp)的 10.5%和 2.6%; ITS2 区有 53 个变异位点, 12 个为系统发育信息位点, 分别占 ITS2 序列长度(比对长度 412bp)的 12.9%和 2.9%, ITS2 区的信息位点数大于 ITS1 区。5 种角叉菜 ITS 区序列的变异及对应位点见图 2。

2.2 角叉菜属和红藻门的系统学分析

以红毛菜纲(Bangiophyceae)的两种红藻 *Cyanidioschyzon merolae* 和紫菜(*Porphyra umbilicalis*)作为外类群, 分析真红藻纲(Florideophyceae)内的系统进化关系。采用 MEGA 3 分析软件包作最小进化(ME)和最大简约(MP)分析, 空位(gap)作缺失(missing)处理, 用 CNI(Close-neighbor-interchange)分别搜索到两个严格一致树(图 3, 图 4)。分支上数值为 Bootstrap 重复 1000 次的支持强度。

由 ITS 序列构建的红藻门系统树(图 3, 图 4)显示: 红毛菜纲首先与真红藻纲的各个目科分开, 表明

表 2 角叉菜属 5 个种的 ITS 序列长度及其 G+C 含量
Tab.2 ITS sizes (bp) and G+C content of five species in *Chondrus* Stackhouse

种名	ITS1		ITS2		总 ITS(包括 5.8S)	
	Size	%G+C	Size	%G+C	Size	%G+C
<i>C. ocellatus</i>	148	35.5	404	46.9	710	45.7
<i>C. yendoi</i>	148	34.8	408	45.5	714	44.7
<i>C. pinnulatus</i>	148	35.5	398	45.6	704	44.9
<i>C. armatus</i>	147	34.4	399	46.2	704	45.1
<i>C. crispus</i> (England)	149	33.9	400	45.6	707	44.6
<i>C. crispus</i> (Canada)	149	35.3	400	45.1	707	44.6

表 3 角叉菜属内 5 个类群间的遗传距离
Tab.3 ITS sequence divergence between species of *Chondrus* in this study

种名	1	2	3	4	5	6
1. <i>C. crispus</i> (England)	—	0.009	0.022	0.022	0.032	0.038
2. <i>C. crispus</i> (Canada)	6	—	0.019	0.019	0.029	0.034
3. <i>C. pinnulatus</i>	15	13	—	0.014	0.028	0.034
4. <i>C. armatus</i>	15	13	10	—	0.028	0.034
5. <i>C. yendoi</i>	22	20	19	19	—	0.032
6. <i>C. ocellatus</i>	26	23	23	23	22	—

注: 对角线左下方为绝对遗传距离, 右上方为 K2 双参数遗传距离, 比对中 将空位剔除

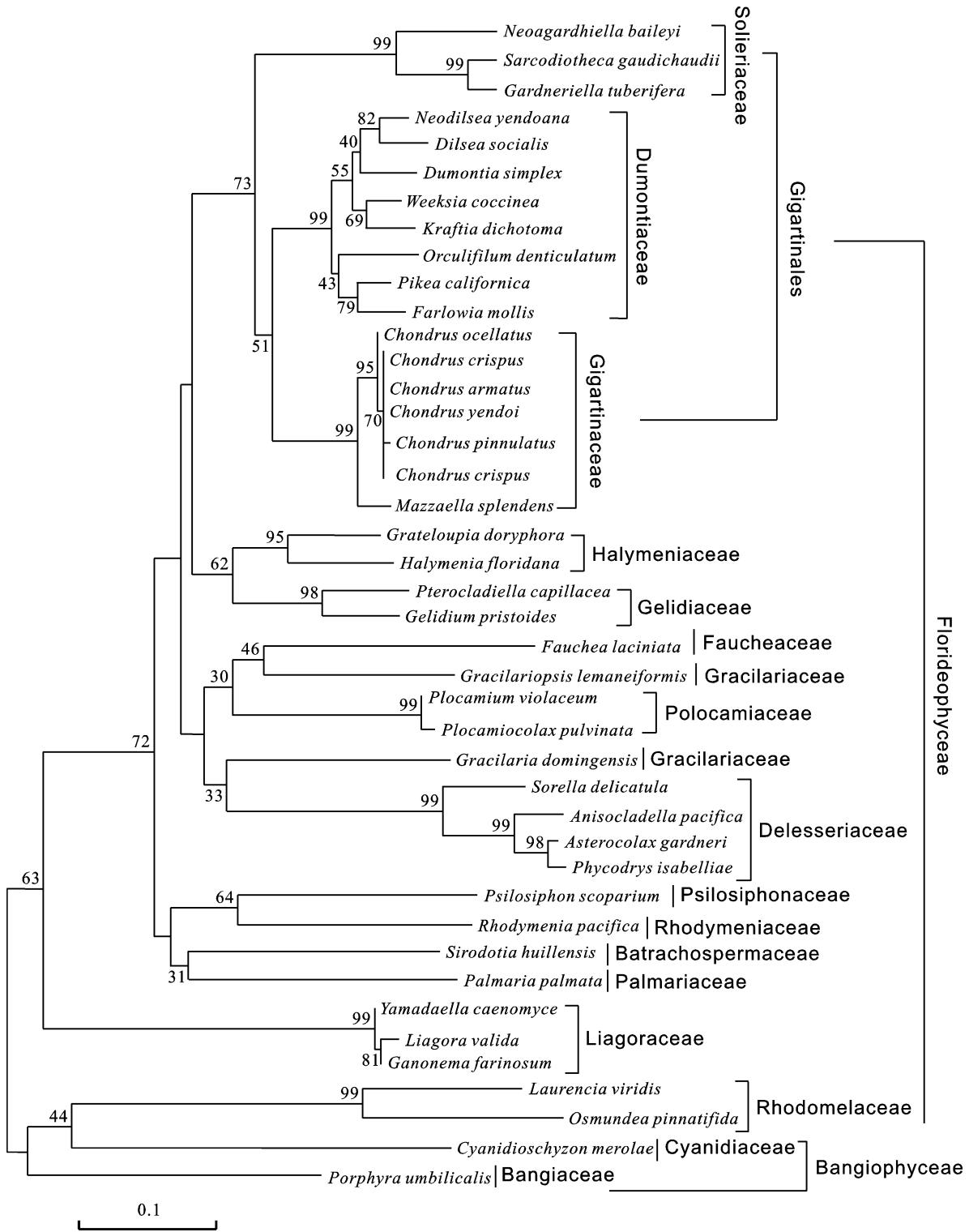


图 3 基于红藻门 42 个种的 ITS 序列构建的 ME 树

Fig.3 The minimum-evolution tree based on ITS sequences of 42 species in Rhodophyta 分支上的数字为 1000 次重复抽样检验的 bootstrap 值

1995; Wendel *et al*, 1995)。

在本研究中, 角叉菜属 ITS 区段的系统发育信息位点主要分布在 ITS2 区, 这与高等植物菊科的 *Krigia*

属(Kim *et al*, 1994)、豆科杨属(史全良等, 2001)和青篱竹属(诸葛强等, 2004)等物种的结果相差较大, 这可能与红藻门在整个植物系统进化中的地位较低和

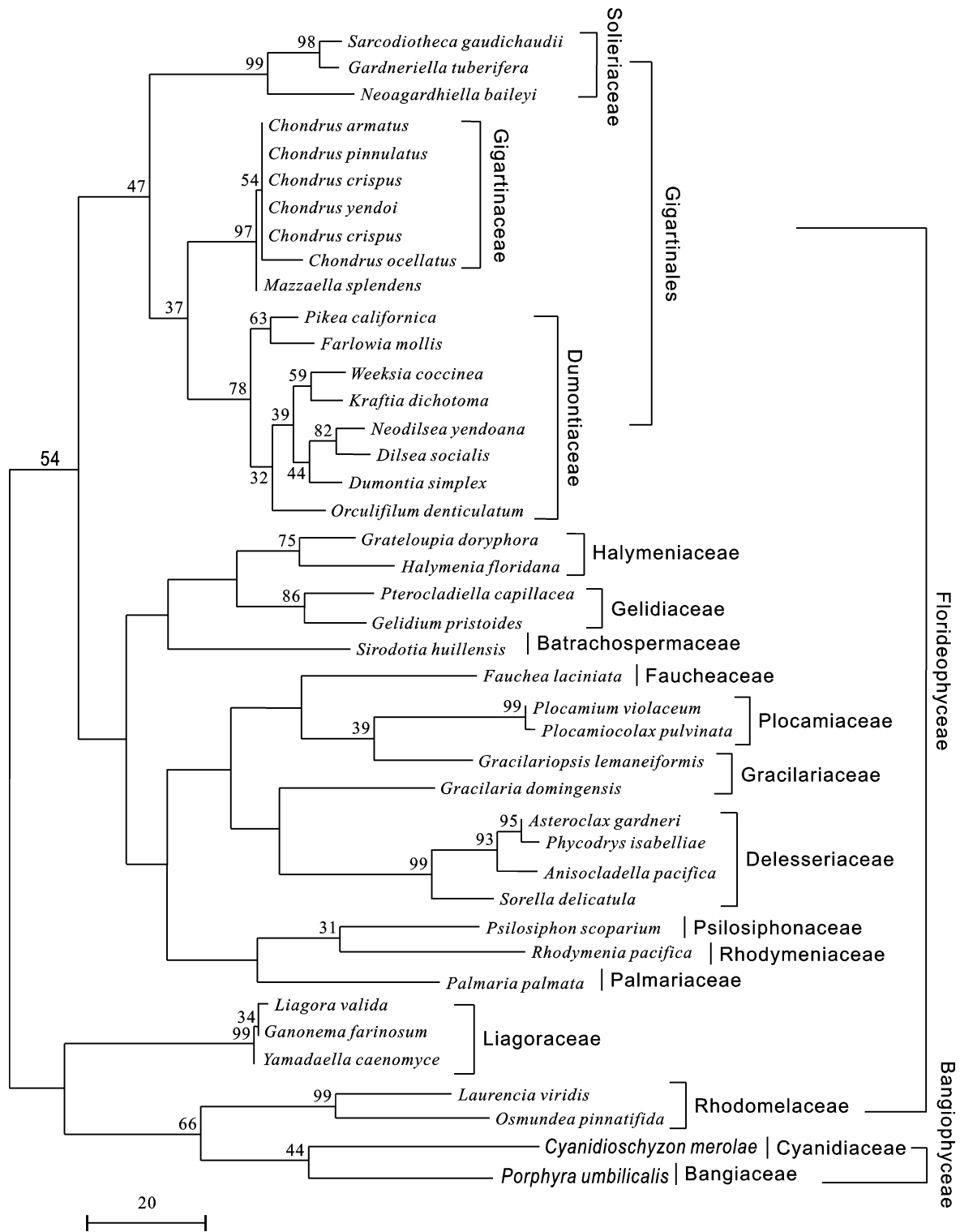


图 4 基于红藻门 42 个种的 ITS 序列构建的 MP 树

Fig.4 The maximum-parsimony tree based on ITS sequences of 42 species in Rhodophyta
分支上的数字为 1000 次重复抽样检验的 bootstrap 值

其自身进化速率较慢有关。另外，低等的红藻角叉菜 ITS1 区和 ITS2 区 G+C 含量明显低于高等的被子植物 (50%—70%)(汪小全等, 1998; 诸葛强等, 2004), 说明

角叉菜碱基置换可能不具备倾向性(Zhang *et al*, 1998)。序列比对显示 ITS1 的长度短于 ITS2, 变异位点和信息位点数也少于 ITS2, 这与已报道的大多数

被子植物类群的统计结果相同(王建波等, 1999); 而 5.8S rDNA 长度恒为 158bp, 且非常保守(序列完全一致), 这与已研究过的大多数禾本科植物具备非常保守的 5.8S rDNA 基因的结论一致(Hsiao *et al*, 1995), 表明从低等藻类到高等被子植物, 5.8S rDNA 基因的进化都非常缓慢。

在不同的植物类群和分类等级上, ITS 序列数据的价值并不一样, 因为不同类群的起源时间及进化(分化)速率不一致, 其 ITS 序列所含有的信息量差异最大可达到 10 倍左右(Porter, 1993; Schultheis *et al*, 1994)。本研究表明, 角叉菜属 ITS 序列的变异位点比例为 12.2%, 信息位点的比例也只有 2.9%, 这不利于提高角叉菜属内分子系统学研究的准确性。因为在研究基因的变异时, 所研究的分类等级中应有 5%—15% 的系统发育信息位点, 过高或过低的变异均会影响系统学分析(Ainouche *et al*, 1997)。我们推测出现这种情况可能是由于取样的幅度较小所致, 本研究仅完成了全球内 6 个采样点的 5 种角叉菜的 ITS 序列分析。按照 Hughey 等(2001)所述, 角叉菜在全球的分布最北端到达俄罗斯, 最南端到达美国的爱荷华州, 因此, 在后续的研究中可通过增加角叉菜的类群数目来解决此问题。另外, 从红藻系统进化树(图 3 和图 4)上可以看出, 角叉菜属本身起源较晚, 因而种间遗传分化较小, 这也是导致 ITS 序列所含的信息量偏低的一个原因。尽管如此, ITS 序列在红翎菜科(Solieriaceae)、胶黏藻科(Dumontiaceae)、红叶藻科(Delesseriaceae)和粉枝藻科(Liagoraceae)中依然展示出很强的系统发育信息(图 3 和图 4)。因此, nrDNA ITS 序列在揭示红藻门内近缘属、科或科上一级分类单元的系统发育和进化关系方面具有广阔的应用前景。

致谢 本研究在实验材料的采集方面得到大连自然博物馆的栾日孝先生、日本北海道大学的 Taizo Motomura 教授和英国普利茅斯大学的 Murray Brown 教授的大力协助, 同时得到中国科学院海洋研究所夏邦美研究员的帮助, 谨致谢忱。

参 考 文 献

王建波, 张文驹, 陈家宽, 1999. 核 rDNA 的 ITS 序列在被子植物系统与进化研究中的应用. 植物分类学报, 37(4): 407—416
 史全良, 诸葛强, 黄敏仁等, 2001. 用 ITS 序列研究杨属各组之间的系统发育关系. 植物学报, 43(3): 323—325
 纪元坤, 郭 军, 1992. 温度对角叉菜生长发育的影响. 大连水产学院学报, 7(1): 32—37

苏 乔, 栾日孝, 杨 君等, 2001. 中国杉藻科(Gigartinales)两个新记录种的研究. 植物研究, 21(2): 187—190
 苏 乔, 栾日孝, 安利佳等, 2002. 中国角叉菜属(*Chondrus*) 的分类研究: 形态观察和 *rbcL* 序列分析. 植物研究, 22(1): 10—18
 李熙宜, 蒋 群, 陆江玲等, 1994. 辽东半岛角叉菜 *Chondrus ocellatus* Holmes 及其变型记述. 大连水产学院学报, 9(1—2): 21—25
 汪小全, 李振宇, 1998. rDNA 片段的序列分析在苦苣苔亚科系统学研究中的应用. 植物分类学报, 36(2): 97—105
 栾日孝, 张淑梅, 1998. 大连角叉菜属(杉藻科)的研究. 植物分类学报, 36(3): 268—272
 诸葛强, 丁雨龙, 续 晨等, 2004. 广义青蒿竹属(*Arundinaria*) 核糖体 DNA ITS 序列及亲缘关系研究. 遗传学报, 31(4): 349—356
 曾呈奎, 张德瑞, 张峻甫等, 1962. 中国经济海藻志. 北京: 科学出版社, 157—158
 Ainouche M L, Bayer R J, 1997. On the origin of the tetraploid *Bromus* species insights from ITS sequences of nrDNA. Genome, 40: 730—743
 Baldwin B G, Sanderson M J, Porter J M, 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. Ann Missouri Bot Gard, 82: 247—277
 Bellorin A M, Oliveira M C, Oliveira E C, 2002. Phylogeny and systematics of the marine algal family Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta) based on small subunit rDNA and ITS sequences of Atlantic and Pacific species. J Phycol, 38: 551—563
 Buchheim M, Buchheim J, Carlson T *et al*, 2005. Phylogeny of the Hydrodictyaceae (Chlorophyceae): inferences from rDNA data. J Phycol, 41: 1039—1054
 Goff L J, Moon D A, 1993. PCR amplification of nuclear and plastid genes from algal herbarium specimens and algal spores. J Phycol, 29: 381—384
 Goff L J, Moon D A, Coleman A W, 1994. Molecular delineation of species and species relationships in the red algal agarophytes *Gracilariopsis* and *Gracilaria* (Gracilariales). J Phycol, 30: 521—537
 Hsiao C, Chatterton N J, Asay K H, 1995. Phylogenetic relationships of the monogenic species of the wheat tribe, Triticeae (Poaceae), inferred from nuclear rDNA (ITS) sequences. Theor Appl Genet, 90: 389—398
 Hu Z M, Critchley A T, Gao T X *et al*, 2007. Delineation of *Chondrus* (Gigartinales, Florideophyceae) in China and the origin of *C. crispus* inferred from molecular data. Mar Biol Res, 3: 145—154
 Hu Z M, Zeng X Q, Wang A H *et al*, 2004. An efficient method for DNA isolation from red algae. J Appl Phycol, 16: 161—166
 Hughey J R, Silva P C, Hommersand M H, 2001. Solving taxonomic and nomenclatural problems in Pacific Gigartinaceae (Rhodophyta) using DNA from type material. J Phycol, 37:

- 1091—1109
- Kim K J, Jansen R K, 1994. Comparison of phylogenetic hypothesis among different data sets in dwarf dandelions (*Krigia*): additional information from internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. *Plant Syst Evol*, 177(2): 157—185
- Kumar S, Tamura K, Nei M, 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief Bioinform*, 5: 150—163
- Lindstrom S C, 2008. Cryptic diversity and phylogenetic relationships within the *Mastocarpus papillatus* species complex (Rhodophyta, Phylloporaceae). *J Phycol*, 44: 1300—1308
- Porter J M, 1993. Phylogeny of Polemoniaceae based on nuclear ribosomal internal transcribed spacer sequences. *Amer J Bot*, 80(supplement): 171
- Sang T, Crawford D J, Stuessy T F, 1995. Documentation of reticulate evolution in Peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: implication for biogeography and concerted evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 6813—6817
- Schultheis L M, Baldwin B G, 1994. Molecular systematics of Fouquieriaceae: evidence from nuclear rDNA ITS studies. *Amer J Bot*, 81 (supplement): 199
- Stache C B, Muller D G, Goff L J, 1997. Molecular systematics of *Ectocarpus* and *Kuckuckia* (Ectocarpales, Phaeophyceae) inferred from phylogenetic analysis of nuclear- and plastid-encoded data sequences. *J Phycol*, 33: 152—168
- Wendel J F, Schnabel A, Seelanan T, 1995. Bidirectional interlocus concerted evolution following allopolyploid speciation in cotton (*Gossypium*). *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 280—284
- Yoon H S, Lee J Y, Boo S M *et al*, 2001. Phylogeny of Alariaceae, Laminariaceae, and Lessoniaceae (Phaeophyceae) based on plastid-encoded Rubisco spacer and nuclear-encoded ITS sequence comparisons. *Mol Phylogenet Evol*, 21: 231—243
- Zhang W J, Qu L J, Gao W *et al*, 1998. ITS1 and ITS2 sequences of four possible donors bread wheat genome and their phylogenetic relationships. *Acta Bot Sin*, 40(11): 994—1000

PHYLOGENETIC STATUS OF *CHONDRUS* STACKHOUSE IN RHODOPHYTA BASED ON nrDNA ITS DATA

HU Zi-Min¹, Alan T. Critchley², DUAN De-Lin¹

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071; 2. Acadian Seaplants Limited, 30 Brown Ave Dartmouth B3B 1X8, Canada)

Abstract *Chondrus* Stackhouse is a perennial red seaweed with alternate phases of gametophyte and tetrasporophyte; over-harvesting and environmental pollution have hugely reduced the population resource and resulted in shortage of a constant and reliable supply. For this genus the classification and systematics are puzzled for variable forms, habitats and phenotypic plasticity. Meanwhile, as a representative family in Rhodophyta, Gigartinales are one of the important taxa for understanding the origin and evolution of red algae because of its lower position in cladograms of Rhodophyta phylogeny based on molecular data. However, both the phylogenetic affinity within Gigartinales and the evolution status of Gigartinales in Rhodophyta remain uncertain. In this study, the internal transcribed spacer (ITS) region of nuclear ribosomal DNA and 5.8S rDNA gene were sequenced for five representative species of *Chondrus*, *C. ocellatus*, *C. armatus*, *C. yendoii*, *C. pinnulatus* and *C. crispus*, for assessing the phylogenetic relationships in Rhodophyta on molecular level, in addition to reevaluation of the evolutionary status of *Chondrus*. The results indicate that the ITS region ranges from 704 to 714bp and G+C content varies from 44.6% to 45.7%, including 69 variable sites and 16 informative sites; and the length variation is 1.4%. ITS1 (147—149bp) with 16 variable sites and four informative sites is shorter than ITS2 (398—404bp) with 53 variable sites and 12 informative sites; and 5.8S rDNA gene has conservative 158bp, with no variable and informative sites. Phylogenetic analyses using minimum-evolution and maximum-parsimony methods with MEGA3 show that Rhodomeleaceae in Florideophyceae is closely related to Bangiophyceae at evolutionary level. In Florideophyceae, Gigartinales has the relatively highest evolutionary level, then Halymeniaceae, Gelidiaceae, Delesseriaceae and Liagoraceae, and Rhodomeleaceae the lowest. In Gigartinales, Gigartinales and Dumontiaceae have a close relationship, while *Chondrus* and *Mazzaella*, which are difficult to discriminate in morphology, formed a fairly compact clade. The low divergence among *Chondrus* species is justified considering its more recent origin, and also suggests that ITS sequence would provide a promising method for molecular phylogenetic analysis, and to reconstruct the phylogeny within Rhodophyta on order and family levels.

Key words *Chondrus*, Rhodophyta, Systematic evolution, nrDNA ITS, Phylogeny