

Mapeo Genético, Evaluación de Germoplasma y Desarrollo de Herramientas Genómicas para Acelerar el Mejoramiento Genético de Cultivares de Mango

Investigador Responsable: David N. Kuhn

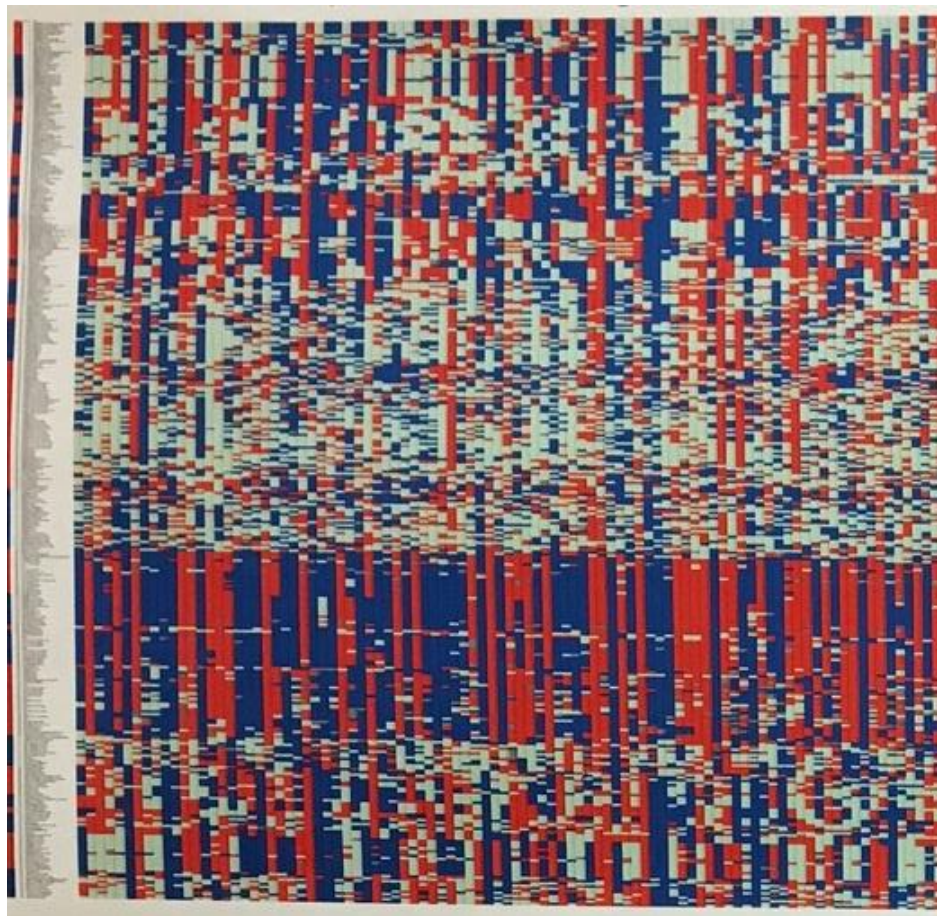
Biólogo Molecular

USDA-ARS Estación de Investigación de Horticultura

Subtropical

Miami, Florida

Julio 2017



RESUMEN

La genómica se refiere al estudio del genoma completo de un organismo de interés en lugar de estudiar genes individuales, características o procesos. La ventaja de la obtención del genoma de mango es que permitirá el uso extensivo de la información genómica que hay de otras plantas como *Arabidopsis*, arroz, maíz, vid, etc. La información genómica de otras plantas es muy útil porque las plantas comparten un grupo básico de genes, rutas metabólicas, reguladores transcripcionales, respuestas mediadas por hormonas y respuestas al estrés. El conocimiento sobre los atributos compartidos entre las plantas sugiere que es muy probable que los genes y las rutas bioquímicas serán similares en el mango. Para contribuir al conocimiento de los genomas de plantas, es necesario entender más sobre el mango mediante: la construcción de un mapa genético molecular a partir de polimorfismos de un nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés); genotipado de germoplasma de mango con los marcadores SNP mapeados para estimar la diversidad genética e identificación de nuevos progenitores o padres para los programas de mejoramiento y selección.

El árbol de mango (*Mangifera indica*) es un cultivo tropical/subtropical que produce una fruta deliciosa, y es importante desde el punto de vista económico y nutricional. La mayoría de los cultivares comerciales son seleccionados, es decir no son producto de programas de

mejoramiento genético. Para proveer herramientas más rápidas para el mejoramiento genético del mango, se utilizaron marcadores moleculares SNP para crear un mapa genético consenso que identificó los 20 grupos de ligamiento (cromosomas) en siete poblaciones de mapeo. Una característica importante en el mango es la poliembrionía, la cual se usa para propagación clonal de cultivares y patrones del cultivo. En cultivares de mango poliembrionicos, además del embrión cigoto, se desarrollan varios embriones apomíticos del tejido maternal que rodea el huevo fertilizado. En el mapa genético obtenido en esta investigación, esta característica se asoció con el grupo de ligamiento 8 y se validó en dos de las siete poblaciones de mapeo. Adicionalmente, se observó una asociación significativa entre la característica y los marcadores SNP para atributos vegetativos como el tipo de ramificación y las características de la floración, el color de la piel del fruto, la intensidad del rubor, la forma de la barba y el color de la pulpa en la fruta.

La determinación de la diversidad genética y la relación en el germoplasma disponible para el cultivo de mango es esencial para identificar a los progenitores genéticamente distantes con características hortícolas favorables para producir poblaciones híbridas para la selección de cultivares mejorados. Por esta razón, 911 individuos de *M. indica* y otras especies localizadas en bancos de germoplasma de Australia, Senegal, Tailandia y los Estados Unidos se genotipificaron con 384 marcadores SNP. Análisis de más de 730,000 datos genotípicos indicaron que esencialmente toda la diversidad genética en los mangos se ha capturado en las colecciones de germoplasma actuales y que es muy limitada en los cultivares comerciales. También fue posible detectar identificación incorrecta de especies de *Mangifera* en tales bancos de germoplasma y entre los progenitores utilizados en programas de mejoramiento y de selección. Los resultados obtenidos en esta investigación son la base para investigaciones futuras, por ejemplo, para la selección de progenitores más diversos tanto para el mejoramiento como para la selección de cultivares. Además se podrá realizar la identificación de cultivares de mango existentes y mejorados de una manera precisa y con base genotípica además de la fenotípica.

INTRODUCCIÓN

El Mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los cultivos más importante a nivel mundial debido al tamaño grande de sus frutas y la pulpa suave y dulce. La producción de mango ocupa el 5to. lugar entre todas las frutas, y el 2do. lugar, después del plátano, entre las frutas tropicales (Galán Sauco 2015). Un grupo subtropical en la India se caracteriza por su semilla monoembrionica y un grupo tropical en la región Sureste de Asia por su semilla poliembrionica (Mukherjee and Litz 2009).

El mango se ha cultivado ampliamente en la India y el Sureste de Asia durante miles de años. En los siglos XV y XVI, los comerciantes Portugueses y Españoles distribuyeron el mango a otras regiones tropicales y subtropicales del mundo (Litz 2009). A principios del siglo XX, algunos cultivares de la India y Asia se combinaron en un centro nuevo de desarrollo de mango en Florida, donde se seleccionaron muchos cultivares y se distribuyeron. Esos cultivares se seleccionaron con base en aroma y sabor más suaves, una piel más colorida y tamaño más grande de los frutos, de hecho son los principales cultivares utilizados a la fecha en el comercio a nivel internacional.

A la fecha, el mango se cultiva en más de 100 países en regiones tropicales y subtropicales con una producción total de 43.3 millones de toneladas (MT) en el 2013 (Galán Sauco 2015). La mayoría de la producción mundial proviene de Asia (76%), mientras que América (12%) ocupa el segundo lugar y África (11.8%) el tercer lugar. India es el mayor productor con 18 MT destinadas al consumo doméstico, seguido por China (4.5 MT), Tailandia (3.1 MT), Indonesia (2.6 MT) y México (1.9 MT) (Galán Sauco 2015). México ocupa el 5to. lugar en producción; sin embargo, tiene el primer lugar en exportación a los USA, que representa el 43% del mercado global de importación.

Alrededor del mundo hay cientos y posiblemente miles de cultivares y selecciones diferentes de mango, la mayoría de los cuáles solo se cultivan y comercializan localmente. Los cultivares que se comercializan a nivel internacional son pocos debido a los requisitos específicos para cultivares como un color favorable y características de almacenamiento y transporte deseables.

A la fecha, el desarrollo de herramientas genéticas y genómicas para el mango han sido limitadas y por lo tanto han contribuido muy poco al mejoramiento genético de éstos frutos a nivel mundial. Un mapa genético muy limitado fue producido por Kashkush et al. (2001) y no fue de la resolución requerida para la selección asistida por marcadores o asociación de características a los marcadores. En fecha reciente, una mapa de alta resolución fue producido por Luo, Shu et al. (2016) que puede ser más útil. Por otro lado, varios transcriptomas de diferentes tejidos de mango se produjeron (Pandit, Kulkarni et al. 2010, Azim, Khan et al. 2014, Luria, Sela et al. 2014, Wu, Jia et al. 2014, Dautt-Castro, Ochoa-Leyva et al. 2015, Sherman, Rubinstein et al. 2015). En 2016, Kuhn, Dillon et al. (2016) identificaron ~400,000 marcadores de polimorfismos de un nucleótido (SNP) usando un transcriptoma de 'Tommy Atkins' como referencia y ARN expresado de 17 cultivares con diversidad genética. Varios grupos han explorado la diversidad genética del mango usando una variedad de marcadores y todos han encontrado bases genéticas limitadas entre los cultivares comerciales cultivados y comercializados a nivel internacional (Schnell, Brown et al. 2006, Dillon, Bally et al. 2013, Sherman, Rubinstein et al. 2015). Se requiere de un número mayor de marcadores moleculares sin sesgo y de un mapa genético de alta resolución como herramientas moleculares esenciales para los genetistas de mango. Las bondades de la genómica dirigirán el futuro hacia el mejoramiento de cultivares de mango.

Los cultivares de mango comerciales, mejorados, actuales se seleccionan básicamente por polinización abierta de plántulas, posteriormente propagadas vegetativamente para mantener la uniformidad genética (Bally, Lu et al. 2009). La demanda continua de cultivares nuevos y mejorados con producción superior y factores de calidad es un reto para los mejoradores que se apoyan en técnicas tradicionales de mejoramiento. Los factores que limitan el progreso del mejoramiento tradicional de frutos de árboles son la fase juvenil larga, tiempo de generación largo, requerimientos de grandes áreas en el campo, así como el personal para mantener y evaluar las poblaciones híbridas. Además, los mejoradores de mango tienen la problemática de la alta heterocigocidad, tipo de embrión y bajos porcentajes de cruza (0.1%) de un gran número de flores por panícula, un alto índice de aborto de frutos, y una sola semilla por flor lo que resulta en un número bajo de frutos (0.1% de flores). Lo anterior resulta en una práctica de cruza manuales muy poco eficiente (Bally, Lu et al. 2009). Además, el conocimiento de la heredabilidad de características hortícolas en el mango es muy escasa o nula (Schnell, Brown et al. 2006). Finalmente, la falta de diversidad genotípica y fenotípica entre los cultivares comerciales puede reducir la eficiencia del mejoramiento si se continua usándolos como

progenitores. Las herramientas genómicas moleculares actuales tienen el potencial para estimar la diversidad genética, identificar marcadores asociados a rasgos hortícolas deseables e importantes, y en general, mejorar la eficiencia de los programas de mejoramiento genético.

En este proyecto, generamos un mapa genético consenso de mango, el cuál es una herramienta muy valiosa para mejorar la eficiencia y sobrepasar los retos de los programas de mejoramiento de mango. Usamos el mapa genético para identificar marcadores y regiones del genoma que se asocian con características hortícolas importantes como el tipo de embrión, tipo de ramificación, floración, color de la piel, intensidad del rubor, forma de la barba y color de la pulpa. Con 384 marcadores SNP realizamos genotipo de 10 bancos de germoplasma domésticos e internacionales para obtener una estimación exacta del germoplasma disponible de mango. También para identificar de manera correcta las colecciones de mango y mediante evidencia genética distinguir y clasificar las numerosas especies de mango.

OBJETIVOS

1. Producir un mapa genético de alta resolución para mango.

- Genotipificar 775 individuos de 7 poblaciones de mapeo con 1054 marcadores genéticos SNP.
- Producir un Mapa Genético de Alta Resolución con 20 grupos de enlace (LG).
- Asociar características agronómicas con regiones del mapa y los marcadores SNP.
- Mapear Poblaciones (primero progenitor hembra).

2. Tamizar todo el germoplasma de mango con marcadores genéticos para identificar árboles con características favorables y usar el genotipo en cruas de mejoramiento en el futuro.

- Seleccionar un subgrupo de 384 marcadores SNP distribuidos de manera uniforme en el mapa genético del mango que incluyen SNPs asociados con características hortícolas.
- Genotipificar 1911 individuos de bancos de germoplasma de todo el mundo con 384 marcadores SNP (>730,000 puntos de datos genotípicos).
- Estimar la diversidad genética en bancos de germoplasma a partir de datos genotípicos.

MATERIALES AND METODOS

Poblaciones de Mapeo:

Se utilizaron siete poblaciones para el mapeo y la construcción del mapa consenso (Tabla 1). Las cuatro poblaciones de Australia comparten el progenitor paternal, Kensington Pride (KP). Además, el cultivar progenitor maternal NMBP1243, de una de las poblaciones, es una progenie de Irwin (I) x KP población. La población Brasileña Haden (H) x Tommy Atkins (TA) comparten ambos padres con las poblaciones autopolinizadas de H y TA de la Estación de Investigación de Horticultura Subtropical (SHRS, por sus siglas en inglés). La población autopolinizada TA se obtuvo por germinación y genotipo de fruta de una huerta comercial sembrada solo con TA. La población autopolinizada H se obtuvo por germinación y genotipo de fruta de un árbol aislado en la SHRS.

Tabla 1. Número de progenie y los orígenes de siete poblaciones de mapeo híbridas usadas para obtener el mapa genético consenso de mango. En las poblaciones se nombró al progenitor maternal x progenitor paternal.

Nombre de la población	Número de individuos	Origen de la Población
Tommy Atkins x Tommy Atkins (TA x TA) (Autopolinizada)	60	USDA-ARS, SHRS, USA ¹
Tommy Atkins x Kensington Pride (TA x KP)	100	DAFQ, Australia ²
Haden x Tommy Atkins (H x TA)	225	Embrapa, Brazil ³
Haden x Haden (H x H) (Autopolinizada)	40	USDA-ARS, SHRS, USA ¹
Irwin x Kensington Pride (I x KP)	180	DAFQ, Australia ²
NMBP1243 x Kensington Pride (NMBP1243 x KP)	100	DAFQ, Australia ²
Creeper x Kensington Pride (Cr x KP)	70	DAFQ, Australia ²

¹ United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service, Subtropical Horticulture Research Station, United States of America

² Department of Agriculture and Fisheries, Queensland, Australia

³ Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa), Pernambuco, Brazil

Bancos de Germoplasma:

Hojas de cada árbol individual se colectaron en bolsas de papel marcadas. Las muestras internacionales se enviaron por mensajería rápida con las bolsas de papel o sobres en una hielera de polietileno con enfriadores.

Tabla 2. Bancos de germoplasma de Mango genotipificados.

Población	Estación	Localización	Número de Individuos
Germoplasma	SHRS ARS	Miami, FL	210
Germoplasma	Fairchild Tropical Botanical Garden	Miami, FL	109
Germinados de Policruzas	SHRS ARS	Miami, FL	386
Germoplasma	Zill private collection	Boynton Beach, FL	48
Germinados de polinización abierta	Zill private collection	Boynton Beach, FL	56
Germoplasma	Fruit and Spice Park	Homestead, FL	171
Germoplasma	SRS and WRS	Mareeba, Australia	685
<i>Mangifera laurina</i> híbridos	SRS and WRS	Mareeba, Australia	84
Germoplasma		Senegal	63
Germoplasma		Thailand	40
Germoplasma y otras especies	Florida International University (E. Warschefsky)	Miami, FL	59

		Total	1911
--	--	--------------	-------------

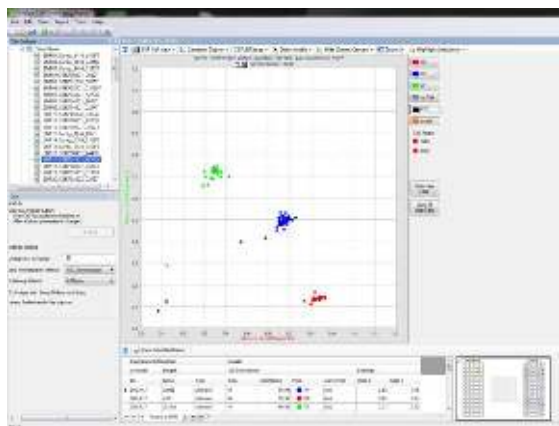
Secuencias de los SNP:

Las secuencias de los marcadores SNP provienen de tres fuentes diferentes: Department of Agriculture and Fisheries, Queensland (DAFQ, Australia), SHRS, USA and the Agriculture Research Organization (ARO), Israel (Tabla 2). Los marcadores SNP de la SHRS se obtuvieron como se describe por Kuhn et al. (2016). Los marcadores SNP de la ARO se identificaron según se describe por Sherman et al. (2015). Los marcadores SNP de la DAFQ se identificaron según Hoang et al. (2015).

Aislamiento de ADN:

El ADN para el genotipo se obtuvo de las hojas individuales de la progenie de las poblaciones de mapeo según Kuhn et al. (2016). El ADN se cuantificó por fluorescencia en un fluorómetro de placa (BioMark, Inc.) y se ajustó a 10 ng/uL en un robot de manejo de líquidos (Hamilton, Inc., Reno, NV, USA).

Ensayos de marcadores SNP:



Los 1054 ensayos de SNP se hicieron con las secuencias de los SNP por Fluidigm (South San Francisco, CA, USA) y ensayados en una plataforma Fluidigm EP-1. El genotipo se realizó en el Fluidigm EP-1, una plataforma para ensayo de microfluidics SNP de alta eficiencia. Todas las muestras individuales se genotipificaron con los 96 marcadores. **Salida típica del Fluidigm EP-1 para el genotipado de una población con un marcador SNP.** El verde es homocigoto para el alelo marcado con Hex, El Rojo es homocigoto para el alelo marcado con Fam, y el azul es heterocigoto.

Mapeo Genético:

Para obtener los mapas genéticos para cada una de las siete poblaciones de mapeo (Tabla1), se utilizaron dos programas de mapeo, JoinMap4 (Kyazma B.V.®, Wageningen, Netherlands) y OneMap (Margarido, Souza et al. 2007).

Análisis del genotipo del Germoplasma:

Los genotipos SNP de las colecciones de germoplasma se obtuvieron como se describió anteriormente. Los genotipos se codificaron como 1 (alelo homocigoto 1, verde), 2 (alelo homocigoto 2, rojo), 3 (heterocigoto, azul) and 0 (sin dato). Las matrices de distancia en pares se calcularon con DistClust usando un algoritmo de distancias Hamming. Las agrupaciones se definieron con el análisis k_medoid. Los accesos agrupados se exportaron a Excel para añadir los nombres de acceso y el código de color para los genotipos de cada acceso. En la hoja de Excel las líneas son accesos y las columnas los marcadores SNP.

Asociación de características:

Los datos fenotípicos de las 14 características cualitativas fueron disponibles para las poblaciones derivadas de las cruzas TA x KP, Cr x KP y I x KP. En todos los casos KP fue el donador de polen y es poliembriónico. Las características cualitativas medidas fueron: estado de madurez de la fruta, forma de la fruta, color de la piel, color del rubor, intensidad del rubor, floración, forma del extremo del tallo, undimiento en el fruto, forma de la barba, color de la pulpa, tipo de embrión, sabor, tipo de ramificación, y vigor del árbol (Tabla 3). El tipo de embrión se midió por inspección visual de la semilla sin la cascarilla, del padre de la población de mapeo F₁ (Aron, Czosnek et al. 1998).

De las 14 características evaluadas, doce fueron determinadas en una muestra al azar de 10 frutas de cada genotipo individual dentro de tres poblaciones de mapeo. Las frutas se maduraron a 26°C y se evaluaron en el estado de madurez de consumo (Holmes, Hofman et al. 2010) usando el criterio detallado en la Tabla 3.

La asociación de características con los marcadores SNP mapeados se realizó con MapQTL6 (Kyazma B.V.®, Wageningen, Netherlands) usando cruzas polinizadas (CP) para el tipo de población y el Interval Mapping (IM) para estadísticas de asociación. Los parámetros de los cálculos fueron los estándar para MapQTL6. Los puntos umbral globales se calcularon como se describe en MapQTL6 (10,000 pruebas de permutación) y solo las características que mostraron probabilidades de asociación más altas que el umbral global se consideraron significativas.

RESULTADOS

El manuscrito del mapa genético del mango y la asociación de características, “Genetic map of mango: a tool for mango breeding”, fue publicado en la revista Frontiers in Plant Science (Front. Plant Sci., 20 de Abril 2017 <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00577>) (Kuhn, Bally et al. 2017). Se agradeció al NMB en el artículo:

Financiamiento: DK, AG, JR recibieron financiamiento de la USDA-ARS CRIS #6631-21000-022-00D y el **National Mango Board NACA#58-6038-5-001.**

Agradecimientos: **Especialmente a Leo Ortega y el National Mango Board (USA) por su apoyo excepcional en el financiamiento y por alentar esta investigación.**

Mapa Genético Consenso:

Para incluir a todos los marcadores en el mapa genético consenso del mango, utilizamos la estrategia descrita en la sección de Materiales y Métodos, con lo mejor de JoinMap4 y OneMap. El mapa consenso con 726 marcadores SNP distribuidos a través de los 20 LG se muestra en la Figura 1.

Figure 1 displays 24 panels (1A-24H) showing the genomic organization and structure of the *BRF1* gene across different species. Each panel includes a schematic of the gene structure with exons represented by boxes and introns by lines. The panels are arranged in a 4x6 grid. The first column (1A-4A) shows the *BRF1* gene structure in the human genome. The second column (1B-4B) shows the *BRF1* gene structure in the mouse genome. The third column (1C-4C) shows the *BRF1* gene structure in the rat genome. The fourth column (1D-4D) shows the *BRF1* gene structure in the dog genome. The fifth column (1E-4E) shows the *BRF1* gene structure in the pig genome. The sixth column (1F-4F) shows the *BRF1* gene structure in the cow genome. The seventh column (1G-4G) shows the *BRF1* gene structure in the horse genome. The eighth column (1H-4H) shows the *BRF1* gene structure in the chicken genome. The ninth column (1I-4I) shows the *BRF1* gene structure in the zebrafish genome. The tenth column (1J-4J) shows the *BRF1* gene structure in the fruit fly genome. The eleventh column (1K-4K) shows the *BRF1* gene structure in the Arabidopsis genome. The twelfth column (1L-4L) shows the *BRF1* gene structure in the Drosophila genome. The thirteenth column (1M-4M) shows the *BRF1* gene structure in the Caenorhabditis genome. The fourteenth column (1N-4N) shows the *BRF1* gene structure in the Brugia genome. The fifteenth column (1O-4O) shows the *BRF1* gene structure in the Plasmodium genome. The sixteenth column (1P-4P) shows the *BRF1* gene structure in the Toxoplasma genome. The seventeenth column (1Q-4Q) shows the *BRF1* gene structure in the Leishmania genome. The eighteenth column (1R-4R) shows the *BRF1* gene structure in the Trypanosoma genome. The nineteenth column (1S-4S) shows the *BRF1* gene structure in the Giardia genome. The twentieth column (1T-4T) shows the *BRF1* gene structure in the Entamoeba genome. The twenty-first column (1U-4U) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The twenty-second column (1V-4V) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The twenty-third column (1W-4W) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The twenty-fourth column (1X-4X) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The twenty-fifth column (1Y-4Y) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The twenty-sixth column (1Z-4Z) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The twenty-seventh column (1AA-4AA) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The twenty-eighth column (1AB-4AB) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The twenty-ninth column (1AC-4AC) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The thirtieth column (1AD-4AD) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The thirty-first column (1AE-4AE) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The thirty-second column (1AF-4AF) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The thirty-third column (1AG-4AG) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The thirty-fourth column (1AH-4AH) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The thirty-fifth column (1AI-4AI) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The thirty-sixth column (1AJ-4AJ) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The thirty-seventh column (1AK-4AK) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The thirty-eighth column (1AL-4AL) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The thirty-ninth column (1AM-4AM) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The fortieth column (1AN-4AN) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The forty-first column (1AO-4AO) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The forty-second column (1AP-4AP) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The forty-third column (1AQ-4AQ) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The forty-fourth column (1AR-4AR) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The forty-fifth column (1AS-4AS) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The forty-sixth column (1AT-4AT) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The forty-seventh column (1AU-4AU) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The forty-eighth column (1AV-4AV) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The forty-ninth column (1AW-4AW) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The fiftieth column (1AX-4AX) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The fifty-first column (1AY-4AY) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The fifty-second column (1AZ-4AZ) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The fifty-third column (1BA-4BA) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The fifty-fourth column (1BB-4BB) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The fifty-fifth column (1BC-4BC) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The fifty-sixth column (1BD-4BD) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The fifty-seventh column (1BE-4BE) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The fifty-eighth column (1BF-4BF) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The fifty-ninth column (1BG-4BG) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The sixtieth column (1BH-4BH) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The sixty-first column (1BI-4BI) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The sixty-second column (1BJ-4BJ) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The sixty-third column (1BK-4BK) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The sixty-fourth column (1BL-4BL) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The sixty-fifth column (1BM-4BM) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The sixty-sixth column (1BN-4BN) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The sixty-seventh column (1BO-4BO) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The sixty-eighth column (1BP-4BP) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The sixty-ninth column (1BQ-4BQ) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The seventieth column (1BR-4BR) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The seventy-first column (1BS-4BS) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The seventy-second column (1BT-4BT) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The seventy-third column (1BU-4BU) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The seventy-fourth column (1BV-4BV) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The seventy-fifth column (1BW-4BW) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The seventy-sixth column (1BX-4BX) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The seventy-seventh column (1BY-4BY) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The seventy-eighth column (1BZ-4BZ) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The seventy-ninth column (1CA-4CA) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The eightieth column (1CB-4CB) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The eighty-first column (1CC-4CC) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The eighty-second column (1CD-4CD) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The eighty-third column (1CE-4CE) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The eighty-fourth column (1CF-4CF) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The eighty-fifth column (1CG-4CG) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The eighty-sixth column (1CH-4CH) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The eighty-seventh column (1CI-4CI) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The eighty-eighth column (1CJ-4CJ) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The eighty-ninth column (1CK-4CK) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The ninetieth column (1CL-4CL) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The ninety-first column (1CM-4CM) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The ninety-second column (1CN-4CN) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The ninety-third column (1CO-4CO) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The ninety-fourth column (1CP-4CP) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The ninety-fifth column (1CQ-4CQ) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The ninety-sixth column (1CR-4CR) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The ninety-seventh column (1CS-4CS) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The ninety-eighth column (1CT-4CT) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The ninety-ninth column (1CU-4CU) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The hundredth column (1CV-4CV) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The hundred-first column (1CW-4CW) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The hundred-second column (1CX-4CX) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The hundred-third column (1CY-4CY) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The hundred-fourth column (1CZ-4CZ) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The hundred-fifth column (1DA-4DA) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The hundred-sixth column (1DB-4DB) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The hundred-seventh column (1DC-4DC) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The hundred-eighth column (1DD-4DD) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The hundred-ninth column (1DE-4DE) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The hundred-tieth column (1DF-4DF) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The hundred-first column (1DG-4DG) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The hundred-second column (1DH-4DH) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The hundred-third column (1DI-4DI) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The hundred-fourth column (1DJ-4DJ) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The hundred-fifth column (1DK-4DK) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The hundred-sixth column (1DL-4DL) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The hundred-seventh column (1DM-4DM) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The hundred-eighth column (1DN-4DN) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The hundred-ninth column (1DO-4DO) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The hundred-tieth column (1DP-4DP) shows the *BRF1* gene structure in the Naegleria genome. The hundred-first column (1DQ-4DQ) shows the *BRF1* gene structure in the Trichomonas genome. The hundred-second column (1DR-4DR) shows the *BRF1* gene structure in the Blastocystis genome. The hundred-third column (1DS-4DS) shows the *BRF1* gene structure in the Acanthamoeba genome. The hundred-fourth column (1DT-4DT) shows the *BRF1*

En la Tabla 3 se muestra la longitud calculada en centimorgans (cM) y el número de marcadores para cada uno de los 20 LG. El grupo de enlace 8 fue el más largo (247.8 cM) y el LG 16 tuvo el mayor número de marcadores (71). La distancia promedio entre marcadores para cada LG se muestra en la Tabla 6 y el promedio de la distancia entre todos los marcadores fue 4.095 cM. La mayor distancia entre marcadores fue 44.775 cM en el LG 13 y la menor corta fue 0.001 cM en el LG 8 y 13 sin incluir marcadores idénticos (0.000 cM distancia).

Tabla 3. Estadísticas del Mapa Consenso. Resumen del mapa de grupos de ligamiento (LG) consenso final que contiene 726 marcadores en los 20 grupos.

LG	Número de marcadores por grupo de ligamiento	Longitud de cada grupo de enlace (cM)	Distancia promedio entre marcadores (cM)	Distancia máxima entre marcadores (cM)	Distancia mínima entre marcadores (cM)
1	28	111.2	4.120	14.629	0.058
2	31	135.6	4.520	22.779	0.053
3	26	79.4	3.177	19.760	0.081
4	36	223.2	6.377	41.634	0.073
5	31	126.3	4.209	19.450	0.185
6	25	80.4	3.351	17.440	0.166
7	29	151.1	5.397	24.997	0.002
8	42	247.8	6.045	32.912	0.001
9	35	143.1	4.210	25.709	0.012
10	42	186.5	4.549	28.816	0.001
11	26	77.2	3.090	14.414	0.002
12	35	148.8	4.378	26.070	0.000
13	43	154.9	3.689	44.775	0.001
14	27	114.9	4.422	22.593	0.020
15	45	166.2	3.778	17.991	0.000
16	71	228.0	3.257	17.854	0.000
17	56	156.7	2.849	26.688	0.000
18	21	76.5	3.826	21.565	0.002
19	34	126.7	3.839	20.472	0.000
20	43	156.1	3.716	20.124	0.023
Total	726	2890.6			
Mínima	21	76.5			
Máxima	71	247.8			
Promedio	36.3	144.5			

Asociación de Rasgos Cualitativos con el Mapa:

Se obtuvieron datos fenotípicos cualitativos para tres de las poblaciones de mapeo (TA x KP, I x KP, y Cr x KP). Con la prueba de Intervalos de mapeo usando MapQTL se encontraron siete de los 14 parámetros cualitativos usados en el estudio de asociación que tenían puntuaciones significativas con la prueba estadística LOD al menos en una de las poblaciones. La Tabla 4 muestra las siete características que mostraron puntuaciones LOD significativas y su posición en el mapa. Todas las puntuaciones LOD reportadas quedaron por encima del valor umbral determinado mediante pruebas de permutación para el rasgo en la población respectiva.

El tipo de embrión fue la única característica que presentó una puntuación LOD significativa en el mismo marcador (Mi_0173) a través de dos poblaciones diferentes (Figura 2). El Marcador Mi_0173 no se pudo mapear en la población I x KP, por lo que no se pudo probar una puntuación LOD significativa en esa población. Para la asociación de rasgos, solo se utilizaron datos genotípicos de marcadores mapeados en la población de prueba para asegurar que la fase específica de la población fue correcta.

La floración, el color de la pulpa y el tipo de ramificación, mostraron asociación significativa con marcadores en dos poblaciones de mapeo. La asociación de marcadores fue en diferentes LG en cada una de las poblaciones (Tabla 4). Por ejemplo, la floración mostró una asociación significativa a un marcador en el LG 9 en I x KP y en LG 13 en TA x KP. El color base de la piel, la intensidad del rubor y la forma de barba mostraron una asociación significativa con marcadores en un solo GL solamente en una población (Tabla 4).

Tabla 4. Asociación de Rasgos en Tres Poblaciones de Mapeo. Abreviaturas: grupo de ligamiento (LG), Tommy Atkins x Kensington Pride (TA x KP), Creeper x Kensington Pride (Cr x KP), Irwin x Kensington Pride (I x KP), puntuación de la prueba estadística lod (LOD).

Característica	GL	Marcador	Posición (cM)	TA x KP LOD	Cr x KP LOD	I x KP LOD
Tipo de Embrión	8	Mi_0173	46.1	4.96	8.82	
	8	mango_rep_c6716	74.8		7.70	
	8	Contig1936	78.3		7.40	
	8	mango_rep_c886	80.2		7.23	
	8	Mi_0102	85.3		6.65	
Color de la piel	17	Mi_0135	0.0	5.61		
	17	SSKP009C1_A627T	0.1	5.61		
Intensidad del rubor	20	Mi_0450	19.2			4.62
	20	Mi_0145	30.8			5.83
	20	mango_rep_c4542	33.9			6.17
	20	Mi_0341	45.6			6.65
	20	SSKP003C1_C682T	57.6			5.99
	20	Mi_0343	67.5			5.75
	20	Mi_0277	68.6			5.69
	20	mango_rep_c15051	69.6			5.62
	20	mango_rep_c8905	70.4			5.60
	20	Mi_0357	71.1			5.57
	20	Mi_0330	72.4			5.49
	20	Mi_0046	73.1			5.43
	20	Contig2601	74.0			5.33
Floración	13	Contig1142	0.4	5.80		
	9	Mi_0417	109.2			4.86
	9	Mi_0402	122.4			8.05
	9	mango_rep_c9549	124.5			7.91
	9	Mi_0142	128.8			7.14
	9	Mi_0497	129.6			7.03
Forma de barba	11	mango_c48384	17.7	6.16		
	11	mango_rep_c52196	17.8	6.16		
Color de pulpa	16	Mi_0217	125.8	5.18		
	13	Mi_0029	5.6			4.36
Tipo de ramas	8	Mi_0192	29.6	4.90		
	16	Contig3904	97.5			4.48
	16	Contig1327	100.4			4.42

Genotipado del Germoplasma de Mango:

Figura 2. Genotipos de germoplasma de mango agrupados.

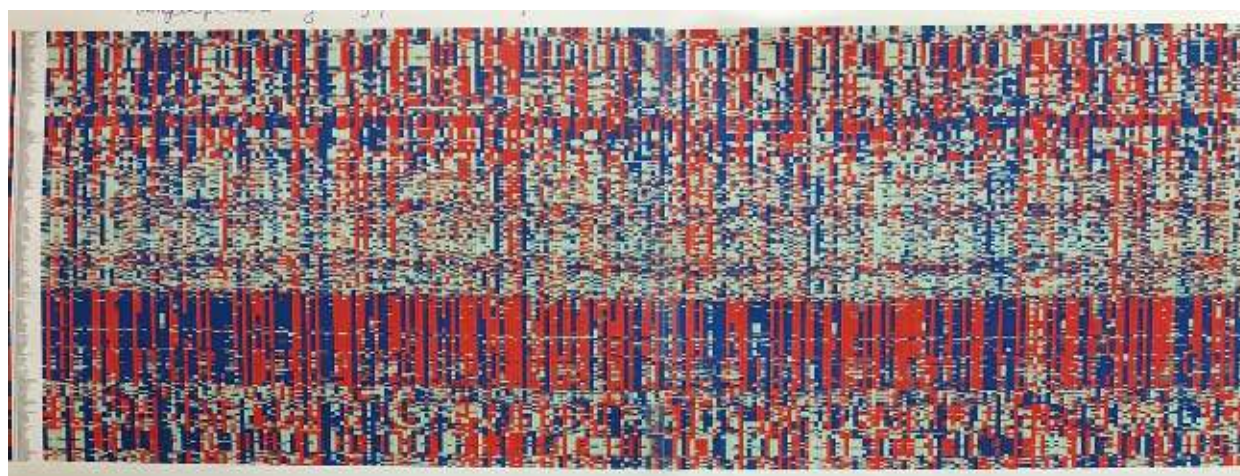


Se colectaron hojas de 1911 árboles individuales de 10 bancos de germoplasma (Tabla 3). Las muestras fueron de 31 especies de *Mangifera*, tres grupos diferentes de híbridos interespecíficos (*M. laurina* x *M. indica*), un experimento de policruzas con progenie de polinización abierta de 6 cultivares de mango, cultivares comerciales, y accesos denominados de los bancos de germoplasma. El conjunto de datos consistió de 733,824 puntos de datos genotípicos y se editó. Individuos y marcadores con más de 5% sin datos se eliminaron. El conjunto de datos completo y codificado de colores se muestra en la Figura 2.

Se complica presentar un análisis detallado de los datos en el formato del reporte final. Por lo que se muestra una representación visual de los datos completos que permitan entender los resultados del genotipado de manera global. Los patrones de bandeo mostrados en la Figura 2 representan el agrupamiento de los accesos de germoplasma por genotipo. Las bandas que son predominantemente azul y naranja representan individuos altamente homocigotos. La segunda franja de bandas de arriba contiene 142 cultivares del Sureste de Asia tales como Nam Doc Mai, Carabao, Nam Tam Teen y Okrong. La franja de bandas debajo de la mitad de la Figura 2 con

columnas muy claramente delimitadas contiene 86 supuestos híbridos, donde el progenitor maternal fue poliembriónico. Ellos muestran genotipos idénticos para 263 de 267 marcadores SNP lo que los hace clones del progenitor maternal en lugar de híbridos. La franja de bandas en la parte de abajo, donde predomina el azul y naranja contiene 119 accesos y comprende 27 de las 31 especies de *Mangifera* de este estudio. Los 267 marcadores SNP en el grupo de datos editado produjo genotipos con menos del 5% de datos no encontrados para las 31 especies de *Mangifera* así como para individuos de otros géneros relacionados *Bouea macrophylla*. Los resultados sugieren que el potencial de diversidad genética en el género *Mangifera* se ha capturado con el conjunto de marcadores SNP. El grupo de datos se dividió en subgrupos: solo especies, solo híbridos, germoplasma de Miami más descendientes de policruza y solo germoplasma del mundo. En el subgrupo de solo especies, los números del grupo fueron alterados en el análisis k_medoid para permitir resolución de todas las especies posibles (Figura 3). Los números de acceso con diferentes nombres de especies mostraron genotipos idénticos, lo cual pone en duda la clasificación de esas especies. Otro resultado que llama la atención es que hubo diferencias mayores en el genotipo entre diferentes accesos de *M. indica* que entre especies diferentes. Lo anterior indica que la clasificación de *M. indica* basada en características fenotípicas no es la mejor, y resalta la necesidad de realizar la clasificación con base en el genotipo.

Figura 3. Datos del genotipo del germoplasma del Subgrupo solo especies.



Los 267 marcadores SNP permitieron resolver con facilidad la identidad de la mayoría de los cultivares de mango comerciales más comunes. Además, el progenitor macho de los cultivares de Florida se pudo inferir. La conclusión del proyecto de genotipo es que los cultivares de mango comerciales actuales son genéticamente muy similares, lo cual explica en parte por qué se ha avanzado tan poco en la obtención de variedades mejoradas. Las variedades producidas en el programa de mejoramiento Australiano en los últimos 20 años, son casi idénticas en su genotipo, debido a la similitud de los progenitores utilizados en las cruces. La similitud e identidad de los genotipos también se ve en los cultivares favoritos en culturas particulares; por ejemplo, el cultivar Carabao para la gente de las Filipinas. Todos los accesos de Carabao de los bancos de germoplasma de alrededor del mundo son esencialmente idénticos, pero fácil de distinguir del resto de las variedades de *M. indica*. Lo anterior sugiere que la selección del hombre ha jugado un papel muy importante en lo que pensamos qué es o cómo debe ser un cultivar de mango.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El mapa genético del mango a partir de marcadores SNP

Los mapas genéticos se construyen a partir del genotipo de la progenie (poblaciones de mapeo) de las cruza entre los árboles que se escogen por sus fenotipos deseables y diferentes (rasgos). Por ejemplo, un progenitor hembra que produce mangos verdes y es resistente a la antracnosis se cruza con un progenitor macho que produce mangos rojos y es sensible a la antracnosis. El simple objetivo de la cruza es obtener mangos rojos y resistentes a la antracnosis. Sin embargo, el objetivo del mejoramiento molecular es identificar las regiones del genoma del mango que regulan el color de la fruta y la resistencia a la antracnosis. Para poder realizarlo, se requiere de un mapa genético que nos de más información acerca de la distancia entre los genes en cada grupo de ligamiento LG (cromosoma), cuáles genes se asocian a la característica particular y cuáles alelos de los genes se heredan de los genomas de los padres.

Los mapas genéticos solo se pueden hacer de una cruza entre dos padres conocidos. Los mapas no se pueden obtener mediante genotipo de plantas de semillas de polinización abierta provenientes de árboles de un progenitor hembra. Realizar las cruza, identificar híbridos verdaderos, crecer los árboles hasta madurez y coleccionar los datos fenotípicos toma al menos siete años. Por lo anterior, buscamos poblaciones de mapeo pre-existentes, descritas en la Tabla 1, de nuestros colaboradores internacionales para poder producir un mapa consenso y asociar características hortícolas al mapa.

Los 1054 marcadores SNP usados dieron muy buena resolución para identificar los 20 grupos de ligamiento para el mapa consenso, representando los 20 cromosomas en el genoma haploide del mango. Esos marcadores SNP fueron muy reproducibles y con un nivel de confianza muy bueno para el genotipo de individuos de las poblaciones de mapeo con menos del 5% de datos no encontrados. Lo anterior nos permitió usar las siete poblaciones de mapeo para producir el mapa consenso, lo cual aumentó el número global de marcadores mapeados. El tener más progenitores aumenta la probabilidad de obtener al menos un padre heterocigoto para un marcador en una población de mapeo, lo cual es necesario para poder mapear el marcador.

El mapa genético del mango lo completamos con 726 marcadores SNP e identificamos los 20 grupos de ligamiento (cromosomas) del genoma del mango. Siete rasgos hortícolas se asociaron a los marcadores genéticos mapeados: poliembrionía, tipo de ramificación, floración, color de la piel, intensidad del rubor, forma de la barba y color de la pulpa.

Impacto de los Resultados: La obtención del mapa genético es un paso necesario para identificar marcadores asociados a características deseables para ser usados en la selección asistida por marcadores (MAS, por sus siglas en inglés) para hacer más eficiente el mejoramiento del mango. Por ejemplo, la asociación de la poliembrionía con un marcador genético permite al mejorador identificar ese rasgo en germinados sin tener que esperar años hasta que se desarrollen los árboles, flores y frutos. La identificación rápida de árboles poliembriónicos significa que el mejorador puede incrementar la selección favorable al sembrar los embriones clonales. De manera similar, parámetros importantes desde el punto de vista comercial como el color de los frutos y el color de la pulpa se pueden identificar a nivel de germinados mediante los SNPs de tal

manera que los mejoradores del cultivo pueden enfocar sus esfuerzos en los germinados que tienen mayor probabilidad de mejorar los cultivares.

Genotipo del germoplasma de mango

Realizamos el genotipo de 911 accesos provenientes de bancos de germoplasma nacionales e internacionales con 384 marcadores SNP. Los resultados apoyan la conclusión que los bancos de germoplasma abarcan la diversidad genética disponible en el mango. Los programas de mejoramiento genético, a la fecha no aprovechan la diversidad genética utilizable y apta.

Impacto de los Resultados: La diversidad genética de los bancos de germoplasma se comparó con la de los progenitores usados en los programas de mejoramiento actuales. Los padres utilizados en el mejoramiento muestran poca diversidad genética, aunque hay cultivares con diversidad genética disponibles. Los cultivares comerciales que tienen genotipos diferentes al de los progenitores utilizados en los programas de mejoramiento y tienen características deseables como color, sabor, y resistencia a enfermedades, deberán ser introducidos en los programas para obtener variedades mejoradas. En esencia, los mejoradores no han tomado ventaja del "vigor de los híbridos" en sus programas de mejoramiento.

El análisis de los datos del genotipo de germoplasma también sugiere que la cultura y etnicidad juegan un papel importante en la industria del mango. Los cultivares de áreas diferentes como Tailandia y las Filipinas muestran poca diversidad genética dentro de su área, pero son diferentes en su genotipo cuando se comparan con los de otras áreas. Lo anterior sugiere que la selección de variedades durante muchos siglos, por el hombre, ha jugado un papel muy importante en los cultivares comerciales disponibles en todo el mundo. Los USA tiene poblaciones inmigrantes de áreas donde se consume de manera tradicional el mango, por lo que si se les provee sus mangos favoritos a esas poblaciones, se promoverá el consumo de mango ampliamente en los mercados estadounidenses que no tienen una historia cultural de consumo de mango.

REFERENCIAS

- Aron, Y., H. Czosnek, S. Gazit and C. Degani (1998). "Polyembryony in mango (*Mangifera indica* L.) is controlled by a single dominant gene." *Hortscience* **33**(7): 1241-1242.
- Azim, M. K., I. A. Khan and Y. Zhang (2014). "Characterization of mango (*Mangifera indica* L.) transcriptome and chloroplast genome." *Plant Molecular Biology* **85**(1-2): 193-208.
- Bally, I. S. E., P. Lu and P. Johnson (2009). Mango Breeding. *Breeding plantation tree crops: tropical species*. S. M. Jain and P. M. Priyadarshan. New York, Springer. **1**: 51-82.
- Dautt-Castro, M., A. Ochoa-Leyva, C. A. Contreras-Vergara, M. A. Pacheco-Sanchez, S. Casas-Flores, A. Sanchez-Flores, D. N. Kuhn and M. A. Islas-Osuna (2015). "Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Kent fruit mesocarp de novo transcriptome assembly identifies gene families important for ripening." *Frontiers in Plant Science* **6**: 62.
- Dillon, N. L., I. S. E. Bally, C. L. Wright, L. Hucks, D. J. Innes and R. G. Dietzgen (2013). "Genetic diversity of the Australian National Mango Genebank." *Scientia Horticulturae* **150**: 213-2

Galán Saúco, V. (2015). "Trends in world mango production and marketing." Acta Horticulturae in press.

Hoang, V. L. T., D. J. Innes, P. N. Shaw, G. R. Monteith, M. J. Gidley and R. G. Dietzgen (2015). "Sequence diversity and differential expression of major phenylpropanoid-flavonoid biosynthetic genes among three mango varieties." BMC Genomics **16**(1): 1-12.

Holmes, R., P. Hofman and L. Barker (2010). Mango quality assessments manual, A guide to assessing the post-harvest quality of Australian mangoes. Brisbane, The state of Queensland, Department of Employment, Economic Development and Innovation: 59.

Kuhn, D. N., I. S. Bally, N. L. Dillon, D. Innes, A. M. Groh, J. Rahaman, R. Ophir, Y. Cohen and A. Sherman (2017). "Genetic map of mango: a tool for mango breeding." Frontiers in plant science **8**.

Kuhn, D. N., N. L. Dillon, D. J. Innes, L.-S. Wu and K. Mockaitis (2016). "Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers from the mango (*Mangifera indica*) transcriptome for mapping and estimation of genetic diversity." Acta Horticulturae **1111**: 315-322.

Litz, R. E. (2009). The mango: botany, production and uses, CABI.

Luo, C., B. Shu, Q. Yao, H. Wu, W. Xu and S. Wang (2016). "Construction of a High-Density Genetic Map Based on Large-Scale Marker Development in Mango Using Specific-Locus Amplified Fragment Sequencing (SLAF-seq)." Frontiers in plant science **7**: 1310.

Luria, N., N. Sela, M. Yaari, O. Feygenberg, I. Kobiler, A. Lers and D. Prusky (2014). "De-novo assembly of mango fruit peel transcriptome reveals mechanisms of mango response to hot water treatment." BMC genomics **15**(1): 1.

Margarido, G. R. A., A. P. Souza and A. A. F. Garcia (2007). "OneMap: software for genetic mapping in outcrossing species." Hereditas **144**(3): 78-79.

Mukherjee, S. K. and R. E. Litz (2009). Introduction: botany and importance. The Mango: Botany, Production and Uses 2nd Edition. R. E. Litz. Wallingford, Oxen, CAB International. **1**: 1-18.

Pandit, S. S., R. S. Kulkarni, A. P. Giri, T. G. Kollner, J. Degenhardt, J. Gershenzon and V. S. Gupta (2010). "Expression profiling of various genes during the fruit development and ripening of mango." Plant Physiology and Biochemistry **48**(6): 426-433.

Schnell, R. J., J. S. Brown, C. T. Olano, A. W. Meerow, R. J. Campbell and D. N. Kuhn (2006). "Mango genetic diversity analysis and pedigree inferences for Florida cultivars using microsatellite markers." Journal of the American Society for Horticultural Science **131**(2): 214-224.

Sherman, A., M. Rubinstein, R. Eshed, M. Benita, M. Ish-Shalom, M. Sharabi-Schwager, A. Rozen, D. Saada, Y. Cohen and R. Ophir (2015). "Mango (*Mangifera indica* L.) germplasm diversity based on single nucleotide polymorphisms derived from the transcriptome." BMC Plant Biology **15**(1): 1-11.

Wu, H.-x., H.-m. Jia, X.-w. Ma, S.-b. Wang, Q.-s. Yao, W.-t. Xu, Y.-g. Zhou, Z.-s. Gao and R.-l. Zhan (2014). "Transcriptome and proteomic analysis of mango (*Mangifera indica* Linn) fruits." Journal of proteomics **105**: 19-30.