○今泉智通・黒川俊二*・汪光熙・伊藤操子
(京都大・農、*畜草研)

ワルナスビ (*Solanum carolinense* L.) は近年、日本での分布が急激に拡大している多年生帰化雑草である。農耕地では、種子が堆肥に混入して侵入すること、耕起により根が切断・散布され拡散することなどが報告されている。しかし、ワルナスビは非農耕地にも生育するので、ワルナスビの侵入・拡散機構を解明するには、上記以外の要因も明らかにする必要がある。本研究では、AFLP 法と RT-PCR による自家不和合性遺伝子のタイピングを用いて、非農耕地集団の遺伝的構造を解析し、農業要因のない場面における、侵入・拡散パターンならびに集団形成に関する要因を類推した。

【材料および方法】

調査場所：10 年以上前からワルナスビの分布が見られる、京都市高野川の高水敷と堤防法面（以下 2 つをあわせて河川敷とする）および周辺路傍に分布するワルナスビを対象とした。高野川は、年 2～3 回の刈取り除草、低木の剪定、植栽木の移植および移植時の施肥など京都府が管理し、周辺路傍は京都市が管理している。

AFLP 分析：図 1 に示した 17 分集団について AFLP 分析を行った。2002 年 7 月に各分集団から採取し、 -80°C で保存しておいた葉サンプルから、CTAB 法により DNA を抽出し、AFLP 分析に用いた。図 1 の 17 分集団のうち、12 分集団 88 サンプルを、AFLP core reagent kit (Invitrogen 社) と合成プライマーを用いて second PCR まで行い、ポリアクリルアミドゲル電気泳動・銀染色により AFLP 多型を検出した。そして、隣接する分集団間のデータを補足するため、残りの 5 分集団 83 サンプルの分析をした。この 83 サンプルと 12 分集団内で識別した 38 クローン（クローンとしたサンプルは、4 プライマーペアで平均 120.1 本が一致）を、ABI 社の蛍光プライマーを用いて second PCR を行い、ABI310 と Gene Scan を用いて AFLP 多型を検出した。

自家不和合性対立遺伝子の検出：2003 年 7 月、図 1 に示したうちの、7 分集団 42 シュートから柱頭を採取した。黒川ら (2002) の方法に従い、自家不和合性遺伝子を検出した。

【結果および考察】

AFLP 分析から得られた多型を表 1 に示した。分集団間の遺伝距離 (Nei, 1978) を NJ 法により表したところ、分集団 8 以外は河川敷分集団が 1 つのクラスターにまとまった (図 2)。また、サンプル間の Dice Similarity を求め NJ 法により表したところ、分集団 38, 39 以外は各分集団ごとに 1 つのクラスターにまとまった (図 3)。そして、自家不和合性遺伝子型は分集団間でよく似ており、全ての分集団に (S1/S11) の遺伝子型をもつ個体が存在した (図 4)。このことから、分集団 34～40 は同じ地域から侵入があったことが示唆された。そして、各分集団はそれぞれ、同じ個体あるいは親に由来する、繁殖体の侵入によって形成されたと推察される。分集団 34～40 の固定指数 (F_{ST}) を求めたところ、 $0.494 (\pm 0.027)$ となり、分集団間は分集団内に比べて遺伝的に分化していた。また、遺伝距離と分布に関係は見られず (図 5)、河川敷分集団内は少数のクローンが優占していた。したがって、分集団形成後は栄養繁殖中心に分集団を維持・拡大し、分集団間の遺伝的交流はあまりないことが示唆された。そして、複数の分集団にまたがって分布するクローンはほとんど見られなかったことから、クローンの拡大は分集団内に限られるといえる。ただし、クローン A (図 3) のみ、最大で約 2 km 離れた分集団 (4, 30, 38, 39) に存在した。分集団 30 と 38 の間にある分集団 34～37 にはこのクローンはなかったため、同じ地域から栄養繁殖体が侵入したと考えられる。

河川敷分集団が遺伝的に近かったことと (図 2)、河川敷と周辺路傍は異なる管理下におかれていることから、周辺路傍は河川敷とは別機会の侵入により形成されたと考えられる。しかし、河川敷サンプルと遺伝的に近縁な周辺路傍サンプルもあり (図 3)、種子散布による拡散が起きている可能性も否定できない。

Imaizumi, T., S. Kurokawa, G.-X. Wang and M. Ito: Population structure of *Solanum carolinense* L. in the Takano River as determined by molecular markers.

図1. 高野川ワルナスビ集団の分布図
○の大きさは分集団の大きさを表す
46, 47, 51, 53, 56, 57, 60が周辺路傍に分布
4, 8, 30, 38, 39, 46, 47, 51, 53, 56, 57, 60が初めの12分集団
34, 35, 36, 37, 40が追加した5分集団
柱頭サンプルは34, 35, 36, 37, 38, 39, 40から採取

図2. 分集団間の類似度関係図
スケールは遺伝距離 (Nei, 1978)

図4. 分集団34~40から検出された自家不和合性遺伝子型

図3. 各サンプルの類似度関係図
スケールは遺伝距離 (1-Dice Similarity)
数字は“分集団番号” - “分集団内番号”
アルファベットは6サンプル以上のクローンを表す

表1. 17分集団から得られたAFLP多型

	1クローンの平均 バンド数	2クローン間の平 均バンド数	2クローン間の平 均多型数	2クローン間の平 均多型率 (%)
E-ACT/M-CAT	81.3 (59-93)	94.2 (77-105)	25.7 (1-61)	27.0 (1.3-58.1)
E-AGG/M-CAG	42.5 (29-57)	57.0 (41-80)	29.0 (1-55)	50.2 (2.3-80.9)
E-ACA/M-CAG	66.8 (50-84)	84.9 (61-80)	36.3 (1-43)	42.2 (1.6-53.8)

図5. 分集団34~40の遺伝距離と分集団間距離の関係