应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2011,48(2):227—230

科技前沿

飞蝗型变分子机理研究前沿

徐卫华*

(中山大学生命科学学院 广州 510006)

摘 要 飞蝗的型变是重要的科学问题,也是防治害虫的理论基础。近年来,我国昆虫学家围绕飞蝗型变的分子机制方面取得一系列开创性的工作进展,鉴定了多个飞蝗型变的关键基因及其生物学功能,提出了飞蝗型变的分子机制。这些研究成果在 *PNAS*, *PLoS Genetics*, *Genome Biology*, *Bioinformatics*, *Insect Molecular Biology*, *Journal of Insect Physiology*, *PLoS One* 等国际著名刊物发表,极大地提高了我国在该领域的研究水平,为今后彻底解决飞蝗型变这一科学难题奠定了基础。

关键词 型变,分子机制,飞蝗

Advance on the molecular mechanism of phase transition in the migratory locust

XU Wei-Hua*

(School of Life Sciences, Sun Yat-Sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510006, China)

Abstract The phase transition in the migratory locust is an important scientific problem and a theoretic basis for pest control. Kang Le group from Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences focus on the molecular mechanism of phase transition in the migratory locust, and a great progress has been made in the field. A number of key genes and their functions for regulation of phase transition have been identified in the migratory locust, suggesting a possible molecular mechanism on the phase transition between gregaria and solitaria. These results have been published in famous international journals, such as *PNAS*, *PLoS Genetics*, *Genome Biology*, *Bioinformatics*, *Insect Molecular Biology*, *Journal of Insect Physiology*, *PLoS One*, and will improve greatly the insight on the molecular mechanism of phase transition.

Key words phase transition, molecular mechanism, migratory locust

1 引言

蝗虫是重要农业害虫,每年在世界许多国家都有发生,伴随区域大暴发,已经成为影响农牧业发展的重要因素。目前引发蝗灾的主要是迁飞型的沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 和飞蝗 *Locusta migratoria* 二种。早在 1921 年,Uvarov 提出了蝗虫型变理论(phase theory),指出:蝗虫为适应不同的环境条件,可以改变自身的形态、生理生化、行为、发育等特征,使其在形态学、生理学、行为学上分成两种明显不同的相型(phase),即群居型(gregaria)和散居型(solitaria)(Pener and Simpson, 2009)。其实在 Uvarov(1921)提出蝗虫变型理论之前,飞蝗的群居型和散居型曾分别被其他学者鉴定为两个不同的蝗虫种:即 *Locusta migratoria* 和 *Locusta danica*,可见这两个型之间的差异之大。

在蝗虫密度发生变化时,这两种相型可以相互转变,这一现象被称之为型变(phase transition)。引起型变的因素有外界(环境)因素和内部(基因)因素,内在因素在外界因素的作用下,发生的一系列生理生化的改变,使蝗蝻个体朝

* E-mail: xuweihua@mail.sysu.edu.cn

收稿日期:2011-02-18,接受日期:2011-02-20

着不同的方向发展，从而形成不同的相型。影响蝗虫两型转变的外在因子主要有飞蝗的密度、温湿度、光照、食物等，例如蝗虫在 10 ~ 50 头/m^2 或者更高的密度下，容易形成群居型；在 0.1 ~ 1 头/m^2 或以下，蝗虫容易以散居型的形式存在。因此，蝗灾的发生总是与蝗虫群居型的形成和大规模迁飞密切相关。飞蝗的型变是重要的科学问题，也是防治害虫的理论基础。

蝗虫的型变是如何形成的？两型又是如何互相转变的？环境因子如何作用于昆虫个体，而个体又如何应答环境的刺激？内在的基因是什么，基因通过怎样的作用导致型变的发生？蝗虫型变的机制问题非常精妙有趣，成为许多科学家的毕生事业追求。动物的群聚现象也是很普遍的，因此研究蝗虫的型变对解释动物的社会行为具有重要意义。关于蝗虫的型变研究大致可划分为三个阶段：第一阶段，主要围绕形态学和基本生物学等方面的研究，发现了两型形态的显著差别；第二阶段，主要从行为学、生理学和遗传学等方面，发现了蝗虫型变过程的生理学的差异；第三阶段，始于最近 10 多年来分子生物学等新学科的发展和新技术应用，蝗虫型变的工作深入到分子的机制。第三个阶段的主要研究进展是由以康乐研究员为主的中国科学家研究团队做出的。日本学者 Seiji Tanaka 在蝗虫体色的黑化机制方面的研究做出了突出的贡献，澳大利亚学者 Steven Simpson 在沙漠蝗两型转变的行为学研究方面独具特色，但这些相关研究多涉及蝗虫型变中的生理和行为响应。揭示蝗虫型变的遗传学基础，是一个尚未开拓的前沿领域（Pener and Simpson，2009）。可喜的是，近年来我国科学家围绕飞蝗型变的分子机制，鉴定了多个飞蝗型变的关键基因及其生物学功能，提出了飞蝗型变的分子机制，取得一系列开创性的工作进展。本文重点介绍蝗虫型变分子机制的研究进展。

2 重要的研究进展

虽然诱发蝗虫的型变，导致暴发成灾外部直接因素是非常清楚的，但是内因（个体基因的变化）几乎不知道，一直找不到一个合适的研究切入点。直到最近分子生物学、基因组学等技术方法的飞速发展才为研究蝗虫型变内因提供了一个适合的平台。为此，首先筛选出在散居型和群居型飞蝗中差异表达的基因，然后分门别类地研究这些差异基因，试图找到调节飞蝗型变的关键基因。根据这个设想，Kang 等人（2004）首先构建了散居型和群居型飞蝗三个组织（脑、中肠、后足）和一个整体共计 7 个 cDNA 文库，测序获得45 474个 ESTs（expression sequences tags，表达序列标签）和 12 161个独特序列（相当基因）。发现了 532 个与飞蝗型变相关基因，其中包括肽酶、保幼激素结合蛋白、携氧蛋白以及一些与生长发育相关的基因。分析表明应有多种调控途径参与了型的表型可塑性，显示型变生物学过程的复杂性。这项工作是世界上首次鉴定蝗虫型变的差异基因，论文发表在“美国科学院院刊”（*PANS*）上。同时，建立了飞蝗第一个转录组关系型数据库（LocustDB），并提供了飞蝗 EST 序列的功能注释信息和信号途径分析信息（Ma *et al.*，2006），以及飞蝗的转录组数据与家蚕、蜜蜂、果蝇、按蚊以及线虫的全基因组序列比较分析信息（http://locustdb.genomics.org.cn），这个信息平台已经被国内外昆虫学家广泛使用，为昆虫学研究奠定了坚实的基础。

Chen 等人（2010）应用新一代高通量测序技术和 *De novo* 组装的转录组方法，标记了72 977个转录本和11 490个蝗虫编码蛋白的基因。首次获得了飞蝗有代表性的核心基因集合，实现了对昆虫保守基因和飞蝗基因组成的高度覆盖。进一步利用定量测量 RNA 序列和比较了发育过程中群、散两型的转录组，发现了发育过程中两型的分化模式，筛选出 242 条两型标记基因。由于两型表达差异最大的发育阶段是第 4 龄期，结合 4 龄蝗深度测序，发现了分子水平上群居型和散居型生物投资的不同：群居型在感知、处理环境信号相关的通路上更为活跃，而散居型在代谢、生物合成等维持生存相关的通路上更为活跃。并构建了飞蝗两型的分子网络的框架，提出了飞蝗应对种群密度压力的机制：飞蝗通过调节神经递质的活性应对种群密度压力，以 GPCR 信号通路为中心的信号转导网络参与了这个过程。这些结果第一次在分子水平描述飞蝗两型的差别并建立型变相关的基因网络框架图。

除了直接的基因调节引发飞蝗两型的转变，型变也表现出明显的表观遗传特征。Wei 等人（2009）发现了飞蝗两型间 small RNA 的转录差别很大，最大的差异是在 27 bp 左右的 small RNA 的

转录。一些保守的和特有的 miRNA 涉及到飞蝗型变的调控,同时鉴定了大量飞蝗特有的 small RNA。此外还发展了一种不依赖基因组数据的鉴定 microRNA 和 piRNA 的方法,发现 27 bp 左右的 small RNA 主要属于 piRNA,说明两型飞蝗在 small RNA 表达差异主要是在 piRNA,为解释飞蝗两型生殖力差异提供了重要的线索(Wei *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011),这是世界上第一个报道小分子 RNA 参与飞蝗型变过程的例子。他们发展的不依赖基因组数据鉴定 microRNA 和 piRNA 的方法对研究非模式生物的 small RNA 具有非常重要的价值。

飞蝗型变的引发主要是由种群密度的变化造成的,高密度可被认为是一种环境胁迫因子。围绕与环境胁迫与应激有关的基因 - 转座子基因和热激蛋白基因开展研究,Guo 等人(2010)发现转座子基因在飞蝗基因组中大量存在,并且主要在飞蝗中枢和外周神经组织中表现出型之间的差异表达,显示了其在飞蝗型变的神经可塑性调控过程中具有重要作用。热激蛋白家族基因被认为是生物应对环境变化的分子伴侣,通过基因表达分析发现热激蛋白家族参与了型变的过程。Wang 等人(2007)克隆到 Hsp90、Hsp70、Hsp20 等家族成员 cDNA 序列,通过检测这些基因在发育过程、组织和密度变化时间过程的表达模式,发现热激蛋白在群居型中高表达,尤其在一些与飞蝗型变相关的组织内,在散居化或群居化 32 h 后其表达量就表现出显著改变,且热激蛋白是在型变发生的上游,通过自身的表达调控,启动了下游的相关通路。过去对昆虫的环境胁迫研究主要集中在温度、饥饿、水分等方面,以虫口密度作为环境胁迫国际上也是鲜有报道,本例的结果说明群居型飞蝗就是处于一种种群胁迫状态,热激蛋白家族和转座子参与调控飞蝗的型变过程。

由于明确了两型表达差异最大的发育阶段是第 4 龄期,Guo 等人(2011)设计了一个巧妙的实验,把 4 龄群居型飞蝗单头饲养(散居型处理),发现 1 h 后就出现散居型行为;把 4 龄散居型飞蝗集中饲养(群居型处理),发现经过 32 h 出现群居型行为。然后用飞蝗寡核苷酸 DNA 芯片检测 4 龄蝗蝻在散居化和群居化转化过程的中9 000多个基因表达谱,筛选到1 444多条差异表达基因,其中嗅觉相关基因(*CSP* 和 *takeout*)推定为关键调节基因。实验证明这些基因在蝗虫嗅觉器官—触角里表达量最高,并且和型变时间过程密切相关。而且 RNAi 干扰实验表明这两类基因参与了飞蝗散居型和群居型吸引和排斥行为转变的调控。这些发现显示飞蝗 *CSP* 和 *takeout* 类基因决定是否接收转化来自其他个体释放的化学信号,从而产生应答行为来改变群居型或散居型,该项工作第一次阐明了调控飞蝗群聚行为启动的分子机制。

Ma 等人(2011)利用飞蝗寡核苷酸 DNA 芯片研究了飞蝗两型不同发育阶段的转录特点,发现两型 4 龄蝗蝻间转录差异最大。生物信息学分析证明多巴胺代谢途径在飞蝗群居型中稳定地高表达,找到了 *pale*、*henna*、*ebony* 和 *vat1* 等调节多巴胺合成和释放的基因,发现这些基因在蝗虫的不同生长时期呈现明显的变化,和蝗虫的型变行为有密切的相关。进一步通过基因干扰技术(RNAi)和药物干扰,证明这个代谢途径中 *henna*, *pale*, *ebony* 和 *vat1* 调控了飞蝗两型的转变和体色的改变。对散居型飞蝗注射多巴胺或多巴胺激动剂可以诱导蝗虫产生明显的群居行为,注射五羟色胺也可以诱导产生群居行为,效果比多巴胺稍差。该文是第一个把特定的代谢路径和型变联系起来,首次证明作为神经递质的多巴胺在型变的维持过程中起重要作用。这些结果提示人们昆虫脑可能接收外界信号后,经加工处理后转化为神经内分泌信号,进而调节飞蝗的型变过程。

3　展望

蝗虫的型变涉及非常复杂的生物学过程,其中行为和体色的改变是最为明显的两个表型性状。蝗虫体色的变化与型变的关系是一个非常具有挑战性的问题,以康乐研究员为主的中国科学家研究团队近期的一系列关于型变的基因调节机制是开创性的发现,大大地鼓舞了同领域的科学家沿着这些开拓出来的有价值线索,深入追踪和揭示蝗虫型变的详细机制,比如神经递质的相互作用、表观遗传学以及母性效应等。这些研究的突破将会加深人类对蝗虫型变和蝗灾的认识,推动昆虫社会行为的研究,开发出环境友好的蝗虫控制技术。随着飞蝗全基因组测序的完成,飞蝗可能会成为研究的重要模式物种,为解决我们人类的生活和健康问题服务。

参考文献(References)

Chen S, Yang PC, Jiang F, Wei YY, Ma ZY, Kang L, 2010. *De novo* analysis of transcriptome dynamics in the migratory locust during the development of phase traits. *PLoS ONE*, 5(12): e15633.

Guo W, Wang XH, Zhao DJ, Yang PC, Kang L, 2010. Molecular cloning and temporal-spatial expression of I element in gregarious and solitary locusts. *Journal of Insect Physiology*, 56: 943—948.

Guo W, Wang XH, Ma ZY, Xue L, Han JY, Yu D, Kang L, 2011. *CSP* and *takeout* genes modulate the switch between attraction and repulsion during behavioral phase change in the migratory locust. *PLoS Genetics*, 7(2): e1001291, 1—13.

Kang L, Chen XY, Zhou Y, Liu BW, Zheng W, Li RQ, Wang J, Yu J, 2004. The analysis of large-scale gene expression correlated to the phase changes of the migratory locust. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 17611—17615.

Ma ZY, Yu J, Kang L, 2006. Locust DB: a relational database for the transcriptome and biology of the migratory locust (*Locusta migratoria*). *BMC Genomics*, 7: 11.

Ma ZY, Guo XJ, Guo W, Wang XH, Kang L, 2011. Modulation of behavioral phase changes of the migratory locust by the catecholamine metabolic pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, doi:10.1073/pnas.1015098108/1—6.

Pener MP, Simpson SJ, 2009. Locust phase polyphenism: an update. *Adv. In Insect Phys.*, 36:1—272.

Wang HS, Wang XH, Guo W, Zhang SF, Kang L, 2007. cDNA cloning of heat shock proteins and their expression in the two phases of the migratory locust. *Insect Molecular Biology*, 16: 207—219.

Wei YY, Chen S, Yang PC, Ma ZY, Kang L, 2009. Characterization and comparative profiling of the small RNA transcriptomes in two phases of locust. *Genome Biology*, 10:R6.

Zhang Y, Wang XH, Kang L, 2011. A *k*-mer scheme to predict piRNAs and characterize locust piRNAs. *Bioinformatics*, doi:10.1093/bioinformatics/ btr016.