

昆虫性别决定机制研究进展

刘雅婷^{1,2}, 谢文², 张友军^{2,*}

(1. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128; 2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 阐述昆虫的性别决定机制是理解昆虫性别分化调控的理论基础, 也为人类有效控制害虫开辟了新方向。昆虫性别决定机制存在复杂性和多样性, 但主要是内因即性别决定基因级联互作调控的结果。本文对近年来基于性别决定基因级联互作的昆虫性别决定机制研究进行了综述, 主要包括性别决定基因概况和重要性别决定相关基因的分子级联互作关系。目前发现昆虫重要性别决定相关基因主要集中在常染色体上, 且部分基因之间存在紧密的级联互作, 如 *Sxl*, *tra*, *dsx*, *csd* 和 *fem* 等。在这些基因中, *tra/fem*→*dsx* 的调控模式在已报道的昆虫中存在共性, 即 *tra* 和 *dsx* 相对较保守且 *tra* 通过性特异剪切来调控下游 *dsx* 的转录形式。目前大多数昆虫的性别决定机制还不清楚, 但近年来模式昆虫性别决定机制取得了一定进展, 对非模式昆虫的研究还处于起步阶段但却越来越受到重视。

关键词: 昆虫; 性别决定机制; 级联调控; *transformer* 基因; *doublesex* 基因; 可变剪切

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2015)04-0437-08

Research progress in sex determination in insects

LIU Ya-Ting^{1,2}, XIE Wen², ZHANG You-Jun^{2,*} (1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Clarifying insect sex determination mechanisms can lay a strong theoretical basis for sex-ratio manipulation, and can also help us to develop new ways for effective pest control. Insects have evolved a bewildering diversity of mechanisms to generate the two sexes. However, the sexual development of an insect is mainly defined through a hierarchical control of several sex determining genes. This article summarized the recent studies and progress in sex determination mechanisms in model insects, focusing on genes and their cascade interactions involved in sex determination. Previous studies have demonstrated that the important sex determination genes are mainly located on autosome, and some of them have close cascade interactions, such as *Sxl*, *tra*, *dsx*, *csd*, *fem*, etc. Among these genes, *tra* and *dsx* are functionally conserved, and *tra* regulates the transcription of the downstream gene—*dsx* through sex-specific alternative splicing. The *tra/fem*→*dsx* mode of sex determination is prevalent in most studied insects. Although sex determination mechanisms in most insects remain largely unclear, the study of sex determination mechanisms in some model insects has achieved great progress in recent years. Moreover, the mechanism study of sex determination in non-model insects has attracted extensive attention though it is still in its infancy stage.

Key words: Insects; sex determination mechanism; hierarchical regulation; *transformer* gene; *doublesex* gene; alternative splicing

生物的两性是如何产生, 又是如何进化的, 这是发育和进化生物学研究的一个重大问题。性别决定是物种进化选择的结果, 也是生物生命活动的基本特征。两性生物的性别决定与分化不仅是个体正常发育和生存所不可或缺的, 也是种族繁衍延续的物

质基础。昆虫作为地球上数量最多的动物群体, 依据性别决定初始信号的来源, 其性别决定机制可大致分为 3 类: 合子型 (zygotic), 由遗传差异决定性别; 母代型 (maternal), 由昆虫母体决定性别; 环境型 (environmental), 由环境条件决定性别 (Sánchez,

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31401747); 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303028); 国家科技支撑计划课题 (2012BAD19B01)

作者简介: 刘雅婷, 女, 1990 年 2 月生, 湖南省郴州人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生理与分子生物学, E-mail: liuyating19900209@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhangyoujun@caas.cn

收稿日期 Received: 2014-07-07; 接受日期 Accepted: 2015-12-16

2008)。由于此种分类方式还没有得到国际上的普遍认可,本文依旧采用物种类群对昆虫性别决定机制进行归纳和阐述。根据已有研究报道,对于存在性染色体的昆虫,如双翅目果蝇,其性别主要取决于性染色体 X 的浓度 (Erickson and Quintero, 2007); 而对于被认为没有性染色体的昆虫,如膜翅目金小蜂 *Nasonia*, 其雌雄虫之间存在整套染色体数目的成倍变化即单双倍体型 (Beukeboom and van de Zande, 2010; van de Zande and Verhulst, 2014)。除了内在因素,科学家还发现外在因素如环境温度或内共生细菌也可影响个别昆虫的性别决定 (Campos *et al.*, 1996; Nigro *et al.*, 2007; Beukeboom, 2012; Sugimoto and Ishikawa, 2012)。虽然昆虫性别决定机制存在复杂性和多样性,但主要还是由常染色体上调控体细胞和两性生殖细胞的性别决定基因紧密级联互作的结果。本文就基于性别决定基因级联互作的昆虫性别决定机制研究进展进行了综述。

1 双翅目昆虫性别决定

黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 作为双翅目昆虫的代表,是性别决定机制研究的模式生物,其性别决定主要取决于性染色体 X 的浓度 (Erickson and Quintero, 2007), XX 为雌性, X 为雄性。早在 1988 年, Nagoshi 等就提出,果蝇的雌/雄体细胞性别决定是一个级联互作调控的复杂过程,即位于级联上游的基因通过选择性剪切得到性特异可变剪切体,继而调控下游靶基因的性特异剪切,完成性别分化 (Nagoshi *et al.*, 1988)。果蝇中与两性及生殖相关的基因多达 2 505 个 (Haerty *et al.*, 2007), 到目前为止,已有 30 个基因确认参与其体细胞性别决定和两性生殖细胞的分化 (Schütt and Nöthiger, 2000)。其中 *Sxl* (*Sex lethal*) 是果蝇性别决定途径最上游的关键调控基因 (Cline, 1978; Penalva *et al.*, 1996; Penalva and Sánchez, 2003), 它与下游其他性别决定基因 *tra* (*transformer*), *tra-2* (*transformer-2*) 和 *dsx* (*doublesex*) 分子级联互作共同完成果蝇的性别决定 (Baker and Ridge, 1980)。

黑腹果蝇性别决定的初始信号是性染色体 X 的浓度, *Sxl* 作为初始信号的作用靶标,位于性别决定级联的顶端,参与体细胞性别决定、剂量补偿和卵子发生 (Schütt and Nöthiger, 2000)。果蝇中的 *Sxl* 具有两个启动子——早期启动子 (*Sxl-pe*) 和晚期启动子 (*Sxl-pm*) (Salz *et al.*, 1989)。 *Sxl-pe* 只在雌虫

中被激活,继而导致 *SXL* 早期蛋白只能在雌虫中存在,但 *Sxl-pm* 在雌雄虫中都能被激活,并于胚胎后期开始发挥作用 (Sánchez, 2008)。因此, *Sxl* 通过选择性剪切在雌雄虫中分别产生性特异表达,雌虫编码得到功能型 *SXL* 蛋白质,而雄虫由于缺乏 *SXL* 早期蛋白,只能得到无功能的 *SXL* 蛋白质 (Bell *et al.*, 1988; Bachiller and Sánchez, 1991)。雌虫 *SXL* 蛋白质还能参与调控 *Sxl* 的雌特异剪切 (Bell *et al.*, 1991),即形成自我调节的循环,使 *Sxl* 在果蝇整个发育历期中保持稳定 (Cline, 1984),且 *SXL* 蛋白质又能次第调控下游靶基因 *tra* 的选择性剪切 (Boggs *et al.*, 1997),使其发生雌特异可变剪切,产生功能型 *TRA* 蛋白质。在雌虫中,功能型 *TRA* 蛋白质与 *tra-2* 的产物 *TRA-2* 蛋白质协同调控果蝇性别决定级联的末端基因 *dsx* (Burtis and Baker, 1989),使其发生雌特异剪切,产生成熟的 mRNA,编码 *DSX^F* 蛋白质 (Hoshijima *et al.*, 1991; Tian and Maniatis, 1993); 在雄虫中,由于功能型 *TRA* 蛋白质的缺失,导致 *dsx* 发生雄特异剪切,得到 *DSX^M* 蛋白质。*DSX^F* 和 *DSX^M* 蛋白质能调控果蝇性别分化末端靶基因的活性 (Burtis and Baker, 1989),产生性别分化 (图 1: A)。

随着对双翅目昆虫性别决定分子机制研究的深入,果蝇性别决定相关基因的同源物在其他双翅目昆虫中陆续被发现。例如 *Sxl* 同源基因在家蝇 *Musca domestica*、地中海实蝇 *Ceratitis capitata*、红色金蝇 *Chrysomya rufifacies*、金黄蚤蝇 *Megaselia scalaris* 中均被成功克隆,但这些昆虫的 *Sxl* 均无性特异表达,因此很可能与性别决定无关 (Muller-Holtkamp, 1995; Meise *et al.*, 1998; Sievert *et al.*, 2000); *tra* 同源基因在柑橘果实蝇 *Bactrocera oleae*、地中海实蝇、家蝇中也被克隆得到,但与果蝇不同的是,这些昆虫的 *tra* 可进行自我反馈调节,无需 *SXL* 蛋白质的参与便能使功能蛋白只存在于雌虫体内 (Pane *et al.*, 2002; Lagos *et al.*, 2007; Hediger *et al.*, 2010); *tra-2* 同源基因在家蝇、地中海实蝇和其他实蝇科昆虫中发现,在这些物种中, *tra-2* 参与 *tra* 的自我调控及 *dsx* mRNA 前体的雌特异剪切 (Burghardt *et al.*, 2005; Salvemini *et al.*, 2009; Sarno *et al.*, 2010); *dsx* 同源基因在家蝇、金黄蚤蝇、柑橘果实蝇等几乎所有双翅目昆虫中均存在,且均能通过选择性剪切实行性特异调控,编码 *DSX^F* 和 *DSX^M* 蛋白质 (Kuhn, 2000; Hediger *et al.*, 2004; Lagos *et al.*, 2005)。果蝇 *sxl* → *tra* (+ *tra-2*) → *dsx* 的性别决定级联在非果

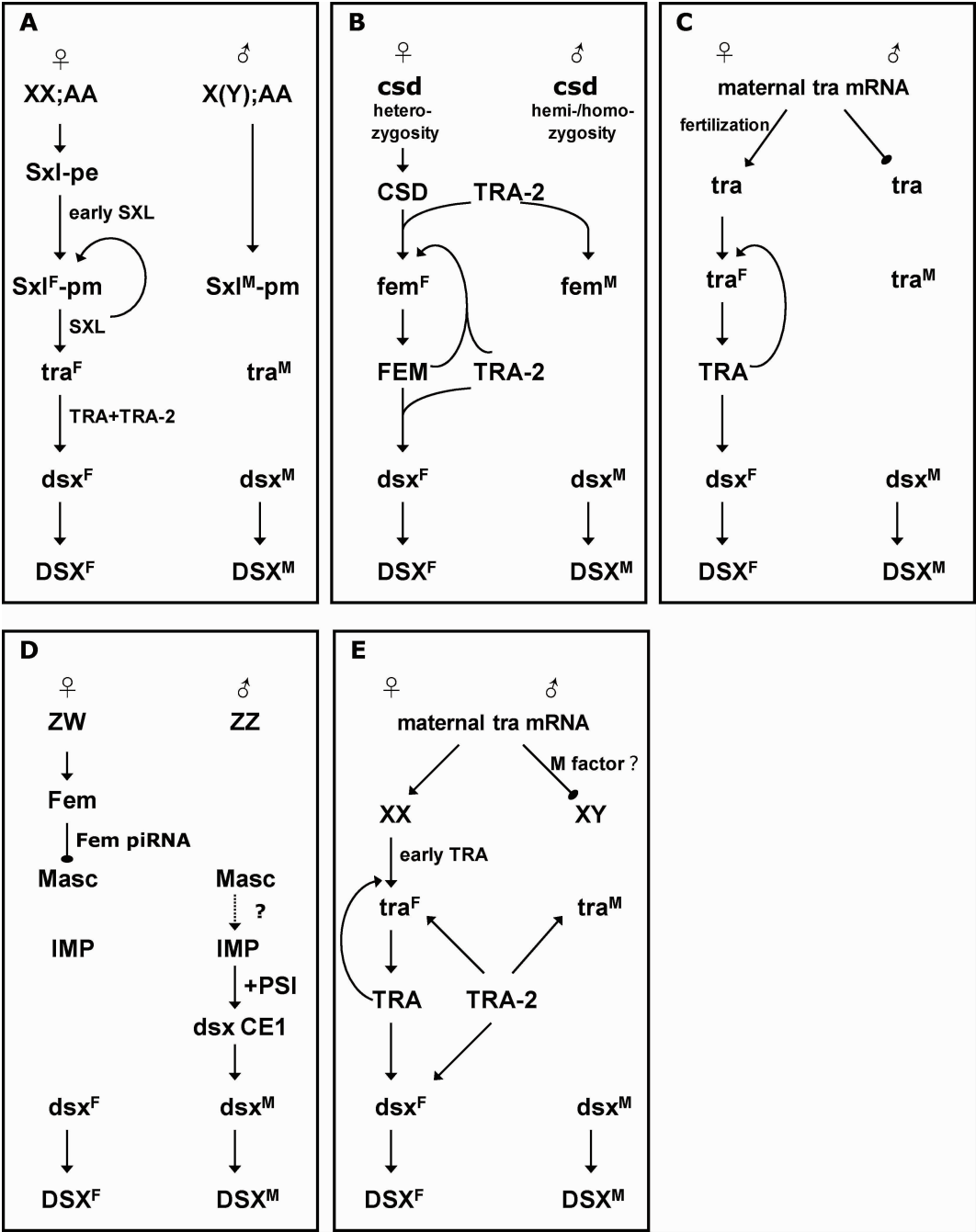


图 1 模式昆虫的性别决定级联互作

Fig. 1 Sex determination cascade in model insect species

A: 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Verhulst *et al.*, 2010b); B: 西方蜜蜂 *Apis mellifera* (Nissen *et al.*, 2012); C: 金小蜂 *Nasonia vitripennis* (Shukla and Nagaraju, 2010); D: 家蚕 *Bombyx mori* (Nagaraju *et al.*, 2014; Sakai *et al.*, 2014); E: 赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*.

蝇属的其他双翅目昆虫中只是部分保守, *tra* (+ *tra2*) → *dsx* 的调控模式在双翅目昆虫中更普遍 (Hediger *et al.*, 2010)。总之, 双翅目昆虫的性别决定级联互作都是以 *dsx* 为末端调控基因, 以性特异剪切体的形式实现性特异表达, 最终达到性别分化的目的。 *tra* 作为 *dsx* 的上游调控基因, 在除果蝇属外的其他双翅目昆虫中高度保守, 可行自我反馈调节, 在性别决定中起到关键作用。

2 膜翅目昆虫性别决定

膜翅目昆虫的性别由胚胎倍型决定 (Heimpel and de Boer, 2008): 雄虫为单倍体, 由未受精卵发育而来; 雌虫为二倍体, 由受精卵发育而来。近亲交配种群中也会出现二倍体雄虫, 这种雄虫存活率低且多数不育, 给种群发展带来不利影响。膜翅目昆

虫通常会采取一系列选择机制,如清除二倍体雄虫、选择性自我杀卵、选择性授精等来控制二倍体雄虫的产生 (Santomauro *et al.*, 2004; 何慧和奚耕思, 2008)。

补偿性性别决定机制和母代印记机制被认为是膜翅目昆虫最主要的两种性别决定机制。前者以蜜蜂为代表, *csd* (complementary sex determiner) 基因编码的 CSD 蛋白质是蜜蜂性别决定的初始信号 (Gempe *et al.*, 2009; Gempe and Beye, 2011), 其隶属于 SR 蛋白家族, 在结构上与双翅目昆虫的 *tra* 相似, 蜜蜂中任意 2 个性别相关的不同等位基因结合, 都会产生活性 CSD 蛋白质, 进而诱导雌性发育; 任意 2 个相同等位基因或单个等位基因结合, 不能产生活性 CSD 蛋白质, 进而诱导雄性发育 (Beye *et al.*, 2003; Beye, 2004)。功能型 CSD 蛋白质作为一个潜在的剪切因子对 *fem* (feminizer) 基因实施剪切, 使其在雌虫体内产生有功能的 FEM 蛋白质。Fem 与 *csd* 一样隶属于 SR 蛋白家族, 同为果蝇 *tra* 的同源基因 (Hasselmann *et al.*, 2008), 在种群中无等位基因特异性, 在两性间有性特异剪切体, 并通过性特异剪切体的方式参与体细胞性别决定及生殖细胞的分化 (Gempe *et al.*, 2009)。蜜蜂中还发现了果蝇 *tra-2* 的同源基因, 它在蜜蜂中存在不同剪切体形式, 但无性特异表达, RNAi 实验证实 *tra-2* 作用于 *fem* 雌雄剪切体及 *dsx* 雌性剪切体, 对蜜蜂性二态的形成至关重要 (Nissen *et al.*, 2012)。研究至今, 蜜蜂的性别决定机制已初现模型: *csd* 的杂合度给蜜蜂性别决定提供了初始信号, 雌虫中 *tra-2* 作为 *csd* 的辅助因子, 协助 *csd* 完成 *fem* 的雌性剪切, 且与 FEM 蛋白质结合, 使其形成自我调节的循环, 维持功能蛋白的产生。且 *tra-2* 能与 *fem* 协同调控 *dsx* 的雌性剪切, 维持雌性发育。雄虫中不存在 CSD 及 FEM 功能蛋白, *tra-2* 便能促使 *fem* 发生雄特异剪切, 维持雄性发育 (图 1: B)。

母代印记以金小蜂 *Nasonia* 为例, 其基因组中不存在蜜蜂性别决定初始信号 *csd* (Werren *et al.*, 2010)。母代 *tra* mRNA 前体的输入起到关键的调控作用, 未受精卵发育成单倍体雄虫, 且仅仅遗传了母代基因组, 而受精卵发育为双倍体雌虫, 同时遗传了父代和母代的基因组。母代基因组的输入阻碍了未受精单倍体雄虫中 *tra* 等位基因的转录, 而在雌虫中, 受精作用引发了其父代基因组中 *tra* 等位基因的转录。雌虫中的 TRA 蛋白质建立了一个自我调节的循环, 持续提供功能型 TRA 蛋白质, 促使 *dsx*

mRNA 前体发生雌特异剪切, 促进雌性发育 (Verhulst *et al.*, 2010a)。雄虫中由于缺乏合子的 TRA 蛋白质, 因此无法建立 *tra* 自我调节的循环, 导致 *tra* 和 *dsx* 发生雄特异剪切 (Shukla and Nagaraju, 2010) (图 1: C)。

比较膜翅目昆虫与双翅目昆虫的性别决定级联, 发现二者性别决定的初始信号不同, 且上游基因的调控模式也存在差异 (果蝇由性特异剪切体调控, 蜜蜂由等位基因的杂合性调控)。fem 虽然在结构上与果蝇 *tra* 相似, 并能对 *dsx* 剪切体实施调控, 但果蝇的 *tra* 只调控体细胞性别决定, 不直接参与两性生殖细胞的分化, 且无法形成自我调节的循环, 与 *fem* 不尽相同。尽管昆虫性别决定机制存在多样性, 但 *tra/fem*→*dsx* 调控模式在多数昆虫中高度保守。

3 鳞翅目昆虫性别决定

家蚕 *Bombyx mori* 是鳞翅目昆虫的代表, 雌性为异型配子 ZW, 雄性为同型 ZZ (Ezaz *et al.*, 2006), 且遗传证据表明, 家蚕的性别决定由 W 染色体上的雌性化因子 (Fem) 控制, 与 Z 染色体和常染色体的数量无关 (Hasimoto, 1933)。由于 W 染色体被包括长末端重复、非长末端重复等大量转座子元件所占据 (Abe *et al.*, 1998, 2000, 2005, 2010), 研究人员至今未能从 W 染色体鉴定到编码性别决定相关功能蛋白的基因。但近年来发现, 一个来自 W 染色体的转录本 piRNAs 能与 PIWI 蛋白质相互作用, 进而抑制昆虫性腺中转座子的活性 (Kawaoka *et al.*, 2011)。特别是最近研究发现, Fem 产生的 piRNA 是家蚕性别决定的初始信号, 它的靶基因是位于 Z 染色体上的 *Masc*。实验证明, piRNA 能促进 *Masc* mRNA 的裂解, 降低雌性胚胎中 *Masc* 的表达水平, 导致家蚕的雌性化。而 *Masc* 蛋白质也能全面抑制雄虫 Z 染色体上基因的表达, 调控家蚕的剂量补偿和雄性胚胎的雄性化 (Kiuchi *et al.*, 2014)。

随着家蚕全基因组测序工作的完成, 许多果蝇性别决定相关基因的同源基因在家蚕中陆续被发现。如 *Sxl* 在家蚕中无性特异表达, 似乎与其性别决定无关 (Niimi *et al.*, 2006); *tra-2* 存在不同剪切形式, 编码 6 个蛋白亚型 (Niu *et al.*, 2005), 但 RNAi 沉默 *tra-2* 对家蚕 *dsx* 的性特异剪切及雌虫发育无影响, 只影响家蚕雄虫中睾丸的发育 (Suzuki *et al.*, 2012)。因此, *tra-2* 很可能只与家蚕早期睾丸的形态发生有关, 而与其性别决定无关; *dsx* 在家蚕不同

组织间存在性特异表达,雌雄分别剪切为性特异蛋白(DSX^F和DSX^M)(Suzuki *et al.*, 2001),是家蚕性别级联调控末端的双开关基因。DSX^M在雌虫中异位表达可促使雌虫雌性生殖器的不正常分化及部分雄性特征显现(Suzuki *et al.*, 2005),DSX^F可作为正调节蛋白调控雌性特异储藏蛋白SP1和卵黄蛋白原基因(主要在雌虫中表达)(Suzuki *et al.*, 2003)。此外在果蝇中,*dsx*的性特异剪切需要TRA和TRA-2的协同作用(Nagoshi and Baker, 1990),然而到目前为止,家蚕基因组中尚未发现*tra*的同源基因(Mita *et al.*, 2004; Xia *et al.*, 2004),且*tra-2*被证实与性别决定无关,说明家蚕*dsx*的调控模式和果蝇不同,其*dsx*雄特异剪切可由另外两个关键基因(*PSI*和*IMP*)共同调控决定(Suzuki *et al.*, 2010)。*PSI*是一个富含KH功能区的RNA结合蛋白,在家蚕中无性特异表达,却能与*dsx*的CE1区特异性结合共同调控*dsx* mRNA前体的雄特异剪切(Suzuki, 2008)。*IMP*隶属于VICKZ家族,是KH型的RNA结合蛋白,最早被发现于小鼠和人类细胞中,调控胰岛素类似物生长因子II(IGF-II)的转录(Nielsen *et al.*, 1999),后证实与细胞极性和迁移、细胞增殖及癌症有关(Yisraeli, 2005)。家蚕*IMP*同源基因位于Z染色体上,在雄虫中有特异表达,能提高*PSI*与CE1区的结合活性进而激发*dsx* mRNA前体的雄特异剪切(Suzuki *et al.*, 2010)。家蚕雌虫中,*Fem*可直接或间接地抑制*IMP*的表达,正是由于*IMP*蛋白质的缺失,继而促使*dsx*发生雌特异剪切,产生利于雌性发展的DSX^F蛋白质。而家蚕雄虫中,由于缺乏*Fem*,*IMP*能在虫体整个发育历期中表达,且可与*PSI*紧密结合从而致使*dsx*发生雄特异剪切,产生利于雄性发展的DSX^M蛋白质(Nagaraju *et al.*, 2014; Sakai *et al.*, 2014)(图1: D)。

综上所述,家蚕性别决定的初始信号是*Fem*产生的雌特异piRNA,它能调控下游靶基因*Masc*的裂解,导致家蚕的雌性化。虽然家蚕中能找到许多果蝇性别决定相关基因的同源基因,但功能验证后发现只有*dsx*在其性别决定中起作用,且不同于果蝇TRA+TRA2的协同调控模式,家蚕*dsx*的调控由*PSI*和*IMP*共同完成。尽管家蚕性别决定级联的初始信号及其靶标基因、末端基因及其调控基因已研究清楚,但*Masc*与*PSI*+*IMP*之间的联系仍是一片空白。*Masc*下游靶基因的分离和鉴定,以及*Masc*与*PSI*+*IMP*关系的建立将是今后家蚕性别决定机制研究的重点。

4 鞘翅目昆虫性别决定

赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 作为鞘翅目昆虫的代表,其性别决定为XX/XY系统(XX为雌性,XY为雄性),近2年对其参与雌/雄体细胞性别决定和生殖细胞分化的分子机制研究取得了一些进展。

首先在赤拟谷盗基因组中找到了果蝇*dsx*, *tra*和*tra-2*的同源基因,且发现*dsx*有性特异剪切体, RNAi沉默*dsx*,对赤拟谷盗雌虫产卵量及卵的孵化均有负作用(Shukla and Palli, 2012b);*tra*也有性特异剪切体, RNAi沉默后,雌虫*tra*同时出现雌雄剪切体形式,且*dsx*雌特异剪切体消失,只出现雄性形式,而雄虫*tra*和*dsx*剪切体形式无变化(Shukla and Palli, 2012a);*tra-2*在雌雄中有3种相同的剪切体, RNAi实验证实其参与调控*tra*的性特异剪切及*dsx*的雌性剪切(Shukla and Palli, 2013)(图1: E)。

由此,Shukla and Palli(2013)提出了赤拟谷盗性别决定级联的架构,母代*tra* mRNA只在雌虫中翻译得到TRA初期蛋白,继而促使受精卵的*tra* mRNA前体发生雌特异剪切,产生功能型TRA蛋白质而作用于下游*dsx*,使其发生雌特异剪切,得到雌特异蛋白DSX^F。雄虫中可能存在一种未知的M因子,抑制了*tra* mRNA的翻译,或减少了母代*tra*的转录,又或抑制了*tra*自身的反馈调节,导致了TRA初期蛋白的缺失,使*tra*编码得到无功能的蛋白质进而促使*dsx*发生雄特异剪切,得到DSX^M蛋白质。TRA-2蛋白质同时参与雌雄中*tra*的调控及*dsx*的雌性剪切。综上所述,赤拟谷盗的性别决定分子机制与非果蝇属的双翅目昆虫有较高的相似性,即*dsx*为性别决定级联末端调控基因,*tra*在雌虫中可进行自我反馈调节,*tra-2*参与*tra*的自我调控及*dsx*的雌特异剪切,似乎赤拟谷盗的性别调控模式与双翅目昆虫*tra*(+*tra2*)→*dsx*的模式基本一致。

5 半翅目昆虫性别决定

昆虫性别决定机制研究多集中在双翅目和膜翅目,少量涉及鳞翅目和鞘翅目,半翅目昆虫如蚜虫、烟粉虱的相关研究还处于初步探索阶段,可以说“知之甚少”。蚜虫和烟粉虱与金小蜂和蜜蜂类似,其性别决定由染色体控制且都存在单双倍体型(Wilson *et al.*, 1997; Blackman and Cahill, 1998)。蚜虫基因组中能找到果蝇性别决定相关的*Sxl*, *dsx*

和 *tra-2* 等 22 个同源基因 (International Aphid Genomics Consortium, 2010), 烟粉虱中目前只报道克隆得到 *tra-2* (Xie *et al.*, 2014), 且通过搜索蚜虫和烟粉虱基因组注释信息 (烟粉虱基因组基本完成但还未发表) 都未能发现类似膜翅目昆虫性别决定通路的关键调控基因 *tra*, 另外还发现蚜虫性别决定多与环境因素变化相关, 如光周期和温度能影响雄虫发育及后代多态性 (Lees, 1959), 这都说明半翅目蚜虫和烟粉虱性别决定机制可能和膜翅目单双倍体机制不同, 但后续功能研究还未见证实报道。

6 结论与展望

昆虫性别决定机制存在多样性和复杂性, 除受性染色体/常染色体 (X/A) 比率或环境影响外, 其雌/雄体细胞性别决定和生殖细胞分化都是内在性别决定相关基因级联调控的结果。其中 *Sxl*, *tra*, *dsx*, *csd* 和 *fem* 等基因被较多的研究报道, 这些基因之间存在紧密的级联互作, 在性别决定中起着关键作用。比较不同昆虫的性别决定级联发现, *dsx* 作为性别决定级联的末端基因在所有昆虫中高度保守, 且 *tra/fem*→*dsx* 的调控模式在很多昆虫中存在共性。而家蚕 *PSI + IMP*→*dsx* 调控模式, *tra* 自我调节循环及 *tra-2* 新功能的出现, 都说明了在进化过程中 *dsx* 的上游调控基因及级联调控的初始信号发生了改变, 导致了昆虫性别决定机制多样性的产生 (Verhulst *et al.*, 2010b)。

以往的性别决定机制研究多见于模式生物, 且近年来对模式昆虫性别决定机制研究取得了很大进展。随着更多非模式昆虫全基因组测序工作的完成, 性别决定相关基因的有效注释, 特定性别决定基因的克隆, 性特异剪切体的发现, 影响性别分化剪切体的功能验证, 这都将为进一步阐明昆虫性别决定的分子机制和进化机理带来极大帮助, 也将是未来研究昆虫性别决定机制的一个主要方面。

参考文献 (References)

- Abe H, Fujii T, Shimada T, Mita K, 2010. Novel non-autonomous transposable elements on W chromosome of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Genet.*, 89: 375–387.
- Abe H, Kanehara M, Terada T, Ohbayashi F, Shimada T, Kawai S, Suzuki M, Sugasaki T, Oshiki T, 1998. Identification of novel random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) on the W chromosome of the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, and the wild silkworm, *B. mandarina*, and their retrotransposable element-related nucleotide sequences. *Genes Genet. Syst.*, 73: 243–254.
- Abe H, Ohbayashi F, Shimada T, Sugasaki T, Kawai S, Mita K, Oshiki T, 2000. Molecular structure of a novel gypsy-Ty3-like retrotransposon (*Kabuki*) and nested retrotransposable elements on the W chromosome of the silkworm *Bombyx mori*. *Mol. Gen. Genet.*, 263: 916–924.
- Abe H, Seki M, Ohbayashi F, Tanaka N, Yamashita J, Fujii T, Yokoyama T, Takahashi M, Banno Y, Sahara K, Yoshido A, Ihara J, Yasukochi Y, Mita K, Ajimura M, Suzuki MG, Oshiki T, Shimada T, 2005. Partial deletions of the W chromosome due to reciprocal translocation in the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Mol. Biol.*, 14: 339–352.
- Bachiller D, Sánchez L, 1991. Production of XO clones in XX females of *Drosophila*. *Genet. Res.*, 57: 23–28.
- Baker BS, Ridge KA, 1980. Sex and the single cell. I. On the action of the major loci affecting sex determination in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 94: 383–423.
- Bell LR, Horabin JJ, Schedl P, Cline TW, 1991. Positive autoregulation of *Sex-lethal* by alternative splicing maintains the female determined state in *Drosophila*. *Cell*, 65: 229–239.
- Bell LR, Maine EM, Schedl P, Cline TW, 1988. *Sex-lethal*, a *Drosophila* sex determination switch gene, exhibits sex-specific RNA splicing and sequence similar to RNA binding proteins. *Cell*, 55: 1037–1046.
- Beukeboom LW, 2012. Microbial manipulation of host sex determination. *BioEssays*, 34: 484–488.
- Beukeboom LW, van de Zande L, 2010. Genetics of sex determination in the haplodiploid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Chalcidoidea). *J. Genet.*, 89: 333–339.
- Beye M, 2004. The dice of fate: the *csd* gene and how its allelic composition regulates sexual development in the honey bee, *Apis mellifera*. *BioEssays*, 26: 1131–1139.
- Beye M, Hasselmann M, Fondrk MK, Page RE, Omholt SW, 2003. The gene *csd* is the primary signal for sexual development in the honeybee and encodes an SR-type protein. *Cell*, 114: 419–429.
- Blackman RL, Cahill M, 1998. The karyotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.*, 88: 213–215.
- Boggs RT, Gregor P, Idriss S, Belote JM, McKeown M, 1997. Regulation of sexual differentiation in *D. melanogaster* via alternative splicing of RNA from the *transformer* gene. *Cell*, 50: 739–747.
- Burghardt G, Hediger M, Siegenthaler C, Moser M, Dubendorfer A, Bopp D, 2005. The *transformer2* gene in *Musca domestica* is required for selecting and maintaining the female pathway of development. *Dev. Genes Evol.*, 215: 165–176.
- Burtis KC, Baker BS, 1989. *Drosophila doublesex* gene controls somatic sexual differentiation by producing alternatively spliced mRNAs encoding related sex-specific polypeptides. *Cell*, 56: 997–1010.
- Campos MC, Nigro RG, Perondini ALP, 1996. Evidencia de imprinting genômico em um loco genico díptero *Sciaria ocellaris*. *Braz. J. Genet.*, 19: 186.
- Cline TW, 1978. Two closely-linked mutations in *Drosophila melanogaster* that are lethal to opposite sexes and interact with daughterless. *Genetics*, 90: 683–698.
- Cline TW, 1984. Autoregulatory functioning of a *Drosophila* gene product

- that establishes and maintains the sexually determined state. *Genetics*, 107: 231–277.
- Erickson JW, Quintero JJ, 2007. Indirect effects of ploidy suggest X chromosome dose, not the X:A ratio, signals sex in *Drosophila*. *PLoS Biol.*, 5: e332.
- Ezaz T, Stiglec R, Veyrunes F, Marshall Graves JA, 2006. Relationships between vertebrate ZW and XY sex chromosome systems. *Curr. Biol.*, 16: 736–743.
- Gempe T, Beye M, 2011. Function and evolution of sex determination mechanisms, genes and pathways in insects. *BioEssays*, 33: 52–60.
- Gempe T, Hasselmann M, Schiøtt M, Hause G, Otte M, Beye M, 2009. Sex determination in honeybees: two separate mechanisms induce and maintain the female pathway. *PLoS Biol.*, 7: e1000222.
- Haerty W, Jagadeeshan S, Kulathinal RJ, Wong A, Ram KR, Sirot LK, Levesque L, Artieri CG, Wolfner MF, Civetta A, Singh RS, 2007. Evolution in the fast lane: rapidly evolving sex-related genes in *Drosophila*. *Genetics*, 177: 1321–1335.
- Hasimoto H, 1933. The role of the W-chromosome in the sex determination of *Bombyx mori*. *Jpn. J. Genet.*, 8: 245–247.
- Hasselmann M, Gempe T, Schiøtt M, Nunes-Silva CG, Otte M, Beye M, 2008. Evidence for the evolutionary nascence of a novel sex determination pathway in honeybees. *Nature*, 454: 519–522.
- He H, Xi GS, 2008. Complementary sex determination analysis in Hymenoptera. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45: 987–990. [何慧, 奚耕思, 2008. 膜翅目昆虫补偿性性别决定机制. 昆虫知识, 45: 987–990]
- Hediger M, Burghardt G, Siegenthaler C, Buser N, Hilfiker-Kleiner D, Dübendorfer A, Bopp D, 2004. Sex determination in *Drosophila melanogaster* and *Musca domestica* converges at the level of the terminal regulator *doublesex*. *Dev. Genes Evol.*, 214: 29–42.
- Hediger M, Henggeler C, Meier N, Perez R, Saccone G, Bopp D, 2010. Molecular characterization of the key switch *F* provides a basis for understanding the rapid divergence of the sex-determining pathway in the housefly. *Genetics*, 184: 155–170.
- Heimpel GE, de Boer JG, 2008. Sex determination in the Hymenoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, 53: 209–230.
- Hoshijima K, Inoue K, Higuchi I, Sakamoto H, Shimura Y, 1991. Control of doublesex alternative splicing by transformer and transformer-2 in *Drosophila*. *Science*, 252: 833–836.
- International Aphid Genomics Consortium, 2010. Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS Biol.*, 8: e1000313.
- Kawaoka S, Kadota K, Arai Y, Suzuki Y, Fujii T, Abe H, Yasukochi Y, Mita K, Sugano S, Shimizu K, Tomari Y, Shimada T, Katsuma S, 2011. The silkworm W chromosome is a source of female-enriched piRNAs. *RNA*, 17: 2144–2151.
- Kiuchi T, Koga H, Kawamoto M, Shoji K, Sakai H, Arai Y, Ishihara G, Kawaoka S, Sugano S, Shimada T, Suzuki Y, Suzuki MG, Katsuma S, 2014. A single female-specific piRNA is the primary determiner of sex in the silkworm. *Nature*, 509: 633–636.
- Kuhn S, Sievert V, Traut W, 2000. The sex-determining gene *doublesex* in the fly *Megaselia scalaris*: conserved structure and sex-specific splicing. *Genome*, 43: 1011–1020.
- Lagos D, Koukidou M, Savakis C, Komitopoulou K, 2007. The transformer gene in *Bactrocera oleae*: the genetic switch that determines its sex fate. *Insect Mol. Biol.*, 16: 221–230.
- Lagos D, Ruiz MF, Sánchez L, Komitopoulou K, 2005. Isolation and characterization of the *Bactrocera oleae* genes orthologous to the sex determining *Sex-lethal* and *doublesex* genes of *Drosophila melanogaster*. *Gene*, 348: 111–121.
- Lees AD, 1959. The role of photoperiod and temperature in the determination of parthenogenetic and sexual forms in the aphid *Megoura viciae* Buckton – I: the influence of these factors on apterous virginoparae and their progeny. *J. Insect Physiol.*, 3: 92–117.
- Meise M, Hilfiker-Kleiner D, Dübendorfer A, Brunner C, Nothiger R, Bopp D, 1998. *Sex-lethal*, the master sex-determining gene in *Drosophila*, is not sex-specifically regulated in *Musca domestica*. *Development*, 125: 1487–1494.
- Mita K, Kasahara M, Sasaki S, Nagayasu Y, Yamada T, Kanamori H, Namiki N, Kitagawa M, Yamashita H, Yasukochi Y, Kadono-Okuda K, Yamamoto K, Ajimura M, Ravikumar G, Shimomura M, Nagamura Y, Shin-I T, Abe H, Shimada T, Morishita S, Sasaki T, 2004. The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*. *DNA Res.*, 11: 27–35.
- Müller-Holtkamp F, 1995. The *Sex-lethal* gene homologue in *Chrysomya rufifacies* is highly conserved in sequence and exon-intron organization. *J. Mol. Evol.*, 41: 467–477.
- Nagaraju J, Gopinath G, Sharma V, Shukla JN, 2014. Lepidopteran sex determination: a cascade of surprises. *Sex Dev.*, 8: 104–112.
- Nagoshi RN, Baker BS, 1990. Regulation of sex-specific RNA splicing at the *Drosophila doublesex* gene: cis-acting mutations in exon sequences alter sex-specific RNA splicing patterns. *Genes Dev.*, 4: 89–97.
- Nagoshi RN, McKeown M, Burtis KC, Belote JM, Baker BS, 1988. The control of alternative splicing at genes regulating sexual differentiation in *D. melanogaster*. *Cell.*, 53: 229–236.
- Nielsen J, Christiansen J, Lykke-Andersen J, Johnsen AH, Wewer UM, Nielsen FC, 1999. A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development. *Mol. Cell. Biol.*, 19: 1262–1270.
- Nigro RG, Campos CC, Perondini ALP, 2007. Temperature and the progeny sex-ratio in *Sciara ocellaris* (Diptera, Sciaridae). *Genet. Mol. Biol.*, 30: 152–158.
- Niimi T, Sahara K, Oshima H, Yasukochi Y, Ikeo K, Traut W, 2006. Molecular cloning and chromosomal localization of the *Bombyx Sex-lethal* gene. *Genome*, 49: 263–268.
- Nissen I, Müller M, Beye M, 2012. The *Am-tra2* gene is an essential regulator of female splice regulation at two levels of the sex determination hierarchy of the honeybee. *Genetics*, 192: 1015–1026.
- Niu BL, Meng ZQ, Tao YZ, Lu SL, Weng HB, He LH, Shen WF, 2005. Cloning and alternative splicing analysis of *Bombyx mori* transformer-2 gene using silkworm EST database. *Acta Bioch. Bioph. Sin.*, 37: 728–736.
- Pane A, Salvemini M, Delli Bovi P, Polito C, Saccone G, 2002. The transformer gene in *Ceratitis capitata* provides a genetic basis for selecting and remembering the sexual fate. *Development*, 129: 3715–3725.

- Penalva LO, Sánchez L, 2003. The RNA binding protein Sex-lethal (Sxl) and the control of *Drosophila* sex determination and dosage compensation. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 67: 343–359.
- Penalva LOF, Sakamoto H, Navarro-Sabaté A, Sakashita E, Granadino B, Segarra C, Sánchez L, 1996. Regulation of the gene *Sex-lethal*: a comparative analysis of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila subobscura*. *Genetics*, 144: 1653–1664.
- Sakai H, Aoki F, Suzuki MG, 2014. Identification of the key stages for sex determination in the silkworm, *Bombyx mori*. *Dev. Genes Evol.*, 224: 119–123.
- Salvemini M, Robertson M, Aronson B, Atkinson P, Polito LC, Saccone G, 2009. *Ceratitis capitata* transformer-2 gene is required to establish and maintain the autoregulation of *Cetra*, the master gene for female sex determination. *Int. J. Dev. Biol.*, 53: 109–120.
- Salz HK, Maine EM, Keyes LN, Samuels ME, Cline TW, Schedl P, 1989. The *Drosophila* female specific sex-determination gene, *Sex-lethal*, has stage-, tissue-, and sex-specific RNAs suggesting multiple modes of regulation. *Gene. Dev.*, 3: 708–719.
- Sánchez L, 2008. Sex-determining mechanisms in insects. *Int. J. Dev. Biol.*, 52: 837–856.
- Santomauro G, Oldham NJ, Boland W, Engels W, 2004. Cannibalism of diploid drone larvae in the honey bee (*Apis mellifera*) is released by odd pattern of cuticular substances. *J. Apicult. Res.*, 43: 69–74.
- Sarno F, Ruiz MF, Eirín-López JM, Perondini AL, Selivon D, Sánchez L, 2010. The gene *transformer-2* of *Anastrepha* fruit flies (Diptera, Tephritidae) and its evolution in insects. *BMC Evol. Biol.*, 10: 140.
- Schütt C, Nöthiger R, 2000. Structure, function and evolution of sex-determining systems in dipteran insects. *Development*, 127: 667–677.
- Shukla JN, Nagaraju J, 2010. *Doublesex*: a conserved downstream gene controlled by diverse upstream regulators. *J. Genet.*, 89: 341–356.
- Shukla JN, Palli SR, 2012a. Sex determination in beetles: production of all male progeny by parental RNAi knockdown of *transformer*. *Sci. Rep.*, 2: 602.
- Shukla JN, Palli SR, 2012b. Doublesex target genes in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Sci. Rep.*, 2: 948.
- Shukla JN, Palli SR, 2013. *Tribolium castaneum* Transformer-2 regulates sex determination and development in both males and females. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 43: 1125–1132.
- Sievert V, Kuhn S, Paululat A, Traut W, 2000. Sequence conservation and expression of the *Sex-lethal* homologue in the fly *Megaselia scalaris*. *Genome*, 43: 382–390.
- Sugimoto TN, Ishikawa Y, 2012. A male-killing *Wolbachia* carries a feminizing factor and is associated with degradation of the sex-determining system of its host. *Biol. Lett.*, 8: 412–415.
- Suzuki MG, Funaguma S, Kanda T, Tamura T, Shimada T, 2003. Analysis of the biological functions of a doublesex homologue in *Bombyx mori*. *Dev. Genes Evol.*, 213: 345–354.
- Suzuki MG, Funaguma S, Kanda T, Tamura T, Shimada T, 2005. Role of the male BmDSX protein in the sexual differentiation of *Bombyx mori*. *Evol. Dev.*, 7: 58–68.
- Suzuki MG, Imanishi S, Dohmae N, Asanuma M, Matsumoto S, 2010. Identification of a male-specific RNA binding protein that regulates sex-specific splicing of *Bmdsx* by increasing RNA binding activity of BmPSI. *Mol. Cell. Biol.*, 30: 5776–5786.
- Suzuki MG, Imanishi S, Dohmae N, Nishimura T, Shimada T, Matsumoto S, 2008. Establishment of a novel in vivo sex-specific splicing assay system to identify a *trans*-acting factor that negatively regulates splicing of *Bombyx mori dsx* female exons. *Mol. Cell. Biol.*, 28: 333–343.
- Suzuki MG, Ohbayashi F, Mita K, Shimada T, 2001. The mechanism of sex-specific splicing at the *doublesex* gene is different between *Drosophila melanogaster* and *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31: 1201–1211.
- Suzuki MG, Suzuki K, Aoki F, Ajimura M, 2012. Effect of RNAi-mediated knockdown of the *Bombyx mori transformer-2* gene on the sex-specific splicing of *Bmdsx* pre-mRNA. *Int. J. Dev. Biol.*, 56: 693–699.
- Tian M, Maniatis T, 1993. A splicing enhancer complex controls alternative splicing of *doublesex* pre-mRNA. *Cell*, 16: 105–114.
- van de Zande L, Verhulst EC, 2014. Genomic imprinting and maternal effect genes in haplodiploid sex determination. *Sex Dev.*, 8: 74–82.
- Verhulst EC, Beukeboom LW, van de Zande L, 2010a. Maternal control of haplodiploid sex determination in the wasp *Nasonia*. *Science*, 328: 620–623.
- Verhulst EC, van de Zande L, Beukeboom LW, 2010b. Insect sex determination: it all evolves around *transformer*. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 20: 376–383.
- Werren JH, Richards S, Desjardins CA, Niehuis O, Gadau J, Colbourne JK, The *Nasonia* Genome Working Group, 2010. Functional and evolutionary insights from the genomes of three parasitoid *Nasonia* species. *Science*, 327: 343–348.
- Wilson ACC, Sunnucks P, Hales DF, 1997. Random loss of X chromosome at male determination in an aphid, *Stobion* near *fragariae*, detected using an X-linked polymorphic microsatellite marker. *Genet. Res.*, 69: 233–236.
- Xia Q, Zhou Z, Lu C, Cheng D, Dai F, Li B, Zhao P, Zha X, Cheng T, Chai C, Pan G, Xu J, Liu C, Lin Y, Qian J, Hou Y, Wu Z, Li G, Pan M, Li C, Shen Y, Lan X, Yuan L, Li T, Xu H, Yang G, Wan Y, Zhu Y, Yu M, Shen W, Wu D, Xiang Z, Yu J, Wang J, Li R, Shi J, Li H, Su J, Wang X, Zhang Z, Wu Q, Li J, Zhang Q, Wei N, Sun H, Dong L, Liu D, Zhao S, Zhao X, Meng Q, Lan F, Huang X, Li Y, Fang L, Li D, Sun Y, Yang Z, Huang Y, Xi Y, Qi Q, He D, Huang H, Zhang X, Wang Z, Li W, Cao Y, Yu Y, Yu H, Ye J, Chen H, Zhou Y, Liu B, Ji H, Li S, Ni P, Zhang J, Zhang Y, Zheng H, Mao B, Wang W, Ye C, Wong GK, Yang H, 2004. A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*). *Science*, 306: 1937–1940.
- Xie W, Guo LT, Jiao X, Yang N, Yang X, Wu Q, Wang S, Zhou X, Zhang Y, 2014. Transcriptomic dissection of sexual differences in *Bemisia tabaci*, an invasive agricultural pest worldwide. *Sci. Rep.*, 4: 4088.
- Yisraeli JK, 2005. VICKZ proteins: a multi-talented family of regulatory RNA-binding proteins. *Biol. Cell*, 97: 87–96.