

南日本産ササノハベラ属2種の核型および核DNA量

馬淵浩司¹・新井良一²・西田 睦¹¹〒164-8639 東京都中野区南台1-15-1 東京大学海洋研究所分子海洋科学分野²〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 東京大学総合研究博物館動物資料部門

(2002年2月21日受付; 2002年5月10日改訂; 2002年5月21日受理)

キーワード: ササノハベラ属, 核型, 核DNA量, 核型進化

魚類学雑誌
Japanese Journal of
Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 2002

Kohji Mabuchi*, Ryoichi Arai and Mutsumi Nishida. 2002. Karyotypes and nuclear DNA contents of two *Pseudolabrus* species from the southern coasts of Japan. Japan. J. Ichthyol., 49(2): 87-95.**Abstract** Karyotypes and nuclear DNA contents of *Pseudolabrus eoethinus* and *P. sieboldi* were studied. Until a recent revision, the two species had been considered a single species (*Pseudolabrus japonicus*), although two clearly distinct karyotypes had been reported on several occasions. The karyotype of *P. eoethinus* was confirmed as 2M+2SM+44ST-A (2n=48, NF=52) and that of *P. sieboldi*, as 20M+8SM+14ST-A (2n=42, NF=70). Nuclear DNA content in the two *Pseudolabrus* species and 4 other labrid species from Japan was measured by flow cytometry, and provisionally expressed relative to that of a puffer fish, *Canthigaster rivulata*, used as an internal standard. The relative nuclear DNA content of *P. eoethinus* was 2.91 ± 0.03 (n=5), that of *P. sieboldi* being 3.00 ± 0.05 (n=6). Although the two values differed significantly (Mann-Whitney *U* test, $P=0.01$, $U_{cal}=0.5$), the very small difference between them (average value of latter 103% of former) together with karyotype comparisons suggested that both pericentric inversions and Robertsonian fusion had played a major role in the establishment of the more derived karyotype of *P. sieboldi*.

*Corresponding author: Ocean Research Institute, University of Tokyo, 1-15-1 Minamidai, Nakano-ku, Tokyo 164-8639, Japan (e-mail: mabuchi@ori.u-tokyo.ac.jp)

ササノハベラ属 *Pseudolabrus* は、太平洋の南北の温帯浅海域に「反赤道的」(Hubbs, 1952; Randall, 1982) に分布するベラ科の一属である。現在までに11種が知られているが、そのうちの9種は南半球に分布しており (Russell, 1988), 北半球からは東アジア沿岸域の2種、ホシササノハベラ *Pseudolabrus sieboldi* とアカササノハベラ *P. eoethinus* が知られているのみである (Mabuchi and Nakabo, 1997)。

東アジア産の2種は、ともに南日本の沿岸岩礁域で最も普通にみられるベラ科魚類であるが、近年まで単一の種“ササノハベラ *P. japonicus*”とされていた。この「種」は、Mabuchi and Nakabo (1997)

により、形態と色彩斑紋の区別にもとづき独立の2種に分類され、同時に、両種の地理的分布域は重複部分が多いものの異なることが明らかにされた。両種はさらに、同所的に生息する海域でも生殖的に隔離されていることが野外観察により確認され (Matsumoto et al., 1997), 加えて、ミトコンドリアDNAの16S rRNA 遺伝子領域の部分塩基配列にも明瞭な差異が観察されている (Mabuchi et al., 2000)。

両種の核型については、単一の種として扱われていた頃に、顕著に異なる2つの型、すなわち 2n=42 (20M+8SM+14ST-A) (Arai and Koike, 1980; 小島, 1983; 上野, 1995) と、2n=48 (2M+

2SM+44ST-A) (Ojima and Kashiwagi, 1979; 上野, 1995) が報告されており (染色体の形態区分の略号は Table 1 参照), 小島 (1983) や新井 (1985) は, これらを特異な種内変異の例としている. Mabuchi and Nakabo (1997) は, 上野 (1995) の「ササノハベラ内湾生息型 (2n=42, 20M+8SM+14ST-A)」という記述について, 標本採集地域 (和歌山県) での2種の大まかな分布状況の違いと照らし合わせて, 「内湾生息型」はホシササノハベラを指すと判定し, 両種の染色体数をホシササノハベラが2n=42, アカササノハベラが2n=48であろうと推測した. しかし, この核型と種の対応関係が正しいかどうかは, 彼らの推測が調査標本の直接的な再同定にもとづいているわけではないので, 疑問の余地が残っている.

一方, ベラ科魚類の核型については, これまで50種ほどの知見があり, そのうちの約80%の種の染色体数は, 2n=48 (主に A) で (Ojima and Kashiwagi, 1979, 1980; Arai and Koike, 1980; Alvarez et al., 1986), スズキ目魚類の一般的な染色体数 (Galetti et al., 2000) と一致している. 東アジア産ササノハベラ属2種にみられる2つの核型の一方は, ベラ科 (あるいはスズキ目) で一般的な染色体数2n=48を示すが, 同属内でありながら, 他方の染色体数は2n=42と明瞭に少なく, また, 染色体構成も「簡単な染色体再配列機構で説明できるようなものではない」(小島, 1983) ほど顕著に異なる. 外部形態的によく似た同属の2種間に, これほど顕著な核型の違いが観察されるのは, 核ゲノムの進化を考える上で非常に興味深い.

本研究では, この核ゲノムの進化を考える上で興味深い南日本産のササノハベラ属2種について, 1) 「ササノハベラ」として報告されている核型のデータあるいは未発表記録について, 種の再同定を行うことにより両種の核型を判定した. また, この核型の顕著な違いが核DNA量の違いを伴ったものなのかという, 核型進化を考える上で重要な点をおさえるため, 2) 両種の核DNA量をフローサイトメーターを用いて比較した.

材料と方法

ササノハベラ属2種の核型判定

「ササノハベラ」として報告されている核型のデータあるいは未発表記録を Table 1 にまとめた. これらのうち証拠標本が明白に指定されているものについては, その証拠標本を再同定して, また,

Table 1. Karyotypes of “*Pseudolabrus japonicus*” and likely species’ identifications

Literature and/or specimen record	Locality	2n	NF	Karyotype	Identification
Ojima and Kashiwagi, 1979	Kushimoto Marine Park, Kushimoto, Wakayama Pref., Japan	48	52	2M+2SM+44ST-A	Probably <i>P. eoethinus</i> *
Arai and Koike, 1980					
NSMTP 57825 (No. E-30-8)	Araiso, Miura Peninsula, Kanagawa Pref., Japan	42	70	20M+8SM+14ST-A	<i>P. sieboldi</i>
NSMTP 58363 (No. E-98-73)	Shirahama, Wakayama Pref., Japan	42	70	20M+8SM+14ST-A	<i>P. sieboldi</i>
Ojima, 1983					
<i>P. japonicus</i> -type 2	Hirado, Nagasaki Pref., Japan and Tarumi, Hyogo Pref., Japan	42	70	20M+8SM+14ST-A	Probably <i>P. sieboldi</i> *
Ueno, 1995					
Shallow water type	Kushimoto, Tsubaki or Shirahama in Wakayama Pref., Japan	42	70	20M+8SM+14ST-A	Probably <i>P. sieboldi</i> **
Deep water type	Kushimoto, Tsubaki or Shirahama in Wakayama Pref., Japan	48	?	mainly “A”	Probably <i>P. eoethinus</i> **
Arai (unpublished)					
NSMTP 59176 (No. A-4-5)	Awa-Kominato, Chiba Pref., Japan	48	52	2M+2SM+44ST-A	<i>P. eoethinus</i>

2n: chromosome number. NF: fundamental number. M: metacentrics. SM: submetacentrics. ST: subtelocentrics. A: acrocentrics.

* Inferred from locality.

** Inferred from habitat.

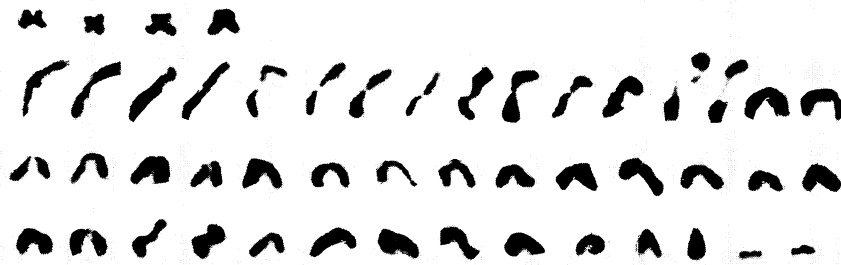


Fig. 1. Karyotype of a *Pseudolabrus* specimen, NSMT-P 59176 (No. A-4-5, Arai unpublished), presently identified as *P. eoethinus*.

証拠標本が指定されていないものについては、記載されている産地から供試標本の種の推定を行い、2種の核型判定を行った。

証拠標本が明白に指定されている「ササノハベラ」の核型データは、Arai and Koike (1980) (2個体: No. E-30-8; No. E-98-73) と、新井の未発表記録 (1個体: No. A-4-5) のみである。これらの標本は国立科学博物館に保管されており、標本番号はそれぞれ前者2個体が、NSMT-P 57825, 58363, 後者が、NSMT-P59176 である (それぞれ, Fig. 2 A, B, C)。これらの標本について測定・計測と体表模様の観察を行い、その結果にもとづいて種の同定を行った。測定・計測の方法および種の同定法は Mabuchi and Nakabo (1997) に従った。なお、新井による未発表の核型データは、Fig. 1 に示したとおりで $2n=48$ ($2M+2SM+44ST-A$), $NF=70$ であるが、この観察においては、染色体標本の作製法は Arai (1973) に、染色体の分類法は Levan et al. (1964) に従っている。また、染色体腕数 (NF) は、M と SM を2腕として数えている。

証拠標本が指定されていない報告のうち、Ojima and Kashiwagi (1979) については、供試標本が和歌山県串本町の串本海中公園で採集されている。この採集地における標本が、どちらの種である可能性が高いかを調べるため、現地でスノーケリングによる目視観察を行った。調査は、2000年4月17日の13時35分–14時35分の1時間にわたって行い、水深1–3mの岩礁域に沿って泳ぎ、観察されたササノハベラ属魚類の個体数を種別に記録した。

ササノハベラ属2種の核DNA量比較

核DNA量解析には、ホシササノハベラ6個体、アカササノハベラ5個体を用い、比較のために同

ジベラ科からオハグロベラ *Pteragogus aurigarius* 3個体、ニシキベラ *Thalassoma cupido*、ホンベラ *Halichoeres tenuispinnis*、キュウセン *Halichoeres poecilopterus* それぞれ1個体ずつを用いた。また、DNA量を比較する際の基準として、核DNA量が少ないことで知られているフグ科 (Hinegardner and Rosen, 1972; Brainerd et al., 2001) のキタマクラ *Canthigaster rivulata* の1個体を用いた。標本の種同定は、島田 (2000) と山田 (2000) にもとづいた。標本はすべて、血液サンプルを採取した後、10%ホルマリンで固定し、京都大学農学部の魚類標本コレクション (FAKU) に登録・保管した。それぞれの標本の登録番号、標準体長、採集地などは、Appendixのとおりである。

核DNA量は、フローサイトメーター (Partec社製 Ploidy Analyzer PA) を用いて計測した。サンプルとして用いた血液は、氷上で麻酔した供試魚の尾動脈または心臓から注射器で採取し、99.5%アルコール中で約5ヶ月間 (キタマクラは約2ヶ月)、 -30°C で保存した。血液サンプルは、DNA量比較の基準としたキタマクラの血液と細胞数がほぼ同数になるように混合した後、Partec社製動物細胞用高分離DNA試薬キット (No. 06-5-4003) を用いてDAPI染色し、1サンプルにつき15,000–45,000個の核の蛍光強度を計測した。核DNA量は、サンプルの蛍光強度をキタマクラの蛍光強度で割った相対値により表した。サンプルおよびキタマクラの蛍光強度の値は、蛍光強度ヒストグラム上でのそれぞれのピークの中央値を用いた。ササノハベラ属2種間の核DNA量の違いを検定するに当たっては、検定量が測定値の相対比率であることから、ノンパラメトリック法であるMann-WhitneyのU検定を用いた。統計検定の有意水準は1%ま

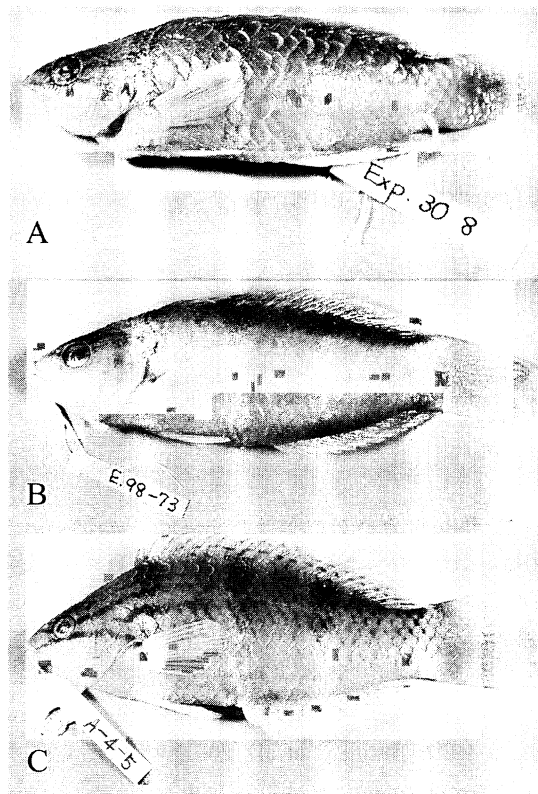


Fig. 2. Lateral view of *Pseudolabrus* specimens examined. A) *P. sieboldi*, NSMT-P 57825 (No. E-30-8 in Arai and Koike, 1980); B) *P. sieboldi*, NSMT-P 58363 (No. E-98-73 in Arai and Koike, 1980); C) *P. eoethinus*, NSMT-P 59176 (No. A-4-5, Arai unpublished).

でとした。

結果と考察

ササノハベラ属2種の核型判定

証拠標本が明確である2つの報告 (Arai and Koike, 1980; 新井 未発表) に対応する3個体 (NSMT-P 57825, 58363 および 59176 ; それぞれ Fig. 2 の A, B, C) の計数・計測結果を Table 2 に示す。これらの標本の種同定については、計数・計測形質では断定できないものの、体表にみられる斑紋から前2個体がホシササノハベラ、後1個体がアカサアノハベラと判定できる。まず、前者 (Fig. 2A, B) においては、吻端から目を通り後方にのびる暗線が鰓蓋の中央部にも達せず、背鱗の列状に並ぶ黒点が丸い点状になっており (写真Aではみにくい)、頭部背面の模様 (写真ではみえない) が虫食い型である。これらは、典型的なホシササノハベラの Initial color phase (Warner and Robertson, 1978) の特徴である。一方、後者 (Fig. 2C) は、吻端から

眼の下部を通り後方へのびる暗線が胸鱗基部の上端まで達し、背鱗の列状に並ぶ黒点が比較的大きくてかつ体軸方向に伸張しており、また、体側の中・後半部に、鱗の並びに沿った暗色の斜線が存在し、さらに、頭部背面には暗色の点や短い線が散在している。これらはすべて、典型的なアカサアノハベラの Initial color phase の特徴である。以上の観察結果を上述の2つの報告にある核型と対応させると、ホシササノハベラが $2n=42$ 、アカサアノハベラが $2n=48$ となる (Table 1)。

一方、証拠標本が指定されていない過去の核型報告について、記載されている産地から供試標本の種を推測すると次のようになる。まず、Ojima and Kashiwagi (1979) の供試標本は和歌山県串本町の串本海中公園で採集されているが、本研究において現地で観察を行ったところ、合計14個体のササノハベラ属魚類が観察され、すべてアカサアノハベラであった。この観察結果から推測すると、Ojima and Kashiwagi (1979) の供試標本はアカサアノハベラである可能性が高い。小島 (1983) の供試標本は長崎県平戸と兵庫県垂水から採集されている。Mabuchi and Nakabo (1997) では、長崎県平戸産の標本として ZUMT 48069, 48070 の2個体が、兵庫県垂水と同地域である大阪湾神戸沖産の標本として OMNH-P 6901-6903 の3個体が観察されているが、これらはすべてホシササノハベラと同定されている。このことから、小島 (1983) の供試標本はホシササノハベラである可能性が高い。以上2件の推定を、報告されている核型と対応させると、ホシササノハベラが $2n=42$ 、アカサアノハベラが $2n=48$ という結果となり (Table 1)、上述の標本の再同定にもとづく判定と一致する。

以上の結果は、また、Mabuchi and Nakabo (1997) が上野 (1995) の記述にもとづいて下した上述の判定とも一致する。したがって以上を総合的に考えて、2種の核型はホシササノハベラが $2n=42$ (20M+8SM+14ST-A)、アカサアノハベラが $2n=48$ (2M+2SM+44ST-A) と判定して間違いのないであろう。

ササノハベラ属2種の核DNA量比較

ササノハベラ属2種を含むベラ科6種における核DNA量 (キタマクラの核DNA量との相対値) を Table 3 に示す (計測値と個々の標本の対応関係は Appendix 参照)。調べた種のうち核DNA量が最も少なかったのはホンベラ (2.15)、最も多かったのはオハグロベラ (4.91 ± 0.04) であった。ホシササノハ

ベラおよびアカササノハベラの核DNA量の平均値は、それぞれ3.00と2.91で両者はほぼ同量であったが、Mann-WhitneyのU検定においては有意差が認められた ($U_{cal}=0.5, P<0.01$).

Ojima and Yamamoto (1990) は、日本産のベラ科魚類5種について核DNA量を測定しているが、ササノハベラ属2種については区別しておらず、「サ

サノハベラ」としてデータを示している。彼らは「ササノハベラ」の核DNA量(絶対量)を2.8pgとしている。また、キュウセンの核DNA量(絶対量)は2.4pgとしており、これらの値にもとづく「ササノハベラ」の核DNA量はキュウセンのそれの約1.17倍になる。一方、本研究では、ホシササノハベラおよびアカササノハベラの核DNA量(3.00、

Table 2. Counts and proportional measurements of *Pseudolabrus* specimens used for karyotype examination

	NSMT-P 57825 No. E-30-8 in Arai and Koike (1980)	NSMT-P 58363 No. E-98-73 in Arai and Koike (1980)	NSMT-P 59176 No. A-4-5 (Arai, unpublished)
Color phase	IP	IP	IP
Standard length (mm)	83.6	92.7	85.5
Dorsal fin rays	IX, 11	IX, 11	IX, 11
Anal fin rays	III, 10	III, 10	III, 10
Pelvic fin rays	I, 5	I, 5	I, 5
Pectoral fin rays	ii, 11	ii, 11	ii, 11
Caudal fin rays	14	14	14
Lateral line scales	26	25	26
Scales above lateral line	4	4	4
Scales below lateral line	8	8	8
Predorsal scales	9	10	11
Cheek scales	5	5	4
Vertebrate	9+16	9+16	9+16
Gill rakers	not counted*	17	not counted*
In % of standard length			
Body depth	28.3	32.2	32.6
Head length	31.8	32.4	31.7
Head width	13.7	13.8	15.1
Snout length	10.0	11.1	10.2
Length of upper jaw	9.3	10.4	8.6
Orbit to angle of preopercle	10.1	10.8	9.8
Length of orbit	7.3	6.7	6.0
Interorbital width	7.7	7.6	7.9
Suborbital width	4.1	4.7	5.1
Predorsal length	32.3	34.0	32.1
Length of dorsal fin base	59.7	58.2	60.5
Length of first dorsal spine	6.9	6.8	5.7
Length of ninth dorsal spine	10.4	9.9	11.3
Length of longest dorsal ray	13.0	15.3	14.1
Length of anal fin base	30.7	32.3	33.5
Length of first anal spine	4.6	4.9	4.2
Length of third anal spine	8.1	8.7	10.2
Length of longest anal ray	11.9	13.4	13.2
Depth of caudal peduncle	15.2	16.1	15.9
Length of pectoral ray	20.1	21.1	18.9
Length of pelvic fin	15.9	16.8	17.0
Length of pelvic spine	8.7	10.1	10.4

* Gill rakers removed for karyotype examination.

2.91) は、キュウセンのそれ(2.58)の約1.16および1.13倍となるが、これらの値は上述のOjima and Yamamoto (1990)のデータにもとづく計算結果とほぼ一致し、特にホシササノハベラの方はよく一致する。Ojima and Yamamoto (1990)に示されているキュウセンの核DNA量の絶対量(2.4 pg)は、1個体のみにもとづくものと推定され、種の平均値から若干外れている可能性もあるが、この値にもとづいて、今回調べたベラ科5種と、比較の基準に用いたキタマクラの核DNA量の絶対量を計算してみるとTable 3の右端のようになる。これによると、キタマクラの核DNA量の絶対量は0.93 pgと算出されるが、この値は、Brainerd et al. (2001)が示した同じキタマクラ属の*Canthigaster rostrata*についての値(0.90 pg)に近い。

核型の進化プロセス

真骨魚類の特にスズキ目では、48本の単腕型の染色体で構成される核型が原始的な状態であると考えられており(Ohno et al., 1968; Brum and Galetti, 1997)、この目に含まれるベラ科でも、やはり同様に考えられている(Alvarez et al., 1986)。アカササノハベラの核型は $2n=48$, $NF=52$ で、主に単腕型の染色体から構成されており、核型の報告のあるベラ科魚類(Ojima and Kashiwagi, 1979, 1980; Arai and Koike, 1980; Alvarez et al., 1986)の中ではニシキベラ属の $2n=48$, $NF=48$ に次いで原始的な核型を保存しているといえる。他方のホシササノハベラは、 $2n=42$, $NF=70$ と染色体数が少なくM型染色体が多いので、核型が報告されているベラ科魚類の中では特殊な核型であるといえる。これら2種は、同じ属の形態的に類似した種であり、比較的近縁と推測されることを考え合わせると、ホシ

ササノハベラにみられる特殊な核型は、現在のアカササノハベラのものに近い「原始的な」核型から派生したと解釈するのが最も自然である。この仮定が正しいければ、どのようなメカニズムで、染色体数の減少と染色体腕数の増加が起こり、現在のホシササノハベラの特殊な核型が進化してきたと考えられるだろうか？

本研究で両種の核DNA量を比較したところ、ホシササノハベラの核DNA量はアカササノハベラの約1.03倍で、両者は大きくは異ならなかった(Table 3)。このことから、ホシササノハベラの特殊な核型は、核DNA量の大きな変化を伴わずに「原始的」状態から進化したと考えられる。つまり、進化の過程で染色体数は48から42へと減少しているが、この減少は染色体の融合により生じたと推測できる。染色体融合の主なパターンとしては、動原体融合(ロバートソン融合)と縦列融合があるが(新井, 1982)、ホシササノハベラの核型をみると、大型のM型染色体が2対認められ(Fig. 6C in Arai and Koike, 1980の上段左の4本)、これらは、その大きさと形から動原体融合により形成された可能性が高い。染色体が6本減少していることから、この2対以外にもう1対、融合により生じた染色体があると推測されるが、それを特定することは、個々の染色体を厳密に区別できていない現段階では難しい。

ホシササノハベラの腕数($NF=70$)はアカササノハベラのそれ($NF=52$)と比べて18本も多く、「原始的」核型から何らかの過程を経て増加したと考えられる。染色体腕数の増加の原因としては、狭動原体逆位による構造的な変化と、新たなヘテロクロマチンの付加(Donnellan, 1991)が考えられるが、ホシササノハベラの場合、核型進化上でDNA

Table 3. Estimated nuclear DNA content relative to *Canthigaster rivulata*

Species	n	Mean ± SE	Range	Picograms*
<i>Pseudolabrus sieboldi</i>	6	3.00 ± 0.05	2.95–3.05	2.8
<i>Pseudolabrus eoethinus</i>	5	2.91 ± 0.03	2.87–2.95	2.7
<i>Halichoeres poecilopterus</i>	1	2.58	—	2.4**
<i>Halichoeres tenuispinnis</i>	1	2.15	—	2.0
<i>Thalassoma cupido</i>	1	3.17	—	3.0
<i>Pteragogus aurigarius</i>	3	4.91 ± 0.04	4.88–4.95	4.6
<i>Canthigaster rivulata</i>	1	1	—	0.93

* Calculated using Ojima and Yamamoto's (1990) nuclear DNA content of *Halichoeres poecilopterus* (2.4 pg).

** Literature value from Ojima and Yamamoto (1990).

量の大きな変化を伴わなかったと推測されることから、腕数増加の大部分は狭動原体逆位によりもたらされたと思われる。Alvarez et al. (1986)によると、腕数を増加させる狭動原体逆位はベラ科の核型進化で最も頻繁に起こったと考えられており、この推測と一致する。しかし、ホシササノハベラの核DNA量は、僅かながらもアカササノハベラより多く (Table 3)、新たなヘテロクロマチンの付加が起こった可能性も否定できない。この可能性を検討するには、ヘテロクロマチンを検出するCバンド分染染色による解析が有効だろう。

融合や逆位を含む上述の核型進化についての仮説をより具体的に検証するには、Cバンド分染をはじめとする種々の分染法 (村松, 2000) を用いて個々の染色体を識別することが必要である (Caputo et al., 1996; Caputo et al., 1997; Ueda et al., 2001 など)。とくに、近年、魚類染色体の構造変化を研究するに当たって染色体のinterstitial部位のテロメア配列が注目を集めているが、FISH法を用いて直接その配列の染色体上での分布を調べることは、大変有効な手段と考えられる (Caputo et al., 1998)。

謝 辞

本研究を行うにあたり、標本の観察と文献資料の収集に便宜をはかっていただいた国立科学博物館の松浦啓一、篠原現人の両博士、および、ササノハベラ属魚類の分布調査にご協力またはご援助いただいた串本海中公園の内田紘臣博士をはじめとするスタッフの皆様、および京都大学総合博物館の中坊徹次教授に厚く御礼申し上げます。また、標本採集に協力いただいた東京大学海洋研究所分子海洋科学分野の向井貴彦博士、武島弘彦氏、小野詳子氏、核DNA量の測定時に技術的な助力をいただいた同分野の山本軍次氏、そして、原稿に関する貴重なご助言をいただいた同分野の野原正広博士、および英文要旨を校閲していただいた東京大学海洋研究所微生物分野のBinaya B. Nayak博士に厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部は、日本学術振興会特別研究員制度の科学研究費補助金 (馬淵浩司, No. 72503)、および、文部科学省学術創成研究費 (新プログラム) (研究課題番号 12NP0201) により行われた。

引 用 文 献

Alvarez, M. C., E. Garcia and G. Thode. 1986. Contribution to the karyoevolutive study of the Labridae (Perciformes). The karyotypes of *Ctenolabrus rupestris* and *Symphodus*

- ocellatus*. Caryologia, 39: 353–357.
- Arai, R. 1973. Preliminary notes on chromosomes of medaka, *Oryzias latipes*. Bull. Natn. Sci. Mus., Tokyo, 16: 173–176, pl. 1.
- 新井良一. 1982. 染色体と魚の進化. 自然科学と博物館, 49: 102–106.
- 新井良一. 1985. 分岐分類学に基づく魚類の系統分類と核型. 月刊海洋科学, 17: 119–124.
- Arai, R. and A. Koike. 1980. Chromosomes of labroid fishes from Japan. Bull. Natn. Sci. Mus., Ser. A (Zool.), 6: 119–135.
- Brainerd, E. L., S. S. Slutz, E. K. Hall and R. V. Phillis. 2001. Patterns of genome size evolution in Tetraodontiform fishes. Evolution, 55: 2363–2368.
- Brum, M. J. I. and P. M. Galetti Jr. 1997. Teleostei ground plan karyotype. J. Comp. Biol., 2: 91–102.
- Caputo, V., F. Marchegiani and E. Olmo. 1996. Karyotype differentiation between two species of carangid fishes, genus *Trachurus* (Perciformes: Carangidae). Mar. Biol., 127: 193–199.
- Caputo, V., F. Marchegiani, M. Sorice and E. Olmo. 1997. Heterochromatin heterogeneity and chromosome variability in four species of gobiid fishes (Perciformes: Gobiidae). Cytogenet. Cell Genet., 79: 266–271.
- Caputo, V., M. Sorice, R. Vitturi, R. Magistrelli and E. Olmo. 1998. Cytogenetic studies in some species of Scorpaeniformes (Teleostei: Percomorpha). Chrom. Res., 6: 255–262.
- Donnellan, S. C. 1991. Chromosomes of Australian lygosomine skinks (Lacertilia: Scincidae): I. The *Egernia* group: C-banding, silver staining, Hoechst 33258 condensation analysis. Genetica, 83: 207–222.
- Galetti Jr., P. M., C. T. Aguilar and W. F. Molina. 2000. An overview of marine fish cytogenetics. Hydrobiologia, 420: 55–62.
- Hinegardner, R. and D. E. Rosen. 1972. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. Am. Nat., 106: 621–644.
- Hubbs, C. L. 1952. Antitropical distribution of fishes and other organisms. Symposium on problems of bipolarity and of pantemperate faunas. Proc. Seventh Pac. Sci. Congr. (Pac. Sci. Assoc.) 3: 324–329.
- Levan, A., K. Fredga and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201–220.
- Mabuchi, K., T. Kobayashi and T. Nakabo. 2000. Genetic differences between two *Pseudolabrus* species (Osteichthys: Labridae) from the southern coasts of Japan. Species Diversity, 5: 163–172.
- Mabuchi, K. and T. Nakabo. 1997. Revision of the genus *Pseudolabrus* (Labridae) from the East Asian waters. Ichthyol. Res., 44: 321–334.
- Matsumoto, K., K. Mabuchi, M. Kohda and T. Nakabo. 1997. Spawning behavior and reproductive isolation of two species of *Pseudolabrus*. Ichthyol. Res., 44: 379–384.
- 村松正實 (監訳). 2000. ゲノム: 新しい生命情報システムへのアプローチ. メディカル・サイエンス・イン

- ターナショナル, 東京. xxii+503 pp. (原著: Brown, T. A. 1999. Genomes. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK. xxviii+472 pp.)
- Ohno, S., U. Wolf and N. B. Atkin. 1968. Evolution from fish to mammals by gene duplication. *Hereditas*, 59: 169-187.
- 小島吉雄. 1983. 魚類細胞遺伝学. 水交社, 東京. 453 pp.
- Ojima, Y. and E. Kashiwagi. 1979. A karyotype study of eleven species of labrid fishes from Japan. *Proc. Japan Acad.*, (B) 55: 280-285.
- Ojima, Y. and E. Kashiwagi. 1980. Further studies of chromosomes of the Labridae (Pisces). *Proc. Japan Acad.*, (B) 56: 328-331.
- Ojima, Y. and K. Yamamoto. 1990. Cellular DNA contents of fishes determined by flow cytometry. *La Kromosomo II*, 57: 1871-1888.
- Randall, J. E. 1982. Examples of antitropical and antiequatorial distribution of Indo-West-Pacific fishes. *Pacif. Sci.* (1981) 35: 197-209.
- Russell, B. C. 1988. Revision of the labrid genus *Pseudolabrus* and allied genera. *Rec. Aust. Mus.*, suppl., 9: 1-72, pls. 1-4.
- 島田和彦. 2000. ベラ科. 中坊徹次 (編), pp. 969-1013. 日本産魚類検索 全種の同定 第2版. 東海大学出版会, 東京.
- Ueda, T., H. Naoi and R. Arai. 2001. Flexibility on the karyotype evolution in bitterlings (Pisces, Cyprinidae). *Genetica*, 111: 423-432.
- 上野紘一. 1995. ベラ科魚類における仁形成部位の染色体分布. 平成7年度日本水産学会秋季大会 (日本農学大会水産部会) 講演要旨集: 56.
- Warner, R. R. and D. R. Robertson. 1978. Sexual patterns in the labrid fishes of the Western Caribbean, 1: The wrasses (Labridae). *Smithson. Contr. Zool.*, 254: 1-27.
- 山田梅芳. 2000. フグ科. 中坊徹次 (編), pp. 1418-1431. 日本産魚類検索 全種の同定 第2版. 東海大学出版会, 東京.

Appendix 1. Materials measured for relative DNA content

Species	Color phase	SL (mm)	Locality	Date	Relative DNA content
FAKU 81574 <i>Pseudolabrus sieboldi</i>	IP	127.9	Shimoda, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	1 Aug. 2001	2.95
FAKU 81575 <i>P. sieboldi</i>	TP	141.7	Shimoda, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	1 Aug. 2001	3.03
FAKU 81576 <i>P. sieboldi</i>	IP	135.8	Suzaki, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	1 Aug. 2001	3.05
FAKU 81577 <i>P. sieboldi</i>	IP	96.3	Misaki, Miura Peninsula, Kanagawa Pref., Japan	27 Aug. 2001	3.05
FAKU 81578 <i>P. sieboldi</i>	IP	110.4	Misaki, Miura Peninsula, Kanagawa Pref., Japan	27 Aug. 2001	2.98
FAKU 81579 <i>P. sieboldi</i>	IP	112.0	Misaki, Miura Peninsula, Kanagawa Pref., Japan	27 Aug. 2001	2.95
FAKU 81580 <i>Pseudolabrus eoethinus</i>	IP	102.9	Iruma, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	10 Aug. 2001	2.92
FAKU 81581 <i>P. eoethinus</i>	IP	64.9	Iruma, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	10 Aug. 2001	2.87
FAKU 81582 <i>P. eoethinus</i>	IP	135.4	Iruma, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	10 Aug. 2001	2.94
FAKU 81583 <i>P. eoethinus</i>	IP	119.9	Iruma, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	10 Aug. 2001	2.95
FAKU 81584 <i>P. eoethinus</i>	TP	153.3	Iruma, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	10 Aug. 2001	2.91
FAKU 81585 <i>Halichoeres poecilopterus</i>	IP	132.1	Iruma, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	10 Aug. 2001	2.58
FAKU 81586 <i>Halichoeres tenuispinnis</i>	IP	77.1	Yahatano, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	9 Aug. 2001	2.15
FAKU 81587 <i>Thalassoma cupido</i>	IP	87.3	Yahatano, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	9 Aug. 2001	3.17
FAKU 81588 <i>Pteragogus aurigarius</i>	TP	91.5	Yahatano, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	9 Aug. 2001	4.95
FAKU 81589 <i>Pteragogus aurigarius</i>	IP	73.9	Yahatano, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	9 Aug. 2001	4.88
FAKU 81590 <i>Pteragogus aurigarius</i>	IP	69.6	Yahatano, Izu Peninsula, Shizuoka Pref., Japan	9 Aug. 2001	4.90
FAKU 81591 <i>Canthigaster rivulata</i>	—	87.8	Hayakawa, Odawara City, Kanagawa Pref., Japan	28 Oct. 2001	1.00