

平成11年度 研究協力事業

# 生物多様性保全と持続的利用等に関する研究協力（フォローアップ）

平成12年 3 月

財団法人 バイオインダストリー協会

**NEDO** 図書・資料室



010015085-3

## はしがき

本研究協力事業は、通商産業省の研究協力事業費補助金に基づき、新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）が外国の研究者が参加する産業技術に関する研究開発を助成する研究協力事業により、開発途上国との研究協力を積極的に推進し、開発途上国・地域に固有な技術開発課題を解決することに加え、我が国研究機関等が保有する技術力及び研究開発能力を活用しつつ、相手国の研究機関との研究協力により実現していくことを目的としている。

本報告書は、上記研究協力事業のうち「生物多様性保全と持続的利用等に関する研究協力（フォローアップ）」に係わる平成11年度事業についてまとめたものである。

「生物多様性保全と持続的利用等に関する研究協力」事業は、平成3年度の基礎調査に基づき、平成5年4月からスタートし、平成11年3月までの6年間に、タイ、インドネシア、マレーシアを対象に延べ591人による研究交流、機器類の現地への設置、国内研究等に約10億円の予算を投じて精力的に実施され成功裡に終了した。

平成10年11月の4カ国フォーラムで採択された「東京宣言」で表明されているように、東南アジアの主要国は自国の熱帯生物資源の保全を確保しつつ、その産業的利用をテコとした経済的発展を目指している。欧米では既に熱帯生物資源の産業化のために産・官・学体制を組んで相手国と協力している。産業化レベルでの具体的な仕組みの構築が我が国と東南アジア間の今後の課題である。そのアプローチとしては、協力システムの構築を今後も産業化にむけて段階的に進める必要がある。焦点を絞った具体的計画の立案、特に情報システムおよびカルチャーコレクションの研究、産業化を目的とした生物資源移転協定の整備、企業にメリットのある参加方法の案出などが課題となる。

本年度は「フォローアップ」という形でこれら東南アジアの国々との協力体制を継続した。

本報告書の作成に当たり、本研究協力フォローアップ事業に対しご協力いただいた関係各位に深く感謝の意を表するものである。

平成12年3月

財団法人 バイオインダストリー協会

## 目 次

1. 平成11年度事業計画	
1-1 事業の目的	1
1-2 事業の内容	1
1-3 事業の実施期間	1
1-4 研究体制	1
1-5 経費	2
2. 現地調査および研究協力フォローアップ結果	
2-1 インドネシア	4
2-1-1 植物利用技術研究	4
2-1-2 微生物等利用技術研究	5
2-1-3 全体協議	6
2-2 マレーシア	10
2-2-1 全体協議	10
2-2-2 アクセスと利益配分についてのルールづくりの検討	12
2-2-3 採取した生物資源の管理および産業利用への道筋の検討	13
2-2-4 産業利用への道筋の検討	14
2-3 タイ	16
2-3-1 全体協議	16
2-3-2 情報システムおよびカルチャーコレクションの研究	20
2-3-3 アクセスと利益配分についてのルールづくりの検討	23
2-3-4 採取した生物資源の管理および産業利用への道筋の検討	24
付属資料-1 Memorandum of Understanding(英文)	26
付属資料-2 ODA プロジェクト総括ペーパー(英文)	51
付属資料-3 第2回ナショナルセミナー(インドネシア)における日本側発表完成原稿集 (英文)	58
付属資料-4 各国の種分類学センター及び種分類学資源の現状(インドネシア、マレー シア、タイ)	79
付属資料-5 他国遺伝資源の持続的利用における問題点	105

## 1. 平成11年度事業計画

### 1-1 事業の目的

熱帯地域等において生物資源を開発途上国自らが保全し、バイオテクノロジー等を活用した生物資源の持続的な利用を可能とすることに寄与するために、下記の研究計画に従い、国際的な研究協力基盤をさらに充実させるためのフォローアップを行う。熱帯生物資源の保全と持続的利用のための情報システムおよびカルチャーコレクションシステムの充実を図るとともに、有用物質・微生物等の探索と解析を継続実施する。また、アクセスと利益配分についてのルール、採取した生物資源の管理および産業利用の道筋の検討を行う。

### 1-2 事業の内容

インドネシア、マレーシア、タイを対象に研究協力を実施する。

①情報システムおよびカルチャーコレクションの研究：生物多様性データベースおよびカルチャーコレクションの充実とネットワーク化を図る。

②植物利用技術研究：生理活性物質の探索・分析と結果の評価を行う。

③微生物等利用技術研究：有用微生物の探索、分離・同定と結果の評価を行う。

④アクセスと利益配分についてのルールづくりの検討

⑤採取した生物資源の管理および産業利用への道筋の検討

上述した研究計画に従い、日本から専門家を派遣し現地での調査および共同研究を実施する。

### 1-3 事業の実施期間

平成11年4月1日から平成12年3月31日まで

### 1-4 研究体制

研究担当兼事務局員を以下に示す。

地崎 修	(財) バイオインダストリー協会	専務理事
炭田 精造	(財) バイオインダストリー協会	常務理事兼生物資源総合研究所副所長
石川 不二夫	(財) バイオインダストリー協会	生物資源総合研究所所長（非常勤）

藺田 洋	(財) バイオインダストリー協会	生物資源部長
酒井 迪	(財) バイオインダストリー協会	国際部長
唐沢 昌彦	(財) バイオインダストリー協会	生物資源部長
森下 節夫	(財) バイオインダストリー協会	生物資源部員
藪崎 義康	(財) バイオインダストリー協会	国際部長
玉手 幸子	(財) バイオインダストリー協会	生物資源部主任
植村 薫	(財) バイオインダストリー協会	国際部部員
村山 仁美	(財) バイオインダストリー協会	技術部部員
渡辺 順子	(財) バイオインダストリー協会	特別研究員

これまで関係国で使用した生物遺伝資源の今後の管理、成果の利用方法等の広範な問題について、生物多様性条約の関連条項および国際動向に基づき、適切に対処する必要がある。そのために必要な指導・助言・支援を得ることを目的として下記委員会を設置する。本委員会では国公立研究機関、大学、企業等の指導者の高度な学識経験者を活用する。

委員会構成委員を以下に示す。

#### 「生物多様性保全と持続的利用等に関する研究協力（フォローアップ）」委員会

委員長	河合 雅雄	兵庫県立人と自然の博物館館長
幹事長	荻野 和彦	滋賀県立大学環境科学部教授
幹事	岩槻 邦男	立教大学理学部教授
幹事	小清水弘一	近畿大学生物理工学部教授
委員	国府田佳弘	琉球大学農学部教授
委員	古在 豊樹	千葉大学園芸学部教授
委員	駒形 和男	東京農業大学客員教授
委員	清水 昌	京都大学大学院農学研究科教授
委員	竹中 修	京都大学霊長類研究所教授
委員	田端 守	京都大学名誉教授
委員	富田 房男	北海道大学大学院農学研究科教授
委員	福井 勝義	京都大学総合人間学部教授
委員	宮地 重遠	(株) 海洋バイオテクノロジー研究所特別顧問
委員	山崎 常行	九州大学理学部教授
委員	中瀬 崇	理化学研究所生物基盤研究部部長

#### 1-5 経費

助成事業に要する経費の額	14,800,000 円
--------------	--------------

助成対象経費の額	14,800,000 円
助成金の額	14,800,000 円

## 2. 現地調査および研究協力フォローアップ結果

### 2-1 インドネシア

#### 2-1-1 植物利用技術研究

「生物多様性保全と持続的利用等に関する研究協力(フォローアップ)」の目的は前年度までの研究協力事業で得られた成果のうち、特に植物・微生物利用の研究成果の産業応用に焦点を置き、熱帯生物資源の利用研究を促進することである。近畿大学小清水教授が担当した「植物利用技術に関する研究—有用植物成分の探索—」は上記の目的に適うテーマであり、インドネシア側研究機関のパジャジャラン大学との共同研究の推進のためのフォローアップをおこなう。

Dr. Anas Subarnas より上記研究テーマを他の Fund も利用して継続しているとの情報と資料を得た。研究の内容を以下に記す。

#### 進行中の研究テーマ

熱帯林の保全と伝承利用及び霊長類摂食行動に基づく有用植物の探索

##### 1. 有用植物成分の採取

パンガンダラン自然保護区より (霊長類採食植物成分 6 種)

バンドン地区より (薬用植物)

##### 2. 薬用植物抽出物の薬理活性によるスクリーニング

鎮痛活性、鎮静活性、抗鬱病剤活性、抗炎症活性

##### 3. 霊長類採食植物の抗突然変異活性試験

パジャジャラン大学の Dr. Anas Subarnas と近畿大学小清水教授の協議により消耗品の研究用資・機材の必要性を要請されたので試薬類(11 種)および器具(ラット体温測定器)を提供した。小清水教授は 2000 年 2 月 15～16 日に開催されたインドネシア技術評価応用庁(BPPT)主催の第 2 回ナショナルセミナー CIEB-II(The Second Conference on Industrial Enzyme and Biotechnology)で講演し、これまでの成果を発表すると共に今後の共同研究の進め方について協議した。

ナショナルセミナーにおいて小清水教授は東南アジアの植物からのガン化促進抑制物質に関する研究について講演した。

また,Dr. Anas より小清水教授を通じて上記試薬および器具を用いて以下に示す項目について研究する計画であるとの報告を受けた。

## 2000年度の研究計画

### 1. 植物抽出物に対する薬理試験

- 1) 中枢神経系に対する活性
- 2) 鎮痛活性
- 3) 抗炎症活性
- 4) 抗突然変異活性
- 5) 抗腫瘍活性
- 6) 抗酸化活性

### 2. 活性化合物質の分離

#### 第一優先

- 1) 酸化防止物質の分離
- 2) 抗突然変異物質の分離
- 3) 鎮痛 / 炎症抑制物質の分離

#### 第二優先

その他の薬理活性物質の分離

上記テーマに対しては来年度も研究協力を行うことを3月2日に開催した特別委員会で決定した。研究協力の内容は以下のとおりである。日本側からは助手クラスの研究者を約2週間現地に派遣して実験の指導をする。同時に研究支援のために実験用試薬および器具を提供するために約30万円の予算を計上する。

## 2-1-2 微生物等利用技術研究

北海道大学農学部富田教授が担当した「微生物利用技術に関する研究—有用物質を生産する微生物の探索と利用—」はフォローアップの目的に適うテーマであり、インドネシア側研究機関のインドネシア科学研究院(LIPI)との共同研究の推進にマッチしている。

この研究の目的は熱帯地域の生物資源の保全とその持続的利用に関わる技術開発を図ることにある。そのために熱帯地域の植物から微生物を分離し、それらの同定および保存方法を検討する。また、分離された菌株を用いた有用物質の生産についてのスクリーニングの手法を確立する。得られた菌株について抗生物質、高分子多糖分解酵素、オリゴ糖生産能についての探索をこれまで実施して来た。一方宿主植物種と内生菌の関係についての研



究が進められ熱帯植物内生菌の保存、有用物質探索の技術確立、そして内生菌の資源としての重要性が確認できるようになった。

上記研究テーマは **LIPI** を訪問した時 **Dr. Endang Sukara** および **Ms. Ir. Harmastini** によって継続して進められていることを確認した。また **LIPI** は日本の各種機関とも共同研究を行っており、研究資金には余裕があるのではないかとの印象を持った。

インドネシアの第2回ナショナルセミナーにおいて富田教授は東南アジアの植物共生微生物の単離・同定・利用に関する研究について講演し、これまでの成果を発表すると共に今後の共同研究の進め方について協議した。

この **ODA** プロジェクト活動において採取された各種生物資源のインベントリーを作成すると共に、必要に応じて相手国と生物資源移転協定(**MTA**)を締結して、我が国へ研究資料を移転した。本年度は日本とインドネシア間で **MTA** を4件締結した。

- |    |                                                                                                |            |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 1. | <b>Dr. K.Komagata(東農大)</b> ・・・ <b>Dr.Susono Saono(LIPI)</b>                                    | 微生物 115pcs |
| 2. | <b>Dr. S.Shimizu(京大)</b> ・・・ <b>Dr.Untung Suwahyono(BPPT)</b><br><b>Dr.Endang Sukara(LIPI)</b> | 微生物 50pcs  |
| 3. | <b>Dr. F.Tomita(北大)</b> ・・・ <b>Dr.Endang Sukara(LIPI)</b>                                      | 微生物 3pcs   |
| 4. | <b>Dr. F.Tomita(北大)</b> ・・・ <b>Dr.Untung Suwahyono(BPPT)</b>                                   | 微生物 47pcs  |

この分野に対しては来年度も研究協力を実施することを3月2日に開催された特別委員会で決定した。研究協力の内容は以下のとおりである。富田教授とガジャマダ大学 **Dr.Sebastian Margino** の共同研究であるダリアイヌリンからのイヌリナーゼの生産と利用に関する研究を支援する。この研究に対し日本から助手・ポスドククラスの研究者を10日から2週間現地に派遣し実験の指導をする。また研究支援のため実験用試薬および器具を提供するために約15万円の予算を計上する。

## 2-1-3 全体協議

インドネシア技術評価応用庁 (**BPPT**) は平成12年2月15～16日にバイオインダストリーの現状についての情報交換会と産官学のネットワーク形成を推進し、またインドネシア天然資源の付加価値を高めるために参加者間の交流と連携を促進するために第2回 **CIEB-II (The Second Conference On Industrial Enzyme And Biotechnology)**を開催する方針を提案したので我々日本側も支援することに同意した。

このセミナーには日本側より3氏がスピーカーとして参加した。以下に演者、演題、要旨を記す。

北海道大学農学部 富田房雄教授

演題

**Microbial biodiversity in Southeast Asia: Its applications for bioindustry**

要旨

植物に共生する微生物の単離法、同定法を開発した。植物共生微生物を単離するためには植物断片をアルコールやハイポで効率的に消毒することが重要である。また、微生物の同定・分類には 18S rRNA 遺伝子や ITS シーケンスなどの配列情報の類似性を利用した。

近畿大学生物理工学部 小清水弘一教授

演題

**Biodiversity of Edible Plants in Southeast Asia: Implications for Cancer Prevention**

要旨

東南アジアで食用に供されている植物から、癌化の促進(promotion)を抑制する物質を見出した。癌化の過程は initiation、promotion、progression の 3 段階にわけることができ、initiation、progression が非可逆的であるのに対して、promotion は可逆的である。そこで、EBV 活性化 Raji 細胞に対して、癌化プロモーターTPA による promotion の抑制を指標に、スクリーニングを実施した。その結果、日本の食用植物に比べ、タイ、マレーシア、インドネシアの植物は有意な抑制効果を示した。薬用植物 *Zingerber zerumbet* から単離、同定したセスキテルペン化合物 zerumbone は癌化促進抑制効果とともに、マウス耳での抗炎症活性がインドメタシンと同程度であり、また、ラット結腸細胞の異常結節 (Aberrant Crypt Foci)形成を抑制した。

(財)バイオインダストリー協会 石川不二夫副会長兼生物資源総合研究所所長

演題

**Current State of Biotechnology Policy in Japan and Priority Areas for Cooperation in Biotechnology**

要旨

1999 年は日本のバイオテクノロジーにとって、エポックメイキングな年であった。すなわち、5 省庁が共同してバイオテクノロジー産業活性化のための基本施策を打ち出した。基本施策としてはインフラ整備、新規産業のための TLO、研究環境の整備(社会インフラ)、一般への理解の推進がある。また、最近、インフラの 1 つとして、新世紀の生物資源センター(BRC)に注目している。昨年 2 月の OECD 東京ワークショップで課題をまとめた。

同時に ODA ミーティングが開催された。概要を以下に記す。

日 時：2000 年 2 月 16 日(水) 13:30～15:00

場 所：BPPT (Jakarta)

参加者：インドネシア側 Dr. Irawadi Jamaran (BPPT)他 14 名

日本側 高木宏幸(NEDO 主査)、小清水弘一(近大教授)

石川不二夫、菌田 洋、藪崎義康(JBA)

——概要——

1) Welcoming Address (Dr. Irawadi Jamaran)

- ・ これまでのご協力を石川副会長はじめ日本側に感謝したい。
- ・ 共同研究で何があったか、特に、①マテリアル、設備の取扱い、②長期的共研の可能性について議論したい。また、問題点をクリアにしたい。
- ・ 熱帯生物資源(Tropical Bioresources)がインドネシアの経済回復につながり、産業が発展することを期待している。

2) Opening Remark (Mr. Fujio Ishikawa)

- ・ 1995 年の 1 月に、ジャカルタで国際フォーラムを開催し、その後、東京とジャカルタでどんな共研が相互に有益かを議論してきた。いわば、フォーラムは共研のスタートであった。
- ・ 本研究における①conservation と②sustainable use はコインの表裏の関係にある。成果の一つとして、TroBIDEC の構想が出来た。今後実現させたい。
- ・ フォローアップは次の共同研究のテーマを探す時期でもある。

3) Declaration of Transferred Materials

- ・ 各共同研究の結果得られた成果一覧につき、Dr. Irawadi Jamaran と Mr. Ishikawa の間で確認し、相互にサインした。

4) Discussion on Ownership Status of Laboratories Equipments Delivered by NEDO

- ・ インドネシア側はプロジェクトの機器を有効に使っている。これら機器はきわめて重宝で、プロジェクト終了後も使用したい。譲渡を希望する。
- ・ 現在の MOU はこの 3 月で終了するが、機器はインドネシア側でそのまま使用できる。機器の所有権は NEDO にあるが、機器を譲渡しない場合には、使用期間の税金を支払う必要が生じる。
- ・ NEDO は機器所有権の譲渡につき検討中である。まだ結論に至っていないが、フォローアップ期間中の機器の使用について何ら問題はない。

5) Future Cooperation

- ・ TroBIDEC について、インドネシア側は当初建屋込の計画を提案した。現在サイエンテ

イフィックベースで、共同研究を提案している。⇒日本側も重要と考えており、今後とも検討の継続をはかりたい。(JBA)

- ・ 現在の **MOU** は **2000** 年 **3** 月で終了するが、共研を継続したい。
- ・ 共同研究はきわめて時宜を得たものであり、有益であった。東農大・駒形教授との共研で新しい微生物を同定できた。途上国には、研究上のリードタイムが必要であるが、共研でうまくいっている。(Dr. Susono Saono)
- ・ 日本とインドネシア双方にとって何が優先されるか、インパクトのある新しい研究グループを作っていきたい。
- ・ 近畿大・小清水教授との共同研究の結果、**1** つの成果が得られた。本プロジェクトは有益であり、**JBA**、**NEDO**、**BPPT** に感謝する。人的関係で言えば、研究者の交流、特に若い研究者の派遣を希望する。(Dr. Anas Subarnas)
- ・ 人材の育成は永遠の課題である。継続的共同研究活動を続けていく努力を続けたい。色々と異なる条件の中で、ケース・バイ・ケースの方策を探していきたい。ただ、現在進行中の **MOU** はフォローアップに関するものであり、この枠組みの中で研究者の派遣を考えることは無理である。(JBA)
- ・ **JBA** では現在 **R/D** プロジェクトとして複合生物系バイオコンソーシアムを取りあげている。植物と微生物、昆虫と微生物の共生のように、複雑な生物系を理解するために、自然界のよいモデルを解析し、産業へ応用していきたい。微生物はまだ全体の **1~2%** しか見つかっていないという。今後、方法論も含めて研究が必要である。
- ・ バイオコンソーシアムについて、**1** つの実例をあげてみたい。ある研究グループはシロアリに共生する微生物の研究を実施中であるが、本来東南アジアでやりたかった研究を沖縄で行っている。今後更なる協力が必要である。日本の研究者がこちらへ来て研究するための必要性を含め、さらに検討したい。
- ・ 途上国にとって、微生物の研究の産業化は難しい。適当な **Culture Collection Center** もないのが実情である。日本との具体的な共同研究を提案にまとめて提出したい。
- ・ よい提案であればいつでも歓迎する。**JBA** としても、日本の政府が新テーマを要求してきたときにすぐ提案できるように準備をしておきたい。

## 2. 現地調査および研究協力フォローアップ結果

### 2-2 マレーシア

#### 2-2-1 全体協議

場所：マレーシア科学技術環境省バイオテクノロジー総局(NBD, MOSTE)

日時：1999年5月24日

面談者：名井主査（NEDO）炭田精造（JBA 生物資源総合研究所副所長）

会議要旨：

- ① 本フォローアップ事業のための新 MOU について、NEDO 名井主査（および通訳）と NBD 側との間の話し合いに立ち会った。マレーシア政府の MOU の交渉は司法長官室が行い、閣議会議で了承を得る必要があることを NBD は重ねて説明した。日本側の MOU 案では、我国へのマレーシア研究者の招聘はなく、また機器類の設置もないので、NBD としてもこれでは司法長官室が合意する可能性が極めて低いと判断し、次善の策として NEDO とマレーシア国立研究機関との間の協定を結べばどうかと推薦した。一方、NEDO 側もこれまで暫定的試案としてマレーシア農業研究開発機構(MARDI)と接触することを検討してきており、NBD の了承が得られたことは歓迎すべきことであった。
- ② 生物資源移転協定 (MTA) のうち、マレーシア・サラワク大学 (UNIMAS) とわが国の海洋バイオ研究所間の分につき合意に達した。その証人として Prof. Latif 局長がマレーシア側を代表してサインした。
- ③ これまでの研究協力の成果をプロジェクト文書 (Project Document) (付属資料参照) として日本側がまとめたものをマレーシア側と検討した。その結果、満足すべき成果を得たことを双方確認した。

マレーシア農業研究開発所 (MARDI)

日時：1999年5月25日

当方面談者：名井健主査、(NEDO) 炭田精造 (JBA 生物資源総合研究所副所長)

先方面談者：Dr. Ahmad Zamzam B. Mohamed (環境天然資源戦略センター長)、Dr. Mohd. Shahrin Yob (契約担当副部長)、Dr. Lum (微生物学研究者)。

会議要旨：

- ① MARDI は近い将来に独立行政法人になる予定であり、実用化のための研究を重要視していることを強調した。農業用のみならず医薬リード化合物を探索することなど現実的な研究対象を模索している。実用化試験は厚生省の matter であるがリード化合物の発見までは MARDI で行って良いことになっている。また現地の大手日本企業と共同研究が始

まっておりますその概要についても時間を割いて説明してくれた。

- ② MOU については契約担当部長、機構長 (Director-General)、機構理事長 (農林省事務次官が兼務) の了解が必要であるが、合意に関して楽観的であるという姿勢をしめした。研究施設について詳細な案内を受けた。機器が充実しており研究リーダー (例えば、Dr Lum) が優秀であること、カルチャーコレクションを備えていること、などを考えると、今後微生物に関するわが国の共同研究相手として適していると考えられる。また BioNET-INTERNATIONAL (分類学の情報ネットワーク) の東南アジア地区およびマレーシア国内、双方の窓口が MARDI になっていることも注目すべきである。これはわが方にとっても「情報システムおよびカルチャーコレクションの研究」に関して協力していく上でメリットがあると思われる。

日時：1999年10月14日 午前

訪問先：マレーシア科学技術環境省バイオテクノロジー総局 (NBD, MOSTE)

Prof. Latif Ibrahim, Managing Director

Dr. Sharr Harmin, Manager

面談者：炭田精造、藺田 洋 (以上、バイオインダストリー協会)

会議要旨：

- ① JBA 作成の ODA プロジェクト総括ペーパー案 (英文) の提示：左記のペーパー案 (別添 1) を NBD 側に手渡した。目的としては、本プロジェクトの成果を国際的に PR することである旨伝えた。コメント期間の後、先方は内容に合意した。
- ② 東京フォーラム (平成 10 年 11 月開催) のプロシーディングス (紀要)：当方から NBD および東京フォーラム参加者にプロシーディングスを送付し、NBD も受領を確認した。NBD のコメントとして、本プロジェクトに参加したマレーシアの各大学および国立研究機関の図書館用として数冊ずつ送ることが有益だとのアドバイスがあり、後日、送付した。
- ③ 日・マレーシア総括会合の開催案：マレーシア側は ODA プロジェクトの成果を総括する意味で、研究代表者 (Prof. Zakri と萩野教授) を交えて日本側と会合する事を希望した (注：まだ日・マ間に MOU がなく予算の制限もあるため、会合は今回のような小会合にとどめている)。当方は予算、MOU 交渉の進捗などを考慮し検討する旨返答した。なお、日本側は、東京フォーラムの紀要 (英文) の刊行、マレーシア政府の要請に基づき project document (英文) をすでに作成し先方に渡しており、わが国からこれ以上の作業をする必要は少ないと思われる。
- ④ インベントリー：これまで双方の研究者が確認した植物さく葉や抽出物のリストを後日、JBA から NBD へ送る旨伝えた。
- ⑤ マレーシア政府のバイオインフォマティクスのネットワーク：NBD の中に

NABBI-net (National Biotechnology and Bioinformatics Network) というバイオインフォマティクスのセンターを最近、設置した。これは ODA プロジェクトで設置した機器とその時構築した「生物多様性オンライン」の経験を活用しており、ひとつの波及効果として注目される。本件の事務局は NBD であるが UKM と協力している。

- ⑥ 生物多様性は NBD の守備範囲でない： マレーシア政府内ではバイオテクノロジーと生物多様性とは担当分野として峻別されている。バイオテクノロジーのコーディネーションは NBD の任務である。生物多様性については MOSTE の別部局が担当している (Prof. Zakri の影響力大)。生物多様性条約のアクセス問題に NBD はなんらの直接的権限をもたないことに注意すべきである (たとえば、アクセス・ガイドラインの作成作業に加わっていない)。また、国立研究機関 (例えば、MARDI) の意見によると、日本は NBD の権限を実際以上に評価すべきでない、と言う。

日時：1999年10月15日

訪問先：マレーシア農業研究開発所 (MARDI) の戦略環境天然資源センター (Strategic, Environmental & Natural Resource Centre)

Dr. Ahmad Zamzam B. Mohamed, Director,

Dr. Mohamed Senawi, Assistant Director

Dr. Lum Keng Yeang, Plant Pathologist

Dr. Ong Hwee Keng, Senior Researcher, Env. Management Program

面談者：炭田精造、菫田 洋 (JBA)

会議要旨：

- ① マレーシアのバーチャルコレクション： BioNET-INTERNATIONAL (分類学の国際ネットワーク) の東南アジア地区およびマレーシア国内、双方の窓口が MARDI になっている。マレーシアとして新たに国家カルチャーコレクションを建設すべきという提案がなされたが政府が受理しなかったので、国内各所の研究グループをネットワーク化してバーチャルなコレクションをつくる道を選択する意向である。その際 BioNET での経験を役立てたいというのが Dr. Lum の意向である。

また、12月にマレーシアで BioNET-INTERNATIONAL のアセアン地区の会合がある。その際オブザーバーとして当方を招待し、日本の BRC の状況について聞きたいとの希望があった。都合があれば当方として前向きに検討したい。

- ② MARDI の研究計画： MARDI は今後の研究計画を作成中である。微生物の研究施設一つのフロアーに統合する予定である。

## 2-2-2 情報システムおよびカルチャーコレクションの研究

## アセアネット (ASEANET) について

日時：1999年12月2－4日

訪問先：マレーシア農業研究開発所 (MARDI)：会場場所：Dorsett Regency Hotel、  
クアラルンプール、マレーシア

Dr. Lum Keng Yeang, Senior Officer, MARDI

Dr. Md. Jusoh Mamat, ASEANET Network Coordinator

面談者：炭田精造、藺田 洋 (JBA)

### 会議要旨：

- ① MARDI は生物多様性に関連した分類学の国際ネットワーク (Bio-NET) の東南アジア地区ネットワーク (ASEANET) のコーディネーターである。ASEANET 事務局が MARDI の敷地内にあり、そのスタッフの大部分は元 MARDI の職員であった人たちである。
- ② MARDI がホストとなり ASEANET の第一回会合をクアラルンプールで12月2－4日に開催することになり、当方に生物多様性の持続的利用の観点から参加してほしいとの依頼が MARDI からあった。この会議にはマレーシア、インドネシア、タイのみならず、ブルネイ、カンボジア、ラオス、ミャンマー、フィリピン、シンガポール、ベトナム政府等の生物資源担当官が参加するため、当方が参加し本 NEDO/JBA プロジェクトを PR すると共に、ASEANET 諸国の情報を収集し動向を把握することとした。また、本会合には、イギリス、オランダ等の専門家もリソース・パーソンとして参加した。
- ③ 参加各国から国別レポートが提出され、活発な講演と議論がなされた。本報告書では特に、インドネシア、タイ、マレーシアの情報をまとめた (付録資料参照)。
- ④ 会議の合間に、別途、MARDI との MOU 締結の推進や今後の研究協力の進め方について協議することとした。マレーシアの原子力研究所からマレーシアとして国家カルチャーコレクションを建設すべきという提案がなされたが中央政府が受理しなかったとの情報を得た。MARDI は国内各所にある研究グループをネットワーク化してバーチャルなコレクションをつくる道を選択する意向である。その際、この ASEANET を役立てたいというのが MARDI の意向である。

## 2－2－3 アクセスと利益配分についてのルールづくりの検討

### 研究協力と商業化目的 MTA の検討

日時：1999年10月15日

訪問先：マレーシア農業研究開発所 (MARDI)

Dr. Ahmad Zamzam

Dr. Mohamed Senawi



Dr. Lum Keng Yeang

面談者：炭田精造、藺田 洋(JBA)

会議要旨：

当方よりマレーシア農業研究開発所(MARDI)に対し、「今後、日本との研究協力においては、科学研究のみならず新産業の創成を目指して、企業を巻き込んだ共同研究が可能なMTAを開発する必要がある。そのため、その枠組みの協議をしたい」と提案した(別紙2)。マレーシアでは「アクセスと利益配分」に関する国のガイドライン案(そのあと法制化の予定)を現在、MOSTE(NBDではない)が作成中であるので(年初くらいにできるみとうし)、これを参考にする必要があるとの状況にある。

#### MARDI との研究協力と商業化目的 MTA の検討

日時：1999年12月2～4日

訪問先：マレーシア農業研究開発所(MARDI)

Dr. Lum Keng Yeang, Senior Officer, MARDI

面談者：炭田精造、藺田 洋(JBA)

会議要旨：

当方より、「今後、日本との研究協力においては、新産業の育成と雇用機会の創出を目指して、企業を巻き込んだ共同研究を推進すべきである。そのためには、企業の参画が可能な生物遺伝資源移転協定(MTA)を共同で開発する必要がある。そのための枠組みの協議をしたい。」と提案した(別紙イメージ図参照)。MARDIはこれに合意し、今後日本側と意見の交換を続けることとなった。

マレーシア政府では「アクセスと利益配分」に関する国のガイドラインを作成中である(来年初めくらいにできるとMARDIは予想)。これが国の基本となるので、各機関はそれまでは自由に意見を表明することを躊躇するであろう。当方はタイミングを図って協議を進める必要がある。

#### 2-2-4 産業利用への道筋の検討

日時：1999年10月14日 午後

訪問先：TropBio Research Sdn Bhd

Dr. Salleh M. Nor, CEO

Dr. Kodiswaran Kandasamy, Research Manager

面談者：炭田精造、藺田 洋(JBA)

会議要旨：

- ① 目的：遺伝資源の移転協定(MTA)に関する最近の動きにつき情報交換を行うことを目的に訪問した。
- ② TroBio Research(TBR)の性格： Dr. Salleh はもと FRIM（国立森林研究所）の所長であり、Prof. Latif (NBD)、Prof. Zakri (UKM)と親しい。TropBio Research(TBR)の設立にあつたては政府上層部から多額の助成金が支給されたとの噂がある。TBR は民間企業であるが、CEO の経歴から推察して実態はもっと複雑と思われる。
- ③ 遺伝資源の移転協定 (MTA)： TBR は現在、日本企業と微生物に関して商業目的の共同研究協定を交渉中である。交渉の大きなポイントはTBRとしては、土壌サンプルは出きる限り国外へ出したくない、また、マレーシアで初期の研究をやって欲しい、ということ強調している。商業化したときのロイヤリティーの額は交渉の大きな障害にはなっていないらしい。この交渉の着地点は生物多様性条約の実施のケーススタディーとして興味深い。今後も注視したい。
- ④ 日本との協力を希望： Dr. Salleh は日本と合弁事業に関心を表明した。TBR は日本に相当の期待をもっており、ボルネオの租借地をベースに共同で熱帯生物資源事業進めることに関心が大である。
- ⑤ TBR の研究施設： 会議後に見学したが、小さいながらスマートな施設が印象的であった。研究の人員は約20名（うち修士、博士合計が10名）である。現在、主に植物組織培養の受託研究（熱帯植物のマイクロプロパゲーション）をしている。TBR はマレーシアのサイエンスパーク（国が開発）のなかでの唯一のバイオ企業である。

## 2. 現地調査および研究協力フォローアップ結果

### 2-3 タイ

#### 2-3-1 全体協議

酒井迪部長および菌田 洋部長が平成11年10月17日～10月22日に出張した。日本側はカルチャーコレクションの充実及び有用植物・微生物の探索にテーマを縮小せざるを得ないという方針でいるが、その対象にならないタイ研究者とも意見交換すること、および機器の状況をチェックすることを目的に関係のある研究機関を訪問した。

#### チュラロンコン大学訪問：

日時：1999年10月19日

面談者：Dr. Pipat Patanaponpaiboon, Head, Plant Ecology Research Unit,  
Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University  
Assoc. Prof. Dr. Wanchai Phothiphichitr, Dean, Faculty of Science,  
Chulalongkorn University

会合概要：学部長に表敬訪問した後 Dr. Pipat と面談した。Dr. Pipat は本 ODA プロジェクトでは人工生態系の生物間相互作用に関する研究をタイ側責任者として担当した研究者であり荻野和彦滋賀県立大学教授、二宮生夫愛媛大学助教授と関係が深く、タイにおいては Dr. Weerachai QBG 園長、Dr. Sutat BIOTEC 副所長と良い関係が保たれている。

上記研究テーマは5人の研究者(修士課程4名、博士課程1名)で引き継がれている。その他研究テーマとして、Mango tree に対するエピサイトがありその有効物質を探索している。Climber Plant(蔓性植物)のフーリアにはホルモン剤があり化学分析を行っている(ウドム博士に分析を依頼している)。さらに情報ネットワーク活動 (Information Network on Conservation and Utilization of Bioresources(1999-2005)) を推進していた。

ODA プロジェクトで貸与している機器に対し深い感謝の意を表明した。機器は炭酸ガス分析計、純水製造装置等有効に機能していた。

ODA1999 年度フォローアップ事業について概要を説明し予算が極めて僅少で支援に限界がある事を納得してもらった。

JBA 作成の ODA プロジェクト総括ペーパー案(英文)を提示し内容について同意して貰った。文中今後もフォローアップという形で東南アジアの国々との協力体制を継続すべく作業中であるとの記述が気に入っている様子だった。東京フォーラム(平成10年11月開催)のプロシーディングスを1部受領している事を確認したが更に2部必要との要望があったので後日送付した。当方より以下の資料等(全て英文)提供した；ODA プロシーディングス、

ODA サマリー案。

#### シリキット王女植物園訪問

日時：1999年10月20日

面談者：Dr. Weerachai Nanakorn, Director of Queen Sirikit Botanic Garden (QBG), Chaing  
Mai Maerim

概要：QBG の訪問にはチュラロンコン大学の Dr. Pipat が同行して頂いたので非常に効率よくスケジュールを消化する事が出来た。

Dr. Weerachai はチェンマイ大学を卒業後英国に2年、米国に2年の留学の経験があり国際感覚を持った紳士であった。またこの植物園の Director を1993年から歴任しており年齢は52才位で若い王室、内閣からの信望がかなり厚い人物である。

Dr. Weerachai は ODA プロジェクトでは伝承植物利用に関する研究をタイ側責任者として担当した研究者であり福井勝義京都大学総合人間学部教授と関係が深い。福井教授との研究の関係は継続されている模様であった。

ODA プロジェクトで貸与している機器に対し深く感謝された。特にコンピューターが有効に活用されていたが膨大な数の標本等を扱う特殊なラボであることを考えると納得できた。コンピューターは新機種も導入されていたがデジタルカメラが相当数使用されていた。多分植物標本の研究には向いているのではないかと思われた。

ODA1999 年度フォローアップ事業について概要を説明し理解を得た。

QBG は1992年9月に設立されたタイでは最初の本格的植物園であり政府も相当に力を入れている。それは QBG が Prime Minister' s Office の直接管理下にあることから分かる。そのために予算額も多く意思決定も速いと言われている。QBG は海拔500～1200Mに位置し、約1000ha の面積を持っているが将来は世界レベルの植物園になるべく計画的に拡充が進められている。QBG は国内外の研究所との共同研究を推奨している。国内では BIOTEC、チュラロンコン大学、チェンマイ大学との研究ネットワークを構築している。ハーバリウムには12,900の標本があり、我々が訪問した時には複数のヨーロッパ人が調査に来ていた。QBG の現在の研究対象は以下の通りであった。Thai Orchid (250種)、高地米、伝統的薬用植物と食用植物の探索、学生と公衆のための植物学の研究。

#### 王立森林局訪問

日時：1999年10月21日

面談者：Dr. Suchitra Changtragoon(女性), Forest Geneticist, DNA and Isoenzyme Laboratory, Biotechnology Section, Silvicultural Research Division, Forest Research Office(FRO), Royal Forest Department, Bangkok

概要：RFO 森林研究所は JICA プロジェクトで10年位前に建てられたものである。Dr. Suchitra はカセサート大学及び大学院を卒業後ドクターコースはドイツに留学し学位を取得した。日本へは ODA プロジェクトの関係で九州大学理学部山崎教授の研究室へ2度、各々10日間程（1997、1998年）行ったことがある。1998年11月にあった東京フォーラムにはマレーシアのワークショップに参加したので来日出来なかった。

面談は予想以上に友好的であった。彼女は非常に信頼できる人物との印象を受けた。Dr. Suchitra は ODA プロジェクトでは人工生態系の遺伝子多様性解析をタイ側責任者として担当した研究者であり山崎常行九州大学理学部教授と関係が深い。またタイにおいては Dr. Sutat BIOTEC 副所長、チュラロンコン大学の Dr. Pipat と交流がある。

Dr. Suchitra のセクションには7人のスタッフがいて3人は大学卒であった。年間予算は100万バートの模様である。彼女のセクションは現在複数のプロジェクトに関係し、筑波にある森林研究所とも交流している。

ODA プロジェクトで貸与している機器類は PCR, Deep Freezer 等有効に機能しており感謝された。将来は DNA Sequencer を購入したいと希望している。

ODA1999 年度フォローアップ事業について概要を説明し理解して貰った。送付した東京フォーラムのプロシーディングスの入手を確認した。また JBA が作成した ODA プロジェクト総括ペーパー案(英文)を提供し内容につき同意して貰った。当方より以下の資料等（全て英文）提供した；ODA プロシーディングス ODA サマリー案。

#### タイ科学技術研究所訪問

日時： 1999年10月22日

面談者：Dr. Vullapa Arunpairojana(女性), Director, Microbiological Research Centre(MIRCEN), Thailand Institute of Scientific and Technological Research(TISTR), Bangkok

Ms. Salaisophon Komarakul Na Nakorn, Director, Office of the Governor, TISTR

Dr. Aparat Mahakhant(女性), Curator(Microalgae), MIRCEN

Mr. Prasit Tapananont, Chief of Pilot Plant Unit, Engineering Development Department, TISTR

概要：冒頭 Ms. Salaisophon より大会議室でスライドを用いて TISTR 全体に関する説明を受けた。歓迎ぶりに感謝した。TISTR は所員780人で、四つのグループ(Research and Development Gr., Technology Transfer Gr., Service Gr., Support Service Gr.)から構成されている。MIRCEN は他の八つの Department と共に Research and Development Group に属している。TISTR は近いうちに施設が手狭になったので現在の位置より約50Km 北へ移転することになっているとの情報を得た。MIRCEN はユネスコの援助で1976年に設立

された。運営資金は政府援助 80%、コントラクト研究資金・外国資金 20%で賄っている。現在の業務は Culture Collection, Research work として Conservation and Utilization of Microorganisms があるが今年度は次の二つのプロジェクトに資金が付いた。

- ・ Conservation and Sustainable Use of Microorganism (継続中) 4MBaht/1999
- ・ Study on Toxic of Algae ( New project, 10月よりスタート) 4MBaht

また Collaborative work with RIKEN (理化学研究所) (5年間のプロジェクトで2000年3月終了) として Asian Network on Culture Collection がある。11月に Asian Network Conference を開催する予定で参加者は9カ国より200人位で日本からは50～60人が参加する見込み。

MIRCEN は ODA プロジェクトでは微生物カルチャーコレクション・システムの改良をタイ側責任研究所として担当し駒形和男東京 農業大学応用生物科学部教授と関係が深い。上記研究テーマは現在も継続している模様であった。

ODA で貸与されている機器はオートクレーブ、シェーカー等有効 に使用されていた。

事前に送付した東京フォーラムのプロシーディングスを受領したことを確認し感謝されたが更に3部要望されたので帰国後送付した。JBA 作成の ODA プロジェクト総括ペーパー案(英文)を提示しコメントを求めたが担当テーマの記述に追加記述の希望があったので対応した。

Dr. Vullapa は1993年の、Mr. Prasit は1991年のバイオインダストリー集団研修コースの参加者でありその後活躍している人達である。我々が海外で活動する時の協力者として期待できる。当方より提供した資料(全て英文) ; ODA プロシーディングス、ODA サマリー案等。

#### カセサート大学訪問

日時：1999年10月22日

面談者：Ms. Nitaya Kijtewachakul, Research Coordinator/ Researcher,

Regional Community Forestry Training Center, Kasetsart University, Bangkok

概要：Dr. Somsuk Sukwong RECOFTC 所長は海外出張のため面談出来なかった。Dr. Somsuk は ODA プロジェクトでは人工生態系の社会経済的、民族学的解析をタイ側責任者として担当した研究者であり福井勝義京都大学総合人間学部教授と関係が深い。Ms. Nitaya は Kasetsart 大学を卒業後オーストラリアに10年前に留学した経験がある。また京都大学を訪問したことがある。

当センターの予算は年間1万 US ドルでもっと日本との ODA プロジェクトによる援助を期待している。彼女は JBA のことを良く知っていた。

ODA プロジェクトで貸与している機器はコンピューター、プリンター等有効に使用されて

いた。

Ms.Nitaya は東京フォーラムのプロシーディングスを持っていなかったので手持ちのものを手渡し喜ばれた。当方より提供した資料(全て英文) ; ODA プロシーディングス、ODA サマリー案等。

#### 全体を通じての感想

ODA プロジェクトで貸与されている機器に対して感謝の気持ちを強く表明して頂いた。機器は有効に機能していた。ODA プロジェクトの研究テーマは概ね継続されていた。ODA プロジェクトの運営に関しての不満、改善すべき点等に付いての具体的指摘は特に無かった。今回の訪問で日・タイの関係は友好的な関係にあるものと実感した。

こまめな資料に基づく情報の相互提供が相互信頼関係の醸成に大きく役立つことを学んだ。フォローアップでは共同研究は今後大幅に縮小することになるが、今回の訪問で日本側の事情を理解してもらえたとの感触を持った。

#### 2-3-2 情報システムおよびカルチャーコレクションの研究

##### チュラロンコン大学訪問

日時：平成11年5月14～15日

当方面談者：石川不二夫・JBA 生物資源総合研究所長、荻野和彦教授（滋賀県立大学）

相手方参加者： Dr.Pipat Patanapongpaiboon (Chulalongkorn University)

##### 会合要旨：

生物多様性保全と持続的利用等に関する研究協力の1999年度フォローアップ事業において、生物資源管理と情報ネットワークに関する共同研究をどのようなスタンスで進めるかについて打ち合せた。

現在、生物資源の保存に関係したわが国の状況は次のとおりである。

- ① 生物源の材料やそれに関する情報が量、質ともに非常な速度で増大しているため、バイオサイエンスとバイオテクノロジーの研究開発や産業化を効果的に進めるには新しい時代の要請に合った研究基盤として、新しいコンセプトに基づく生物資源センター(Biological Resource Center, BRCs)の構築が必要である、という認識が先進国の間で高まっている。わが国と欧米先進国はOECDにおいてBRCsの役割、持続性、国際連携、生物資源の取得と分譲、品質と効率、並びに研究と専門家育成等について検討をすでに開始した。
- ② この議論はOECD加盟国のみならず、東南アジア等にも当てはまる普遍的な性格を有している。したがって、わが国がBRCsの検討をするとき、タイなどの東南アジアで比較的整備の進みつつある国も視野にいれて検討することが必要であり、有益である。また、

先進国間で得られたコンセプトをタイに移転することによって、フォローアップ事業の質を高めると共に、将来のよい協力関係の構築に役立てることも可能と考えられる。

以上の認識をベースとして、タイ側と企画案につき打診した結果、基本点で意見の一致を見た。荻野和彦教授（滋賀県立大学）が途中から合流し、議論に参加し情報ネットワーク構築の重要性を強調した。これは新しいBRCsのコンセプトとも整合性がある。したがって、本年度のフォローアップ事業の基本的スタンスとして、新しいコンセプトに基づく生物資源の保存のインフラ構築という観点から時間をかけて進めることが妥当との合意に達した。

#### 国立遺伝子工学・バイオテクノロジーセンター(BIOTEC)

日時：平成11年11月23日（火）

当方面談者：中瀬 崇・理化学研究所部長

概要：各部門の研究室をまわり、仕事の内容及び設備について説明を受けた後に、モラコット副所長（Dr. Morakot Tanticharoen）、マリー顧問（Dr. Malee Suwana-adth）及びカルチャーコレクションの主任のワンチャン氏（Ms. Wanchern Potacharoen）から、BIOTEC カルチャーコレクション（BCC）の状況について説明を受け、全般的な事項について質疑応答と意見交換を行った。

午後、マリー顧問 から、タイのカルチャーコレクション及びそれを取りまく状況について、説明を受けた後、マリー顧問及びワンチャン氏と、カルチャーコレクション、微生物分類学の研究、微生物多様性研究について、意見交換し質疑に応えた。

#### タイ農務局 (Department of Agriculture) 科学技術研究所

日時：平成11年11月24日（水）

当方面談者：中瀬 崇・理化学研究所部

概要： 午前中は農務局(Department of Agriculture)を訪問、アナンタ局長（Dr. Ananta Dalodom）を表敬訪問。植物病理学及び微生物学部のプラパイスリー部長（Ms. Prapaisri Pitakpaivan）の案内でカルチャーコレクション及び微生物学部門の研究室を廻り、説明を受け、「カルチャーコレクションの役割」について、1時間の講演を行なう。昼食後、タイ科学技術研究所を訪問、バイトテクノロジー部門のジラポン部長（Dr. Jiraporn Sukhumavasi）及びバンコク・ミルセンカルチャーコレクションのバラパ部長（Dr. Vullapa Arunpairojana）からバイオテクノロジー研究の状況とカルチャーコレクションについて説明を受ける。また、「アジア地域における微生物研究ネットワーク」のあり方について、意見を交換した。



厚生省医科学局及び国立衛生研究所

国立遺伝子工学・バイオテクノロジーセンター

日時：平成11年11月25日（木）

当方面談者：中瀬 崇・理化学研究所部

概要： 午前中、厚生省医科学局を訪問、パイジット副局長（Dr. Paijit Warachit）を  
敬訪問、BIOTECのマリー顧問も同席。スラン博士の案内で、国立衛生研究所の研究  
室にあるカルチャーコレクションを訪問。「カルチャーコレクションの役割」について講演。  
午後、国立遺伝子工学・バイオテクノロジーセンターにて、モラコット副所長、マリー顧  
問、ワンチャン主任とBCCの評価会議。運営上の疑問点を指摘、改善案について提言し  
た。

国立遺伝子工学・バイオテクノロジーセンター

日時：平成11年11月26日（金）

当方面談者：中瀬 崇・理化学研究所部

概要：午前中、ワンチャン主任と、BCCの役割及び運営について、さらに詳細な討議。  
特に分類学研究室との連携と役割分担について議論した。また、近い将来取り上げるべき、  
研究対象について議論した。午後、「カルチャーコレクションの役割と運営」について講演。

カジョンビットきのこ栽培場（Kajornvit Mushroom Farm）

日時：平成11年11月27日（土）

当方面談者：中瀬 崇・理化学研究所部

概要：農務局のプラパイスリー部長の案内で、バンコク北部ロブブリ県にあるタイ国最大  
という上記の栽培場を訪問。社長のヨンユース退役大佐から、きのこ栽培の現状について  
説明を受け、施設を見学。プラパイスリー部長から、栽培技術指導、種菌の供給、雑菌汚  
染対策等、農務局のきのこ栽培事業支援体制について説明があった。なお、ここでは、日  
本から導入したEM菌を使う実験をしているとのことですが困惑し、この問題について  
の対策が必要と思われた。

生物資源情報ネットワーク

日時：1999年12月6日

訪問先：Dr. Pipat Patanaponpaiboon, Head, Plant Ecology Research Unit

Department of Botany, Faculty of Science Chulalongkorn University

面談者：炭田精造、藺田 洋（JBA）

#### 会合概要：

Dr. Pipat は本 ODA プロジェクトでは生態系の生物間相互作用に関する研究をタイ側責任者として担当した研究者であった。現在、生物資源の持続的利用や生物資源情報ネットワークの整備に関して活動している。今回は、Dr. Pipat の案内でバンコク南部のマングローブ生態系を調査した。植物種が我国亜熱帯地方のマングローブ生態系よりも遥かに多いこと、また、このエコシステムにおいて植物と共生する微生物についてはあまり研究されていないので、日本との協力により有用な菌類が見つかることが期待される。

Dr. Pipat は生物資源情報ネットワークの整備に努めているが、研究用資材の不足に困っている様子が感ぜられた。Dr. Pipat より日本側へ関連した研究用消耗品類の提供を希望したが、当方は都合により来年度の予算で検討したい旨伝えた。

#### タイのカルチャーコレクション統合化

日時：1999年12月6日

訪問先：科学技術開発庁 (NSTDA) の遺伝子工学バイオテクノロジーセンター (BIOTEC)

Dr. Sakarindr, Director

Dr. Sutat, Deputy Director

Dr. Morakot, Deputy Director

面談者：炭田精造、菫田 洋 (JBA)

#### 会談要旨：

タイでは BIOTEC カルチャー・コレクション (CC) を事務局として、タイ科学技術研究所、農林省、厚生省および BIOTEC の 4 大コレクションを統合することにより国家カルチャーコレクションを構築することを検討中である。これは、情報ネットワークによる「バーチャル」統合である。一方、我国政府は「基本戦略」に基づき、物理的な統合も視野にいたれた CC を建設予定である。したがって、CC の統合問題は両国にとっての共通の関心事である。これまで、日本のカルチャーコレクション関係者 (理研、IFO など) はタイとの交流が深く、タイから日本の協力への期待は大きい。この伝統は大事にしていくべきである。

この会合において、上に述べたように、当方は我国政府が CC の整備について重要性を認識し、それを実施しはじめている現状について説明した。

#### 2-3-3 アクセスと利益配分についてのルールづくりの検討

#### 新 MTA の協議

日時：1999年12月6日

訪問先：科学技術開発庁 (NSTDA) 遺伝子工学バイオテクノロジーセンター (BIOTEC)

Dr. Sakarindr, Director

Dr. Sutat, Deputy Director

Dr. Morakot, Deputy Director

面談者：炭田精造、藺田 洋(JBA)

会合要旨：

当方より、「今後、日本とのカルチャーコレクションなどの分野での研究協力においては、新産業の育成と雇用機会の創出を目指して、企業を巻き込んだ共同研究を推進すべきである。そのためには、企業の参画が可能な生物遺伝資源移転協定（MTA）を共同で開発する必要がある。そのため今後は、その枠組みの協議をしたい。」と表明し、BIOTEC も合意した。

以前よりも踏み込んだ意見の交換を試みたが、タイ側のスタンスは慎重であった。別途得た情報によると、タイ政府は生物遺伝資源のアクセスと利益配分に関する立法を準備中である（マレーシアと状況が類似している）。そのため、個別の研究機関の立場では、今の時点で自分の意見を言にくいものと思われる。今後、タイミングを計りながら協議を進めることが賢明である。

#### 国立環境研究所（つくば市）

日時：平成12年3月21－22日

面談者：Dr. Sutat Sriwatanapongse（タイ国立生物多様性研究センター所長）

概要： タイ国立生物多様性研究センターSutat 所長が別件で来日した機会をとらえて会合した（3月21日）。以下の最新情報を得た：

- ① NSTDA の下にタイ国立生物多様性研究センターが設置され、Sutat 博士が所長として着任する。NSTDA で機構改革と人事異動があり、BIOTEC の所長は Morakot 博士、副所長に D. Edwards 博士他1名が着任する。
- ② タイで生物資源アクセスを規制する法令が3件設置された。
  - ・ 植物品種保護法（The Plant Variety Protection Act of B.E. 2542）
  - ・ 知的伝承薬保護・推進法（The Protection and Promotion of Intellectual Thai Traditional Medicine Act of B.E. 2542）
  - ・ 生物多様性の保全と利用に関する総理府令（The Prime Minister Office's Regulation on the Conservation and Utilization of Biodiversity）

これらの新しい法令は我国がタイの生物資源にアクセスする時に、留意せねばならない法令である。Sutat 氏によると現在英語に翻訳中とのことであり詳細は今後明らかになるので、入手して調べたい。

#### 2－3－4 採取した生物資源の管理および産業利用への道筋の検討

生物多様性条約の枠組みの中での、カルチャーコレクションの新しい機能として①未同定の菌株も対象とし、②企業も協定を結んでその提供を受ける事ができる、という制度を作ってはどうか、とタイの NSTDA 関係者に提案した（付録資料参照）。返答は未だ得ていない。これは法令を検討していたためかも知れない。今度の新しい法令ができたのを契機として、法令と整合性のある制度案の検討を試みたい。

MEMORANDUM OF UNDERSTANDING  
BETWEEN  
THE AGENCY FOR THE ASSESSMENT AND APPLICATION OF TECHNOLOGY (BPPT)  
OF THE REPUBLIC OF INDONESIA  
AND  
THE NEW ENERGY AND INDUSTRIAL TECHNOLOGY DEVELOPMENT  
ORGANIZATION (NEDO), JAPAN  
FOR 1999 FOLLOW-UP ACTIVITIES TO  
THE RESEARCH AND DEVELOPMENT PROJECT  
ON  
CONSERVATION AND SUSTAINABLE USE OF TROPICAL BIORESOURCES

The Agency for the Assessment and Application of Technology (BPPT) of the Republic of Indonesia (Indonesia) and the New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO) of Japan (hereinafter referred to as the "Parties"):

Desiring to implement follow-up activities in 1999 (hereinafter referred to as the "Follow-up Activities") to the Research and Development Project on Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources which was carried out in accordance with the Memorandum of Understanding dated October 23, 1995:

Have agreed as follows:

ARTICLE 1  
OBJECTIVE OF THE FOLLOW-UP ACTIVITIES

The objective of the Follow-up Activities is to assist Indonesia to promote research on utilization of tropical bioresources focusing on industrial use, by using the results of the Research and Development Project on Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources implemented from FY1995 to FY1998.

ARTICLE 2  
OUTLINE OF THE FOLLOW-UP ACTIVITIES

- 1) The Parties shall promote research on utilization of plants and microorganisms focusing on industrial use.
- 2) For implementing the Follow-up Activities, NEDO will dispatch Japanese experts to Indonesia.

- 3) The term of the Follow-up Activities shall be from April 1, 1999 to March 31, 2000.
- 4) A detailed description of the Follow-up Activities shall be discussed and evaluated by the Parties or the Implementing Agencies assigned by the Parties.

### ARTICLE 3 PROJECT SITE

The Follow-up Activities shall be implemented in Indonesia as approved by BPPT.

### ARTICLE 4 RESPONSIBILITIES OF NEDO

In accordance with the prevailing laws and regulations in Japan, NEDO shall undertake, at its own expense, the following work: (refer to Attachment 1)

- 1) To assign and/or dispatch to Indonesia its own personnel as well as personnel of other organizations concerned with the Follow-up Activities (hereinafter referred to as "Japanese Personnel").
- 2) To cover the cost of the preparation of the Follow-up Activities in Japan.
- 3) Upon completion of the Follow-up Activities, the Parties shall consult each other on the ownership of the Equipment used in Indonesia.
- 4) To carry out the work necessary for smooth implementation of the Follow-up Activities.

### ARTICLE 5 RESPONSIBILITIES OF BPPT

In accordance with the prevailing laws and regulations in Indonesia, BPPT shall undertake, at its own expense, the following work: (refer to Attachment 1)

- 1) To assign its own personnel as well as personnel of other organizations concerned with the Follow-up Activities (hereinafter referred to as "Indonesian Personnel").
- 2) To cover the cost for the Indonesian Personnel under BPPT in Indonesia in relation to the implementation of the Follow-up Activities.
- 3) To provide possible conveniences necessary for accepting Japanese Personnel carrying out the Follow-up Activities in Indonesia.
- 4) To coordinate or carry out other work necessary for smooth implementation of the Follow-up Activities.

ARTICLE 6  
OFFICIAL LANGUAGE

All letters, drawings, reports and other documents for the implementation of the Follow-up Activities and bilateral discussion between the Parties shall be in English.

ARTICLE 7  
METHOD OF IMPLEMENTATION

- 1) The Parties shall be responsible for the overall implementation of the Follow-up Activities.
- 2) The Parties shall assist and cooperate with each other regarding the following matters:
  - a. Exchange of necessary information for implementation of the Follow-up Activities.
  - b. Provision of technical guidance for the effective utilization of the results of the Follow-up Activities.
  - c. Arrangement of meetings, correspondence and permission regarding implementation of the Follow-up Activities.

ARTICLE 8  
ADMINISTRATION OF THE FOLLOW-UP ACTIVITIES

- 1) NEDO may, when necessary, assign another organization as the Japanese implementing agency (hereinafter referred to as the "Japanese Implementing Agency") to carry out the Follow-up Activities and shall nominate a Japanese leader for the Follow-up Activities as approved by BPPT. NEDO shall notify BPPT in writing of the assignment of the Japanese Implementing Agency and its leader within two weeks after such assignment.
- 2) BPPT may, when necessary, assign another organization as the Indonesian implementing agency (hereinafter referred to as the "Indonesian Implementing Agency") to carry out the Follow-up Activities and shall nominate an Indonesian leader for the Follow-up Activities as approved by NEDO. BPPT shall notify NEDO in writing of the assignment of the Indonesian Implementing Agency and its leader within two weeks after such assignment.
- 3) The Japanese Implementing Agency and the Indonesian Implementing Agency shall implement the Follow-up Activities under the supervision of NEDO and BPPT respectively.
- 4) For the effective and successful implementation of the Follow-up Activities, the Parties shall, if necessary, establish a Follow-up Activities Promotion Committee.

ARTICLE 9  
CONFIDENTIALITY OF INFORMATION

Both Parties shall not disclose to a third party any confidential information obtained from the other Party, its government or any concerned organization during the course of the implementation of the Follow-up Activities.

ARTICLE 10  
CIVIL LIABILITY

In the event of any material damage, injury or loss of life due to an accident or any reason other than willful misconduct or negligence during the implementation of the Follow-up Activities, no compensation shall be claimed against either NEDO or BPPT.

ARTICLE 11  
DISCLOSURE OF THE FOLLOW-UP ACTIVITIES RESULTS

If either Party and the implementing agencies wishes to disclose the results of the Follow-up Activities to any third party other than its governmental authorities, the disclosing Party and the implementing agency must obtain prior written consent from the other Party before any disclosure can be made.

ARTICLE 12  
INTELLECTUAL PROPERTY RIGHTS

- 1) Any intellectual property rights brought by either Party for implementation of the Follow-up Activities shall remain the property of that Party. However, that Party shall indemnify that the intellectual property rights do not result from the infringement of any third party's legitimate rights.
- 2) The rights to obtain intellectual property rights for achievements made by one Party based on genetic resources provided by courtesy of the other Party in the course of the implementation of the Follow-up Activities shall vest in both Parties jointly.
- 3) After the validity of this Memorandum of Understanding has expired, if either Party wishes to make use of jointly owned intellectual property rights resulting from the implementation of the Follow-up Activities (hereinafter referred to as "Existing I.P.R.") in any new activity, that Party shall first obtain written consent for such use from the other Party. If either Party uses the Existing I.P.R. and creates new intellectual property rights (hereinafter referred to as "New I.P.R.") in such new activity, and then uses Existing I.P.R. and New I.P.R. for a commercial purpose, that Party shall pay a proportionate royalty to the other Party for the use of the Existing I.P.R. If there is a contribution to the New I.P.R. by the other Party, that Party may obtain written consent for use of this from the other Party and that party shall pay a royalty to the other Party for commercial use depending on the contribution of the other Party to create it.
- 4) The rights to obtain intellectual property rights for achievements made by both Parties jointly in the course of the implementation of the Follow-up Activities shall vest in both Parties jointly. Both Parties shall be allowed to use such property for R&D purposes, free of royalty. Should the intellectual property rights be used for commercial purposes by one Party, that Party is required to obtain written consent from the other Party. The royalty coming from the Follow-up Activities will be determined case by case through agreement of both Parties.



ARTICLE 13  
SETTLEMENT OF DIFFERENCES

Any dispute, controversy or difference of opinion as to the interpretation or the implementation of this Memorandum of Understanding shall be settled by mutual consultation between the Parties.

ARTICLE 14  
VALIDITY, AMENDMENT AND TERMINATION

- 1) This Memorandum of Understanding shall be valid from April 1, 1999 until March 31, 2000.
- 2) This Memorandum of Understanding may be amended or revised at any time as agreed between the Parties. Any resulting modifications shall be made only in writing with the consent of both Parties.
- 3) Either Party may request in writing to terminate this Memorandum of Understanding by written notice three months before the termination date with mutual consent.  
The termination of this Memorandum of Understanding shall not prejudice the completion of any ongoing projects.

ARTICLE 15  
CONTINUANCE

Should this Memorandum of Understanding terminate as stipulated in Article 14, the rights and obligations of the Parties under Article 9, Article 11, Article 12 and Article 13 shall remain effective indefinitely.

ARTICLE 16  
FINAL PROVISIONS

- 1) The implementation of this Memorandum of Understanding shall be subject of availability of a budget by both Parties.
- 2) The schedule and procedure for the Follow-up Activities shall be discussed and agreed to by both Parties.

IN WITNESS WHEREOF, the undersigned, duly authorized thereto by their respective Governments, have signed this Memorandum of Understanding.

Done in two originals in the English language, both texts being equally authentic.

FOR THE AGENCY FOR THE  
ASSESSMENT AND APPLICATION  
OF TECHNOLOGY  
(BPPT)  
REPUBLIC OF INDONESIA



DR. IR. IRAWADI JAMARAN  
Deputy Chairman for  
Agroindustry and Biotechnology

Date: *March 31, 1999*

FOR THE NEW ENERGY AND  
INDUSTRIAL TECHNOLOGY  
DEVELOPMENT ORGANIZATION  
(NEDO)  
JAPAN



HIROSHI MITSUKAWA  
Executive Director

Date: *March 31, 1999.*

## SCOPE OF THE WORK

WORK ITEMS	Performed by	
	NEDO/ Implementing Agency	BPPT/ Implementing Agency
1. Administration		
(1) Arrangement of meetings with Japanese organizations in Japan.	○	
(2) Arrangement of meetings with Indonesian organizations in Indonesia.		○
(3) Assignment of Japanese Personnel and providing their expenses including travel costs and accommodation and living costs.	○	
(4) Assignment of Indonesian Personnel and providing their expenses including travel costs and accommodation for implementation of the Follow-up Activities in Indonesia.		○
(5) Selection of Japan-Indonesia research cooperation themes.	○	○
(6) Technical meeting for Project evaluation.	○	○
2. Project supervision	○	○
3. Exchange of Personnel		
(1) Dispatch of Japanese Personnel to Indonesia as necessary for the implementation of the Follow-up Activities.	○	
4. Environments for the Follow-up Activities		
(1) Arrangement of places, environments and other items, including the supply and/or payment for the costs of electricity, telephone lines, water, etc., necessary for executing the Follow-up Activities in Indonesia.		○

**Memorandum of Understanding  
between  
The New Energy and Industrial Technology  
Development Organization (NEDO), Japan  
and  
The National Science and Technology Development Agency (NSTDA)  
Kingdom of Thailand  
for 1999 Follow-up Activities to  
The Research Cooperation Project on  
Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources**

This Memorandum of Understanding (hereinafter referred to as "MOU") has been made to clarify agreements between the New Energy and Industrial Technology Development Organization (hereinafter referred to as "NEDO") and the National Science and Technology Development Agency (NSTDA) (hereinafter referred to as "NSTDA") for joint implementation of follow-up activities (hereinafter referred to as "Follow-up Activities") to the Research Cooperation Project on Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources which was carried out in accordance with the Memorandum of Understanding dated February 1, 1995. NEDO and NSTDA hereby agree as follows:

**Article 1  
Objective of Follow-up Activities**

The objective of the Follow-up Activities is to promote research for the conservation of tropical bioresources, to develop conservation technology and to promote research and development concerning useful functions of tropical bioresources through cooperation between NEDO and NSTDA.

**Article 2  
Mutual Cooperation between NEDO and NSTDA**

NEDO and NSTDA shall mutually cooperate for the implementation of the Follow-up Activities based on mutual trust.

### **Article 3**

#### **Outline of Follow-up Activities**

An outline of the Follow-up Activities is as follows:

- (1) To research and develop technology for promotion of conservation of biological species and monitoring of biological diversity.**
- (2) To research and develop technology and capability for a survey of the useful functions of bioresources in Thailand.**
- (3) To research and develop the technology and capability for sustainable use of biological resources in Thailand.**
- (4) To dispatch Japanese experts to Thailand in order to accomplish the above items.**
- (5) The research to be implemented shall be as described in the "Japan-Thailand Joint Research Themes Concerning Biodiversity" (Attachment 1). NEDO and NSTDA may make changes to the joint research themes through mutual agreement between the two parties as necessary.**

### **Article 4**

#### **Project Site**

**The Follow-up Activities shall be implemented in Thailand.**

### **Article 5**

#### **Work Share of NEDO and NSTDA**

**In principle, the work share of NEDO and NSTDA shall be in accordance with the "Work Share of NEDO and NSTDA" (Attachment 2).**

### **Article 6**

#### **Expense Share of NEDO and NSTDA**

**NEDO and NSTDA shall each incur, in principle, the expenses necessary for conducting its own share of work in accordance with the "Expense Share of NEDO and NSTDA" (Attachment 3).**

## **Article 7**

### **Provision of Assistance**

In order to ensure smooth implementation of the Follow-up Activities, NSTDA shall provide the following assistance:

- (1) Obtainment of an exemption from taxes and customs duties on research equipment to be provided by NEDO.
- (2) Obtainment of permissions, approvals and licenses required in Thailand for the implementation of the Project.
- (3) Protection for instruments and other equipment against any loss or damage during storage, transportation, installation and operation in Thailand.

## **Article 8**

### **Implementation Method for Follow-up Activities**

NEDO shall entrust its share of work to other organizations as necessary. Once agreements are made and organizations are appointed, NEDO will convey the results of the Follow-up Activities inside Japan, and NSTDA will convey the results inside Thailand.

## **Article 9**

### **Management of Follow-Up Activities**

NEDO and NSTDA shall each appoint a group of representatives for Follow-up Activities management and shall notify the other party thereof in writing in advance. The replacement of such representatives shall require the same procedure.

## **Article 10**

### **Material Transfer**

The transfer of any biological material shall be agreed to by both parties and be accompanied by a signed Material Transfer Agreement.

## **Article 11**

### **Obligations**

1. Neither NEDO nor NSTDA shall disclose to any third party information obtained from the other party through implementation of the Follow-up Activities and designated as secret by the other party.

2. NEDO and NSTDA shall be mutually held harmless from any liability for damage or loss to assets or for injury or death due to accident or any other reason except when the said damage, loss, injury or death is caused intentionally or by explicit negligence.

## **Article 12**

### **Public Announcement or Disclosure of Project Results**

In case NEDO or NSTDA intends to publicly announce or disclose results of the Follow-up Activities to any third party, the other party's approval shall be obtained in advance.

## **Article 13**

### **Treatment of Follow-up Activities Results**

1. Intellectual property rights and benefits arising therefrom obtained through the Follow-up Activities shall be shared by NEDO and NSTDA. Each party's ownership share shall be determined according to the degree of contribution to the intellectual property concerned, in principle, and through mutual agreement between the two parties.

2. Management and exploitation of intellectual property rights arising from the Follow-up Activities shall be determined through mutual agreement.

3. Treatment of intellectual property rights other than as stipulated above shall be determined through mutual agreement.

**Article 14**  
**Mutual Trust and Consultation**

Any problems arising from this MOU and issues which are not provided for herein shall be promptly resolved through consultation between NEDO and NSTDA in the spirit of reciprocity, equality, mutual cooperation and mutual trust.

**Article 15**  
**Term of Validity**

- 1.This MOU shall enter into force upon the date of signing or April 1,1999, whichever is later,and shall remain effective until March 31, 2000.
- 2.Either NEDO or NSTDA may terminate this MOU by notifying the other party in writing three (3) months in advance.
- 3.The clauses of Article 11, 12 and 13 shall remain effective after the expiration of this MOU.
- 4.This MOU may be amended through mutual agreement between NEDO and NSTDA.

**Article 16**  
**Final Clause**

- 1.The execution of the Follow-up Activities under this MOU shall begin after both NEDO and NSTDA secure the budget necessary from their competent agencies.
- 2.The detailed schedule and implementation method for the Follow-up Activities shall be determined through consultation and agreement in writing between NEDO and NSTDA.
- 3.This MOU shall be prepared and signed in duplicate, and both copies shall be equally valid.



IN WITNESS WHEREOF, both NEDO and NSTDA have executed this MOU on the date stated below.

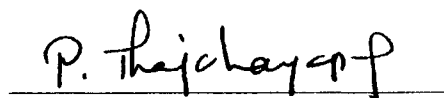
New Energy and Industrial Technology  
Development Organization(NEDO)  
Japan



By:  
Name: Hiroshi Mitsukawa  
Title: Executive Director  
Date:

*March 26, 1999.*

National Science and  
Technology Development  
Agency(NSTDA)  
Kingdom of Thailand



By:  
Name: Dr. Pairash Thajchayapong  
Title: Director  
Date: MARCH 26, 1999

**Japan-Thailand Joint Research Themes Concerning Biodiversity**

- 1. Improvement of Microbial Culture Collection Systems**
- 2. Studies on Biological Resource Management**

**Work Share of NEDO and NSTDA**

NEDO and NSTDA shall share work for the following:

<b>NSTDA</b>	<b>NEDO</b>
<b>(Bilateral Consultation)</b>  <b>Consultation with NEDO</b>  <b>Selection of Japan-Thailand research cooperation themes</b>  <b>Coordination within Thai side.</b>	<b>Consultation with NSTDA</b>  <b>Selection of Japan-Thailand research cooperation themes</b>  <b>Coordination within Japanese side.</b>
<b>(Joint Research and Training)</b>  <b>Research cooperation in Thailand</b>  <b>Providing research sites</b>  <b>Compilation of research results and submission to NEDO</b>  <b>Organizing workshops where appropriate with participation of Japanese experts.</b>	<b>Research cooperation in Thailand</b>   <b>Compilation of research results and submission to NSTDA</b>
<b>(Instruments)</b>  <b>Research on and selection of instruments</b>  <b>Provision of sites for instruments and management thereof</b>	<b>Research on and selection and procurement of instruments</b>  <b>Instruction on instruments operation by experts</b>
<b>(Supplementary)</b> <b>Management of equipment</b>	

## Expense Share of NEDO and NSTDA

NEDO and NSTDA shall share expenses for the following:

NSTDA	NEDO
<p><b>(Bilateral Consultation)</b></p> <p>Expenses for holding consultation meetings (Thai share)</p>	<p>Expenses for holding consultation meetings (Japanese side's share)</p> <p>Expenses for transportation to and from destination and daily living expenses during visits to Thailand</p>
<p><b>(Joint Research and Training)</b></p> <p>Personnel expenses and domestic travel expenses for Thai researchers</p> <p>Expenses for equipment and consumables necessary for research</p> <p>Expenses for organizing workshops</p>	<p>Expenses for transportation to and from destination and daily living expenses for Japanese side researchers</p>
<p><b>(Instruments)</b></p> <p>Expenses necessary for management of instruments</p>	<p>Expenses for procurement of instruments</p> <p>Expenses for instruction on operation of instruments</p>
<p><b>(Supplementary)</b></p>	

**MEMORANDUM OF UNDERSTANDING**

**BETWEEN**

**MALAYSIAN AGRICULTURAL RESEARCH AND  
DEVELOPMENT INSTITUTE GOVERNING BOARD**

**AND**

**THE NEW ENERGY AND INDUSTRIAL TECHNOLOGY DEVELOPMENT  
ORGANIZATION (NEDO) OF JAPAN**

**FOR**

**FOLLOW-UP ACTIVITIES TO RESEARCH COOPERATION PROJECT**

**ON**

**CONSERVATION AND SUSTAINABLE USE OF TROPICAL BIORESOURCES**

This Memorandum of Understanding is made as of 15, March, 2000

This Memorandum of Understanding (hereinafter referred to as the 'MoU') has been made to clarify agreements between the Malaysian Agricultural Research and Development Institute Governing Board (hereinafter referred to as 'MARDI') and the New Energy Industrial Technology Development Organization (hereinafter referred to as 'NEDO') concerning the Follow-up Activities to the Research Cooperation Project on Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources (hereinafter referred to as the 'Follow-up Activities')

MARDI and NEDO hereby agree as follows:-

#### **Article 1**

##### **Objective of Follow-up Activities**

The objective of the Follow-up Activities is to assist Malaysia to promote research on management and utilization of tropical bioresources focusing on industrial use, by using the results of the Research Cooperation Project on Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources implemented from July 20 1996 to 31 March 1999.

#### **Article 2**

##### **Cooperation between MARDI and NEDO**

MARDI and NEDO shall cooperate with one another in implementing the Follow-up Activities. In the event this cooperation may lead to a more specific scope of joint activities, then such activities shall be embodied into subsidiary agreement between the parties.

### **Article 3**

#### **Outline of Follow-up Activities**

The activities to be implemented for the Follow-up Activities are as follows:

1. Improvement of bioresources, ex situ conservation and management system (culture collections).
2. Improvement of database networking systems for bioresources.
3. Dissemination of information on outputs of the Research Cooperation Project on Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources.
4. Development of methodologies for industrial utilization of bioresources.

Details of each activity shall be spelt out in proper written documents to be agreed upon by both parties through party representatives as the cooperation progresses.

### **Article 4**

#### **Site for Follow-up Activities**

The Follow-up Activities shall be implemented in appropriate sites in Malaysia approved by MARDI and NEDO.

### **Article 5**

#### **Scope of Work**

The scope of work for MARDI and NEDO shall be as set forth in the accompanying 'Scope of Work' which is hereinafter incorporated by reference, and each party shall be responsible for bearing the cost of its work under this MoU.

Within the above framework both parties are in agreement that the details pertaining to the 'Scope of Work' shall be agreed upon through their representatives and be accepted by the parties.

**Article 6**  
**Official Language**

All forms of correspondence, communication and other activities related to the administration of the Follow-up Activities including preparation of documents, drawings or reports shall be in the English Language.

**Article 7**  
**Facilitation**

MARDI shall assist wherever and whenever is required in processing the application for approvals and any and all permits, licences and other forms of approval from the relevant Malaysian authority required for implementing the Follow-up Activities.

**Article 8**  
**Implementation Method for Follow-up Activities**

NEDO may entrust part of its work for the Follow-up Activities to other Organizations (hereinafter referred to as 'Implementing Organizations') when necessary and shall inform MARDI of such entrustment.

**Article 9**  
**Follow-up Activities Management**

MARDI and NEDO shall each appoint a group of representatives to manage the Follow-up Activities and each party shall notify the other party in writing of such appointment. If either party changes its representatives, that party shall notify the other party in writing of such a change.



**Article 10**  
**Confidentiality**

Confidential information exchanged between MARDI and NEDO during the course of the Follow-up Activities shall not be disclosed to any third party not involved with the Follow-up Activities. However, this provision shall not apply in the event that either party is required to disclose such information to its government.

**Article 11**  
**Obligations**

Neither MARDI nor NEDO shall make a claim for compensation against the other party in the event of any material damage, injury or loss of life due to an accident, natural calamity or any reason other than willful misconduct or gross negligence.

**Article 12**  
**Public announcement and Disclosure of the**  
**Follow-up Activities Results**

In the event that either MARDI or NEDO wishes to publicly announce or disclose Follow-up Activities results to a third party not involved with the Follow-up Activities, that party shall obtain the written consent of the second party prior to any public announcement or disclosure of the Follow-up Activities results. However, this provision shall not apply in the event that either party is required to disclose Follow-up Activities results with its government.

**Article 13**  
**Treatment Of intellectual Property Right**

Intellectual property rights and profits obtained through the Follow-up Activities shall be shared by MARDI and an entity entrusted by NEDO. The sharing ratio shall be determined by mutual agreement.

However both parties agree that in the event intellectual property rights result during the Follow-up Activities, an agreement which specifies each party's rights shall be concluded subject to terms and conditions mutually agreed upon.

**Article 14**  
**Mutual Trust and Consultation**

Any problems resulting from or any unspecified matter in this MoU shall be resolved as soon as possible through amicable consultation, based on the principles of mutual benefits, equality, cooperation and trust.

**Article 15**  
**Validity**

1. This MoU shall come into force upon April 1, 1999 and remain effective until March 31, 2000.
2. Subject to the mutual agreement of both parties, MARDI or NEDO may terminate this MoU upon three (3) months written notice to the other party.
3. The provision of Articles 10, 11, 12 and 13 shall remain effective after expiration or termination of this MoU.
4. This MoU may be amended by mutual agreement of MARDI and NEDO.

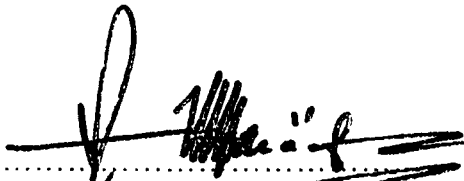
## Article 16

The validity of this MoU shall be preconditioned by the availability of an appropriated budget for the Follow-up Activities from each party's respective competent agencies. Details concerning the schedule and implementation method for this Follow-up Activities shall be determined by mutual consultation between MARDI and NEDO.

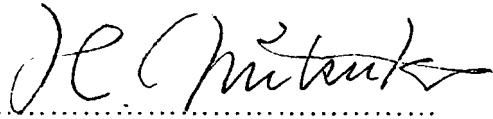
**IN WITNESS WHEREOF, MARDI and NEDO** have executed two (2) copies of this MoU on the date indicated below, with each copy being equally valid.

The COMMON SEAL of the  
MALAYSIAN AGRICULTURAL  
RESEARCH AND DEVELOPMENT  
INSTITUTE GOVERNING BOARD  
We hereto affixed and signed for and  
on behalf of the Institute by:

For and on behalf of  
NEW ENERGY AND INDUSTRIAL  
TECHNOLOGY DEVELOPMENT  
ORGANIZATION (NEDO)



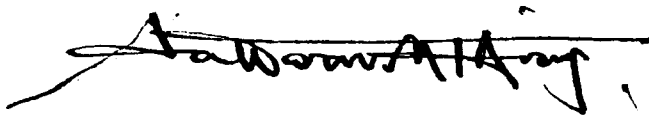
.....  
**DATO' ANNUAR MA'ARUF**  
Chairman of the MARDI  
Governing Board



.....  
**HIROSHI MITSUKAWA**  
Executive Director

Witness

Witness



.....  
**DR. SAHARAN HJ. ANANG**  
for Director General of MARDI

## SCOPE OF WORK

		Performed by	
WORK DESCRIPTION		MARDI	NEDO
1.	Administration		
(1)	Arrangement of meetings with Malaysian authorities in Malaysia.	O	
(2)	Assignment of Malaysian personnel and bearing expenses, including travel costs, accommodations, living costs in the Malaysia and wages regarding such assignment.	O	
2.	Follow-up Activities supervision	O	O
3.	Exchange of Personnel		
(1)	Assignment of Japanese personnel to Malaysia if necessary for implementing the Follow-up Activities.		O
4.	Environment for the Follow-up Activities		
(1)	Preparation of places and environments including the supply and/or payment of public utilities (e.g. electricity, water and so forth), necessary for implementing the Follow-up Activities in Malaysia.	O	

# **Bilateral Research Cooperation Projects on Conservation and Sustainable Use of Biodiversity**

A summary report of the results from  
the six-year bilateral research cooperation projects on tropical bioresources  
between Japan and each of Thailand, Indonesia and Malaysia  
(April 1993-March 1999)

## **Introduction**

The Bilateral Research Cooperation Projects on the Conservation and Sustainable Use of Biodiversity between Japan and each of Thailand, Indonesia and Malaysia were successfully completed in March this year. This report summarizes the achievements of the tropical bioresources projects. The one-billion-yen projects started in April 1993, on the basis of the preliminary studies conducted during the fiscal year 1991 and continued for six years until March 1999. The projects exchanged a total of 591 Japanese and Southeast Asian scientists, installed the most-needed equipment and instruments in the local research facilities, and sponsored domestic research programs. The Japan Bioindustry Association (JBA) carried out these projects under the contract with the New Energy And Industrial Technology Development Organization (NEDO), Tokyo.

## **1. Objectives and Achievements**

The primary objectives of the projects were: (1) to assist the Southeast Asian countries in their own efforts to conserve their tropical bioresources and use them in a sustainable manner; (2) to train the Southeast Asian scientists and help develop their scientific skills through collaborative research; and (3) to pave the way for future international research cooperation.

Tables 1, 2 and 3 briefly describe the achievements of the projects by partner country. As the tables show, the achievements cover a wide range of areas in biodiversity. This was due to the fact that the projects involved, from the technical view point, two elements including (1) conservation and (2) sustainable use of tropical bioresources, and from the view point of target organisms, three elements including (1) animals, (2) plants and (3) microorganisms. Thus, we selected about 5-7 research subjects for each partner country.

Another consideration was the bilateral nature of the projects, *i.e.* three independent projects were carried out under the Japan-Thailand, Japan-Indonesia and Japan-Malaysia government agreements. For this reason, the JBA secretariat set up three teams to handle independent Thai, Indonesian and Malaysian projects.

Most of actual research activities were undertaken by the scientists from universities and public research institutes. A total of 389 Japanese scientists were dispatched to the tropical countries for on-site

collaborative research whereas a total of 202 scientists from the three countries were invited to Japan for joint research or training for technology transfer. A variety of interesting results were gained in the research projects, though not referred to in detail because of limited space. More detailed information is described elsewhere.<sup>1</sup>

The secretariat was especially careful in designing and building the most-needed research infrastructure in each partner country that can be repeatedly used for a long period. The secretariat also worked out mutually-acceptable, transparent and practical procedures for handling biological resources. For example, the Japanese and Southeast Asian scientists jointly developed the inventories of specimens collected during the course of the projects. The secretariat and each of the three partners also agreed on the conditions for transferring these samples to Japan. The secretariat also constructed the Biodiversity Online, an internet-based bioresources information network, in cooperation with Universiti Kebangsaan Malaysia and other institutions.

## **2. Future Collaboration**

As the Tokyo Resolution<sup>1</sup> Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources adopted on November 10, 1998 at the Tokyo International Forum on Conservation and Sustainable Use of Tropical Bioresources states, these major Southeast Asian countries are strongly willing to conserve their tropical bioresources and leverage these unique assets to develop their economies. In the U.S. and some European countries, comprehensive biodiversity cooperation initiatives have already been launched in a joint effort by industry, government and academic sectors to commercialize tropical bioresources. Future challenge for Japan-Southeast Asia bioresources cooperation is to establish a practical mechanism by which the parties cooperate to industrialize tropical bioresources in a timely manner. It would be necessary to gradually step up biodiversity cooperation initiatives toward industrial and sustainable use of tropical bioresources by: (1) planning more focused projects; (2) signing comprehensive bilateral bioresources transfer agreements for industrial in addition to research use; and (3) providing a better mechanism for participation that attract businesses.

While the six-year research cooperation projects

were completed, we are working on a follow-up to continue and extend the good relations that these

projects established with Thailand, Indonesia and Malaysia.

Table 1 — Japan-Thailand Project

Subjects	Achievements
<p>1. Taxonomic analysis, ecosystem evaluation and monitoring</p> <p>1.1 Feeding strategies of primates</p> <p>(1) Evaluation of the ecosystems of tropical plant, animal and microbial habitats, and their time-serial changes</p> <p>(2) Screening of primates' food plants for new bioactive substances</p>	<p>(1) Selecting the dusky lutongs in Kaeng Krachan National Park and the pig-tailed monkeys in Khao Yai National Park as target animals, their group composition, forest use, feeding habits and other basic data were collected.</p> <p>A radio telemetric system was established to track primate behaviors.</p> <p>(2) Chemical analysis of primates' food plants was conducted to gain knowledge useful for future research.</p> <p>Thai scientists were invited to Japan to transfer the tissue culture techniques used to extract useful substances and produce them in large quantities.</p>
<p>1.2 Improvement of microbial culture collection systems</p> <p>(1) Use of DNA-based classification and identification methods</p> <p>(2) Establishing a network of individual culture collections</p>	<p>(1) Japanese and Thai scientists worked together to separate and identify lactic and acetic acid bacteria, yeasts, filamentous fungi and Basidiomycetes from Thai samples to transfer these techniques to Thai scientists. At the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), a workshop was given on acetic acid bacteria and actinomycete.</p> <p>(2) An inventory was developed for the strains that were separated and identified in the collaborative research and was deposited in the BIOTEC culture collection.</p> <p>The Japanese knowledge and experience about culture collection and data management were transferred to Thai scientists.</p> <p>Information environment for the R&amp;D of biodiversity at the Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) was discussed between Japanese and Thai Scientists at Microbiological Resources Centre (MIRCEN), TISTR.</p>
<p>2. Conservation of biodiversity through man-made ecosystems (<i>i.e.</i> "pseudo" natural forest system or mixed plantation of multiple species)</p> <p>2.1 Interactions among different organisms within an man-made ecosystem</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Evaluation of the effectiveness of man-made ecosystems by the analysis of the interactions among different organisms and by physiological and biochemical analysis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Permanent plots were set up within the selected natural, pseudo natural and artificial forests to measure their stand density, the number of species, average basal area and diameter, average height, etc. A database system was developed to save the collected data on all individual stands.</li> <li>For major tree species in the permanent plots, the dynamics of photosynthates, and the correlation between endogenous hormones and soil water content were studied and basic data were accumulated.</li> <li>The sugar and starch contents in the leaves of major epiphytes and their host plants were examined to elucidate the host selection and invasion mechanisms of the epiphytes.</li> <li>The levels and distribution of selected chemical elements in soils and the trees in the permanent plots were measured to obtain the basic knowledge to examine the soundness of an ecosystem from the view point of soil environment.</li> </ul>
<p>2.2 Genetic diversity analysis of artificial ecosystems</p> <p>(1) Genetic diversity analysis of artificial ecosystems, and evaluation of inbreeding effects</p>	<p>(1) For the major trees in the selected natural, pseudo natural and artificial forests, the spacer regions of chloroplast tRNA were sequenced to prepare a phylogenetic tree. The comparison of the newly developed sequence data with the existing data for native varieties showed that no genetic mutation has occurred in these trees.</p> <p>The <i>GapC</i>'s of the nuclear DNA were sequenced for the major trees in the selected natural, pseudo natural and artificial forests. The result suggested that <i>Azizia xylocarpa</i> propagates by inbreeding.</p>

Continued . . .

Table 1 — Japan-Thailand Project (Continued)

<p>(2) Construction of a gene library</p> <p>(3) Examination of the models for maintaining and improving genetic diversity</p>	<p>(2) For the major trees in the selected natural, pseudo natural and artificial forests, the basic data were developed and samples were collected to construct a gene library.</p> <p>(3) Through these research activities, the basic knowledge was gained to formulate the models of maintaining and improving genetic diversity.</p>
<p>2.3 Socioeconomic and ethnological analysis of an artificial ecosystem</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• The effects of the most important constituent of an ecosystem, human society, on the ecosystem were analyzed to develop the best approaches to ecosystem conservation and sustainable use.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• For the villages newly constructed in Chachoengsao province by the Thai government, selected farmers were surveyed of their economic situation and use of forest community system and resources to study the current state of the economic base and resource management of these villages.</li> <li>• In the villages covered by the survey, education and training was given on how forest community system and resources should be managed.</li> </ul>
<p>3. Use of bioresources</p> <p>3.1 Use of bioresources</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Screening of new bioactive substances found in plants and their applications</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• The techniques based on the <i>K-ras</i>-NRK assay system to screen anti-<i>ras</i> substances were transferred to the Thai scientists invited to Japan.</li> <li>• Also at the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), a training was given on the same screening techniques.</li> </ul>
<p>3.2 Study of traditional use of plant resources</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Through interviews with the ethnic minorities in northern Thailand, studies were conducted on traditional knowledge including the names, uses and cultivation practices of plants they use as medicines.</li> </ul>



Table 2 — Japan-Indonesia Project

Subjects	Achievements
<p>1. Taxonomic analysis, ecosystem evaluation and monitoring</p> <p>1.1 Microbial culture collection systems</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Taxonomic analysis of lactic and acetic acid bacteria found in fermented foods</li> <li>• Improving culture collection network</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• As two microbial resources of Indonesia, lactic and acetic acid bacteria were screened, separated and identified. Many interesting acetic acid bacterium strains were separated and new knowledge was gained. In addition, Indonesian researchers were trained to improve their skills in classification and identification of microorganisms and microbial database development.</li> <li>• Separated strains were deposited in an Indonesian culture collection to expand its collection.</li> </ul>
<p>1.2 Plant conservation techniques</p> <p>(a) Conservation of plant diversity</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Basic research on plant inventory and diversity, and analysis of genetic make-up and phylogenic relationships of species</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• In order to promote plant diversity research, techniques were explored to develop data for use in molecular systematics and to process authenticated genetic data to construct gene banks. Indonesian botanists were given training on these techniques. The approach of molecular systematics was applied for the first time in Indonesia to the study of the selected plants of the families Anacardiaceae and Aspleniaceae.</li> </ul>
<p>(b) Tissue and cell cultures of tropical plant species</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Research and development of the tissue and cell culture and micropropagation techniques for tropical plant species</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• The applicability of the photoautotrophic micropropagation system to tropical plant species was confirmed.</li> <li>• Acacia (<i>Acacia mangium</i>) as an important tropical plant, mangosteen (<i>Garcinia mangostana</i>) and pineapple (<i>Ananas comosus</i>) as two representative tropical fruits, peppermint (<i>Mentha piperita</i>) as a medicinal plant among others were selected as model plants and it was shown that the photoautotrophic micropropagation system can be used to produce these useful plants in large quantities.</li> </ul>
<p>(c) Development of DNA techniques for the evaluation of biological biodiversity</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Using crab-eating macaques as an experimental animal for medical and drug studies, cockatoos as a pet bird, and soft-shelled turtles and bullfrogs as food animals, the basic DNA techniques for biodiversity evaluation were developed and transferred to Indonesian scientists.</li> <li>• The DNA techniques identified for the first time in the world a color-blind macaque.</li> <li>• The entire sequence of the mitochondrial DNA from a soft-shelled turtle was determined.</li> </ul>
<p>2. Utilization of tropical bioresources</p> <p>2.1 Utilization of microbial resources</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Screening microorganisms for their abilities of producing antibiotics, polysaccharide-degrading enzymes and other useful substances.</li> <li>• Searching microorganisms that are capable of producing new oils and degrading cyanides</li> </ul>	<p>(1) Tropical plants (including endangered species) were collected to elucidate the roles of the microorganisms (endophytes) that live in symbiosis with them and to screen the endophytes' ability to produce useful substances.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• The techniques to separate, identify and store the collected endophytes were established. Their ability to produce useful substances were evaluated and found ones with antibiotic-, high-molecular polysaccharide- and oligosaccharide-producing capabilities.</li> <li>• Highest oligosaccharide production was observed when endophytic fungus use xylan substrates and when endophytic bacteria use mannan substrates.</li> <li>• New findings were gained concerning the co-relations between endophytes and their host plants.</li> </ul> <p>(2) Microorganisms were screened for their abilities of producing new oils and degrading cyanides</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A desaturase which plays a key role in lipid metabolism were separated from a <i>Mortierella</i> filamentous fungus and characterized. The gene encoding the desaturase was introduced into koji molds and a transformed strain was found to produce <math>\gamma</math>-linolenic acid, an unusual product for a wild strain.</li> <li>• Also found was a strain that transforms palm oil.</li> <li>• The genes encoding a <i>Pseudomonas</i>-derived <math>\beta</math>-cyanoalanine synthase, a cyanide-assimilating enzyme, and a <i>Rhodococcus</i>-derived nitrile converting enzyme were simultaneously expressed in a transformed strain to successfully convert cyanides into amino acids. As new microorganisms that transform cyanide-related compounds, those that assimilate cyclic imides were also found.</li> </ul>

Continued . . .

Table 2 — Japan-Indonesia Project (Continued)

<p>2.2 Utilization of plant resources</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Feeding strategies of primates (conservation of tropical rainforest as well as examination of primate food plants for bioactive substances and of techniques to produce these useful substances)</li> </ul>	<p>(1) A study of the feeding habits of silver lutungs found a substantial difference in their preferences in food plants depending on plant species and items. Such differences in feeding habits may be used to screen the plants' secondary metabolites. Using this approach, nine plant species were identified as those that silver lutungs might be eating for their medicinal effects.</p> <p>(2) Food and medicinal plants used by mankind as well as those eaten by primates were investigated for their biological activities.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>In this program, candidate plant species were squeezed down quite efficiently through an extensive screening. Also studied were such interesting bioactive substances as Bryophyllin A (pesticide), Tephrosin (pesticide) and Zerumbone (anti-inflammatory and anti-cancer agent).</li> </ul>
<p>3. Promoting the establishment of Tropical Bioresources Industrial Development Center in Indonesia</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Feasibility study of constructing a tropical bioresources information center in Indonesia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>The initiative was originally proposed by the Agency for the Assessment and Application of Technology (BPPT) of Indonesia with its strong need for scientific and technological information useful in sustainable use of the nation's tropical bioresources.</li> <li>After a series of meetings between Indonesian and Japanese personnel and visits by BPPT officials to related organizations in Japan, the initiative was finally proposed to be implemented as the Tropical Bioresources Industrial Development Centre (TroBIDEC) project that focus on industrial development of Indonesia's bioresources.</li> <li>In February 1999, BPPT formally announced the project at a press conference in Jakarta.</li> </ul>

Table 3 — Japan-Malaysia Project

Subjects	Achievements
1. Ecosystems and monitoring 1.1 Biodiversity databases and gene banks	<ul style="list-style-type: none"> <li>Using Malaysian plants with commercial values such as durian, the gene diversity evaluation techniques were transferred to the country's scientists.</li> <li>The techniques involved in the separation and identification of microorganisms were also transferred to Malaysian scientists. A total of 89 strains of <i>Pseudomonas</i> and other species were separated from the samples collected in Malaysia and <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> was identified. These separated strains were deposited in a Malaysian culture collection and also transferred to Japan under a material transfer agreement between the two countries.</li> </ul>
1.2 Evaluation and monitoring of marine ecosystems	<ul style="list-style-type: none"> <li>The techniques for separating and storing marine life were transferred to Malaysian scientists. Field survey was conducted in Sabah and the methodologies to monitor the degradation of river, coastal and oceanic environments were developed.</li> <li>A joint research between Japanese and Malaysian scientists was conducted on Porifera and symbiotic microorganisms and separated a total of 435 microbial strains. The analysis of the useful substances produced by these microorganisms found, among others, a biodegradable polymer, anisomycin and an anti-microalga active substance.</li> </ul>
1.3 Ecosystem evaluation and inventory development based on advanced technologies	<ul style="list-style-type: none"> <li>In a collaborative effort between Japanese and Malaysian scientists, a biodiversity inventory was developed. The joint team also developed a database system with online data search and exchange capabilities.</li> <li>As a tool to analyze the genetic variations in the tropical trees, the related advanced technologies and automatic sequencers were transferred to Malaysia. The Fagaceae and Dipterocarpaceae trees were analyzed for their genetic variations and a substantial accumulation of genetic variations was found.</li> </ul>
2. Utilization of tropical bioresources 2.1 Screening and separation of bioactive compounds produced by microorganisms and plants	<ul style="list-style-type: none"> <li>The techniques required in screening and separation of useful bioactive compounds and microorganisms were transferred to Malaysian scientists.</li> <li>Effective anti-tumor promoter substances were found in Malaysian food plants and one of which was successfully identified as girinimbine.</li> <li>A total of 354 endophytes separated from Malaysian plants were screened for their capabilities of producing antibiotics, high-molecular polysaccharide-degrading enzymes and oligosaccharides. A strain was found to produce an antibiotic that selectively attacks the <i>Alternaria</i> species.</li> <li>The separated strains were deposited to a Malaysian culture collection and also transferred to Japan under a material transfer agreement.</li> </ul>
2.2 Evaluation of therapeutic and toxic potentials of natural products	<ul style="list-style-type: none"> <li>The techniques to evaluate therapeutic and toxic potentials such as anti-tumor, neuroprotective and anti-allergic activities and the cell culture techniques for medicinal plants were transferred to Malaysian scientists.</li> <li>A tumor-suppressing substance was found in the bark extract from a Simaroubaceae plant. The substance was separated as a triterpene biosynthetic compound and the structure was determined.</li> <li>A standard quality evaluation method was established based on HPLC for a Malaysian traditional folk medicine, "Tongkat Ali".</li> <li>Neurotoxicity prevention activity was found in the tocotrienols from Malaysian palm oil.</li> <li>Some of the extracts from 15 Malaysian plants screened were found to exhibit promising anti-allergic activities.</li> <li>Araceae rhizome propagation techniques were established and developed to improve their efficiency.</li> </ul>

## Conclusion

Almost all people who have an experience in biodiversity assistance programs unanimously say that establishing mutual trust with partner countries is the foundation for the better access to their bioresources. The key is a well-planned national biodiversity strategy that consistently builds better mutual trust with partner countries.

## References

<sup>1</sup> *THE TOKYO INTERNATIONAL FORUM ON CONSERVATION AND SUSTAINABLE USE OF TROPICAL BIORESOURCES*  
*Results of the Bilateral Research Cooperation Projects Between Japan and Each of Thailand, Indonesia and Malaysia from 1993 to 1999 (November 9-10, 1998 Tokyo, Japan)*  
*New Energy And Industrial Technology Development Organization(NEDO) and Japan Bioindustry Association(JBA)*

## Biodiversity of Edible Plants in Southeast Asia: Implications for Cancer Prevention

Koichi KOSHIMIZU

Department of Biotechnological Science, Faculty of Biology-Oriented Science and Technology, Kinki University, Iwade-Uchita, Wakayama 649-6493, Japan

Phone: +81-736-77-3888

Fax: +81-736-77-4754

E-mail: koshimiz@bio.waka.kindai.ac.jp

### ABSTRACT

In recent decades, close relationships between food constituents and their efficacies for prevention of "life style-related diseases" including cardiovascular diseases, diabetes, and cancer have been proven. In particular, there is ample evidence for the involvement of food habits or food components in cancer prevention in humans. We have carried out screening tests of vegetables and fruits in Thailand, Indonesia, and Malaysia ( $n = 371$ ) for the inhibition of the tumor promoter 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced Epstein-Barr virus (EBV) activation in Raji cells. As the results, such plants were found to have markedly higher potentials for cancer prevention as compared with those in Japan ( $n = 133$ ). Zerumbone was isolated from the rhizomes of *Zingiber zerumbet* Smith as a potent inhibitor of EBV activation. The  $IC_{50}$  value of zerumbone ( $0.14 \mu\text{M}$ ) is noticeably lower than those of the anti-tumor promoters we have hitherto obtained. These results indicate that the use of edible plants in southeast Asian countries may be beneficial to search for effective chemopreventive agents.

### ABSTRAK

Dalam dekade terakhir, hubungan yang erat antara kandungan makanan dan kemanjurannya untuk mencegah "penyakit yang berhubungan dengan gaya hidup" meliputi penyakit kardiovaskular, diabetes dan kanker telah terbukti. Dalam hal khusus, terdapat banyak data yang memperlihatkan keterlibatan kebiasaan makanan atau komponen makanan dalam pencegahan kanker pada manusia. Kami telah melakukan skrining pada sayur-sayuran dan buah-buahan di Thailand, Indonesia, dan Malaysia ( $n = 371$ ) terhadap penghambatan pembentukan tumor 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-

diinduksi aktivasi Epstein-Barr virus (EBV) dalam sel Raji. Sebagai hasilnya, tanaman-tanaman secara nyata ditemukan lebih potensial untuk pencegahan kanker dibandingkan dengan di Jepang ( $n = 133$ ). Zerumbone di isolasi dari umbi *Zingiber zerumbet* Smith sebagai suatu inhibitor yang potensial pada aktivasi EBV. Nilai  $IC_{50}$  zerumbone ( $0.14 \mu\text{M}$ ) adalah lebih rendah dari zat anti-pembentukan tumor yang selama ini kami peroleh. Hasil-hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan tanaman yang dapat di makan di negara-negara Asia tenggara dapat dijadikan sumber yang bermanfaat untuk pencarian zat-zat chemopreventif yang efektif.

### INTRODUCTION

A great body of epidemiological and animal studies have demonstrated the close relationships between food phytochemicals and their efficacies for prevention of "life style-related diseases" including cardiovascular diseases, diabetes, and cancer have been proven (1). In particular, there is ample evidence for the involvement of food habits or food components in cancer prevention in humans (2).

While attention has been frequently paid to anti-oxidative vitamins or minerals for the prevention of carcinogenesis in rodents (3), it can be stressed that the above-mentioned ubiquitous chemicals do not exclusively represent the beneficial, cancer-protective effect of vegetable intake when the great diversity of plant secondary metabolites is taken into account.

Southeast Asia is one of the promising sites in the world for collecting diverse and unique edible plants containing various and abundant biologically active substances (4). In fact, there is considerable utilization of commonly eaten plants in the traditional folk medicines of Southeast Asia (5). The above background leads to the premise that edible plants from Southeast Asian countries have a higher potential for chemoprevention as compared with those found in temperate zones.

We have been focusing on the anti-tumor-promotion in multistage carcinogenesis as an effective means of chemoprevention (6) and conducted an inhibitory assay of Epstein-Barr virus (EBV) activation for screening. EBV is a herpes virus latently infected in human B-lymphoblastoid Raji and is known to be activated by tumor promoters to produce viral early antigens (EA) (7). It has been reported that EBV, a highly expressing *c-myc* gene, is one of

the causes of some cancers (8-10). Thus, an inhibitory test of EBV-activation may be estimated to be one of the most effective *in vitro* methods to predict chemopreventive potential *in vivo*. A considerable number of compounds which we have identified as EBV activation inhibitors have actually shown notable chemopreventive effects in some rodent models (11-22).

Based on the above findings, in the present study we have screened the anti-tumor promoting activities of edible plants from Thailand, Indonesia, and Malaysia using the inhibitory test of EBV activation in Raji cells. In addition, an active constituent of *Zingiber zerumbet*, a medicinal plant in Southeast Asia, has been isolated as a potent EBV activation inhibitor. The high potential of edible Southeast Asian plants for cancer chemoprevention is collectively discussed.

## MATERIALS AND METHODS

### Plant materials

Fresh edible plants were collected at local markets in Bangkok and Chaingmai in November, 1993 (Thailand), Bandung and Bogor in March, 1996 (Indonesia), and Alor Star, Kangar, and Kuala Terengganu in November, 1996 (Malaysia). Each material was cut into small pieces and immediately soaked in methanol (> 95% purity). The extracts were stored at room temperature for 10-30 days. After drying *in vacuo*, the extract was dissolved at a concentration of 40 mg dry wt./mL in dimethylsulfoxide (DMSO).

### Inhibitory assay of EBV activation

Raji cells were incubated in 1 ml of RPMI 1640 medium (supplemented with 10 % fetal calf serum) containing sodium *n*-butyrate (BA, 440  $\mu$ g), 12-*O*-hexadecanoylphorbol-13-acetate (HPA, 40 ng), and the test sample (200  $\mu$ g) at 37 °C under 5 % CO<sub>2</sub> atmosphere for 48 hrs. EBV activation was evaluated by the detection of EA, stained by an indirect immunofluorescence method with high-titer EA-positive sera from nasopharyngeal carcinoma patients, and followed by FITC-labeled IgG. The rate of EA-induced cells was compared to the rate obtained in a control experiment using only BA, HPA, and DMSO [0.5% (v/v)], in which the rate of EA-induced cells was ordinarily around 40 %. The activity was divided into four ranks based on both the inhibitory rate (IR) of each test extract toward EBV activation: +++ strongly active (IR  $\geq$  70%); ++ moderately active (70% > IR  $\geq$  50%); + weakly active (50% > IR  $\geq$  30%); - inactive

(30% > IR). At least 500 cells were counted in each experiment, which was performed in duplicate. Standard error for the IR was consistently 10% or less.

### Reduction of zerumbone

Ten-milligrams of sodium boron hydride (SBH) was added to a methanol solution of zerumbone (21.4 mg), and allowed to stand at room temperature for 30 min. After usual work up, 8-hydroxy- $\alpha$ -humulene was purified on preparative TLC (EtOAc: *n*-hexane, 1:4, *R<sub>f</sub>* = 0.63) in a yield of 22%. IR  $\nu_{\text{max}}$  film (cm<sup>-1</sup>): 3100-3600 (Br.), 1757, 1755, 1600, 1500, 1480, 1460, 1300. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) $\delta$ : 1.07 (3H, s, H-14 or 15), 1.08 (3H, s, H-14 or 15), 1.44 (3H, s, H-12), 1.67 (3H, s, H-13), 1.82 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-1a), 1.99-2.33 (3H, m, H-1b, 4, and 5), 4.63 (1H, d, *J* = 7.1 Hz, H-8), 4.83 (1H, dd, *J* = 10.1, 4.7 Hz, H-2), 5.22 (1H, m, H-6), 5.26 (1H, d, *J* = 16.1 Hz, H-10), and 5.56 (1H, dd, *J* = 16.1, 7.1 Hz, H-9). MS (AP-CI) (*m/z*): 221 [(*M*+1)<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O].

## RESULTS AND DISCUSSION

### Screening for the anti-tumor promoting activity *in vitro*

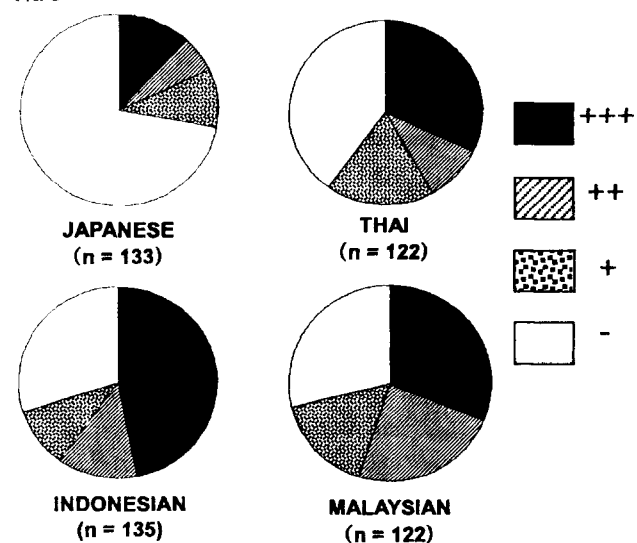


Figure 1  
Proportion of inhibitory activities toward EBV activation of the extracts from edible Japanese, Thai, Indonesian, and Malaysian plants. EBV-EA was induced by HPA (40 ng/mL) and BA (3 mM) in Raji cells. The inhibitory activity was divided into four ranks based on the IR of each test extract toward EBV activation: +++ strongly active (IR  $\geq$  70%); ++ moderately active (70% > IR

≥ 50%); + weakly active (50%>IR ≥ 30%); - inactive (30%>IR).

As shown in Fig. 1, a total of 371 edible plants from Thailand, Indonesia, and Malaysia were screened for their inhibitory activities toward the tumor promoter HPA-induced EBV activation in Raji cells (23-25), and their suppressive potencies are compared with that of Japan (n = 133) (26). It is notable that the rates of strongly (+++), moderately (++), and weakly (+) active plants from Southeast Asian countries are markedly higher than those of Japan. Thus, a high potential of Southeast Asian plants for cancer prevention is suggested. The scientific names of strongly active plants are listed in Table 1.

Table 1  
**Strongly active plants from Thailand, Indonesia, and Malaysia for EBV activation inhibition**

Family	Species
<b>THAILAND</b>	
Alizoaceae	<i>Glinus oppositifolius</i>
Amaranthaceae	<i>Amaranthus gracilis</i> Desf.
Anacardiaceae	<i>Mangifera foetida</i> Lour.
Bignoniaceae	<i>Oroxylum indicum</i> Vent.
Compositae	<i>Artemisia lactiflora</i> var. <i>gennina</i> <i>Chrysanthemum coronarium</i> L.
Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i> L.
Gnetaceae	<i>Gnetum gnemon</i> L.
Gramineae	<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.
Guttiferae	<i>Garcinia cowa</i> Roxb.

Labiatae	<i>Ocimum basilicum</i> L. <i>O. canum</i> Sims <i>O. gratissimum</i> L.
Leguminosae	<i>Pisum sativum</i> L.
Marsileaceae	<i>Marsilea crenata</i> Presl
Melastomataceae	<i>Diplectria barbata</i>
Meliaceae	<i>Aglaia odorata</i> Lour. <i>Azadirachta indica</i> Juss.
Piperaceae	<i>Piper nigrum</i> L. <i>P. sarmentosum</i> Roxb. <i>P. betel</i> L.
Polygonaceae	<i>Polygonum odoratum</i> Lour.
Rubiaceae	<i>Morinda citrifolia</i>
Rutaceae	<i>Citrus hystrix</i> D.C. <i>Zanthoxylum limonella</i>
Saruraceae	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.
Scrophulariaceae	<i>Limnophila aromatica</i> Merrill
Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>
Umbelliferae	<i>Apium graveolens</i> var. <i>Dulce</i> Pers.L. <i>Centella asiatica</i> Urban <i>Coriandrum sativum</i> L. <i>Erygium foetidum</i> L. <i>Trachyspermum roxburghianum</i> Craib
Zingiberaceae	<i>Boesenbergia pandurata</i> Holtt <i>Languas galanga</i> Swartz <i>Zingiber officinale</i> Roscoe

## INDONESIA

Agavaceae  
*Pleomele angustifolia* N.E. Brown

Amaranthaceae  
*Amaranthus hypochondriacus* L.

Annonaceae  
*Cananga odorata* (Lamk.)  
 Hook. f. et Thoms

Bombacaceae  
*Helitiera littoralis* Dryand

Butomaceae  
*Limnocharis flava* Buchen

Caesalpiniaceae  
*Caesalpinia sappan* (L.)

Caricaceae  
*Carica papaya* L.

Convolvulaceae  
*Ipomoea aquatica* Forsk.

Cruciferae  
*Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss  
*B. sinensis*  
*Nasturtium officinale* R. Br.

Cucurbitaceae  
*Sechium edule* (Jacq.) Swartz

Euphorbiaceae  
*Manihot esculenta* Crantz.  
*Sauropus androgynus* (L.) Merrill

Gnetaceae  
*Gnetum gnemon* (L)

Gramineae  
*Cymbopogon nardus* (L.) Rendl.  
*Oryza sativa* (L.).var Glutinosa  
*O. sativa* (L.)

Labiatae  
*Ocimum basilicum* L.

Lauraceae  
*Cinnamomum burmanni* (Nees) Bl.

*C. cassia* Presl

Leguminosae  
*Arachis hypogaea* L.  
*Parkia roxburgii* G.Don  
*Pisum sativum* L.

Magnoliaceae  
*Michelia champaca* (Maxim.) Sarg.

Mirtaceae  
*Eugenia polyanta* Wight

Myristicaceae  
*Myristica fragrans* Houtt.

Myrtaceae  
*Psidium guajava* L.

Oleaceae  
*Jasminun sambac* (L.) Ait.

Oxalidaceae  
*Averrhoa bilimbi* L.

Palmae  
*Areca catechu* L.

Pandanaceae  
*Pandanus amaryllifolius* Roxburgh

Papilionaceae  
*Trigonella foenumgraecum* L.

Piperaceae  
*Piper betle* L.  
*P. retrofractum* Vahl

Polypodiaceae  
*Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.

Rosaceae  
*Prunus avium* L.

Rutaceae  
*Citrus aurantifolia* Swingle  
*C. hystrix* DC  
*C. paradisi* Macf.

Solanceae  
*C. frutescens* (L.) Cabe

Umbelliferae  
*Anethum graveolens* L.



*Centella asiatica* (L.) Urban  
*Coriandrum sativum* L.  
*Cuminum cyminum* L.  
*Oenanthe javanica* (Bl.) DC.  
*Petroselinum sativum* Hoffm.

Urticaceae  
*Pilea Trinervia* Wight

Zingiberaceae  
*Curcuma aeruginosa* Roxb.  
*C. domestica* Valet.  
*C. xanthorrhiza* Roxb.  
*C. zedoaria* (Christm.) roscoe  
*Elettaria cardamomum* (L.) Maton  
*Kaempferia galanga* L.  
*Zingiber americanus* Blume  
*Z. officinale* Rosc.

**MALAYSIA**

Amarantaceae  
*Amaranthus gangeticus* L.  
*A. tricolor* L.

Anacardiaceae  
*Anacardium occidentale* L.  
*Mangifera indica* L.

Butamaceae  
*Limnocharis flava*

Capparidaceae  
*Cleome rutidosperma*

Caricaceae  
*Carica papaya* L.

Compositae  
*Cosmos caudatus* Kunth

Cucurbitaceae  
*Luffa acutangula* (L.) Robx.  
*Trichosanthes anguina* L.

Dioscoreaceae  
*Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill

Euphorbiaceae  
*Manihot esculenta* Crantz.  
*Sauropus androgynus* (L.) Merrill

Labiatae  
*Coleus tuberosus*

*Mentha arvensis* L.  
*Ocimum basilicum* L.

Lecythidaceae  
*Barringtonia racemosa* (L.) Spreng. (Putat)

Leguminosae  
*Archidendron contortum* (Martelli) I.C. Nielsen  
*Pachyrhizus erosus* (L.) Urban

Moraceae  
*Artocarpus heterophyllus* Lam.

Musaceae  
*Musa acuminata* Colla

Myristicaceae  
*Myristica fragrans* Houtt.

Myrtaceae  
*S. polyanthum*

Pandanaceae  
*Pandanus odoratus* Ridl.

Piperaceae  
*Piper betle* L.  
*P. sarmentosum* Roxb.

Polygonaceae  
*Polygonum minus* Hudson.

Rubiaceae  
*Morinda citrifolia* L.

Rutaceae  
*Murraya koenigii* (L.) Spreng.

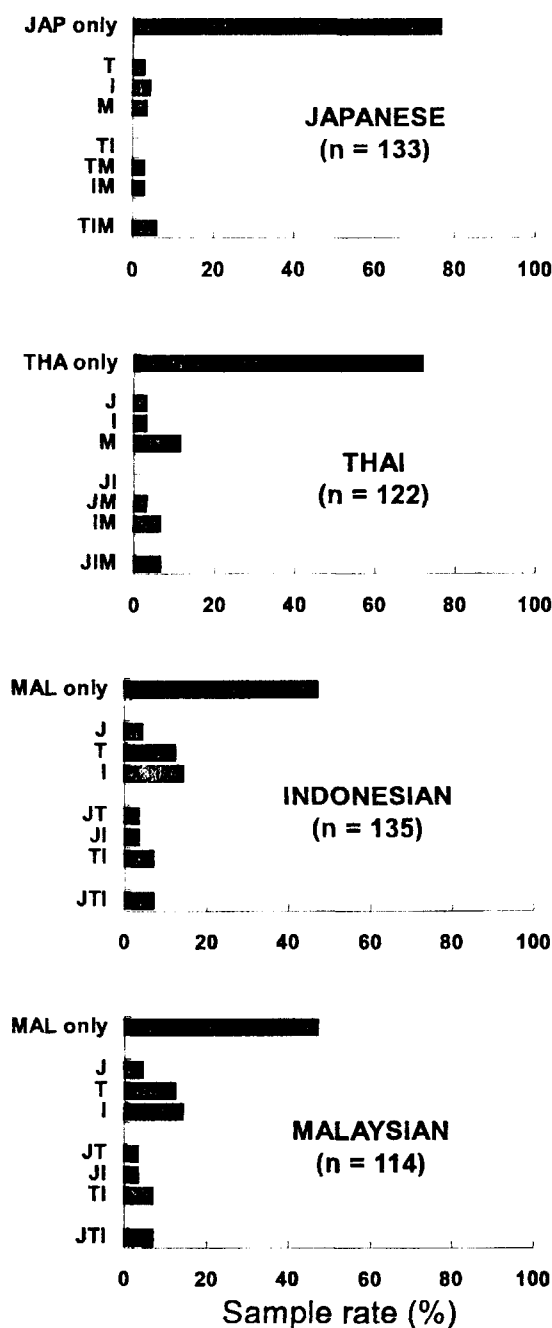
Solanaceae  
*Capsicum annuum* L.  
*Solanum melongena* L.

Trapaceae  
*Trapa incisa*

Umbelliferae  
*Centella asiatica* (L.) Urban

Zingiberaceae  
*Alpinia galanga* (L.) Swart.  
*Curcuma domestica* Valet.

---



**Figure 2**  
Overlapping status of test plant samples from Japan, Thailand, Indonesia, and Malaysia. These graphs show at what rates plants from each country overlap with each other by taxonomic classification. For instance, in Panel A, "JAP only" means test plants from Japan, but not tested in other screening of Thai, Indonesian, or Malaysian plants. "T" shows that the Japanese plants overlapped only with Thai, but not with Indonesian or Malaysian plants. "TI" means that the Japanese plants overlapped with both Thai

and Malaysian plants, but not with Indonesian ones. "TIM" shows that the Japanese plants overlapped with Thai, Indonesian, and Malaysian plants.

One can suppose that the potential of edible Thai, Indonesian, and Malaysian plants for chemopreventive properties is repeatedly shown because the plant species selected in these tests were similar to each other. We have calculated the rates of overlapping plant species used for tests in Japan, Thailand, Indonesia, and Malaysia. The rates for plants tested in only a single country and those overlapping with another country or countries are shown in Fig. 2. The former rates—designated as "JAP only" in Fig. 1 (Panel A) for example—were significantly higher in Japanese (77%), Thai (72%), and Indonesian (66%) tests, while those in the Malaysian test (47%) were less as compared with the other three tests since the number of Malaysian plants overlapping with Thai (14 species, 13% of the total) and Indonesian (16 species, 14% of the total) was higher than those of the others.

In any case, it is quite interesting to indicate that considerably large number of active plants occur independently in each Southeast Asian country. Vatanasapt et al. reported that the cancer mortality rate in Thailand is approximately half of those in both Japan and the U.S.A. (27). Then, it is tempting to speculate that the cause of lower rate may be partly attributable to food phytochemicals present in Thai vegetables although it is generally understood by lower fat energy intake in Thailand (28). Comprehensive epidemiological surveys on cancer mortality rates in Indonesia and Malaysia remain to be addressed.

Our criteria for plant selection was based on the fact that they are abundant in edible species used for herbs, condiments or flavors, suggesting them to contain physiologically active compounds (29). Substantially, the secondary metabolites of plants usually play critical roles in their self-defense as anti-oxidants, anti-microbials, and other anti-biotics.

The ecological interactions between plant/microbial or plant/insect in subtropical southeast Asian regions are considered to be more harsh than those in temperate zones. Also, some plant species in southeast Asia have hardly been given to plant breeding, which has been extensively done in Japan and other developed countries based on industrial or

commercial benefit without regard for the physiological functions of plants. Such trends in plant breeding may have resulted in the decrease in the contents of vitamins and other physiologically important chemicals in plants. It should be noted further that there is a long history of medicinal use of traditional vegetables and fruits in southeast Asian countries (30-31). Along a similar line, it is of interest to note that the taste and smell of edible plants is utilized to evaluate their medicinal effects by herbalists (32). Our criteria for plant selection for chemopreventive studies are consistent with this approach.

We have so far identified some of active constituents of promising plants as follows: cardamonin (*Boesenbergia pandurata*, Zingiberaceae) (33), 1'-acetoxychavicol acetate (*Languas galanga* or *Alpinia galanga*, Zingiberaceae) (34), citral (*Cymbopogon citratus*, Gramineae) (35), pheophorbide a (*Neptunia oleracea*, Leguminosae) (36), glyceroglycolipids (*Citrus hystrix*, Rutaceae) (37), niaziminin (*Moranga oleifera*, Moringaceae) (38), curcumin (*Zingiber cassumunar*, Zingiberaceae) (39), and AL-1 (*Artemisia lactiflora*, Compositae) (40).

#### Active constituent of *Z. zerumbet*

In addition to the above compounds, we have recently attempted to search for the EBV activation inhibitors in the rhizomes of *Z. zerumbet*, a medicinal plant occurring in Southeast Asian countries.

Fresh rhizomes of *Z. zerumbet* (1 kg); herbarium No.S-203-R, Environmental Science Laboratory, Central laboratory and Greenhouse Complex, Kasetsart University, Thailand; were extracted with methanol at room temperature and concentrated in vacuo. The aqueous extract was then partitioned between  $\text{CHCl}_3$  and deionized water (1:1) to give an active  $\text{CHCl}_3$  layer (5.83 g) which was subjected to silica gel column chromatography ( $\text{EtOAc}/n\text{-hexane}$ , stepwise). An active constituent (1.4 g) in the 5%  $\text{EtOAc}$  eluate was recrystallized from methanol to be identified as zerumbone (1; Fig. 3) by a comparison of the spectral data (41).

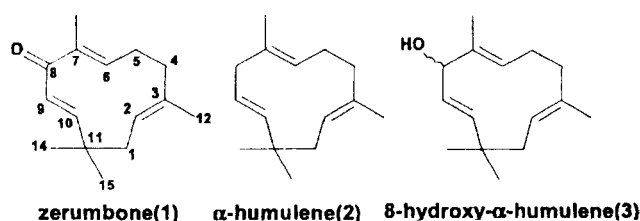


Figure 3

Structures of zerumbone (1),  $\alpha$ -humulene (2), and 8-hydroxy- $\alpha$ -humulene (3).

Commercially available  $\alpha$ -humulene (2) and 8-hydroxy- $\alpha$ -humulene (3; Fig. 3), the latter being obtained by  $\text{NaBH}_4$  reduction of 1, were also subjected to a bioassay. The inhibitory test on EBV activation was. As shown in Fig. 4, 1 at a concentration of 10  $\mu\text{M}$  or more showed strong cytotoxicity to Raji cells, as has been similarly shown in a hepatoma cell culture and normal mouse fibroblasts (41) while 1 maintained cell viability and exhibited significant inhibitory activity toward EBV activation in a concentration range of 0.01  $\mu\text{M}$ -10  $\mu\text{M}$ . The activity of 1 ( $\text{IC}_{50} = 0.14 \mu\text{M}$ ) is evaluated to be the highest among the anti-tumor promoters we have so far reported. Interestingly, 2 showed no significant inhibition up to a concentration of 100  $\mu\text{M}$ , in spite of only a slight structure difference from 1, i.e., the presence or absence of the carbonyl group at the C-8 position. Another zerumbone derivative (3) bearing a hydroxyl group at the C-8 position also showed markedly potent activity ( $\text{IC}_{50} = 0.95 \mu\text{M}$ ), in contrast to 2.

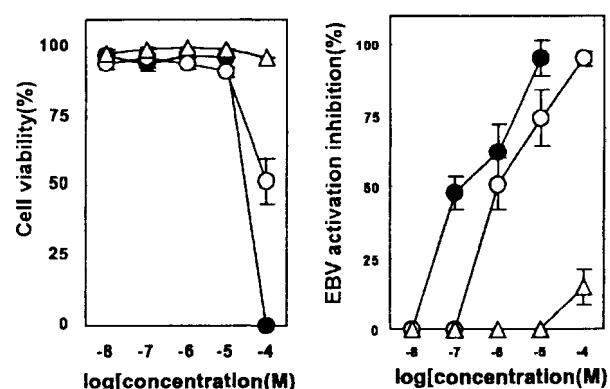


Figure 4

Inhibitory activity and cell viability of zerumbone (1, ●),  $\alpha$ -humulene (2, △), and 8-hydroxy- $\alpha$ -humulene (3, ○) in EBV activation tests.

EBV activation in Raji cells was induced by TPA (50 nM) and n-butyrate (3 mM).

Along a similar line of investigation, we have reported that oxidation of the hydroxyl group at C-3 of the triterpenoids enhanced the inhibitory activity toward EBV activation by 100-fold (41) and the importance of the enone group of the flavonoids have been demonstrated (42). These findings, together with the structure-activity

relationships of zerumbone-related compounds, may provide a lead to address the mechanism of action for the tumor promoter-induced EBV activation.

We have recently found that zerumbone markedly suppressed the formation of the histological tumor marker aberrant crypt foci in rat colon through collaborative work with Dr. T. Tanaka of Kanazawa Medical University (data not shown). Thus, further evaluation of chemopreventive activity of zerumbone in other rodent models should be performed.

## CONCLUSION

So far, much attention has been paid to vitamins C, E and antioxidative (radical scavenging) polyphenols as chemopreventive agents. While such ubiquitous constituents have notable activities, they actually make up a tiny fraction of diverse phytochemicals in the plant kingdom.

As said in the notion "Medicine and food are of the same origin.", some daily plant food in Asia has been used concurrently as folk medicine because of their diversity and traditionally inherited knowledge of their use.

As the nutritional situation has improved in developed countries, food taste has emerged as a more important factor while the biological function of food is less noticed and neglected. By instinct, we generally prefer salty and fatty dishes which are obviously risk factors of some cancers. When we define "nutritional value" as the primary function of food, "taste" as the second, and "physiological function" as the third, we notice that it is efficient to search for promising chemopreventive agents from the plants which still maintain physiological functions.

As mentioned above, edible southeast Asian plants are one of the most notable sources of physiologically active compounds. It is therefore necessary to further identify the active constituents which may be highly effective for chemoprevention.

## REFERENCES

- 1) Watanabe, S., Kimura, M., and Sobue T., Diet and cancer: epidemiological approaches. In "Food Factors for Cancer Prevention." Ohigashi, H., Osawa, T., Terao, J., Watanabe, S., and Yoshikawa, T. (Eds.), Springer-Verlag Tokyo, pp. 3-8 (1997).

- 2) Steinmetz, K. A., and Potter, J. D. *Cancer Cases and Control*, **2**, 325-357, (1991).
- 3) Wattenberg, L. W., *Cancer Res*, **52**, 2085-2091 (1992).
- 4) Jacquat, C. and Bertossa, G. In "Plants from the Markets of Thailand" Editions Duang Kamol, Bangkok, Thailand, (1990).
- 5) Siemonsma, J. S., Piluek K. In: "Plant Resources of South-East Asia 8(Vegetables)", Prosea Education, Bogor, Indonesia, (1994).
- 6) Murakami, A., Ohigashi, H., and Koshimizu, K., *Biosci Biotechnol Biochem*, **60**, 1-8 (1996).
- 7) Klein, G., and Klein, E., *Nature*, **315**, 190-195 (1985).
- 8) Young, L., S. and Sixbey, J., W., *Cancer Surveys*, **7**, 507-518 (1988).
- 9) Kumar, S., and Mahanta, J., *Indian J Cancer*, **35**, 47-56 (1998).
- 10) Leoneini, L., Vindigni, C., Megha, T., Funto, I., Pacenti, L., Musaro, M., Renieri, A., Seri, M., Anagnostopoulos, J., and Tosi, P. *Int. J. Cancer*, **53**, 898-901, (1993).
- 11) Murakami, A., Nakamura, Y., Koshimizu, K., and Ohigashi, H., *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2779-2783 (1995).
- 12) Ohnishi, M., Tanaka, T., Makita, H., Kawamori, T., Mori, H., Satoh, K., Hara, A., Murakami, A., Ohigashi, H., and Koshimizu, K., *Jpn J Cancer Res*, **87**, 349-356 (1996).
- 13) Nakamura, Y., Murakami, A., Koshimizu, K., and Ohigashi, H., *Cancer Lett.*, **108**, 247-255 (1996).
- 14) Murakami, A., Ohura, S., Nakamura, Y., Koshimizu, K., and Ohigashi, H., *Oncology*, **53**, 386-391(1996).
- 15) Murakami, A., Kuki, W., Takahashi, Y., Yonei, H., Nakamura, Y., Ohto, Y., Ohigashi, H., and Koshimizu, K., *Jpn. J. Cancer Res.*, **88**, 443-452 (1997).
- 16) Tanaka, T., Makita, H., Kawamori, T., Kawabata, K., Mori, H., Murakami, A., Satoh, K., Hara, A., Ohigashi, H., and Koshimizu, K., *Carcinogenesis*, **18**, 1113-1118 (1997).
- 17) Tanaka, T., Kawabata, K., Kakumoto, M., Makita, H., Matsunaga, K., Mori, H., Satoh, K., Hara, A., Murakami, A., Koshimizu, K., and Ohigashi, H., *Jpn. J. Cancer Res.*, **88**, 821-830 (1997).
- 18) Tanaka, T., Kawabata, K., Kakumoto, M., Makita, H., Hara, A., Mori, H., Satoh, K., Murakami, A., Kuki, W., Takahashi, Y., Yonei, H., Koshimizu, K., and Ohigashi, H., *Carcinogenesis*, **18**, 2155-2161(1997).
- 19) Tanaka, T., Kawabata, K., Kakumoto, M.,

- Matsunaga, K., Mori, H., Murakami, A., Kuki, W., Takahashi, Y., Yonei, H., Satoh, K., Hara, A., Maeda, M., Ota, T., Odashima, S., Koshimizu, K., and Ohigashi, H., *Carcinogenesis*, **19**, 425-431 (1998).
- 20) Tanaka, T., Kawabata, K., Kakumoto, M., Hara, A., Murakami, A., Kuki, W., Takahashi, Y., Yonei, H., Maeda, M., Ota, T., Odashima, S., Yamane, T., Koshimizu, K., and Ohigashi, H., *Cancer Res.*, **58**, 2550-2556 (1998).
- 21) Kobayashi, Y., Nakae, D., Akai, H., Kishida, H., Okajima, E., Kitayama, W., Denda, A., Tsujiuchi, T., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H., and Konishi, Y. *Carcinogenesis*, **19**, 1809-1814 (1998).
- 22) Nakamura, Y., Kawamoto, N., Ohto, Y., Torikai, K., Murakami, A., and Ohigashi, H., *Cancer Lett.*, **140**, 37-45 (1999).
- 23) Murakami, A., Jiwajinda, S., Koshimizu, K., and Ohigashi, H., *Cancer Lett.*, **95**, 139-146 (1995).
- 24) Murakami, A., Morita, H., Safitri, R., Ramlan, A., Koshimizu, K., and Ohigashi, H. *Cancer Detec. Prev.*, **22**, 516-525 (1988).
- 25) A. Murakami, A. Manaf A., Kamaruddin M.-S., K. Koshimizu, and H. Ohigashi (2000) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, in press.
- 26) Koshimizu, K., Ohigashi, H., Tokuda, H., Kondo, A., and K. Yamaguchi. *Cancer Lett.*, **39**, 247-257 (1988).
- 27) Vatanasapt, V., Martin, N., Sriplung, H., Chindavijak, K., Sontipong, S., Srimporn, S., Parkin, D.M., and Ferly J. (1993). Cancer in Thailand (IARC Technical Report No. 16, Lyon).
- 28) Carrol, K.K. (1991). Nutrition and cancer. In Fat, Nutrition, Toxicity, and Cancer I.R.Rowland, ed (CRC Press, Florida) pp. 439-453.
- 29) Crellin, J.K. and Philpot, J. (1989) Herbal Medicine Past and Present Vol. I. A reference guide to medicinal plants. (Duke University Press, Durham N.C).
- 30) Farnsworth, N. and Bunyapraphatsara, N. Thai Medicinal Plants. (Prachachon Co., Ltd., Bangkok), 1992.
- 31) Ponglux, D. Wongseripipatana, S. Phadungcharoen, T. Runangrungsri, N. and Likhitwitayawuid, K. Medicinal Plants. (Victory Power Point Co., Ltd., Bangkok), 1987.
- 32) Johns, T. In "With bitter herbs they shall eat it." The University of Arizona Press, Tucson, 1990.
- 33) Murakami, A., Kondo, A., Nakamura, Y., Ohigashi, H., Koshimizu, K. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 1971-1973 (1993).
- 34) Kondo, A., Ohigashi, H., Murakami, A., Suratwadee, J., Koshimizu, K. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 1344-1345 (1993).
- 35) Murakami, A., Ohigashi, H., Koshimizu, K. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, **3**, 185-191 (1994).
- 36) Nakamura, Y., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 1028-1030 (1996).
- 37) Murakami, A., Nakamura, Y., Koshimizu, K., Ohigashi, H. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2779-2783 (1995).
- 38) Murakami, A., Kitazono, Y., Jiwajinda, S., Koshimizu, K., Ohigashi, H., *Planta Med.*, **64**, 319-323 (1998).
- 39) Murakami, A., Nakamura, Y., Ohto, Y., Tanaka, T., Makita, H., Koshimizu, K., Ohigashi, H. Cancer preventive phytochemicals from tropical Zingiberaceae. In Food for Health in the Pacific Rim (3rd International Food Science and Technology), Food & Nutrition Press, Inc., Connecticut, 1998, pp.125-133.
- 40) Nakamura, Y., Ohto, Y., Murakami, A., Jiwajinda, S. and Ohigashi, H. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 5031-5036 (1998).
- 41) Matthes, H.W.D., Luu, B., and Oursson, G., *Phytochemistry*, **19**, 2643-2650 (1980).
- 42) Ohigashi, H., Takamura, H., Koshimizu, K., Tokuda, H., and Ito Y., *Cancer Lett.*, **30**, 143-151 (1986).
- 43) Murakami, A., Tanaka, S., Ohigashi, H., Hirota, M., Irie, R., Takeda, N., Tatematsu, A., and Koshimizu, K., *Phytochemistry*, **31**, 2689-2693 (1992).

## ACKNOWLEDGEMENT

The author thanks collaborators described below. Akira Murakami (Kinki University, Japan), Hajime Ohigashi (Kyoto University, Japan), Hideo Hayashi (Osaka Prefecture University, Japan), Suratwadee Jiwajinda (Kasetsart University, Thailand), Ratu Safitri, Aseng Ramlan, Anas Subarnas, Kunkun Jaka Gurmaya (Padjadjaran University, Indonesia), Abdul Manaf Ali (Universiti Putra Malaysia), Kamaruddin Mat-Salleh (Universiti Kebangsaan Malaysia).

# Endophytes in Tropical Southeast Asia

## -Their diversity and potential use-

FUSAO TOMITA

Laboratory of Applied Microbiology, Graduate School of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo 060-8589, Japan.

### Abstract

We devised isolation methods for plant endophytes, which are composed of surface sterilization of plant samples. Using those methods we isolated more than 900 endophytes from plants in Malaysia, Indonesia, and Japan. We tested isolates on their abilities in producing anti-microbial compounds and oligosaccharides from natural polysaccharides. For identification of isolated endophytes, sequence homology of 18S rRNA gene was found to be useful. The isolates were classified into six families of *Loculoascomycetes*, *Hyphomycetes*, *Coelomycetes*, *Pyrenomycetes*, *Hymenomycetes*, and *Discomycetes*. We also examined internal transcribed spacers (ITS) as markers for classifying Ascomycetes in detail.

### 1. Introduction

Microbes are by far the most abundant organisms in number and diversity. However, only limited kinds and numbers of microbes have been isolated and characterized and vast numbers of microbes remain to be explored for their characteristics and uses for improving the quality of our life. We focused our investigation on the microbes living in plants (endophytes), because our knowledge on them is still scarce. We devised isolation methods for endophytes [1]. They are composed of extensive surface sterilization with ethanol and sodium hypochlorite for eliminating possible contamination of unwanted microbes.

For the identification of isolates, information of rDNA sequences is becoming an important tool in addition to conventional morphological data such as spore formation. In particular, base sequences of 18S rRNA genes were useful to identify non-spore forming fungi, for most of fungal endophytes are non-spore forming and conventional taxonomic keys are not available [2, 3]. In order to examine detailed classification of *Ascomycetes*, internal transcribed spacers are also important keys for the taxonomic

studies of *Ascomycetes*, the most abundant fungi in the world. For preservation of the isolates, desiccation method for fungi and lyophilization method for bacteria were employed. Freezing in 25% glycerol was used for both fungi and bacteria.

For finding potential uses of endophytes, we constructed screening systems such as antibiotic activity against phytopathogenes, enzymatic activities to produce oligosaccharides from polysaccharides (xylan, inulin, mannan, etc.). We are in the process of their purification and characterization.

### 2. Materials and Methods

#### 2.1. Isolation of endophyte

Plant specimens used were young healthy branches (one or two years old). The branches were washed in running water for 10 min, and dried using paper towel, then cut into several pieces of about one centimeter length. They were surface-sterilized by immersion sequence in 75% ethanol for 1 min, >5.3% sodium hypochlorite solution for 5 min and 75% ethanol for 0.5 min. Grass stems were

surface-sterilized only by immersion of 75% ethanol for 2 min. After drying, the pieces were cut to expose their inner tissue on a sterilized glass and placed in petri dishes containing CMM medium (cornmeal agar (Difco) 17 g/l, malt extract 20 g/l, yeast extract 2 g/l, chloramphenicol 50 mg/l) or NA medium (meat extract 5 g/l, peptone 10 g/l, NaCl 5 g/l, agar 15 g/l, nystatin 100 mg/l). After 3 days- 4 weeks incubation at room temperature, fungi were isolated on potato-dextrose-agar (PDA) slant, and bacteria on nutrient agar (NA).

## 2.2. Production of oligosaccharides

The isolated bacterial-endophytes grown on a nutrient agar slant were inoculated to enzyme producing media (5 ml/10-ml test tube) consisting of natural polysaccharide (2 g/l) such as xylan, inulin and mannan,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  or  $\text{NaNO}_3$  2.0 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g/l, KCl 0.5 g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5 g/l,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g/l, (pH 6.8). They were cultivated at 27°C for 2 days with shaking. In case of fungi, one agar-piece of fungal cells grown on a PDA slant was inoculated to 5 ml of the enzyme producing medium and cultured at 27°C for 5 days with shaking. The culture broth was centrifuged at 2,000 x g, 4°C for 20 min and the supernatant was used as a source of crude enzyme. Oligosaccharides were detected by thin layer chromatography (TLC) using a silica gel plate (Silica gel 60, Merck) with a solvent system of 1-butanol - 2-propanol - water - acetic acid (7:5:4:2, v/v). Spots were detected with a reagent containing p-anisaldehyde- $\text{H}_2\text{SO}_4$ -ethanol (1:1:18, v/v) using the hydrolysate of polysaccharides as standards.

## 2.3. Measurement of anti-microbial activity

Fungal endophytes were cultivated for 5 days, and bacteria for 2 days at 27°C with shaking in the antibiotic production medium that we reported previously [1]. The supernatant of cultured broth was used for a paper disc diffusion assay with *Alternaria* sp., *Bacillus subtilis*, *Salmonella* sp., *Saccharomyces cerevisiae* as test microorganisms.

## 2.4. Analysis of 18S rRNA gene

Endophytic fungi isolated and reference strains (*Aspergillus oryzae* AHU 7034 and *Penicillium martensii* NRRL 2027) were grown in 500-ml volume of Sakaguchi flasks containing 100 ml of modified Czapek-Dox liquid medium (modified Czapek-Dox liquid medium (OXOID) 33.4 g/l, yeast extract 2 g/L) or potato-dextrose-broth (DIFCO) with shaking at 27°C for 3 days. The mycelia were harvested by centrifugation (6,000 x g, 4°C, 10 min), and washed with TEN buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, and 0.1 M NaCl, pH 8.0). The washed mycelia were harvested by vacuum filtration. The pre-dried 'mycelia cake' was peeled off from the filter paper, frozen at -80°C and lyophilized. Genomic DNA was isolated from 50 mg of lyophilized mycelia according to the methods of Raeder and Broda [4]. The 18S rRNA gene was selectively amplified by PCR using the specific primers for filamentous fungi proposed by White et al. [5]. In most strains, beside the entire 18S rRNA gene, NS1-NS6 and NS5-NS8 segments were amplified and purified with MicroSpin columns S300HR system (Pharmacia Biotech). Nucleotide sequences of the PCR products were determined in both directions by the dideoxynucleotide chain termination method using Thermo Sequenase core Sequence kit, fluorescent primer (NS1, NS3, NS5, NS6 and NS8) and ALF express DNA Sequencer (Pharmacia Biotech) following the conditions provided by the manufacturer. The entire sequences of 18S rRNA genes (excluding the areas of the primer sequences) were determined by using GENETYX-MAC. They were compared with those in the GenBank, EMBL and DDBJ databases through the DNA Information and Stock Center (National Institute of Agrobiological Resources, Tsukuba, Japan) using FASTA [6] and BLAST SEARCH [7]. By using the multiple-sequence alignment program of GENETYX-MAC, the 18S rDNA sequences of nine endophytes and two references that we determined were aligned with the sequences of similar fungi retrieved from databases. A phylogenetic tree was constructed by using the unweighted pair group method arithmetic mean method (UPGMA) program (Fig. 1).

## 2.5. Analysis of base sequences of internal transcribed spacers

White *et al.* [5] suggested that repeating units in ITS region or intergenic spacer mutates much faster than other genes and differences in these regions might be good indicators to classify fungi within the same genus. Mugnier [8] has developed a method to classify closely related fungi in Ascomycetes. Thus we also applied these methods to 12 fungi isolated from plants. As shown in Fig. 2, results thus obtained are very similar to those obtained by 18S rDNA analysis.

It is also interesting to note that endophytes isolated are somehow related to phytopathogens.

## 3. Results and Discussion

We carried out samplings of various plants in Malaysia and Indonesia. The names of

plants are shown in Table 1 (45 plants in Indonesia), and Table 2 (38 plants in Malaysia). Those plants are typical plants in Southeast Asia. For isolation of endophytes, branches of tree or bush were surface sterilized with bleaching, while grasses were mildly sterilized with ethanol. The method used for each sample is also indicated Tables 1 and 2.

We isolated at least one endophytic microbe from each plant sample. Plants were frequently infected with endophyte bacteria and/or fungi. Coexistence of multiple endophytes was observed within a single host plant. Total number of isolates was more than 1,500 strains. We reduced isolates to about 1,000 when they were quite similar in colony forms and color on agar medium. We have been interested in endophytes living without causing any of the disease symptoms typical of plant pathogen infection [9]. Multiple infections with fungal endophyte strains occur in natural populations [10,11].

Table 1. Plants in Indonesia examined for isolation of endophytes.

Plants name in Indonesian	Isolation method	Plants name in Indonesian	Isolation method
<i>Aloe bainesii</i> Dyer	Ethanol	<i>Amherstia nobilis</i> Willd. pohon saputangan	Ethanol
<i>Aloe saponaria</i> Haw	Ethanol	<i>Canarium</i>	Ethanol
<i>Artemisia vulgaris</i>	Ethanol	<i>Cinnamomum kayu manis</i>	Bleach
<i>Buxus sempervirens</i> L.	Bleach	<i>Coccoloba puring</i>	Bleach
<i>Caillandra brevipes</i> Benth	Bleach	<i>Dillenia excoellata</i>	Bleach
<i>Caillandra tetragona</i> Benth	Ethanol	<i>Dillenia orchreata</i>	Bleach
<i>Catha edulis</i> Forsk	Bleach	<i>Dillenia pohon sempur</i>	Bleach
<i>Chincona pubescens</i>	Ethanol	<i>Dillenia pteropoda</i>	Bleach
<i>Cinchona succirubra</i> Pavon ex. Klotzsch	Bleach	<i>Dillenia retusa</i>	Bleach
<i>Cinnamomum burmanni</i> Nees ex. Blume	Bleach	<i>Dillenia suffruticosa</i>	Bleach
<i>Colletia cruciata</i> Gill & Hook	Bleach	<i>Freycinella funicularis</i>	Ethanol
<i>Gleditsia sinensis</i> Lamk	Bleach	<i>Hibiscus rosa. sinensis</i> kembang sepatu	Bleach
<i>Grevillea hillebrandii</i> F. Muell. var. <i>albescens</i> Hort	Bleach	<i>Hibiscus Schizopetalus</i>	Bleach
<i>Holmskioldia sanguinea</i> Retz	Ethanol	<i>Morinda citrifolia</i> cangkudu	Ethanol
<i>Kakacangan nasa</i> Kacang	Ethanol	<i>Paraya pepaya</i>	Ethanol
<i>Lantana canescens</i> H. B. K.	Ethanol	<i>Parmentiera aculeata</i> pohon lilin	Bleach
<i>Myrica rubra</i> Sieb & Zucc	Bleach	<i>Polkillos permum</i>	Bleach
<i>Pliocarpus selleanus</i> Engler	Ethanol	<i>Santalum album</i>	Bleach
<i>Polygonum chinense</i>	Bleach	<i>Thevetia peruviana</i>	Ethanol
<i>Prunus cerasoides</i> D. Don	Bleach	<i>Trachelospermum divaricatum</i>	Bleach
<i>Rhus succedanea</i> L.	Bleach	<i>Wars zewiczia</i>	Bleach
<i>Rotan calamus</i> sp.	Bleach		
<i>Toden barbara</i> Moore	Ethanol		
<i>Vilva odorata</i>	Bleach		

Ethanol: sterilized by ethanol

Bleach: sterilized by ethanol and sodium hypochlorite



Table 2. Plants in Malaysia examined for isolation of endophytes.

Plants name in Malaysian	Isolation method	Plants name in Malaysian	Isolation method
Asam Gelugor ( <i>Garcinia atroviridis</i> )	Ethanol	Meranti Rambai Daun	Ethanol
Bintangor	Bleach	Meraun Bunga	Bleach
Durian Hutan	Bleach	Merlimau	Bleach
Ipoh Malai	Ethanol	Nyatoh Nangka Kuning	Bleach
Kandis	Ethanol	Nyatoh Tembaga	Bleach
Karas	Bleach	Pelong	Ethanol
Kelat	Bleach	Penarahan	Bleach
Kelumpang Jejari	Ethanol	Petaling	Bleach
Kembang Semangkok	Ethanol	Putat	Ethanol
Keranjil	Ethanol	Ramen	Bleach
Keruin Mempelas	Ethanol	Sedondong	Bleach
Lepong	Bleach	Sejankang Bukit	Bleach
Mahang	Ethanol	Semalam	Ethanol
Manggis Hutan	Ethanol	Sepetir	Bleach
Mata Kell	Ethanol	Sial Menahun	Bleach
Medan Sarsi	Ethanol	Simpoh	Bleach
Membuloh	Bleach	Taban Merah	Bleach
Mempisang	Bleach	Tapak Unta	Bleach
Meranti	Ethanol	Tongkat Haji Samad	Ethanol

### 3.1 Anti-microbial activity of the isolates.

The anti-microbial activities of fungal and bacterial endophytes were using supernatant of their culture broth. Anti-fungal activities were observed to be about 20% in fungal endophytes and comparatively less in bacterial endophytes (Table 3). On the other hand anti-yeast and anti-bacterial activities were rare in the isolates.

Considering that many plant pathogens are fungi, it was thought that fungal secondary metabolites accumulate within plant tissue and contribute to host protection from pathogen attack. Little is known about variation among endophyte in antibiotic production. We are studying those fungal and bacterial metabolites in order to identify their characteristics.

Table 3. Antibiotic activities

Microorganisms	Fungi		Bacteria	
	I	M	I	M
Isolats tested	189	252	30	292
Anti- Fungus	45 24%	48 19%	3 10%	53 18%
Anti- Yeast	3 2%	4 2%	4 13%	19 7%
Anti- Bacteria				
Gram+	2 1%	1 0%	1 3%	45 15%
Gram-	11 6%	10 4%	1 3%	13 4%
Total	51	57	3	86

M: Isolated in Malaysia

I: Isolated in Indonesia

### 3.2. Oligosaccharide production from natural polysaccharide

Activities of oligosaccharide production were examined by microbial ability to degrade natural polysaccharide such as mannan, inulin or xylan to produce oligosaccharides such as biose, triose, tetraose and so on. Sixty six percent of fungal endophytes showed xylan degrading activity and less percentage in mannan or inulin degradation (Table 4). In total, 76% to 89% of fungal endophytes can degrade natural polysaccharides and produce oligosaccharides. Such activities may contribute to the destruction of the plant's cell walls and solid organ tissues when

the endophytes infect to host plants, However it is not known how fungal endophytes inhabit the host. Degrading activities were less in bacterial than in fungal endophytes. This may be because bacteria are smaller than fungi when invading plant tissues. As the results of degradation, oligosaccharides were produced from natural polysaccharides.

Many fungal endophytes produced oligosaccharides in various saccharide units from xylan and mannan but less from inulin (Table 5). Fungal endophytes have stronger capacity to make oligosaccharides than bacterial endophytes.

Table 4. Oligosaccharide producing activity from natural polysaccharides.

Microorganisms	Fungi		Bacteria	
	I	M	I	M
Isolates tested	189	357	129	376
Oligosaccharide from				
Xylan	125 66%	235 66%	40 31%	68 18%
Mannan	21 11%	234 66%	59 46%	70 19%
Inulin	52 28%	97 27%	17 13%	30 8%
Total	144 76%	318 89%	85 66%	130 35%

Table 5. Numbers of sugar residue of oligosaccharides produced from natural polysaccharides by endophytes.

Polysaccharide	Fungi						Bacteria					
	Xylan		Mannan		Inulin		Xylan		Mannan		Inulin	
	I	M	I	M	I	M	I	M	I	M	I	M
Number of unit												
2	104	212	9	146	10	16	7	28	11	17	0	2
3	101	240	8	104	11	26	10	36	28	32	1	1
4	43	50	3	72	14	18	4	28	25	32	0	0
5	67	188	2	34	13	38	37	67	26	38	3	0
6	0		22	19	26	10	4			27		0

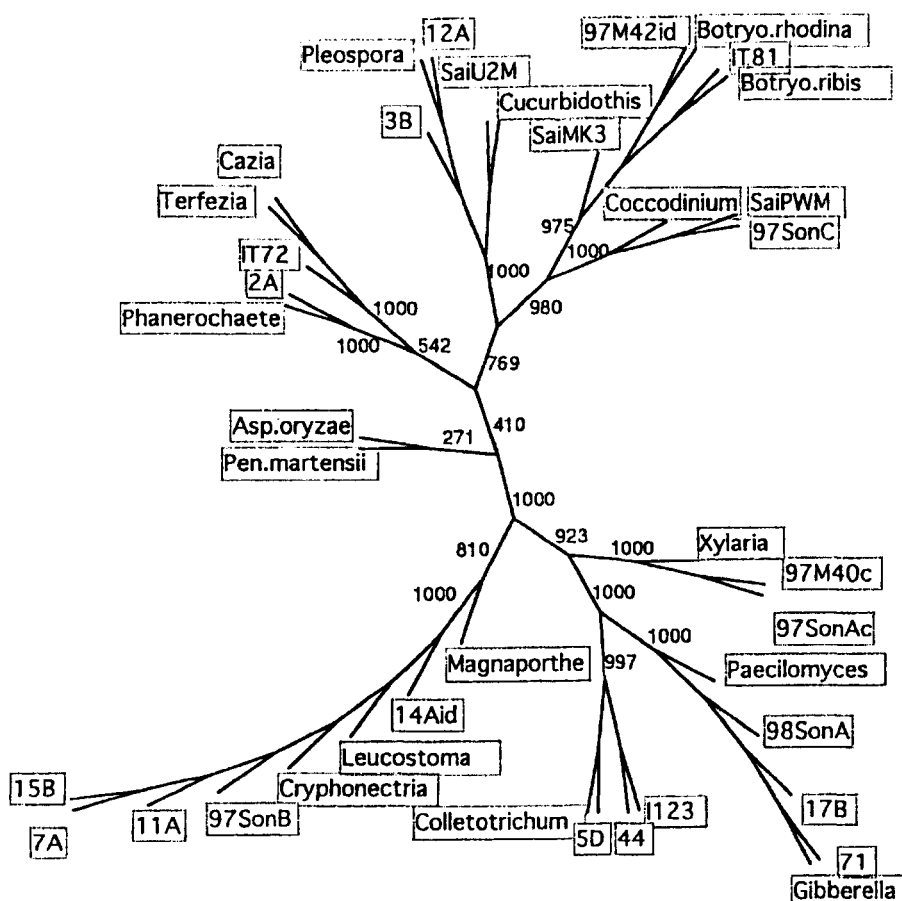
### 3.3. Identification of fungal endophytes by analysis of 18S rRNA gene

Spore formation is an important factor for the identification of fungi. However, most of isolates did not make spores. So, we amplified

18S rRNA genes and sequenced them for the genetic identification of the isolates. After sequencing 23 strains of fungal endophytes and two reference strains that were deposited in the culture collection of AHU (Faculty of Agriculture,

Hokkaido University), a phylogenetic tree was drawn (Fig. 1). Our results showed that the isolates were classified into six families of *Loculoascomycetes*, *Hyphomycetes*, *Coelomycetes*, *Pyrenomycetes*, *Hymenomycetes*, and *Discomycetes*. The endophytes isolated from

Southeast Asia are highly diverse, suggesting that this area is a rich source of various different kinds of fungi and bacteria. On the other hand Clay and Holsh [12] showed that a host-specific fungal endophyte might reduce plant diversity throughout its succession.



**Fig.1 Dendrogram showing the relationships among 23 endophytes and related taxa based on 18S rDNA**

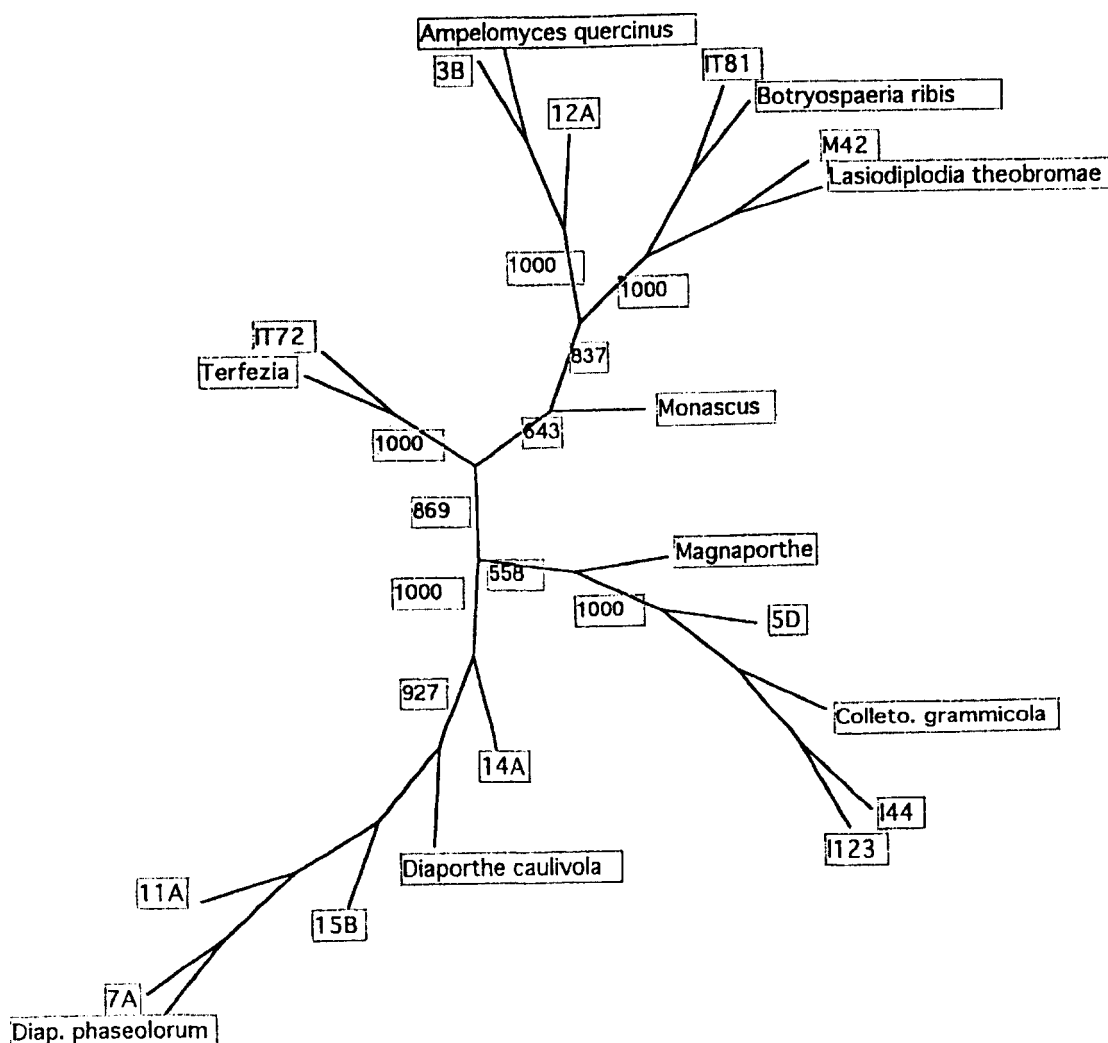
### 3.4. Identification using internal transcribed spacer (ITS) region

Sequence data of 18S rDNA is a powerful tool for the identification of fungi among genus and in some cases among species. To identify closely related strains of the fungal endophyte *Epichloe bromicola*, Willie *et al.* [13] applied RAPD-PCR method using 14 decamer strain specific primers to amplify microsatellite-containing loci. Internal transcribed spacer (ITS) region is a DNA sequence between

the 18S and 26S rRNA genes, which is not translated into any protein. In this region mutation occurred easily and accumulated without any influences to the fungi. As shown in Fig. 2, we could classify 12 closely related fungi into several species. Therefore, we could differentiate species by these methods. Although fungi similar to our isolates have been found to be plant pathogens, ours gave no disease symptoms (Table 6). This may be due to differences in host specificity.

**Table 6. Relationship between endophytic fungi and their host plants**

Endophytic fungi	Host plants	Location	Most similar strains	Host plants or origin	Location
T81	<i>Dillenia excoellua</i>	Indonesia	<i>Fusicocum</i> sp.: Anamorph of <i>Botryosphaeria ribis</i> (ITS)	<u>Red mangrove</u> ( <i>Rhizophora mangle</i> L.)	U.S.A
97M42	<i>Lusianthus</i> sp.	Malaysia	<i>Lasiodiplodia theobromae</i> : Anamorph of <i>Botryosphaeria Rodina</i> (ITS)	<u>Pistachio</u> ( <i>Pistacia</i> L.)	U.S.A
V3B	<i>Ulmus davidiana</i>	Japan	<i>Ampelomyces quercinus</i> (ITS)	* <i>Microsphaera alphitoides</i> On <i>Quercus</i> sp.	Russia
VII 12A	<i>Humulus lupulus</i> var. <i>cordifolous</i>	"	<i>Pleospora rudis</i> (18S) <i>Ampelomyces quercinus</i> (ITS)	<i>Microsphaera alphitoides</i> On <i>Quercus</i> sp.	Russia
III 7A	<i>Rosa rugosa</i>	"	<i>Diaporthe phaseolorum</i> (ITS)	<u>Soy bean</u>	
VII 11A	<i>Actinidia kalamikta</i>	"	<i>Cryphonectria gyrosa</i> (18S)	<u><i>Quercus palustris</i></u> <u>Pinoak</u>	
112-3	<i>Coleus galeatus</i>	Indonesia	<i>Collerotrichum gloeosporiodes</i> (ITS)	Leaf of <i>Citrus</i> sp.	Spain
VII 5D	<i>Syringa vulgaris</i>	Japan	Anamorph of <i>Glomerella</i> sp. (18S) <i>Collerotrichum graminicola</i> (ITS)	Turf grass, Poa Annua	U.S.A



**Fig.2 Dendrogram showing the relationships among 12 endophytes and related taxa based on ITS**

#### 4. References

1. Tanaka, M., Sukiman, H., Takebayashi, M., Saito, K., Suto, M., Prana, T. K., Prana, M. S., and Tomita, F.: Isolation of endophytes from plants in Southeast Asia and Japan, and their identification by 18S rRNA gene. In: Annual report of ICBiotech 1999, in press.
2. Tanaka, M., Sukiman, H., Takebayashi, M., Saito, K., Suto, M., Prana, T. K., Prana, M. S., and Tomita, F.: Isolation, screening and phylogenetic identification of endophytes from plants in Hokkaido Japan and Java Indonesia.: Microbe and environments in press.
3. Ismail, M. A. K., Tomita, F., Koshimizu, K., Manaf, A. A., Hassan, Z., Ariff A., Radu, S., Mohtar, M., Shaari, K., Ohta, Y., Kawazu, K., Suto, M.: (1997) Screening and isolation of bioactive compounds from microorganisms and higher plants. In: Conservation and sustainable use of biodiversity, Malaysia-Japan initiative. pp. 57-70.
4. Raeder, U. and Broda, P. (1985). Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Letters in Applied Microbiology. 1:17-20.
5. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, I. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols a guide to method and applications (M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White), pp.315-322. Academic Press, Inc. New York.
6. Pearson, W. R. and Lipman, D. J., (1988). Improved tools for biological sequence comparison. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85: 2444-2448.
7. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. and Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. 215:403-410.
8. Mungnier, J. (1998). Molecular evolution and phylogenetic implications of ITS sequences in Plants and in fungi, In "Molecular Variability of Fungal Pathogens", P. Bridge, Y. Couteaudier and J. Clarkson (ed.), CAB INTERNATIONAL. pp.253-277. Wallingford, UK.
9. Wilson, D. (1995) Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. Oikos, 73, 274-276.
10. Groppe, K. and Boller, T. (1997) PCR assay based on a microsatellite- containing locus for detection and quantification of *Epichloe* endophytes in grass tissue. Appl. Environ. Microbiol. 63, 1543-1550.
11. Leuchtmann, A. and Schardl, C.L. (1998) Mating compatibility and phylogenetic relationship among two new species of *Epichloe* and other congeneric European species. Mycol. Res. 102, 1169-1182.
12. Clay, K. and Holsh, J. (1999): Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in succession fields. Science 285, 1742-1744.
13. Wille, P. A., Aeschbacher, R. A., and Boller, T. (1999). Distribution of fungal endophytes in doubly infected host grasses. The Plant J. 18:349-358.

## **Current State of Biotechnology Policy In Japan and Priority Areas for Cooperation in Biotechnology**

Fujio Ishikawa  
Japan Bioindustry Association

### **Abstract**

Biotechnology is recognized as an enabling technology for the sustainable development. Many countries are promoting R&D and commercialization in the hope to create new businesses and employment, to improve quality of life of the people, while protecting the environment.

Recently 5 ministries (STA, MESC, MHW, MAFF, MITI) of the Japanese Government jointly issued "Basic Strategies for Creation of Biotechnology Industry". This summarizes the concrete measures to be tackled in a coordinated effort with perspective of about 5 years from now on. Special emphasis is placed on genome analysis and industrial application of genomic information, preservation and provision of biological-genetic resources, and provision of fund to R&D oriented businesses.

Particularly, "New age Biological Resources Centers" (BRC's) are considered as an essential part of infrastructure for bioscience research and bioindustry in the coming century of biology. The Japanese government has started building a Biological Resource Center. These circumstances will be discussed in relation to priority areas for cooperation in biotechnology.

### **Basic Strategies for Creation of Biotechnology Industry**

A joint memorandum of understanding on the basic policy for the promotion of biotechnology industry was announced on January 29 by the 5 ministries of the Japanese Government, that is, the Science and Technology Agency, the Ministry of Education, Science and Culture, the Ministry of Health and Welfare, the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries and the Ministry of International Trade and Industry. Based on the policy they promulgated the basic strategies on July 13, 1999.

The joint memorandum expressed what they expected of biotechnology for increasing opportunities of creating new businesses and employment of high quality. Characteristics of biotechnology that R&D and commercialization develop closely in parallel, and the keenly competitive situation in patenting industrially useful genes were also noticed.

It is also recognized that genome analysis, preservation and provision of biological/genetic resources, and funding to R&D oriented start-up businesses are very important, especially in the coming several years. Common recognition is, particularly, need for acceleration of the industrial applications of genomic information by

coordinated effort among the biotechnology-related agency and ministries.

### **Major Issues of the " Basic Strategies"**

Concrete targets and measures are clearly defined in the basic strategies, by utilizing Japanese strengths, by efficiently implementing important measures, and by specifying the duration of the implementation, as much as possible.

#### **1. Common recognition**

With recognition that biotechnology industry is as strategic industry in the 21st century as information technology industry, three subjects of the strategies were pointed out as follows:

Innovation: Advancement of biotechnology will greatly contribute to overcoming problems of food, health and the environment, and is expected to remarkably change the condition of human life in the 21st century.

Strategy: Industrial applications of biotechnology will provide opportunities for new businesses and employment in a wide range of industry sectors such as chemistry, material, pharmaceuticals, food, electronics, machinery, environment and energy.

Urgency: As indicated by advancing by 2 years of the completion of the human genome analysis from 2005 to 2003, for example, competition for patenting useful

genes will be intensified. Special promotion measures are to be implemented in the coming several years.

## **2. Concrete measures**

Stressing the necessity for cooperation of related ministries, the strategies lay emphasis on 4 priority areas of measures, such as provision of infrastructure for the creation of new industries, promotion of technology development and strengthening of support for start-up businesses, improvement of climate surrounding biotechnology, and promotion of public understanding.

### **(1) Provision of scientific infrastructure for the creation of new industries**

#### **① Acceleration of genome analyses**

##### **Human genome**

- a. Analysis of 30,000 full-length cDNA clones of humans by 2001, utilizing Japanese strength in this field
- b. Analysis of the diversity of human genes, using single nucleotide polymorphisms (or SNPs)
  - By promoting the development of technologies needed for SNPs-based analysis of the diversity of human gene, during the next 3 years, more than 100,000 common SNPs will be developed to analyze the gene diversity of the Japanese people, and in the future the target will be expanded to cover other Asian people. A database of common SNPs will be developed,
  - Analysis of human genes responsible for diseases, and exploring of the possibility to link the effort with the common SNPs database.
  - Analysis of the genes related to drug response

Genome of the organisms that are primary importance to Japanese industry

- a. Rice
- b. Domestic animal(livestock)
- c. Industrially useful microorganisms
- ② Provision of infrastructure for research and industry, and promotion of networking
  - a. Establishment of systems that ensure supply of biological/genetic resources and networking
    - Establishment of a center which collect, preserve, and supply biological/genetic resources (micro-organisms, animal and

plant cells, and DNA clones etc.) and related information for research and industry

- Networking of such biological resource centers

#### **③ Development of bioinformatics**

- a. Construction of bioinformatics research centers
- b. Promotion of collaborative R&D between public and private sectors
- c. Development of databases for advanced use of the result of genomic research

### **(2) Promotion of technology development and strengthening of support to start-up companies**

#### **① Promotion of technological development for commercial applications**

- a. Technological development in national institutes
- b. Collaborative development that combine private firms' strengths in research and development
  - Application of biotechnology for the change of society for more harmony with the environment, e.g. saving of material and energy, decreasing production of wastes, prevention of environmental pollution and restoration of the environment (green biotechnology)

#### **② Provision of extended financial support to start-up companies**

- a. Extending the system of financial support for start-up companies
- b. Providing support to technology licensing organizations(TLOs) and assisting in patent applications of the research results, and promoting use of the patents for industrial applications
- c. Construction of industrial parks for biotechnology firms

### **(3) Improvement of the institutional environment for new industries**

#### **① Improving of R&D systems, including provision of advanced research centers and competitive research grants, to ensure innovative research results**

②Reform of the current systems that prohibit the faculty members of the national universities from serving as corporate executives, and establishment of new systems that promote the transfer of technologies from government sponsored R&D to industries

#### **③ Rationalization of the regulatory**

procedures to ensure safety of biotechnology products and pharmaceuticals developed through such technologies, and protecting intellectual property rights, based on international harmonization

#### **(4) Promotion of public understanding**

Informing the public of science-based facts, and consideration of ethical issues regarding, e. g., research and application of human cell and tissue

### **Biological Resource Centers (BRCs)**

#### **Introduction**

Activities of research, technological development and industrial application based on biology will dramatically increase in the 21st century. From the view point of "biological resources and information", this process requires measures to cope with various issues such as explosive increase in number of clones and related information by the advancement of genomics, progress of informatics and paradigm shift regarding the conservation and utilization of biological resources, based on international agreements including the Convention on Biological Diversity.

Under these circumstances, it is necessary to :

- redefine the concept of biological resource center as part of the infrastructure for bioscience, biotechnology and industry
- make clear the criteria to publicly recognize a BRC as competent
- ensure efficient operation of the BRC by national and international linkages and
- strengthen the public support to ensure financial sustainability of the BRC based on measures mentioned above.

Importance of these issues was discussed at the OECD workshop on Scientific And Technological Infrastructure [Support for Biological Resource Centers (BRCs)] held in Tokyo, 17-18 February, 1999.

#### **1. Changes of the circumstances surrounding BRCs**

Modern biology makes it possible to directly preserve genetic resources in the form of DNA segments, genes, clones and DNA sequence information as well as to preserve the organisms themselves.

In addition to the role of traditional culture

collections, therefore, new capacities to preserve, to provide and to analyze genetic resources and related information are needed, and the new role is expected to evolve very fast. The integration of biology, particularly the sequencing of genomes that provide the molecular basis for life, with high technology such as automation, miniaturization, specialized DNA chip design and other information technology, has revolutionized our ability to understand biological systems and to apply that knowledge to biotechnology and industry.

Microbial cultures and plant /animal cells in culture collections will increase in number continuously hereafter. In addition to the increasing burden due to this numerical increase, circumstances surrounding BRCs are changing rapidly. We have to cope with the very fast progress of genomics and bioinformatics. This means that we have to deal with the latest information technology to treat ever increasing number of various biological materials and increasing volume of related information. Need for management of unexplored or minimally identified strains will also add another burden to BRCs.

The Japanese Government recognizes the need for appropriate policy measures to create new age BRCs by adopting a new concept of BRCs.

#### **2. Functions and definition of new age BRCs**

The expected functions of new age BRCs will be summarized as follows :

- Rationalized management and efficient operation
- Provision of biological materials and information deposited
- Enhanced capability in information technology
  - Information processing capacity
  - Application of bioinformatics
- Quality assurance of biological deposits
  - Preservation, classification, Identification and authentication (including research)
  - Services (training, education)
- Quality assurance of information deposits
  - Provision and guarantee of information and its source (origin, characteristics, specification etc.)
- International linkage
  - Harmonization with respect to information technology



Harmonized procedure for quality assurance and reliability of material and information

### Definition of new age BRCs

Definition of new age BRCs is still to be discussed, but it may be of useful reference to quote the following example.

"Biological Resource Centers are an essential part of the infrastructure underpinning biotechnology. They consist of service providers and repositories of the living cells, genomes of organisms, and information relating to heredity and functions of biological systems. BRCs contain collection of culturable organisms (e.g. micro-organisms, plant, animal and human cells), replicable parts of these (e.g. genomes, plasmids, cDNA banks) and of unculturable organisms as well as databases containing molecular and physiological information relevant to these collections, and related bioinformatics." (draft, OECD workshop in Tokyo, February 1999)

### 3. Sustainability of BRCs

BRCs must be operated in a sustainable manner. Academia and biotechnology industry sectors need to be assured that biological resources and information placed into BRCs will be held permanently and that competent staff with appropriate expertise can be sustained by the center to fulfill the role. However, sustainable operation of BRCs requires a sound financial basis, and financial supports are being made by government, industry and funding agencies consortia. There are many elements in activities of BRCs. All of the associated issues and cost implications of the operation should be considered for financial sustainability and long term stability.

Financial consideration for future requirements in terms of the role of BRCs in conserving biodiversity will be an important topic. Financial implication of the creation of "virtual BRCs" that may go beyond the range of traditional culture collections should also be considered.

### 4. Recent development on BRCs in Japan and expectation to TroBIDEc

How to improve systems for collecting, preserving and providing biological materials and information for the sake of science and industry has been discussed in Japan in recent years.

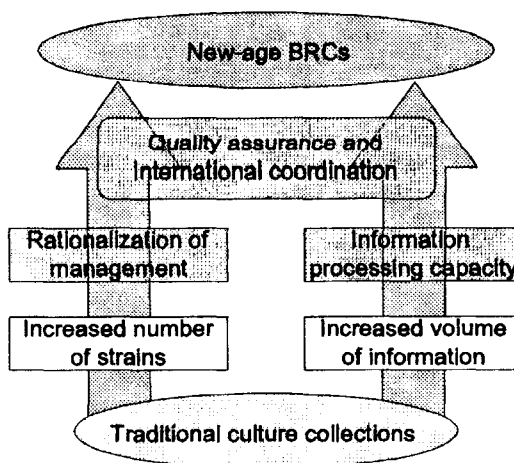
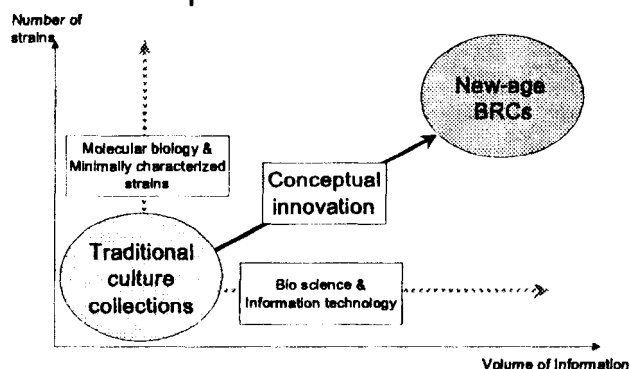
As a result, within the framework of the Basic Strategies for Creation of Biotechnology Industry, the Government selected BRCs as essential part of the basic infrastructure.

Recently the Japanese Government decided to allocate a budget to establish a system, facilities and organization, for supplying biological resources, namely a national BRC.

In this context, we are fully aware that concept and plan of the Tropical Bioresources Industrial Development Center (TroBIDEc) was elaborated through the Research Cooperation on Tropical Bioresources, 1994-1999, between BPPT of Indonesia and NEDO/JBA of Japan. The plan on TroBIDEc includes the concept of BRCs.

Although we have not yet successfully assured the budget, dialogue between the two countries must be continued for the realization of the TroBIDEc concept in the light of the rapid advancement of bioscience and biotechnology, and to contribute to the conservation and sustainable use of biological diversity.

### Conceptual innovation of BRCs



Kazuo Kato OECD Workshop Tokyo 1999

各国の種分類学センター及び種分類学資源の現状  
今後の発展のための問題点と必要性について

**Current Status of National Biosystematics Centers and Resources  
Problems and Needs for Future Development**

インドネシア、マレーシア、タイの報告を抜粋した

ASEANET 第一回 LCC 会議

開催場所：クアラルンプール（マレーシア）

開催期間：1999 年 12 月 2～4 日

## インドネシア

### A. はじめに

1996年8月、バイオネット・インターナショナル〔BioNET-International〕は、東南アジア地域での地域ネットワーク拠点の設立に着手し、その結果、ASEAN諸国のネットワーク拠点として ASEANET が設立された。先に行われたワークショップの結論に従い、ASEANET の一員としてインドネシアは、バイオシステムティックスに関する国内ネットワークの開発とその後の展開に関する計画についてのワークショップも開催した。このワークショップは、1998年8月11日と12日に NACI〔National Coordinating Institute 国内調整機関〕としての国家環境省の主催で行われた。

同ワークショップでは、存在する可能性をリスト化すれば、その結果、残った問題点を明らかにでき、解決法を見出すことができるという結論に達した。また、インドネシア国内の開発、特に1994年に法律でインドネシア政府が批准した生物多様性条約の実施において、分類学が意義のある役割を担うにあたり、インドネシアがどのような問題に直面しているかも明らかにされた。主な問題は、特に生物多様性の管理、収集、効果的なプログラム開発に関わる有能な人材が、質・量ともに欠如していることである。

この問題を克服するため、同ワークショップは以下のことを勧告した。

1. 生物系統学ネットワークに関する常任ワーキング・グループの組織（添付文書 1:インドネシアの分類学についての計画と監視に関する国内ワーキング・グループを参照）
2. 以下の事項を含むワーキング・グループの作業計画の策定
  - a) 分類学に関する国内の諸拠点の確認
  - b) 分類学に関わる人材の確認
  - c) 促進と社会化のプログラムの策定
  - d) バイオシステムティックスのプログラムの策定
  - e) 計画と監視に関するプログラムの策定

国内ワーキング・グループは、国際分類学イニシアティブ〔Global Taxonomy Initiative〕に基づき、インドネシア国内分類学イニシアティブ〔Indonesian National Taxonomy Initiative〕、略称 INTI というプログラムを策定した。

INTI ワーキング・グループはその指令に基づき、その任務を果たすため、活動を開始した。同ワーキング・グループの成果と結論は、本国別報告書の一部として使われている。本報告書は、1996年のクアラルンプールで開かれた、アセアン地域のネットワーク拠点の設立と運営についてのアセアン諸国政府に対するバイオネット・インターナショナルの提言に関するワークショップの報告書に記されたとおりの構成になっている。1996年のクアラルンプールでのワークショップの報告書に記載されている節を含む、本報告書の主な章

は以下の作業計画である。(1)情報・通信サービス、(2)人材研修、(3)リソースの修復、(4)新技術の開発と応用、(5)NECI の設立と運営

## B. 作業計画

### I. 情報・通信サービス

1. 中核的研究拠点の図書館資源を更新し、拡大する必要性が、十分に実現されていない。この状況は、インドネシアのバイオシステムティックス・センターが直面している制約によるもので、以下のとおりである。

- a) インドネシア国内の動物相を取り扱う最近の出版物が図書館にないという状況
- b) 出版物がないのは、必要な資料を入手するための資金の不足と、原産の動物相のバイオシステムティックスに関する研究が不十分なためである。
- c) 動物相のバイオシステムティックスに関する研究が（質においても量においても）不十分なのは、生物学を学ぶ学生と生物学に携わる研究者にとってこの学問が「不人気」であることに関連しているのは明らかである。これは、おもに、この学問に対する誤解によるものである。この状況こそが、バイオシステムティックスに関する情報・通信のサービスの貧困な状況の原因の根源である。

インドネシア科学研究所から、*Treubia* と *Reinwardtia* の 2 種類の分類学に関する学術誌が発行されている。詳細な情報は、表 1 a を参照されたい。

2. インドネシア国内の各センターにおいて電子機器の利用の程度は一様ではない。しかし、中程度あるいは最小標準の装置を保有している主要センターもいくつかある。少なくとも、こうした装置を他のセンターとの通信に用いることは可能である。主に、問題となる状況は、センター間に確立されたネットワークがないことであり、さらに深刻なのは、国内レベルでそうしたネットワークがないことである。したがって、インドネシアの生物多様性の管理（保全および持続可能な利用）を行う取組みにおいて、散在しているデータを生物多様性条約の規定を実施するために有効となるであろう有意義な形式にとりまとめることができない。こうしたネットワークを確立するために以下の取組みがなされてきた。

- a) 「国内生物多様性情報ネットワーク〔National Biodiversity Information Network〕」という名称の国内ネットワークを確立する取組みが着手されたが、現在までのところ、この取組みの結果はまだ公には知られていない。インドネシア科学研究所の生物学研究開発センター〔Centre for Research and Development in Biology〕がこのネットワーク確立の責任者である。
- b) 上述のネットワークとは別の国内レベルの情報ネットワークが国家環境省によって開発中である。これは、インドネシア国内の生物多様性条約実施の国内拠点として指定されている。
- c) アセアン地域レベルでは、アセアン地域生物多様性保全センター〔ASEAN Regional Centre for Biodiversity Conservation〕(ARCBC)という名称の機関がある。この機関

は、ASOEN がそのメンバーからなる運営委員会によって公式に組織している。このプロジェクトの構成要素には、(a)ネットワークづくりと制度構築、(b)研修と公開講座、(c)研究開発、(d)データベースおよび情報管理システムなどが含まれる（添付資料 2: アセアン地域生物多様性保全センターを参照）。

この組織の国内生物多様性レファレンス・ユニットでは、インドネシア科学研究所の生物学研究開発センターがインドネシアを代表してきた。

ASEANET の NECI が ARCBC と連絡をとり、この二つのネットワーク拠点間の連携を展開するよう提案されている。

3. インドネシア国内の情報・通信サービスの現在の状況についての結論は以下のとおりである。

a) ASEANET の加盟機関の内部でも加盟機関の間でも、データベースが適切に公開されていない。

b) インドネシア国内でのデータベースの開発に進展がない。その結果、インドネシア国内のほとんどの生態系における生物多様性の状況の特定と監視を行う手段がない。

4. データと情報が入手できるかぎり、インドネシア科学研究所の生物学研究開発センターと BIOTROP（表 1b 参照）によって情報サービスが提供されている。データと情報は、かなり集中的に研究され、良く知られている動物相群のみに限定されている。その他の新しい知識が入手されることはほとんどない。というのは、分子技術、新記録、現在の害虫分布リスト、外来種の発生の脅威は放置され、伝統的な分類学さえもカバーする諸活動が実施されていないばかりか、計画すらされていないためである。こうした計画の立案には、生物多様性条約の関連規定を実施する取組みに際しての、インドネシア国内のニーズに基づいた分類学またはバイオシステムティックスのプログラムの徹底的な作成が必要となる。

インドネシアには、天敵、有益な生物、環境指標生物、および生物治療薬について関連する新しい知識の開発に関する十分な活動がないため、これらに関連する情報へのアクセスがずっと存在せず、現在までもその状態が続いている。この状況が、人類にとって直接的に重要な生物多様性の構成要素の安全性を維持する面から、環境の管理に制約を生じさせているのは明らかである。

5. 重要な生物多様性の構成要素の特定と監視、および生物多様性の保全と持続可能な利用に関して必要なチェックリスト（害虫、病気の生物治療薬、生物指標について）のような、実地的な研究の必要性がなお感じられている。

結論として、インドネシア国内のバイオシステムティックスに関する情報・通信サービスの今後の開発に対するニーズとして挙げられるものは以下のとおりである。

1) 適切な標準レファレンスに対するニーズは、次の手順に従って、着実に発展させて満たされなければならない。

a) 生物多様性条約の付属文書（附属書 I）を含め、生物多様性条約第 7 条に関連する

生物多様性の構成要素の特定と監視のために重要な項目と形質を含む、主要な動物相／生物相群のチェックリストを完成すること。この動物相／生物相群は、生物多様性条約の附属書Ⅰで示された定義により、相応の専門家によって特定されなければならない。チェックリストの対象範囲は、主な各群についての専門家によって決定されるべきである。

- b) チェックリストは、害虫管理、隔離の必要性、および生物指標という目的のために利用できるものでなければならない。
  - c) 分類学における最新研究結果の出版
  - d) 分類学、バイオシステムティックスのいずれか、またはその両方を向上させる研究
  - e) 生物多様性条約の規定の実施に関連する情報の出版に関連して、(伝統的な方法およびバイオテクノロジーによる方法によって) 生物多様性の保全および持続可能な利用など、生物多様性の管理に関連する、分類学の新しいパラダイムを開発すること、およびその結果としてそのパラダイムを紹介すること
- 2) データと情報を普及させるにあたり、ネットワークを運用するための物理的な装置(ソフトウェアを含めたコンピュータ)の設置。新しい情報テクノロジーを利用できるように、適切なオペレータを研修することも必要である。

このオペレータの研修というニーズは、インドネシア国内で実現することが可能である。コンピュータの分野に関して現在のインドネシアにおける人材のレベルには、ネットワークを運用する人材を開発するに際していささかの困難もないはずである。しかしながら、資金を利用できるかどうかさがさらに克服しなければならない限界要因である。

## Ⅱ.人材の研修

分類学を目的とした人材開発には、かなりの関心が払われてきた。現在、インドネシアでは多数の研究者や科学者が分類活動に従事している。こうした人々の氏名を表 2 に一覧にしてまとめた。こうした人材開発が非常に重要であることを認識し、インドネシアでは以下のような活動が行われてきた。

### 1.分類学の適切なカリキュラムの開発(表 3a も参照されたい)

INTI に関する国内ワーキンググループは、生物多様性の管理におけるニーズを満たすために使われるであろう(と期待される)分類学の、調整を加えたカリキュラムを開発し、提案してきた。カリキュラム開発には(a)分類学の入門レベルと(b)高等分類学の二つのレベルがある。

- 分類学の入門レベルは、大学の第 7 学期と第 8 学期に、生物相(植物相と動物相)の分類学的分析の原則と方法を理解させる目的で行われ、必須科目は以下のとおりである。生物学一般、植物学一般、動物学一般、および分類原則
- 高等分類学は大学院生に対するもので、ある一定の地域あるいは生息地における生物の定量分析と生物相の類縁に関する能力と知識を向上させることを目指している。こ

れは次のような必須科目が必要であろう。主要群の選択、入門分類学、個体群生物学、生態遺伝学、分子生物学（選択）、分子微生物学（選択）、生化学（選択）、および／または（可能であれば）系統生態学

a) 分類学入門

教育の分析は以下の要素からなる。

- i. 分類学の概念と機能の理解
- ii. ある地域での生物多様性を特定し、分析する能力
- iii. 生物多様性探査の目的と意味の理解

この3要素は次の一連の段階によって達成することができる。

- i. 目的についての説明、概説、講義の利用、分類学、分類、および系統分類学の専門用語についての理解
- ii.  $\alpha$ 分類学、 $\beta$ 分類学、 $\gamma$ 分類学という分類学レベルの概念、および種（下位）分類学および体系（上位）分類学の範囲についての説明
- iii. 種、種分化、および個体数の変化の様々な概念の説明と講義
- iv. 分類学で用いられる様々な形質の説明
- v. 分類学の学派の紹介（数量分類学、分岐学、系統学、その他）
- vi. 同定、命名、発表のプロセスの紹介
- vii. 生物多様性の管理のためのサンプル抽出方法および生態学的分析についての説明と適用
- viii. 素材（標本）の管理（保管、維持、回復）とデータベース（情報の確認）の重要性、および分類学に関する資料と情報へのアクセスのしやすさについての説明

b) 高等分類学

教育の分析は以下の要素からなる。

- i. 分類学の概念、機能および核心についての理解
- ii. ある一定の地域での生物多様性を同定し分析する能力（生物学的構成要素を理解する能力）
- iii. 生物多様性探査の目的と意味の理解

こうした目標は以下のように定められた段階を通じて達成される。

- i. 分類学で使われる形質、原始（近接した形態の）形質および派生（分離した形態の）の形質、ホモプラシー、および形質の重み付けについての説明
- ii. 系統樹の再構成： 最大節約法、融和性分析、Maximum likelihood and relation methods
- iii. 分類学における表現学的方法（UPGMA、WOGMA、PCS など）
- iv. 同定の鍵の開発
- v. 分類学の方法：細胞分類学、化学分類学、免疫分類学、蛋白質分類学および DNA

## 分類学

- vi. 生物多様性の持続可能な管理における基礎としての生物地理学、進化と絶滅
- vii. 博物館、生物多様性、保全、および分類学の将来、ならびに生物多様性の管理の地球規模および国内における発展

カリキュラム調整のコンセプトは、国家環境省に提出された後、新体制政府の教育文化大臣に送付された。現在、分類学のコースを提供している大学がいくつかある（表 3b）。

## 2. 現職教育

分類学研究に関わる人材に関する現状に基づいて、現職教育が行われている。この教育は、1999 年 7 月に始まり、予定の 6 ヶ月のうち少なくとも 5 ヶ月が経過した。これは、インドネシア科学研究所の生物研究開発センターのボゴール動物学博物館が主催した。講師の一人は分類学の世界的な専門家である。10 の国立大学からあわせて 11 名の理学士と理学修士が参加している。そのうち 5 名は昆虫が専門である。

## 3. 計画中の研修

人材に関する状況を改善する試みとして、インドネシアは研修プログラムと科学学会を計画している。ボゴール動物学博物館が主催する計画中の研修プログラムの一覧は、次のとおりである。

### a) 昆虫分類学の地域研修

時期： 2001 年

期間：

- 3 週間 教室講義（3 日間）、フィールドワーク（4 日間）、同定と分析（8 日間）、考察（3 日間）、および報告書作成（2 日間）

場所：インドネシア国ジャカルタ／ボゴール

目的：

- ある一定の地域あるいは生息地における生物多様性の構成要素の特定と監視のニーズに関連する機能的な分類学の紹介
- 生物多様性管理に関する諸国間の地域協力の開発

参加者：合計 20~22 名のアセアン諸国の大学卒業生

主催者：

- ボゴール動物学博物館
- 協力：インドネシア昆虫学会

### b) 昆虫コレクション管理の地域技術コース

時期：2001 年から毎年

期間：1 週間

場所：インドネシア国ボゴール



目的：

- ある一定の地域あるいは生息地の生物多様性分析に使われるコレクションの素材を適切に取り扱う能力の向上
- 情報交換に関する地域協力の強化

参加者：合計 20~22 名のアセアン諸国の昆虫コレクションの維持管理を担当する技術者

主催者：

- ボゴール動物学博物館
- 協力：ボゴール農科大学
- 協力：インドネシア昆虫学会

c) 昆虫分類学に関する国内研修コース

時期：2001 年から 2002 年

期間：2 週間 教室講義（2 日間）、フィールドワーク（2 日間）、同定（5 日間）、考察（2 日間）、および報告書作成（2 日間）

場所：インドネシア国ボゴール

目的：

- ある一定の地域または生息地における生物多様性の構成要素の特定と監視のニーズに関連する機能的な分類学の紹介
- 生物多様性の管理に関する国レベルの協力の開発

参加者：インドネシアの国立大学数校の若い講師、合計 20 名

主催者：

- ボゴール動物学博物館
- 協力：ボゴール農科大学
- 協力：インドネシア昆虫学会

d) 昆虫コレクション管理の現職教育

時期：2001 年から 2002 年

期間：4 週間

場所：インドネシア国ボゴール

目的：

- 生物多様性の構成要素の同定の技術と正確さの向上
- コレクションの状態と機能の向上

参加者：インドネシアの国立大学数校の若い講師、合計 20 名

主催者：

- ボゴール動物学博物館
- 協力：ボゴール農科大学
- 協力：インドネシア昆虫学会

#### 4. 計画中の会議

##### a) 生物多様性条約の特定と監視についての規定を実施するための人材開発に関する地域ワークショップ

時期：2000 年

期間：2 日間

場所：インドネシア国ボゴール／ジャカルタ

目的：

- i. 地域のニーズを満たすのに利用できる、分類学の教育方法の開発に関する手段を作成する
- ii. 地域における生物多様性の構成要素の特定と監視に利用できる、適切な分類学プログラム開発を作成する
- iii. ASEANET の分類学に関する作業プログラムと情報ネットワークの確立を実施する

目標：

- i. 分類学教育プログラムにおけるギャップの特定と、解決策の発見
- ii. 分類学における地域プログラムの優先順位の特定
- iii. 生物多様性管理に関わる関係諸機関の地域レベルでの協力の概括と、協力の有効な形式の特定

参加者：

- i. 分類学の教育・研究に関わる地域の主な専門家
- ii. 合計 25 名

主催者：

インドネシア国家環境省（NACI として）

##### b) 新しい分類学カリキュラムの開発と実施に関する国内ワークショップ——先に行われた人材開発に関する地域ワークショップの結論と勧告のフォローアップとして

時期：2000 年

期間：3 日間

場所：ジャカルタ／ボゴール

目的：

- i. 分類学に関する講義を実施するための有効なメカニズムの確立
- ii. 大学生および大学院生に対する分類学の講義用教材の開発
- iii. 生物多様性の管理に分類学を利用するにあたり、適切な方針の策定

目標：

- i. 生物多様性の管理に利用されるべき分類学のカリキュラム用教材開発における

ギャップとニーズの特定

ii. 分類学の講義を適切に行うための正しく有効な方法の特定

期待される成果：

i. 既存の分類学のカリキュラムに関する研究からの結果

ii. 生物多様性の管理に関して明らかにされるギャップと有効性の程度

参加者：

i. 分類学の教育・研究に携わる国内の主な専門家

ii. 合計で 20～25 名

主催者：インドネシア国家環境省（NACI として）

### III リソースの修復

1. INTI に関する国内ワーキンググループがリソースを目録化する予備調査を行い、分類学コレクションおよび、分類学的研究活動を行っている既存の機関に関する文書を作成した。この調査結果を表 4a および 4b に示す。

2. 上述の調査により得られた結果から、分類学に関する活動のある大学および研究機関は次のとおりである。

#### A. 大学

1) インドネシア大学—ジャカルタ

a) 数学・自然科学部生物学科

b) 医学部微生物学科

2) ガジャ・マダ大学—ジョグジャカルタ

a) 生物学部

b) 農学部植物病虫害学科

c) 農学部農業経済学科

d) 林学部

3) ボゴール農科大学

a) 農学部植物病虫害学科

b) 数学・自然科学部生物学科

c) 水産学部

d) 林学部

e) 獣医学部

しかし、最近の調査から、以下のとおり、小規模な分類学活動のある大学がさらにあることがわかった。

1) シア・クアラ大学、スマトラ島アチェ

2) リアウ大学、スマトラ島リアウ州バカンバル

3) パクアン大学、西部ジャワ州ボゴール

- 4) セベラス・マレット大学、中ジャワ州スラカルタ
- 5) 国立ペムバングナン大学、東ジャワ州スラバヤ
- 6) マタラム大学、東ヌサ・トゥンガラ州、ロンボク
- 7) サム・ラトゥランギ大学、北スラウェシ州、マナド
- 8) タドゥラコ大学、中部スラウェシ州、パル

分類活動に従事する大学が他に多く存在したとしても驚くべきことではない。

## B. 研究機関

### 1) 農学部

- a) 食用作物研究センター[Centre for Research in Food Crops]
- b) 園芸研究センター[Centre for Research in Horticulture]
- c) 食用作物防除理事会[Directorate of Food Crop Protection]
- d) 検疫理事会[Directorate of Quarantine]

### 2) 林学・栽培作物学部

林学・栽培作物研究開発センター[Centre for Research and Development in Forestry and Estate Crops]

### 3) 衛生学部

衛生生態学研究センター[Centre for Research in Health Ecology]

### 4) インドネシア科学研究所

- a) ボゴール動物学博物館
- b) ボゴール植物標本館
- c) ボゴール植物園およびインドネシア国内にある同植物園の諸分園

3. 上記のリストから、様々な分類活動が、人間福祉および／または科学（特に生物学）を取り扱う学部や学科のある研究機関や大学で行われていることが明らかである。したがって、上記リストに記載されていない、分類学活動に従事しているが、記録に残っていない大学や研究機関が他にあっても驚くべきことではない。この件については、さらに詳細な調査が実施される必要がある。
4. 分類活動に関わっている民間部門や個人についてはまだ調査されていない。しかし、インドネシアではこうしたケースは非常に珍しいと考えられ、まれである。
5. 次の段階は、コレクションに関する情報をさらに収集することと、コレクションをより効率的に利用し、機能的なものに向上させるさらなる活動を考案することを目的として、それぞれの研究機関や大学に対するアンケートを訪問および／または郵送により実施することである。

## IV. 新技術の開発と応用

1. 分類群の特定はまだ手作業で行われている。この状況の主たる原因は、能力のある人材

（科学者および技術者）の不在、分類の実務においてそうした新技術のための装置がインドネシア国内で利用できないことである。したがって、緊急に必要なことは以下のとおりである。

- a) 技術者および科学者に対する、同定の鍵の構築に関する新技術とそれを利用できる技能に関する適切な研修
  - b) 分類専門家以外の人々（検疫担当者、病虫害の管理者、林業従事者、農業分野の公開講座担当者など）が関心のある生物（害虫、捕食者、病菌の媒介生物など）をすぐにすばやく特定できる装置の開発
2. 視聴覚システムの開発には、適切な分野の具体的で実地的な研修が必要であろう。
  3. 結論として、インドネシアが分類学研究の適用可能性を拡大するためには、分類学の実地的な分野における開発の点で大きな制約がある。

## V. NECI の設立と運用

1. 設立以降、ネットワーク調整機関（NECI）によってなされた成果はわずかしかない。NECI の指令を評価すると、ほとんど達成されたものがなかったことがわかっている。また、NECI 加盟機関相互のコミュニケーションもかなり不足していたことが明らかになっている。これは主に情報宣伝の適切なメディアの欠如によるものである。
2. 計画中のプログラムを実現するには、NECI にとっても、ASEAN 地域のネットワーク LOOP の加盟機関としての NACI にとっても、十分なリソースが必要であろう。

## C., ニーズと問題点

これまでに述べたことから、ニーズと問題点が特定されている。インドネシアが直面しているニーズと問題点のそれぞれの要点は以下のとおりである。

1. 情報・通信サービスに関する主な問題点は、分類学が学生と科学者に人気がないためである。この結果、人材開発が必要なレベルに到達しないため、生物多様性の有効な管理に影響が及ぶ連鎖反応が起きる。つまり、生物多様性の有効な管理の実施のために必要な情報の不足である。したがって、この問題点を克服するためには以下のことが必要である。
  - a) 分類学に関する情報源として役に立つような最小標準での、図書館の開発
  - b) 緊急：害虫管理、生物指標、その他の実地的な利用のために応用できるチェックリスト
  - c) 生物多様性条約第 7 条に記載されている重要な生物多様性の構成要素を特定するための人材の開発
  - d) 主な生物群に関する真摯な分類学調査
  - e) 分類学を魅力的な学問としうるための方法の開発
  - f) 分類学の適切なパラダイムの策定

- g) 関連ソフトウェアを含むコンピュータなどの物理的装置
2. 人材は、生物多様性保全を実施するにあたって問題要因の一つである。生物多様性条約の規定を実施するためには、非常に大量の有能な人材が必要である。生物多様性条約の規定を実施するにあたり、重要な方法の一つは、分類学と分類学者を関与させることである。したがって、こうした問題点を克服するため、人材の研修は優先度が高い。その研修は以下のようなものとなる。
    - a) 分類学に関する新しい見解を理解させ、分類学を生物多様性の管理の重要なツールとして理解させることにより、分類学の講師の質を向上させる。
    - b) 適切な研修コースとそうした目標を達成するためのワークショップや学術会議の開催を計画する。
  3. 適切なリソースの欠如は、生物多様性管理において分類学が重要な役割を果たす上での根元的な問題である。リソースの修復に関しては、以下のものが必要である。
    - a) 分類学研究に従事する研究機関の詳しいリスト
    - b) 研究機関や個人の分類学活動に関するデータを収集するためのアンケートの実施
    - c) 機関の状況や能力をより有効なものとなるべく改善
  4. 分類学の実際的な面の進んだ技術の開発は、インドネシアの分類学界にはまだ及んでいない。従来の技術を利用しているため、取組みがあまり効率的ではない。新技術を開発し、利用するには、以下のことを行う必要がある。
    - a) 新技術の利用に関する研修コース
    - b) 分類活動を強化するための視聴覚システムやその他の新しい装置の作成
  5. ASEANET が設立されたが、コミュニケーションのニーズを満たすと考えられているメディアはまだ提供されていない。NECI の設立と運営が実現されなければならない。このことは、ASEANET 加盟諸機関がコミュニケーションをとるためのメディアの確立や出版のニーズを満たすことによって達成されうるものである。
  6. ここで述べた満たされるべきニーズはすべて、十分な資金がなければならない。この問題は、資金調達に関するプログラムによって克服されることが必要で、この資金調達プログラムは地域のネットワーク拠点、つまり ASEANET が明確に立案しなければならない。逆に、資金調達プログラムを ASEANET が計画するためには、ASEANET の地域拠点調整委員会【LCC】による概念設計と組織が必要になろう。それゆえ、組織運営資金を調達する取組みに専念する会議あるいは討議を計画することが望ましい。

この国別報告書は、以下の者により作成・完成された。

1. Prof. Dr. Ir. Kasumbogo Untung  
インドネシア共和国国家環境省
2. Dr. Soenartono Adisoemarto  
インドネシア科学研究所 生物学研究開発センター上席研究員

3. Dr. Yayuk R. Suhardjono

ボゴール動物学博物館研究員

インドネシア科学研究所 生物学研究開発センター所属

## マレーシア

### 序論

マレーシアは世界に 12 あるメガ・ダイバーシティ国家のひとつに数えられ、生物資源がきわめて豊富な国である。国土の大部分は、熱帯林という地球上で最も生物多様性に富んだ生態系に覆われている。マレーシアの各種生態系にみられる既知の種には、1 万 5 千種以上の顕花植物、286 種の動物、1 千種以上の蝶と 1 万 2 千種以上の蛾をはじめとする 15 万種以上の無脊椎動物、それに 4 千種以上の海洋魚などがある。こうした多様な生態系内での種間相互作用は、水循環の維持、気候の調節、必須栄養素の再循環など、人間の活動圏内できわめて重要な生態学的機能を司っている。

種分類学（バイオシステマティックス）は、生物多様性の研究やそれに関連する科学研究にとって、基本的かつ重要な学問である。マレーシアでは、この生物多様性を同定して理解する種分類学分野の研究が危機的なまでに遅れており、これが相当に懸念すべき問題となっている。1998 年マレーシア国家生物多様性政策では、「生物資源目録と系統的な研究に着手し、かつそれらを強化し、種の多様性について文書化する」ための行動計画が特に求められており、それと同時に、この国の微生物多様性に関する情報不足が確認されている。また 1997 年国家生物多様性調査では、「科学的な知識基盤を向上させるため、動植物多様性に関する分類学的研究を推進することは急務である」と勧告している。

1996 年には、マレーシアの種分類学的資源の現状を記録するためにアンケート調査が行われ (Maryati Mohamed 1996)、現在、この情報の更新作業が行われている。



## 種分類学的資源の現状

現在のところマレーシアでは、公共の研究団体、連邦政府や州政府の担当部門、高等教育機関など、個々の組織が、節足動物と微生物培養株のコレクションを保有し、維持している。国立バイオテクノロジー・カルチャー・コレクションを設立するべきだ、との案が既に政府に提出されているが、今のところ保存株の集中管理は行われていない。保存株を保有している組織のリストは、付属書 1 を参照すること。留意すべきは、これらの組織が節足動物や微生物や線虫の参照株を保管していても、実際そのほとんどが、当該種に関して種分類学的研究を行っていないという点である。

### A. 参照株

さまざまな組織的コレクションに収められているもののうち、最も数が多いのは昆虫の標本である。たとえば、マレーシア農業開発研究所 (MARDI) には約 5 万件、マレーシア国民大学 (UKM) には 2 万 5 千件を超える昆虫標本が保管されている。しかし、同定は困難な作業と考えられており、このような組織のコレクションに収められている標本の多くは、適切な同定作業を待っている状態である。サバ州農務省が収集した標本のうち、同定されているのがわずか 1% であることをみても、この問題がいかに急を要するかを窺い知ることができる。いくつかの機関に保管されている乾燥糸状菌保存株もまたかなりの数にのぼり、たとえばサラワク州農務省には、約 5 千件の標本がある。マレーシア科学大学 (USM) に約 5 千件にもものぼるフザリウム (*Fusarium*) の生きた保存株があることは有名であり、MARDI にはかなりの数の *Ralstonia solanacearum* の保存株と食品関連細菌の保存株がある。医学研究所 (Institute of Medical Research) には、約 2 千 500 件の医学上重要な専門的保存株が保管されている。

### B. 人材

調査によれば、現在分類作業に携わっている者は、昆虫学者が約 40 名、微生物学者が約 30 名のほか、少数の寄生虫学者、ダニ学者、蠕虫学者である。しかしながら、こうした者のうちで研修を受けた専門家はほとんどおらず、大半が経験を頼りに作業を行っている状況にある。また、労働時間をすべて分類作業にあてている者もほとんどいない。分類作業は、たいてい、分類学者補助員 (para-taxonomist) の助けを借りて行われている。

### C. 同定作業と設備

政府機関で働く分類学者には、通常、所属機関内での研究活動や技術指導を支援して同定

を行う責任がある。所属機関外の依頼者に対しても、依頼されれば同定を行うのが一般的である。大学は、研究の過程や授業の実習の一環として、同定を行っている。電子検索表はマレーシアの分類学界にも浸透し始めているが、昆虫や糸状菌類の同定は、形態学的特徴や参考文献に頼る従来通りの方法で行われるのがふつうである。細菌に関しては、BIOLLOG や MIDI といった最新の同定システムを利用できる機関もあり、MARDI はどちらの設備機器も備えている。マレーシアではバイオテクノロジーの発達により、節足動物や微生物をはじめとするあらゆる範囲の生物の同定や区別にも、DNA 関連技術が使われている。

#### D. 研修

国内における分類学の研修は、項目別研修コース、分類学的同定のワークショップ、専門研究所での実習訓練などの形で行われてきた。以下に例をあげる。

1. 植食性捕食ダニ類インターナショナル・コース：同定、生態、防除について。1997 年 3 月 11～15 日、MARDI、ACIAR、CAB インターナショナル主催。
2. 新植物検疫管理技術上級クラス：1998 年 10 月 5～24 日、マレーシア本土農務省、ACIAR、クローフォード財団（オーストラリア）主催。
3. 微生物リスク評価研修コース：バイオテクノロジーのための分子ツールについて。1999 年 10 月 4～8 日、バイオテクノロジー省、マレーシア農科大学（Universiti Putra Malaysia）食品科学・バイオテクノロジー学部、マレーシア保健省食品品質管理部主催。

マレーシア・サバ大学では、種分類学理学修士向けに教育課程を新設した。

## 問題点と必要性

全般的に問題点は、参照株の維持と修復の支援に関するものであり、作業場所や設備機器から十分な運営資金の必要性に至るまで多岐におよぶ。極端な人材不足も明らかになり、底をつきそうな分類学者と分類学者補助員を補充するための継続的取り組みが求められる。

必要な情報資源には、従来の参考文献、書物や電子形式による研究論文などが含まれる。同時に、世界規模での情報資源へのアクセス向上が必要であることも、浮き彫りになった。

上記のさまざまな不足を克服する方法として、保存株の集中管理、ネットワーク資源と専門知識の集中化が提案された。

付属書 1

マレーシアで培養株を保有している組織一覧

1. マレーシア・ココア庁 (Malaysian Cocoa Board)
2. マレーシア・ゴム庁 (Malaysian Rubber Board)
3. マレーシア医学研究所
4. マレーシア森林研究所
5. マレーシア農業開発研究所
6. マレーシアパーム油研究所
7. マレーシア本土農務省
8. サバ州農務省
9. サラワク州農務省
10. サバ州森林調査センター
11. サラワク州森林省
12. マレーシア・サバ大学
13. マレーシア・サラワク大学
14. マレーシア科学大学
15. ITM 大学 (マラヤ技術大学)
16. マラヤ大学
17. マレーシア農科大学
18. マレーシア国民大学
19. マレーシア技術大学
20. サバ博物館
21. サバ州立公園
22. サラワク博物館

## タイ

バンボット・ナボンペス

カセサート大学 国立生物学的防除研究センター (NBCRC)

バンコック 10900 タイ

ワーリー・ホンサブラグ

タイ農務省昆虫・動物局

バンコック 10900 タイ

### 概要

タイでは、種分類学的研究は基礎科学とみなされており、この研究に積極的に携わっているのは、ほんの一握りの生物分類学者に過ぎない。また我が国には、クリアリングハウスとして機能する種分類学センターや自然博物館がないため、各種分類群のコレクションも、官民の様々な組織に広く分散している状況にある。こうしたコレクションの大部分は、設備面や技術面の水準の低さから、保存や維持が行き届いていない。また、しっかりとした研修を受けた分類学者や管理者は不足しており、十分な支援も受けておらず、政策策定者から存在を認められているわけでも、しかるべき評価を受けているわけでもない。我が国では、将来の足並みそろえた発展の中心拠点となるために、しっかりとした長期的国家計画を立てて種分類学的研究の質を高め、強化することが急務である。タイ国内や東南アジア全体の種分類学的研究を強化し、持続させるひとつの方法として、この地域全体の種分類学的保存施設が連携してネットワークを結び、必要かつ適切な協力をする事が考えられる。生物多様性に対する関心が世界的に高まるにつれて、種分類学の重要性はきわめて明白になっており、それぞれの地理区に属するそれぞれの国において、種分類学的研究を発展させ強化することは、急務となっている。まして東南アジアは生物多様性の重要な中心地であり、いくつもの動植物の原産地でもあるため、なおさらである。

### 序論

種分類学の研究と調査は、生物学の中でも基礎中の基礎であると世界的にみなされている。

開発途上国の大部分では、国家開発計画でまず優先される学問といえば応用科学であって、種分類学は非常に優先順位が低く、これが国家開発計画に割り込むことはまず不可能である。種分類学への関心といえば、生物学者の「個人的」つまり「私的」な関心や情熱の域を出ないのである。これまでタイにおける種分類学的研究のほとんどは、主に外国の分類学者が自分たちだけで、あるいは国内の分類学者と共同で行ってきた。その結果、「基準株」と標本の大部分は、外国の自然博物館内にある保存施設に寄託されて保管され、我が国の研究者が種分類学的研究をさらに踏み込んで行おうにも、利用できない状況にある。

たとえ利用できる場合でもほぼ例外なく、そうした分類群のコレクションは広く分散している。個人が私的コレクションとして保管している場合もあれば、様々な大学の関連部門、政府の省庁、研究所に寄託されている場合もあり、適切な管理と維持が施されていることもあれば、施されていないこともある。こうしたコレクションは、程度の差はあっても本来が専門的なため、自然博物館や国立種分類学センターなど、国のしかるべき公共機関のもとでこれを保管したり、とりまとめたりしようとする真剣な試みは、これまでにないことがない。分類学者の地位自体も、こうしたコレクション並みである。我が国では、様々な専門分野や能力を持った分類学者の名簿も存在しない。そのためこの国では、種分類学に強い興味を持っている人が分類学者を探そうとしても、分類学の専門家は「記載なし」、その専門分野は「不明」という、白紙の名簿しかない状況にある。

1992年にブラジルのリオデジャネイロで地球サミットが開催され、次いで生物多様性条約が批准されると、世界の関心は、生物多様性の保全と持続可能な利用に集まった。以来その影響として、種分類学は重要な問題となり、持続可能な農業の発展などにとってきわめて基本的で有効な手段として再認識された。開発途上国というものは、本質的に種分類学の能力や専門知識が不足しているものだが、我が国の生物多様性に富んだ貴重な資源から期待できる将来の発展のためには、このことが確実に妨げになるものとみられる。

この国別報告書の目的は、タイにおける種分類学とその不足状況について概観することであり、文献や施設に関して詳述することではない。つまり、生物多様性資源という観点から、種分類学が今後いかに重要な学問となるか、また同時に、今までいかに存在感が薄く見過ごされてきたかという、我が国における種分類学の現状と、将来の発展に向けた種分類学の必要性について、明らかにすることである。

## 種分類学の必要性

### 農業における種分類学の必要性

作物保護の分野では、大部分の主要な害虫に関する知見は得られているものの、二次害虫という、時々しか出現しない害虫の分類に関する知見は、さほど得られていない。自然に発生する死亡率、いわゆる自然死亡率の因子を最大限に利用するという害虫管理のコンセプトは、世界的な支持を得ている。だが主要なそれぞれの害虫と密接な関係にある益虫、特に、寄生虫、捕食者、病原体に関する知見はきわめて乏しいか、実用に向けて研究されていないかである。特定の農業生態系に生息する有害な生物、有益な生物のすべてを同定し、かつその両者の関係を識別する最低限の知識と能力がなければ、総合防除（IPM）計画を実行したはずが、略称は「IPM」と同じでも、「総合農業ミス管理」計画に終わるおそれがある。これは、開発途上国ばかりか、先進国を含め世界中至る所で見受けられる現象である。

タイのように蛋白質が不足している国にとって、家畜は主要な蛋白源だが、その家畜が病弱だったり、多くの疾病や寄生虫性の感染症にかかったりすることがある。これまでのところ、こうした病気はただそのときだけ治せば良いとの考えから、病原体の研究が行われるのは病気が発生したときだけであった。病原体のベクター、それに代わる宿主や中間宿主、伝染の仕組みに関しては、今後の詳細な研究を待たねばならない。家畜やその野生種や飼育されていない類縁種と関連のある寄生虫やベクターについては、分類学的研究が不可欠である。また、人間に感染する各種内部寄生生物と外部寄生生物について、系統的な研究を行うことも重要である。

家畜に劣らず重要なのが、我が国の壊れやすい水界生態系である。この生態系は水産資源に富んでいるが、都市化や工業化の波がもたらすあらゆる発生源からの汚染に、きわめて影響されやすい。タイでは、水生動植物に関する種分類学的知見がいまだ比較的乏しい状況にある。これは、淡水生態系だけでなく、汽水や河口の生態系、沿岸生態系や海洋生態系にもあてはまる。農村や都市の環境汚染は最終的に水界生態系にまで及び、水環境内での遺伝侵食と生物多様性の消失を招くおそれがある。また密猟による乱獲は、水生種の構成におそらく考えられないほどの影響を与えてしまったものと考えられる。水生動植物に関する種分類学的知見が得られれば、我が国の水界生態系と資源に、生物学上および経済学上どのような損失や利益が発生しているかを監視し、それを明らかにするベンチマークとして役立つはずである。

タイでは、過去数十年間、広範にわたる森林伐採が行われ、気づかぬうちに、計り知れない範囲で遺伝侵食が進んだ可能性がある。なぜ気づかぬうちに広範な遺伝侵食が進行したかといえば、経済上、医薬品上、価値のある樹木や植物等の植生について、種分類学的知見がなかったり不十分だったためである。消失しつつある森林に対しては、砂漠化の進行を遅らせ、かつ食い止めるために、造林や植林をする必要がある。「森林減少シ

ンドローム」は、ほぼ世界中で起こっている現象である。多目的樹種（MPT S）の研究・利用も進み、賛否両論や見解の相違のある中で、様々な地域森林計画に組み込まれている。あくまでも立派な趣旨で行われているこうした計画が、木や植物の病気の拡散や、病害虫の突発的な大発生など、予想外の結果を招くことがある。過去の一例を挙げれば、ギンゴウカンという木を様々な森林計画で多目的植樹として普及促進した結果、1980年代半ばから1990年代初めにかけて、ギンゴウカンにつくキジラミがアジア太平洋地域に移入されて爆発的に増え、現在はアフリカを荒らしている。これもまた、林業分野における種分類学の重要性を浮き彫りにするものである。

#### バイオテクノロジーにおける種分類学の必要性

メンデル式の研究から始まった遺伝学が、分子遺伝学、rDNA 技術や遺伝子工学へと進歩するにつれて、農業生産性を高める手段としてのバイオテクノロジーは、バイオセーフティーという観点から世界的な関心を集める重大事となった。現在、圃場試験と商業化に向けて、トランスジェニック植物が開発されている。タイでは、トランスジェニック種のトマト、パパイア、綿が研究所で開発され、トランスジェニック・トマトと Bt 綿については、圃場試験が行われた。次の圃場試験対象である Bt トウモロコシについても、既にその認可がおりている。原産地や多様性の中心地の内外を問わず、遺伝子組換え生物（GMOs）の圃場解放にはリスクが伴う。そのバイオセーフティーと予測されるリスクを突きとめるには、対象となるトランスジェニック生物のみならず、近縁遠縁双方の類縁種に関して、徹底した種分類学的知見が必要である。

#### 環境面での種分類学の必要性

壊れやすい環境というものは、一度修復不能なほどまでに改変されてしまうと、元の平衡状態と機能を復元するのはおそらく不可能である。だからこそ、壊れた後に復元を試みるのではなく、壊れる前に保全措置を設けることが必要となる。しかし、保全措置を効果的に実施するには、複雑な各種生態系を取り巻くある特定の環境内の動植物の構成に関して、正しい知見がなければならない。種分類学者にとっては、環境全体が大きな課題なのである。なぜなら、どの環境をとっても、種分類学的研究が徹底的に行われた「環境」など、これまでにひとつもないからである。下草で収集した昆虫は、樹冠で収集した昆虫とは大きく違っているのである。環境資源を利用する人間の活動は、それが再生可能資源かどうかに関係なく、また意図的か偶然かによらず、果てしなく続けられている。そのため、ある特定の環境内で、どれだけ多くの有益な生物種と非標的生物種が、人間活動によってどの程度まで影響を受け、どの程度まで絶滅が危惧され、またどの程度まで絶滅に近づくに至っているかを正確に把握することは不可能である。その結果、環境を復元させようとす



るどのような試みも、ますます複雑になるか、さもなければ徒労に終わるだけである。だからここでもまた、種分類学な探索がきわめて重要であり、価値があるのである。

#### 生物多様性における種分類学の必要性

生物多様性条約（CBD）をまだ批准していない国は少数だが、タイもそのひとつである。タイ国内の法律と規制が条約に適っているかいないか、また条約を支持するために改正すべきかどうかを議会で審議中の段階である。さらに、条約に関連する様々な側面や問題点に関する法律を新たに制定すべきかどうかの議論も行われている。

現在まですでに 150 か国が条約を批准しているというのに、条約批准に向けた動きは違憲だという見方が浮上し、批准に反対するグループが出てきたのは皮肉な状況である。農民の権利、知的所有権、外国のバイオプロスペクター（生物多様性商用調査者）が我が国の生物多様性資源を開発利用することへの懸念などの問題も、大きな関心を集めている。基本的に生物多様性資源に関する十分なデータや役に立つ情報がない現状のなかで、十分に知見の得られていない資源を保護しようとして反対するのはばかげている。それよりもむしろ、将来の国益となる開発に向けて、さらなる調査や共同事業の実施を支持すべきである。

「生物多様性の保全と持続可能な利用」という素晴らしい言葉は、種分類学分野における適切な取り組みとこの学問に対する継続的な支援なくして、十分に実現できようはずがない。この国の生物多様性資源目録の作成やモニタリング活動などを扱う将来のどんな取り組みも同様で、種分類学分野における適切な取り組みと継続的な支援がなければ、制約と限界がある。専門知識も能力もほとんど得られないタイの現状を考えれば、生物多様性の保全と持続可能な利用に関する国家計画やプロジェクトや、その関連で必要となる目録作成やモニタリングは単なる憶測でしかなく、こうした取り組みがどのように、また、いつ完了するかは、まったくわからない。

#### 種分類学的資源

これまでのところタイでは、国立種分類学センターや国立自然博物館は作られていない。1995 年には、バンコクのニュータウン、パトンタニ県のクロン・ルアンにある、いわゆるテクノポリスの一部として、科学技術環境省（MOSTE）の所管で国立科学博物館が設置されたが、我が国の動植物に関する限り、これは保存施設とは言えず、明らかに展示用の施設である。タイ科学技術研究所（TISTR）付属の微生物資源センター「MIRCEN バンコック」は、その微生物保存株で有名であり、他の保存機関ともしっかりとネットワークで結ばれてい

る。また、チョンブリ県バンセンにあるブラパー大学海洋水族館は、このビーチの呼び物のひとつとして海水浴客を惹きつけている。バンコクのカセサート大学バンケー校にある淡水水族館は、漁業省の所管でずっと公開展示用に維持されている。

いわゆる「ゴッドフリー・コレクション (Godfrey Collection)」と呼ばれているタイの昆虫コレクションは、1900 年代初めに外国人の収集者らが我が国の収集者や分類学者と協力してはじめたものであり、現在、その保管、管理、更新、維持は、バンコクの農務省昆虫・動物局で行われている。この昆虫のコレクションはタイで最大規模とされており、現在では、304 科に属す 7 千 400 種以上の昆虫、23 科 170 種のダニ、16 科 80 種のクモが同定され、このコレクションに収められている。同じような昆虫のコレクションが、カセサート大学農学部昆虫学科にも収められている。こちらは、1960 年代にカセサート大学とハワイ大学の合同プロジェクトとしてハワイ大学の支援を受けて始められたものである。その他にも、規模の小さなコレクションが国内の様々な大学に保管されていたり、私的なコレクションとして保管されている。

国立生物学的防除研究センター (NBCRC) は、1970 年代後半に、生物学的防除面で価値のある寄生虫と捕食者に限定した天敵昆虫の参照株コレクションをはじめた。これは天敵参照株寄託施設 (Natural Enemies Reference Depository - NERD) といわれるもので、バンコクのカセサート大学にある NBCRC 本部と、ナコンパトムの同大学カンペンセン校にある NBCRC 中央支部に置かれている。

また、王立森林局、農務省、チェンマイ大学その他の学術機関には、ある程度の植物コレクションが収められている。

以上のような既存の保存施設の機能や活動を取りまとめて連携させ、限られた資源を最大限に利用できるようにするための実用的な仕組みが我が国に欠けていることは、言うまでもない。

#### 専門技術

タイでは、特定の分類群を専門とする分類学者は数えるほどしかいない。但し彼らの大部分は、それぞれの専門分野の生物を同定するための研修を十分に受けている。タイの分類学者が新しい種の記述をすることはほとんどなく、仮にあったとしても、主に外国の専門家との共同著作である。また、動物植物を問わず、記述された種の「基準株」でタイの保存施設に寄託されるものはごく少数である。

提供できる同定のサービスもまた限られており、主に同定済みの標本と比較して行う。だがたいていは外国の博物館や同定の専門機関に標本を送らざるを得ず、経費を要する場合もままある。ときには、同定のために借りたり送ったりした標本が、外国の専門家と共に消えてしまうこともある。農務省とカセサート大学では、昆虫一般と経済的に重要な昆虫を対象に同定のサービスを行っている。カセサート大学にある NBCRC では、タイ国内で生物学的防除に携わっている人たちのほか、時には東南アジアの近隣諸国の研究者のために、昆虫の寄生虫と捕食者を対象とした同定のサービスを提供している。

## 必要性

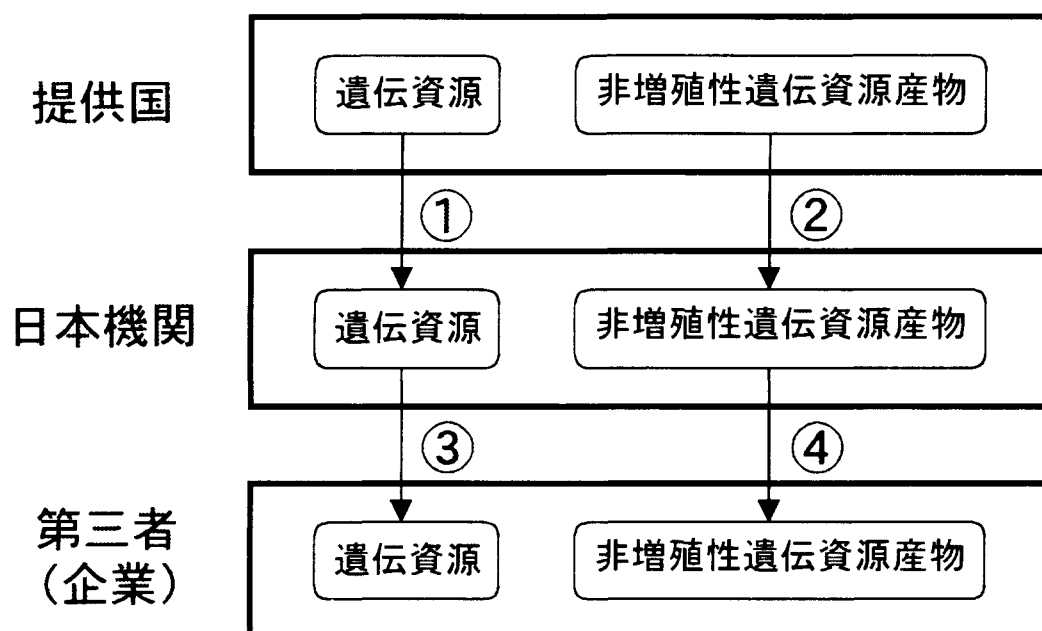
タイの種分類学的研究に関する限り、あらゆる形での支援が必要である。たとえば、基本的なインフラ、設備や施設などの物理面、熟練者、コンサルタント、専門家、技術者などの人材面、それに、データベース、参考文献、関係論文、電子的支援機能といった技術面や科学技術面などの支援である。また、東南アジア地域の一員として、種分類学の将来的向上と共同研究のため、この地域内での技術協力ネットワークも必要である。

## 結論

我が国における種分類学的研究は、当初からきわめて細々としたスタートであった。タイに生息する動植物に関する分類学的研究は、これまでほとんどが、国内や国外で研究を行っている外国人の収集者や分類学者の手に委ねられてきた。様々な資金援助機関からの支援もなく、研究助成金もなく、関心すら払われていない現状にあって、いかに少数とはいえ、我が国の分類学者に対してしかるべき敬意が払われないならば、この国の種分類学的研究は先細るばかりである。協調的な国家計画の策定に向け、種分類学的研究を強化するために当然かつ適切な支援を提供することは、以前からの急務であった。この国の施設が、タイ国内および東南アジアの他の国々にある、種分類学を取り扱う他の機関との連携やネットワークの国内連絡拠点あるいは中心拠点として機能しうるのは、このような国家計画の仕組みを通じてである。最終目標は、我が国及び東南アジア地域が歩調を合わせて連携し、種分類学の支援、推進、強化を図ることである。

# 他国遺伝資源の持続的利用における問題点

## MTAの合意内容



	①	②	③	④	分離・培養・保存	有機物質探索
ケース 1	×	×	—	—	提供国内	提供国内
ケース 2	×	○	—	×	提供国内	日本機関
ケース 3	×	○	—	○	提供国内	日本機関・企業
ケース 4	○	○	×	×	日本機関	日本機関
ケース 5	○	○	×	○	日本機関	日本機関・企業
ケース 6	○	○	○	○	日本機関・企業	日本機関・企業

本報告書の内容を公表する際はあらかじめ財団法人  
バイオインダストリー協会の許可を受けて下さい。

電話        03-5541-2731

FAX        03-5541-2737