中国水产科学 2012 年 11 月, 19(6): 930−938
Journal of Fishery Sciences of China

研究论文

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00930

牙鲆遗传连锁图谱的构建

庞仁谊[1,2], 宋文涛[2], 高峰涛[2], 廖小林[2], 赵永伟[2], 牛余泽[2], 王磊[2], 赵文[1], 田永胜[2], 陈松林[1,2]

1. 大连海洋大学 水产与生命学院, 辽宁 大连 116023;
2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 农业部海洋渔业可持续发展重点开放实验室, 山东 青岛 266071

摘要: 利用基因组测序得到的大量微卫星序列, 以 681383B 为父本、6812E36 为母本杂交获得的 F_1 为作图群体, 构建了牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)微卫星标记(SSR)遗传连锁图谱。雌雄图谱共定位 SSR 标记 529 个, 其中雄性连锁图谱包括 418 个标记, 分布在 24 个连锁群上, 总长度 1 418.1 cM, 标记平均间隔 3.62 cM, 图谱覆盖率为 88.7%; 雌性连锁图谱包括 437 个标记, 分布在 24 个连锁群上, 总长度 1 298.1 cM, 标记平均间隔为 3.16 cM, 图谱覆盖率为 89.1%。牙鲆中密度遗传图谱的构建为 QTL 分析以及分子标记辅助育种进一步奠定基础, 并可以有效推动牙鲆的遗传改良工作, 推动牙鲆养殖业的可持续发展。

关键词: 牙鲆; SSR 分子标记; 遗传连锁图谱
中图分类号: S96 文献标志码: A 文章编号: 1005−8737−(2012)06−0930−09

牙鲆(*Paralichthys olivaceus*), 属鲽形目(Pleuronectiformes)、鲽亚目(Pleuronectoidei)、鲆科(Bothidae)、牙鲆属(*Paralichthys*), 是中国重要的水产养殖种类, 主要分布在渤海、黄海、南海以及朝鲜、日本、俄罗斯远东海域[1]。由于牙鲆个体硕大, 肉质鲜嫩, 营养丰富, 深受广大消费者青睐, 极具养殖前途。近几年牙鲆市场愈加广阔, 已经成为中国重要的海水增养殖鱼类之一。但是由于人工育苗的累代养殖, 牙鲆养殖群体的遗传多样性明显降低; 加之近年来的过度养殖和日益恶化的近海环境, 牙鲆种质退化严重, 因此急切需要培育优质、高产的新品种, 使牙鲆的养殖呈良性持续发展。传统的鱼类遗传育种易受环境影响、育种周期长, 而利用分子标记进行辅助选育可以快速获得优良品种。分子标记技术已在遗传图谱构建、重要目标基因定位、种质资源鉴定、遗传多样性、系统与进化、分子生态学等方面得到了广泛应用。遗传连锁图谱是用遗传距离来反映多态性的遗传标记在染色体上相对位置的基因作图, 是系统的进行基因组学研究和数量性状定位研究的基础, 同时也是分子标记辅助育种及分子克隆等应用研究的理论依据。由于没有高密度的遗传连锁图谱, 家系的选育工作还处于初级阶段, 还无法完成数量性状位点的定位, 因此获得较高密度的遗传连锁图谱是目前遗传育种、分子标记辅助育种及基因组学研究的基础和有效工具之一。

近年来, 各国学者已建立了多种鱼类的遗传连锁图谱, 包括红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)、剑鱼(*Porado*)、斑马鱼(*Danio retio*)、鲤(*Cyprinus carpio*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、罗非鱼(*Tilapia*)、青鳉(*Oryzias latipes*)、金头鲷(*Sparus-aurata*)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、黄尾鰤(*Seriola lalandi*)、尖吻鲈(*Lates calarifer*)、慈鲷(*Cichlid*)、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)[2−15]

收稿日期: 2012−03−02; 修订日期: 2012−04−09.
基金项目: 国家 973 计划项目(2010CB126303); 国家 863 计划项目(2012AA10A408); 山东省泰山学者工程专项资助项目.
作者简介: 庞仁谊(1987−), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: pangrenyi2008@163.com
通信作者: 陈松林, 研究员. E-mail: chensl@ysfri.ac.cn

等。在牙鲆遗传连锁图谱构建方面, 日本 Coimbra 等[16]首次构建了牙鲆低密度遗传连锁图谱, 共定位了 111 个 SSR 标记、352 个 AFLP 标记; 韩国 Kang 等[17]采用 180 个微卫星标记和 31 个 EST 来源的标记构建了牙鲆遗传连锁图谱, 该图谱由 24 个连锁群组成, 标记间平均间隔为 4.7 cM。Castaño-Sánchez 等[18]用 1 268 个 SSR 标记, 105 个 SNP 标记和 2 个基因构建了牙鲆第二代遗传连锁图谱, 雄性和雌性图谱总长度分别为 1 147.7 cM 和 833.8 cM, 覆盖率分别为 79%和 82%。宋文涛等[19]用 307 个微卫星标记构建了国内第一张牙鲆遗传连锁图谱, 雄性和雌性图谱总长度分别达到了 1 361 cM 和 1 320 cM, 图谱的平均间隔分别为 7.8 cM 和 7.0 cM, 已经可以初步进行 QTL 的定位分析和分子标记辅助育种。

本文利用微卫星标记, 使用 JoinMap4.0 软件, 构建了牙鲆雌、雄遗传连锁图谱。图谱共定位微卫星标记 529 个, 雌、雄连锁图谱的总长度分别达到 1 298.1cM 和 1 418.1cM, 雌、雄图谱覆盖率分别达到了 89.11%和 88.70%, 图谱的总长度和覆盖率均达到较高水平, 进一步为牙鲆重要基因的定位、图谱克隆及分子标记辅助育种奠定基础。

1　材料与方法

1.1　实验材料

牙鲆家系的构建在山东海阳市黄海水产有限公司按已报道方法[20]进行。2009 年 5 月, 对各家系亲本用 8～10 对微卫星引物进行筛选, 以亲本间遗传距离较大家系为作图群体。选择了父本为 681383B、母本为 6812E36 的 10 号家系为作图群体。2009 年 10 月随机抽取 200 尾个体, 使用 10 对微卫星引物进行分析, 分别从雌雄鱼中抽取雌雄比例基本一致群体作为作图个体, 共使用 80 尾, 同时记录其体长、体质量等性状。

1.2　基因组 DNA 提取

用传统的酚氯仿法对牙鲆家系个体和亲本进行 DNA 提取, 用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度, 然后用 ddH_2O 将 DNA 稀释成 100 ng/μL 的最终浓度后冷冻保存。

1.3　PCR 反应体系及产物检测

1.3.1　PCR 反应体系　基因组 DNA 1.0 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 0.6 μL , 10×PCR buffer (含 Mg^{2+})1.5 μL, 上游引物 (10 μmol/L) 0.5 μL, 下游引物 (10 μmol/L) 0.5 μL, Taq DNA polymerase (5 u/μL) 0.1 μL, ddH_2O10.8 μL, 总体积 15 μL。

1.3.2　PCR 反应程序　95℃ 5 min 1 个循环; 95℃ 30 s, 57.5℃ 30 s, 72℃ 35 s, 32 个循环; 72℃ 5 min 1 个循环; 4℃保存。PCR 产物经变性后用 6%的聚丙烯酰胺凝胶电泳于电压 1 500 V, 功率 150 W, 电流 150 mA 下进行电泳, 电泳时间约 2 h。然后用银染法染色固定后拍照保存。

1.4　遗传图谱的观测长度、估算长度和图谱覆盖率的计算

图谱的观测长度由框架图长度(G_{of})和图谱总长度(G_{oa})组成, G_{of} 包括至少含有 4 个或以上标记的连锁群的长度之和; G_{oa} 包括三联体和连锁对在内的图谱长度。G_{oa}= G_{of}+连锁对和三联体的长度。

图谱的估算长度(G_e), 通常使用两种方法进行计算 G_{e1} 和 G_{e2}:

(1)G_{e1}:每个连锁群的观察长度加上整个连锁群的平均间隔(s)的 2 倍, 来补偿连锁群最末端的标记与端粒之间的距离。其中平均间隔(s)为图谱总长度(G_{oa})除以总间隔数(标记总数减去连锁群总数)。

$$G_{e1}= G_{oa}+2\times s\times n \ (n \text{ 为连锁群数})$$

(2)G_{e2}: 各个连锁群的估算长度之和。每个连锁群的估算长度为其观察长度乘以系数(m+1)/(m−1), m 为某个连锁群的有效基因位点数目。

遗传连锁图谱的估算长度(G_e)为 G_{e1} 和 G_{e2} 的平均值, G_e= (G_{e1}+G_{e2})/2

图谱覆盖率 C_{oa}= G_{oa}/G_e

1.5　遗传图谱的构建

本研究使用 JoinMap4.0 软件构建牙鲆遗传连锁图谱。具体操作如下: 使用“new project”命令创建新的文件, 并使用“Creat New Dataset”将雌、雄微卫星标记源数据分别添加到数据库中。使用 χ^2 检验来检测遗传标记在子代中是否符合 1:1 孟德尔分离规律, 并获得标记偏分离信息, 将符合分

离规律(P>0.05)的标记用于初步连锁分析构建连锁图谱框架图, 同时将所有分离标记全部进行连锁分析, 观察偏分离标记对图谱框架的影响。群体类型设置为 CP(cross-pollinating), LOD 值为 3～10。使用“Creat Population Node”分别建立雌、雄群体数据。使用“Individual genot. freq.”命令去掉缺失了较多基因型的个体, 使用“Locus genot. freq.”和“Exclude selected items”命令去掉不符合分离规律的标记, 使用“Similarity of loci”命令(the value=1)去掉相似的位点, 使用“Similarity of individuals”命令(the value>0.95)去掉相似的个体, 使用 “Grouping tree”和“Calculate” 命令将所有作图标记分群; 右键选中已分群的标记组, 使用“Population”选项中的“Create Groups Using the Groupings Tree”命令建立连锁群; 依次选中连锁群使用“Calculate”使用绘制连锁图。雌、雄图谱构建完成之后, 使用 JoinMap4.0 的“Join”选项中的“Combine Groups For map Integration”命令进行雌、雄图谱的整合。图谱整合的原理是将同时定位在两个连锁图的标记作为锚定标记, 将其他标记通过锚定标记加入到连锁图谱中, 每个连锁中至少有两个锚定标记, 才能确定标记间的相对方向。

2 结果与分析

2.1 多态性分析

使用 80 个个体对 2 000 个 SSR 标记进行多态性筛选, 共筛选出多态性标记 640 对, 多态比例为 32%, 所有引物序列均来源于本实验室基因组测序。图 1 为标记 scaffold345_39354 的 PCR 扩增结果, 两侧分别 F_1 个体, 中间为亲本。

2.2 偏分离分析

χ^2 检验结果表明, 雌、雄亲本中无多态而在后代中出现分离的标记 76 个(亲本基因型为 HK×HK), 其中 20 个不符合孟德尔分离定律(P<0.05), 表现偏分离; 父本分离标记有 418 个, 其中偏分离标记 131 个; 母本分离标记有 437 个, 其中偏分离标记 137 个。

2.3 遗传连锁图谱

对 640 个多态性标记进行连锁分析, 分别构建了牙鲆雌、雄遗传连锁图谱(图 1, 图 2)。其中雄性连锁图谱包括 418 个标记, 24 个连锁群, 平均间隔为 3.62 cM, 连锁群的长度范围从 34.8～75.2 cM, 连锁群上的标记数为 11～33 个, 平均每个连锁群含有 17.4 个标记, 图谱观测长度为 1 418.1 cM, 估算长度为 1 598.7 cM, 图谱覆盖率为 88.7%。雌性连锁图谱包括 437 个标记, 24 个连锁群, 平均间隔为 3.16 cM, 连锁群的长度范围从 29.9～73.0 cM, 连锁群上的标记数 10～32 个, 平均每个连锁群含有 18.2 个标记。图谱观测长度为 1 298.1 cM, 估算长度为 1 456.77 cM, 覆盖率为 89.11%(表 1, 表 2)。

3 讨论

3.1 作图标记的选择

构建遗传连锁图谱的主要分子标记有 AFLP、SNP 和 SSR 等标记, AFLP 分子标记操作技术难度

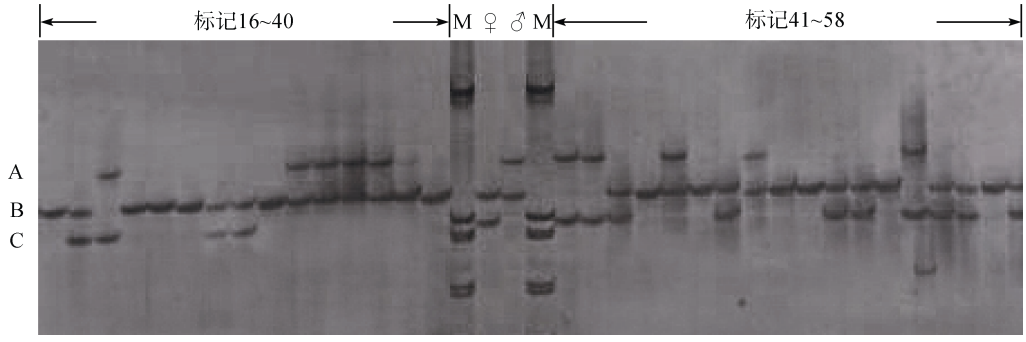

图 1 第 16~58 个标记 PCR 产物电泳分析截图

A、B、C 表示等位基因; 双亲分别是 BC×AB; 按孟德尔分离定律, F_1 基因型为 AB、BB、AC、BC.

Fig.1 Electrophoresis analysis of PCR products

A, B and C mean alleles, respectively; parents are BC×AB; the genotypes of F_1 are AB, BB, AC and BC

表 1　牙鲆遗传连锁图谱的特点

Tab. 1　The characterization of genetic linkage map of *Paralichthys olivaceus*

雌性图谱 female map			雄性图谱 male map		
连锁群 linkage group	标记数 number of markers	连锁群长度/cM length	连锁群 linkage group	标记数 number of markers	连锁群长度/cM length
1f	31	49.9	1m	32	55.2
2f	16	44	2m	25	73.1
3f	31	62.9	3m	21	68.4
4f	14	44.5	4m	19	61.2
5f	32	66.5	5m	19	64.9
6f	26	59.7	6m	19	73.9
7f	27	67.6	7m	16	75.2
8f	19	53.7	8m	18	61.8
9f	16	49.4	9m	15	64.2
10f	17	57.6	10m	14	37.7
11f	18	64.1	11m	12	28.8
12f	15	55.6	12m	13	70.2
13f	15	44.8	13m	12	54.8
14f	14	42.8	14m	11	60.3
15f	11	53.9	15m	33	61.8
16f	10	60.4	16m	15	58.9
17f	17	60.9	17m	25	58.5
18f	15	38.6	18m	12	68.3
19f	14	29.9	19m	15	50.8
20f	12	73	20m	16	54.6
21f	21	64	21m	14	62.1
22f	19	60.2	22m	16	72.5
23f	15	63.3	23m	15	34.9
24f	12	30.8	24m	11	46
总数 total	437	1298.1	总数 total	418	1418.1

表 2　牙鲆遗传连锁图谱的简要信息

Tab. 2　The information of genetic linkage map of *Paralichthys olivaceus*

项目 item	雌性图谱 female map	雄性图谱 male map
定位的标记总数 total number of markers	437	418
有效座位的数目 number of effective locus	434	416
连锁群数目 number of linkage groups	24	24
平均标记数目 average number of marker	18.2	17.4
最大标记数目 maximum number of makers	32	33
最小标记数目 minimum number of makers	10	11
平均间隔/cM average marker interval	3.16	3.62
连锁群的最大长度/cM maximum length of linkage groups	73.0	73.9
图谱观测长度/cM observed consensus map length	1298.1	1418.1
图谱预期长度/cM estimated consensus map length	1456.8	1598.7
图谱覆盖率/% coverage	89.11	88.70

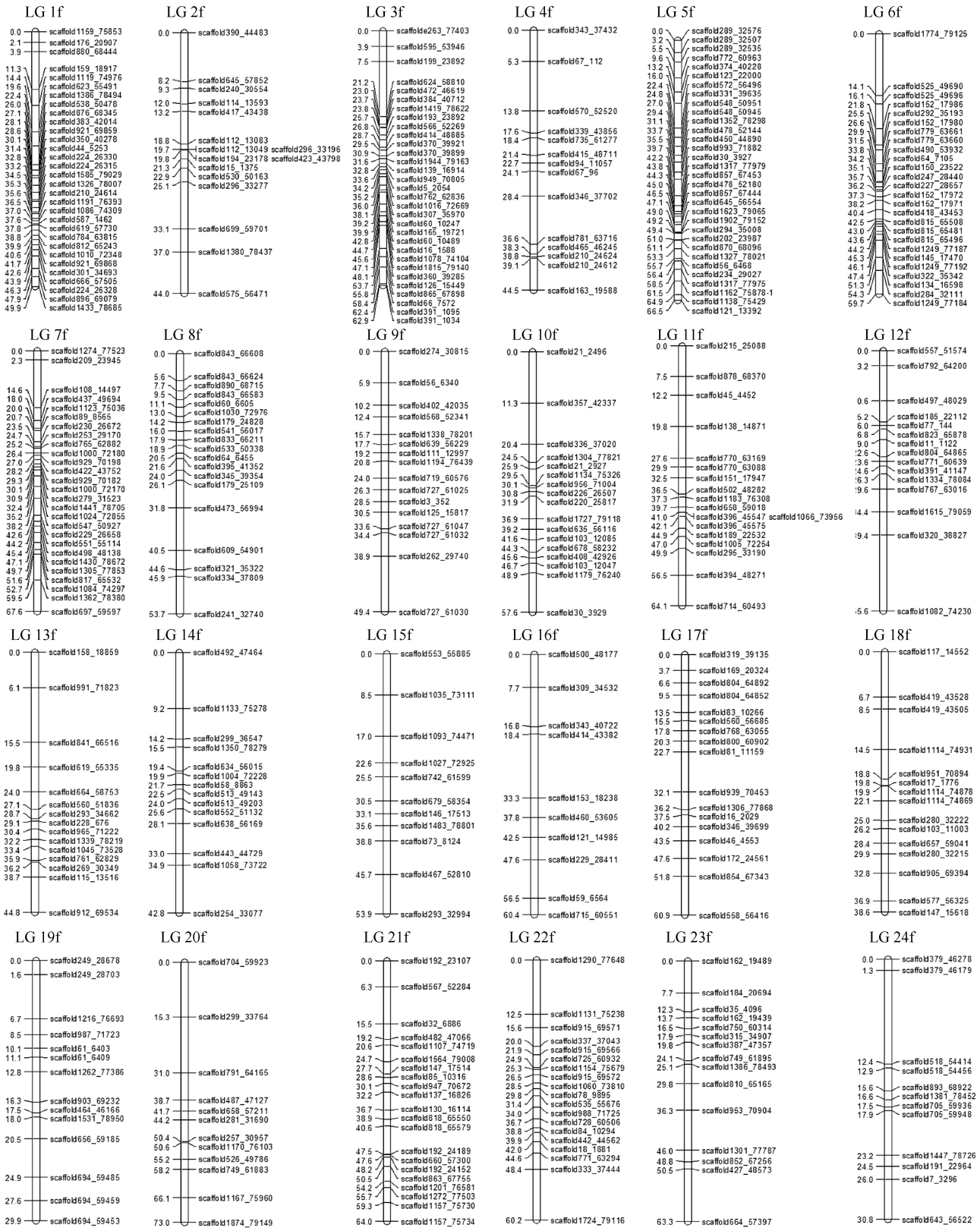

图 2 雌性牙鲆连锁图谱

Fig. 2 The female genetic linkage map of *Paralichthys olivaceus*

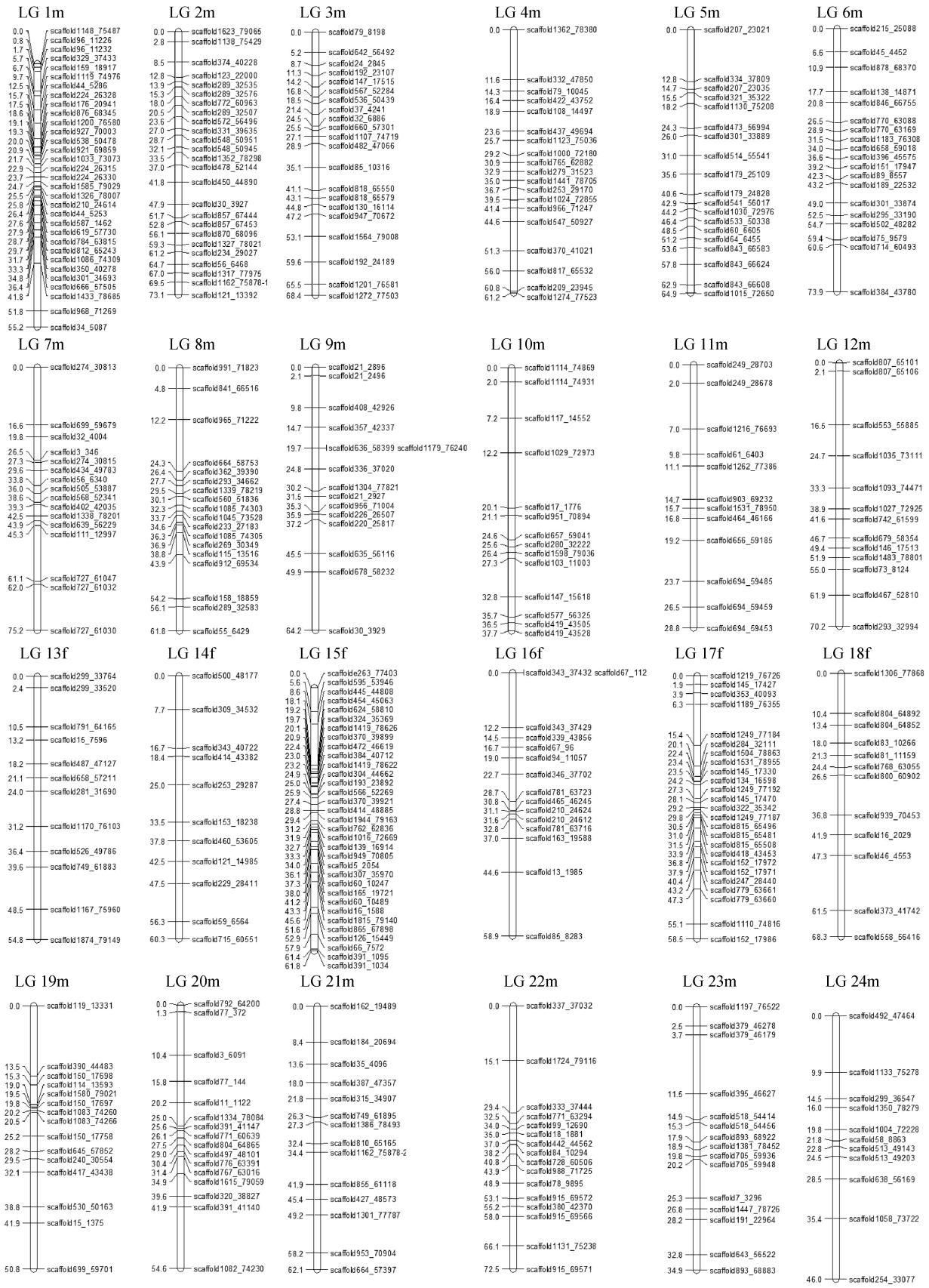

图 3　雄性牙鲆连锁图谱

Fig. 3　The male genetic linkage map of *Paralichthys olivaceus*

大, 对 DNA 纯度和质量要求高, 微量的 DNA 污染即可导致很大的偏差, 作为显性标记无法对种群的遗传变异和遗传结构的分析提供较多的统计信息[20]。作为继 SSR 后的第三代标记 SNP 标记, 虽杂合期望度低, 容易定位于基因组的大多数拷贝区域[21], 但是其费用成本相对更高。本实验使用的 SSR 分子标记由于作图遗传信息量大、稳定性和多态性高、共显性分离、在基因组中平均分布, 在种群内不同的群体之间比较和整合能起到很好的桥梁作用[22], 被公认为是最理想的作图标记。

3.2 图谱的分析与探讨

Castaño-Sánchez [18]构建的日本牙鲆第二代高密度遗传连锁图谱, 雌雄图谱定位上的微卫星标记数目达到了 1 067 个和 1 167 个, 但有效座位只有 184 个和 235 个, 覆盖率也仅为 79%和 82%。本研究构建的牙鲆图谱虽然标记数目不及日本牙鲆第二代图谱, 但实际有效座位却达到了 434 个和 416 个, 只在 LG3f、LG11f、LG9m、LG16m 连锁群出现少量标记定位在同一座位上, 而雌、雄图谱的覆盖率也分别达到了 89.11%和 88.70%, 从而很大程度上达到了较高图谱的密度的标准。本实验所构建的牙鲆遗传连锁图谱相比于宋文涛等[19]国内构建的牙鲆第一张遗传图谱标记的数量、图谱覆盖率等方面也均有所提高, 定位到图谱上的标记总数由 307 个提高到了 529 个, 雌、雄图谱的覆盖率分别从之前的 77.7%和 71.1%提高到了 89.1%和 88.7%, 从而使得图谱的质量、可信度及应用价值都得到了相应提高。

本研究中, SSR 标记在构建的遗传连锁群上大多数分布比较均匀, 但在个别连锁群中仍有明显的成簇分布现象(LG1f、LG5f、LG1m、LG15m 连锁群)。SSR 标记在很多已经构建的水产动物连锁群上往往有明显的聚集分布现象, 宋文涛等[19]构建的国内第一代牙鲆遗传图谱中, 提到了在牙鲆雌、雄图谱的第 4、7 和第 22 号连锁群上还存在超过 30 cM 区段找不到多态性标记, 而第 1、3 和 8 号连锁群一些区段标记非常密集, 本研究构建的图谱不论在图谱密度还是标记数目都得到了很大的提升。

本实验中微卫星标记存在偏分离现象, 雌、雄牙鲆图谱的偏分离位点分别达到了 131 个和 137 个。偏分离现象在水产动物界广泛存在, 在 Launey 和 Hedgecock 等[23]利用 SSR 标记构建的太平洋牡蛎图谱、Young 等[24]利用 AFLP、RAPD、SSR 和 VNTR 标记构建虹鳟的图谱中均检测到偏分离现象。本次构建图谱的作图群体个体只有 80 个, 样本容量数目的限制导致数据统计产生了偏差。遗传图谱的分辨率和精度, 很大程度上取决于群体大小; 群体越大, 则作图精度越高, 出现偏分离标记的几率越小。另外较高的遗传负荷和致死基因的存在也会直接导致某些性状表现不出来, 造成标记分离偏离孟德尔分离定律[21]。

遗传连锁图谱显示遗传标记位点在染色体的相对位置, 定位的分子标记反映出相应染色体座位上的遗传多态性状态。理论上, 所构建的牙鲆遗传图谱的连锁群总数应与该物种的单倍体染色体总数一致[25], 本研究构建的雌雄遗传连锁图谱框架图均由 24 个连锁群组成, 与牙鲆的单倍体染色体总数完全相等。同时, 该图谱的标记数目和密度都达到了很高的水平, 已经可以进行重要经济性状的 QTL 定位分析和重要基因定位的研究, 从而可以在一定程度上指导牙鲆的遗传育种工作。

参考文献:

[1] 张潇崐, 徐亘博, 廖小林, 等. 牙鲆微卫星标记的开发及多态性分析[J]. 水产学报, 2010, 35(7): 962−967.

[2] Morizot DC, Slaugenhaupt SA, Kallman KD, et al. Genetic Linkage Map of Fishes of the Genus Xiphophorus [J]. Genetics, 1991, 127: 999−410.

[3] Postlethwait JH, Johnson SL, Midson CN, et al. A genetic linkage map for the zebrafish [J]. Science, 1994, 264: 699−703.

[4] Michael AG, Lisa K, Elizabeth SE, et al. A genetic linkage map for zebrafish: comparative analysis and localization of genes and expressed sequences [J]. Gen Res, 1999, 9(4): 334−347.

[5] Peter DK, Felicia C, Ian GW, et al. Genetic linkage mapping of zebrafish genes and ESTs [J]. Gen Res, 2000, 10: 538−567.

[6] Takashi S, Roy G D, Karim G, et al. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized

by large sex-specific differences in recombination rates [J]. Genetics, 2000, 155: 1331−1345.

[7] Geoffrey CW, Brian G B, Danny JN, et al. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish(*Ictalurus punctatus*) [J]. Genetics, 2001, 158: 727−734.

[8] Bo YL, Woo JL, Jtodd S, et al. A second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp.) [J]. Genetics, 2005, 170: 237−244.

[9] Tetsuaki K, Keiko Y, Atsuko S, et al. Genetic linkage map of medaka with polymerase chain reaction length polymorphisms [J]. Gene, 2005, 363: 24−31.

[10] Rafaella F, Bruno L, Matina T, et al. A genetic linkage map of the hermaphrodite teleost fish *Sparus aurata* [J]. Genetics, 2006, 174:851−861.

[11] Suquet M, Billard R, Cosson J, et al. Artificial insemination in turbot (*Scophthalmus -maximus*): determination of the optimal sperm to egg ratio and time of gamete contact [J]. Aquaculture, 1995, 133: 83−90.

[12] Eriko O, Takuya N, Yoshitomo N, et al. Genetic linkage maps of two yellowtails (*Seriola quinqueradiata* and *Seriola lalandi*) [J]. Aquaculture, 2005, 244: 41−48.

[13] Wang CM, Zhu ZY, Loong CL, et al. A microsatellite linkage map of Barramundi, Lates calcarifer [J]. Genetics, 2007, 175: 907−915.

[14] Matthias S, Frederico H, Shoji F, et al. Microsatellite based genetic linkage map of the cichlid Fish, *Astatotilapia burtoni* (Teleostei): A comparison of genomic architectures among rapidly speciating cichlids [J]. Genetics, 2009, 182: 387−397.

[15] Liao XL, Ma HY, Xu GB, et al. Construction of a genetic linkage map and mapping of a female specific DNA marker in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. Mar Biotechnol, 2009, 11(6): 699−709.

[16] Coimbra MRM, Kobayashi K, Koretsugu S, et al. A genetic linkage map of the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. Aquaculture, 2003, 220(1–4): 203−218.

[17] Kang JH, Kim WJ, Lee WJ. Genetic linkage map of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. Intern J Biolog Sci, 2008, 4(3): 143−149.

[18] Cecilia CS, Kanako FJ, Akiyuki O, et al. A second generation genetic linkage map of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Bio Med Cent, 2010, 11(1): 554−565.

[19] 宋文涛, 张潇崐, 廖小林, 等. 牙鲆微卫星标记遗传连锁图谱的构建[J]. 农业生物技术学报, 2011, 19(6): 981−987.

[20] 陈松林, 田永胜, 徐田军, 等. 牙鲆抗病群体和家系的建立及其生长和抗病性能初点测定[J]. 水产科学, 2008, 32: 665−673

[21] 王宣朋, 孙效文, 李文升, 等. 鲤遗传连锁图谱的构建[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(5): 642−648.

[22] 刘云国, 孙修勤. 水产动物遗传连锁图谱的构建策略[J]. 海洋科学进展, 2008, 26(3): 382−385.

[23] Launey S, Hedgecock D. High genetic load in the *Pacific coyster crassostrea giga* [J]. Genetics, 2001, 159(1): 255−265.

[24] Young WP, Wheeler PA, Coryell VH. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids [J]. Genetics, 1998, 148(2): 1−13.

[25] 孙昭宁, 刘萍, 李健, 等. RAPD和SSR两种标记构建的中国对虾遗传连锁图谱[J].动物学研究, 2006, 27(3): 318−324.

Construction of genetic linkage map in Japannese flounder (*Paralichthys olivaceus*)

PANG Renyi[1, 2], SONG Wentao[2], GAO Fengtao[2], LIAO Xiaolin[2], ZHAO Yongwei[2], NIU Yuze[2], WANG lei[2], ZHAO Wen[1], TIAN Yongsheng[2], CHEN Songlin[2]

1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;
2. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: Using the microsatellite sequence got from genome sequencing, we constructed genetic linkage map with SSR markers for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), in which 681383B is the male parent and 6812E36 is the female parent. The male linkage map included 418 markers, which were distributed in 24 linkage groups, with 88.7% coverage. The length reached 1 418.1 cM, and the average marker interval was 3.62 cM. The female linkage map distributed in 24 linkage groups included 437 markers, with 89.1% coverage.spanning. The length reached 1 298.1 cM, and the average marker interval was 3.16 cM,. The medium density genetic linkage maps laid the groundwork for QTL analyses and marker-assisted selection breeding programs, and effectively promote the genetic improvement of Paralichthys, make flounder aquaculture sustainable development.

Key words: *Paralichthys olivaceus*; SSR molecular markers; genetic linkage map

Corresponding author: CHEN Songlin. E-mail: chensl@ysfri.ac.cn