

蜜蜂级型分化相关生理因子研究进展^{*}

李文峰 李志国 刘 芳 苏松坤^{**}

(浙江大学动物科学学院 杭州 310029)

Advances on the physiological factors relating to honeybee caste differentiation. LI Wen-Feng, LI Zhi-Guo, LIU Fang, SU Song-Kun^{**} (College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract The honeybee, *Apis mellifera* L., is a typical social insect. The phenomenon of caste differentiation between queens and workers in this species has attracted a tremendous amount of scientific interest. Honeybee caste differentiation is an extremely complex growth adjustment process with many important physiological factors, including juvenile hormone (JH), ecdysteroid (Ecd) and insulin/insulin-like signal pathway (IIS). In this paper, we summarize advances in research on the physiological factors relating to honeybee caste differentiation: JH determines the path of caste differentiation and can hinder programmed cell death during larval ovary growth. Ecd, together with JH, plays a regulatory role. The queen and worker's body and organ size are correlated with IIS in a caste-specific fashion. In addition, a model of caste differentiation in *A. mellifera*, which systematically describes the integrative effects of the above physiological factors on the caste differentiation, is introduced.

Key words *Apis mellifera*, caste differentiation, juvenile hormone (JH), ecdysteroid (Ecd), insulin/insulin-like signal pathway (IIS)

摘 要 蜜蜂 *Apis mellifera* L. 是典型的社会性昆虫,蜂群内蜂王和工蜂的级型分化现象吸引了众多研究者的高度关注。蜜蜂级型分化是一个极为复杂的生长发育调节过程,许多重要生理因子参与其中,包括保幼激素、蜕皮激素、胰岛素/胰岛素类似物信号通路等。本文概述了蜜蜂级型分化相关生理因子研究进展:保幼激素决定着蜜蜂级型发育的轨迹并能阻止卵巢发育过程中细胞的程序性死亡;蜕皮激素协同保幼激素发挥调节作用;蜜蜂蜂王与工蜂的躯体大小及相关器官大小的级型特异性差异与胰岛素/胰岛素类似物信号通路密切相关。此外,本文还介绍了蜜蜂级型分化模型,该模型系统描述了上述各生理因子对级型分化的综合作用。

关键词 蜜蜂,级型分化,保幼激素(JH),蜕皮激素(Ecd),胰岛素/胰岛素类似物信号通路(IIS)

蜜蜂 *Apis mellifera* L. 是典型的社会性昆虫,成千上万的蜜蜂个体通过一种高度进化的社会性组织构成一个统一整体——蜂群,蜂群是蜜蜂赖以生存的生物学单位。在通常情况下,蜂群由一只蜂王、少量季节性雄蜂和众多工蜂组成,其中蜂王和工蜂均为二倍体雌性。长期以来,让人们感兴趣而又困惑不解的是蜂王与工蜂可由遗传上相同的受精卵发育而来,而它们的表型却存在巨大差异,是截然不同的两种级型。这种差异表现在不同层面上,如形态上,蜂王较工蜂个体大,体重也更大,二者后足分化明显,工蜂拥有花粉篮结构,蜂王则无;内

部生理方面,最大的区别在于蜂王具有发育成熟的卵巢,为可育个体,而工蜂卵巢发育不完全,属于不可育个体。关于蜂王与工蜂的遗传多型性现象,研究者一般认为,不同的营养条件或者说差异性饲喂是引发幼虫发育命运根本改变的基础^[1,2]。营养刺激触发了幼虫内分泌

^{*} 资助项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(nycytx-43-kxj4)、科技部863项目(No. 2007AA10Z332)和浙江省自然科学基金(No. R3080306)。

^{**} 通讯作者, E-mail: susongkun@zju.edu.cn

收稿日期:2009-11-28,修回日期:2010-02-05

系统的反应,而改变相关激素的滴度,继而调节一系列生长发育过程,不同的营养刺激产生的作用不同,最终形成两种差异明显的级型^[3,4]。之前已有学者从营养基础、分化关键时期、内分泌调节、基因调控等多方面概述了蜜蜂级型分化的相关研究结果^[5]。近年来,一些先进的技术和方法不断应用于该领域的研究中,产生了一系列新的成果,而对级型分化相关生理因子的探究是其中的一项重要内容。

1 保幼激素(juvenile hormone, JH)

JH 是一类倍半萜类衍生物,普遍存在于昆虫、甲壳动物和部分植物体内^[6]。JH 对昆虫的幼虫生长、蛹期变态、成虫生殖以及其他生长和发育过程均发挥极为重要的作用,是最重要的一类昆虫激素^[7,8]。关于 JH 在其他昆虫上的研究已多有报道。在蜜蜂领域,已有报道 JH 对蜜蜂蜂王的生长发育能产生显著影响,JH 能显著延长蜂王幼虫期,提高蜂王初生重以及蜂王卵巢管数目等^[9~11]。目前,JH 的研究主要集中于其在蜜蜂体内的滴度变化、合成过程和代谢过程等。

1.1 JH 滴度的变化

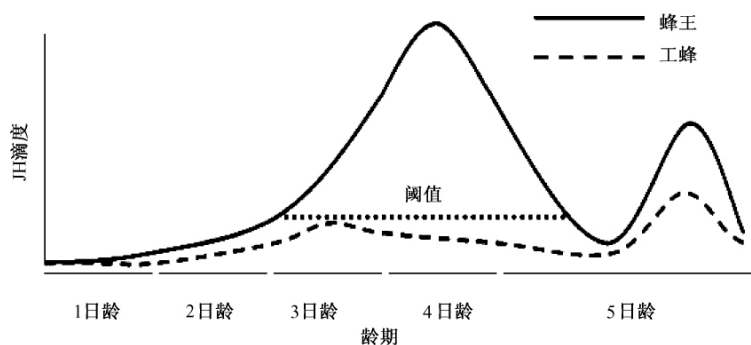


图1 西方蜜蜂蜂王与工蜂幼虫期 JH 滴度变化

(修改自 Barchuk 等^[4])

1.2 JH 的生物合成

JH 的生物合成是昆虫生理学研究的重要内容。目前,对昆虫 JH 合成过程及相关酶已了解清楚,并正在进行着更加深入的相关研究^[15]。

在蜜蜂体内,JH 滴度是不断变化着的。这种变化受到发育阶段、环境条件等因素的影响,且对于蜂王与工蜂之间的变化趋势区别明显。幼虫期是级型分化的决定时期。幼虫期,蜂王与工蜂的 JH 滴度均有 2 次上升过程(图 1),但蜂王的上升幅度明显大于工蜂。上升的过程与级型特异性分化过程紧密关联,在第 1 个上升过程中,JH 滴度表现出一个阈值,该阈值决定着幼虫的发育轨迹是朝向蜂王还是朝向工蜂,有研究表明,在分化的关键时期,使幼虫 JH 滴度提高至阈值以上,将发育成蜂王^[4,12];第 2 个上升过程发生在幼虫发育的最后日龄,而此时也是幼虫卵巢发生级型特异性分化的关键时期,对于将要发育成蜂王的幼虫,所有卵巢管内均形成了众多带有完好发育融合体的生殖细胞簇,而对于将要发育成工蜂的幼虫,卵巢管内正发生着细胞程序性死亡(programmed cell death)^[13],可以推测幼虫最后日龄的 JH 滴度差异与卵巢发育分化紧密关联,运用 BrdU 和 TUNEL 标记技术研究发现,JH 处理能阻止最后日龄工蜂幼虫卵巢管内的细胞程序性死亡过程,由此揭示了 JH 滴度差异与卵巢发育分化之间的关系^[14]。

咽侧体(corpora allata CA)是昆虫 JH 合成的场所。咽侧体活性(CA activity)调控着 JH 的合成及滴度变化^[16],而一些神经肽类,如咽侧体促进素(allatotropin)和咽侧体抑制素(allatostatin),对咽侧体活性发挥着调节作

用^[17-19]。Rachinsky 和 Feldlaufer^[20]检测了 5 种神经肽对蜜蜂咽侧体的作用,并运用体外放射化学分析法评价了这些肽类影响 JH III (JH 的一种)及其直接前体——甲基法尼酯的生物合成的能力,这 5 种神经肽在其他昆虫体内具有促咽侧体或抑咽侧体活性。在最后幼虫日龄,参与检测的咽侧体抑制素均对 JH 的生物合成没有产生影响,而在一种特定时期和剂量依赖性方式下,*Manduca sexta* allatotropin (Mas-AT,一种咽侧体促进素)促进了 JH 的生物合成。Mas-AT 可以显著地增加 JH 前体含量,但不能克服在 JH 合成最终步骤中特定时期的阻滞作用。进一步运用 Mas-AT 和 JH 前体——法尼酸对 5 日龄工蜂幼虫作用的研究发现,在较发育初期更长时间范围内法尼酸能对咽下腺产生刺激作用,而 Mas-AT 对咽下腺活性的刺激作用到结茧期末才停止下来,此时咽下腺变得突然不敏感,说明工蜂幼虫 JH 合成终端酶步骤调节的重要变化发生在从结茧期向前蛹期转变的过程中^[21]。

1.3 JH 的代谢

JH 滴度是由 JH 合成与代谢两方面共同维持的。昆虫体内的 JH 代谢是一系列酶促反应过程,其中保幼激素酯酶、保幼激素环氧水解酶和保幼激素二醇激酶发挥着重要作用^[7]。

近期,从分子水平分析研究了蜜蜂体内的 JH 酯酶 (JHE)。一种蜜蜂 JHE 基因 (Amjhe-like) 从蜜蜂基因组中预测的一系列羧酸酯酶中被鉴定出,该基因包含了其他昆虫 JHE 基因的主功能序列。功能分析表明,Amjhe-like 的表达受到 JH III 的诱导而被 20-羟基蜕皮酮所抑制,同时运用 RNAi 技术沉默 Amjhe-like 基因功能,结果导致成年工蜂体内 JH 滴度增长 6 倍。因此,可以判定 Amjhe-like 基因是蜜蜂体内真实的 JHE 基因^[22]。

2 蜕皮激素 (ecdysteroid, Ecd)

在昆虫体内,Ecd 与 JH 协同作用,共同调控着昆虫的发育和变态^[7]。最近研究发现,Ecd 在蝶蛹金小蜂 *Pteromalus puparum* 卵黄蛋

白合成中发挥重要作用,并被视为卵黄生成的主导调节激素^[23]。对蜜蜂 Ecd 的研究,目前主要集中在与级型相关的滴度变化及其作用机制方面。

如同 JH 一样,在蜜蜂血淋巴中,Ecd 滴度也呈现出一种波动变化的过程,且在蜂王与工蜂两种级型中的变化趋势不一。在蛹期 (图 2),蜂王 Ecd 滴度较工蜂更早达到峰值,这可能是由引发级型分化的最初阶段刺激的不同性质决定的,随后两者均下降,在蛹期后半段,蜂王 Ecd 滴度发生一次小的上升过程后下降,但一直较工蜂 Ecd 滴度高,这可能与级型特异性组织分化 (包括色素沉积) 过程有关^[24]。

蜜蜂级型分化的许多方面是由激素调控不同基因表达引发的^[4]。Guidugli 等^[25]运用差别显示逆转录 PCR 技术,从 5 日龄末工蜂卵巢中筛选得到一系列受到 Ecd 调节的编码代谢酶类的 ESTs,并进一步获得了一种编码短链脱氢酶/还原酶 (SDR) 基因的完整序列,结果表明,在 5 日龄幼虫早期该基因开始高度表达,而在前蛹期停止,其中工蜂幼虫的表达水平较蜂王幼虫高,进一步实验证实,这是级型特异性 Ecd 滴度对该基因负调节的结果。

3 胰岛素/胰岛素样多肽及其受体

对于后生动物,其躯体大小及器官大小的发育调节机制是相对保守的,胰岛素/胰岛素类似物信号通路 (IIS,包括胰岛素/胰岛素样多肽、胰岛素受体及二者相互作用过程) 即为该保守机制之一^[26,27]。近期发现,IIS 与猛蚁 *Diacamma* sp. 的晚期卵子发生紧密相关^[28],说明 IIS 在昆虫生殖及生殖调节中可能发挥重要作用。蜜蜂蜂王与工蜂的躯体大小及相关器官大小存在着显著的级型特异性差异,事实表明该表型与胰岛素/胰岛素类似物信号通路密切相关^[29]。蜜蜂基因组测序的完成极大推动了功能基因组的研究。Wheeler 等已从蜜蜂基因组中预测到两种胰岛素样多肽基因 (AmILP-1 和 AmILP-2) 和两种受体基因 (AmInR-1 和 AmInR-2)^[29]。近期,de Azevedo 和 Hartfelder

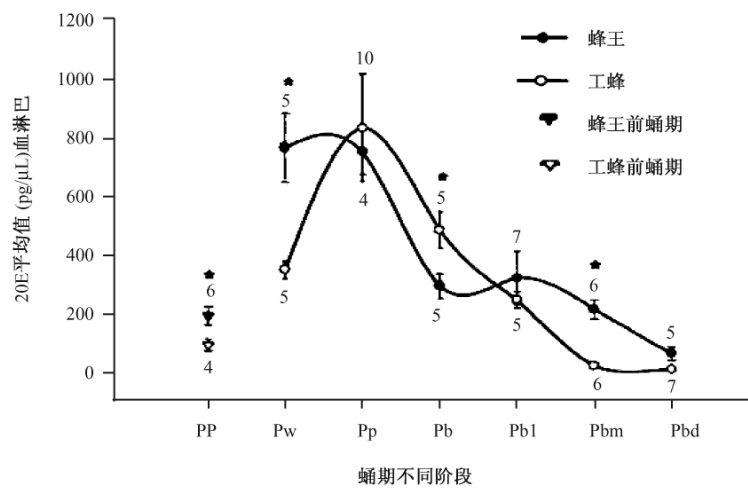


图 2 西方蜜蜂蜂王与工蜂蛹期 Ecd 滴度变化

注:修改自 Pinto 等^[24]。以体表的色素沉积的标志将蛹期划分为 6 个不同阶段,其中根据复眼的色素沉积进度,分成 Pw ,Pp ,Pb 3 个渐进阶段,再根据躯体的色素沉积进度,分成 Pb1 ,Pbm ,Pbd 3 个激进阶段。PP 指前蛹期。

研究了上述基因的发育表达谱。运用半定量/定量实时 PCR (Semiquantitative RT-PCR and quantitative RT-PCR) 技术,对级型发育关键时期的蜂王和工蜂幼虫研究分析表明,AmILP-2 均为两种级型的主要转录体,且工蜂比蜂王的表达量更高。4 日龄蜂王幼虫胰岛素受体基因

(InR) 的表达量急剧下降,而工蜂幼虫没有出现大的变化,鉴于蜂王高的生长速率,上述发现并非偶然,这可被解释为 IIS 与 JH 之间可能存在的对抗性干扰作用 (antagonistic crosstalk)^[26]。

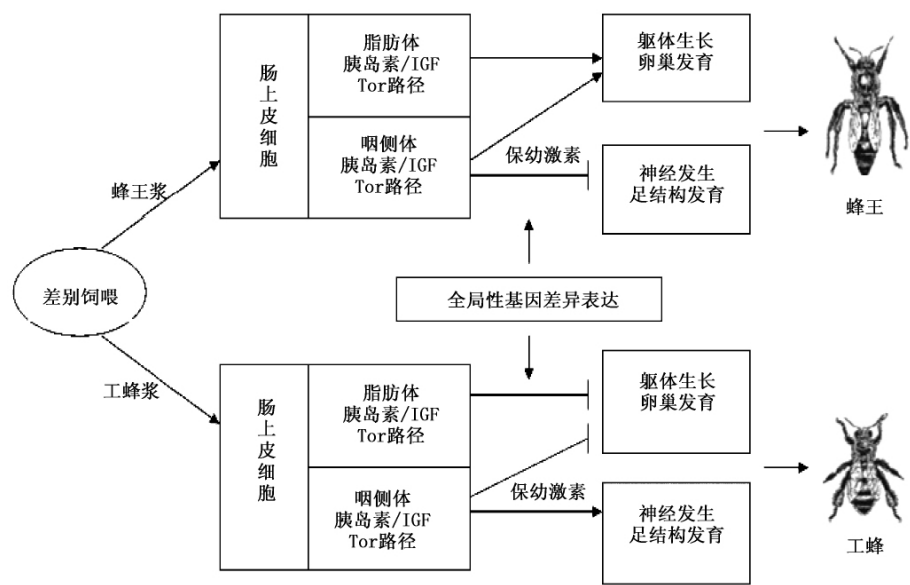


图 3 蜜蜂级型分化模型 (修改自 Barchuk 等^[41])

4 级型分化模型

在综合已有研究成果的基础上, Barchuk 等^[4]较为系统地提出了蜜蜂级型分化模型(图3)。不难发现, 在级型分化过程中, JH 发挥着极为关键的作用。不同的营养刺激分别通过特定的作用路径(pathway, 包括胰岛素/胰岛素类似物信号通路 IIS 和 TOR 路径^[30, 31])使蜂王与工蜂产生不同的 JH 水平, 且蜂王显著高于工蜂。蜂王较高的 JH 滴度促进了躯体生长和卵巢发育而抑制了细胞凋亡及脑、后足特化构造的发育; 与之相反, 较低的 JH 滴度使工蜂脑神经发生增加及后足特化而抑制了躯体生长及卵巢的发育、细胞凋亡增加。经过一系列复杂的生理生化过程, 最终产生了级型分化现象。不可否认的是, 该模型还需要进一步的验证和完善。

5 展望

蜜蜂级型分化现象是一种极为复杂的生长发育差异性调节过程, 其中包含了多种因子的共同作用, 如环境因子——营养, 生理因子——各种激素、蛋白等。为了揭开这个谜团, 前人已做出了大量研究工作, 许多新发现不断呈现在人们眼前。随着研究的不断深入以及大量先进研究技术的运用, 人们将能够更透彻清晰地理解级型分化的分子机制及系统的发育调节通路。

参 考 文 献

- Colhoun E. H., Smith M. V. Neurohormonal properties of royal jelly. *Nature*, 1960, **188**:854.
- Shuel R. W., Dixon S. E. The early establishment of dimorphism in the female honeybee *Apis mellifera* L. *Insectes Soc.*, 1960, **7**:265.
- Hartfelder K., Engels W. Social insect polymorphism: Hormonal regulation of plasticity in development and reproduction in the honeybee. *Curr. Top Dev. Biol.*, 1998, **40**:45 ~ 77.
- Barchuk A., Cristino A., Kucharski R., et al. Molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honeybee *Apis mellifera*. *BMC Developmental Biology*, 2007, **7**(1):70.
- 黄少康, 陈盛禄. 蜜蜂蜂王与工蜂级型分化研究进展. 昆虫知识, 2002, **39**(3):176 ~ 181.
- 嵇保中, 刘曙雯, 田铃, 等. 保幼激素生物合成研究进展. 生命科学, 2007, **19**(1):90 ~ 96.
- 李胜, 蒋容静, 曹梅讯. 保幼激素的代谢. 昆虫学报, 2004, **47**(3):389 ~ 393.
- 刘影, 胜振涛, 李胜. 保幼激素的分子作用机制. 昆虫学报, 2008, **51**(9):974 ~ 978.
- 周冰峰, 鲍秀良, 龚蜜, 等. 保幼激素类似物 ZR_(512)对蜜蜂蜂王初生重的影响. 福建农业大学学报, 1995, **24**(1):109 ~ 112.
- 周冰峰, 龚蜜, 鲍秀良, 等. 保幼激素类似物 ZR_(512)对蜜蜂蜂王胚后发育的调控作用. 福建农业大学学报, 1995, **24**(2):227 ~ 230.
- 周冰峰, 张淑娟, 周碧青, 等. 保幼激素类似物 ZR_(512)对蜂王生殖系统发育和生理的影响. 中国养蜂, 2002, **53**(1):6 ~ 8.
- Bloch G., Wheeler D. E., Robinson G. E. Endocrine influences on the organization of insect societies. In: Pfaff D. W., Arnold A. P., Etgen A. M., et al. (eds.). *Hormones, Brain and Behavior*. Academic Press, San Diego. 2002. 195 ~ 235.
- Hartfelder K., Steinbruck G. Germ cell cluster formation and cell death are alternatives in caste-specific differentiation of the larval honey bee ovary. *Invertebrate Reproduction and Development*, 1997, **31**(13):237 ~ 250.
- Capella I. C. S., Hartfelder K. Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. *J. Insect Physiol.*, 1998, **44**(5/6):385 ~ 391.
- 刘艳, 胜振涛, 蒋容静, 等. 保幼激素合成的研究进展. 昆虫学报, 2007, **50**(12):1 285 ~ 1 292.
- Tobe S. S., Stay B. Structure and regulation of the corpus allatum. *Advances in Insect Physiology*, 1985, **18**:305 ~ 432.
- Stay B., Woodhead A. P. Neuropeptide regulators of insect corpora allata. *Amer. Zool.*, 1993, **33**(3):357 ~ 364.
- Stay B., Tobe S. S., Bendena W. G. Allatostatins: identification, primary structures, functions and distribution. *Advances in Insect Physiology*, 1994, **25**:267 ~ 337.
- Stay B. A review of the role of neurosecretion in the control of juvenile hormone synthesis: a tribute to Berta Scharer. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, **30**(8/9):653 ~ 662.
- Rachinsky A., Feldlaufer M. F. Responsiveness of honey bee (*Apis mellifera* L.) corpora allata to allatostatic peptides from four insect species. *J. Insect Physiol.*, 2000, **46**(1):41 ~ 46.

- 21 Rachinsky A. , Tobe S. S. , Feldlaufer M. F. Terminal steps in JH biosynthesis in the honey bee (*Apis mellifera* L.) : developmental changes in sensitivity to JH precursor and allatotropin. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* , 2000 , **30**(8/9) :729 ~ 737.
- 22 Mackert A. , do Nascimento A. M. , Gentile Bitondi M. M. , *et al.* Identification of a juvenile hormone esterase-like gene in the honey bee , *Apis mellifera* L. — Expression analysis and functional assays. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* , 2008 , **150**(1) :33 ~ 44.
- 23 Dong S. Z. , Ye G. Y. , Guo J. Y. , *et al.* Roles of ecdysteroid and juvenile hormone in vitellogenesis in an endoparasitic wasp , *Pteromalus puparum* (Hymenoptera: Pteromalidae). *General and Comparative Endocrinology* , 2009 , **160**(1) :102 ~ 108.
- 24 Pinto L. Z. , Hartfelder K. , Gentile Bitondi M. M. , *et al.* Ecdysteroid titers in pupae of highly social bees relate to distinct modes of caste development. *J. Insect Physiol.* , 2002 , **48**(8) :783 ~ 790.
- 25 Guidugli K. R. , Hepperle C. , Hartfelder K. A member of the short-chain dehydrogenase / reductase (SDR) superfamily is a target of the ecdysone response in honey bee (*Apis mellifera*) caste development. *Apidologie* , 2004 , **35**(1) :37 ~ 47.
- 26 de Azevedo S. V. , Hartfelder K. The insulin signaling pathway in honey bee (*Apis mellifera*) caste development — differential expression of insulin-like peptides and insulin receptors in queen and worker larvae. *J. Insect Physiol.* , 2008 , **54**(6) :1 064 ~ 1 071.
- 27 Pinro Gonzaz J. , Carrillo Farne O. , Vasconcelos A. T. R. , *et al.* Conservation of key members in the course of the evolution of the insulin signaling pathway. *Biosystems* , 2009 , **95**(1) :7 ~ 16.
- 28 Okada Y. , Miyazaki S. , Miyakawa H. , *et al.* Ovarian development and insulin-signaling pathways during reproductive differentiation in the queenless ponerine ant *Diacamma* sp. *J. Insect Physiol.* In Press , Corrected Proof.
- 29 Wheeler D. E. , Buck N. , Evans J. D. Expression of insulin pathway genes during the period of caste determination in the honey bee , *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology* , 2006 , **15**:597 ~ 602.
- 30 Patel A. , Fondrk M. K. , Kaftanoglu O. , *et al.* The making of a queen:TOR pathway is a key player in diphenic caste development. *PLoS ONE* , 2007 , **2**(6) :e509.
- 31 Soulard A. , Cohen A. , Hall M. N. TOR signaling in invertebrates. *Current Opinion in Cell Biology* , 2009 , **21**(6) :825 ~ 836.

雄尾螨科分类学与生物学研究进展*

盛雅琴** 金道超*** 郭建军

(贵州山地农业病虫害重点实验室 贵州大学昆虫研究所 贵阳 550025)

Advances in study on taxonomy and biology of Arrenuridae. SHENG Ya-Qin**, JIN Dao-Chao***, GUO Jian-Jun (The Provincial Key Laboratory for Agricultural Pest Management of Mountainous Region, Institute of Entomology of Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract The Arrenuridae is one of the bigger families in the Hydrachnidia superfamily Arrenuroidea. Taxonomic research on this family has been very active around the world in recent years. However, the systematic position of some genera remains unresolved, and the fauna of most countries and regions, including China, needs to be investigated with systematic and biological understanding of the family. This paper summarizes the historical development and present progress in taxonomic research on the higher taxa of the Arrenuridae and introduces the main bionomic features of this group.

Key words water mite, Arrenuridae, taxonomy, biology characteristic

摘 要 雄尾螨科 Arrenuridae 是水螨群 Hydrachnidia 雄尾螨总科 Arrenuroidea 较大类群之一,目前世界区系的分类学研究活跃,但属级阶元的分类尚有分歧,包括中国在内的许多国家和地区对该类群的系统学和生物学特性尚待深入研究。本文总结和讨论了雄尾螨科分类学尤其高级阶元分类的历史沿革、现状和趋势,并对其主要生物学习性作了介绍。

关键词 水螨,雄尾螨科,分类学,生物学特性

雄尾螨科 Arrenuridae 隶属于蜱螨亚纲 Acari,辐螨总目 Actinotrichida,前气门目 Prostigmata,寄殖螨亚目 Parasitengona,水螨群 Hydrachnidia,雄尾螨总科 Arrenuroidea^[1]。该科广泛分布于世界动物地理区划的 6 个区,就现有已知种而言,各动物地理区均有特有属种,栖于各种类型的静水和流水水域,幼期多为寄生性,若螨和成螨期自由生活、捕食性,喜栖于水生植物,有的栖于水藻上^[2]。本文记述雄尾螨科高级阶元分类研究发展历程、现状和雄尾螨科生物学特性。

1 雄尾螨科分类研究进展

雄尾螨科的分类学研究可以追溯到 19 世纪前期,首先是法国学者 Dugès 于 1834 年记述青绿雄尾螨 *Arrenurus viridis* Dugès, 1834,并以之为模式种建立雄尾螨属 *Arrenurus* Dugès, 1834。直到 1900 年,挪威学者 Thor 才以雄尾

螨属为模式属建立雄尾螨科 Arrenuridae Thor, 1900,并同时建立了雄尾螨总科 Arrenuroidea Thor, 1900。

1.1 雄尾螨科高级阶元分类沿革

自 Thor 于 1900 年建立雄尾螨科后,该科的研究也日渐趋于活跃,其属级分类单元也相继建立。按广泛采用的 Cook 氏分类系统^[3],雄尾螨科分为 2 个亚科,即亚非雄尾螨亚科 Africasiinae 和雄尾螨亚科 Arrenurinae,各亚科分类沿革简况如下。

1.1.1 亚非雄尾螨亚科 Africasiinae 亚非雄尾螨亚科分布在非洲、亚洲的部分地区。由于受各方面因素的影响,该亚科高级分类单元的

* 资助项目:国家自然科学基金项目(30070103)。

**E-mail: yaqin02142008@163.com

***通讯作者, E-mail: daochaojin@126.com

收稿日期:2009-11-11,修回日期:2010-04-01