

野生ダイズと栽培ダイズとの自然交雑集団の探索と収集 —秋田県および広島県における予備的調査—

加賀 秋人¹⁾・友岡 憲彦¹⁾・Ugen Phuntsho^{1) 2)}・黒田 洋輔¹⁾・
小林 伸哉^{3) 4)}・伊勢村 武久¹⁾・Miranda-Jonson Gilda¹⁾・
Duncan A. Vaughan¹⁾

1) 農業生物資源研究所・遺伝資源研究グループ・集団動態研究チーム

2) ブータン国遺伝資源センター

3) 神戸大学農学部附属食資源教育研究センター

4) 現国際農林水産業研究センター生物資源部

Exploration and Collection for Hybrid Derivatives Between Wild and Cultivated Soybean: Preliminary Survey in Akita and Hiroshima Prefectures, Japan

Akito KAGA¹⁾, Norihiko TOMOOKA¹⁾, Ugen PHUNTSHO^{1) 2)},
Yosuke KURODA¹⁾, Nobuya KOBAYASHI^{3) 4)}, Takehisa ISEMURA¹⁾,
Miranda-Jonson GILDA¹⁾ and Duncan A. VAUGHAN¹⁾

1) *Crop Evolutionary Dynamics Team, National Institute of Agrobiological Sciences,*
Kannondai 2-1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan

2) *National Biodiversity Center, Serbithang, Thumpiu, Bhutan*

3) *Food Resources Education and Research Center, Kobe University, Uzurano 1348,*
Kasai, Hyogo 675-2103, Japan

4) *Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Ohwashi 1-1, Tsukuba,*
Ibaraki 305-8686, Japan

Summary

Exploration missions were organized to find hybrid derivatives between cultivated soybean (*Glycine max*) and wild soybean (*G. soja*) in Japan. Presumed hybrid derivatives in NIAS Genebank accessions were screened for seed size and seed coat color in advance. The distribution of 100 seed weight of 439 Japanese wild soybean accessions showed a range from 0.85 to 7.34 g with an average 2.20 g, whereas 3,531 Japanese cultivars showed a range from 3.5 to 73.9 g with an average 27.8 g. There was an overlap between cultivated and wild soybean in the range from 3.50 to 7.34 g (Fig. 1). Most cultivated accessions in the overlapped range are lines developed from several large seeded wild soybeans for fodder. Japanese wild accessions can be classified into 338 wild (76.9%), 99 semi - wild type I (22.6%) and 2 semi

- wild type II (0.5%) from 100 seed weight and these two semi - wild types were collected throughout Japan. Based on an illustrated database of all wild accession seeds, 'JP68019' from Chiba prefecture, 'JP90927' from Iwate prefecture, 'JP201170' and 'JP201115' from Akita prefecture and 'JP110756' from Hiroshima prefecture included seeds with an unusual color or larger seeds than typical wild soybean (Photo 2). Although the sample number differs prefecture by prefecture, the semi - wild types or presumed hybrid derivatives between wild and cultivated soybean are distributed throughout Japan.

Preliminary exploration at the sites where previous passport data records of them are available was conducted in Hiroshima prefecture at the end of September and the beginning of November (Fig. 2, Fig. 3a), and in Akita prefecture at the end of October, 2003 (Fig. 2, Fig. 3b). During the mission in Hiroshima prefecture, bulk seed samples from 15 wild soybean populations and 2 wild azuki bean populations were collected at 8 sites. In Akita prefecture bulk seed samples from 15 wild soybean populations, 5 soybean cultivars and 1 azuki bean cultivar were collected at 9 sites (Table 2).

In Hiroshima prefecture, the distribution of wild soybean populations seems to be restricted due to frequent weeding and cutting around fields and we could not find large - scale soybean cultivation. The site where outcrosses might have occurred between cultivated and wild soybean is a river embankment where the intermediate 'JP110756' was collected. In Akita prefecture, we visit the sites where 'JP201170' and 'JP201115' were collected. In these sites we could not find the same phenotypes but seed without bloom on seed coat was found frequently.

This preliminary field survey for wild soybean resulted in identification of an intermediate individual between wild and cultivated soybean in one natural habitat (Photo 2). An intermediate type was found in the wild population on the road side about 15 m from soybean field at site 39 in Akita prefecture (Fig.3). Morphological characteristics of the individual clearly showed its intermediate status between cultivated and wild soybean (Photo 3, Table 1). These indicate that the individual is a hybrid or its derivative and gene introgression is occurring from cultivated into wild soybean. Seeds of the intermediate were retained in the pods whereas wild soybean seeds were already scattered from the pods (Photo 4). We left most of the seeds for future monitoring to determine whether the progenies can survive in the natural environment. This finding leads us to expand exploration throughout Japan next year for wild/cultivated hybrids.

KEY WORDS: *Glycine soja*, *Glycine max*, hybrid, intermediate, introgression, outcross

1. 目的と調査方法

遺伝子組換え作物の開放系利用における生物多様性の保全を目的とした導入遺伝子の環境拡散リスクの情報蓄積や多様性影響評価法の開発が求められている。導入遺伝子の環境拡散リスクは他殖性の組換え作物が一般に注目されがちであるが、自然交雑頻度が低いと考えられているイネやダイズ等の自殖性作物においても導入遺伝子の環境拡散リスクは存在する。東南アジアと中国では雑草型イネ^{1) 2)}、中国では雑草型ダイズ²⁾、国内では雑草型アズキ³⁾と呼ばれる栽培型と野生型との中間的な生態型の分布が報告されている。これら雑草型自生種の存在は自殖性作物から自生集団への遺伝子拡散だけでなく、拡散した遺伝子が自生集団内に長期的に残存する可能性

も示唆している。日本国内には自殖性の遺伝子組換え作物と交雑可能なダイズとアズキの野生種が広く分布しているが、栽培ダイズ (*Glycine max*) から野生ダイズ (*Glycine soja*) 自生集団への遺伝子拡散の実態把握を目的とした研究や現地調査はほとんど行われていない。そのため今回は野生ダイズと栽培ダイズとの自然交雑後代 (中間型) が含まれるような自生集団を探索した。

探索に先立って、農林水産ジーンバンクに保存されている国内産の栽培ダイズおよび野生ダイズの系統間あるいは系統内の変異を調査し、現地調査地域の選定を試みた。439 系統の野生ダイズと 3,531 品種 / 系統の栽培ダイズの種子重に関する変異を比較したところ、栽培ダイズの 100 粒重は 3.5 g から 73.9 g (Fig.1 left), 野生ダイズの 100 粒重は 0.85 g から 7.34 g の変異 (Fig.1 right) を示した。栽培ダイズ (27.8 g) と野生ダイズ (2.20 g) の平均値は大きく異なるが、両者の変異が 3.50 g から 7.34 g の間で重なっていた。野生ダイズに近い粒重を示した栽培ダイズの来歴は主に沖縄県の栽培種や飼料用系統であった。飼料用系統のなかには野生ダイズから育成されたものが含まれている。関塚・吉山⁴⁾ はその飼料用系統の純系分離に用いた鳥取県、栃木県、茨城県の野生ダイズに種子重、種皮色などに大きな変異を認めている。

一方、野生ダイズ系統には平均値 2.20 g よりも明らかに大きな種子の系統が複数含まれていた。そのような系統は中国でも見出されており、野生ダイズ 5,300 系統の 18.9% が半野生型であると報告されている⁵⁾。その文献に基づいて野生型 (<2.5 g)、半野生型 I(2.51-5.0 g) および II(>5.0 g) に分類すると、国内の野生ダイズは野生型 (76.9%)、半野生型 I(22.6%) および半野生型 II(0.5%) になった。これを県別に見た場合、秋田 (26/157 系統)、山形 (27/94)、新潟 (10/13)、福島 (6/12)、千葉 (2/5)、愛知 (1/4)、福井 (2/3)、滋賀 (2/4)、広島 (3/4)、島根 (1/1) および福岡 (2/4) となり、全国各地に分布していることがわかった。その他、今までに 100 粒重が 2.5 g 以上の野生ダイズが報告されている県は主に鳥取、栃木、茨城⁴⁾ である。

粒重は遺伝的に安定した形質ではあるが、遺伝資源の増殖条件による変動も考えられるので、種子の画像データベースを作成し、種皮色等のさらに安定した系統内変異を調査した。その結果、ろう紛のない黒種子を含む系統は全国各地に存在し、なかでも広島県において収集された 'JP110756' の 100 粒重は約 6.0 g であった。一方、岩手県の 'JP90927'、秋田県の 'JP201115' および 'JP201170'、千葉県の 'JP68019' にはやや汚れのある緑色種皮が含まれていた (Photo 1)。黒色種皮および種皮のろう紛は野生ダイズに特徴的であるが、栽培種に野生種を交雑した F₁ 雑種は種皮色がやや汚れのある緑色になり⁶⁾、さらにその雑種後代では種皮色およびろう紛の有無が遺伝的に分離すると報告されている⁷⁾ ことなどから、上記の系統・個体は栽培ダイズから野生ダイズへの遺伝子浸透を示唆している。

そこで本年度は次年度以降の予備的調査として、このような系統が比較的最近に収集されている広島県 (Photo 1, Fig.2a) と秋田県 (Photo 1, Fig.2b) において、過去の収集地点付近を中心とした現地調査を行った。中間型個体は栄養生長期～成熟期では野生ダイズよりも本葉が大きく、茎が太いなどの特徴、さらに成熟期では種皮の遺伝的分離などが期待されるので、それらを個体毎に念入りに調査しつつ種子を収集した。広島県では 2 度の探索を行い、1 度目は各集団 5～10m 毎に選んだ個体にラベルを取り付け、草丈、茎の直径、茎色等形質の調査と DNA 解析用の葉のサンプリング、2 度目はラベルを取り付けた個体からの莢および種子を収集した。各地点では GPS によって緯度経度、高度計によって標高を測定し、植生や収集地点付近のスケッチを記載した。以下、探索の順序に従って、各収集地点において気が付いた観察事項を述べる。

2. 収集地点および収集品の特徴

2-1. 広島県本郷町周辺

上記の中間型個体が1998年に収集された広島県本郷町の沼田川河川敷(098-27)を2003年9月24日に訪れた。県道33号が通る堤防と川沿いの土手にはさまれた河川敷には多数の家庭菜園があり、砂質土壌に様々な作物が栽培されていた。国道2号線北側を調査したところ、野生ダイズ集団(CED2003-16PopA～D)がパッチ状に見つかった。当時の収集サイトでは小規模な野生ダイズ集団(CED2003-16PopC)を確認した。かつてこの集団は川沿いに自生するシノダケ(*Pseudosasa japonica*)と土手の間に分布し、当時の集団サイズは100m²程度であった。しかし、今回その場所は篠竹に占拠され、シノダケのなかにも分布する個体はあるものの、十数個体程度に縮小していた。さらにそれら個体群の形態は周辺の野生型とほとんど同じで、明らかに中間型と思われる個体は認められなかった。その反対側に位置する土手のスロープには除草を免れた野生ダイズ集団(CED2003-16PopB)が分布していた。また菜園をはさんだ堤防側の脇にも集団(CED2003-16PopD)が認められた。これら3集団は早生のエダマメ用ダイズや晩生の正月用の黒ダイズから約10mの距離に分布し、栽培ダイズと自然交雑する可能性があった。一方、CED2003-16PopAは最も規模が大きく、堤防から土手までの放棄地の中に連続的に分布していた。川側の土手のスロープには除草を逃れたカナムグラが生い茂り、そのなかには大きな葉を持つ個体群が分布していた。次に沼田川上流の河川敷、水田周りを探索したが、この一帯は農地整備が進んでおり、圃場管理が良好で、雑草が生い茂るような場所は非常に限られていた。そのなかで放棄畑とその周辺に分布する野生ダイズ集団(CED2003-16PopE)を2003-16サイトで見出した。さらに近辺の畦と土手の間にはヤブツルアズキ集団(CED2003-16)が分布していたので、種子を収集した。同じ水系で下流に位置する2003-17サイトでは、比較的大きな野生ダイズ集団(CED2003-17PopF)およびヤブツルアズキ集団(CED2003-17)が土手の川側に自生していた。これまで広島県ではヤブツルアズキが収集されておらず、今回貴重な材料を得ることができた。一方、098-27サイトの対岸は野生ダイズ集団が極めて少なく、2003-18サイトにおいてようやく小規模な集団(CED2003-18PopG)を見出した。この場所は新幹線の高架建設で出現した工事現場跡で、最近侵入した集団と思われる。これより5km上流まで探索し、最近農地整備された水田の畦(2003-19サイト)に比較的大きな野生ダイズ集団(CED2003-19PopH)が分布していた。

11月5日からの探索では前回のサイトを再訪問した。野生ダイズ各個体の莢を剥き、種子の大きさと色を確認しつつ、集団単位およびラベルした個体単位の種子を収集した。特に098-27サイトのCED2003-16PopB集団ではろう紛のない種子(100粒重3g程度)が得られたが、期待していた大きな葉を持つ個体群を含め、どの個体群からも1998年の探索で見つかったようなろう紛のない大きな種子(100粒重5g程度)は得られなかった。近辺で農作業していた婦人の話では3～4年前の洪水で土手が決壊し、土手とともに菜園が一度全て消失したそうなので、このサイトでは当時の個体群や埋土種子は前回の洪水で流され、その後新たな個体群が定着したとも考えられる。さらに、下流500mを新たに探索したところ、国道2号線南側に堤防と川沿いの土手にはさまれた河川敷(2003-39.5サイト)に分布する集団を新たに見出した。河川敷には098-27サイトと同様に多数の家庭菜園があり、砂質土壌に様々な作物が栽培されていた。野生ダイズ集団(CED2003-39.5PopA～E)は主にその周囲の荒地に分布し、CED2003-39.5PopC集団はやや種子が大きく、CED2003-39.5PopB集団はダイズから約1mの至近距離まで分布していた。また、家庭菜園のなかにも分布していたCED2003-39.5PopD集団ではろう紛のない種子が含まれていた。しかし、このサイトにおいても大きな種子は得られなかった。次に、このサイト

から南下し、天井川周辺の水田地帯を探索したところ、灌漑用水路まわりのスペースに繁茂する比較的大きな野生ダイズ集団 (CED2003-40PopA ~ B) を見出した。栽培ダイズ圃場から約 10m の距離に分布していたので各個体の種子を隈なく調べたが、顕著な形態的変異は認められなかった。

2-2. 秋田県大曲市周辺

2003 年 10 月 29 日から 31 日に秋田県における中間型個体の探索を行った。最初に調査した 2003-30 および 31 サイトは雄物川の河川敷に位置し、Fujita ら⁸⁾ が報告している野生ダイズ集団は恐らくこの近辺のものと思われる。この周辺の集団内の遺伝的多様性および自然交雑率は他の野生ダイズ集団内よりも高いと報告されているので、栽培種と野生種の浸透交雑が期待された。大川橋北側 (2003-30 サイト) の野生ダイズ集団 (CED2003-30) は休耕圃場の周辺約 300m にわたり分布していた。約 1 m 間隔で各個体の莢に含まれる種子の変異を調査したところ、1 莢内の粒数が少なく、熟期の遅い個体が 1 個体見つかった。種子はやや大きかったものの、雑種後代に認められるような種子色の変異は認められなかった。さらに大川橋南側 (2003-31 サイト) の野生ダイズ集団 (CED2003-31) は雄物川沿いの土手約 250m にわたり分布していた。同様の調査を行ったが、種子色の変異は認められなかった。

次に中間型と思われる個体が含まれていたジーンバンク保存系統の経歴を辿ると、それらはジーンバンク事業で中村ら⁹⁾ が収集した系統であった。主に雄物川流域の河川で収集されたものであり、当時の収集地点の記録 (橋名) を頼りに探索が可能であった。秋田市に近い河辺郡雄和町本田橋西側 (2003-32 サイト) の岩見川河川敷内と土手南側の畑の中にある荒地で小さな野生ダイズ集団 (CED2003-32) を見つけた。岩見川北側にはダイズ畑があり、3 種類の在来ダイズ (白丸種子 CED2003-32C1, 緑扁平種子 CED2003-32C2, 黒扁平種子 CED2003-32C3) が残っていたので収集した。これより西に進んだ芝野橋西側 (2003-33 サイト) の土手南側には小規模な集団 (CED2003-33) が分布していた。2003-32,33 サイトでは過去にろう紛のないやや大きな種子 (100 粒重 3g 程度) が収集されているが、今回そのような種子は得られなかった。次に、仙北郡西仙北町峰吉川橋周辺で収集された系統のなかに緑色種子が含まれていたため、その近辺を隈なく探した。採石場近傍で休耕圃場 (2003-34 サイト) 周辺に分布する野生ダイズ集団 (CED2003-34C) を見つけた。なかでも休耕圃場南東隅の雑草に絡まって局所的に分布していた個体群 (CED2003-34A) は休耕圃場に分布する個体よりも明らかに草姿や種子が大きかった。また、休耕圃場中央水路跡の湿った場所にはろう紛のない種子をつける個体群 (CED2003-34B) が局所的に分布していた。隣の畑では白アズキ (CED2003-34D) が栽培されていた。次に訪れた雄物川強首橋とその周辺は最近整備された模様で、野生ダイズ集団 (CED2003-35) は休耕圃場周辺部 (2003-35 サイト) に限られていた。この場所ではかつてろう紛のないやや大きな種子 (100 粒重 3g 程度) が収集されているが、今回そのような種子は得られなかった。仙北郡中仙町齋内橋周辺でかつて収集された系統のなかに緑色種子が含まれていたため、その近辺を隈なく探した。齋内橋西側 (2003-36 サイト) の資材置き場跡の荒地と盛土に野生ダイズ集団 (CED2003-35B) が分布していた。一方、圃場横の用水路周辺には、ろう紛のないやや大きな種子を持つ個体群 (CED2003-35A) が分布していた。

ここまでの探索では表記したサイト以外の場所も調査したが、野生ダイズ集団が栽培ダイズと隣接分布する場所は見当たらなかった。探索時期が遅かったことも考えられるが、収穫時期の遅い在来ダイズは所々残っていたので、在来ダイズの栽培が期待される山間地の自生集団を調査することにした。山間地における探索の場合、採石場跡地で野生ダイズおよび野生アズキ

集団が見つかりやすいことが鳥取県の調査¹⁰⁾ でわかっていたので、まず採石場跡地を探した。仙北郡中仙町から山間地に入って最初に訪れた採石場跡地 (2003-37 サイト) で野生ダイズ集団 (CED2003-37A) を見出した。自然に形成された水溜りや溝の周辺の湿った場所にはろう紛のない黒種子を有する個体群 (CED2003-37B) が分布していた。次の採石場跡地 (2003-38 サイト) においても野生ダイズ集団 (CED2003-37AB) を見出した。この場所ではろう紛のない黒種子とろう紛のあるものが入り混じっていた。これらの採石場跡地に見つかった集団は恐らく最近侵入・形成されたと思われる。

山間地においても野生ダイズの分布が認められたので、県道沿いのダイズ栽培圃場を探索し、角館町八割の窪地 (2003-39 サイト) で栽培ダイズを見つけた。近辺の住人によるとこの場所は下の村の人の所有地で、農協の勧めで5年ほど前からダイズを転作しているが、収穫せずに毎年放置されているらしい。残っていた栽培ダイズの種子色には2種類 (茶色 CED2003-39C1 および緑 CED2003-39C2) の変異が認められた。圃場横のスロープと未舗装の道路脇にはやや弱々しい野生ダイズ集団 (CED2003-39) が分布していた (Photo 2)。各個体を念入りに調査したところ、砂利が敷かれた道路脇の雑草の少ない場所でススキに絡みついた裂莢していない個体を見出した (Fig.3)。この個体の種子は大きく、種子色が栽培種に類似し (Photo 3)、半直立型で莢の色は周辺の野生ダイズ個体と類似するなど (Photo 4)、栽培種と野生種の間的な特徴 (Table 1) を示していたことから、栽培種と野生種との自然交雑によって生じた雑種あるいはその後代 (中間型) と考えられる。真横の野生ダイズは多数の種子を散布していたのに対し、中間型個体の種子はほとんど莢の中に残っていた (Photo 4)。自生地において中間型個体の種子から後代が成立するか経時的にモニタリングするために、種子の収集は2粒のみとした。また、この個体が見つかった場所はダイズ畑から約15m離れていたが (Fig.3)、そこから栽培ダイズが確認できた。

Table 1. Comparison of morphological characteristics between cultivated, intermediate and wild soybean.

	Cultivated	Intermediate	Wild
Seed coat color	green, tan	dark brown	black
Bloom on seed coat	absent	present	present
Pod color	brown	dark brown	dark brown
Pod dehiscence	absent	absent	present
Growth habit	determinate	determinate	indeterminate
Stem type	erect	semi-erect	climbing
No. of seed /pod	2	1-3	3
Total no. of pod	-	35	73
1 seed weight (mg)	326	92	24

3. 探索のまとめと所感

野生ダイズと栽培ダイズとの自然交雑後代(中間型)が含まれる自生集団の探索を広島県と秋田県で実施した。広島県では8サイトのパスポートデータを記録し、野生ダイズ15点、これまで広島県で収集されていなかった野生アズキ2点を収集した。秋田県では9サイトのパスポートデータを記録し、野生ダイズ15点、栽培ダイズ5点、栽培アズキ1点を収集した(Table 2)。これまでの野生アズキ集団の探索と比較し野生ダイズ集団では中間型が極めて少ない印象を受けた。栽培-野生ダイズ間の自然交雑頻度が低いのか、栽培ダイズ由来の形質が自生地に残りにくいのかを模擬的実験から明らかにしていく必要がある。

広島県本郷町周辺では農地整備された水田が多く、除草も頻繁であることから、野生ダイズが繁茂できる場所は河川敷などに限られていた。ダイズの大規模栽培が全く認められないので、この地域の野生ダイズとの自然交雑は河川敷などで自家栽培されていた黒ダイズなどの在来種が疑われる。また、過去に河川敷で中間型が見つまっていることから、自家栽培のような小規模な栽培であっても野生ダイズとの自然交雑が生じる可能性を示唆している。広島県における第1回の調査では河川敷で周辺の野生ダイズ個体群に比べ葉や茎が明らかに大きい個体群を見つけたが、第2回の調査で得られた種子は残念ながら周辺の個体群と明確な違いが認められなかった。これらが栽培種との自然交雑を経験したかを判定するにはDNA分析が必要である。

秋田県での探索は時期が遅かったこともあり、ダイズが大規模に栽培された場所がわからず、栽培ダイズと隣接した野生ダイズ集団が特定できなかった。次年度以降の調査では開花時期に訪問し、栽培ダイズと隣接した集団を探索する必要がある。しかしながら、ジーンバンク事業の調査記録が大いに役立ち、数集団については過去と現状の比較が可能であった。例えば、10年前に緑色種子が含まれていた野生ダイズ集団が収集された地点付近ではろう紛のない黒種子を有する個体が分布し、ろう紛のない黒種子が収集された場所ではろう紛のない黒種子を有する個体が認められなかった。ろう紛は種子の硬実性と密接に関係し、ろう紛のない種子は吸水しやすいことが報告されている⁴⁾。そのため、今回現地で見られた種子形質は遺伝子浸透を経験した集団における栽培種由来の形質の淘汰を示唆している。また、全国各地で収集されたジーンバンク保存系統内にろう紛のない黒種子が含まれていたため、ろう紛のない黒種子も遺伝子浸透を評価する上で重要かもしれない。

秋田県の最後のサイトでは野生ダイズと栽培ダイズとの中間的な特徴を持つ個体が見つかった。これは国内の自生地における初めての記録である。野生ダイズの開花期が栽培ダイズとどのように同調していたかは明らかでないが、この個体は栽培ダイズから野生ダイズへの自然交雑によって生じたものと考えられる。また、野生ダイズ集団内の変異が認められないこと、栽培ダイズの転作がはじまったのが5年前であることから、この中間型個体は比較的最近生じたものと思われる。中間型個体の生息地が特定できたことで、今後その後代がどのように変化していくのか楽しみである。次年度は生息地における中間型後代の残存性のモニタリングを継続するとともに、今回の調査の反省点を反映した探索を各地で展開したいと考えている。

4. 引用文献

- 1) H. I. Oka, H. Morishima: Variations in the breeding systems of a wild rice, *Oryza perennis*. *Evolution* 21, 249-258(1967).
- 2) B. R. Lu, Z. Song, J. Chen: Gene flow from crops to wild relatives in Asia, case studies and general expectations, pp 29-36 In, *The 7th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms*, Beijing, China(2002).

- 3) N. Tomooka, A. Kaga, D.A. Vaughan, N. Kobayashi, T. Yoshida, T. Nobori, T. Komatsuzaki, M. Akiba, T. Omizu, T. Taguchi, B. Pickersgill: Monitoring and collecting of the azuki bean complex (*Vigna angularis*) genepool in Tottori, Okayama, Ibaraki and Tochigi prefectures, Japan, 2000, Annual report on exploration and introduction of plant genetic resources, NIAR, 17, 17-32(2001).
- 4) S. Sekizuka, T. Yoshiyama: Studies on the native wild grasses for fodder, (IV) Crop-scientific studies on the wild species of *Glycine soja* in Japan, Journal of Kantou-Tosan Agricultural Experimental Station 15, 57-73(1960).
- 5) B. Xu, H. Xu, B. Zhuang, Q. Lu, Y. Wang, F. Li: Polymorphism and geographical distribution of seed characters of wild soybean (*G. soja*) in China, Acta Agronomica Sinica 21, 733-739(1995).
- 6) K. Karasawa: Crossing experiments with *Glycine soja* and *G. ussuriensis*, Japanese Journal of Botany 8, 113-118 (1936).
- 7) 海妻矩彦, 小野富士人, 福井重郎, 桜井健策: ダイズ (*Glycine max* (L.) Merrill) とツルマメ (*G. soja* Sieb. and Zucc.) の種間交雑 F2 世代における質的形質の遺伝について: 岩手大学農学部報告 15, 1-9 (1980).
- 8) R. Fujita, M. Ohara, K. Okazaki, Y. Shimamoto: The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*), Journal of Heredity 88, 124-128 (1997).
- 9) 中村茂樹, 菊池彰夫, 高橋浩司: 東北地域の野生大豆 (ツルマメ) の収集 1) 秋田県内雄物川流域河川の収集, 植探報 10, 53-58(1994).
- 10) 加賀秋人, Ouk-Kyu HAN, 平島信也, Paramanathen SARAVANKUMAR, H. M. P. S. KUMARI, Miranda-Jonson GILDA, 友岡 憲彦, ダンカン ヴォーン: 鳥取県におけるアズキ (*Vigna angularis*) 栽培-雑草-野生種複合集団の収集とモニタリング, 植探報 20, 61-74(2003).

Table 2. Location, latitude, altitude of each population and habitat description.

Site No.	First visit date			Sampling date			CED No.	Species	Status	Locality	Locality	Latitude (N)			Longitude (S)			Altitude (m)	Toporogy	Population size (mxm)	Growth stage	Seed samples	Habitat, some characteristics
098-27	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-16PopA	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 本郷町 大字本郷	Ooazahongo, Hongo, Hiroshima	34	24	30	132	58	57	8	plain	10x25	matured	13 individuals	inside abandoned place in a river, open, dry
098-27	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-16PopB	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 本郷町 大字本郷	Ooazahongo, Hongo, Hiroshima	34	24	27	132	59	0	8	plain	15x15	matured	1 individuals	inside abandoned place in a river, open, dry, 10m from cultivated soybean
098-27	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-16PopC	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 本郷町 大字本郷	Ooazahongo, Hongo, Hiroshima	34	24	24	132	59	0	8	plain	15x15	matured	2 individuals	around population of Pseudosasa japonica on a river embankment, open, dry to wet, previously intermediate collected
098-27	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-16PopD	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 本郷町 大字本郷	Ooazahongo, Hongo, Hiroshima	34	24	28	132	59	0	8	plain	15x15	matured	4 individuals	inside abandoned place in a river bed, open, dry
2003-16	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-16PopE	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 本郷町 舟木	Funaki, Hongo, Hiroshima	34	26	8	132	58	42	13	plain	15x15	matured	7 individuals	inside abandoned place and around paddy field, open, wet
2003-16	2003	9	24	2003	9	24	CED2003-16	<i>Vigna angularis</i> var. <i>nipponensis</i>	wild	広島県 本郷町 舟木	Funaki, Hongo, Hiroshima	34	26	8	132	58	42	13	plain	3x1	flowering-mature	bulk	on a slope of paddy, open, dry
2003-17	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-17PopF	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 本郷町 舟木	Funaki, Hongo, Hiroshima	34	25	39	132	58	49	13	plain	3x75	matured	8 individuals	on a river embankment, open, dry
2003-17	2003	9	24	2003	9	24	CED2003-17	<i>Vigna angularis</i> var. <i>nipponensis</i>	wild	広島県 本郷町 舟木	Funaki, Hongo, Hiroshima	34	25	39	132	58	49	13	plain	3x40	flowering-mature	bulk	on a river embankment, open, dry
2003-18	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-18PopG	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 本郷町 大字本郷	Ooazahongo, Hongo, Hiroshima	34	25	7	132	58	43	13	mountain	4x1	matured	2 individuals	around a repaired landslide, open to shade, wet
2003-19	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-19PopH	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 本郷町 大字本郷	Ooazahongo, Hongo, Hiroshima	34	26	32	132	56	58	45	plain	1.5x30	matured	4 individuals	on a slope of paddy, open, dry
2003-39.5	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-39.5-A	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 沼田西町 小原	Obara, Numatanishi, Hiroshima	34	24	17	132	59	20	7	plain	25x100	matured	bulk	inside abandoned place in a river, open, dry
2003-39.5	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-39.5-B	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 沼田西町 小原	Obara, Numatanishi, Hiroshima	34	24	17	132	59	20	7	plain	25x100	matured	bulk	inside abandoned place in a river, open, dry, very close (1m) to cultivated soybean
2003-39.5	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-39.5-C	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 沼田西町 小原	Obara, Numatanishi, Hiroshima	34	24	17	132	59	20	7	plain	3x10	matured	bulk	on a river embankment to a abandoned place, shade, dry, large seed
2003-39.5	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-39.5-D	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 沼田西町 小原	Obara, Numatanishi, Hiroshima	34	24	17	132	59	20	7	plain	5x5	matured	bulk	inside abandoned place around field, open, dry
2003-39.5	2003	9	24	2003	11	5	CED2003-39.5-E	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 沼田西町 小原	Obara, Numatanishi, Hiroshima	34		17	132	59	20	7	plain	1x5	matured	bulk	on a river embankment, shade, dry, very close to cultivated soybean
2003-40	2003	11	6	2003	11	6	CED2003-40-A	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 広島市 沼田東町 七宝	Shippou, Numatahigashi, Hiroshima	34	23	13	133	1	74	10	plain	1x10	matured	bulk	around drainage ditch, open, dry, 10m from cultivated soybean
2003-40	2003	11	6	2003	11	6	CED2003-40-B	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 広島市 沼田東町 七宝	Shippou, Numatahigashi, Hiroshima	34	23	13	133	1	74	10	plain	2x100	matured	bulk	around drainage ditch, open, dry
2003-41	2003	11	6	2003	11	6	CED2003-41	<i>Glycine soja</i>	wild	広島県 福山市 赤坂町 大字赤坂	Ooaza Akasaka, Akasaka-machi, Fukuyama, Hiroshima	34	28	5	133	18	34	19	plain	2x30	matured	bulk	inside abandoned field, open, dry
2003-30	2003	10	29	2003	10	29	CED2003-30	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 角間川町 大川橋	Ookawabashi, Kakumagawa-machi, Akita	39	24	41	140	27	88	27	plain	2x200	Past-maturity	bulk	around abandoned field, open, dry

Table 2. (continued).

Site No.	First visit date			Sampling date			CED No.	Species	Status	Locality	Locality	Latitude (N)			Longitude (S)			Altitude (m)	Toporogy	Population size (mxm)	Growth stage	Seed samples	Habitat, some characteristics
2003-31	2003	10	29	2003	10	29	CED2003-31	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 平鹿郡 大森町 板井田 川虎淵	Kawatorabuchi, Sakaida, Oomori-machi, Hirashika-gun, Akita	39	23	95	140	27	82	25	plain	5x250	Past-maturity	bulk	on a slope of river bank, open, dry
2003-32	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-32	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 川辺郡 雄和町 草川 本田橋	Hondenbashi, Kusakawa, Yuuwa-machi, Kawabe-gun, Akita	39	38	95	140	9	16	20	plain	4x20	Past-maturity	bulk	inside abandoned place around river bank, open, dry
2003-32	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-32C1	<i>Glycine max</i>	cultivated	秋田県 川辺郡 雄和町 草川 本田橋	Hondenbashi, Kusakawa, Yuuwa-machi, Kawabe-gun, Akita	39	38	95	140	9	16	20	plain		Past-maturity	bulk	cultivated field, open, dry, white seed coat
2003-32	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-32C2	<i>Glycine max</i>	cultivated	秋田県 川辺郡 雄和町 草川 本田橋	Hondenbashi, Kusakawa, Yuuwa-machi, Kawabe-gun, Akita	39	38	95	140	9	16	20	plain		Past-maturity	bulk	cultivated field, open, dry, green seed coat
2003-32	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-32C3	<i>Glycine max</i>	cultivated	秋田県 川辺郡 雄和町 草川 本田橋	Hondenbashi, Kusakawa, Yuuwa-machi, Kawabe-gun, Akita	39	38	95	140	9	16	20	plain		Past-maturity	bulk	cultivated field, open, dry, black seed coat
2003-33	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-33	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 川辺郡 雄和町 芝野新田 芝野橋	Shibanobashi, Shibano-Shinnden, Yuuwa-machi, Kawabe-gun, Akita	39	39	1	140	8	36	19	plain	1x10	Past-maturity	bulk	on a slope of river bank, open, dry
2003-34	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-34-A	<i>Glycine soja</i>	mixed	秋田県 仙北部 西仙北町 刈和野 峰吉川	Mineyoshigawa, Kariwano, Nishi Senboku-machi, Senboku-gun, Akita	39	33	7	140	21	69	16	plain	10x10	Past-maturity	bulk	around abandoned place, shade, wet, large seed
2003-34	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-34-B	<i>Glycine soja</i>	mixed	秋田県 仙北部 西仙北町 刈和野 峰吉川	Mineyoshigawa, Kariwano, Nishi Senboku-machi, Senboku-gun, Akita	39	33	7	140	21	69	16	plain	2x20	Past-maturity	bulk	around drainage ditch between abandoned place, open, wet, seed coat without bloom
2003-34	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-34-C	<i>Glycine soja</i>	mixed	秋田県 仙北部 西仙北町 刈和野 峰吉川	Mineyoshigawa, Kariwano, Nishi Senboku-machi, Senboku-gun, Akita	39	33	7	140	21	69	16	plain	2x20	Past-maturity	bulk	around drainage ditch of abandoned place, open, wet
2003-34	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-34-D	<i>Vigna angularis</i> var. <i>angularis</i>	cultivated	秋田県 仙北部 西仙北町 刈和野 峰吉川	Mineyoshigawa, Kariwano, Nishi Senboku-machi, Senboku-gun, Akita	39	33	7	140	21	69	16	plain		Past-maturity	bulk	cultivated field, open, wet, white seed coat
2003-35	2003	10	30	2003	10	30	CED2003-35	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 仙北部 西仙北町 強首 強首橋	Kowakubibashi, Kowakubi, Nishi Senboku-machi, Senboku-gun, Akita	39	33	69	140	17	50	16	plain	2x10	Past-maturity	bulk	around drainage ditch of abandoned place, open, dry
2003-36	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-36-A	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 仙北部 中仙町 長野 齊内橋	Sainaibashi, Nagano, Nakasen-machi, Senboku-gun, Akita	39	32	16	140	31	78	32	plain	1x10	Past-maturity	bulk	around drainage ditch, shade, wet, seed coat without bloom
2003-36	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-36-B	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 仙北部 中仙町 長野 齊内橋	Sainaibashi, Nagano, Nakasen-machi, Senboku-gun, Akita	39	32	16	140	31	78	32	plain	8x10	Past-maturity	bulk	inside abandoned place, open, dry
2003-37	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-37-A	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 仙北部 中仙町 立石	Tateishi, Nakasen-machi, Senboku-gun, Akita	39	32	12	140	30	38	83	mountain	5x200	Past-maturity	bulk	inside abandoned quarry, open, dry
2003-37	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-37-B	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 仙北部 中仙町 長野 齊内橋	Tateishi, Nakasen-machi, Senboku-gun, Akita	39	32	12	140	30	38	83	mountain	5x100	Past-maturity	bulk	inside abandoned quarry, open, wet
2003-38	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-38-A	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 仙北部 西仙北町 土川 長持沢 (立石地区)	Nagamochizawa, Tsuchikawa, Nishi Senboku-machi, Senboku-gun, Akita	39	32	43	140	29	66	82	mountain	3x10	Past-maturity	bulk	inside abandoned quarry, open, wet
2003-38	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-38-B	<i>Glycine soja</i>	wild	秋田県 仙北部 西仙北町 土川 長持沢 (立石地区)	Nagamochizawa, Tsuchikawa, Nishi Senboku-machi, Senboku-gun, Akita	39	32	43	140	29	66	82	mountain	3x10	Past-maturity	bulk	around drainage ditch, open, dry
2003-39	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-39	<i>Glycine soja</i>	mixed	秋田県 角館町 八割	Hachiwari, Kakunodate, Akita	39	34	29	140	31	23	63	mountain	2x30	Past-maturity	bulk	on a slope between paddy and road, open, dry, 15m from cultivated soybean
2003-39	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-39C1	<i>Glycine max</i>	cultivated	秋田県 角館町 八割	Hachiwari, Kakunodate, Akita	39	34	29	140	31	23	63	mountain		Past-maturity	bulk	cultivated field, open, dry, tan seed coat
2003-39	2003	10	31	2003	10	31	CED2003-39C2	<i>Glycine max</i>	cultivated	秋田県 角館町 八割	Hachiwari, Kakunodate, Akita	39	34	29	140	31	23	63	mountain		Past-maturity	bulk	cultivated field, open, dry, green seed coat

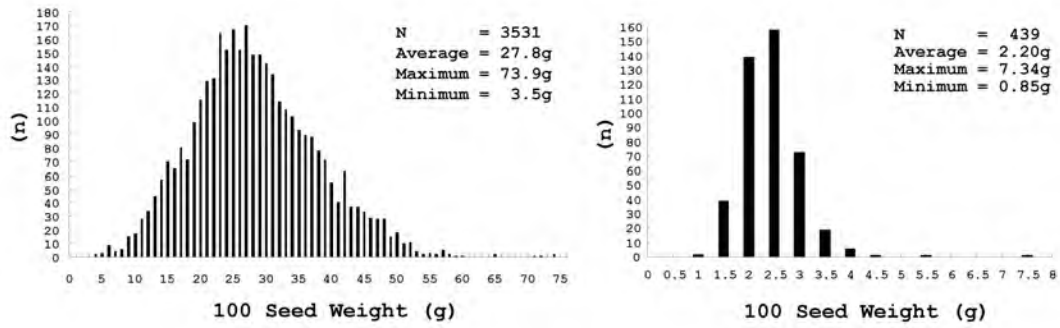


Fig.1. Frequency distribution of 100 - seed weight among cultivated (left) and wild (right) soybean collections in MAFF Genebank.

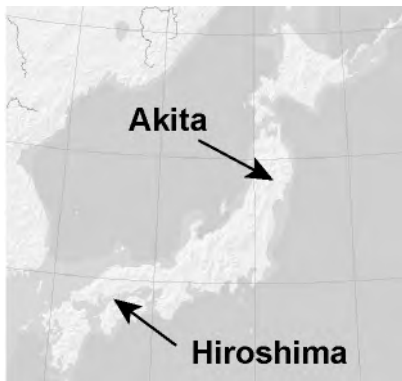


Fig.2. Distribution of surveyed areas in Japan.

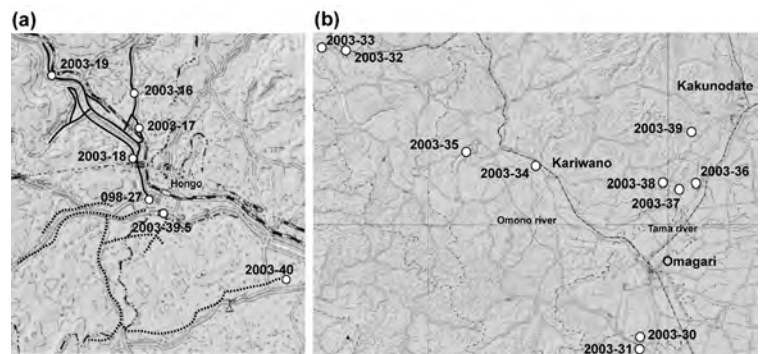


Fig. 3. Distribution of visited sites in Hiroshima (a) and Akita (b) prefectures. Bold and dotted lines indicate exploration route of 1st and 2nd visits in Hiroshima prefecture, respectively.

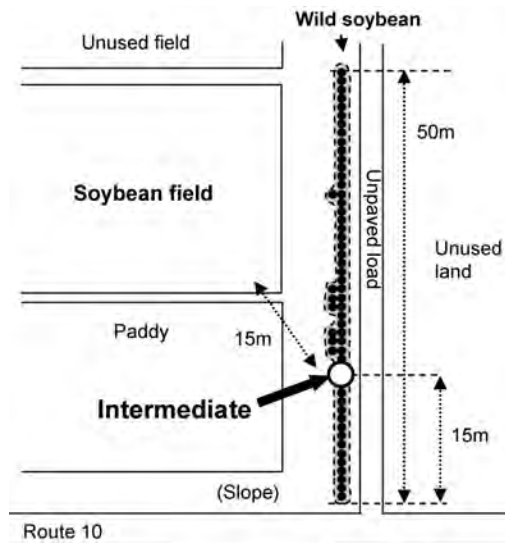


Fig. 4. Location of intermediate type (white circle) found in 2003-39 site. Black circles enclosed indicate locations of wild soybean. The intermediate individual was found in the wild population 15m from soybean field.

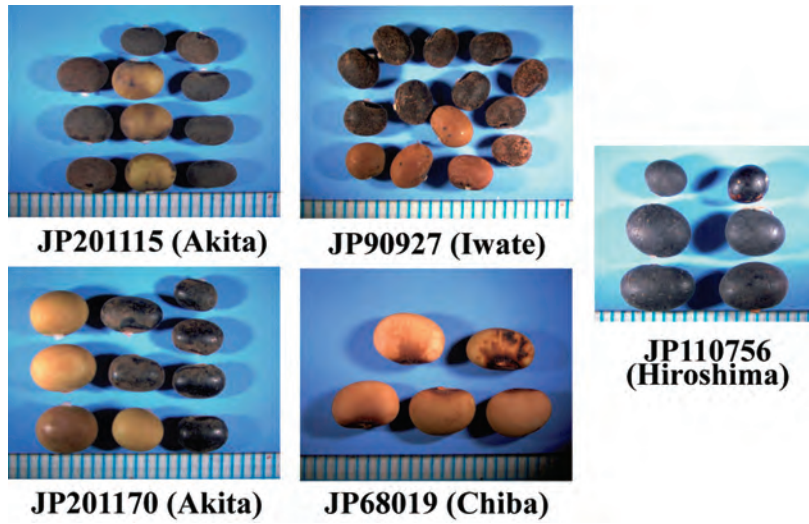


Photo 1. MAFF Genebank wild soybean accessions of which variations on seed color, shape or size were observed.



Photo 2. Intermediate (arrow) between cultivated and wild soybean were found at road side. In the vicinity, shattered pods of wild soybean can be seen. A soybean field was in the background.

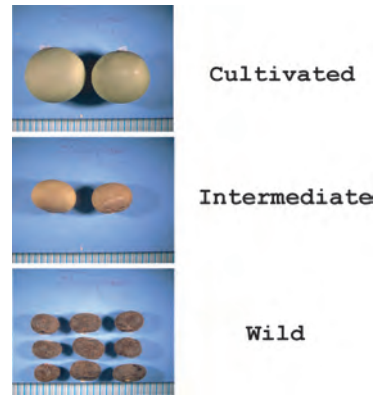


Photo 3. Morphological differences between cultivated, intermediate and wild soybean seeds.



Photo 4. Seeds of intermediate were retained in the pods, whereas wild soybean seeds were already scattered from the pods. Stem size of the intermediate was thicker than wild stem.