

# 芒果種原親緣關係分析<sup>1</sup>

石佩玉<sup>2</sup>、林靖珩<sup>3</sup>、林彥蓉<sup>3</sup>、張錦興<sup>2</sup>

## 摘 要

石佩玉、林靖珩、林彥蓉、張錦興。2024。芒果種原親緣關係分析。臺南區農業改良場研究彙報 84：22-36。

為了解本場蒐集之育種材料及後代品系間之親緣關係，本試驗利用 two-enzyme genotyping by sequencing 方法探勘芒果全基因體之單一核苷酸多型性 (single-nucleotide polymorphism, SNP)，共計探勘了 142,882 個 SNP 變異位點，經由篩選和刪節後保留 6,375 個 SNP 進行族群分群及建立親緣樹。當族群分群為兩群時 ( $k = 2$ )，美國品種與其後代及臺灣自行選育品種多在同一族群，東南亞品種及其他國家蒐集品種多在另一個族群。透過親緣樹上相對位置可了解品種間之遺傳歧異度，過去因植株及果實特徵相似，被懷疑是否為同一品種 (系) 之材料亦可藉由親緣樹位置遠近幫助釐清「同物異名」之可能性，種原親緣關係分析有助於未來育種工作進行與應用。

**現有技術：**芒果品種繁多，越來越多新興品種育成，但傳統以外表型分類而未知其親緣關係。

**創新內容：**利用 two-enzyme genotyping by sequencing 方法探勘芒果全基因體之 SNP 並建立親緣樹。

**對產業影響：**釐清芒果「同物異名」之品種及了解親緣關係有利未來育種工作進行。

**關鍵字：**芒果、單一核苷酸多型性、親緣樹

接受日期：2024 年 3 月 22 日

---

1. 農業部臺南區農業改良場研究報告第 574 號。

2. 農業部臺南區農業改良場助理研究員、研究員兼科長。712009 臺南市新化區牧場 70 號。

3. 國立臺灣大學農藝學系碩士及教授。

## 前 言

芒果 (*Mangifera indica* L.) 為原產印度東北與緬甸交界的熱帶果樹，印度栽培有 4,000 多年之久，原生的芒果果實較小且果肉少，較為原始的芒果至今仍然存在於印度東北部及安達曼群島 (Andaman Islands, 位於印度和東南亞之間的群島)<sup>(23)</sup>。經人為栽培選育後育成具果實較大、果肉較多之特性的品種，由於印度東北部之果實大小及果形較為多元，因此學者認為早期人為選育應該發生在此地<sup>(23)</sup>。傳統上依據胚性及地區，可將芒果區分為印度型 (Indian type) 及中南半島型 (Indo-Chinese type) 兩種，印度型芒果分布於亞熱帶地區，果形較圓，果皮顏色紅、黃色均有，種子為單胚特性 (monoembryonic seed)，每個種子中僅有配子結合產生的有性胚；中南半島型芒果分布於熱帶地區，果形常為長形且扁平，果皮顏色常為綠或黃色，種子為多胚特性 (polyembryonic seed)<sup>(10)</sup>。雖然西印度沿岸也有發現少數多胚品種，但學者分析其遺傳背景，認為西印度沿岸之多胚品種並非起源於印度，應該是由東南亞傳入<sup>(18)</sup>。

隨著歐洲 15 ~ 16 世紀地理大發現，芒果逐漸傳至世界各處，葡萄牙人將芒果由印度傳至非洲，再由非洲傳至巴西，但也有學者認為非洲的芒果可能在更早期，約 10 世紀時即由波斯和阿拉伯路線傳入<sup>(23)</sup>。隨著太平洋航線的發展，西班牙人將菲律賓的多胚品種帶入墨西哥和巴拿馬地區<sup>(22)</sup>，源自於菲律賓的 'Carabao' 和墨西哥傳統栽培品種 'Manila' 應該是一樣的品種<sup>(22)</sup>。直到 1861 年，芒果引進至美國佛羅里達州，其中包含多胚品種 'No.11' 及 'Peach'<sup>(15,16)</sup>，早年引入佛羅里達州之芒果品種大多不具商業價值，僅自印度引入之單胚品種 'Mulgoba' 品種有小規模經濟栽培。1910 年，由 'Mulgoba' 選育出 '海頓' ('Haden')，'海頓' 由母本為單胚之 'Mulgoba' 和父本為多胚之 'Turpentine' 雜交實生選育而成，其比起純印度型血統的芒果擁有更多元的遺傳背景，'海頓' 較大的果實和紅暈的果色，較親本擁有更佳之商業特性，隨即成為佛羅里達州重要之育種親本，'Lippens'、'Tommy Atkins'、'Osteen'、'吉祿' 均為 '海頓' 之後代，臺灣重要栽培品種 '愛文' 為 'Lippens' × '海頓' 實生選育而來<sup>(24)</sup>。美國佛羅里達州自 20 世紀初由菲律賓、柬埔寨、印度、越南、泰國、以色列等地引入多元種原雜交，讓佛羅里達州成為芒果品種歧異度之第二種原中心<sup>(15)</sup>。

臺灣芒果栽培品種皆為外來引進，臺灣不具野生種及其近緣種<sup>(4)</sup>，隨著人文歷史發展，自國外陸續引種後發展本地之育種工作。最早引進的芒果為荷蘭人在臺灣期間由南洋與華南地區引進之土芒果，包含 '香檳'、'柴檳'、'肉檳'、'牛檳'、'花蓮檳'、'柿果檳' 等品種，統稱為土芒果、本地種或土檳，經過多年栽培馴化後，市面上以 '柴檳' 較常見。接著日本在臺灣期間，自印度與東南亞引進 33 個品種進行試種，目前僅剩 '懷特' (俗稱 '香蕉檳' 或 '象牙檳')、'黑香'、'卓安南' 等品種尚有少量種植。1954 年後陸續自美國等國引進約 40 個品種，包含 '愛文'、'海頓'、'凱特'、'聖心'、'吉祿' 等<sup>(6)</sup>，因 '愛文' 皮紅豔麗且產量穩定，成為臺灣現今芒果栽培之主力品種。早期引種為臺灣芒果育種工作儲備基礎量，自 1980 年起國內自行選育風氣盛行，不論民間或公家單位，均陸續推出新興品種，包含 '金煌'、'玉文'、'農民黨一號'、'金興'、'金蜜'、'西施'、'臺農一號'、'臺農二號'、'高雄三號-夏雪'、'高雄四號-蜜雪'、'臺中一號' 等，各具優點及特色，供果農種植選擇。

臺灣芒果種原越來越豐富與多樣化，雜交與實生選育是品種改良的主要方式<sup>(4)</sup>，種原特性的掌握有利於育種工作的進行。臺灣過去也有進行芒果種原特性及親緣關係分析，大多利用 random amplified polymorphic DNA (RAPD) 技術方式將品種進行分群<sup>(1,5)</sup>。近年由於次世代定序 (next-generation sequencing, NGS) 普及，帶動各種高通量基因型判定技術 (high-

throughput genotyping) 的發展，得以開發分布在全基因體的大量單一核苷酸多型性 (single-nucleotide polymorphism, SNP)，並提供更高解析度的結果，臺灣大學利用試驗單位保存及田野採集之 476 個芒果收集品種 (系)，透過 genotyping-by sequencing (GBS) 方法探勘 198,602 個單一核苷酸多型性 (single nucleotide polymorphism, SNP)，經由定序深度、缺值率及次等位基因頻率 (minor allele frequency, MAF) 之篩選，與連鎖失衡 (linkage disequilibrium) 位點之刪節，可保留 2,356 個 SNPs，透過收集系之間的 identity-by-descent (IBD) 可辨識出 14 個同物異名 (synonym) 及 10 個異物同名 (homonym) 組合，並可將族群結構分析劃分為兩個次族群：一群主要為美國商業品種及多數臺灣品種，另一群種原來源較為廣泛，以東南亞地區品種為主<sup>(2)</sup>。本研究針對本場提供之 100 個芒果品種及育種材料，單獨進行 SNP 探勘及親緣分析工作，以了解本場育種材料之親緣關係，有助於未來育種工作進行。

## 材料與方法

以本場蒐集之芒果品種及育種材料 (實生後代) 共 93 個及本場行道樹 (東經 120.340177，北緯 23.061306) 之土芒果 7 個樣品為試驗材料，本場育種實生後代以收種代號呈現，國外收集種原若有確認引進國家來源、但不確定品種名稱者以國家名稱加上編號註記，試驗材料資訊詳如表 1。將取樣之芒果新鮮葉片破碎為數片後乾燥，用約葉片十倍重量之矽膠乾燥劑 (SiO<sub>2</sub>) 一起放入密封夾鏈袋中完全乾燥<sup>(9)</sup>，乾燥的芒果葉片以 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN，德國) 試劑組萃取基因體 DNA (genomic DNA)。

表 1. 本研究使用之芒果品種 (系) 及其來源與胚性

Table 1. The name, origin and embryo type of mango cultivars (or line) used in this study

No. Cultivar or line	Origin and embryo type	No. Cultivar or line	Origin and embryo type
1 愛文 Irwin	美國—佛羅里達， Lippens × 海頓，單胚	12 金文	臺灣，多胚
2 金煌	在臺育成，懷特 × 凱特， 單胚	13 蜜欖	臺灣，多胚
3 凱特 Keitt	美國—佛羅里達， 單胚	14 黑香 Aroemanis; Harum manis	印尼引進，多胚
4 金興	臺灣， 母本為凱特，單胚	15 玉林	臺灣，多胚
5 紅凱特	臺灣，單胚	16 杉林	臺灣，單胚
6 聖心 Sensation	美國—夏威夷，單胚	17 臺農 1 號	臺灣，單胚
7 紅龍	臺灣，單胚	18 收種 1	臺灣
8 大文	臺灣，單胚	19 貴妃 (神)	臺灣，單胚
9 懷特	印度，多胚	20 海頓 Haden	美國—佛羅里達，單胚
10 玉文	臺灣，單胚	21 慢愛文	臺灣，單胚
11 文心	臺灣，單胚	22 Tommy Atkins	美國，單胚

表 1. 本研究使用之芒果品種 (系) 及其來源與胚性 (續)

Table 1. The name, origin and embryo type of mango cultivars (or line) used in this study (continued)

No. Cultivar or line	Origin and embryo type	No. Cultivar or line	Origin and embryo type
23 Kent	美國—佛羅里達， Brooks × Haden，單胚	52 卓安南	泰國，多胚
24 泰國收種 1	泰國，單胚	53 Ahping Ah ping	美國—夏威夷，單胚
26 臺農 2 號	臺灣，單胚	54 越南種 (竹葉)	越南，多胚
27 Edward	波多黎各或美國—南佛羅 里達	55 收種 5	臺灣，單胚
28 金蜜	菲律賓，單胚	56 貴妃 (人)	臺灣，單胚
29 泰國收種 2	泰國，單胚	57 西施	臺灣，單胚
30 泰國收種 3	泰國，單胚	58 長香	臺灣
31 蜜煌	同編號 89 本場品系， 多胚	59 壘中	臺灣，多胚
32 Bonsui		60 越南收種	越南，多胚
33 蘋果文	臺灣，單胚	61 尼加拉瓜收種	尼加拉瓜，多胚
34 紅象牙	臺灣，單胚	62 廣東番禺	多胚
35 收種 2	臺灣，單胚	63 收種 6	臺灣，單胚
36 木瓜芒		64 收種 7	臺灣
37 國煌	臺灣	65 收種 8	臺灣，單胚
38 肯生 Kensington Pride	源自澳大利亞，臺灣由美 國夏威夷引進	66 塞內加爾收種	塞內加爾，多胚
39 泰國收種 4	泰國，多胚	67 香檳	臺灣，多胚
40 收種 3	臺灣，單胚	68 收種 9	臺灣
41 Alphonso	印度	69 墨西哥收種	墨西哥，多胚
42 泰國收種 5	泰國	70 南非收種	南非，多胚
43 紅金剛	臺灣，多胚	71 收種 10	臺灣，多胚
44 大益利 Dasher; Aman Dusehri	源自印度，臺灣由美國夏 威夷引進，單胚	72 秋香	臺灣，單胚
45 白象牙	白象牙果實的實生苗	73 TN94012	
46 O.K. ronh Okrong; Okrung	泰國，多胚	74 TN94005	多胚
47 收種 4	臺灣，單胚	75 巴基斯坦收種	巴基斯坦
48 瑞文	臺灣，多胚	76 臺中 1 號	臺灣，單胚
49 紅蘭	臺灣，單胚	77 玉文慢	臺灣，單胚
50 紅特	臺灣，多胚	78 印度收種	印度，單胚
51 農民黨 1 號	臺灣，愛文 × 懷特， 單胚	79 泰國收種 6	泰國，多胚

表 1. 本研究使用之芒果品種 (系) 及其來源與胚性 (續)

Table 1. The name, origin and embryo type of mango cultivars (or line) used in this study (continued)

No. Cultivar or line	Origin and embryo type	No. Cultivar or line	Origin and embryo type
80 夏雪	臺灣，單胚	92 Julie Saint Julian	
81 泰國收種 7- 南多邁 Nam Dok Mai	泰國，多胚	93 柿子	臺灣
82 泰國收種 8	泰國，多胚	94 1 × 79 後代	愛文 × 泰國收種 6 後代
83 東勢寮種	臺灣	95 1 × 30 後代	愛文 × 泰國收種 3 後代
84 加祿堂	臺灣，多胚	96 土芒果 1	多胚
85 林內紅肉 (偏土芒果)	臺灣，多胚	97 土芒果 2	多胚
86 Lippens	美國—佛羅里達， 母本為海頓，單胚	98 土芒果 3	(後經證實非土芒果)
87 Osteen	美國—佛羅里達， 母本為海頓，單胚	99 土芒果 5	多胚
89 收種 11	臺灣，單胚	100 土芒果 6	多胚
90 水蜜桃	臺灣，單胚	101 土芒果 7	多胚
91 蜜雪	臺灣，單胚	102 土芒果 8	多胚

試驗參考雙限制酶 two-enzyme genotyping by sequencing 方法建立簡化基因體定序文庫<sup>(13,25)</sup>，採用的限制酶為 *Pst*I 及 *Msp*I (New England Biolabs, 美國)，樣本之基因體 DNA 經由此兩個限制酶的酶切後，進行連接酶鏈結與聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 進行擴增及放大等反應，並將長度小於 300 bp 及大於 1 kb 之片段去除，完成定序文庫製備。次世代定序分析則委託中央研究院生物多樣性研究中心新世代基因體定序核心實驗室以 Illumina HiSeq 2500 平台之快速模式 (rapid-run mode) 定序 (Illumina, 美國)，定序文庫產出約 1.5 億條長度為 200 bp 之讀序後進行 SNP 基因型分析，使用的參考基因體是 Genome Assembly CATAS\_Mindica\_2.1 ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA\\_011075055.1/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_011075055.1/))。使用 ipyrad v0.9.50 處理讀序並識別 SNP (SNP calling)<sup>(11)</sup>；使用 vcflib 和 TASSEL v5.2.67 對 SNP 之定序深度、次等位基因頻率以及缺值率進行篩選<sup>(8,12)</sup>；使用 PLINK v1.90 刪節連鎖失衡之 SNP<sup>(26)</sup>；最後使用 TASSEL 篩除基因型缺值率過高之個體<sup>(8)</sup>，詳細文庫建立方法以及 SNP 探勘參見林靖珩碩士論文<sup>(2)</sup>。用 R 語言的 LEA 套件進行最小平方方法估計原始族群基因背景的比率，分別對原始族群數 (K) 進行 2 至 7 之分群，即 K = 2 ~ 7 之分析，分別估計每個個體的遺傳背景比率。

為建立親緣樹，使用 MEGA v10.0.5 將 SNP 位點轉換成 SNP 串接序列 (concatenated SNP sequence)<sup>(19)</sup>，接著使用 IQ-TREE v2.0.3 以內建的 ModelFinder 工具透過貝葉氏訊息準則 (Bayesian information criteria, BIC) 選擇具最低 BIC 者為最佳的 DNA 替代模型 (DNA substitution model)<sup>(14)</sup>，並以最大概度法 (maximum likelihood method) 在考量給定特定演化模型和拓樸 (topology) 下，選擇概度最大者為最佳的親緣樹<sup>(21)</sup>，親緣樹使用 iTOL v4 網站工具

視覺化<sup>(2,20)</sup>。

## 結果與討論

試驗結果於材料之間共計探勘 142,882 個 SNP 變異位點，經由篩選和刪節後保留 6,375 個 SNP，後續的親緣分析皆由此 6,375 個 SNP 資料進行分析。K 為我們預設的族群數目，K 由 2 至 7 之分析結果如圖 1，縱軸表示此個體的遺傳背景來自哪個族群，若單一顏色表示其遺傳背景來自同一族群，單一個體若有多個顏色表示其為混合的遺傳背景，從 K = 2 開始便能觀察到不同顏色族群內的品種(系)遺傳背景組成有所差異，K = 2 時，紅色占比較高的品種(系)大多為多胚品種，同時亦在親緣樹之左半邊為主(圖 2)；而藍色占比較高的品種(系)以單胚品種為主，多位於親緣樹之右半邊。當 K = 3 時，綠色占比較高的品種(系)多為南亞及東南亞國家如印度、泰國、越南、巴基斯坦引進之品種。隨著分群數目增加，在 K 由 2 至 7 分析時，皆可以觀察到土芒果聚集在一起(圖 1 - 實心箭頭)，具有獨特的遺傳背景，明顯與其他品種(系)區隔，而當將種原分至 6 至 7 群時，會發現‘廣東番禺’、‘壘中’、‘卓安南’、‘長香’ 4 個品種(圖 1 - 虛線箭頭)亦會成為一個獨特的遺傳背景，明顯區隔於其它品種。

透過親緣樹上相對位置可了解品種間之遺傳歧異度及親緣關係遠近，於親緣樹上可以發現單胚品種大多分布在親緣樹右半部位置，且多為美國引進品種及其後代；而多胚品種則多分布在左半部位置，多為東南亞引進品種，大致可對應右半部多為印度型(Indian type)後代而左半部多為中南半島型(Indo-Chinese type)兩大區分。此結果與 LEA 分析時，K = 2 的分群相近，也符合過往育種者對國內芒果親緣的認知。過去依據田間觀察，植株及果實特徵相似，被懷疑是否為同一品種(系)之試驗材料，若在親緣樹上分支位置相同，則極有可能為「同物異名」之情形，本試驗發現 3 組品種(系)為此情形：第一組為‘蜜煌’與代號「收種 11」之本場育種品系，收種 11 為本場民國 90 年代以愛文為後代開放授粉育成之品系，過去枝條曾遭竊，數年後在產區看到以‘蜜煌’為名稱之果實及苗株，觀察其植株與果實特性與當初育成之品系如出一轍，今利用分子生物方法，更加確信市售之‘蜜煌’極有可能為當年本場之育種品系。第二組為‘紅金剛’與‘紅特’，經種苗商口述得知‘紅特’原為‘玉文 5 號’，因其果實特別圓大而得名‘紅特’，農民慣用臺語發音，故又有人將其譯成‘紅竹’(‘特’與‘竹’臺語發音相近)，推測可能因其果實碩大之特性，而又被稱為‘紅金剛’。第三組為‘廣東番禺’、‘壘中’、‘卓安南’、‘長香’ 4 個品種，前三者植株性狀、果實樣態、胚性等特徵區別不大，確實可能為同種異名或為‘卓安南’之實生苗株，但‘長香’之果實特性明顯不同，後經觀察發現，本場之‘長香’嫁接在以‘卓安南’為砧木之植株上，且因砧木枝條長出，加上葉片採樣時期非結果期，故‘長香’樣品為誤採砧木‘卓安南’之葉片，故出現此結果。

‘愛文’及其為母本雜交之實生後代，在親緣樹上位置相近，代號為收種 2 及收種 11 為愛文實生後代(父不詳)、愛文及編號 30(泰國收種 3)為父本之人工授粉雜交後代、愛文及編號 79(泰國收種 6)為父本之人工授粉雜交後代，上述 4 個以‘愛文’為母本之實生後代均在與‘愛文’相近之區域。‘海頓’之實生後代‘Lippens’，‘金煌’之後代‘臺中一號’亦在其母本不遠之位置。但根據文獻，‘愛文’為‘Lippens’×‘海頓’之雜交後代，‘金煌’為‘懷特’×‘凱特’之雜交後代，但此兩個雜交組合之後代與其母本就沒有在鄰近之區域，可能由於後代經過雜交後產生之變異較大，故與母本距離位置較遠。

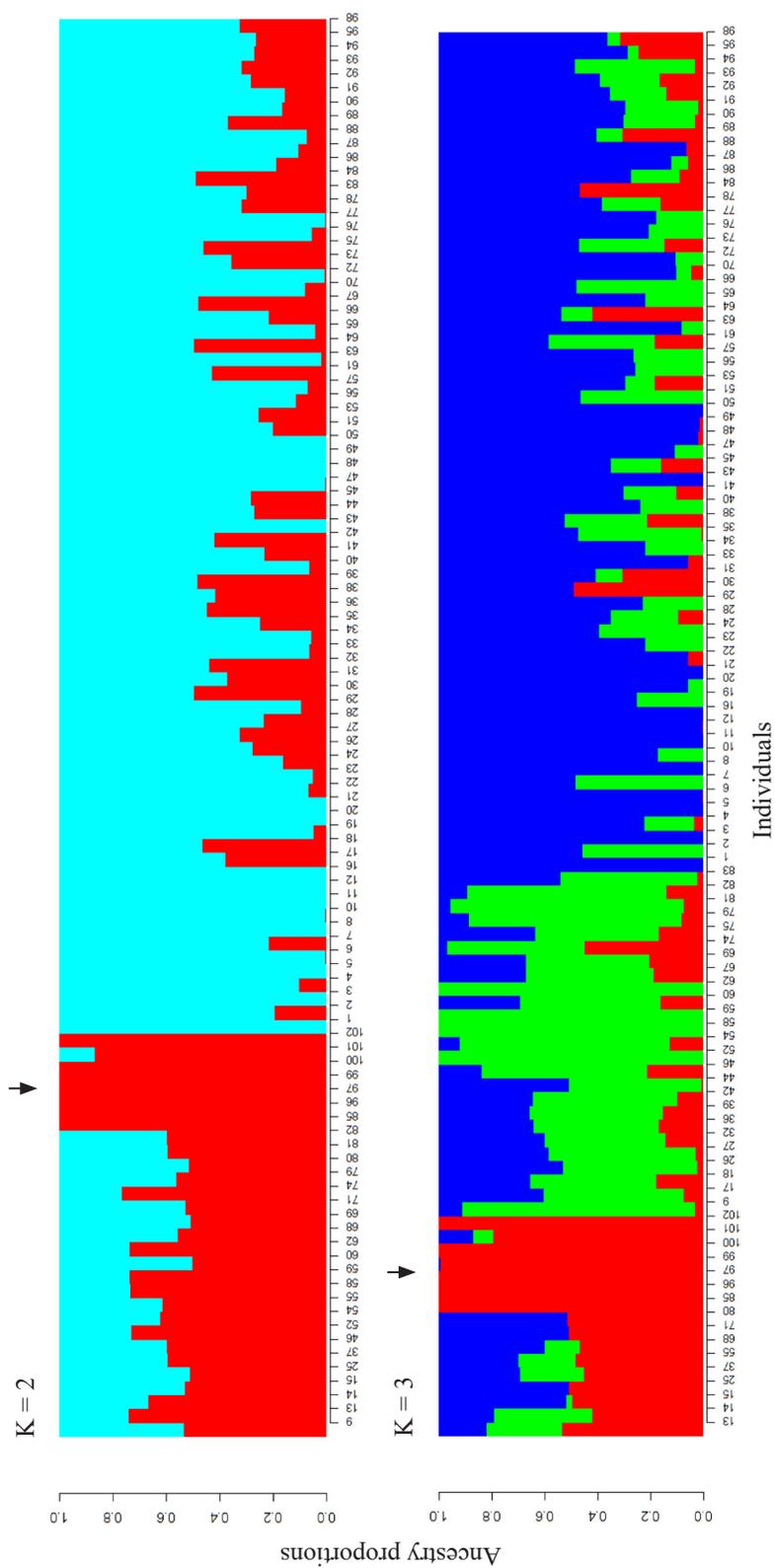


圖 1. 芒果品種 (系) 之遺傳背景比率分析

K 為我們預設的族群數目, K = 2 ~ 7 族群分析中每一長條之顏色表示一收集品種 (系) 之不同遺傳背景比率, 實心箭頭為土芒果, 虛線箭頭為 '廣東番禺'、'壘中'、'卓安南'、'長香' 4 個品種, 明顯與其它品種 (系) 有所區隔。

Fig. 1. Genetic background ratio analysis of mango cultivars (or line)

K represents the number of clusters defined by us, ranging from K = 2 to 7. In the cluster analysis, each color of the bars indicates a different genetic background ratio of the collected cultivars (or line). Solid line arrows represent 'Tsar-Swain', while dashed line arrows represent four varieties clearly distinct from other mango cultivars (or line).

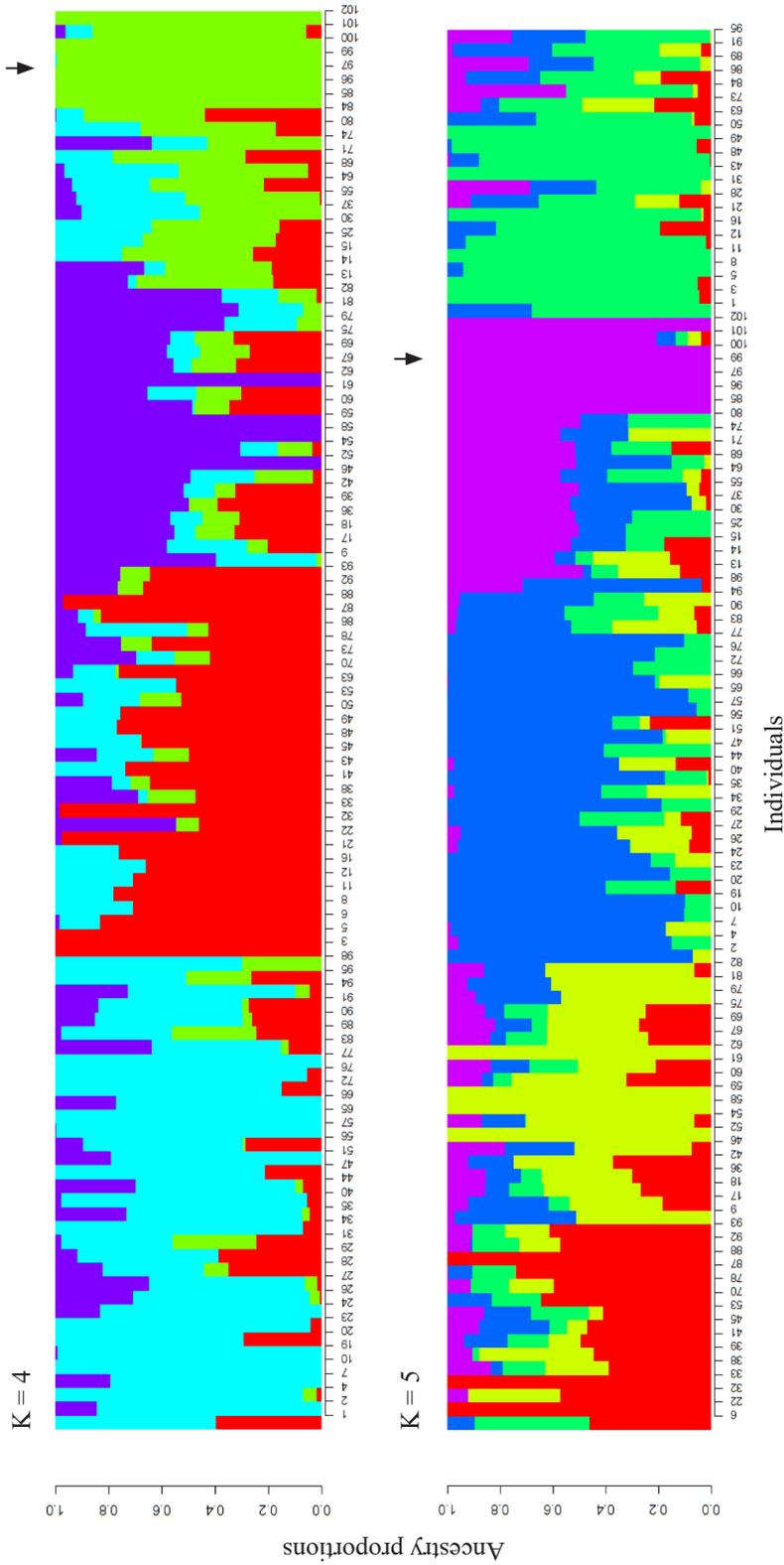


圖 1. 芒果品種 (系) 之遺傳背景比率分析 (續)

K 為我們預設的族群數目, K = 2 ~ 7 族群分析中每一長條之顏色表示一收集品種 (系) 之不同遺傳背景比率, 實心箭頭為土芒果, 虛線箭頭為 '廣東番禺'、'壘中'、'卓安南'、'長香' 4 個品種, 明顯與其它品種 (系) 有所區隔。

Fig. 1. Genetic background ratio analysis of mango cultivars (or line) (continued)

K represents the number of clusters defined by us, ranging from K = 2 to 7. In the cluster analysis, each color of the bars indicates a different genetic background ratio of the collected cultivars (or line). Solid line arrows represent 'Tsar-Swain', while dashed line arrows represent four varieties clearly distinct from other mango cultivars (or line).

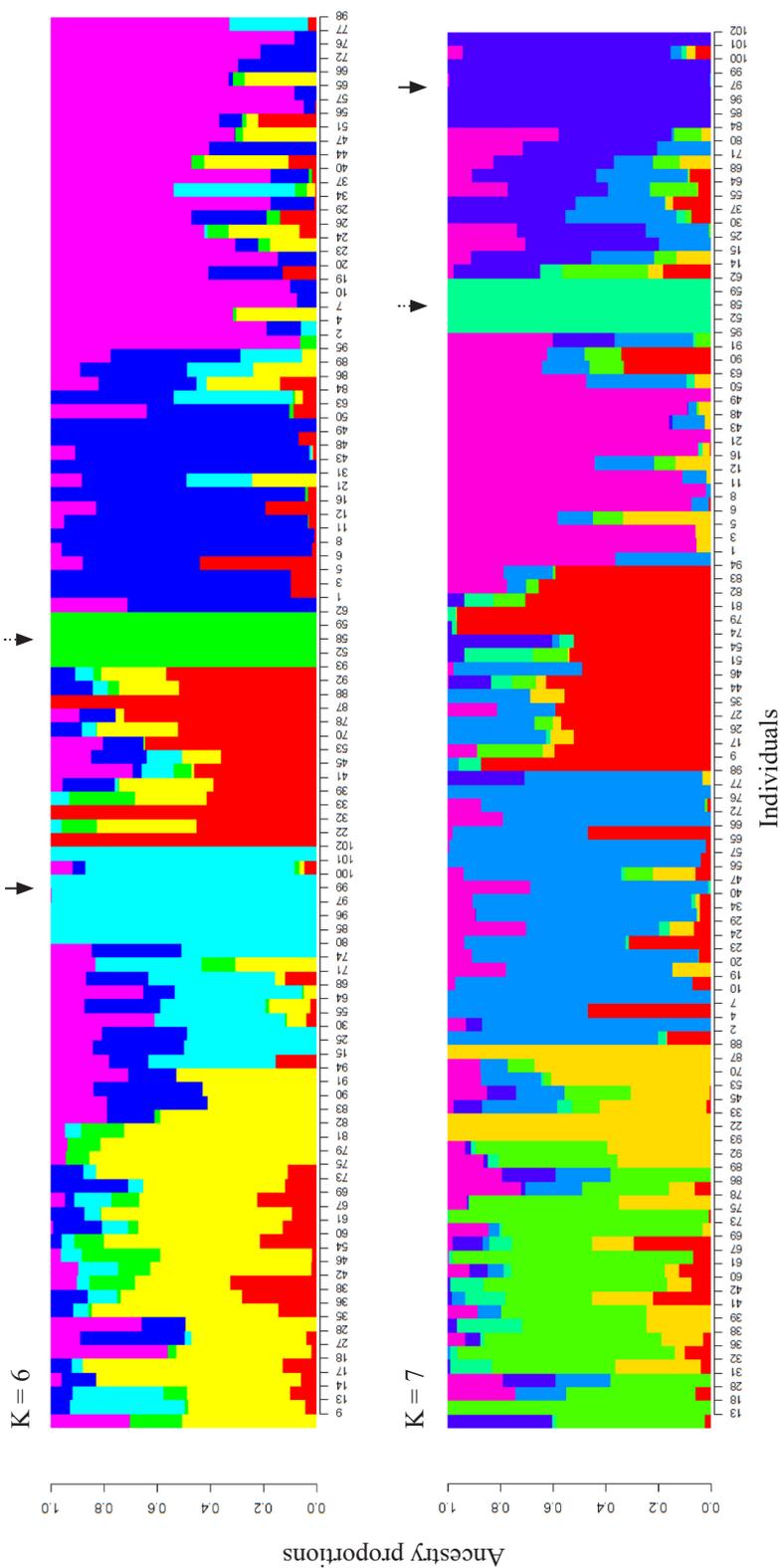


圖 1. 芒果品種 (系) 之遺傳背景比率分析 (續)

K 為我們預設的族群數目，K = 2 ~ 7 族群分析中每一長條之顏色表示一收集品種 (系) 之不同遺傳背景比率，實心箭頭為土芒果，虛線箭頭為 '廣東番禺'、'壘中'、'卓安南'、'長香' 4 個品種，明顯與其它品種 (系) 有所區隔。

Fig. 1. Genetic background ratio analysis of mango cultivars (or line) (continued)

K represents the number of clusters defined by us, ranging from K = 2 to 7. In the cluster analysis, each color of the bars indicates a different genetic background ratio of the collected cultivars (or line). Solid line arrows represent 'Tsar-Swain', while dashed line arrows represent four varieties clearly distinct from other mango cultivars (or line).





圖 3. 本研究使用之芒果品種 (系) 果實外觀

Fig. 3. The fruit appearance of mango cultivars (or line) used in this study

‘臺農 2 號’、‘大益利’、‘農民黨 1 號’、‘塞內加爾收種’、‘紅龍’、‘泰國收種 1’ 此區果實除‘大益利’外均為長形果(圖 3)，且果實大小相近，‘大益利’又名‘Dasher’或‘Aman Dusehri’，臺灣的‘大益利’雖自美國夏威夷引進，但此品種為源自印度的單胚品系，且根據早期文獻記載果形較長<sup>(17)</sup>，農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所保存之‘大益利’果形也與本場略有不同<sup>(3)</sup>，網路上關於‘大益利’的果實圖片也有不同樣態，但仍可見其長形果之身影，本場保存之‘大益利’由民間蒐集而來，是否為最初引進之嫁接植株或其實生後代無法得知，但或因其仍保存有相關之遺傳特性，在親緣樹上與果形相近之其他品種仍分布在鄰近之區域。

‘金興’、‘西施’、‘收種 8’果形均為長形且果皮轉色特性相近，套黑袋果實外觀呈現橘紅色；套白袋若在光照良好且「在穠紅」採收，可呈現紅色；套白袋但若光照不夠充足，紅色的花青素生成不足加上後期葉綠素代謝較慢，容易產生綠、黃、紅三色夾雜的狀況，部分品種如‘貴妃(神)’及‘玉文’果實轉色也有相似之特性。‘玉文’品種由玉井果農郭文忠先生育種而來，當初選育芒果果實 1 ~ 19 號等 19 個品種<sup>(7)</sup>，其中以‘玉文 6 號’品質最優，進行推廣，如今外界皆習慣以‘玉文’稱之，經種苗商口述早期‘玉文 10 號’又被稱為「慢玉文」，其品種特性與‘玉文 6 號’相近，但產期較晚，本場蒐集之玉文(慢)是否為‘玉文 10 號’無法考證，但其兩者在親緣樹上位置極其相近。‘杉林’、‘貴妃(人)’、‘聖心’、‘Alphonso’、‘Ahping’、‘Osteen’、‘南非收種’、‘Tommy Atkins’、‘蘋果文’此區域之果形大多偏圓，且果皮有紅色花青素產生。‘金文’、‘瑞文’、‘紅金剛’、‘紅特’、‘大文’、‘文心’、‘慢愛文’、‘紅蘭’、‘加祿堂’、‘紅凱特’、‘凱特’此區域之果實大多為中晚生品種，果實自然成熟期多在愛文之後。

利用本場原有之土芒果行道樹植株加入試驗分析，在此親緣樹上，本場 6 個土芒果樹單株及自林內蒐集之一個土芒果品種均無法被區分，坐落在同一位置，但編號 98 的「土芒果 3」不在此區域內，反而被歸類在與‘玉文’較相近之區域，經後續觀察，此植株確實非土芒果，其葉片及果實型態均明顯與土芒果不同，果皮細緻不似土芒果皮孔明顯且果形較圓，明顯與土芒果有所不同(圖 4)，此分析方法可將其在親緣樹上與其它土芒果區隔出來。‘TN94005’、‘蜜欖’、‘黑香’三者均具有明顯之「龍眼特殊風味」，亦被歸類在鄰近之分群。



圖 4. 編號 97 與 98 之芒果果實外觀

Fig. 4. The fruit appearance of mango No. 97 and No. 98

## 結 論

國外引種與地方品種蒐集均為獲得育種材料之重要方法，此試驗利用 two-enzyme genotyping by sequencing 方法探勘分布於芒果全基因體 SNP，將臺南場至今蒐集保存到之芒果種原進行遺傳歧異度分析，有效的釐清 3 組「同物異名」品種之名稱，及各品種間親緣關係之遠近，有利未來育種工作進行。

## 致 謝

試驗由本場及國立臺灣大學農藝學系共同完成，部分試驗資訊同為林靖珩先生碩士論文之一部分，感謝林靖珩先生與指導老師林彥蓉教授對本場芒果種原進行分子生物方式之親緣關係分析，讓本場對芒果種原特性有更深一層之了解，在此致上衷心謝忱！

## 引用文獻

1. 李文立、邱國棟、翁一司。2009。芒果種原親緣關係之研究。臺灣農業研究 58(4)：243-253。
2. 林靖珩。2021。以高通量 SNP 基因型分析臺灣芒果種原之遺傳歧異度。國立臺灣大學農藝學系碩士論文。臺北。
3. 邱國棟。2013。芒果品種介紹 (2)。園藝之友 159：25-27。
4. 邱輝龍、石家宇、邱國棟。2015。芒果 (*Mangifera indica* L.) 種原形態特性之調查與分析。臺灣農業研究 64(1)：64-73。
5. 黃士穎、張錦興、林冠宏。2012。以 RAPD 及 NBS 專一性引子擴增之 DNA 標誌探討芒果品種間之遺傳相似度。臺灣園藝 58(4)：285-294。
6. 張錦興、林棟樑。2004。金玉滿堂。農業世界 251：74-76。
7. 張錦興。2013。品種，p. 5-9。刊於：黃惠琳主編。芒果健康管理技術專刊 (臺南區農業改良場技術專刊 NO.156)。臺南區農業改良場。臺南。
8. Bradbury, P. J., Z. Zhang, D. E. Kroon, T. M. Casstevens, Y. Ramdoss, and E. S. Buckler. 2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23(19): 2633-2635.
9. Chase, M. W. and H. H. Hills. 1991. Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* 40(2): 215-220.
10. Crane, J. H., I. E. Bally, R.V. Mosqueda-Vazques, and E. Tomer. 2007. Crop production. In: R. E. Litz (ed.). *The mango 2nd Edition: botany, production and uses*. CABI Press, UK, p. 203-256.
11. Eaton, D. A. R. and I. Overcast. 2020. Ipyrad: Interactive assembly and analysis of RADseq datasets. *Bioinformatics* 36(8): 2592-2594.
12. Garrison, E. 2012. Vcfliib: A C++ library for parsing and manipulating VCF files. GitHub.
13. Iquebal, M. A., S. Jaiswal, A. K. Mahato, P. K. Jayaswal, U. B. Angadi, N. Kumar, N. Sharma,

- A. K. Singh, M. Srivastav, J. Prakash, S. K. Singh, K. Khan, R. K. Mishra, S. Rajan, A. Bajpai, B. S. Sandhya, P. Nischita, K. V. Ravishankar, M. R. Dinesh, A. Rai, D. Kumar, T. R. Sharma, N. K. Singh. 2017. MiSNPDb: a web-based genomic resources of tropical ecology fruit mango (*Mangifera indica* L.) for phylogeography and varietal differentiation. *Scientific Rpt.* 7(1): 14968.
14. Kalyaanamoorthy, S., B. Q. Minh, T. K. Wong, A. Haeseler, and L. S. Jermin. 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods* 14(6): 587-589.
  15. Knight, R. J. and R. J. Schnell. 1993. Mango introduction and evaluation in Florida and its impact on the world industry. *Acta Hort.* 341: 125-135.
  16. Knight, R. J. and R. J. Schnell. 1994. Mango introduction in Florida and the 'Haden' cultivar's significance to the modern industry. *Economic Bot.* 48(2): 139-145.
  17. Knight, R. J., R. J. Campbell and I. Maguier. 2009. Important mango cultivars and their description. In: R. E. Litz (ed.). *The mango 2nd Edition: botany, production and uses.* CABI Press, UK, p. 42-66.
  18. Kumar, N. N. H., P. Narayanaswamy, D. T. Prasod, G. k. Mukunda and S. N. Sondhu. 2001. Estimation of genetic diversity of commercial mango (*Mangifera indica* L.) cultivars using RAPD markers. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 76: 529-533.
  19. Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz and K. Tamura. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evolution* 35(6): 1547-1549.
  20. Letunic, I. and P. Bork. 2019. Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucl. Acids Res.* 47(W1): W256-W259.
  21. Minh, B. Q., H. A. Schmidt, O. Chernomor, D. Schrempf, M. D. Woodhams, A. Haeseler, and R. Lanfear. 2020. IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Mol. Biol. Evolution* 37(5): 1530-1534.
  22. Mukherjee, S. K. 1972. Origin of mango (*Mangifera indica*). *Economic Bot.* 26(3): 260-264.
  23. Mukherjee, S. K. and R. E. Litz, 2009. Introduction: Botany and Importance In: R. E. Litz (ed.). *The mango 2nd Edition: botany, production and uses.* CABI Press, UK, p.1-18.
  24. Olano, C. T., R. J. Schnell, W. E. Quintanilla, and R. J. Campbell. 2005. Pedigree analysis of Florida mango cultivars. *Proc. Florida State Hort. Soc.* 118: 192-197.
  25. Poland, J. A., P. J. Brown, M. E. Sorrells, and J. L. Jannink. 2012. Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *Plos One* 7(2): 32253.
  26. Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M. A. R. Ferreira, D. Bender, J. Maller, P. Sklar, P. I. W. Bakker, M. J. Daly and P. C. Sham. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Amer. J. Human Genet.* 81(3): 559-575.

# Studies on the genetic relationships of mango germplasms<sup>1</sup>

Shih, P. Y.<sup>2\*</sup>, C. H. Lin<sup>3</sup>, Y. R. Lin<sup>3</sup> and C. H. Chang<sup>2</sup>

## Abstract

In order to understand the genetic relationships among the mango breeding materials collected of Tainan District Agricultural Research and Extension Station, this study utilized the two-enzyme genotyping by sequencing method to explore single-nucleotide polymorphisms (SNPs) across the entire genome of mango. A total number of 142,882 SNP sites were identified, and the identified SNPs were filtered with analysis pipeline, 6,375 SNP sites were then retained and used for the population clustering and the phylogenetic tree construction. When the population is divided into two groups ( $k = 2$ ), American varieties and their descendants, as well as domestically bred varieties in Taiwan, tend to lie in the same cluster, while Southeast Asian varieties and those collected from the other countries in another distinct cluster. The relative positions on the phylogenetic tree provide insights into the genetic diversity among varieties. In the past, materials suspected of being the same variety due to similarities in plant and fruit characteristics can also be clarified regarding the possibility of being "synonyms" by examining their relative positions on the phylogenetic tree. The analysis of germplasm phylogenetic relationships is beneficial for mango breeding work.

### What is already known on this subject?

In the past, we differentiated varieties of mango depending on their phenotype, and didn't know the relationships between many new varieties.

### What are the new findings?

This study utilized the two-enzyme genotyping by sequencing molecular marker method to explore SNPs in the mango genome and constructed a phylogenetic tree.

### What is the expected impact on this field?

Clarifying mango varieties with synonyms and understanding their genetic relationships is beneficial for future breeding work.

**Key words:** Mango (*Mangifera indica* L.), SNP (single-nucleotide polymorphism), Phylogenetic tree

Accepted for publication: March 22, 2024

1. Contribution No. 574 from Tainan District Agricultural Research and Extension Station.
2. Assistant Researcher, Researcher and Chief of crop improvement division, respectively, Tainan District Agricultural Research and Extension Station. 70 Muchang, Hsinhua, Tainan 712009, Taiwan, R.O.C.
3. Master and Professor, respectively, Department of Agronomy, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C.

\* Corresponding author, Email: pyshih@mail.tndais.gov.tw.