

文章编号: 1000-5692(2002)02-0217-05

银杏雌雄株性别鉴别研究进展

程晓建¹, 王白坡¹, 郑炳松¹, 方群², 陈金明³

(1. 浙江林学院 生命科学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江林学院 工程学院, 浙江 临安 311300; 3. 浙江省兰溪市石渠林业站, 浙江 兰溪 321100)

摘要: 综述了银杏雌雄株特性及性别鉴别方面的研究, 将其概括为形态学、生理生化、细胞学、同工酶及化学药剂处理等几个方面。通过形态特征来鉴别银杏雌雄株性别, 相对比较简单易行; 生理生化指标在已知性别的成年植株之间进行分析测定, 结果存在着一定的差异性; 用化学药剂处理, 结果也有区别, 但上述方法均欠准确可靠。染色体形态特征是进行银杏雌雄性别鉴定的重要方法之一, 也是最直接的遗传学证据; 用同工酶谱进行银杏雌雄株性别鉴定研究, 同样具有一定的效果, 但这2种方法要求较高, 比较烦琐。特异蛋白质技术和分子生物学技术是近年来发展起来的鉴别植物雌雄株性别的新技术新方法, 具有相对准确可靠的特点, 在银杏雌雄株性别的鉴定上可以一试。参42

关键词: 银杏; 性别鉴定; 分子生物学; 进展

中图分类号: S718.43; S792.95 **文献标识码:** A

银杏 *Ginkgo biloba* 集药用、食用、材用和观赏于一身, 具有特殊的经济价值和重要的科学研究价值。近几年来在我国发展迅速, 种植规模日渐扩大, 特别是在园林绿化工程中被广泛使用。银杏为雌雄异株植物, 实生树定植后需 20~25 a 才能开花结果, 分出雌雄。因银杏种子在成熟时具有一种特殊的臭味, 落果腐烂污染城市及行人, 所以作为绿化树种只需雄株, 不需要以生产白果为目的的雌株。因此, 银杏雌雄株性别的早期鉴别不仅具有理论意义, 而且具有重要的实用价值。国内外学者曾在其形态学、生理生化指标、同工酶谱、化学药剂处理和染色体核型鉴定等方面进行了研究, 现分别综述如下, 为进一步研究、开发和利用银杏这一珍贵资源提供依据和参考。

1 银杏性别鉴定研究现状

1.1 形态学鉴定研究

通过形态特征来鉴定植物性别, 比较简单直观, 只需对植株的形态特征作细心观察对比即可, 具有一定的可行性。早在 50 年代初波兰学者 Bugala 就通过叶色确定了欧洲山杨 *Populus tremula* 的性别^[1]。有些研究者观察到银杏等不同性别植株在叶片大小、叶型、冠型、枝条节间长短以及根等方面存在差异^[2,3]。王涛在银杏生产实践的基础上经过总结, 分别从发芽和落叶的迟早、主干与主枝的夹角大小、同龄树冠形成时间的早晚、成龄树短枝的长短、叶片大小及缺刻深浅、花芽大小和花序形态等 7 个方面进行了阐述^[4]。日本的阪本荣作通过对银杏雌雄株叶柄的大量镜检, 发现雌株叶柄下方维管束周围有油状空隙, 而雄株叶柄下方维管束周围都没有^[5]。徐东生应用多元统计分析中的判别分析

收稿日期: 2001-10-10; 修回日期: 2002-01-17

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(391016)

作者简介: 程晓建(1971-), 男, 浙江开化人, 讲师, 从事经济林及果树园艺研究。

方法判别猕猴桃 *Actinidia chinensis* 雌雄株, 用能开花结果的成年树建立了判别方程, 但能否用该方法进行银杏等其他雌雄异株植物及苗期鉴定上还有待于进一步研究^[9]。研究结果表明, 银杏雌雄株有以下特征: 在苗木时期, 雌株比雄株小, 粗壮, 横生枝多, 叶小且裂刻少, 秋季叶黄时期早。在大苗时期, 雄株枝下垂, 并生有乳状突起; 雌株枝直立, 无乳状突起, 但也有雌株开张角度大, 枝条平展的情况。雌株一般叶基分叉; 而雄株不分叉, 雄株裂叶较雌株深得多。雌株在苗高 60 cm 时, 根部有乳状突起。雌株叶柄维管束的四周有油状空隙, 而雄株没有。对于已结果的成龄大树, 雄株树体高大, 轮生枝明显, 短枝较少, 长枝发达, 枝角较小, 枝条垂直向上, 大多数为塔形树冠; 而雌株树冠为广卵形, 短枝密集。雌花芽瘦而稍尖; 雄花芽大而饱满, 顶部稍平。雄花序为柔荑花序状, 每 1 朵雄花具 1 个短柄, 上有 30 个以上花药柄, 每柄上有 1 对花药; 每 1 朵雌花有 1 个珠柄, 珠柄上端着生 2 个胎座, 每胎座着生 1 个胚珠^[5,7,8]。虽然凭外部形态特征来鉴别银杏性别, 方法简单易行, 但要等植株达到一定年龄, 一定大小, 因而“早期鉴定”存在一定难度, 而且形质指标差距甚大, 缺少数字化和图谱的明确标准, 易发生讹谬。

1.2 生理生化研究

许多的研究表明, 雌雄的代谢差异集中表现在氧化还原能力方面。一般说来, 雌性器官或个体处于较还原状态, 而雄性的处于相对氧化状态^[9]。赵云云等对银杏雌雄株氨基酸组分及含量进行了研究, 发现银杏雌雄株的氨基酸平均含量有差异, 雄株高于雌株, 其中胱氨酸和酪氨酸含量较为突出^[10]。对银杏雌雄株的代谢差异检测发现雌雄株叶绿素和维生素 C 的含量有差异^[11]。以高效液相色谱 (HPLC) 法分析银杏、杨梅 *Myrica rubra*、猕猴桃等树种中酸性醇溶性酚类物质的结果表明, 同一树种不同性别的植株之间存在明显的性别相关峰, 这些树种叶片水溶性酚类物质总量的测定结果是雌株普遍高于雄株, 经检验这种差异达到极显著水平^[12]。在对复叶槭 *Acer negundo* 和千年桐 *Aleurites montana* 等雌雄异株植物的研究中, 取得了相同的结论^[9,13], 但与香榧 *Torreya grandis* 的研究结果相反^[14]。王白坡等分析了银杏雌雄株芽尖及叶片中内源激素含量, 结果表明, 在整个生长季节雌株芽尖中 GA₃ 和 ZT 的平均含量比雄株高 20% 以上; 而 IAA 和 ABA 相反, 雄株高于雌株, 证实了成年银杏不同性别间内源激素水平存在着一定差异^[15], 但未对幼龄银杏实生树进行系统研究。蔡汝等作了银杏雌雄株叶片光合特性、蒸腾速率及产量的比较研究, 结果表明, 银杏雌雄株叶片的光合能力、蒸腾速率及构成叶片产量的部分因子存在明显差异。银杏雄株叶片光合速率高于雌株 15.19%~20.88%, 蒸腾速率高于雌株 41.91%~52.92%, 雄株的叶面积与鲜质量均高于雌株^[16]。除此之外, 对一些雌雄异株植物还进行了胡萝卜素含量和呼吸强度等生理指标比较研究, 发现雌雄株之间存在一定的差异性^[9]。但以上生理生化指标大多力求从不同侧面寻找已知性别的成年植株之间进行测定, 表现出一定的差异性, 尽管有些差异在苗期也有反映, 但多表现在量的方面, 能否用于苗木早期性别鉴定有待于进一步研究。

1.3 染色体核型研究

染色体形态特征是进行银杏雌雄性别鉴定的重要方法之一, 也是最直接的遗传学证据。国内外有关银杏染色体组成及性染色体的研究已有一些报道。Tanaka 等描述了叶片的染色体组成, 并发现第 1 对大染色体的短臂上及第 8 对染色体的长臂上有随体^[17], 但没有报道性染色体存在的证据。Newcomer 通过观察发现大染色体存在二型性, 并推测这种二型染色体与银杏的性别决定有关^[18]。C. L. Lee (李正理) 及 Pollock 的研究结果表明, 银杏雌雄株的染色体具有形态上的不同, 雌株 4 条染色体上有随体, 而雄株只有 3 条染色体上有随体。在雄株中的 1 对最短的次端部着丝粒染色体中, 只有其中的 1 条染色体上出现随体, 因此认为这 1 对染色体即为性染色体, 并提出银杏的性别决定机制属 XY 型, 雌株为 XX 型, 雄株为 XY 型^[19-21]。这与陈瑞阳认为银杏的性别决定机制属 WZ 型, 雄株为 ZZ 型, 雌株为 WZ 型^[22] 的结论不尽一致。陈学森等研究结果表明, 银杏雌雄株染色体数目及核型一致, 唯一区别是雌株 4 条染色体上有随体, 而雄株仅有 3 条染色体上有随体, 与李正理的结论完全一致, 但同时发现雌株第 10 对亚中部着丝粒染色体的长臂上各有 1 个随体, 而雄株第 10 对亚中部着丝粒染色体的长臂上仅有 1 个随体, 属异型染色体。因此, 第 10 对亚中部着丝粒染色体可能为性染色体, 并给出

了银杏雌雄株的核型^[23]。根据上述核型分析的结果, 对 75 棵胚培试管苗进行了性别早期的鉴定, 雌株为 31 棵, 占 41.3%, 雄株为 44 棵, 占 58.7%, 理论上, 雌雄株的比例应为 1:1。这种雌株减少的机制, 有待于进一步研究^[23~25]。

1.4 同工酶谱研究

钟海文等经过 4 a 对 2 株已知雌雄性别的银杏采用不同提取液提取、不同电泳方法和不同的显色方法进行鉴定, 所得的过氧化物酶图谱基本相同, 雌雄株间存在有规律性的差异, 即雌株幼叶较雄株有较多的过氧化物酶区带, 并利用这一区带对 12 株已知性别的银杏植株进行了过氧化物同工酶的普查, 显示出与定点观察同样的结果, 在对 9 株未知性别的银杏植株进行鉴定中, 取得了与雌雄株一致的 2 种类型的过氧化物同工酶的图谱, 从而说明了银杏苗木之间过氧化物同工酶的差异, 可能成为银杏性别鉴定的生理生化指标^[26]。四川林业科学研究所种源组分析了银杏中的过氧化物同工酶, 结果表明, 雄株酶谱带具有 1 条活性强的和 1 条活性弱的; 而雌株具有 3 条活性中等和 2 条活性弱的, 二者差异明显^[27]。岩崎文雄对同样材料的研究结果发现, 从原点起可看到以 A, B, C, D 顺序表示的 4 条酶带, 雌株没有 C 带, 而雄株则有明显的 C 带^[28]。何业华等对银杏叶片进行了过氧化氢酶活性的测定, 结果发现, 银杏雄株叶片过氧化氢酶的活性显著高于雌株, 并在实生苗中也证实了同样的现象^[29]。陈学森分别从 5 株实生雌株和 5 株实生雄株上取叶片进行过氧化物酶及酯酶同工酶分析, 结果表明, 雌株或雄株个体间酶带差异明显, 但雌雄株找不到相互区别的特征酶带^[30]。说明上述酶带差异不一定是雌雄性别造成的, 有可能与其他性状的变异有关, 诸如叶片性状等, 这些变异在银杏雌雄株内普遍存在^[24], 且由于在早期鉴定时, 可选择的酶种类较少, 显色的酶带不多, 有时并不能区分开雌雄株。

1.5 化学药剂处理研究

日本的岩崎文雄曾利用植物对氯化钾的抗性来鉴别银杏雌雄, 但需时较长, 药效反应也不明显, 后来根据银杏叶片在重铬酸钾 ($1.0 \sim 10.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、硫酸铜 ($10.0 \sim 50.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、硫酸锌 ($50 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和氯酸钾 ($30.0 \sim 70.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 等溶液中的显色反应来鉴定雌雄性别。结果表明, 虽因药剂种类和质量分数不同, 但均以雌性叶片上表现药害严重, 在银杏实生个体和猕猴桃叶片上试验, 取得了同样结果^[31]。李鸿勋根据银杏叶部提取液加入斐林试剂水浴后产生的不同反应和沉淀来鉴定银杏雌雄株。结果表明, 不论是性成熟的成年银杏, 还是幼龄苗木, 反应基本上一致, 只是幼龄银杏水浴时间需加长, 且所生成沉淀物较成年银杏多, 但总的比较, 不同雌雄株的反应差别还是明显的^[32]。张雪明则采用溴麝香草酚兰 (BTB) 和氯化三苯基四氮唑 (TTC) 对银杏和杨梅叶片浸提液进行显色反应, 结果发现, 银杏和杨梅雌雄株对一定浓度的 BTB 反应敏感, 呈不同颜色反应, 即雌株呈黄色, 雄株呈兰绿色, 稍不同的是银杏反应较大, 保温时间较短, 经多次重复试验, 结果均为一致, 而对 TTC 的效果较差^[33]。

2 展望

2.1 特异蛋白质研究

随着双向电泳和毛细管电泳技术的发展, 研究蛋白质越来越方便。目前研究者已对一些雌雄异株植物进行了研究。Jindal 等首先发现在雌雄异株的番木瓜 *Carica papaya* 雌雄花发育过程中, 伴随着一些特异蛋白质的出现与消失^[34]。Nandi 等在对番木瓜组蛋白的分析中发现雌株组蛋白的水平大于雄株, 在根和茎中特别明显, 表明雌株有相对较高的代谢状况, 可为鉴定番木瓜幼苗的性别提供依据^[35]。汪俏梅等用毛细管电泳技术研究了苦瓜 *Momordica charantia* 性别分化期间的蛋白质, 发现了一些与苦瓜性别分化相关的特异蛋白质, 其中一个相对分子质量为 1 000 的“关键蛋白”与雌性花分化有关, 另一个相对分子质量为 30 000 的“关键蛋白”与雄性分化有关^[35]。以双向电泳和银染技术研究了牵牛花 *Pharbitis nil* 发育及其花蕊形成期间的蛋白质, 发现有 5 种蛋白质是形成雌蕊和雄蕊前期所特有的^[34]。Golan-Goldhirsh 等在阿月浑子 *Pistacia vera* 的研究中找到并纯化了花芽分化的特异蛋白, 雄株中相对分子质量为 32 000, 雌株中相对分子质量为 27 000, 它们的积累与花芽有密切的关系^[36]。

在银杏性别分化研究中, 还未见有关特异蛋白质的研究报道, 因此寻找与银杏性别分化相关的特异性蛋白质, 也将成为鉴别银杏雌雄性的的重要依据之一。

2.2 分子生物学研究

80年代发展起来的分子标记技术是一组可以检测出大量DNA位点差异性的分子生物学技术, 它是在遗传信息的载体——DNA水平上研究不同生物个体间的差异, 不受环境条件、发育阶段、不同器官和组织的影响, 而且基因组DNA的变异非常丰富, 分子标记的数目几乎是无限的。目前用于植物种质资源研究的分子遗传标记技术主要有两大类: 一类是以分子杂交为基础的限制性片段长度多态性(RFLP); 另一类是以聚合酶链式反应(PCR)为基础的标记, 包括随机扩增多态性DNA(RAPD)和扩增片段长度多态性(AFLP)等。

谭晓风等用12种引物对15个银杏品种进行了RAPD分析, 结果表明5个品种之间在分子水平上存在很大差异^[37], 并且构建了银杏RAPD分子遗传图谱^[38]。尽管目前分子生物学鉴别在银杏雌雄株性别鉴定研究中未见报道, 但在其他植物雌雄鉴定中已有应用, 在对阿月浑子、猕猴桃、葡萄属*Vitis*植物的RAPD分析中表明, 基因组DNA的遗传多样性分析是进行性别鉴定的有效方法^[39,40]。印度学者Parasnis等用微卫星和微小卫星来作为番木瓜性别特异标记的研究, 结果用(GATA)₄探针鉴定了1个5 kb的特异带仅出现在雄株中, 表明微卫星(GATA)₄可以鉴别番木瓜的性别, 并因此获得了专利^[40]。张潞生等成功制备了用于猕猴桃雌雄性别AFLP鉴别中的基因组DNA, 并得到了猕猴桃清晰的AFLP指纹图谱, 初步找到了猕猴桃雌雄差异带^[41]。

银杏雌雄株之间的差异归根结底是DNA分子之间的差异, 利用分子生物学技术在DNA分子水平上去研究雌雄株之间的差异性, 从中找到鉴别雌雄株的特异性DNA片段, 对此进行测序, 进而制备DNA探针或试剂盒^[42], 使得人们在幼苗期就能够对银杏雌雄株的性别进行鉴定。随着分子生物学技术的日益发展, 分子生物学鉴定将成为一种可靠的鉴别途径, 也可能是最终解决银杏雌雄株鉴定的最好方法。

参考文献:

- [1] Buggala W. Sex determination of poplars from the color of leaves [J]. *For Abstr*, 1951, 52: 13.
- [2] 陈章久. 银杏早果丰产新技术[M]. 天津: 天津教育出版社, 1992. 15.
- [3] 丁之恩. 银杏[M]. 北京: 中国林业出版社, 1999. 39-40.
- [4] 王涛. 银杏雌雄株的鉴别[J]. *农村经济与科技*, 1999, 10(2): 33-34.
- [5] 梁立兴. 中国银杏[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1988. 80.
- [6] 徐东生, 华兴安, 刘珠, 等. 猕猴桃雌雄识别的多元统计分析[J]. *武汉植物学研究*, 1998, 16(3): 283-284.
- [7] 邢世岩. 银杏高产栽培技术[M]. 济南: 济南出版社, 1993. 129-130.
- [8] 钱丙炎. 银杏高产栽培与综合利用技术[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1999. 22-32.
- [9] 曹宗翼. 植物的性别分化及其控制[J]. *生物学通报*, 1965, (2): 4-7.
- [10] 赵云云, 田汝, 刘捷平. 银杏雌雄株氨基酸组分及含量[J]. *氨基酸杂志*, 1993(3): 9-14.
- [11] 赵云云, 刘捷平. 雌雄异株植物的生理生化特性及性别鉴定[J]. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 1991, 12(4): 27-33.
- [12] 李国梁, 林柏年, 沈德绪. 酚类物质在鉴别园艺雌雄性植物中的应用[J]. *园艺学报*, 1993, 20(4): 397-398.
- [13] 赵林森, 程向阳, 徐锡增, 等. 复叶槭雌雄株叶片中水溶性酚类物质的比较分析[J]. *新疆农业大学学报*, 1998, 21(3): 229-232.
- [14] 周国章, 苏梦云, 任钦良, 等. 香榭雌雄株叶片酚类物质的比较研究[J]. *亚林科技*, 1985, (4): 16-19.
- [15] 王白坡, 程晓建, 戴文圣. 银杏雌雄株内源激素和核酸的变化[J]. *浙江林学院学报*, 1999, 16(2): 114-118.
- [16] 蔡汝, 陶俊, 陈鹏. 银杏雌雄株叶片光合特性、蒸腾速率及产量的比较研究[J]. *落叶果树*, 2000, 32(1): 14-16.
- [17] Tanaka N. Karyotype analysis on Gymnosperms I: karyotype and chromosome bridge in the young leaf meristem of *Ginkgo biloba* [J]. *Cytologia*, 1952, 17: 112-123.
- [18] Newcomer E H. The karyotype and possible sex chromosome of *Ginkgo biloba* [J]. *Amer J Bot*, 1954, 41: 542-545.
- [19] Lee C L. Sex chromosome in *Ginkgo biloba* [J]. *Amer J Bot*, 1954, 41: 545-549.
- [20] Pollock E G. The sex chromosome of the maidenhair tree [J]. *J Here*, 1957, 48(6): 290-294.
- [21] 李正理. 最近十年(1945~1959)关于银杏的形态解剖学及细胞学上的研究[J]. *植物学报*, 1959, 8(4): 262-269.
- [22] 陈瑞阳, 李文芹, 李秀兰. 银杏性染色体研究[A]. 郑德明. 全国首届银杏学术讨论会论文集[C]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1982. 21-29.

- [23] 陈学森, 邓秀新, 章文才. 中国银杏品种资源染色体数目及核型研究初报[J]. 华中农业大学学报, 1996, 15(6): 590—593.
- [24] 陈学森, 章文才, 董会. 中国银杏研究进展(一)[J]. 山东农业大学学报, 1998, 29(3): 415—418.
- [25] 陈学森, 邓秀新, 章文才. 银杏雌雄株核型及性别早期鉴定[J]. 果树科学, 1997, 14(2): 87—90.
- [26] 钟海文, 杨中汉, 朱广廉. 根据过氧化物酶同工酶图谱鉴定银杏植物的性别[J]. 林业科学, 1982, 18(1): 1—4.
- [27] 夏仁学. 果树的性别分化及其早期鉴定[J]. 果树科学, 1997, 14(1): 52—56.
- [28] 沈德绪. 果树育种学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988. 34—37.
- [29] 何业华. 用过氧化氢酶活性鉴别银杏雌雄的研究[J]. 浙江林业科技, 1985, 5(4): 17—19.
- [30] 陈学森. 银杏雌雄株资源评价及离体培养的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 1996.
- [31] 岩崎文雄. 利用植物药反应鉴别植物雌雄性[J]. 白志译. 林业科技通讯, 1986, (6): 35—36.
- [32] 李鸿勋. 银杏雌雄株鉴别初报[J]. 园艺学报, 1965, 4(1): 58—59.
- [33] 张雪明. 杨梅和银杏雌雄性的早期鉴别[J]. 经济林研究, 1989, 7(2): 79—80.
- [34] 汪肖梅, 曾广文. 苦瓜性别分化的特异蛋白质研究[J]. 植物学报, 1998, 40(3): 241—246.
- [35] Nandi A K, Mazumdar B C. Biochemical differences between male and female papaya (*Carica papaya*) tree in respect of total RNA and the histone protein level[J], *Indian Biol*, 1990, 22(1): 47—50.
- [36] Golan-goldhirsda A, Peri I, Birk Y, et al. Inflorescence bud protiens of *Pistacia vera*[J]. *Trees*, 1998, 12(7): 415—419.
- [37] 谭晓风, 胡芳名, 张启发. 银杏主要栽培品种的分子鉴别[J]. 中南林学院学报, 1998, 18(3): 3—9.
- [38] 谭晓风, 胡芳名, 黄晓光, 等. 银杏 RAPD 分子遗传图谱的构建[J]. 林业资源管理, 1998, (特刊): 45—49.
- [39] 张立平, 林柏年, 沈德绪. 雌雄异株葡萄的性别鉴定研究[J]. 植物学通报, 1998, 15(4): 63—67.
- [40] 陈中海, 陈晓静. 雌雄异株果树的性别决定及性别鉴定的研究进展[J]. 福建农业大学学报, 2000, 29(4): 429—434.
- [41] 张璐生, 李传友, 贾建航, 等. 猕猴桃雌雄性的 AFLP 鉴别中 DNA 模板的制备[J]. 果树科学, 1999, 16(3): 171—175.
- [42] 刘叔青, 郑俊华, 果德安, 等. 展望分子生物学技术在银杏研究中的应用[J]. 国外医药·植物药分册, 1999, 14(1): 4—6.

Progress on sex identification of dioecism in *Ginkgo biloba*

CHENG Xiao-jian¹, WANG Bai-po¹, ZHENG Bing-song¹, FANG Qun², CHEN Jin-ming³

(1. Faculty of Life Science, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. Faculty of Engineering, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 3. Shiqu Forest Station of Lanxi City, Lanxi 321100, Zhejiang, China)

Abstract: Studies on the characteristics of the female and male plants and sex identification of dioecism in *Ginkgo biloba* were summarized and classified into 7 approaches in light of measures taken. The way of sex identification was comparatively hander by morphological characteristics in *Ginkgo biloba*, and the analysis of physiology revealed that difference existed certainly among adult plants of known sex, and chemical methods could distinguish the sex too. But above-mentioned methods were all short of accuracy. Then sex identification by karyotype of chromosomes of *Ginkgo biloba* was a piece of important method and was also directest genetic proof, samely the way of isoenzyme was able to identify sex of it too. But these methods were complex and hard. Whereas new skills and methods of sex identification of plants were specific protein and molecular biology and were comparatively accurate. So these could be applied to test about sex identification of dioecism in *Ginkgo biloba*.

Key words: *Ginkgo biloba*; sex identification; molecular biology; progress