دوفصلنامه علمی ترویجی علوم و فنون زنبورعسل
دوره ۱۶، شماره ۳۰، سال ۱۴۰۴، (۲-۱۰)

دستاوردهای ژنتیکی برای شناسایی مکانیسم‌های مولکولی و عصبی مربوط به رفتارهای اجتماعی در زنبور عسل

لیلا قره داغی[۱]، مجید پسندیده[۲*]

۱- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۱۹ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۶/۱۳
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22034/HBSJ.2024.366035.1168
رایانامه: MajidPasandideh@gmail.com

چکیده:

زنبور عسل به عنوان یک ارگانیسم مدل برای مطالعه‌ی رفتارهای اجتماعی می‌باشد. تجزیه و تحلیل گسترده‌ی ژن‌هایی با الگوی بیان متفاوت در مغز زنبورهای پرستار و چراگر منجر به شناسایی ژن‌های کاندیدا مرتبط با رفتار زنبور عسل شده است. در این مقاله مروری، روش‌های ژنتیکی به کار گرفته شده در مطالعات زنبور عسل شامل روش های ژنتیک کلاسیک و همچنین روش‌های مدرن اصلاح ژن با استفاده از RNA مداخله‌گر، میکروRNAها، انتقال DNA خارجی، ترانسپوزون‌ها و کریسپر توصیف شده و نتایج تحقیقات قبلی بیان می شوند. کشف ژن‌های کاندیدا در زنبورها می‌تواند

اهداف جذابی برای آنالیز عملکردی و کشف پایه‌های مولکولی و عصبی کنترل کننده رفتارهای اجتماعی باشد و همچنین زمینه را برای اصلاح نژاد این گونه فراهم نماید.

کلمات کلیدی: رفتار اجتماعی، زنبور عسل، ژنتیک، ژن‌های کاندیدا

مقدمه

اکثر حیوانات به صورت گروهی زندگی کرده و رفتارهای پیشرفته اجتماعی مانند تقسیم کار و ارتباط بین افراد را به نمایش می‌گذارند. چگونگی تنظیم این رفتارها در مغز حیوانات اجتماعی به صورت ناشناخته باقی مانده است. برخی از گونه‌های حشرات که حشرات فرا اجتماعی نامیده می‌شوند رفتارهای اجتماعی بسیار پیچیده نشان می‌دهند. در مقایسه با مغز پستانداران که نسبتاً بزرگ و با ساختار پیچیده می‌باشد، حشرات، مغز نسبتاً کوچک با پیچیدگی کمتری دارند (Menzel et al. 2006). علاوه بر این، مشاهده سبک زندگی اجتماعی حشرات در شرایط آزمایشگاهی نسبت به کندو آسان‌تر بوده و این امکان را فراهم می‌کند که رفتار حشرات و پایه‌های مکانیسم‌های مولکولی درگیر در بروز رفتار آن‌ها مورد مطالعه قرار بگیرد. زنبور عسل یکی از گونه‌هایی است که از نظر رابطه ژن- رفتار بسیار مورد مطالعه قرار گرفته است. زنبورعسل افزون بر تولید محصولات گوناگون مهمترین نقش خود را در طبیعت با دخالت در عمل گرده‌افشانی و افزایش تولید محصولات کشاورزی و احیای محیط زیست ایفا می‌کند. بررسی‌ها نشان می‌دهد در کشورهای مختلف، نقش زنبور عسل در افزایش تولیدات کشاورزی ۶۹ تا ۱۴۳ برابر تولیدات مستقیم آن‌ها است (Tahmasbi et al. 2000). زنبوران کارگر در کندو به وظایف مختلفی مانند نظافت کندو، مراقبت از لاروها، نگهبانی و حفاظت از کندو در مقابل عوامل مزاحم و جستجوگری برای غذا، آب و رزین مشغول هستند که این وظایف در طول زندگی کارگران با تغییر سن آن‌ها تغییر می‌کند. زنبورهای چراگر اطلاعات مربوط به منابع غذایی را به سایر زنبورهای کلنی با استفاده از زبان رقص، یک وسیله ارتباطی نمادین که در حیوانات دیگر ناشناخته است، منتقل می‌کنند (Seeley. 1995). چندین مطالعه مستقل، مکانیسم‌های مولکولی زیربنای رفتارهای اجتماعی در زنبور عسل را نشان داده‌اند. اگرچه این مطالعات به طور موثر از روش‌های ژنتیکی و یا دارویی استفاده می‌کردند، کارایی این روش‌ها به بافتی که ژن هدف در آن بیان می‌شود، یا وجود داروهای آگونیست[1] (دارویی که روی گیرنده می‌نشیند و گیرنده را فعال می‌کند) یا آنتاگونیست[2] (دارویی که با اتصال به گیرنده مانع از اثر آگونیست بشود) بستگی دارد (Liang et al. 2012).

در چند سال اخیر، چندین روش موثر دستکاری ژن برای زنبور عسل توسعه یافته است. در این مقاله روش های به‌کار رفته برای آنالیزهای عملکردی ژن‌های زنبور عسل و همچنین پیشرفت‌های اخیر در روش‌های اصلاح ژن در این گونه توصیف می شوند.

شناسایی جایگاه‌های صفات کمی

به ناحیه‌ای از ژنوم که حاوی جهش یا ژن (هایی) است که سهم قابل توجهی از واریانس ژنتیکی یک صفت کمی را توجیه می‌کند جایگاه صفت کمّی (QTL[3]) می‌گویند. ژنتیک کلاسیک منجر به شناسایی ژن‌های مرتبط با فنوتیپ‌های جهش یافته شده در زنبور عسل شده است (Kaufman. 2017). شناسایی ژن‌های مرتبط با صفات مورد نظر، نیازمند بررسی فنوتیپی در مقیاس بزرگ با استفاده از فرزندان حیواناتی که به طور تصادفی توسط درمان شیمیایی یا پرتو، جهش یافته‌اند، می‌باشد. به هر حال این فرآیند در زنبور عسل سخت می‌باشد چون تنها یک ماده با قابلیت تولیدمثلی (ملکه) در کندو وجود دارد و ایجاد سویه‌های جهش یافته را مشکل می سازد زیرا می‌تواند منجر به تولید یک جمعیت کلون شده و یکسان از فرزندان جهش یافته ژنتیکی شود (Seeley. 1995). برخی از مطالعات تلاش کرده‌اند مناطق ژنومی مرتبط با تفاوت‌های رفتاری قابل اندازه‌گیری بین کلنی ها را شناسایی کنند. در این مطالعات با کنترل دقیق جفت‌گیری، QTL های مرتبط با صفات مورد مطالعه نظیر تمایل برای جمع آوری گرده، شروع چراگری، رفتار دفاعی، عقیمی زنبور کارگر و سایز تخمدان شناسایی شده است که تایید آزمایشگاهی برای شناسایی ژن‌های کاندیدا لازم است (Oxley et al. 2008).

کشف ژن‌های کاندیدا با رویکردهای ترنسکریپتومیک

مدل های استفاده شده در ژنتیک کمّی عمدتا اثر تجمعی ژن هایی را که عهده دار ایجاد تنوع در صفات می باشند مورد

1- agonistic
2- antagonistic
3- Quantitative trait locus

توجه قرار می دهند و فرض اصلی در این مبحث، تفکیک همزمان بسیاری از ژنها با اثر کم می‌باشد. این موضوع مورد تردید است که همه ژنهای مؤثر بر صفات کمّی اثرات جزئی داشته باشند و ممکن است برخی از این ژنها سهم عمده ای در تنوع صفات به خود اختصاص داده باشند. در دیدگاه ژنهای کاندیدا، با توجه به اطلاعات موجود، خود ژن کنترل کننده صفت که پروتئین خاصی را کد می کند مورد بررسی قرار می‌گیرد که در واقع این ژنها به عنوان مارکرهای مستقیم صفات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی بکار گرفته می‌شوند. شناسایی ژنها و نشانگرهای مولکولی که زمینه ساز مکانیسم مولکولی صفات هستند یا همبستگی زیادی با صفات دارند، در انتخاب سریع فنوتیپهای مقاومت مفید خواهند بود. در یک کلنی زنبور عسل دهها هزار زنبور کارگر رفتار اجتماعی از خود نشان می‌دهند. رفتارهای کارگرها تاحدودی متناسب با سن آن ها تغییر می‌کند. همچنین وضعیت فیزیولوژیکی آن‌ها به تناسب وظایف خود تغییر می‌کند. با فرض اینکه در مغز زنبورهای درگیر در وظایف مختلف، ژن‌های متفاوتی بیان می‌شود، تجزیه و تحلیل جامع با استفاده از ریزآرایه‌های cDNA برای شناسایی ژن‌هایی با بیان متفاوت در مغز کارگرانی که به وظایف مختلف اختصاص یافته‌اند یا رفتارهای متفاوتی نشان می‌دهند (به عنوان مثال تازه متولد شده، زنبورهای پرستار، زنبورهای نگهبان و زنبورهای جستجوگر) انجام شد. علاوه بر این، مقایسه ژن‌های بیان شده در مغز در طول تکامل در بین ملکه، کارگر و زنبور نر نیز انجام شد. به عنوان مثال، با بررسی ژن هایی که توسط جنسیت یا کاست در طول تمایز مغز شفیره کارگر کنترل می‌شوند، ۳۳۳ ژن شناسایی شد که به طور متفاوت بیان می‌شوند و ۵۱۹ ژن که به طور متفاوت بین دو جنس تقسیم می‌شوند و ۶۹۲ ژن که به طور متفاوت بین کاست‌ها تقسیم می‌شوند (Vleurinck et al. 2016).

RNA مداخله‌گر

خاموشی ژن ها در دو سطح رونویسی و پس از رونویسی اتفاق می افتد. خاموشی در سطح رونویسی در اثر متیلاسیون پروموتور رونویسی ژن هدف و خاموشی پس از رونویسی با مداخله در ساختار تک رشته‌ای mRNA ژن هدف وتخریب و توقف بیان آن، رخ می‌دهد. RNA مداخله‌گر (RNAi) اصطلاح کلی است که به تکنولوژی خاموشی پس از رونویسی، توسط RNA دو رشته ای اطلاق می شود .در تکنولوژی RNA مداخله‌گر، رشته مکمل mRNA ژن مورد نظر ساخته شده و این رشته به mRNA ژن هدف متصل و یک توالی دورشته‌ای (dsRNA[1]) را بوجود می آورد (Agrawal et al. 2003). مهار بیان ژن به وسیله RNA مداخله‌گر برای آنالیز عملکردی ژن در بسیاری از گونه ها از جمله زنبور عسل به کار گرفته شده است به این صورت که تزریق RNA دو رشته‌ای یا RNA کوتاه مداخله‌گر[2] به حفره عمومی بدن[3] زنبوران کارگر بالغ، مقادیر بعضی از mRNAهای مکمل را کاهش می‌دهد. برای مثال بیان وایتلوژنین، پیش ساز پروتئین زرده (نطفه) که به طور عمده در چربی بدن حشرات ماده بیان می‌شود، با تزریق dsRNA به حفره شکمی مهار می‌شود و این سرکوب، زنبوران کارگر را پیش از موعد به چراگری وادار می‌کند (Amdam et al. 2003). سرکوب متقابل بین وایتلوژنین و هورمون جوانی (JH[4])، که باعث رشد رفتاری می‌شود، برای کنترل زمان جابجایی رفتاری در زنبور عسل پیشنهاد شده است به این معنی که باعث کنترل زمان شکل گیری یک رفتار می شود به عنوان مثال می توان به تغییر رفتار پرستاری در کندو به رفتار چراگری در سن بالاتر اشاره نمود (Amdam and Omholt, 2003). RNAi همچنین برای مهار بیان ژن در مغز زنبور عسل استفاده شده است. این مطالعات نشان می دهد که سرکوب ژن های مرتبط با عملکردهای عصبی، به عنوان مثال CaMKII، آنزیمی که به عنوان "سوئیچ حافظه مولکولی" شناخته می شود، شکل گیری حافظه را تخریب کرده و/یا از بازیابی حافظه جلوگیری می کند. با این حال، کارآیی سرکوب بیان ژن ناشی از RNAi بسته به بافتی که ژن هدف در آن بیان می شود متفاوت است. به عنوان مثال، بیان وایتلوژنین در شکم کارگران بعد از تزریق dsRNA تقریباً متوقف می شود، و این مهار برای یک دوره زمانی کافی طول می کشد تا بیان ژن و رفتارهای تنظیم شده توسط ویتلوژنین را تغییر دهد (Scholl et al. 2015).

میکرو RNA ها

میکرو RNAها، RNAهای کوچک غیر کدکننده‌ای هستند که تقریباً ۱۹ تا ۲۴ نوکلئوتید طول دارند که روی تنظیم بیان ژن‌ها و فرآیندهای بیولوژیکی شامل تکوین، تمایز سلولی، تکثیر و آپوپتوز موثر هستند. RNAهای کوچک گیاهی

1- Double-stranded RNA(dsRNA)
2- Small interfering RNA (siRNA)
3- hemocoel
4- Juvenile hormone

می‌توانند از طریق چندین مسیر درون سلولی و انتقال بین سلولی به حیوانات منتقل می‌شوند. miRNA های گیاهی اهداف مکمل خود را در حیوانات پیدا کرده و فرآیندهای رونویسی یا پس از رونویسی را در آن‌ها تعدیل می‌کنند. مطالعات اخیر در شاخه بندپایان حاکی از انتقال موفقیت آمیز RNAهای کوچک از طریق غذا به بدن شماری از حشرات بوده که منجر به تنظیم بیان ژن آن‌ها و نهایتاً تغییر شکل فنوتیپی حشره می‌شود (Ashby et al. 2016). در مطالعه‌ای گزارش شد که miRNAهای گیاهی موجود در غذای لارو زنبور عسل با تنظیم بیان ژن آن، سرنوشت لارو را به سمت زنبور ملکه یا زنبورکارگر تعیین می‌کند. این محققان دریافتند که RNAهای گیاهی مخصوصاً میکروRNAها که در نان زنبور (مخلوطی از عسل و گرده) نسبت به ژله‌رویال (ماده ترشحی از غدد مانديبولار و زیرحلقی زنبورهای پرستار) بیشتر وجود دارند، رشد و تمایز زنبور را به تأخیر انداخته، باعث کاهش اندازه بدن و کاهش اندازه تخمدان در لارو زنبور عسل کارگر می‌شود. بررسی‌های بیشتر نشان داد که ژن amTOR که به عنوان عامل محرک در تمایز نوع زنبور عسل (کارگر یا ملکه) معرفی شده، هدف مستقیم miR162a گیاهی است. بنابراین نتیجه گرفته می شود که میکرو RNAهای غذای لارو در نمو و تمایز زنبورعسل مؤثر بوده و باعث تغییر شکل فنوتیپ زنبور عسل می‌شوند (Zhu et al., 2017). در همین راستا، Gharehdaghi و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که miRNA گیاهی موجود در غذای زنبورهای پرستار جوان، تحت شرایط کنترل شده تغذیه‌ای وارد بدن زنبور عسل شده و در مکانیسم‌های مهم مولکولی درگیر هستند. همچنین در مطالعه‌ای، انتقال افقی miRNAهای گرده کنار (سدر) به بدن زنبور عسل نیز گزارش شده است. همچنین miRNAهای منتقل شده، ۹۹ ژن هدف را تحت تاثیر قرار می‌دهند که این ژن‌ها در ۲۱ مسیر مولکولی مهم درگیر هستند (Gharehdaghi et al. 2023).

انتقال DNA خارجی

DNA خارجی با استفاده از فناوری DNA نوترکیب به حیوان وارد می شود و سپس باید از طریق گامت‌ها منتقل شود. هر سلول، از جمله سلول های زایا، حاوی همان مواد ژنتیکی اصلاح شده می باشد. سه روش اصلی برای انتقال DNA خارجی وجود دارد که شامل ریزتزریقی یا میکرواینجکشن[1]

1- Microinjection

DNA، انتقال ژن با واسطه سلولهای بنیادی جنینی و انتقال ژن با واسطه رتروویروسی باشند. انتقال موفقیت آمیز پلاسمید به زنبور عسل توسط چندین گروه تحقیقاتی گزارش شده است. Robinson و همکاران (۲۰۰۰) انتقال پلاسمید خطی ترکیب با اسپرم به داخل تخم‌های بارور شده به وسیله تلقیح مصنوعی ملکه باکره را انجام داده و گزارش کردند که DNA خارجی حداقل برای سه نسل تکثیر شد. Schulte و همکاران (۲۰۱۳) از الکتروپوراسیون برای انتقال پلاسمید به مغز زنبور عسل استفاده کردند. آن‌ها بیان ژن خارجی پروتئین فلورسنت سبز[2] (GFP) در مغز زنبورهای منتقل شده (transfected) را به وسیله ایمنوبلاتینگ[3] یا ایمنوهیستو شیمی[4] با استفاده از یک آنتی بادی anti-GFP تأیید کردند. همچنین انتقال با استفاده از باکولوویروس (یک ویروس DNA که عمدتاً حشرات پروانه سانان[5] را عفونی می‌کند) در زنبور عسل به کار گرفته شده است. Ando و همکاران (۲۰۰۷) بیان GFP در لاور و شفیره‌های آلوده به باکولوویروس[6] را شناسایی کردند. Ikeda و همکاران (۲۰۱۱) ملکه‌ها را با باکولوویروس حامل ژن‌های درونی ویروس اصلاح شده آلوده کرده و بیان GFP وابسته به بافت را مشاهده کردند. مطالعات ذکر شده نشان دهنده انتقال موفقیت‌آمیز DNA خارجی از طریق گامت‌ها در زنبور می باشند.

تراریختگی با استفاده از ترانسپوزون‌ها

ترانسپوزون‌ها عناصر متحرک DNA هستند که موقعیت خود را در ژنوم میزبان با استفاده از ترانسپوزازها تغییر می‌دهند که برای تراریختگی در حشرات استفاده می‌شوند. ترانسپوزاز آنزیمی است که در فرایند انتقال ژنی، در جابجا کردن برش‌های DNA از یک مکان از ژنوم به مکان دیگر نقش ایفا می‌کند. این آنزیم به انتهای ترانسپوزون متصل می‌شود و با استفاده از یک فرایند کپی-پیستی باعث جابجا شدن ترانسپوزون به یک مکان دیگر می‌شود. جایگاه شروع همانندسازی در ترانسپوزون‌ها وجود ندارد. به همین دلیل برای انتقال و جدا شدن از کروموزوم مستقل از سایر بخش‌های ژنوم اما برای همانندسازی وابسته به سایر بخش‌های کروموزوم یا پلاسمید است. انتقال ترانسپوزون‌ها بین بخش‌های مختلف

2- green fluorescent protein: GFP
3- immunoblotting
4- immunohistochemistry
5- baculovirus
6- lepidopteran

ژنوم ممکن است منجر به ایجاد جهش یا نوترکیبی DNA شود (Muñoz-López and García. 2010). یکی از پر استفاده‌ترین ترانسپوزون‌ها در حشرات، عنصر P هست که در مگس سرکه یافت شده است و برای ایجاد تراریختگی در این موجود استفاده شده است. یک DNA ترانسپوزون دیگر بنام piggy-Bac وجود دارد که به طور گسترده برای تراریختگی به اهداف مختلف از جمله تبدیل لاروهای تفریخ شده به ملکه در چندین راسته حشرات مورد استفاده قرار گرفته شده است (Shinmyo et al. 2004). در تحقیق دیگر، از piggyback برای ایجاد اولین زنبور عسل تراریخته استفاده کردند. آن‌ها ترانسپوزاز mRNA piggBac و piggyBac مشتق شده از پلاسمیدهای حاوی ژن‌های خارجی بین تکرارهای انتهایی معکوس piggyBac را به داخل تخم‌های بارور بلافاصله بعد از تخم‌گذاری تزریق کردند و با معرفی آن‌ها به کلنی‌های بدون ملکه باعث تبدیل لاروهای تفریخ شده به ملکه شدند (Schulte et al. 2014).

سرکوب ژن با ویرایش ژنوم

اخیراً روش‌های ویرایش ژنومی برای آنالیز عملکردی ژن‌ها در موجودات مختلف به کار گرفته شده است. به طور ویژه CRISPR/Cas9 به دلیل تطابق پذیری و سهولت در ساخت اجزای مورد نیاز به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. کریسپرها تکرارهای کوتاه پالیندرومیک (توالی هایی که از دو طرف به یک شکل خوانده می شوند) هستند که باکتری‌ها از آن‌ها به عنوان دفاع ایمنی استفاده می کنند. هنگامی که باکتری‌ها با ویروس‌ها آلوده می شوند، قطعات کوچکی از DNA ویروس ها را می گیرند و آنها را با الگوی خاصی در DNA خود وارد می‌کنند تا بخش هایی به نام آرایه های CRISPR ایجاد کنند. آرایه‌های CRISPR به باکتری‌ها این امکان را می‌دهد که ویروس‌ها (یا ویروس‌های نزدیک به هم) را به خاطر بسپارند. اگر ویروس‌ها دوباره حمله کنند، باکتری‌ها بخش‌های RNA را از آرایه‌های CRISPR تولید می‌کنند که مناطق خاصی از DNA ویروس‌ها را شناسایی کرده و به آن متصل می‌شوند. سپس باکتری ها از Cas9 یا یک آنزیم مشابه برای جدا کردن DNA استفاده می کنند که ویروس را از کار می‌اندازد (Jiang and Doudna et al. 2017). محققان این سیستم دفاع ایمنی را برای ویرایش DNA تطبیق داده‌اند. آنها قطعه کوچکی از RNA را با یک توالی "راهنما" کوتاه ایجاد می‌کنند که به یک توالی هدف خاص در DNA سلول متصل می‌شود (مثل بخش‌های RNA که باکتری ها از آرایه CRISPR تولید می کنند). این RNA راهنما به آنزیم Cas9 نیز متصل می شود. هنگامی که RNA راهنما به سلول وارد می‌شود، توالی DNA مورد نظر را تشخیص می دهد و آنزیم Cas9 می‌تواند DNA را در محل مورد نظر برش دهد (Jiang and Doudna et al. 2017).

Kohno و همکاران (۲۰۱۶) اولین کاربرد CRISPR/Cas9 را در زنبور عسل با تولید زنبورهای نر جهش یافته گزارش کردند. اخیراً چندین گزارش در زمینه به کارگیری CRISPR/Cas9 در زنبور عسل و دو روش برای آنالیز عملکرد ژن پیشنهاد شده است. برای اولین بار Kohno و همکاران (۲۰۱۶) ژن mrjp1[1] (پروتئین اصلی ژله رویال-۱)، که جز اصلی پروتئین ژل رویال را کد می‌کند، را به عنوان یک ژن هدف به منظور تولید زنبوران کارگر جهش یافته هموزیگوت از طریق تلقیح مصنوعی انتخاب کردند. در مطالعه انجام شده توسط Kohno و Kubo (۲۰۱۸)، یک ژن با عنوان mkast[2] که می‌تواند در مغز زنبورهای بالغ بیان شود، و بنابراین انتظار می‌رود که روی عملکردهایی مرتبط با تنظیم رفتارهای اجتماعی موثر باشد، مورد هدف قرار گرفت. آنها به طور موفقیت آمیزی ملکه‌های موزائیسم سوماتیکی (FO) را از ویرایش ژنومی تخم‌های بارور شده و همچنین نرهای جهش یافته (F1) از این ملکه‌های موزائیسم (FO) را تولید کردند. آن‌ها همچنین موفق به تولید زنبوران‌کارگر جهش یافته هتروزیگوت (F2) از ملکه های نوع وحشی تلقیح مصنوعی شده با اسپرم نرهای جهش یافته شدند. این مطالعات راه را برای تولید زنبورهای جهش یافته هموار کرد و امکان تولید زنبورهای جهش یافته از طریق تلقیح مصنوعی تحت شرایط آزمایشگاهی را نشان داد.

بررسی جایگاه ها و نواحی ژنی در زنبور عسل

سپهری و همکاران (۱۴۰۱) توالی ژن DOP3 در افراد حساس و مقاوم به جرب واروا در زنبورعسل را بررسی کردند. در چند ناحیه از توالی نوکلئوتیدی ناحیه UTR ژن DOP3، بین افراد تفاوت دیده شد، که مهمترین تفاوت در توالی نوکلئوتیدی بین افراد حساس و مقاوم مربوط به دو ناحیه است. یکی در ناحیه نوکلئوتیدی ۴۲۸ تا ۴۳۷ خوانش جلویی به اندازه ۹ جفت باز نوکلئوتید و دیگری در ناحیه نوکلئوتیدی ۷۱۵ تا ۷۲۰ خوانش جلویی به اندازه ۶ جفت باز نوکلئوتید، که در این دو ناحیه

1- Major royal jelly protein 1

2- middle-type Kenyon cell- preferential arrestin- related protein

جهش از نوع حذف صورت گرفته است. طاشی و همکاران (۱۳۹۱) مقاومت ژنتیکی زنبور عسل به کنه واروآ را با استفاده از تکنیک ISSR در ۴ گروه با سطوح مقاومت قوی، متوسط، ضعیف و حساس به کنه واروآ را بررسی کردند. بیشترین فاصله ژنتیکی بین گروه اول مقاوم به کنه واروآ و گروه سوم حساس به کنه واروآ مشاهده گردید. کمترین فاصله ژنتیکی بین گروه سوم و گروه چهارم مشاهده گردید. صفدری و همکاران (۱۳۹۱) تنوع ژنتیکی در منطقه ی بین ژنی COII-COI ژنوم میتوکندریایی در جمعیت‌های مختلف زنبور عسل ایران را با استفاده از تکنیک RFLP-PCR بررسی کردند و دو الگوی هضمی متفاوت ۴قطعه‌ای مشاهده نمودند. عطاری و همکاران (۱۳۹۸) با استفاده از داده های ترنسکریپتوم، پروفایل بیان ژن و ژن‌های شاخص در تمایز و تکامل ملکه، نر و کارگر با مقایسه تفریقی آن‌ها در سن ۵ لاروی یا همان سن تمایز را ارزیابی نمودند و۴۶۵ ژن با بیان متفاوت بین تیمارهای نر و ملکه، ۴۹۵ ژن بین تیمارهای کارگر و ملکه و ۷۶۴ ژن بین تیمارهای نر و کارگر را شناسایی نمودند. رحیمی و همکاران (۱۴۰۰) با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و بررسی نواحی DNA میتوکندریایی، تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبورعسل ایرانی را بررسی کردند. نتایج حاصل از آنالیزهای این نشانگر، تنوع ژنتیکی خیلی پایینی را در جمعیت‌های زنبورعسل مورد مطالعه نشان داد. Keryn و همکاران (۲۰۰۲) از طریق ژنتیک مولکولی و نقشه لینکاژ جایگاه صفات کمی (QTL)، هفت جایگاه صفت کمی را برای رفتار بهداشتی در زنبورعسل پیشنهاد کردند که هر یک تنها ۹ تا ۱۵ درصد واریانس فنوتیپی مشاهده شده در جمعیت را کنترل می‌کنند مطالعات اخیر نشان می‌دهد که رفتار بهداشتی بیش از این که توسط مدل مندلی به ارث برده شود، توسط مدل پلی‌ژنیک کمی به ارث برده می‌شود و همه‌ی زنبوران قادر به شناسایی و تخلیه‌ی سلول‌ها هستند. این رفتار به صورت پیوسته بروز می‌نماید (Katri and Spivak, 2003).

نتیجه‌گیری کلی

علیرغم تحقیقات گسترده، رابطه علّی بین ژن‌ها/نورون‌ها در مغز و رفتارهای اجتماعی در زنبور عسل با استفاده از روش‌های ژنتیکی هنوز به طور کامل نشان داده نشده است. پیشرفت‌های قابل توجه سال‌های اخیر در حوزه ابزارهای مطالعات ژنتیکی بر رکود آنالیز عملکردی ژن‌ها/نورون‌ها در زنبور عسل غلبه خواهد کرد. کشف بیشتر ژن‌ها/نورون‌های مرتبط با رفتارهای اجتماعی با استفاده از تکنولوژی‌های جدید برای کاربرد در برنامه های اصلاح نژادی سودمند خواهد بود. مقایسه آتی عملکردهای ژن‌های تنظیم کننده رفتارهای اجتماعی در زنبور عسل و ژن‌های ارتولوگ با منشأ اجتماعی یکسان یا متفاوت، بینش جدیدی در مورد سهم تغییرات مولکولی و عصبی برای تکامل رفتارهای اجتماعی در گونه‌های حشرات ایجاد خواهد کرد.

منبع ها:

رحیمی، ع.، میرمویدی، ع.ن.، کهریزی، د.، زارعی، ل.، جمالی، ص. ۱۴۰۰. ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت های زنبورعسل ایرانی (Apis mellifera meda) براساس آنالیزهای نشانگر PCR-RFLP. فصلنامه علمی ژنتیک نوین. جلد ۱۶، شماره ۳، صفحه ۲۲۳-۲۱۹.

سپهری، ب.، علیجانی، ص.، جوانمرد، آ.، جانمحمدی، ح.، حسنپور، ک. ۱۴۰۱. چند شکلی های تک نوکلئوتیدی ژن کاندیدای گیرنده دوپامین تیپ ۳ (DOP۳) مرتبط با رفتارهای مقاومت بر علیه جرب واروا در زنبورعسل. پژوهشهای تولیدات دامی. جلد ۳۷، شماره ۱۳، صفحه ۱۵۷-۱۴۸.

صفدری شاهرودی، م.، مهربانی یگانه، ح.، پاکدل، ع.، نجاتی جوارمی، ا.، نهضتی پاقلعه، غ. ۱۳۹۱. تنوع منطقه ی بین ژنی COI-COII ژنوم میتوکندری در جمعیت زنبور عسل ایران. مجموعه مقالات پنجمین کنگره علوم دامی ایران، اصفهان، ۸ و ۹ شهریور، ۱۳۹۱، صفحه ۲۱.

طاشی، ح.، آهنی آذری، م.، زره داران، س.، جعفری آهنگری، ی. بررسی مقاومت ژنتیکی زنبور عسل به کنه واروآ با استفاده از مارکر مولکولی ISSR. مجموعه مقالات سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، مشهد، ۱۳ شهریور

عطاری، م.ر.، مرادی شهربابک، ح.، نهضتی، غ.ع.، بنابازی، م.ح.، هاشمی، م.ر. ۱۳۹۸. مطالعه بیان ژن افتراقی زنبور عسل ملکه، نر و کارگر با استفاده از داده‌های RNA-seq. مجله علوم دامی ایران، جلد ۵۰، شماره ۲، صفحه ۱۱۳-۱۰۳.

Agrawal, N., Dasaradhi, P. V. N., Mohmmed, A., Malhotra, P., Bhatnagar, R. K., Mukherjee, S. K. 2003. RNA interference: biology, mechanism, and applications. Microbiology and molecular biology reviews, 67(4): 657-685.

Amdam, G. V., Omholt, S. W. 2003. The hive bee to forager transition in honeybee colonies: The double repressor hypothesis. Journal of Theoretical Biology. 223: 451–464

Amdam, G. V., Simões, Z. L. P., Guidugli, K. R., Norberg, K., Omholt, S. W. 2003. Disruption of vitellogenin gene function in adult honeybees by intra-abdominal injection of double-stranded RNA. BMC Biotechnol. 3: 1.

Ando, T., Fujiyuki, T., Kawashima, T., Morioka, M., Kubo, T., Fujiwara, H. 2007. In vivo gene transfer into the honeybee using a nucleopolyhedrovirus vector. Biochemical and biophysical research communications. 352(2): 335-340.

Ashby, R., Forêt, S., Searle, I., Maleszka, R. 2016. MicroRNAs in honey bee caste determination. Scientific reports, 6(1): 1-15.

Gharehdaghi, L., Bakhtiarizadeh, M. R., He, K., Harkinezhad, T., Tahmasbi, G., Li, F. 2021. Diet-derived transmission of MicroRNAs from host plant into honey bee Midgut. BMC genomics. 22: 1-14.

Gharehdaghi L, Harkinezhad T, Tahmasbi G. 2023. Evaluating the possibility of horizontal transfer of small RNAs from Sidr pollen to honey bee and their interaction in the host cell. Agricultural Biotechnology Journal 15 (2), 157-180.

Ikeda, T., Nakamura, J., Furukawa, S., Chantawannakul, P., Sasaki, M., Sasaki, T. 2011. Transduction of baculovirus vectors to queen honeybees, Apis mellifera. Apidologie. 42: 461-471.

Jiang, F., Doudna, J. A. 2017. CRISPR–Cas9 structures and mechanisms. Annual review of biophysics. 46: 505-529.

Katia, P. and Spivak, M. 2003. Differeces in olfactory sensitivity and behavioral responses among honey bees bred for hygienic behavior. Journal of Behavioral Ecoogy and Sociobiology

54: 472-479.

Kaufman, T. C. 2017. A short history and description of Drosophila melanogaster classical genetics: Chromosome aberrations, forward genetic screens, and the nature of mutations. Genetics. 206: 665–689

Keryn, L. Oldroyd, B. P. and Spivak, M. 2002. Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees. Journal of Naturwissenschaften. 89: 565– 568

Kohno, H., Kubo, T. 2018. mKast is dispensable for normal development and sexual maturation of the male European honeybee. Scientific reports. 8(1): 11877.

Kohno, H., Suenami, S., Takeuchi, H., Sasaki, T., Kubo, T. 2016. Production of knockout mutants by CRISPR/Cas9 in the European honeybee, Apis mellifera L. Zoological science. 33(5): 505-512.

Liang, Z. S., Nguyen, T., Mattila, H. R., Rodriguez-Zas, S. L., Seeley, T. D., Robinson, G. E. 2012. Molecular determinants of scouting behavior in honey bees. Science. 335: 1225–1228.

Menzel, R., Leboulle, G., Eisenhardt, D. 2006. Small brains, bright minds. Cell. 124: 237–239.

Muñoz-López, M., García-Pérez, J. L. 2010. DNA transposons: nature and applications in genomics. Current genomics. 11(2): 115-128.

Oxley, P. R., Thompson, G. J., Oldroyd, B. P. 2008. Four quantitative trait loci that influence worker sterility in the honeybee (Apis mellifera). Genetics. 179: 1337–1343.

Robinson, K. O., Ferguson, H. J., Cobey, S., Vaessin, H., Smith, B. H. 2000. Sperm-mediated transformation of the honey bee, Apis mellifera. Insect Molecular Biology. 9: 625–634.

Scholl, C.; Ku bert, N.; Muenz, T. S.; Ro ssler, W. 2015. CaMKII knockdown affects both early and late phases of olfactory long-term memory in the honeybee. Journal of Experimental Biology. 218, 3788–3796.

Schulte, C., Leboulle, G., Otte, M., Grünewald, B., Gehne, N., Beye, M. 2013. Honey bee promoter sequences for targeted gene expression. Insect molecular biology. 22(4): 399-410.

Schulte, C., Theilenberg, E., Müller-Borg, M., Gempe, T., Beye, M. 2014. Highly efficient integration and expression of piggyBac-derived cassettes in the honeybee (Apis mellifera). Proceedings of the National Academy of Sciences. 111(24): 9003-9008.

Seeley, T. D. 1995. *The Wisdom of the Hive: The Social Physiology of Honey Bee Colonies*; Harvard University Press: Cambridge, MA, USA, ISBN 9780674953765.

Shinmyo, Y., Mito, T., Matsushita, T., Sarashina, I., Miyawaki, K., Ohuchi, H., Noji, S. 2004. piggyBac-mediated somatic transformation of the two-spotted cricket, Gryllus bimaculatus. Development, growth & differentiation. 46(4): 343-349.

Tahmasbi, G., Kamali, M. A., Ebadi, R., Babaei, M., Gharadaghi, A. A., Bahraini, R. 2015. Genetic trends and parameters of honey production, swarming and defense behavior in Iranian honeybee (Apis mellifera meda) colonies. Journal of Agricultural Science and Technology. 17(7): 1735-1742.

Vleurinck, C., Raub, S., Sturgill, D., Oliver, B., Beye, M. 2016. Linking genes and brain development of honeybee workers: A Whole-Transcriptome approach. PLoS ONE. 11: e0157980.

Zhu, X., Zhou, S., Xu, X., Wang, J., Yu, Y., Yang, K. C., Zhou, B. 2017. Morphological differentiation in Asian honey bee (Apis cerana) populations in the basin and highlands of southwestern China. Journal of Apicultural Research. 56(3): 203-209.

Genetic achievements to identify molecular and neural mechanisms related to social behaviors in honey bees

Leila Gharehdaghi[1], Majid Pasandideh[2]*

1. Leila Gharehdaghi, Assistant Professor, Animal Science Research Department, East Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tabriz, Iran

2. Majid Pasandideh, Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

DOI: 10.22034/HBSJ.2024.366035.1168

Abstract

The European honey bee is a model organism for studying social behaviors. Comprehensive analyses focusing on the differential expression profiles of genes between the brains of nurse bees and foragers has identified candidate genes related to honey bee behaviors. In this review, the genetic methods applied to studies of the honey bee, ranging from classical genetics to recently developed gene modification methods using RNA Interference, microRNAs, transfection of external DNA, transposons, and CRISPR/Cas9 were described and the results of previous researches are explained. The exploration of candidate genes in bees can be attractive targets for functional analysis and the discovery of the molecular and neural bases underlying social behaviors and also provide the basis for the breeding of this species..

Key words: Candidate genes, Honey bee, Genetics, Social behavior

Corresponding Author: Majid Pasandideh*
Email: MajidPasandideh@gmail.com