对蜜蜂性别决定和蜂王级型确立理论的新诠释*

王丽华**

（福建农林大学蜂学学院　福州 金山　350002）

A new annotation on the theories of sex determination and queen caste establishment in honeybee (*Apis*).

WANG Li-Hua**(*Bee Science College, Fujian Agriculture and Forestry University*, Jinshan, Fuzhou　350002, China)

Abstract　It was just based on the oogenesis in honeybee queen or in laying worker, the hypothesis about sex determination and the research in sex locus as well as a mechanism to establish queen caste that such a many kinds of procreation in honeybee (*Apis*) was to unscramble from a new visual angle on a general picture. The new annotation, different from haploid-diploid sex determinant mechanism, should be practicable in defining sex determination mechanism; in simplifying method for oriented breeding; in shortening the time and difficulties in comparative experiment; in actualizing the identification for patriline; and in abstracting and numbering the concept of species (breeder) group in honeybee.

Key words　honeybee, sex determination, queen caste determination

摘　要　从全新视角概貌性解读蜜蜂 *Apis* 诸多生殖机制，依据的就是蜂王或产卵工蜂的卵子发生、性别决定假说、性位点研究以及蜂王级型确立机制。这种不同于单倍—二倍性性别决定机制的新诠释，适用于明确性别决定机制、简化定向育种方法、减少比较性实验的难度和时间、实施亲子鉴定和抽象并量化种群的概念。

关键词　蜜蜂，性别决定，蜂王级型确定

1　前人研究的相关成果

1.1　蜜蜂的性别决定假说

许多年以来，人们从不同的侧面，对昆虫、特别是对膜翅目蜜蜂的性别决定机制进行过推测和研究，概括起来至少有 7 种不同的假说。(1)细胞质决定学说(性平衡理论，间性的时间法则)：舞毒蛾 *Lymantria* 的性别是由存在于细胞质中的母系遗传的雌性决定因子(F)的强度而决定的[1]。(2)互补性性别决定假说：小茧蜂 *Bracon hebetor* 种群中存在着单个的性位点(complementary sex determination, CSD)，其上具复等位基因[2]。(3)多等位基因学说：在随机交配的茧蜂 *Habrobracon juglandis*[2] 和蜜蜂 *Apis mellifera*[3] 蜂群里，半合子(X^1, X^2, … X^n)和纯合子(X^1X^1, X^2X^2 … X^nX^n)是雄性，而杂合子(X^1X^2, … $X^{n-1}X^n$)是雌性，杂合子具有生殖适合度[4]。(4)基因平衡学说：雌性决定基因(f)全部或部分地有累加效应(F)，雄性决定基因(m)完全或部分地无累加效应(M)，二者平衡后的大小决定性别的取向，关系式为 2F＞M＞F。即：半合子和纯合子时 M＞F，为雄性；杂合子时 2F＞M，为雌性[5,6]。(5)基因平衡假说的补充说明：雄性决定基因(m)也具有微小的累加效应(X)，关系式 $m_1+m_2>X_1+f$ 决定单倍体半合子的性别为雄性，$2m_1+2m_2>X_1X_1+ff$ 决定二倍体纯合子的性别也为雄性，$X_1X_2+ff>2m_1+2m_2$ 决定二倍体杂合子的性别为雌性[7]。(6)性位点假说：在蜜蜂的某条染色体上，有一个性基因位点(X)，其上有多个性等位基因(a, b, c, …, n)，但 1 只蜜蜂仅携带其中的 1 到 2 个，1 对“性等位基因”的纯、杂状况，决定蜜蜂的一种性

*福建省自然科学基金(项目编号 B0510022)。

** E-mail: leahwang@pub6.fz.fj.cn

收稿日期：2006-04-19，修回日期：2006-05-31

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

别。即:由受精卵发育而来的二倍体,当1对基因纯合时(高度的近亲交配)就发育成雄性(X^nX^n),当1对基因杂合时(正常的多雄交配)则发育成雌性(X^aX^b);由未受精卵发育而来的单倍体,在X位点上为半合子,相当于是纯合的,发育为雄性(X^a或X^b)[8]。(7)张氏学说:蜜蜂孤雌生殖时,既可能产生半合子雄蜂,又可能产生纯合子雌蜂[9]。

1.2 蜜蜂的互补性性别决定基因(*csd*)

蜜蜂种群内不但存在着互补性性别决定基因*csd*(complementary sex determiner),而且可以被从蜜蜂体内成功分离[10]。现已发现19个复等位基因(*csd*1, *csd*2, …*csd*19)[11],任意2个不同的等位基因,可以共同编码并产生一种有活性的精氨酸—丝氨酸丰富的蛋白(SR蛋白);任意2个相同的等位基因或仅仅1个等位基因,不能指令形成这种SR蛋白。于是,能形成这种蛋白的,雌性发育得到准许;不能形成这种蛋白的,雄性发育被认可[12]。也就是说,同一个等位基因既可以在雄蜂体内出现,也可以在雌蜂体内出现[13],并没有特定的雄性基因或雌性基因,而是一个个的雌雄共享基因,通过单双组合形式调控性别发育和促进雌性等级的进一步分化[14]。运用RNA干扰技术,也证明了蜜蜂确实不存在着具有性别特异性的性基因,但存在着性等位基因数目决定蜜蜂性别的机制,同时还很好地解释了为什么称*csd*为性别决定互补因子的原因[15]。

1.3 蜜蜂雌性高级级型的确立机制

在自然状态下,蜂群中的某一父系的后代,由于基因型组成的关系[16],可以被优先选来培育成蜂王[17,18],可以率先成为无王群中的产卵工蜂[19],并形成更紧密的超姐妹小团体[20],在偏袒性养育超姐妹的雄性后代中,共同躲避工蜂警察[21],同时得到间接的适合度[16],直接延续父皇家族基因的血脉[22],甚至孤雌生殖产生杂合子雌性(海角蜜蜂*Apis mellifera capensis*)[23]。像母子交配或兄妹交配等这样的近亲交配,一方面使得*csd*位点上纯合产生的二倍体雄性带有零适合度[24],在幼虫早期就遭到蜂群的淘汰;但另一方面也使得*csd*位点上杂合产生的二倍体雌性,完全继承了母系的纯正血统。当蜂群结构突然变故,如失去蜂王时,这些具有纯正皇室血统的受精卵、适龄雌性小幼虫或成年工蜂,就比蜂群中其它成员拥有优先的性发育权[23]。也就是说,在这个刚刚无蜂王的超家族中,某一父系(与蜂王的一个性位点基因相同)的后代,被优先确立为蜂王级型或优先发育成有生殖能力的个体(产卵工蜂)。

1.4 蜜蜂的卵子发生结果

蜂王的卵子发生结果是1卵3极体,正常情况下3个极体都退化,不参与受精,也不发生与卵子的融合,只有卵子有机会得到受精或得不到受精而进一步发育成杂合子雌性、纯合子雄性(少见)和半合子雄性。产卵工蜂的卵子发生结果也是1卵3极体,尽管工蜂无交配行为,使得它的卵子得不到受精,但却可以产生不同性别的蜜蜂:当极体全部退化、不参与与卵子的融合时,产生半合子雄性;当极体不全退化、参与与卵子融合时[25],一是卵子与含同源染色体(不同染色单体)的第2极体融合产生杂合子雌性(仅见海角蜜蜂[26]),一是卵子可能与含相同染色单体的第2极体融合产生纯合子雄性(未见)。

2 对蜜蜂性别决定和蜂王级型确立理论的新诠释

一般的雌雄异体生物的性别,都由染色体的同配或异配来决定。染色体性别决定生殖腺性别,生殖腺性别又决定表型性别。尽管蜜蜂属*Apis*的雌雄个体(蜂王和雄蜂)之间、雌性级型(蜂王和工蜂)之间,也具有生殖腺性别和表型性别的差异,但蜜蜂的雌雄性别决定方式、雌性高级级型确立机制却比较特殊。以往认为,蜜蜂属于单倍—二倍性生物,因此,蜂王(或工蜂)行孤雌生殖时产生的单倍体为雄性(雄蜂),蜂王行两性生殖时产生的二倍体为雌性(蜂王和工蜂)。但是后来,逐渐发现蜜蜂的性别决定,并不是如此简单,还罕见有蜂王(高度近亲交配后)有性生殖产生的二倍体雄性[8,27]和海

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

角蜜蜂工蜂无性生殖产生的二倍体雌性[25,26]。实际上,不管是常见的产雌两性生殖和产雄孤雌生殖方式,还是罕见的产雄两性生殖和产雌孤雌生殖方式,蜜蜂的性别决定都是互补性性别决定基因在起作用。原因如下:第一,蜜蜂没有由原始的同源染色体演变而来的异形性染色体,而只有某条染色体上的某个性位点[28];第二,蜂王和产卵工蜂的卵子发生既有共性(1卵3极体),又有特殊性(极体退化或参与与卵子的融合);第三,在蜂群这个母系社会里,蜂王是雌雄配子的携带者,只有行多雄交配的蜂王,才可以保证蜂群内工蜂的多样性并存;也只有王位世袭制度,才可以将皇族的血统永远保持。因此,蜜蜂的雌雄性别,不能由染色体的同配或异配来决定,也不能笼统地以单倍—二倍性来决定,而只能由性位点上等位基因的同配或异配来决定。至于自然状态下的蜂群中雌性高级级型的确立,也只能由性位点上的等位基因,与母本的异同来决定:相同者,则优先升级为继代蜂王或产卵工蜂。

3 新诠释在蜜蜂遗传与育种方面的理论意义及其实际应用价值

3.1 明确了蜜蜂性别决定机制

在配子发生过程中,每个单倍体核里都有1个等位基因 *csd*。当行两性生殖时,来自双亲的2个单倍体核里的2个等位基因,是异质的融合就产生雌性,是同质的融合就产生雄性。当行孤雌生殖时,结果亦如上述,但卵子和第1极体的融合是同质的纯合子(性等位基因一样),卵子和第2极体的融合是异质的杂合子(性等位基因不一样),卵子不和极体融合相当于是同质的半合子。所以,海角蜜蜂的产卵工蜂孤雌生殖能够产生杂合子雌性,则其它种蜜蜂的产卵工蜂孤雌生殖或许能够产生纯合子雄性,这只不过是个被发现的时间而已。

3.2 简化了蜜蜂定向育种方法

由于性位点上的基因,不管是来自母本还是来自双亲,它们终将启动由母体基因控制的胚胎早期发育程序,使之按既定的发育模式进行个体发育。所以,如果采用RNA顺时针干扰技术,在蜜蜂胚胎的发育早期,针对胚盘表面的后端(分布有生殖细胞群)位置,将 *csd* 基因片段或产物给予过量注射,则可以人为地控制蜜蜂的性别[29],并可能制造出将倍性增加或消减的性别异常蜂、雌雄嵌合体、性器官错位或成对的突变体等,从而有利于定向培育特殊用途的蜜蜂和研究蜜蜂发育生物学,清晰 *csd* 类的同源异型盒基因功能。

3.3 减少了比较性实验的难度和时间

现在知道了 *csd* 的序列,也知道了该序列具有可变性,还知道它的转录本差异不大[10],说明在翻译水平上,那些具有性等位基因特异性的非编码序列已经经过剪辑删除了。所以,据此,我们可以在转录水平上,对它进行专门的聚合酶链式反应(PCR)。如:以某个或某2个外显子的序列为引物,进行3′端或5′端表达序列标签扩增(3′EST-PCR或5′EST-PCR)、内含子扩增(intron-PCR)和小插入/小缺失扩增(Indels-PCR)等,比较某个内含子与参考序列中的相应内含子的缺失/存在、纯合性/杂合性。同时,对特定肽段(如SR1和SR2)进行PCR酶切,经过脉冲电泳,将具有个体特异性的性等位基因确定,获得比用传统遗传学(伴性遗传)和发育生物学(性等位基因沉默或异位表达)等技术手段更为简单、省时和准确的效果。

3.4 将亲子鉴定的验证手段在蜜蜂上实用化

以前,我们一直都不清楚蜂群在自然育王状态下,杂合子被获准发育成完全的雌性与其皇族血统是否有着关联性,却知道任何一个在性位点上的杂合子,都具有发育成蜂王的潜力,都可以被人为地培育出蜂王来。蜂王和工蜂的生殖腺性别和级型之所以有所分化且出现了差异,不是所谓的"胎记"基因决定的,而是由于后天营养条件的改变所致。即:工蜂巢房中的小幼虫,通过在急造王台或人造王台中被持续性饲喂蜂王浆后,引发了保幼激素的效价出现了差别,进而特异性地调节或改变了卵巢级型的分化和发育属性。于是,这些幼虫在末龄期的卵巢原基处,不是发生细胞程序性死亡,而是发

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

生生殖细胞簇的同步形成和不完全的有丝分裂[30,31]。最后,发育成的不是工蜂,而是应急蜂王或分蜂蜂王。现在,在分子水平上,我们可以验证它们的基因型差别。如:比较SRn蛋白在电泳胶中的位置,区分分蜂蜂王、交替蜂王和应急蜂王与其母蜂王的基因型血统,即子代蜂王是否都与母本蜂王性等位基因同配;或者,区分产卵工蜂与其母蜂王的基因型血统,进而得知产卵工蜂的父系基因型,即产卵工蜂是否都为同父姐妹。

3.5 抽象并量化了种群的概念

通常认为,蜂王是种性的携带者和传播者,蜂王就是种,养王就是保种,一个种用蜂群可以等同于一个蜂群,一个蜂群既可以作为一个种用父群,也可以作为一个种用母群,还可以作为一个双亲种用蜂群,但一个种用蜂群不能等同于广义上的蜜蜂物种种群的概念。现在,如果单纯地从性位点上的等位基因数量来讲,蜜蜂的物种种群完全可以抽象地等同于一个蜂群。因为1只蜂王携带性位点上的2个等位基因,她要与17只的雄蜂交配(假设是意大利蜜蜂[19,32]),才能满足终生的受精要求。也就是说,她的体内带有19个性等位基因(为整个蜜蜂物种种群中业已发现的性等位基因的全部)。在性位点上,这19个等位基因的异源组合数量为♀C_{19}^{2}·♂C_{19}^{17}(=29 241),也即她可以产生29 241种的二倍体杂合子蜜蜂(假设没有近亲交配)。这些杂合子,被人为地以母女顶替形式或择优选留形式培育成为继代蜂王的机会均等,女儿蜂王与母亲蜂王一样,又同样进行着多雄交配,同样也可以产生出29 241种的受精卵类型。况且,这些杂合子在人为干预下发育成为产卵工蜂的机会也均等,产卵工蜂又可以通过孤雌生殖产生雄蜂(2×29 241=58 482种)而对种群做贡献[33]。所以,在任何一个世代的一个蜂群内,性等位基因的数量,始终得以保持一个定值,而且这个定值与蜜蜂物种种群中业已发现的性等位基因数相同。所以,蜜蜂物种种群的概念,可以大到无数,也可以小到一群。虽然在蜜蜂育种和养蜂生产实践中,强化选择和亲本轮回取代,常导致一些等位基因的丢失;定期换种和适时引种,又必然带来一些等位基因的增加。但利用单群蜜蜂的性等位基因的不同重组来进行品种的引进、繁育、改良与保存,却依然可以保持着蜜蜂物种种群的多样性。

4 结语

上述这一切都是在承认性位点假说正确的前提下得出的。如果我们不从以往的单倍—二倍性蜜蜂性别决定机制的思维定势中解放出来的话,则对早已发现的二倍体雄蜂无法解释,也对海角蜜蜂的产卵工蜂孤雌生殖能够产生二倍体雌性无法解释,更无法理解纯合子雌性蜜蜂生成[9]的理论依据。所以,只有如此,蜜蜂诸多的生殖机制和蜂王级型确立机制才可能用一个共识的理论来加以阐释并得到明晰,才更可以在此基础上进行一些应用性的尝试。

参 考 文 献

1 Goldschmidt R. *Theoretical Genetics.*, University of California Press, Berkeley, USA, 1955. 56.

2 Whiting P. *Genetics*, 1943, **28**(5): 365~382.

3 Mackensen O. *Genetics*, 1951, **36**(5): 500~509.

4 Crozier R. H. *Am. Naturalist*, 1971, **105**(3): 399~411.

5 Cunha A. B., Kerr W. E. *Forma et Functio.*, 1957, **1**(4): 33~36.

6 Kerr W. E. *Annu. Rev. Entomol.*, 1962, **7**: 157~176.

7 Chaud-Neto J. *Genetics*, 1975, **79**(2): 213~217.

8 Woyke J. In: Rinderer T. E. (ed.), Bee Genetics and Breeding. Academic Press, Orlando, Florida, USA, 1986. 91~119.

9 张宗炳. 中国养蜂, 1983, **34**(1): 5~8.

10 Beye M., Hunt G. J., Page R. E., Fondrk M. K., Grohmann L., *et al*. *Genetics*, 1999, **153**(12): 1 701~1 708.

11 Page R. E., Gadau J., Beye M. *Genetics*, 2002, **160**(2): 375~379.

12 Beye M., Hasselmann M., Fondrk M. K., Page R. E., Omholt S. W. *Cell*, 2003, **114**(8): 419~429.

13 Charlesworth B. *Cell*, 2003, **114**(8): 397~398.

14 Beye M. *Bioessays*, 2004, **26**(10): 1 131~1 139.

15 Hasselmann M. Ph. D. dissertation, Martin-Luther-Univ. Halle-Wittenberg, 2004. http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000005924

16 Martin C. G., Oldroyd B. P., Beekman M. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2004, **56**(1): 42~49.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

17 Tilley C. A., Oldroyd B. P. *Anim. Behav.*, 1997, **54**(6): 1 483~1 490.
18 Chaline N., Arnold G., Papin C., Ratnieks F. L. W. *Insectes Soc.*, 2003, **50**(3): 234~236.
19 Chaine N., Ratnieks F. L. W., Burke T. *Mol. Ecol.*, 2002, **11**(9): 1 795~1 803.
20 Meixner M. D., Moritz R. F. A. *Insect. Soc.*, 2004, **51**(1): 43~47.
21 Oldroyd B. P., Ratnieks F. L. W. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2000, **47**(4): 268~273.
22 Osborne K. E., Oldroyd B. P. *Anim. Behav.*, 1999, **58**(2): 267~272.
23 Moritz R. F. A., Kryger P., Allsopp M. H. *Nature* (*London*). 1996, **384**(11): 31.
24 Zayed A. *Heredity*, 2004, **93**(11): 627~630.
25 Verma S., Ruttner F. *Apidologie*, 1983, **14**(1): 41~57.
26 Tucker K. W. *Genetics*, 1958, **43**(3): 299~316.
27 余林生, 孟祥金, 陈宏权. 中国养蜂, 2004, **55**(6): 7~9.
28 Hasselmann M., Fondrk M. K., Page R. E., Beye M. *Insect Mol. Biol.*, 2001, **10**(6): 605~608.
29 Cowan D. P., Stahlhut J. K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, **101**(28): 10 374~10 379.
30 Kerr W. E., Akahira Y., Camargo C. A. *Genetics*, 1975, **81**(4): 749~756.
31 Neumann P., Hepburn R. *Apidologie*, 2002, **33**(2): 165~192.
32 Adams J., Rothman E. D., Kerr W. E., Paulino Z. L. *Genetics*, 1977, **86**(3): 583~396.
33 Dietz, A. Evolution. In: Rinderer T. E. (ed.), Bee Genetics and Breeding. Academic Press, Orlando, Florida, USA, 1986. 1~19.

酯酶基因扩增及突变与昆虫抗药性*

曲明静[1,2**] 许新军[3] 韩召军[2] 陈茂华[2]

(1. 山东省花生研究所 青岛 266100; 2. 南京农业大学农业部病虫监测与治理重点开放实验室 南京 210095; 3. 山东出入境检验检疫局 青岛 266002)

Esterase gene amplification and mutation associated with insecticide resistance. QU Ming-Jing[1,2**], XU Xin-Jun[3], HAN Zhao-Jun[2], CHEN Mao-Hua[2] (1. *Shandong Peanut Research Institute*, Qingdao 266100, China; 2. *Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Insects*, *Nanjing Agricultural University*, Nanjing 210095, China; 3. *Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau*, Qingdao 266002, China)

Abstract Extensive use of organophosphate and carbamate insecticides led to development of resistance in many insects. Esterase is an important metabolism enzyme. Increasing expression and point mutation of esterase gene are the two most important reasons, which make its metabolism and binding activity increase. Here esterase gene mutation and amplification conferring resistance in the insects are summarized. Furthermore the effects of esterase mutation on protein structure and function are discussed.

Key words esterase, gene amplification, point mutation

摘 要 有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的大量使用导致昆虫对其产生抗药性。酯酶是昆虫体内重要的解毒代谢酶, 酯酶基因表达量上升和点突变使其代谢或结合杀虫剂的能力增强是昆虫对常用农药产生抗药性的2个重要原因。文章概述昆虫酯酶基因扩增及突变所导致的抗药性, 进一步分析了酯酶突变对蛋白结构和功能的影响。

关键词 酯酶, 基因扩增, 点突变

酯酶是昆虫体内一种重要的解毒酶系, 它可以通过水解酯类化合物的酯键, 或与亲脂类有毒化合物结合, 降低有毒化合物的有效浓度来降低其毒性。许多杀虫剂分子是含有酯键的酯类化合物, 如有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊

* 粮食丰产科技工程资助项目(2004BA520A15)。

** E-mail: cygnet@njau.edu.cn

收稿日期: 2005-12-05, 修回日期: 2006-02-20

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n