

罗汉果性别决定机制的分析

尹小明^{1,2,3*}, 高艺航^{1,3,4}, 阮文浩^{1,3,4}, 张 玺^{1,3,4}, 黄清坤^{1,4}

¹大闽食品(漳州)有限公司, 福建 漳州

²上海交通大学药学院, 上海

³上海吉罗恩生物科技有限公司, 上海

⁴福建省饮料用植物提取技术企业重点实验室, 福建 漳州

收稿日期: 2025年9月25日; 录用日期: 2025年11月3日; 发布日期: 2025年11月13日

摘 要

罗汉果(*Siraitia grosvenorii*), 作为中国广西的特色经济物种, 不仅具有很高的药用价值, 还富含高甜味且零热量的天然甜苷成分。罗汉果属于葫芦科雌雄异株的植物, 其性别在苗期难以鉴别。DNA分子标记是个体间遗传物质内核苷酸序列变异为基础的遗传标记, DNA分子标记技术为罗汉果雌雄的有效鉴定提供了手段。本文收集了已报道罗汉果中与性别相关的DNA分子标记, 并将这些DNA分子标记定位到了基因组的重叠群和可能的基因上。此外, 我们还对这些基因进行了同源比对分析, 预测了其可能的编码产物, 这为研究罗汉果性别决定机制提供了重要的研究基础。

关键词

罗汉果, 分子标记, 性别决定, 雌雄鉴定

The Analysis of the Sex Determination Mechanism in Monk Fruit

Xiaoming Yin^{1,2,3*}, Yihang Gao^{1,3,4}, Wenhao Ruan^{1,3,4}, Xi Zhang^{1,3,4}, Qingkun Huang^{1,4}

¹Damin Foodstuff (Zhangzhou) Co., Ltd., Zhangzhou Fujian

²School of Pharmaceutical Sciences, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai

³Shanghai Jiluo Biotechnology Co., Ltd., Shanghai

⁴Fujian Key Laboratory of Plant Extraction Technology for Beverage, Zhangzhou Fujian

Received: September 25, 2025; accepted: November 3, 2025; published: November 13, 2025

Abstract

Monk fruit (*Siraitia grosvenorii*), a characteristic economic species of Guangxi, China, not only

*通讯作者。

文章引用: 尹小明, 高艺航, 阮文浩, 张玺, 黄清坤. 罗汉果性别决定机制的分析[J]. 食品与营养科学, 2025, 14(6): 822-830. DOI: 10.12677/hjfn.2025.146090

possesses substantial medicinal value but is also rich in high-intensity, zero-calorie natural sweet glycosides (mogrosides). As a dioecious member of the Cucurbitaceae, monk fruit exhibits sexes that are difficult to distinguish at the seedling stage. DNA molecular markers—genetic markers based on nucleotide sequence variation among individuals—provide an approach for reliable sex identification in this species. In the present study, we collected previously reported DNA molecular markers associated with sex in monk fruit and mapped these markers to genomic contigs and candidate genes. We further performed homology-based comparative analyses of these genes and predicted their putative protein products, thereby providing an important foundation for future research into the sex-determination mechanism of monk fruit.

Keywords

Monk Fruit, Molecular Marker, Sex Determination, Sex Identification

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

罗汉果俗称“神仙果”，属于葫芦科多年生藤本植物，主产于桂林的永福县、临桂县和龙胜族自治县，是广西桂林的著名特产[1][2]。罗汉果在中国传统医学中占据举足轻重的地位，其药用价值广受人民群众认可，历史悠久，它可以用来治疗诸如肺部充血、感冒、喉咙痛等多种疾病[3]。罗汉果的独特之处不仅体现在药用价值上，更在于其含有的多种葫芦烷型三萜甙类罗汉果甜苷成分。其中，罗汉果甜苷是罗汉果高甜度的关键因素，其甜度约为蔗糖的 300 倍，而且几乎不含热量，这使得罗汉果成了一种理想的甜味剂[4]。现代医药研究也表明，成熟罗汉果提取物，特别是罗汉果甜苷，具有抗肿瘤、抗糖尿病、抗炎和抗氧化等多种生物活性，这为罗汉果的健康价值提供了科学依据[5]。随着世界致力于人类健康的改善，食品和饮料行业对天然、高效、低热量或零热量的甜味剂巨大的需求已经超过传统膳食甜味剂，而罗汉果已经成为仅次于甜叶菊的第二大天然甜味剂来源[6]。因此，罗汉果具有极高的应用价值和市场开发前景。

在现阶段，由于缺乏相关的科学研究、农艺经验和优质种质资源，再加上罗汉果植物对环境的适应性差等因素，罗汉果的市场供应还非常有限[6]。此外，罗汉果为雌雄异株的植物，须进行人工授粉才能结实[7]。然而，罗汉果幼苗阶段性别难以仅凭形态特征鉴别，因此，通过鉴定其 DNA 水平差异成为鉴别性别的最可靠手段。本文收集了多个已报道的罗汉果性别连锁的 DNA 分子标记，并对这些分子标记的序列进行了基因组定位分析，找到了这个分子标记所在的基因或附近基因，并对这些基因的序列进行了同源比对分析，这为研究罗汉果性别决定机制提供了重要的研究基础。

2. 材料与方法

本研究使用的罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)基因组与注释数据来源于公共数据库 NCBI (Bioproject PRJNA339375)。本研究采用 TBTools (<https://github.com/CJ-Chen/TBTools>)作为核心分析平台，整合其内置工具完成全基因组共线性比对及核心基因家族多序列比对，使用 TBTools 的系统发育树构建插件(调用 RAxML-HPC2 v8.2.12)构建最大似然树(ML)树，参数设置与原流程一致。

3. 结果分析

3.1. DNA 分子标记分类

DNA 分子标记基于个体间遗传物质内核苷酸序列的变异，直接反映了 DNA 水平的遗传多态性。利用一些分子标记技术，如表 1 所示：限制性片段长度多态性(Restriction Fragment Length Polymorphisms, RFLP)，扩增片段长度多态性(Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP)，随机扩增多态 DNA (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)，测序的扩增区段(Sequence Characterized Amplified Region, SCAR)等[8]-[11]。

Table 1. Comparison of molecular markers: RFLP, AFLP, RAPD, and SCAR
表 1. RFLP、AFLP、RAPD 和 SCAR 分子标记的比较

分子标记 参数	RFLP	AFLP	RAPD	SCAR
标记产物的质量	低质量、高特异性	高质量、高特异性	高质量、无特异性	低质量、高特异性
重现性	高	高	低	高
检测精度	高	高	高	低
操作和开发难易程度	难	中	易	易
流程时间	长	短	短	短
是否使用放射性	是	是/否	否	否
检测类型	酶切产物	DNA 扩增	DNA 扩增	DNA 扩增
重复成本	高	高	低	低
可信度	高	高	低	高
检测位点	单位点	多位点	多位点	单位点
检测基因组范围	通常为低拷贝区	全基因组	全基因组	局部
专业技术需求	高	高	低	低
模板基因组质量	高	高	中等以上	中等以上
是否依赖 PCR	No	是	是	是

RFLP 是第一种 DNA 分子标记技术，其最早用于构建人类基因组的第一个分子图谱[12]。RFLP 技术通过识别并区分不同来源基因组 DNA 在限制性酶消化后产生的不同长度 DNA 片段，从而确定不同的基因型。RFLP 的缺点是其需要大量的 DNA (5~20 ug)，且很难区分基因型相近的物种，检测中要利用放射性同位素，易造成污染，灵敏度较低等。

AFLP 是 RFLP 技术与 PCR 技术相结合的方法，其是通过限制性内切酶(一种稀有位点切割酶和一种高频位点割酶)对基因组 DNA 切割产生不同大小的 DNA 片段，再对这些 DNA 片段添加合成的接头序列，然后以人工接头的互补链为引物进行预扩增，最后在接头互补链的 3'端添加 1~3 个选择性核苷酸作引物对模板 DNA 基因再进行选择性扩增，通过电泳分离检测分析的扩增产物的多态性[13]。AFLP 技术的优势显著，包括能检测大量多态性、无需预知 DNA 序列信息、对基因组模板浓度变化不敏感、结果重现性高，以及能快速生成丰富的多态性片段。这使得 AFLP 在研究动物、植物和微生物物种的种群遗传学和遗传多样性中成为一种非常流行的分子标记技术。尽管如此，由于 AFLP 方法需要通过银染、荧光

或放射性检测，并在大型测序凝胶或自动 DNA 测序仪上解析，这导致该方法的成本非常高且需要熟练的技术人员才能完成[9]。

RAPD 是一种基于 PCR 技术被广泛用于鉴定基因型的方法，其是利用随机引物(通常为 10 碱基)对基因组 DNA 进行 PCR 扩增，通过比较产物的多态性来确定物种的关系和基因型[14]。RAPD 仅需要少量的 DNA 且在数小时内就可以操作完成；但是 RAPD 的重现性较差，不同的试剂和不同的实验条件均可导致实验结果发生变化[9] [15]。

SCAR 是在 RAPD 的基础上发展出来的，其是使用更长的特异性引物(15~30 bp)扩增 RAPD 多态性片段，这使得 SCAR 不会面临 RAPD 通常遇到的低重现性问题[9] [16]。SCAR 已被证明在特定种内和/或种间水平的植物鉴定时，具有更高重现性且更可靠的特性。此外，SCAR 不需要放射性同位素，且仅检测单个位点，具有高度重现性和位点特异性，可应用于标记辅助选择各种作物的农业经济性状[9]。

AFLP、RAPD 和 SCAR 都可以用来检测雌雄罗汉果 DNA 水平的差异，从而实现罗汉果雌雄的鉴别。早期，陶莉等通过 AFLP 标记技术快速地鉴别罗汉果幼苗雌雄株[17]；也有不同的研究学者通过 RAPD 发现了罗汉果性别连锁的分子标记[18]-[20]；随后，多个 SCAR 标记被开发用于罗汉果雌雄鉴定[21]-[24]。

3.2. 罗汉果性别连锁的分子标记

罗汉果性别连锁的分子标记是区分罗汉果性别的有力证据，目前已有多个不同类型的与罗汉果性别相关的分子标记被报道。在 2005 年，陶莉等利用 AFLP 标记技术，结合数量性状分析，建立了一种罗汉果幼苗雌雄鉴别的方法[17]；同年，韦弟等利用 RAPD 技术鉴定到了与雄性连锁的分子标记[18]。紧接着，在 2006 年，黄夕洋等同样用 RAPD 技术获得了五个可用于罗汉果栽培品种性别鉴定分子标记[19]。随后，在 2007 年黄姿梅等也用 RAPD 技术在不同的罗汉果品种中鉴定到了多个与性别相关的分子标记[20]。近些年，多个与罗汉果性别相关的 SCAR 标记的专利被公开报道，如张会新[21]，莫长明等[22]，刘晓林等[23]分别申请了不同的 SCAR 分子标记专利；谢文娟等也在 2019 年报道了两个罗汉果雄性特异性的 SCAR 分子标记[24]。我们搜集并整理了已公开的罗汉果性别连锁分子标记序列，依据报道顺序命名编号，如表 2，共获得 1 个 AFLP，3 个 RAPD 和 5 个 SCAR 标记序列。

Table 2. Sex-linked molecular markers in monk fruit
表 2. 罗汉果性别相关的分子标记

分子标记类型	报道时间	分子标记序列	参考文献	命名序号
AFLP	2005	未知	陶莉等[17]	无
RAPD	2005	未知	韦弟等[18]	无
RAPD	2006	未知	黄夕洋等[19]	无
RAPD	2007	公开	黄姿梅等[20]	RAPD 1、RAPD 2、RAPD 3
SCAR	2013	公开	张会新等[21]	SCAR 1
SCAR	2018	公开	莫长明等[22]	SCAR 2
SCAR	2018	公开	刘晓林等[23]	SCAR 3
SCAR	2019	公开	谢文娟等[24]	SCAR 4、SCAR 5

3.3. 罗汉果性别连锁的分子标记在基因组中的位置信息

DNA 是遗传物质的基础，DNA 序列的差异可直接决定生物性状的差异。罗汉果性别连锁的分子标

记的多态性,可能是决定罗汉果雌雄差异的根本原因。因此,我们对收集到的罗汉果性别连锁的分子标记所在的基因组位置信息进行了分析。罗汉果的全基因组测序与组装已经在前几年完成了[25],通过与组装后的罗汉果基因组比对后,我们成功将这些分子标记定位到了对应的重叠群(Contigs)。比对定位的结果显示,这些分子标记分布在不同的重叠群上,如图 1 所示, RAPD 1、RAPD 2 和 RAPD 3 分别定位在 tig00008975、tig00153277 和 tig00005661 上; SCAR 1、SCAR 2、SCAR 3、SCAR 4、SCAR 5 分别定位在 tig00005074、tig00153490、tig00008110、tig00009290 和 tig00001804 上。

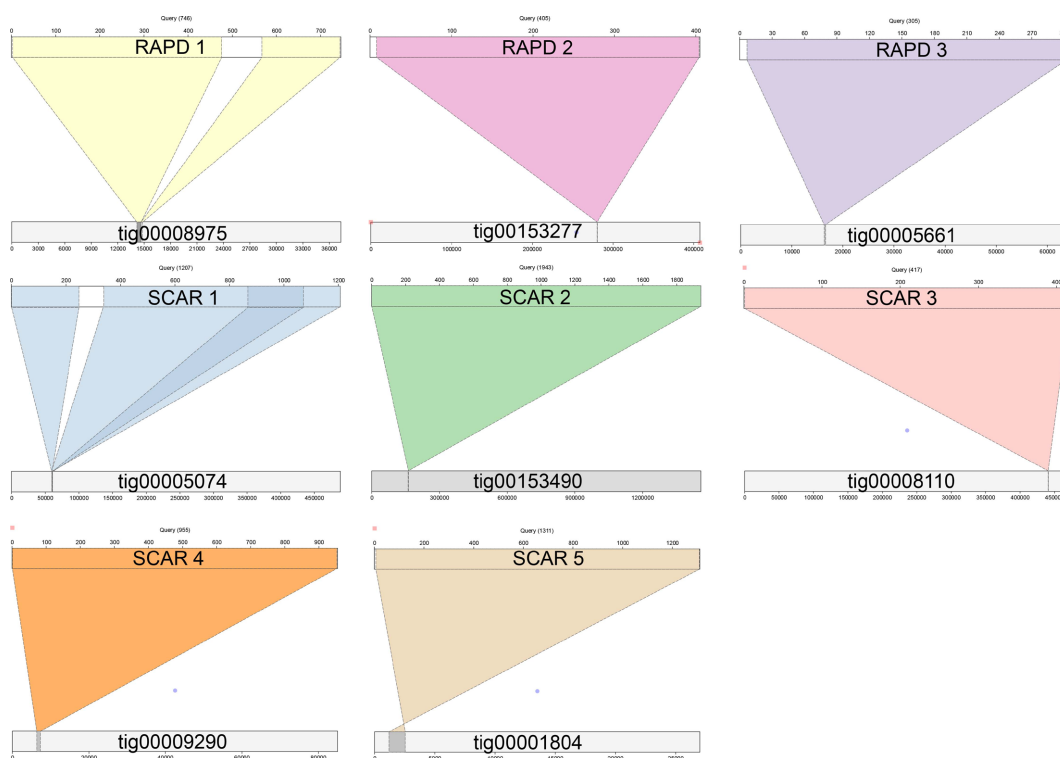


Figure 1. Contigs corresponding to sex-linked molecular markers in monk fruit
图 1. 罗汉果性别分子标记对应的重叠群

3.4. 罗汉果性别连锁的分子标记对应的编码基因信息

为了进一步分析这些分子标记的信息,我们进一步对这些分子标记的位置信息进行了更精准的定位。序列比对后,我们精确定位了这些分子标记至其对应基因或其邻近区域。结果如图 2 所示, RAPD 2、RAPD 3、SCAR 1 和 SCAR 4 都定位在预测的编码序列之外,其中 SCAR 1 非常靠近 evm.TU.tig00005074.5; 而 RAPD 1、SCAR 2、SCAR 3 和 SCAR 5 分别定位在 evm.TU.tig00008975.2、evm.TU.tig00153490.15、evm.TU.tig00008110.8 和 evm.TU.tig00001804.1 上,接着我们对这几个分子标记进行了进一步的分析研究。

3.5. 罗汉果性别连锁的分子标记对应基因的序列分析

为了进一步研究罗汉果性别连锁的分子标记,我们将 RAPD1、SCAR2、SCAR3 和 SCAR5 所在的 evm.TU.tig00008975.2、evm.TU.tig00153490.15、evm.TU.tig00008110.8 和 evm.TU.tig00001804.1 的蛋白序列分别进行了 BLAST 比对。结果如图 3 所示, evm.TU.tig00008975.2 (RAPD1)可能编码的是支链氨基酸氨基转移酶(Branched Chain Amino Acid Aminotransferase); evm.TU.tig00153490.15 (SCAR2)则可能编码了

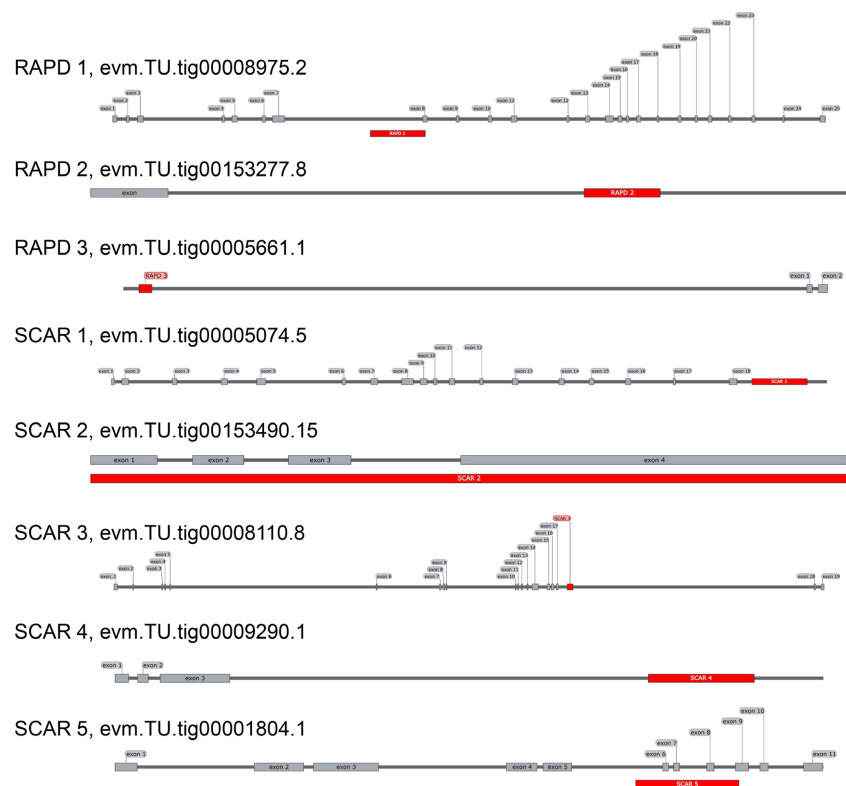


Figure 2. Genes corresponding to sex-linked molecular markers in monk fruit
图 2. 罗汉果性别分子标记对应的基因

一个 1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶(1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Synthase), 该酶在植物激素乙烯的合成中发挥了重要作用; evm.TU.tig00008110.8 (SCAR3)则可能编码的是富亮氨酸重复受体样蛋白激酶(Leucine-Rich Repeat Receptor-Like Protein Kinase), 这类激酶在介导细胞的信号传导中发挥了非常重要的作用; evm.TU.tig00001804.1 (SCAR5)则可能编码的是一个谷氨酸受体, 有研究表明谷氨酸受体与植物的有性生殖相关, 尤其是在花粉的发育过程中。

4. 讨论与展望

罗汉果是广西特色经济植物, 具有巨大的药用和食用价值; 然而, 目前关于罗汉果的研究还远远落后于其他植物经济作物。本文收集了不同的罗汉果性别相关的分子标记并进行了序列分析, 拟对罗汉果的性别决定机制进行探讨。分析 8 个罗汉果性别相关分子标记后, 我们发现 RAPD 1、SCAR 2、SCAR 3 及 SCAR 5 位于不同编码基因内; 这些编码基因的预测产物依次为支链氨基酸氨基转移酶、1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶、富亮氨酸重复受体样蛋白激酶及谷氨酸受体。在罗汉果的近亲植物黄瓜和甜瓜中, 乙烯已经被证实和植物的性别决定有重要的联系[26]。前人的研究已经表明 1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶是植物激素乙烯的重要合成酶[27][28], 而 evm.TU.tig00153490.15 编码的蛋白也被前面命名为 ACS2 (ACC Synthase 2), 因此 ACS2 在罗汉果的雌花形成中也可能发挥了重要作用。在拟南芥和水稻中, 富亮氨酸重复受体样蛋白激酶已被证实和雄花的花药细胞形成和小孢子母细胞的发生有关[29]。在拟南芥和烟草中, 谷氨酸受体可以通过调控钙离子内流和振荡影响花粉管的发育[30]。然而, 支链氨基酸氨基转移酶是否也与植物的有性生殖相关还需进一步研究。虽然 RAPD2、RAPD3 和 SCAR1 并没有定位到编码基因的区域, 但是它们可能通过非编码 RNA 等调控的形式影响了性别相关的基因表达, 从而导致雌雄株的差异。

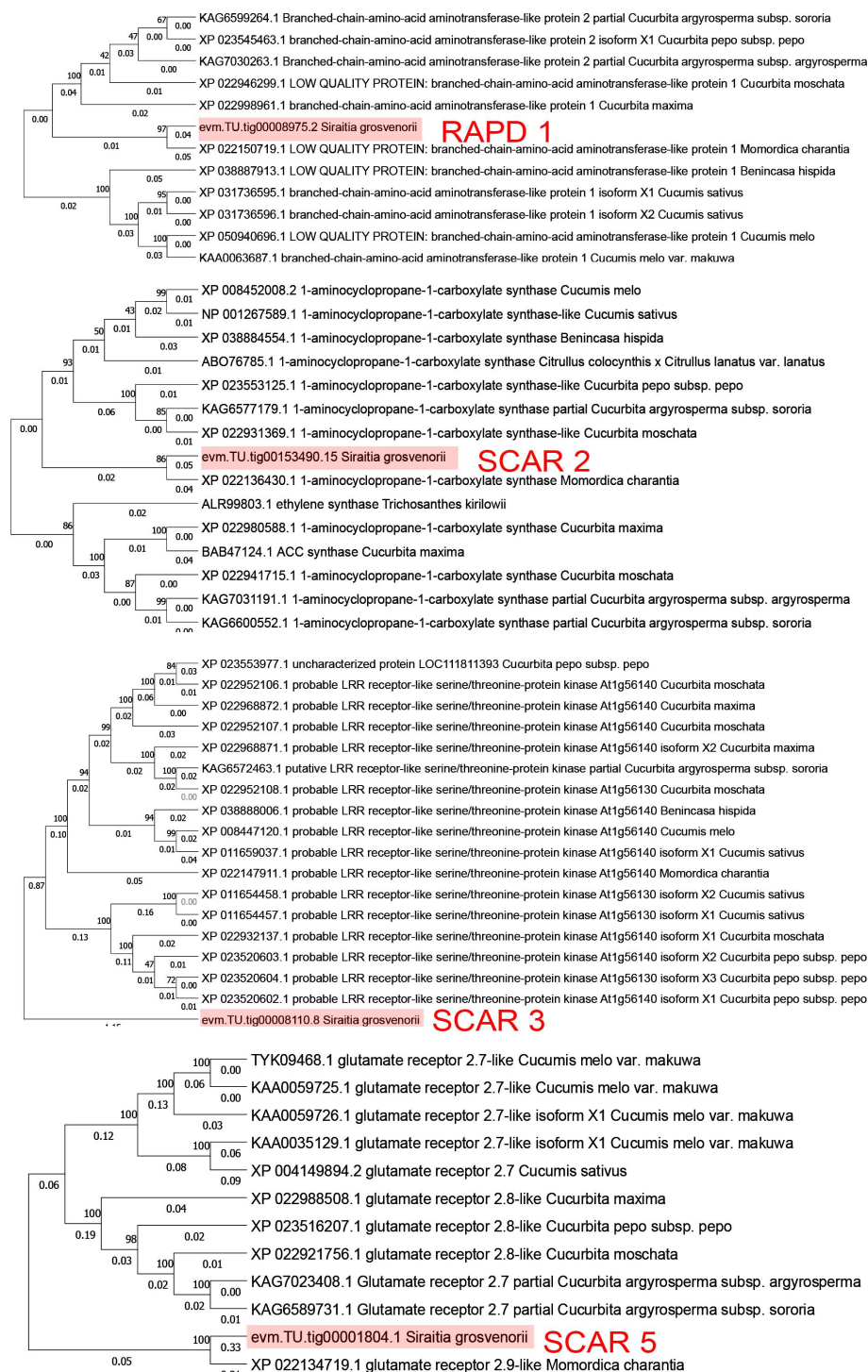


Figure 3. Encoded products of genes corresponding to sex-linked molecular markers in monk fruit
图 3. 罗汉果性别分子标记对应的基因的编码产物

葫芦科中存在大量雌雄异株的物种，是研究植物性别分化的良好模型，很多相关工作已经在甜瓜和黄瓜中展开。在甜瓜中，雌雄同株为野生型，雌雄同株 andromonoecious (M)、全雄株 androecious (A)和全雌株 gynoecious (G)基因分别编码 CmACS-7、CmACS11 和 CmWIP1 [27] [28] [31]。CmWIP1 编码的是

一个 C2H2 锌指型转录因子, 其表达导致心皮发育失败, 从而产生雄花; 而当 CmWIP1 的表达受到表观修饰抑制时, 可以产生全雌植株。近期的研究表明, CmWIP1 是通过招募共抑制子 TOPLESS 到心皮身份基因 *CRC* (*CRABS CLAW*) 的启动子上进行组蛋白去乙酰化从而抑制了 *CRC* 的表达; 相反, 破坏 TOPLESS-CmWIP1 的蛋白互作会导致 *CRC* 的表达和心皮的发育, 随后又导致雄蕊抑制基因 *CmACS7* 的表达, 最终导致雌花发育[32]。葫芦科中与性别相关的基因都是高度同源和保守的, 因此寻找罗汉果中 *WIP1* 基因也有利于对罗汉果性别分子机制的揭示。

目前在罗汉果中报道的性别相关的分子标记主要为 RAPD 和 SCAR 标记, 然而 RAPD 与 SCAR 标记在植物雌雄鉴定中存在多重局限: RAPD 为显性标记, 无法区分杂合体, 遗传分析精度受限; 其重复性差, 易受实验条件(如引物、温度)影响, 且存在共迁移问题, 可能误判条带; 需大量引物筛选, 效率较低。SCAR 标记虽通过克隆测序提升稳定性, 但依赖初始 RAPD 标记的准确性, 若关联性弱则失效; 开发成本高, 步骤复杂; 可能因基因组重复序列导致非特异性扩增, 且适用范围常限于特定品种。两者共同受限于性别决定机制的复杂性(如多基因或环境调控), 需结合表型观察; 对 DNA 质量要求高, 实验条件敏感(如退火温度)。

然而, 其它分子标记如简单重复序列(SSR, Simple Sequence Repeat)和单核苷酸多态性(SNP, Single Nucleotide Polymorphism)等标记在罗汉果的雌雄鉴定中还未见报道。SSR 的优点在于其所需 DNA 样品量少, 对基因组 DNA 质量要求不苛刻、可靠性高、重复性好、多态性丰富等; SNP 的优点在于其数量多、分布广泛、稳定性高、共显性、适于快速和规模化筛查。罗汉果的全基因组测序和组装已经完成, 这为今后 SSR 和 SNP 标记的开发提供了有利的条件。未来可结合 SSR、SNP 等共显性标记或高通量测序技术, 优化实验流程并验证标记特异性, 以提升鉴定可靠性。

参考文献

- [1] Guo, Y., Chen, X., Gong, P., Long, H., Wang, J., Yang, W., *et al.* (2024) *Siraitia grosvenorii* as a Homologue of Food and Medicine: A Review of Biological Activity, Mechanisms of Action, Synthetic Biology, and Applications in Future Food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **72**, 6850-6870. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c00018>
- [2] Gao, Y., Pu, C., Feng, Y., Xu, P., Xie, B., Yu, L., *et al.* (2025) *Siraitia grosvenorii* Extract Improves Insulin Tolerance and Pancreatic Islet Function in Ageing and HFD-Induced Diabetic Mice. *Food & Function*, **16**, 6870-6883. <https://doi.org/10.1039/d4fo05246c>
- [3] Huang, H., Peng, Z., Zhan, S., Li, W., Liu, D., Huang, S., *et al.* (2024) A Comprehensive Review of *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey: Chemical Composition, Pharmacology, Toxicology, Status of Resources Development, and Applications. *Frontiers in Pharmacology*, **15**. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1388747>
- [4] Itkin, M., Davidovich-Rikanati, R., Cohen, S., Portnoy, V., Doron-Faigenboim, A., Oren, E., *et al.* (2016) The Biosynthetic Pathway of the Nonsugar, High-Intensity Sweetener Mogroside V from *Siraitia grosvenorii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **113**, E7619-E7628. <https://doi.org/10.1073/pnas.1604828113>
- [5] Duan, J., Zhu, D., Zheng, X., Ju, Y., Wang, F., Sun, Y., *et al.* (2023) *Siraitia grosvenorii* (swingle) C. Jeffrey: Research Progress of Its Active Components, Pharmacological Effects, and Extraction Methods. *Foods*, **12**, Article 1373. <https://doi.org/10.3390/foods12071373>
- [6] Shivani, Thakur, B.K., Mallikarjun, C.P., Mahajan, M., Kapoor, P., Malhotra, J., *et al.* (2021) Introduction, Adaptation and Characterization of Monk Fruit (*Siraitia grosvenorii*): A Non-Caloric New Natural Sweetener. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 6205. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85689-2>
- [7] Tu, D., Luo, Z., Wu, B., Ma, X., Shi, H., Mo, C., *et al.* (2017) Developmental, Chemical and Transcriptional Characteristics of Artificially Pollinated and Hormone-Induced Parthenocarpic Fruits of *Siraitia grosvenorii*. *RSC Advances*, **7**, 12419-12428. <https://doi.org/10.1039/c6ra28341a>
- [8] Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H. (2008) Advances in Molecular Marker Techniques and Their Applications in Plant Sciences. *Plant Cell Reports*, **27**, 617-631. <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0507-z>
- [9] Ambreetha, S. and Balachandar, D. (2022) SCAR Marker: A Potential Tool for Authentication of Agriculturally Important Microorganisms. *Journal of Basic Microbiology*, **63**, 4-16. <https://doi.org/10.1002/jobm.202200419>

- [10] Grover, A. and Sharma, P.C. (2014) Development and Use of Molecular Markers: Past and Present. *Critical Reviews in Biotechnology*, **36**, 290-302. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.959891>
- [11] Shahwar, D., Khan, Z. and Park, Y. (2023) Molecular Marker-Assisted Mapping, Candidate Gene Identification, and Breeding in Melon (*Cucumis melo* L.): A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 15490. <https://doi.org/10.3390/ijms242015490>
- [12] Cooper, D.N. and Schmidtke, J. (1984) DNA Restriction Fragment Length Polymorphisms and Heterozygosity in the Human Genome. *Human Genetics*, **66**, 1-16. <https://doi.org/10.1007/bf00275182>
- [13] Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijmans, M., Lee, T.V.D., Hornes, M., *et al.* (1995) AFLP: A New Technique for DNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, **23**, 4407-4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>
- [14] Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. (1990) DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers Are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Research*, **18**, 6531-6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
- [15] Hadrys, H., Balick, M. and Schierwater, B. (1992) Applications of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) in Molecular Ecology. *Molecular Ecology*, **1**, 55-63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1992.tb00155.x>
- [16] Babu, K.N., Sheeja, T.E., Minoo, D., Rajesh, M.K., Samsudeen, K., Suraby, E.J., *et al.* (2020) Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Derived Techniques. In: *Methods in Molecular Biology*, Springer US, 219-247. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0997-2_13
- [17] 陶莉, 王跃进, 尤敏, 王有为. AFLP 用于构建罗汉果 DNA 指纹图谱及其幼苗雌雄鉴别[J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(1): 77-80.
- [18] 韦弟. 罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)性别的分子标记研究[D]: [硕士学位论文]. 南宁: 广西大学, 2005.
- [19] 黄夕洋. 罗汉果性别性状的遗传标记研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2006.
- [20] 黄姿梅. 罗汉果性别的分子标记研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2007.
- [21] 张会新, 张继贤. 一种鉴别罗汉果性别的 SCAR 分子标记[P]. 中国专利, CN104073550A. 2014-10-01.
- [22] 莫长明, 郭文锋, 李忠, 张玉. 罗汉果性别基因 SgACS2 及其扩增方法[P]. 中国专利, CN108624595A. 2018-10-09.
- [23] 刘晓林, 张智伟, 许大华, 张淑丽. 一种基于特异性分子标记的罗汉果雌雄株[P]. 中国专利, CN109182581A. 2019-01-11.
- [24] 谢文娟, 吴钰坡, 黄江, 刘彦延, 林军, 莫长明. 罗汉果性别相关的 SCAR 标记筛选[J]. 北方园艺, 2019(8): 32-39.
- [25] Xia, M., Han, X., He, H., Yu, R., Zhen, G., Jia, X., *et al.* (2018) Improved *de Novo* Genome Assembly and Analysis of the Chinese Cucurbit *Siraitia grosvenorii*, Also Known as Monk Fruit or Luo-han-guo. *GigaScience*, **7**. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giy067>
- [26] Boualem, A., Berthet, S., Devani, R.S., Camps, C., Fleuriel, S., Morin, H., *et al.* (2022) Ethylene Plays a Dual Role in Sex Determination and Fruit Shape in Cucurbits. *Current Biology*, **32**, 2390-2401. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.04.031>
- [27] Boualem, A., Fergany, M., Fernandez, R., Troadec, C., Martin, A., Morin, H., *et al.* (2008) A Conserved Mutation in an Ethylene Biosynthesis Enzyme Leads to Andromonoecy in Melons. *Science*, **321**, 836-838. <https://doi.org/10.1126/science.1159023>
- [28] Boualem, A., Troadec, C., Camps, C., Lemhemdi, A., Morin, H., Sari, M., *et al.* (2015) A Cucurbit Androecy Gene Reveals How Unisexual Flowers Develop and Dioecy Emerges. *Science*, **350**, 688-691. <https://doi.org/10.1126/science.aac8370>
- [29] Zhao, D. (2009) Control of Anther Cell Differentiation: A Teamwork of Receptor-Like Kinases. *Sexual Plant Reproduction*, **22**, 221-228. <https://doi.org/10.1007/s00497-009-0106-3>
- [30] Li, D., Sheng, Y., Niu, H. and Li, Z. (2019) Gene Interactions Regulating Sex Determination in Cucurbits. *Frontiers in Plant Science*, **10**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01231>
- [31] Martin, A., Troadec, C., Boualem, A., Rajab, M., Fernandez, R., Morin, H., *et al.* (2009) A Transposon-Induced Epigenetic Change Leads to Sex Determination in Melon. *Nature*, **461**, 1135-1138. <https://doi.org/10.1038/nature08498>
- [32] Zhang, S., Tan, F., Chung, C., Slavkovic, F., Devani, R.S., Troadec, C., *et al.* (2022) The Control of Carpel Determinacy Pathway Leads to Sex Determination in Cucurbits. *Science*, **378**, 543-549. <https://doi.org/10.1126/science.add4250>