

ビワ果肉色の遺伝および果肉色に連鎖する RAPD マーカーの同定

福田伸二^{1*}・吉田俊雄^{1a}・稗圃直史¹・佐藤義彦^{1b}・寺上伸吾²・山本俊哉²・富永由紀子¹・根角博久^{1a}

¹長崎県果樹試験場 856-0021 大村市鬼橋町

²農研機構 果樹研究所 305-8605 つくば市藤本

The Inheritance and Identification of RAPD Marker on Fruit Flesh Color in Loquat

Shinji Fukuda^{1*}, Toshio Yoshida^{1a}, Naofumi Hiehata¹, Yoshihiko Sato^{1b}, Shingo Terakami²,
Toshiya Yamamoto², Yukiko Tominaga¹ and Hirohisa Nesumi^{1a}

¹Nagasaki Fruit Tree Experiment Station, Onibashi, Omura, Nagasaki 856-0021

²National Institute of Fruit Tree Science, Fujimoto, Tsukuba, Ibaraki 305-8605

Abstract

To understand the mode of flesh color inheritance in loquats (*Eriobotrya japonica*), segregation of flesh color (yellowish orange vs. whitish yellow) was investigated in 1,643 F₁ progenies derived from 32 breeding populations. All F₁ progenies obtained from the cross between whitish yellow cultivars had whitish yellow flesh. The segregation ratio between yellowish orange and whitish yellow indicated either 1 : 0 or 1 : 1 in F₁ progenies between yellowish orange and whitish yellow cultivars. In F₁ progenies among yellowish orange cultivars, the segregation ratio was either 1 : 0 or 3 : 1. These findings indicated that yellowish orange flesh was dominant to whitish yellow flesh. The gene corresponding to yellowish orange flesh is named the *Ca* gene. The genotype of yellowish orange cultivars is assigned as either *Ca/Ca* or *Ca/ca* and that of whitish yellow cultivars is *ca/ca*. Bulk screening was carried out to find a RAPD marker linked to the phenotype of yellowish orange flesh using 28 Operon primers. In total, 28 Operon primers provided 28 polymorphic fragments between the yellowish orange and whitish yellow bulk samples. They were subjected to linkage analysis using 37 F₁ progenies between 'Reigetsu' and 'Amakusagokuwase'. The 1,800 bps of RAPD fragment (OPH-01/1800) obtained from OPH-01 primer was linked to *Ca* gene at a recombination value of 0.081 with LOD value of 6.7. The validity of OPH-01/1800 to flesh color phenotype was evaluated among 41 loquat cultivars. The OPH-01/1800 marker was present among 78% of the yellowish orange flesh cultivars, in contrast, the OPH-01/1800 marker was absent from all whitish yellow flesh cultivars. These findings indicate that the OPH-01/1800 marker is useful to select yellowish orange flesh in a loquat breeding program.

Key Words : breeding, single dominant gene

キーワード : 育種, 単一優性遺伝子

緒 言

ビワ (*Eriobotrya japonica* Lindl.) の果肉色は、橙黄色タイプと黄白色タイプの2グループに大別される。橙黄色タイプは鮮橙、明橙、明黄橙および浅黄橙に、黄白色タイプは浅橙黄と淡黄に区分される。これらの果肉色の違いは、カロテノイド含有量の高低に支配されていると報告されている (Kon・Shimba, 1988)。ビワの果実にはガン予防の健康機能性成分として注目されているβ-クリプトキサンチンやβ-カロテンが豊富に含まれている (Olson, 1989; Yanoら, 2005)。橙黄色タイプの果肉色は、カロテノイドの含有を示

す指標であり、果実の外観も良いことから、ビワ育種において、重要形質の一つである。'麗月' (寺井ら, 2007) などの黄白色タイプの品種は、橙黄色タイプ品種と比較して、熟期の判別が難しいが、比較的高糖度の品種が多い。このため長崎県果樹試験場では、橙黄色タイプ品種と黄白色タイプ品種の交雑実生の中から高糖度で橙黄色タイプの果肉を持つ実生の選抜を進めている。

果樹類の果肉色の遺伝については、リンゴ (Crane・Lawrence, 1933) およびモモ (Connors, 1919) などの報告例がある。しかし、ビワはリンゴやニホンナシと同じバラ科ナシ亜科に属する重要な果樹にもかかわらず、諸形質の遺伝様式の解明は進んでおらず、ビワ育種の主要形質である糖度や果肉色等の遺伝様式は明らかにされていない。

結実までに長期間を要するビワにおいて、果実形質と連鎖する DNA マーカーによる早期選抜は、育種効率を飛躍的に向上させることが可能である。しかしながら、ビワで

2008年2月18日 受付。2008年7月11日 受理。

* Corresponding author. E-mail: fukushin@pref.nagasaki.lg.jp

^a 現在 : 農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所 カンキツ研究興津拠点

^b 現在 : 農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所

は実用形質と連鎖するマーカーの報告例は、ピワがんしゅ病抵抗性遺伝子(福田ら, 2005)などと少なく、ピワ育種の効率化に向けて果実形質などの選抜に利用できるマーカー開発が期待されている。そこで、本研究では、ピワ果肉色の遺伝様式の解明と橙黄色タイプの果肉色と連鎖するDNAマーカーの開発を試みたので報告する。

材料および方法

1. ピワの果肉色の遺伝

交雑親として、長崎県で育成および保存している26品種・系統を供試した。遺伝様式の解明には、交雑試験から得られた32組合せ、1,643個体を用いた。そのうち、黄白色タイプ品種同士の組合せは4組合せ172個体、橙黄色タイプ品種 × 黄白色タイプ品種の組合せは、8組合せ342個体、黄白色タイプ品種 × 橙黄色タイプ品種の組合せは、4組合せ213個体、橙黄色タイプ品種同士の組合せは、16組合せ916個体である。果肉色は、日本園芸植物標準色票(日本色彩研究所(財))に基づいて適熟果を橙黄色タイプ〔鮮橙(1605)、明橙(1604)、明黄橙(1905)、浅黄橙(1904)]あるいは黄白色タイプ〔浅橙黄(2203)、淡黄(2503)]のいずれかに目視で大別した。

2. 果肉色遺伝子と連鎖するRAPDマーカーの同定

連鎖マーカーの同定に供試した集団は、1995年に‘麗月’(黄白色タイプ)と‘天草極早生’(橙黄色タイプ)を交雑し、37個体を育成したものである。それらは翌々年に高接ぎし、施設栽培で得られた果実の果肉色を日本園芸植物標準色票に基づいて橙黄色タイプと黄白色タイプに大別した。橙黄色タイプと黄白色タイプで多型を示すRAPDマーカーをスクリーニングするために、各タイプについてそれぞれ5個体の全DNAを等量ずつ混合してバルクサンプル(Michelmoreら, 1991)を作成した。さらに、当場で保存している41品種・系統について、得られたRAPDマーカーの適合性を検討した。

本試験に供試した各個体の全DNAは、萌芽間もない新葉からCTAB(cetyltrimethylammonium bromide)法(Doyle・Doyle, 1987)により抽出し、DNAの濃度はfluorometry(Hoefer TK100, Hoefer Scientific Instrument)を用いて10 mg・L⁻¹に調製した。サーマルサイクラーは、宝酒造(株)のTP-3000型を用いた。PCR反応は①93°Cで1 minの熱変性、②93°Cで20 sの熱変性、③37°Cで1 minのアニーリング、④72°Cで2 minの伸長反応とし、②~④の過程を45サイクル行った。最後に72°Cで7 minの再伸長反応を行った。反応は20 μLの系で行い、その組成は、10 mM Tris-HCl(pH 8.3)、50 mM KCl、2.5 mM MgCl₂、10 ng 鋳型DNA、200 μM dNTPs、0.2 μM オペロンプライマーおよび0.1 unit Taq polymerase(宝酒造(株))とした。なお、プライマーは280種類のオペロンプライマー(Operon Technologies)を供試した。PCR産物は、1.5%のアガロースゲルを用いて電気泳動し、増幅断片の分離を行った。さらにエチジウムブ

ロマイドを用いて染色し、260 nmの紫外線照射下で増幅断片の検出を行った。

3. 連鎖解析

組換え価とLODスコアは、JoinMap ver. 3.0(Stam・Ooijen, 1995)を用いて算出した。

結果および考察

1. ピワの果肉色の遺伝

交雑によって得られたF₁集団における果肉色の分離を第1表に示した。黄白色タイプ品種同士の交雑組合せから得られたF₁個体は、すべてもしくはほとんどの個体が黄白色タイプであった。橙黄色タイプ × 黄白色タイプまたは黄白色タイプ × 橙黄色タイプの品種間の交雑では、12組合せ中、6組合せから得られたF₁個体すべてが橙黄色タイプであった。残りの6組合せ中、‘長崎早生’ × ‘広東’の組合せを除いた5組合せから得られたF₁個体は、橙黄色タイプと黄白色タイプが1:1に分離するという仮定に適合した。橙黄色タイプ品種同士の交雑では、16組合せ中、9組合せから得られたF₁個体は橙黄色タイプであった。残りの7組合せから生じたF₁個体については、橙黄色タイプと黄白色タイプが3:1の割合で出現するという仮定に5%レベルで適合した。

以上の交雑試験の結果から、橙黄色タイプは黄白色タイプに対し、優性であり、橙黄色を支配する遺伝子をCaとした場合、橙黄色タイプ品種はCa/CaまたはCa/ca、黄白色タイプ品種はca/caの遺伝子型を持つことと推定される。

2. ピワ主要品種の果肉色の遺伝子型の推定

各交雑組合せにおけるF₁個体の果肉色の分離状況からピワ主要品種の果肉色の遺伝子型を推定した。‘ゴールドナゲット’、‘大房’、‘涼風’、‘田中’、‘陽玉’および‘涼峰’の橙黄色タイプ品種と黄白色タイプ品種の交雑により得られたF₁個体は、‘陽玉’と‘白玉’の交雑で得られた2個体のF₁個体を除いてすべて橙黄色タイプであった。この交雑結果から、上記の橙黄色タイプ品種の遺伝子型は、Ca/Caと推定された(第2表)。「茂木」,「森尾早生」,「天草極早生」および「三和大果」の橙黄色タイプ品種と黄白色タイプ品種の交雑により得られたF₁個体は、橙黄色タイプと黄白色タイプが1:1の割合で分離したことから、これらの橙黄色タイプ品種の遺伝子型は、Ca/caと推定された。さらに、「長崎早生」の遺伝子型は、「長崎早生」 × ‘広東’の組合せで1:1に分離する仮定に適合しなかったが、他の黄白タイプ品種との交雑組合せにおいて1:1の分離に適合しているため、Ca/caと推定しても問題ないと考えられた。橙黄色タイプ品種同士の交雑において、3:1で分離する組合せの交雑親である‘浜口’、‘森部’、‘森保’、‘山崎’および‘シャンパン’の遺伝子型は、Ca/caと推定した。また、‘福原早生’、‘森本’、‘室戸早生’および‘津雲’については、遺伝子型がCa/caと推定される「茂木」や「長崎早生」などの品種と交雑した場合に、そのF₁個体のすべてあるい

Table 1 Segregation of flesh color in progenies.

Cross		No. of seedlings	Observed frequency		Expected ratio	χ^2
♀	♂		Yellowish orange	Whitish yellow		
Whitish yellow × Whitish yellow						
<i>Guangdong^z (ca/ca^y)</i>	<i>Nagasaki No. 2 (ca/ca)</i>	44	0	44	0 : 1	—
<i>Guangdong (ca/ca)</i>	<i>Shiromogi (ca/ca)</i>	50	0	50	0 : 1	—
<i>Guangdong (ca/ca)</i>	<i>Toi (ca/ca)</i>	45	1	44	0 : 1	—
<i>Shiromogi (ca/ca)</i>	<i>Shiromogi (ca/ca)</i>	33	1	32	0 : 1	—
Yellowish orange × Whitish yellow or Whitish yellow × Yellowish orange						
<i>Gold nugget (Ca/Ca)</i>	<i>Shiromogi (ca/ca)</i>	44	44	0	1 : 0	—
<i>Obusa (Ca/Ca)</i>	<i>Guangdong (ca/ca)</i>	43	43	0	1 : 0	—
<i>Reigetsu (ca/ca)</i>	<i>Ryouhou (Ca/Ca)</i>	45	45	0	1 : 0	—
<i>Suzukaze (Ca/Ca)</i>	<i>Reigetsu (ca/ca)</i>	41	41	0	1 : 0	—
<i>Tanaka (Ca/Ca)</i>	<i>Guangdong (ca/ca)</i>	29	29	0	1 : 0	—
<i>Yougyoku (Ca/Ca)</i>	<i>Baiyu (ca/ca)</i>	28	26	2	1 : 0	—
<i>Mogi (Ca/ca)</i>	<i>Toi (ca/ca)</i>	72	44	28	1 : 1	3.56 n.s. ^x
<i>Moriowase (Ca/ca)</i>	<i>Guangdong (ca/ca)</i>	30	17	13	1 : 1	0.53 n.s.
<i>Nagasakiwase (Ca/ca)</i>	<i>Guangdong (ca/ca)</i>	55	36	19	1 : 1	5.25 *
<i>Reigetsu (ca/ca)</i>	<i>Amakusagokuwase (Ca/ca)</i>	37	17	20	1 : 1	0.24 n.s.
<i>Shiromogi (ca/ca)</i>	<i>Nagasakiwase (Ca/ca)</i>	43	26	17	1 : 1	1.88 n.s.
<i>Shiromogi (ca/ca)</i>	<i>Sanwataika (Ca/ca)</i>	88	48	40	1 : 1	0.73 n.s.
Yellowish orange × Yellowish orange						
<i>Fukuharawase (Ca/Ca)</i>	<i>Nagasakiwase (Ca/ca)</i>	69	69	0	1 : 0	—
<i>Mogi (Ca/ca)</i>	<i>Morimoto (Ca/Ca)</i>	84	82	2	1 : 0	—
<i>Mogi (Ca/ca)</i>	<i>Murotowase (Ca/Ca)</i>	66	66	0	1 : 0	—
<i>Moriowase (Ca/ca)</i>	<i>Obusa (Ca/Ca)</i>	59	59	0	1 : 0	—
<i>Nagasakiwase (Ca/ca)</i>	<i>Fukuharawase (Ca/Ca)</i>	45	45	0	1 : 0	—
<i>Nagasakiwase (Ca/ca)</i>	<i>Gold nugget (Ca/Ca)</i>	40	40	0	1 : 0	—
<i>Obusa (Ca/Ca)</i>	<i>Mogi (Ca/ca)</i>	77	77	0	1 : 0	—
<i>Ryouhou (Ca/Ca)</i>	<i>Fukuharawase (Ca/Ca)</i>	47	47	0	1 : 0	—
<i>Tsukumo (Ca/Ca)</i>	<i>Champagne (Ca/ca)</i>	114	113	1	1 : 0	—
<i>Hamaguchi (Ca/ca)</i>	<i>Mogi (Ca/ca)</i>	45	30	15	3 : 1	1.67 n.s.
<i>Mogi (Ca/ca)</i>	<i>Moribe (Ca/ca)</i>	66	49	17	3 : 1	0.02 n.s.
<i>Mogi (Ca/ca)</i>	<i>Moriyasu (Ca/ca)</i>	25	19	6	3 : 1	0.01 n.s.
<i>Mogi (Ca/ca)</i>	<i>Yamasaki (Ca/ca)</i>	70	58	12	3 : 1	2.31 n.s.
<i>Moribe (Ca/ca)</i>	<i>Mogi (Ca/ca)</i>	45	32	13	3 : 1	0.36 n.s.
<i>Nagasakiwase (Ca/ca)</i>	<i>Champagne (Ca/ca)</i>	29	25	4	3 : 1	1.94 n.s.
<i>Yamasaki (Ca/ca)</i>	<i>Mogi (Ca/ca)</i>	35	29	6	3 : 1	1.15 n.s.

^z Flesh color of cultivars shown in italics is whitish yellow.^y Putative genotype for flesh color of loquats.^x χ^2 values indicate fit to the expected ratio (3 : 1 or 1 : 1). Distorted segregation is determined by χ^2 test: n.s. = not significant, * = significant at P = 0.05.**Table 2** Putative genotype for flesh color of loquat based on the crossing test.

Phenotype	Genotype	Cultivar
Yellowish orange	<i>Ca/Ca</i>	Fukuharawase, Gold nugget, Morimoto, Murotowase, Obusa, Ryouhou, Suzukaze, Tanaka, Tsukumo, Yougyoku
Yellowish orange	<i>Ca/ca</i>	Amakusagokuwase, Champagne, Hamaguchi, Mogi, Moribe, Moriowase, Moriyasu, Nagasakiwase, Sanwataika, Yamasaki
Whitish yellow	<i>ca/ca</i>	Baiyu, Guangdong, Nagasaki No. 2, Reigetsu, Shiromogi, Toi

はほとんどが橙黄色タイプ個体であったことから、遺伝子型を *Ca/Ca* と推定した。一方、黄白色タイプ品種の遺伝子型は、*ca/ca* と推定された。

3. 果肉色に連鎖する RAPD マーカーの開発とその有効性

合計 280 種類のオペロンプライマーを供試して、橙黄色タイプおよび黄白色タイプのバルクサンプル間で多型を示す増幅断片をスクリーニングしたところ、28 プライマーにおいて 28 種類の多型を示す増幅断片が検出された。さらに、それらの増幅断片について‘麗月’と‘天草極早生’の交雑から得られた 37 の F₁ 個体を用いて果肉色タイプとの関係を調査した。その結果、OPH-01 プライマー (5'-GGTCGGAGAA-3') で増幅させる約 1.8 kbp の増幅断片 (OPH-01/1800 マーカー) と橙黄色タイプの果肉色を持つ F₁

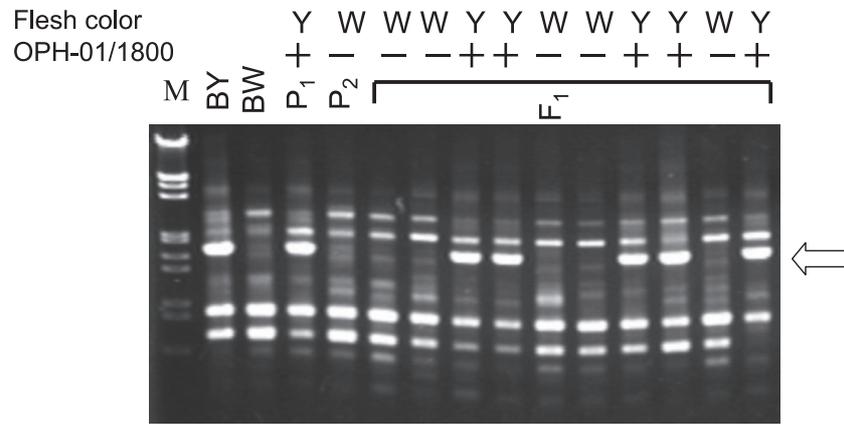


Fig. 1 RAPD patterns of parents and F₁ individuals obtained with OPH-01 primer. M: size marker (λ /HindIII • EcoRI). BY: Bulk sample with yellowish orange fruits, BW: Bulk sample with whitish yellow fruits, P₁: 'Amakusagokuwase', P₂: 'Reigetsu'. Yellowish orange or whitish yellow of loquat flesh color is denoted by Y or W, respectively.

Table 3 Linkage between flesh color phenotype (yellowish orange) and RAPD marker (OPH-01/1800) in the F₁ progenies of 'Reigetsu' (*ca/ca*) × 'Amakusagokuwase' (*Ca/ca*).

Phenotype (Genotype)	No. of plants	OPH-01/1800		Recombination ratio
		Present (+)	Absent (-)	
Yellowish orange (<i>Ca/ca</i>)	17	16	1	0.081 (6.7) ²
Whitish yellow (<i>ca/ca</i>)	20	2	18	

² LOD score is shown in parentheses.

個体間で相関がみられ、17個体の橙黄色タイプのうち、16個体でOPH-01/1800マーカーの増幅が確認された(第1図)。「麗月」×「天草極早生」のF₁集団を用いて連鎖解析を行った結果、OPH-01/1800マーカーは組換え価0.081、LODスコア6.7で*Ca*遺伝子と連鎖するマーカーであることが明らかとなった(第3表)。

OPH-01/1800マーカーによる橙黄色タイプの判別の有効性を検討するため、現場で保存している41品種・系統について、DNAマーカーと果肉色の適合性を調査した。「茂木」や「田中」など25の橙黄色タイプ品種では、OPH-01/1800マーカーの増幅が確認されたが(第4表)、「長崎早生」や「涼峰」(一瀬ら, 2007)等の7品種ではOPH-01/1800マーカーが増幅されず、供試した橙黄色タイプ品種のマーカー判別適合率は78%であった。一方、「白茂木」および「麗月」など供試した黄白色タイプ品種のすべてにおいて、マーカーが増幅せず、果肉色と一致した。マーカーの増幅と果肉色タイプが不一致の7品種のうち、「大房」(岩崎, 1967)、「涼峰」, 「長生早生」(下司, 1981)および「室戸早生」の来歴は、「楠」(Nesumi, 2006)に由来していることから、OPH-01/1800マーカーがこれらの品種で増幅されない原因は、「楠」に起因している可能性があると考えられた。残りの、「長崎早生」および「シャンパン」が欠失型となる原因については、プライマーサイトの塩基置換や、領域自体の

Table 4 Relationship between OPH-01/1800 and flesh color in loquat cultivars and strains.

Phenotype	OPH-01/1800	
	Present (+)	Absent (-)
Yellowish orange	Advance, Akko 1, Amakusagokuwase, Amakusawase, Fukuharawase, Fusahikari, Gold nugget, Hamaguchi,	Champagne, Kusunoki, Murotowase, Nagasakiwase, Nagaowase, Obusa,
	Ikeda, Mogi, Moribe, Morimoto, Moriowase, Moriyasu, Nishiyama, Nojuwase, Sanwataika, Suzukaze, Tanaka, Taisho, Togoshi, Tsukumo, Yefuda, Yougyoku, Zikim	Ryouhou
		Baisha, Baiyu, Biqibai, Guangdong, Reigetsu, Shiromogi, Suzhoubai, Togitsushiro, Toi
	Whitish yellow	—

欠失等が考えられ、今後、プライマー部位や近傍領域の塩基配列を解析し、検証していく必要がある。

OPH-01/1800マーカーは、一部の橙黄色タイプの品種・系統へ適用できないため、選抜マーカーとして育種へ利用する際には注意が必要であり、現在、マーカーの高度化に向けて、汎用性の高いSTS (Sequence Tagged Site) マーカーへ変換する作業を進めている。

以上のことから、幼若期の長いビワの果実形質の一つである果肉色の遺伝様式の解明とその形質に連鎖するRAPDマーカーを開発した。OPH-01/1800マーカーを用いることにより、発芽間もない実生であってもカロテノイド含有量の指標となる橙黄色タイプの個体を容易に選抜することができ、DNAマーカー選抜による効率的な育種の推進が期待される。

摘 要

ビワの果肉色の遺伝様式を解明するために、32 組合せから 1,643 の F₁ 個体を育成し、果肉色の分離様式を調査した。黄白色タイプの品種同士の交雑後代では、黄白色タイプ個体のみが出現し、橙黄色と黄白色タイプの品種間の交雑後代では、すべてが橙黄色タイプ個体の組合せと橙黄色または、黄白色タイプ個体が 1:1 で出現する組合せが存在した。橙黄色タイプの品種間の交雑後代では、すべてが橙黄色タイプ個体の組合せまたは、橙黄色および黄白色タイプ個体が 3:1 の割合で分離する組合せが存在した。以上の結果から、橙黄色を支配する遺伝子は黄白色を支配する遺伝子に対して優性であることが明らかとなった。橙黄色を支配する遺伝子を *Ca* と命名し、橙黄色タイプ品種は *Ca/Ca* もしくは *Ca/ca*、黄白色タイプ品種は *ca/ca* の遺伝子型を持つと推定された。バルク法により 280 種類のオペロンプライマーを供試して、果肉色と連鎖するマーカーの探索を行った結果、‘麗月’ × ‘天草極早生’ の F₁ 集団において *Ca* 遺伝子と組換え価 0.081 (LOD 値 6.7) で連鎖する RAPD マーカー (OPH-01/1800) を取得した。OPH-01/1800 マーカーは、供試した橙黄色品種の 78%、黄白色タイプ品種の 100% において果肉色タイプと一致し、マーカー選抜による効率的な育種の推進が可能となった。

引用文献

- Connors, C. H. 1919. Some notes on the inheritance of unit characters in the peach. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 16: 24-36.
- Crane, M. B. and W. J. C. Lawrence. 1933. Genetical studies in cultivated apples. *J. Genet.* 28: 265-296.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bul.* 19: 11-15.
- 福田伸二・稗圃直史・山本俊哉・寺井理治・根角博久. 2005. ビワがんしゅ病抵抗性遺伝子 (*Pse a*) と連鎖する DNA マーカーの開発. *園学雑.* 74: 345-349.
- 一瀬 至・森田 昭・橋本基之・寺井理治・浅田謙介・中尾 敬・吉田俊雄・富永由紀子・長門 潤・稗圃直史・佐藤義彦・福田伸二・根角博久. 2007. 涼峰. 品種登録15019.
- 岩崎藤助. 1967. ビワ新品種「大房」について. *園試報.* B7: 23-27.
- Kon, M. and R. Shimba. 1988. Cultivar difference of carotenoids in loquat fruits. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 35: 423-429.
- Michelmore, R. W., I. Paran and R. V. Kesseli. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance gene by bulked segregant analysis; A RAPD method to detect markers in specific genomic regions by using segregation populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 9828-9832.
- Nesumi, H. 2006. Loquat (Biwa). p. 85-95. *Horticulture in Japan 2006.*
- Olson, J. A. 1989. Provitamin-A function of carotenoids: the conversion of β -carotene into vitamin-A. *J. Nutr.* 119: 105-108.
- 下司長生. 1981. 長生早生. 品種登録116.
- Stam, P. and J. W. Ooijen. 1995. JoinMap version 3.0: software for the calculation of the genetic linkage maps. CPRO-DLO, Wageningen.
- 寺井理治・稗圃直史・福田伸二・長門 潤・佐藤義彦・浅田謙介・森田 昭・中尾 敬・富永由紀子・一瀬 至・吉田俊雄・橋本基之. 2007. ビワ新品種 ‘麗月’. *長崎果試研報.* 10: 1-13.
- Yano, M., M. Kato, Y. Ikoma, A. Kawasaki, Y. Fukazawa, M. Sugiura, H. Matsumoto, Y. Oohara, A. Nagano and K. Ogawa. 2005. Quantitation of carotenoids in raw and processed fruits in Japan. *Food Sci. Technol. Res.* 11: 13-18.