

【話 題】

熱帯林の遺伝子研究

—環境省地球環境研究総合推進費によるプロジェクトを終えて—

原田 光^{*1}

はじめに

平成21年より3年間続いた環境省地球環境研究総合推進費「熱帯林の減少に伴う森林劣化の評価方法の確立と多様性維持」(D-0901)が今年3月で終了した。まだ得られたデータのすべてについて解析をし終わったわけではないがここで一応の締めくくりとして、本プロジェクトのコンセプトと、その結果についてこの場をかりて報告したい。

研究の背景と概要

世界中で熱帯雨林が存在するのは中部アフリカの大地溝帯西側、南米アマゾン川流域および島嶼東南アジアの3箇所である。東南アジアの熱帯林は日本から最も近く、

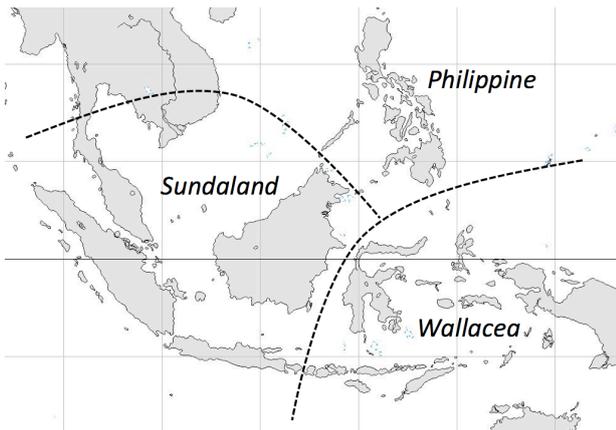


図-1 島嶼東南アジア

これまで日本の研究者を中心に活発に研究が行われてきた。島嶼東南アジアは生物地理学的にスンダランド、フィリピン、およびウオーレシアに区分される(図-1)。西暦2000年の段階でそれぞれの地域で原生的な森林は92.2%、97.0%および85.0%が失われたとされる(Myers et al. 2000)。一方でこれらの地域の植物のうち、世界全体の植物種に対する固有種の割合はそれぞれ5.0%、1.9%および0.5%であり、フィリピンおよびスンダランドは世界各地に8箇所指定された生物多様性の最もホットなホットスポットとされている(Myers et al. 2000)。

島嶼東南アジアの森林はフタバガキ科樹木が優先していることで知られる。熱帯アジアのフタバガキ科(Dipterocarpoideae 亜科)には13属475種が知られているが、特にボルネオ島には9属267種が成育し、世界で最も多くのフタバガキが成育する地域である(Ashton 1982)。東南アジア熱帯雨林の景観は突出したフタバガキ科樹木の特徴のあるカリフラワー状の林冠によって作られる。フタバガキ科の樹木は成育に伴い枝を落として行くので、林冠近くまで通直で完満な太い幹ができる。しかも樹高は場合によって50mから70mに達し、加工しやすい柔らかさと構造材として十分な強さを合わせ持つため製材用にとってつけである。多種多様な樹種が含まれるため開発が遅れたパプアニューギニアとくらべ、島嶼熱帯アジアではフタバガキ科樹木のみを伐採対象とすればこと足りるため、原始林をひっかくようにしてフタバガキが伐採されてきたのである。現在この地域の多くの国で原木丸太の輸出は禁止されている。

さてこのように破壊され、断片化した森林はどの様に修復再生させることが出来るだろうか？森林の果たす役割として水土保全、二酸化炭素の固定、および生物多様性の維持があげられるが、熱帯林ではこれらの機能がいずれも地球規模で影響をおよぼすほど大きいと考えられ

*E-mail: kharada@agr.ehime-u.ac.jp

¹はらだ こう 愛媛大学農学部

ている。このうちの水土保持と、二酸化炭素の固定は熱帯林が失われても他の樹種で代替が可能であろう。しかし、生物多様性は進化的な時間を経て達成されたものであり、多くの生物の共存圏として成立しているのもその修復再生は極めて困難である。このプロジェクトの出発点は次の様な素朴な疑問に発している。すなわち、熱帯林はなぜ生物多様性が高いのか、そして生物多様性が高いことは遺伝的多様性が高いことと同義なのか？この問いは、森林破壊はどの様な遺伝的变化を引き起こすのかという問題につながる。森林破壊による遺伝的な変化（これを森林の遺伝的劣化とよぶことにする）のメカニズムが分かれば、これを阻止、あるいは回避する手法の開発につながるかも知れない。

熱帯林ではこれまで生態学的研究が主に行われてきたが、生態学研究はハビタットレベルで行われることが多く、時間スケールも短い。一方で遺伝学研究は集団や種のレベルで行われることが多く、時間も進化的な長い時間を考えることが多い。この二つの時間、空間スケールの異なるアプローチの仕方について遺伝子という共通の言語で話すことが出来れば両者の間の橋渡しは可能かも知れない。つまり遺伝子レベルの変化は形態あるいは生理学的に目に見える現象と結びつかなければ意味がないであろう。このような考えからこのプロジェクトは生態学と遺伝学の二つの視座に立脚して、I「森林の生態的劣化評価」およびII「森林の遺伝的劣化評価」の二つのグループを据えることにした。さらに熱帯林の修復再生手法の開発を行うため、3番目の研究グループとしてIII「多様性保全を目指した造林」の研究グループが設けられた。このような三部構成からなる本研究プロジェクト全体の概要は以下のようなものである。

I「生態系劣化評価」研究グループでは、サブテーマ1として大阪市立大学の伊東明らによる「繁殖構造による脆弱性の解析」、およびサブテーマ2として、京都大学の宮下直彦らによる「土壌微生物を指標とした評価手法の確立」をおこなった。サブテーマ1、サブテーマ2ともこれまで長期にわたるセンサスデータの蓄積されているマレーシア・サラワク州ランビル国立公園を中心にして研究をおこなった。サブテーマ1では熱帯林の攪乱に対する脆弱性は様々な繁殖構造を持つ樹種毎に各樹種が同じように影響を受けるものではないことを明らかにするため、フタバガキ科樹木の繁殖構造（ミツバチと甲虫）と立木密度の組み合わせにおける遺伝構造を原生的森林と残存林で比較解析した。またサブテーマ2では様々なタイプの森林について、次世代シーケンサーを用いて土壌微生物の構成を明らかにし、森林劣化を端的に反映する

微生物を見つけ出し劣化指標にするというチャレンジングな試みを行った。

II「遺伝的劣化評価」研究グループでは、サブテーマ3で愛媛大学の原田光らが「地域集団の解析と多様性保全を目指した造林」を担当し、ボルネオ島全域でのフタバガキ科の集団の遺伝的変異と遺伝構造を調べた。そのために各集団の遺伝的多様性について、葉緑体DNA、核マイクロサテライトおよび核遺伝子の集団遺伝学的解析を行った。サブテーマ4では森林総合研究所の津村義彦らが「種および地域識別マーカーの開発と広域集団の解析」を行った。この研究では *Shorea leprosula*、*Shorea pruvifolia* などのフタバガキ科の広域分布種を中心にボルネオ島、マレー半島、スマトラ島、ジャワ島など広域にわたる遺伝的変異を調べた。サブテーマ5、サブテーマ6およびサブテーマ7はそれぞれ九州大学の Alfred E. Szmidt ら、福岡女子大学の小泉修ら、および進化生物学研究所の吉田彰らが担当した。これらのサブテーマでは稀少種および絶滅危惧種を対象として、それぞれ東南アジア熱帯のフタバガキ科樹木、アジア太平洋およびインド洋全域のマンゴローブおよびマダガスカル島の固有種を対象にして集団遺伝学的研究を行った。ここではすでに稀少種や絶滅危惧種として知られていたものと、森林破壊によって稀少種あるいは絶滅危惧種化する可能性のある植物種の遺伝的変異を調べ、両者の比較により森林破壊のおよぼす遺伝的影響について明らかにすることを試みた。

IIIの「多様性保全を目指した造林」研究グループは上記サブテーマ3、およびサブテーマ7内に設けられ、サブテーマ3では愛媛大学の二宮生夫らが中心となってマレーシア・サラワク州およびジャワ島のフタバガキ、チーク、マホガニー、ユーカリの古い人工林について遺伝的多様性を調べた。サブテーマ7では吉田彰らが過去20年間にわたって行ってきたマダガスカルにおける住民参加型の植林活動について、地域経済の発展と協調した森林保護のあり方を探り、この方法を「マダガスカル方式」として位置付け確立する試みを行った。

以上のような研究について、ここではランビル国立公園で行われた生態学的研究（サブテーマ1）とマレー半島、スマトラ、ボルネオを含む領域で行われたフタバガキ広域分布種の遺伝的多様性についての研究（サブテーマ3およびサブテーマ4）に焦点を絞って、その成果について紹介したい。

研究の成果

繁殖構造と局所的空間遺伝構造との関係

マレーシア・ランビル国立公園の熱帯雨林では大面積調査区が設置され20年にわたって詳細な樹木センサデータが蓄積されている。この調査区は世界最大級の面積をもち、直径1cm以上のすべての個体が識別されているなど、個体群の遺伝的多様性、遺伝構造、遺伝子流動の調査基盤として極めて有用である。樹木センサデータから樹種ごとに極めて特徴的な空間構造を持つことがこれまでに明らかにされている (Lee et al. 2002)。このような空間構造は種子及び花粉の散布距離 (繁殖様式) と樹木のライフサイクル (生活様式) によって長い時間をかけて形成されたものである。従って種の繁殖様式や生活様式の違いにより森林攪乱に対する脆弱性は異なると考えられる。このことを検証するため、フタバガキ科樹木10種を選び出し、花粉媒介者 (ハチと甲虫) と局所的空間構造 (立木密度の大小) の間で出来る4種類の組み合わせに区分した。これらについて52ヘクタールの調査区に成育する胸高直径30cm以上のすべての個体 (成熟個体) から葉を採集してDNAを抽出し、マイクロサテライトマーカーを用いた局所空間遺伝構造の解析を行った。表-1に各種個体群の遺伝的多様性を示す。

この結果、10種のうち8種で空間スケールが100m以下のときに有意な局所的空間構造が認められた。空間遺伝構造には立木密度の指数としての平均クランプサイズ

と強い負の相関が認められた (図-2)。さらに空間遺伝構造を規定する要因を抽出するため赤池情報量 (AIC) を用いて解析した結果、100m以下のスケールでは種子散布能力のみが選ばれ、種子散布能力の小さい種ほど強い遺伝構造が現れた。100m以上では、個体の密度分布と送粉者を含むモデルが選ばれ、成熟個体の集中斑の半径が小さく個体群が分断されている種、飛翔能力の低い甲虫に送粉される種で遺伝構造が強いことが明らかになった。種

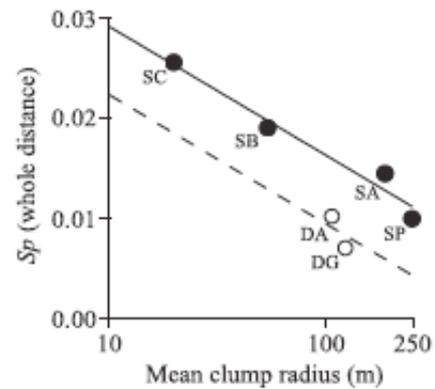


図-2 生態特性と遺伝構造の関係
○はミツバチ媒の樹種、●は甲虫媒の樹種。Harata et al. (2012)。

表-1 SSR マーカーに基づいた各種個体群の成熟木の遺伝的多様性

Species	N	P	Loci	N_a	N_e	H_e	H_o	F_{is}	F_{is} (IIM)
<i>D. crinitus</i>	23	G	7	6.6	4.2	0.673	0.689	-0.002	0.002
<i>D. globosus</i>	289	G	6	28.7	9.1	0.843	0.798	0.056***	0.006
<i>D. aromatica</i>	375	G	10	14.5	4.9	0.589	0.640	0.081***	0.003
<i>D. lanceolata</i>	26	G	8	6.8	3.4	0.601	0.591	0.036	0.020
<i>S. acuta</i>	144	B	7	14.1	6.2	0.806	0.772	0.046***	0.006
<i>S. amplexicaulis</i>	27	B	10	11.5	5.7	0.739	0.589	0.221***	0.027
<i>S. beccariana</i>	115	B	10	18.0	6.5	0.792	0.660	0.170***	0.038
<i>S. curtisii</i>	50	B	16	5.1	2.6	0.521	0.545	-0.035	0.003
<i>S. ovata</i>	36	B	7	10.4	5.3	0.774	0.794	-0.011	0.007
<i>S. parvifolia</i>	42	B	9	15.0	8.0	0.819	0.749	0.100***	0.018

N: 分析サンプル数、P: 送粉昆虫 (G: ハチ、B: 小型甲虫)、Loci: 遺伝子座数、 N_a : 対立遺伝子数の平均、 N_e : 有効対立遺伝子数の平均、 H_e : ヘテロ接合の期待値、 H_o : ヘテロ接合の観察値、 F_{is} : 近交係数、 F_{is} (IIM): null 遺伝子を補正した近交係数。*** $P < 0.001$ 。Harata et al. (2012)。

子散布距離と送粉距離が局所的空間遺伝構造の形成に関してフタバガキ科樹種ではこれら2つの要因の影響は同等ではなく、種子散布の影響は小さい空間スケールで、送粉の影響は大きい空間スケールでより重要であることが初めて示された。このことは個体群の空間構造が遺伝構造を規定することを意味しており、森林の攪乱に対して影響を受けやすい種とそうでない種があることを示している。

フタバガキの遺伝的多様性

フタバガキ科の分子系統樹の作成

フタバガキ科の系統関係についてこれまでに葉緑体DNAの変異を用いた系統樹の作成が Kamiya et al. (1998)、Kajita et al. (1998) によって行われ、ショレア属の材色による区分（レッドメランティ、ホワイトメランティ、イエローメランティ、バラウ）が単系統としてまとめ、進化的な系統関係を反映することが明らかにされている。さらに Kamiya et al. (2005) はショレア属を中心に、ホペア属、ネオバラノカルパス属、パラショレア属の樹種を含めて核遺伝子 *PgiC* の部分配列を用いた分子系統樹を作成した。これは基本的に cpDNA から作成した系統樹と一致したが、核と葉緑体の相違する部分をもとにネオバラノカルパス属がホワイトメランティとホペ

アの間の雑種に由来することを示した。本研究ではショレア属を網羅して84種200個体について葉緑体の4つの遺伝子領域 (*trnL* intron, *trnL-trnF* *trnH-trnK*, *psbC-trnS*) の変異に基づく系統解析を行った。合計4286 bp 塩基配列を解読した結果イエローメランティの17サイトからレッドメランティの128サイトまでの多型的な変異が検出された(表-2、表-3)。系統解析の結果、材色による4グループは *S. roxburghii* を除いて単系統であることが支持された。またそれらを識別する塩基サイトがホワイトメランティ、イエローメランティ、レッドメランティ、バラウでそれぞれ9、11、6、5サイトが存在することが示されると共に、変異サイトの組み合わせによりほとんどの種が葉緑体の変異に基づいて識別が可能になった。これらの情報はオンラインデータベース <http://f5002.ffpri-108.affrc.go.jp/shorea/> で公開されている。

広域分布種の遺伝的変異

Shorea curtisii, *S. leprosula* および *S. parvifolia* はいずれもレッドメランティの中の *Sec. Mutica*, *Subsec. Mutica* に含まれ、半島部タイからマレー半島、スマトラ、ボルネオに広く分布する。これらについて葉緑体DNA および核遺伝子の変異に基づく系統地理的分布を調べた。

表-2 4つの材色グループの多型サイト数 (シングルトン、情報サイト)

グループ	<i>trnL</i>	<i>trnL-trnF</i>	<i>trnH-trnK</i>	<i>psbC-trnS</i>	合計
	506bp	441bp	1780bp	1559bp	4286bp
ホワイト	11 (4,7)	14 (0,14)	42 (7,35)	39 (4,35)	106 (15,91)
イエロー	3 (2,1)	4 (1,3)	5(3,2)	5 (4,1)	17 (10,7)
バラウ	7 (2,5))	18 (6,12)	35 (24,11)	41 (12,29)	101 (44,57)
レッド	11 (7,4)	26 (9,17)	48 (27, 21)	43 (30,13)	128 (73,55)

Tsumura et al. (2011)。

表-3 4つの材色グループの葉緑体DNA塩基多様度 (標準偏差)

グループ	<i>trnL</i>	<i>trnL-trnF</i>	<i>trnH-trnK</i>	<i>psbC-trnS</i>
ホワイト	0.00468 (0.00098)	0.01043 (0.00194)	0.00679 (0.00148)	0.00555 (0.00161)
イエロー	0.00075 (0.00030)	0.00164 (0.00039)	0.00060 (0.00013)	0.00037 (0.00022)
バラウ	0.00176 (0.00050)	0.00674 (0.00097)	0.00282 (0.00050)	0.00418 (0.00048)
レッド	0.00149 (0.00019)	0.00515 (0.00052)	0.00142 (0.00024)	0.00129 (0.00027)

Tsumura et al. (2011)。

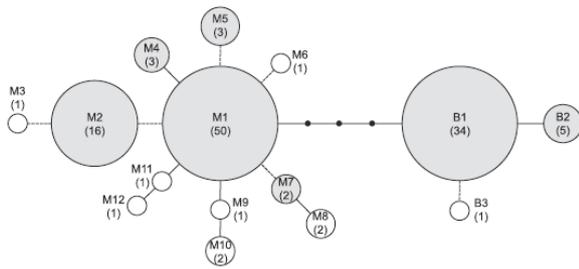


図-3 *Shorea curtisii* の15 ハプロタイプ間のハプロタイプネットワーク

M1 から M12 はマレー半島に見られたハプロタイプ。B1 から B3 はボルネオ島で見られたハプロタイプを示す。円のサイズはハプロタイプの出現頻度に比例する。Kamiya et al. (2011)。

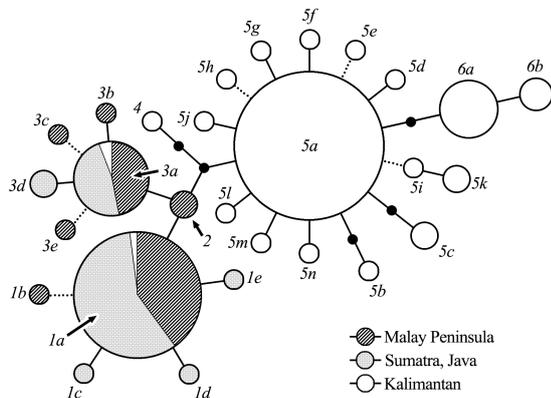


図-4 *Shorea parvifolia* の28 ハプロタイプ間のハプロタイプネットワーク

点線は欠失/挿入による変化を示す。円のサイズはハプロタイプの出現頻度に比例する。Tsumura et al. (2011)。

Shorea curtisii ではマレー半島7集団、ボルネオ島3集団、合計10集団123個体について解析した。*trnH-trnK* および *trnL-trnF* の2つのスペーサー領域について合計15ハプロタイプが決定でき、そのうち12ハプロタイプはマレー半島のみで、3ハプロタイプはボルネオ島でのみ見られ両地域間で大きな遺伝的分化が起こっていることが示された(図-3)。

Shorea leprosula では4地域(マレー半島、スマトラ、ボルネオ、ジャワ)で27集団177個体のサンプルについて葉緑体5領域(*trnD-trnT*、*petB* intron、*petL-psbE*、*psbJ-petA*、*rps16-trnK*)、合計4393bpの塩基配列を決定した。得られた21のハプロタイプに基づくハプロタイプネットワークを図-4に示した。

ここに示すように、ボルネオ島の集団とそれ以外(マレー半島、スマトラ島)で明瞭な遺伝的な違いが見られた。*Shorea parvifolia* については同様に4地域で13集団のサンプル採集を行った。種内多型の見られた葉緑体の2領域(*psbJ-petA*、*trnQ-rps16*)の塩基配列を決定して解析を行った。ある程度の地域的な分化は見られたが*S. curtisii* や *S. parvifolia* に見られるほど明瞭なものではなかった。

Shorea leprosula および *S. parvifolia* については遺伝解析用のマーカーとしてcDNAライブラリーで得られたEST配列情報を用いてEST-SSRマーカー40遺伝子座を開発した(Ng et al. 2009, Ohtani et al. 2012)。*S. leprosula* では24集団について、34遺伝子座のEST-SSRで解析した。また*S. parvifolia* については13集団について14遺伝子座のEST-SSRで解析した。*Shorea leprosula* では集団のヘテロ接合度は0.370~0.472の値をとり、アレリックリッチネスは2.458~3.198となった。遺伝分散の割合はカリマンタン島、スマトラ島、マレー半島などの地域間が4.38%で、地域内の集団間が6.09%で、集団内が89.53%で、約9割の遺伝的変異が集団内にあることが明らかとなった。遺伝子分化係数は低いが($F_{st} = 0.0671$)、ボルネオ島の集団とそれ以外が明瞭に分化していることが示された。*S. parvifolia* においても同様の遺伝的分化がみられた($F_{st} = 0.160$)。このレベルは*S. leprosula* よりも高く、葉緑体では不明瞭であった地域間の分化が核では明瞭に示された。以上のように広域分布種ではボルネオ島とそれ以外の地域の間で共通して明瞭な遺伝的分化が起こっているといえる。最終氷期には東南アジアは陸地化した(スンダ大陸)ことが知られているが、その間も両地域間で頻繁な遺伝子の交流はなかったと考えられる。葉緑体DNAの突然変異率からこのような遺伝構造が形成されたのは数十万年以上前と推定される。

熱帯林の遺伝的多様性は高いのか

これまでに得られた葉緑体DNAおよび核遺伝子の塩基配列データから塩基多様度を算出し、それを温帯林の樹木種と比較したのがそれぞれ図-5および図-6のようになる。これらの図から、葉緑体DNAにおいても、核遺伝子においてもフトバガキ科樹木の遺伝的多様性は温帯林樹種と同程度か、あるいはむしろ低いといえる。このことは熱帯林の高い生物多様性の現状と矛盾するように見える。種多様性の高さは種分化のポテンシャルを保証する遺伝的多様性が保有されていることが条件であると考えられるからである。しかしながら属に含まれる種の数が多い熱帯林で多いと考えれば、属レベルでは遺伝的多様性は高いのかも知れない。

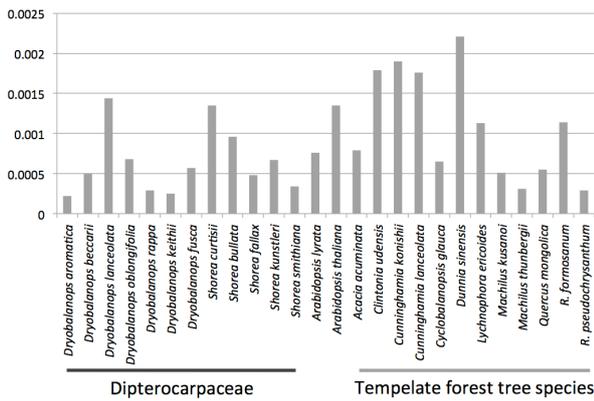


図-5 葉緑体 DNA の塩基多様度の比較
K. Kamiya (未発表)。

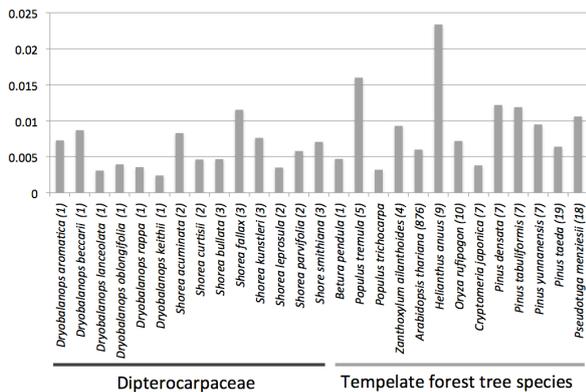


図-6 核遺伝子の塩基多様度の比較
かっこ内の数値は調べた領域の数。K. Kamiya (未発表)。

おわりに

ボルネオ島を中心にした東南アジア熱帯林におけるフタバガキ科の主要樹種について生態学的なアプローチと集団遺伝学的なアプローチによって得られた成果を紹介した。ショレア属を中心にフタバガキ科の系統関係が分子レベルで詳細な点まで明らかになった。また広域分布種のいくつかでは葉緑体あるいは核遺伝子の DNA 変異を用いた集団の系統地理学的なネットワークが構築された。これにより広域的な遺伝構造が判明すると同時に、地域内の遺伝構造もかなりの部分まで明らかにされた。これらの遺伝構造は種分化を伴う適応進化的な歴史を反映しており、フタバガキの森林の形成過程を示すと共に、

現在断片化され、点となった集団をつなぐことにより原始の森林の姿を再現することも可能なように思われる。また見出された変異の多くが種や地域を識別するマーカーとして利用価値を持つことも重要である。

さて、本研究の出発点であった熱帯林の遺伝的変異量については何が分かったのだろうか？我々の結果は、熱帯林の樹木集団の遺伝的変異量が温帯林のそれに比べ決して大きくはないことを示している。これはこれまでの予想とは異なるものであった。ここで注意したいのは遺伝的変異の量は遺伝子多様度、あるいは塩基多様度で総量として示されているということである。また変異の多くは中立領域にある。熱帯林が多く種の生み出すポテンシャルを持つこと背景には変異の表面の値 (face value) では見つからない遺伝的豊かさが隠されているはずである。このことは温帯林と熱帯林で違う様式の自然選択が働いていることを示唆する。一つの可能性として、ニッチの多様性と相互作用する多様化選択が特定の遺伝子に働いていることが考えられる。今後の研究の方向として、温帯林と熱帯林での自然選択の有り様の違いを明らかにしていく事が求められるだろう。生態学的なアプローチはニッチの形成と遺伝構造に密接な関係があることを示した。現在実用化が進んでいる次世代シーケンサーによる遺伝的変異の網羅的解析によって自然選択の働いている遺伝子の検出にも道が開けつつある。またさらには検出された遺伝子がどのような形態的なあるいは生理的な差違をもたらすことによって自然選択が有効なのかを示して行く必要もあるだろう。集団の適応的な様態がニッチのレベルおよび集団のレベルで明らかにされることによりそれに対する破壊の影響を見積もり、回避の手立てを講ずることが出来ると期待している。

引用文献

Ashton PS (1982) Dipterocarpaceae. Flora Malesiana ser. 1, Spermatophyta, 9: 251-552
 Harata T, Nanami S, Yamakura T, Matsuyama S, Chong L, Diway BM, Tan S, Itoh A (2012) fine-scale genetic structure of ten dipterocarp tree species in a Bornean rain forest. Biotropica 44: 586-594
 Kamiya K, Harada K, Kajita T, Yamazaki T, Lee HS, Ogini K, Ashton PS (1998) Molecular phylogeny of dipterocarp species using nucleotide sequences of two noncoding regions in chloroplast DNA. Tropics 7: 195-207
 Kajita T, Kamiya K, Nakamura K, Tachida H, Wickneswari R,

- Tsumura Y, Yshimaru H, Yamazaki T (1998) Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae in Southeast Asia based on nucleotide sequences of *matK*, *trnL* intron, and *trnL-trnF* intergenic spacer region in chloroplast DNA. *Molecular phylogenetics and Evolution* 10: 202-209
- Kamiya K, Harada K, Tachida H, Ashton PS (2005) Phylogeny of *PgiC* gene in *Shorea* and its closely related genera (Dipterocarpaceae), the dominant trees in Southeast Asian tropical rain forests. *American Journal of Botany* 92: 775-788
- Kamiya K, Nanami S, Kenzo T, Yoneda R, Diway B, Chong L, Azani MA, Majid NM, Lum SKY, Wong KM, Harada K (2011) Demographic history of *Shorea curtisii* (Dipterocarpaceae) inferred from chloroplast DNA sequence variations. *Biotropica* 44: 577-585
- Lee HS, Ashton PS, Yamakura T, Tan S, Davies SJ, Itoh A, Chai EOK, Ohkubo T (2002) The 52-hectare forest research plot at Lambir Hills, Sarawak, Malaysia: Tree distribution maps, diameter tables and species documentation. Forest Department of Sarawak, The Arnold Arboretum-DTFS Asia Program, The Smithsonian Tropical Research Institute. Lee Miing Press Sdn Bhd.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858
- Ng KKS, Lee SL, Tsumura Y, Ueno S, Ng CH, Lee CT (2009) EST-SSRs isolated from *Shorea leprosula* and their transferability to 36 species within the Dipterocarpaceae. *Molecular Ecology Resources* 9: 393-398
- Ohtani M, Ueno S, Tani N, Lee LS, Tsumura Y (in press) Twenty-four additional microsatellite markers derived from the expressed sequence tags of an endangered tropical tree *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae). *Conservation Genetics Resources*
- Tsumura Y, Kado T, Yoshida K, Abe H, Ohtani M, Taguchi Y, Fukue Y, Tani N, Ueno S, Yoshimura K, Kamiya K, Harada K, Takeuchi Y, Diway D, Finkeldey R, Na'iem M, Indrioko S, Ng KKS, Muhammad M, Lee SL (2011) Molecular database for classifying *Shorea* species (Dipterocarpaceae) and techniques for checking the legitimacy of timber and wood products. *Journal of Plant Research* 124: 35-48