

基于 Y 染色体特异区段筛选的大麻性别分子鉴定标记开发

樊普丞^{1,2}, 林慧慧³, 段宝忠¹, 曹雪², 陈铭阳², 万会花², 王思凡², 米要磊², 陈姗姗², 孟祥霄^{2*}

1. 大理大学药学院, 云南 大理 671000

2. 中国中医科学院中药研究所 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 中草药中精神活性物质发现与防控北京市重点实验室, 北京 100700

3. 南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515

摘要: **目的** 针对大麻 *Cannabis sativa* 早期性别鉴定困难及现有分子标记稳定性不足的问题, 基于大麻性染色体结构特征, 开发稳定、准确的大麻早期性别鉴定分子标记, 为生产中的幼苗期性别鉴定提供可靠技术手段。 **方法** 综合利用多份染色体级别大麻单倍型基因组数据, 通过生物信息学方法系统比对筛选 Y 染色体特异区段 (MSY) 中的雄性特异片段; 从大片 MSY 区域设计特异性分子标记, 以 36 份已知性别大麻样品 (包括 15 份雄株和 21 份雌株) 为材料, 通过 PCR 扩增及琼脂糖凝胶电泳, 对分子标记进行特异性与稳定性验证, 并与已报道标记 (MADC5、MADC6) 进行对比分析。 **结果** 共筛选获得 15 648 个 Y 染色体的特异区段, 从中开发出 12 个 SCAR 标记。经验证, 其中 5 个标记 (MSY99M-3、MSY99M-4、MSY99M-5、MSY100M-1、MSY100M-7) 在雄株中均能稳定扩增出清晰特异性条带, 而在所有雌株中均无扩增, 鉴定准确率达 100%, 优于部分已报道标记。 **结论** 基于 Y 染色体特异区段开发的 SCAR 标记具有高度特异性和稳定性, 可用于大麻早期性别的快速、精准鉴定, 对提高药用大麻相关产品的生产效率具有重要的应用价值。

关键词: 大麻; 雌雄鉴定; 分子标记; Y 染色体; SCAR 标记

中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)04-1473-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.04.023

Development of sex molecular identification markers in *Cannabis sativa* based on Y chromosome-specific region screening

FAN Pucheng^{1,2}, LIN Huihui³, DUAN Baozhong¹, CAO Xue², CHEN Mingyang², WAN Huihua², WANG Sifan², MI Yaolei², CHEN Shanshan², MENG Xiangxiao²

1. College of Pharmaceutical Science, Dali University, Dali 671000, China

2. State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, Beijing Key Laboratory of Psychoactive Substances Discovery and Control in Chinese Herbal Medicines, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

3. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To address the difficulty of early sex identification in *Cannabis sativa* and the instability of existing molecular markers, this study developed stable and accurate sex identification molecular markers based on the structural characteristics of sex chromosomes of *C. sativa*. This approach aims to provide a reliable tool for early sex determination at the seedling stage. **Methods** By comprehensively utilizing multiple chromosome-level haplotype genomic data of *C. sativa*, the male-specific segments in the male-specific of Y (MSY) region were systematically compared and screened through bioinformatics methods. Specific molecular markers were then designed from large MSY fragments and tested for specificity and stability using 36 *C. sativa* samples with known sex (15 males and 21 females) through PCR amplification and agarose gel electrophoresis, and the newly developed markers were compared with previously reported ones (MADC5 and MAD6) for validation. **Results** A total of 15 648 Y chromosome-specific sequences were identified, from which 12 SCAR markers were developed. Among them, five markers (MSY99M-3, MSY99M-4, MSY99M-5, MSY100M-1, and MSY100M-7) consistently produced distinct male-specific bands in all male plants, without amplification in female samples, achieving 100% identification accuracy, which was superior to that of previously reported markers. **Conclusion** The SCAR markers developed

收稿日期: 2025-10-02

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (82204579); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (ZZ15-YQ-039, ZXKT22051)

作者简介: 樊普丞, 硕士研究生, 研究方向为中药分子生物技术。E-mail: fanfan415517@163.com

*通信作者: 孟祥霄, 助理研究员, 从事中药鉴定研究。E-mail: xxmeng@icmm.ac.cn

from Y chromosome-specific regions demonstrated high specificity, stability, and reliability, enabling rapid and precise early sex identification in *C. sativa*. These markers offer significant potential to enhance the production efficiency of medicinal cannabis and related products.

Key words: *Cannabis sativa* L.; sex identification; molecular marker; Y chromosome; SCAR marker

大麻 *Cannabis sativa* L. 是一种具有悠久驯化历史的雌雄异株作物，其雌性植株具有更高的经济价值。在药用方面，传统中药火麻仁来源于雌性植株的成熟果实，大麻中的重要活性成分大麻二酚 (cannabidiol, CBD) 则主要在未授粉的雌性花序中富集^[1-2]。大麻因其药用价值在全球范围内已被栽培和利用数千年^[3]。在中国，大麻的根、叶、花和种子均可入药，其干燥成熟果实火麻仁具有润肠通便的功效，用于血虚津亏、肠燥便秘等症^[4]。除传统中药应用外，活性成分 CBD 也因其阿尔茨海默病、癫痫和精神分裂症等疾病治疗中的潜在疗效而成为当前研究的热点^[5]。以 CBD 为单一成分的药物 Epidiolex 已先后获得美国食品药品监督管理局、欧盟委员会及英国国家医疗服务体系等批准，用于治疗 Lennox-gastuat 或 Dravet 综合征等儿童先天性罕见癫痫^[6]。

在实际生产中，大麻作为火麻仁和 CBD 的植物来源分别以果实和未授粉的雌花为主要采收目标，因此合理调控雌雄比例对提高产值至关重要。由于大麻为风媒植物，花粉扩散能力强，在以 CBD 提取为目的的栽培中，即使少量雄株也会导致大面积雌株授粉，使花序缩小，CBD 产量下降可高达 60%^[7]，造成严重经济损失。因此，大麻幼苗期的性别鉴定具有重要意义。然而，大麻在早期生长阶段性别二型性不明显^[8]，通常需在开花期才能通过形态特征准确判别，限制了形态学鉴定在早期生产管理的应用。

随着分子生物学、遗传学、生物信息学的发展，分子标记为大麻幼苗期性别鉴定提供了新的途径。目前，常用于植物性别鉴定的分子标记主要包括随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic of DNA, RAPD)、扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP)、特定序列扩增区域 (sequence characterized amplified regions, SCAR)、简单序列重复 (simple sequence repeats, SSR) 和单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 等^[9]，并已广泛运用于沙棘^[10]、银杏^[11]、细叶菖蒲^[12]、啤酒花^[13]、番木瓜^[14]等雌雄异株植物。与形态学或化学方法相比，分子标记数量丰富、准确性高，且不受植物生长发育阶段和组织部位

影响，检测操作简便快捷，尤其适用于幼苗期性别鉴定。在大麻研究中，已有多个雄性连锁分子标记 (如 MADC1~MADC6) 被开发^[15-18]，并据此构建了具有较高稳定性和可重复性的 SCAR 标记^[8,15-16,18]，此外，赵铭森等^[19]通过对已有标记 MADC2 等的引物再开发，获得的 MADC2-8 标记在籽用大麻中鉴定准确率达 98.34%；孙玉婷等^[20]和孙哲等^[21]先后证明了 OPV-08 和 SCAR1 可在种子和幼苗期精确区分雌雄株。然而这些标记最初基于 RAPD 和 AFLP 等随机扩增技术开发，其筛选过程仍需较大工作量、且在特异性与稳定性方面存在一定局限。近年来，随着分子生物学技术的发展，更为稳定、高效的性别分子鉴定策略逐渐建立。例如，陶杰等^[22]基于全基因组信息构建的 InDel 标记 Is-02 和 Is-08 在多种质中验证准确率高达 100%。这些进展推动了大麻早期性别鉴定分子标记开发由随机策略向高特异性策略的转变，为性别鉴定研究和农业生产提供了有力支持。此外，还有一些雌性特异的分子标记被挖掘^[23]，但鉴于大麻 X/Y 型性别决定系统的特性及缺少足够的验证实验，这些标记可能不具有普适性。

大麻的性别主要由 X/Y 型性染色体系统控制。性染色体通常由 1 个或 2 个在减数分裂期仍能配对重组的假常染色体区 (pseudoautosomal region, PAR) 和一个非配对的性别决定区 (Sex-determining region, SDR) 构成^[24]。其中，SDR 包括雄性特有的 Y 染色体区域 (male-specific of Y, MSY) 和 X 染色体特异区域 (X specific region, XSR)^[25]。从序列角度观察，PAR 区域序列高度同源，而 MSY 由于重组抑制，与对应的 XSR 独立进化并逐渐累积序列分歧^[26]。近年来，随着大麻基因组组装数量与质量的不断提高^[27-29]，诸多不同品种的雌、雄株单倍型基因组及性染色体序列相继组装成功并发布^[30]，为鉴定性别决定区及开发基于 MSY 区域的雄性特异分子标记提供了坚实基础。本研究基于性染色体结构特征，利用生物信息学方法挖掘基因组中 MSY 区域序列，以筛选雄性特异片段，为大麻性别鉴定分子标记的开发提供新的思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Tissue/Grinder 2020 高通量组织研磨机(科瑞恩特(北京)科技有限公司); HB120-S LED 数显加热金属浴(大龙兴创实验仪器(北京)股份公司); X1 个人型迷你离心机(基因有限公司); OSE-260-03 TGem Pro 分光光度计(天根生化科技(北京)有限公司); T20 型双槽梯度 PCR 仪(杭州朗基科学仪器有限公司); DYY-6D 型电泳仪(北京市六一仪器厂); GenoSens 2150 凝胶成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司)。

1.2 材料

庆大麻 1 号、牡麻 1 号、京麻 1 号等 8 个大麻品种的种子用于大麻的栽培和表型观察, 样品的详

细信息见表 1, 测试样品由中国中医科学院中药研究所孙伟研究员鉴定为大麻 *C. sativa* L.。大麻样品播种后于 4~5 周龄(约 7~9 片真叶时)采集部分大麻叶片立刻在硅胶中干燥保存, 用于总 DNA 提取实验和分子标记筛选与验证, 样品继续栽培至观察花序表型后, 记录样本性别, 并采收植株在硅胶中干燥保存。基因组数据来源于 Lynch 等^[30]发布的 4 份雄性和 8 份雌性的 24 个染色体级别单倍型基因组序列(https://resources.michael.salk.edu/root/tools.html?tool=%2Fresources%2Fcannabis_genomes%2Findex.html), 基因组详细信息见表 2。绿色荧光核酸染料(北京索莱宝科技有限公司); DC104-01 FastPure Plant DNA Isolation Mini Kit、2×Rapid

表 1 大麻样品信息

Table 1 Basic information of *C. sativa* samples

序号	品种-编号	性别	序号	品种-编号	性别	序号	品种-编号	性别
1	龙大麻 1 号-1	雄	13	牡麻 1 号-2	雌	25	方科 1 号-2	雌
2	龙大麻 1 号-2	雄	14	牡麻 1 号-3	雄	26	方科 1 号-3	雄
3	龙大麻 1 号-3	雌	15	牡麻 1 号-4	雌	27	方科 1 号-4	雄
4	龙大麻 1 号-4	雌	16	牡麻 1 号-5	雄	28	方科 1 号-5	雌
5	龙大麻 1 号-5	雄	17	牡麻 1 号-6	雌	29	龙大麻 2 号-1	雄
6	庆大麻 1 号-1	雄	18	京麻 1 号-1	雌	30	龙大麻 2 号-2	雌
7	庆大麻 1 号-2	雄	19	京麻 1 号-2	雄	31	龙大麻 2 号-3	雌
8	庆大麻 1 号-3	雄	20	京麻 1 号-3	雌	32	龙大麻 2 号-4	雌
9	庆大麻 1 号-4	雌	21	京麻 1 号-4	雌	33	龙大麻 2 号-5	雌
10	庆大麻 1 号-5	雌	22	京麻 1 号-5	雌	34	龙大麻 2 号-6	雄
11	庆大麻 1 号-6	雌	23	京麻 1 号-6	雄	35	Dinamed KUSH (雌化品种)	雌
12	牡麻 1 号-1	雄	24	方科 1 号-1	雌	36	Tatanka (雌化品种)	雌

表 2 不同品种大麻的参考基因组详细信息

Table 2 Detailed information of reference genomes from different *C. sativa*

序号	单倍型基因组名	栽培品种/样本	化学型	性别	单倍基因组中的性染色体类型
1	AH3Ma	Ace High 3-2	THCA	雄	chrX
2	AH3Mb				chrY
3	BCMa	BooneCountry	CBDA	雄	chrX
4	BCMb				chrY
5	BOAXa	BoAx	CBDA	雌	chrX
6	BOAXb				chrX
7	GERv1a	Germany	CBDA	雌	chrX
8	GERv1b				chrX
9	GRMa	GoldenRedwood	CBDA	雄	chrY
10	GRMb				chrX
11	KCDv1a	KCDora monecious	CBDA	雌	chrX
12	KCDv1b				chrX
13	KOMP a	Kompolti	CBDA	雄	chrX
14	KOMP b				chrY
15	NLv1a	NorthernLights	THCA	雌	chrX
16	NLv1b				chrX
17	SAN2a	Santhica-27-2 monoecious	CBGA	雌	chrX
18	SAN2b				chrX
19	SODLa	SourDiesel	THCA	雌	chrX
20	SODLb				chrX
21	WHWa	WhiteWidow	THCA	雌	chrX
22	WHWb				chrX
23	YMv2a	YunMa	CBDA	雌	chrX
24	YMv2b				chrX

Taq Master Mix、DL2000 Plus DNA Marker (南京诺唯赞生物科技股份有限公司); TSINGKE TSJ001 高纯度低电渗琼脂糖 (北京擎科生物科技股份有限公司)。

2 方法

2.1 性染色体比对与特异区段筛选

采用 winnowmap v2.03 对表 2 中基因组序列进行相互比对, 利用 bedtools v2.26.0 对比对区间进行处理, 包括取并集 (merge)、交集 (intersect) 和补集 (complement) 操作, 并通过 getfasta 提取相应序列。首先, 将 BCMb 基因组中的 Y 染色体序列比对至性染色体 X 型的 BCMa 单倍型基因组, 获得未能比对的候选 Y 染色体特异区段 (数据集 1)。随后, 将数据集 1 与其余 19 份基因组 (表 2 序号: 1、5~8、10~13、15~24) 中的 X 染色体序列进行分别比对, 取并集后再与数据集 1 取补集, 以过滤掉数据集 1 中可以比对到含 X 染色体大麻基因组的序列片段, 得到进一步过滤后的 Y 染色体特异区段 (数据集 2)。同时将数据集 1 分别与其余 3 份基因组 (表 2 序号: 2、9、14) 中的 Y 染色体进行比对, 取交集, 以筛选出不同品种共有的 Y 染色体特异区段 (数据集 3)。将数据集 2 与数据集 3 取交集, 获得最终的 Y 染色体特异序列 (数据集 4)。

2.2 雄性特异分子标记的设计

对数据集 4 进行长度排序, 选择较长区段作为标记开发候选区域。利用 Primer-Blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>) 设计特异性引物 (扩增片段大小为 200~600 bp), 并由北京六合华大基因科技有限公司合成。随后, 采用 BLAST v2.10.1 的 blastn-short 模式, 将设计的引物比对至雌、雄性单倍型基因组, 以验证其在 Y 染色体上的特异性和一致性。

2.3 基因组 DNA 的提取

取样品适量, 使用 75% 乙醇擦拭表面, 吸干表面水分, 取约 20 mg, 置 1.5 mL 离心管中, 使用高通量组织研磨机研细, 采用植物基因组 DNA 提取试剂盒, 参照说明书项下操作提取样品总 DNA。采用微量分光光度计检测提取 DNA 浓度及纯度。

2.4 分子标记的筛选与验证

挑选雌、雄植株各 3 株 (表 1 中的序号 2、27、29、33、11 和 36 号样品) 作为初筛材料, 利用设计的 12 对引物进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 2×

Rapid Taq Master Mix 13 μL, 正向引物 1 μL, 反向引物 1 μL, ddH₂O 9 μL, 基因组 DNA 1 μL。PCR 反应条件 95 °C、4 min; 95 °C、30 s, 55 °C、30 s, 72 °C、10 s, 35 循环; 72 °C、10 min。

同时设置 ITS2 和已报道的雄性特异标记 MADC5、MADC6 作为阳性对照 (SCAR 119 F/R 的退火温度为 52 °C, 其他反应条件不变), 空模板作为阴性对照。引物序列见表 3。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测, 并通过凝胶成像系统记录结果, 筛选出具有良好特异性的候选引物。进一步选取 36 份已鉴定性别的样本 (15 雄、21 雌) 进行扩展验证, PCR 反应体系和扩增程序同上, 以评估标记的有效性和稳定性。

表 3 引物序列

Table 3 Primer sequences

引物名称	引物序列 (5'→3')
MSY99M-1	F: TAGGGGAGTGGAAAACAACC R: TAAGCCGTACACACTCACTC
MSY99M-2	F: TGTGTCTGTACTGTGCTTGT R: GGTTGGACTTAGCGTCTACA
MSY99M-3	F: CAACTATCAGCACCGTACCT R: GGTTGTTTTCCACTCCCCTA
MSY99M-4	F: GTAGAAGCCCCATCCCTTAC R: GTCTTCTCTACGACCTGCAA
MSY99M-5	F: CCAGTTGACCAAACAAGCA R: AGGTACGGTGCTGATAGTTG
MSY100M-1	F: CCCCCAATAGTTAAGTCGCT R: AGAAACCTGTGTCGAACCTT
MSY100M-2	F: GTGCCAATGTAGACAACCAC R: TCACCTCCTCTCCTCTTCAA
MSY100M-3	F: GATACCTCGTCCAACCATGT R: AAGAAACCTGTGTCGAACCT
MSY100M-4	F: GGTGCTTCCTTTTGTGTGTT R: GGCATCAACACTCAAGGTTT
MSY100M-5	F: AGTGCCAATGTAGACAACCA R: TTCACCTCCTCTCCTCTTCA
MSY100M-6	F: AAGCCTCACAATGCTCGATA R: GATTTGGGGTGTGTTTTGCCT
MSY100M-7	F: CGGGTGGAACCTTTGATCCTA R: GAGGGAAAAACCCAAGCATC
ITS2	P3: YGACTCTCGCAACGGATA E4: RGTTCCTTTTCTCCGCTTA
SCAR119 (MADC6)	F: TCAAACAACAACAACCG R: GAGGCCGATAATTGACTG
SCAR323 (MADC5)	F: GAGCGGACATCATTGCCT R: ATCACCCACCGTTTAGG

3 结果与分析

3.1 Y染色体特异性序列的鉴定

比对分析结果显示, 候选 Y 染色体特异区段 (数据集 1) 共计 16 120 个, 平均长度约 1 003 bp。经 19 份 X 染色体序列过滤后, 获得的数据集 2 包含 29 438 个区段, 平均长度约 180 bp。经与其他 3 份 Y 染色体取交集得到的数据集 3 包含 13 496 个区段, 平均长度约 1 095 bp。最终, 结合数据集 2 与数据集 3, 筛选出 15 648 条 Y 染色体特异序列 (数据集 4), 平均长度约 275 bp, 所有区段均分布于 BCMb 基因组中 Y 染色体的 28.6~107.8 Mb, 与 Lynch 等^[30]报道的 Y 染色体 SDR 区域一致。

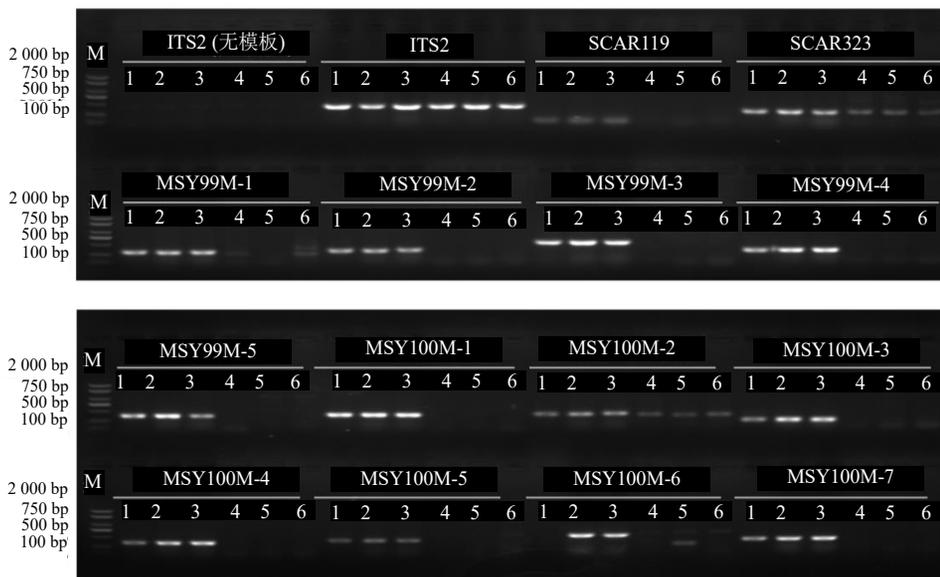
3.2 雄性特异分子标记的开发

基于 ChrY: 99.94~99.95 Mb 和 ChrY: 100.78~

100.79 Mb 2 个较长区段 (12 025 bp 和 10 252 bp), 共设计获得 12 对引物。BLAST 比对结果表明, 所有引物均具有较好的 Y 染色体特异性和一致性, 适合后续验证。

3.3 分子标记的特异性与准确性验证

PCR 初筛结果显示, 12 对引物中有 8 对在雄株中扩增出清晰条带, 而在雌株中无扩增产物, 表现出雄性特异性; 其余 4 对在部分雌性样品中出现非特异扩增或弱阳性条带。阳性对照 ITS2 在所有样本中均有扩增, 阴性对照无条带, 说明实验体系可靠。已报道的 MADC6 标记在部分雌株中 750~1 000 bp 出现非特异性条带, 而 MADC5 标记在部分雌株中出现阳性条带, 提示其特异性不足 (图 1)。



M-Marker; 1-龙大麻 1 号-2; 2-方科 1 号-4; 3-龙大麻 2 号-1; 4-龙大麻 2 号-5; 5-庆大麻 1 号-6; 6-Tatanka (雌化品种)。

M-Marker; 1-Longdama NO.1-2, 2-Fangke NO.1-4; 3-Longdama-NO.2-1; 4-Longdama NO.2-5; 5-Qingdama NO.1-6; 6-Tatanka (feminized seeds)。

图 1 候选雄性特异性分子标记的初筛

Fig. 1 Preliminary screening of candidate male-specific molecular markers

进一步的样本扩展验证表明, 8 对候选标记在 36 个样本中均表现出 100% 的鉴定准确率。其中, MSY99M-3、MSY99M-4、MSY99M-5、MSY100M-1 和 MSY100M-7 在雄性样品中扩增条带明亮, 在雌性样品中无明显目的条带或非特异性扩增条带, 特异性和稳定性最佳, 可作为大麻幼苗性别鉴定的优选分子标记 (图 2)。

4 讨论

本研究基于大麻染色体的结构特征, 利用生物信息学方法从基因组层面挖掘 Y 染色体雄性特异序

列片段, 并在此基础上设计和验证了一系列雄性特异性分子标记。结果显示, 其中 5 对引物在雄株中均能扩增出清晰且稳定的特异条带, 而在雌株中未出现条带, 鉴定准确率达 100%。这一结果显示, 本研究开发的标记在大麻幼苗期的性别鉴定中具有较高的稳定性和应用价值。与已有的 OPV-08、SCAR1 以及 InDel 等分子标记的研究结果一致^[19-22], 本研究进一步证明了基于性染色体序列比对的分子标记开发方法是实现大麻早期性别精准鉴定的有效策略。此外, 本研究中开发的分子标记也可用于大

了开发效率、可靠性和重复性。例如, 验证结果显示 MADC5 和 MADC6 在雌株中存在弱阳性条带和非特异性扩增, 提示部分早期开发的标记在不同遗传背景下可能存在稳定性不足的问题。本研究采用的方法有效避免了随机扩增标记常见的假阳性和多态性丢失问题, 从而提升了性别鉴定的准确度和适用性, 并且大量减少实验筛选工作, 提高标记开发效率。值得注意的是, 尽管已有研究报道了雌性特异性分子标记^[23], 但鉴于大麻 X/Y 型性别决定系统的特性及缺乏广泛验证, 这类标记的普适性和稳定性仍存在争议。相比之下, 基于 MSY 区域筛选的雄性特异标记在理论基础与实证结果上均更为可靠。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ren G P, Zhang X, Li Y, *et al.* Large-scale whole-genome resequencing unravels the domestication history of *Cannabis sativa* [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(29): eabg2286.
- [2] Jiang H E, Li X, Zhao Y X, *et al.* A new insight into *Cannabis sativa* (Cannabaceae) utilization from 2500-year-old Yanghai Tombs, Xinjiang, China [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 108(3): 414-422.
- [3] Luo X Z, Reiter M A, d'Espaux L, *et al.* Complete biosynthesis of cannabinoids and their unnatural analogues in yeast [J]. *Nature*, 2019, 567(7746): 123-126.
- [4] 金贤兰. 大麻仁的药理作用与临床应用 [J]. *现代医药卫生*, 2007, 23(17): 2624-2625.
- [5] Burstein S. Cannabidiol (CBD) and its analogs: A review of their effects on inflammation [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23(7): 1377-1385.
- [6] O'Sullivan S E, Jensen S S, Nikolajsen G N, *et al.* The therapeutic potential of purified cannabidiol [J]. *J Cannabis Res*, 2023, 5(1): 21.
- [7] Lipson Feder C, Cohen O, Shapira A, *et al.* Fertilization following pollination predominantly decreases phytocannabinoids accumulation and alters the accumulation of terpenoids in *Cannabis* inflorescences [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 753847.
- [8] Cristiana Moliterni V M, Cattivelli L, Ranalli P, *et al.* The sexual differentiation of *Cannabis sativa* L.: A morphological and molecular study [J]. *Euphytica*, 2004, 140(1): 95-106.
- [9] 王刚, 曹佩, 韦学敏, 等. 分子标记技术在药用植物种质资源研究中的应用 [J]. *中国现代中药*, 2019, 21(11): 1435-1444.
- [10] Korekar G, Sharma R K, Kumar R, *et al.* Identification and validation of sex-linked SCAR markers in dioecious *Hippophae rhamnoides* L. (Elaeagnaceae) [J]. *Biotechnol Lett*, 2012, 34(5): 973-978.
- [11] Ling J, Rui-Lin Y, Mao-Xue L I, *et al.* Identification of a Sex-associated RAPD marker in *Ginkgo biloba* [J]. *J Integr Plant Biol*, 2003, 45(6): 742.
- [12] Sarmah P, Sarma R N. Identification of a DNA marker linked to sex determination in *Calamus tenuis* Roxb., an economically important rattan species in northeast India [J]. *Mol Breed*, 2011, 27(1): 115-118.
- [13] Patzak J, Vejl P, Skupinová S, *et al.* Identification of sex in F1 progenies of hop (*Humulus lupulus* L.) by molecular marker [J]. *Plant Soil Environ*, 2002, 48(7): 318-321.
- [14] Chaves-Bedoya G, Nuñez V. A SCAR marker for the sex types determination in Colombian genotypes of *Carica papaya* [J]. *Euphytica*, 2007, 153(1): 215-220.
- [15] Sakamoto K, Shimomura K, Komeda Y, *et al.* A male-associated DNA sequence in a dioecious plant, *Cannabis sativa* L. [J]. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36(8): 1549-1554.
- [16] Mandolino G, Carboni A, Forapani S, *et al.* Identification of DNA markers linked to the male sex in dioecious hemp (*Cannabis sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 98(1): 86-92.
- [17] Sakamoto K, Abe T, Matsuyama T, *et al.* RAPD markers encoding retrotransposable elements are linked to the male sex in *Cannabis sativa* L [J]. *Genome*, 2005, 48(5): 931-936.
- [18] Törjék O, Bucherna N, Kiss E, *et al.* Novel male-specific molecular markers (MADC5, MADC6) in hemp [J]. *Euphytica*, 2002, 127(2): 209-218.
- [19] 赵铭森, 方书生, 陈瑶, 等. 籽用大麻性别连锁标记的验证及 SCAR 标记开发 [J]. *热带作物学报*, 2019, 40(10): 2076-2082.
- [20] 孙玉婷, 丁美云, 王璐瑶, 等. 工业大麻种子及苗期性别鉴定方法的研究 [J]. *甘肃农业大学学报*, 2023, 58(1): 130-136.
- [21] 孙哲, 王金娥, 乔永刚. 工业大麻发育早期雌雄株鉴定方法的研究 [J]. *农业与技术*, 2021, 41(14): 20-24.
- [22] 陶杰, 潘根, 黄思齐, 等. 工业大麻性别连锁 Indel 标记的筛选与鉴定 [J]. *中国麻业科学*, 2022, 44(3): 143-150.
- [23] Shao H, Song S J, Clarke R C. Female-associated DNA polymorphisms of hemp (*Cannabis sativa* L.) [J]. *J Ind Hemp*, 2003, 8(1): 5-9.
- [24] Lappin F M, Medert C M, Hawkins K K, *et al.* A polymorphic pseudoautosomal boundary in the *Carica papaya* sex chromosomes [J]. *Mol Genet Genomics*, 2015, 290(4): 1511-1522.

- [25] Galtier N. Recombination, GC-content and the human pseudoautosomal boundary paradox [J]. *Trends Genet*, 2004, 20(8): 347-349.
- [26] Campos J L, Qiu S, Guirao-Rico S, *et al.* Recombination changes at the boundaries of fully and partially sex-linked regions between closely related *Silene* species pairs [J]. *Heredity*, 2017, 118(4): 395-403.
- [27] van Bakel H, Stout J M, Cote A G, *et al.* The draft genome and transcriptome of *Cannabis sativa* [J]. *Genome Biol*, 2011, 12(10): R102.
- [28] Grassa C J, Weiblen G D, Wenger J P, *et al.* A new *Cannabis* genome assembly associates elevated cannabidiol (CBD) with hemp introgressed into marijuana [J]. *New Phytol*, 2021, 230(4): 1665-1679.
- [29] Lavery K U, Stout J M, Sullivan M J, *et al.* A physical and genetic map of *Cannabis sativa* identifies extensive rearrangements at the THC/CBD acid synthase loci [J]. *Genome Res*, 2019, 29(1): 146-156.
- [30] Lynch R C, Padgitt-Cobb L K, Garfinkel A R, *et al.* Domesticated cannabinoid synthases amid a wild mosaic *Cannabis* pangenome [J]. *Nature*, 2025, 643(8073): 1001-1010.

[责任编辑 时圣明]