

E-2 熱帯林生態系における野生生物種の多様性に関する研究

(3) 遺伝的多様性の解析に関する研究

② 熱帯林生態系に自生するイネ科及びマメ科野生植物の遺伝的多様性に関する研究

研究代表者 農業生物資源研究所 友岡 憲彦

農林水産省 国際農林水産業研究センター 生物資源部 江川宜伸

農林水産省 農業生物資源研究所 遺伝資源第一部 植物探索評価研究チーム 友岡憲彦

平成2年度～4年度合計予算額 13,804千円

要旨

熱帯林生態系に近縁な野生植物が豊富に分布している（種多様性が高い）のは、種分化が高度に進んだためと考えられる。種分化は、種内の遺伝的変異の蓄積から生じるものであるが、熱帯林生態系に分布する植物の種内変異に関する情報は少ない。そこで、高度な種分化が進行するような環境下（マレー半島：熱帯多雨林気候）に分布する野生植物には、亜熱帯気候下（南西諸島）に分布する同種あるいは近縁種より高い種内変異が蓄積しているかどうかをアイソザイムを指標として調べた。その結果、今回調べた *Vigna* 属の野生種に関しては、アイソザイムの種内変異の大きさに両地域間で大きな違いはないと考えられた。

熱帯多雨林での多様な種の共存は、種間の微妙な戦略の差によって可能になっており、熱帯林生態系内の植物は種間の生存戦略に関する変異が大きいものと思われる。そこで、パソのマメ科樹種の生存戦略に関係する重要な形質である窒素固定能の種間変異を調べるため自然条件下での窒素固定を推定できる重窒素自然存在比法の適用を検討した。その結果、窒素固定をしていない非マメ科雑樹の重窒素自然存在比 ($\delta^{15}\text{N}$) がゼロに近かったことから、パソ熱帯林の表層土壌の $\delta^{15}\text{N}$ が低いことが示唆され、土壌表層から窒素を吸収している雑樹の窒素固定能をこの方法で調べることは難しいことが判明した。マメ科雑樹の窒素固定能の測定には重窒素施肥等の実験的環境設定が必要である。一方、マメ科高木の $\delta^{15}\text{N}$ は5.19と高く、このことから土壌下層の $\delta^{15}\text{N}$ は高く、土壌下層から窒素を吸収している高木の窒素固定能はこの方法で推定できる可能性が示唆された。

キーワード マメ科植物 種内変異 アイソザイム 種間変異 窒素固定

1. 序

東南アジアの熱帯多雨林には、1ヘクタール当たり100～200種もの木本植物が分布し、それらの樹木の作り出す複雑な生息場所に多種類の動物や昆虫が棲む世界で最も種多様性の高い生物界といわれる。熱帯林では、近縁な種間での高度な種分化が起こっており、例えば東南アジアの熱帯林でグループとして優占する傾向のいちじるしいフタバガキ科 (Dipterocarpaceae) の樹木は、分布の中心といわれるマレーシアだけでも12属386種が記載されている。

マッカーサーは、種の多様性の理論を構築し、種の多様度には、歴史、種が利用する資源の多様性、生息場所の気候の安定性、生息場所の生産性等が影響すると述べた¹⁾。また、熱帯

林における今日の種多様性の説明のひとつとして、熱帯では種分化のスピードが速いか分化した新しい種が存続できる可能性が高いというものがある。一般に種の多様性は温帯から熱帯に向かうにつれて高くなることが知られている。そして、熱帯林生態系は多様性の高い熱帯の典型的例である。本研究では、この熱帯林生態系内における多様性を解析するために、種内変異と種間変異の大きさを調べようと試みた。種内変異を捉える指標としてはアイソザイムを、種間変異の指標としては窒素固定能力を調べた。

2. 研究目的

熱帯多雨林の種多様性を生み出す基礎となるのは、種内の遺伝的変異に基づく種分化であると考えられる。種分化の進んだ熱帯林生態系を構成する種の種内の遺伝的変異は、より種多様性の低い環境下の植物種の種内変異よりも大きいのであろうか。これまでの熱帯林の多様性に関する研究は、一定面積にどれくらいの植物種が分布するのかという種の多様性を調べることが多く、熱帯林生態系の植物における種内の遺伝的変異を解析した例は少なかった。そこで、本課題では熱帯林生態系における植物が、はたしてどの程度豊富な種内の遺伝的変異を保有しているのかを明らかにすることをひとつの目的とした。

近年、分類学的に近縁な樹種が多く分布する熱帯多雨林では、近縁な樹種の間にも開花落葉の季節性、開花受粉習性、種子の分散、繁殖戦略などに明瞭な違いがあり、種の分化は明らかに生存戦略の差をともなっていることが明らかになってきた²⁾。例えばフタバガキ科の樹種の大部分は、2～5枚の翼のついた果実を持っているが、その種子の大きさと翼の大きさとの比率は種ごとに違っており、それに応じて風による種子の散布力にも繁殖戦略にも大きな樹種差が生じているといわれている。また、同じ強い日射のもとで生育している熱帯多雨林の高木でも、樹種によって光飽和状態での最大光合成速度におよそ2倍もの変異幅があり、その差が森林の生態遷移における樹種の出現時期と深いかかわりを持つことが分かってきた。このように、熱帯多雨林での多様な種の共存は、種間の微妙な戦略の差によって可能になっているものと考えられ、熱帯林生態系内の植物は種間の生存戦略に関する変異が大きいものと思われる。

東南アジア熱帯多雨林において、やはり多様な種分化をとげ、重要な生態的地位を占めているマメ科樹種には、根粒菌による空中窒素固定を行う種が含まれているものと考えられている。マメ科樹種の根粒菌による窒素固定能の有無やその量的変異は、そのマメ科樹種自身の分布や生存戦略に関係する要因であると思われる。空中窒素固定能の違う種は、適応できる土壌の肥沃度の幅が違うだろう。例えば、空中窒素固定を旺盛に行う種は、肥沃度の低い環境での生育に有利であろうし、周辺の土壌窒素環境、さらには他の樹種の分布や森林内の窒素循環にも影響を及ぼすと考えられる。しかし、東南アジアの熱帯多雨林内のマメ科樹種に関して、窒素固定能の有無や変異はこれまで調べられていない。そこで、近年樹木の窒素固定能を測定するのに用いられ始めた¹⁵N自然存在比法を用いて、パソー熱帯多雨林内のマメ科樹種に関して、窒素固定能の有無や量的変異を調べ、近縁な種間の生存戦略の違いのひとつとして、どの程度窒素固定能力に関する種間変異がみられるのかを明らかにしようとした。

3. 研究方法

3-(1) アイソザイム分析

アイソザイムの分析には、半島マレーシアから収集したマメ科 *Vigna* 属の野生種を用いた。収集できたサンプルは42点で、そのうち1点が *V. minima*、7点が *V. reflexo-pilosa*、残りの34点が *V. trinervia* であった。これらの野生種は半島マレーシアの道路沿いや熱帯林の林縁部、プランテーションの周辺に小集団を作って自生していた。熱帯林環境下の *Vigna* 属野生種のアイソザイム変異との比較のため、亜熱帯気候下の南西諸島（波照間島、与那国島、西表島、石垣島、沖永良部島）で収集した *Vigna* 属野生種67点のアイソザイム分析も行った。南西諸島で収集した67点のうち、50点は *V. riukiensis* で、残りの17点がマレー半島でも収集できた *V. reflexo-pilosa* であった。

実験には、給水後2～3日目の発芽種子（子葉の半量）を、5%ショ糖を含む0.02M Tris-HCl (pH8.0) 水溶液（100 μ l）中ですりつぶし、5 $^{\circ}$ C、15,000rpmで5分間遠心分離を行った後、上澄み液を酵素粗抽出液として電気泳動に供した。泳動は、7.5%ポリアクリルアミドを支持体とし、ゲル緩衝液は、0.38M Tris-HCl (pH8.9)とした。泳動にはミニスラブ電気泳動装置を用い、泳動用緩衝液には0.05M Tris-Glycine (pH8.8)を用いた。10 μ lの酵素粗抽出液をゲルのウェル部に注入し、4 $^{\circ}$ Cに設定した保冷庫内に泳動装置を入れ、220V定電圧条件で約2時間泳動した。

活性染色を行ったアイソザイム種は次のとおりである；シキミ酸脱水素酵素 (SDH)、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、酸性フォスファターゼ (ACP)、エステラーゼ (EST)、6-リン酸脱水素酵素 (6PGDH)、アスパラギン酸アミノ転移酵素 (GOT)。これらの酵素について、泳動後のゲルを36 $^{\circ}$ Cに設定した定温器内で反応を進め、バンドの最も読み取りやすい時期を見計らって、水道水で染色液を洗い流して酵素反応を止めた。

3-(2) 窒素分析

1993年2月8日から19日までの出張期間中に、マレーシアのクアラルンプール東南東約70kmに位置するパソー森林保護区においてマメ科稚樹8種、マメ科高木1種および対照植物として非マメ科稚樹8種から葉を採取した。また、パソー森林保護区に隣接するオイルパームプランテーション周縁でマメ科草本6種と対照の非マメ科草本1種の葉を収集した。その他、比較のためペラ州Sungkhaiのゴム園周縁で収集したマメ科草本と非マメ科草本各1種の葉と沖縄本島名護市郊外の海岸で収集したマメ科のハマアズキと非マメ科のグンバイヒルガオの葉も分析に用いた。パソー森林保護区でサンプリングした樹種は、FRIM（マレーシア森林研究所）に依頼して同定を行った。

サンプリングした葉は、70 $^{\circ}$ Cで48時間乾燥させた後、サンプルミルで粉末にした。次に、300mgずつ定量した乾燥葉粉末を、250 $^{\circ}$ Cで加熱しながら硫酸と過酸化水素でケルダール分解し、窒素を硫酸アンモニウムとして抽出した。蒸留によって濃縮した硫酸アンモニウムとNaOBrとを混合し、窒素分を窒素ガス化し、十分に精製した後、質量分析計 (Finigan MAT251 mass spectrometer) によって ^{15}N 自然存在比 (^{15}N Natural abundance) を測定した。

^{15}N 自然存在比法は、次のような理論に基づいてマメ科植物の窒素固定能を測定する方法である。自然界には ^{14}N と ^{15}N という質量の異なる安定同位体窒素が存在する。空気中の ^{15}N の割合は0.366%であり世界中どこでもその値はほぼ一定であるので、これを基準値 (^{15}N 自然存

在比 = $\delta^{15}\text{N} = 0$) とする。一方、土壌中の ^{15}N の割合は、場所や土壌の種類によって異なるが、一般に空気中よりも ^{15}N の割合が0.3~0.8%高くなっているところが多い。仮に、土壌中の ^{15}N の割合が空気中よりも0.5%高い場合、その土壌の ^{15}N 自然存在比 ($\delta^{15}\text{N}$) は、5‰ (5 $\delta^{15}\text{N}$ と読む) となる。植物体内の $\delta^{15}\text{N}$ を測定すると、マメ科植物のように空気中の窒素 ($\delta^{15}\text{N} = 0$) を利用している植物では、土壌からだけ窒素を吸収している植物に比べて、固定した空中窒素の量に応じてその $\delta^{15}\text{N}$ の値は低くなる。一般にサンプルの $\delta^{15}\text{N}$ は、次の式で求められる。

$$\delta^{15}\text{N} = (\text{R}_{\text{sample}} - \text{R}_{\text{air}}) / (\text{R}_{\text{air}}) \times 1000 \text{ ‰}$$

ここでRは、 $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ の比である。

マメ科植物が吸収したNのうちの何パーセントが空気中のN由来であるのか (%Ndfa) は、N吸収における根粒の寄与率にあたるが、それは次の式で求められる。

$$\% \text{Ndfa} = \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{non fixing plant}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{fixing plant}})}{(\delta^{15}\text{N}_{\text{non fixing plant}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{a}})} \times 100$$

ここで $\delta^{15}\text{N}_{\text{a}}$ は、実験的に窒素を含まない培地を使い空気中のNだけで育てたマメ科植物の $\delta^{15}\text{N}$ の値である。

4. 実験結果および考察

4-(1) マレー半島と南西諸島の *Vigna* 属野生種のアイソザイム変異

マレー半島で収集した *V. reflexo-pilosa* と *V. trinervia* の6種のアイソザイム分析の各表現型の出現頻度を Table 1 と Table 2 に示した。6PGDHとGOTに関しては、*V. reflexo-pilosa*、*V. trinervia*ともに種内変異はみられなかった。SDHは*V. trinervia*に2つのタイプの多型がみられたが、*V. reflexo-pilosa*では多型がみられなかった。LAP、ACP、ESTでは、*V. trinervia*、*V. reflexo-pilosa*共に種内で多型がみられた。*V. trinervia*では、LAP、ACP、ESTについてそれぞれ、3タイプの多型が認められた。一方、*V. reflexo-pilosa*では、LAP、ACP、ESTについてそれぞれ、2タイプの多型がみられた。南西諸島で収集した *Vigna* 属野生種に関しては、SDHとLAPについてアイソザイム分析を行った。各アイソザイム表現型の出現頻度を Table 3 と Table 4 に示した。SDHに関しては *V. reflexo-pilosa*のみが2タイプの多型を示した。LAPに関しては、*V. riukiensis*、*V. reflexo-pilosa*ともに3タイプの多型を示した。

4-(2) マレー半島と南西諸島の *Vigna* 属野生種のアイソザイム変異の比較

種分化の進んだ熱帯林生態系を構成する種の種内の遺伝的変異は、より種多様性の低い環境下の植物種の種内変異よりも大きいのだろうかという問題意識で、熱帯気候のマレー半島と亜熱帯気候の南西諸島で収集した *Vigna* 属野生種集団において、多型を示した酵素の割合 (Pe) と酵素種あたりの平均のアイソザイム多型数 (Np) を計算し Table 5 に示した。分析した酵素種のうち多型をしめした酵素種の割合 (Pe) は、マレー半島でも南西諸島でも種に関係なく50%程度の値を示すものが多かった。また、酵素種あたりのアイソザイム数 (表現型の数: Np) は、マレ

一半島の *V. trinervia* で 2.00、*V. reflexo-pilosa* で 1.50 であり、南西諸島の *V. reflexo-pilosa* の 2.50 や *v. riukiensis* の 2.00 よりもむしろやや低めの値を示した。しかしこの値の違いは、分析したサンプル数が南西諸島の方が多いためと考えられ、酵素多型の数は両地域間に差はないと考えられた。従って、マレー半島と南西諸島の *Vigna* 属野生種にみられたアイソザイムの種内変異の大きさに大きな差はないものと考えられた。

4-(3) 重窒素分析

測定した植物の葉の ^{15}N 自然存在比は、Table 6 に示した。パソー森林保護区でサンプリングした非マメ科樹種の稚樹の $\delta^{15}\text{N}$ は、 $-3.34 \sim 1.732$ の変異を示し平均値で -0.07 となった。一方、同じパソー森林内のマメ科稚樹の $\delta^{15}\text{N}$ は、 $-1.74 \sim 3.14$ の変異を示し平均値は 0.221 で非マメ科の稚樹のものと同値を示した。非マメ科稚樹の葉の $\delta^{15}\text{N}$ の値がゼロ付近に集中したことは、これらの非マメ科稚樹の根系が分布する土壤表層の、植物が吸収できる窒素の $\delta^{15}\text{N}$ の値がゼロに近い低い値であったことを示唆している。

パソー森林の表層土壤の $\delta^{15}\text{N}$ の値が本当に低いのかどうかは、これまでにパソーの土壤の $\delta^{15}\text{N}$ が測定されていないので、実際に土壤を分析するまで不明であるが、日本における土壤の $\delta^{15}\text{N}$ 値の測定結果では、畑の耕土の $\delta^{15}\text{N}$ が $+1.5 \sim +8.1$ であるのに対し、森林の表層の $\delta^{15}\text{N}$ は $-4 \sim -3$ と非常に低い値となっている。畑の場合は、河川水や地下水のようなポジティブな $\delta^{15}\text{N}$ をもつ窒素供給源があり、さらには、非常に高い $\delta^{15}\text{N}$ を示す動物質有機肥料が施肥されていれば、土壤表層の $\delta^{15}\text{N}$ を高くする効果は大きい。一方森林の土壤は、根粒による窒素固定や雨水にその窒素源を依存していると考えられる。空中窒素固定によって供給される窒素の $\delta^{15}\text{N}$ はほぼゼロ付近と考えられるし、きれいな空気や雨水中の硝酸イオンやアンモニウムイオンの $\delta^{15}\text{N}$ 値はネガティブになっており、これらが土壤にインプットされた場合土壤表層の $\delta^{15}\text{N}$ 値は低くなる。

また、稚樹の葉をサンプリングした森林の林床は暗く多湿な環境であるが、そういう環境にある葉の表面にはバクテリア、イースト、かびなどの微生物がはびこって膜ができて例が多いという。この葉面微生物のなかには、空中窒素を固定する能力をもったバクテリアや藍藻がかなり含まれている。これらの葉面窒素固定微生物が森林の物質循環のなかへ補給する窒素の量は、まだ正確に測られた例がないが、相当な大きさにのぼり遷移が進行して大きな森林ができてゆく過程で、この窒素補給が重要な役割をはたすと考えられている。従って、パソーのような熱帯多雨林の土壤の表層の $\delta^{15}\text{N}$ 値が低い可能性は高いと考えられる。もしもパソーの土壤表層の $\delta^{15}\text{N}$ 値がゼロ付近であれば、 ^{15}N 自然存在比法によって窒素固定能を推定することは困難である。パソーのマメ科稚樹の窒素固定能力を測定するためには、重窒素を施肥して土壤の重窒素濃度を高めるか、種の能力を比較することにして実験的に制御した土壤条件下で $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定する方法が考えられる。この場合、窒素濃度等をパソーの自然状態に近い値に設定して重窒素濃度だけを高くする必要がある。 $\delta^{15}\text{N}$ 値の測定による窒素固定能力の推定は、その樹種が成長するのに利用した窒素総量のうち、どの程度の窒素を空気中から固定したのかを推定できるため、従来よく用いられてきたアセチレン還元法よりも優れていると考えられる。

自然状態の樹木の窒素固定能を測定するためには、今のところ ^{15}N 自然存在比法以外の適当な方法はなく、パソー森林内でのマメ科稚樹の窒素固定能の推定には新しい手法の開発が必

要と思われる。パソアの近くのオイルパームプランテーション周縁の非マメ科雑草の $\delta^{15}\text{N}$ は-0.17、また、森林伐採後かなり時間の経過していると思われるペラ州Sungkhaiのゴム園周縁の非マメ科雑草の $\delta^{15}\text{N}$ が2.022であったことから考えると、年中雨の多いマレー半島の土壌は全般的に低い $\delta^{15}\text{N}$ 値を示すのかもしれない。

比較のために分析した沖縄の海岸近くのグンバイヒルガオの $\delta^{15}\text{N}$ は4.036と比較的高い値を示した。非マメ科のレファレンス植物ががこの程度の $\delta^{15}\text{N}$ 値を示せば ^{15}N 自然存在比法によって窒素固定能を推定することが可能である。一方、今回パソアでサンプリングした中に一点だけマメ科の高木の葉が含まれていた。このサンプルの $\delta^{15}\text{N}$ 値は5.192で、今回測定したサンプル中最も高い値を示した。一般に土壌の $\delta^{15}\text{N}$ 値は、表層から下層に向かって高くなる傾向があるといわれている。このマメ科高木の $\delta^{15}\text{N}$ 値が高かったのは、パソアの土壌下層の $\delta^{15}\text{N}$ 値が高いことを反映したのものかもしれない。もしそうであれば、パソアでも土壌の下層からNを吸収している高木の窒素固定能なら、 ^{15}N 自然存在比法によって測定可能かもしれない。

5. まとめ

熱帯林生態系において高度な種分化を達成し、また維持してきた主要な要因が何であったかを明らかにすることは、種多様性の消失が危惧されている今、きわめて重要な課題である。熱帯林における種多様性の成因や維持機構を解明するために、化学マーカーを利用して種分類や種内変異、種間変異を明らかにする研究は今後その重要度を増すものと思われる。また、種分化によって生まれた多くの種が共存できる要因を探るために、種ごとに微妙に違う生態を新しい分析手法を用いて解明していく必要がある。

6. 本研究により得られた成果

これまで不明であった熱帯林生態系内の野生植物の種内変異は他の環境に比べて大きくない可能性が示唆され、熱帯における種分化を考える基礎資料を提供した。また、熱帯林内のマメ科樹木の稚樹の窒素固定能の測定には、 ^{15}N 自然存在比法の適用が難しいことを明らかにした。

7. 参考文献

- 1) マッカーサー, R. H. 地理生態学: 種の分布にみられるパターン, 蒼樹書房1982.
- 2) 吉良竜夫: 熱帯林の生態 : 人文書院 1983.

国際共同研究等の状況

国際共同研究計画名: NIES-UPMプロジェクト

協力案件名: 熱帯林生態系におけるイネ科およびマメ科野生植物の遺伝的多様性に関する研究
カウンターパート: Ithunin Bin Bujang

参加, 連携状況: マレーシア現地での研究材料の収集及びUPMでの実験の補助等

研究発表の状況

- 1) 江川宜伸、I. Bujang、S. Anthonysamy、友岡憲彦：半島マレーシアで探索収集した *Vigna* 属野生種に見られたアイソザイム変異。 育種学雑誌 42 (別冊 2) 1992 : 570-571.
- 2) 友岡憲彦、I. Bujang、S. Anthonysamy、江川宜伸：半島マレーシアにおけるアズキ亜属野生種の探索収集。 植探報 9 (1993) : 127-142.
- 3) 友岡憲彦、E. Penaloza、A. D. Vina、江川宜伸：南西諸島で収集したアズキ近縁野生種に見られた種子タンパク及びアイソザイム変異。 育種学雑誌 42 (別冊 2) 1992 : 568-569.

Table 1. Phenotype frequency of 6 enzymes of *V. trinervia* collected in Malaysia

n	6PGDH	GOT	SDH		LAP			ACP		EST		
	a	a	a	b	a	b	c	a	b	a	b	c
23	1.00	1.00	0.41	0.59	0.55	0.09	0.36	0.47	0.53	0.47	0.21	0.32

Table 2. Phenotype frequency of 6 enzymes of *V. reflexo-pilosa* collected in Malaysia

n	6PGDH	GOT	SDH	LAP		ACP		EST	
	b	b	c	d	e	b	c	d	e
5	1.00	1.00	1.00	0.40	0.60	0.40	0.60	0.40	0.60

Table 3. Phenotype frequency of 2 enzymes of *V. riukuensis* collected on the Nansei Archipelago

Origin	n	SDH	LAP		
		A	A	B	C
Iriomote	23	1.00	0.26	0.48	0.26
Yonaguni	24	1.00	0.58	0.42	0.00
Ishigaki	1	1.00	1.00	0.00	0.00
Hateruma	1	1.00	1.00	0.00	0.00
Total	49	1.00	0.45	0.43	0.12

Table 4. Phenotype frequency of 2 enzymes of *V. reflexo-pilosa* collected on the Nansei Archipelago

Origin	n	SDH		LAP		
		A	B	A	B	C
Iriomote	5	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00
Yonaguni	11	1.00	0.00	0.73	0.18	0.09
Okinoerabu	1	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00
Total	17	0.94	0.06	0.53	0.41	0.06

Table 5. Proportion of polymorphic enzymes (Pe), and average number of phenotypes per enzyme (Np) in 3 *Vigna* species collected in Malaysia and the Nansei Archipelago

Origin	Species	n	Pe (%)	Np
Malaysia	<i>V. trinervia</i>	23	66.70	2.00
Malaysia	<i>V. reflexo-pilosa</i>	5	50.00	1.50
Nansei Archipelago	"	17	100.00	2.50
Iriomote	"	5	0.00	1.00
Yonaguni	"	11	50.00	2.00
Nansei Archipelago	<i>V. riukuensis</i>	50	50.00	2.00
Iriomote	"	23	50.00	2.00
Yonaguni	"	24	50.00	1.50

Table 6. Natural abundance of ^{15}N in leaves

Species	N%	$\delta^{15}\text{N}$
Non-legume tree seedling in Pasoh		
<u>Dalbergia pinnata</u>	1.83	-1.27
<u>Eratiospermum tapos</u>	1.45	-1.93
<u>Nephelium hamulatum</u>	1.39	-0.05
<u>Phyllagathis rotundifolia</u>	0.80	-3.34
<u>Psychotria angulata</u>	2.82	1.331
<u>Psycotria angulata</u>	3.28	1.694
<u>Pterisanthes polita</u>	2.12	-0.68
Species A (unidentified)	1.61	0.934
Species A (unidentified)	1.49	0.799
<u>Thottea dependens</u>	1.98	1.732
Average		-0.07
Legume tree seedling in Pasoh		
<u>Abrus precaforus</u>	0.86	1.409
<u>Abrus pulchellus</u>	2.18	0.744
<u>Archidendron clypearia</u>	1.70	0.716
<u>Bauhinia audex</u>	1.73	-0.71
<u>Bauhinia audex</u>	1.79	0.045
<u>Bauhinia audex</u>	1.59	0.277
<u>Millettia atropurpurea</u>	2.21	3.14
<u>Peltophorum</u> sp.	1.98	-0.56
<u>Peltophorum</u> sp.	2.84	-1.74
<u>Peltophorum</u> sp.	1.77	-0.86
<u>Pithecellobium angulatum</u>	2.14	-1.26
Species B (unidentified)	1.92	-1.56
Species B (unidentified)	0.98	0.945
Species B (unidentified)	0.99	2.528
Average		0.221
Legume tall tree in Pasoh		
<u>Parkia speciosa</u>	1.74	5.192
Non-legume weed near Pasoh		
<u>Melastoma melabathrium</u>	1.68	-0.17
Legume weed near Pasoh		
<u>Calopogonium mucunoides</u>	1.88	-1.88
<u>Centrocema pubescens</u>	2.49	-3.21
<u>Mimosa invisa</u>	2.67	-0.62
<u>Mimosa pudica</u>	2.27	-1.37
<u>Pueraria phaseoloides</u>	3.27	-3.40
<u>Vigna trinervia</u>	2.12	-4.13
Average		-2.43
Malaysia (Pera, Sunghai)		
<u>Paspalum conjugatum</u>	0.69	2.022
<u>Vigna trinervia</u>	3.78	1.72
Okinawa (Nago)		
<u>Ipomoea pes-caprae</u>	1.65	4.036
<u>Vigna marina</u>	2.46	-2.59