دوفصلنامه علمی ترویجی علوم و فنون زنبورعسل
جلد ۱۲، شماره ۲۳، سال ۱۴۰۰، (۲۶-۳۳)

معرفی جایگاه csd و نقش آن در تعیین جنسیت در زنبورعسل (*Apis mellifera*)

مهدی مخبر[1]، **شبنم پری‌چهره**[2]

۱- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲- عضو هیئت علمی بخش تحقیقات زنبور عسل، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۴۰۰ / **تاریخ پذیرش**: اسفند ماه ۱۴۰۰
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/HBSJ.2022.127230

رایانامه: m.mokhber@urmia.ac.ir

چکیده:

در حال حاضر، جنسیت در زنبورعسل توسط مکانیسمی موسوم به جایگاه مکمل تعیین جنسیت (csd)، با تنوع آللی بالا، کنترل می‌شود. افراد هتروزیگوت برای این جایگاه ژنی تبدیل به جنس ماده (ملکه و کارگر) می‌شوند، در حالی که افراد هموزیگوت برای جایگاه csd به نرهای دیپلوئیدی تبدیل می‌شوند. لاروهای نرها دیپلوئید توسط کارگران تشخیص و در مرحله لاروی حذف می‌شوند. تاکنون، با توجه به همبستگی بسیار بالای تنوع ژنتیکی جایگاه ژنی csd با تعداد نرهای دیپلوئید و عملکرد کلنی، مطالعات متعددی روی این جایگاه صورت گرفته است. خوشبختانه با پیشرفت تکنولوژی‌های جدید توالی‌یابی ژنوم، مطالعات این حایگاه ژنی وارد فاز جدیدی شده و شناخت ساختار دقیق آن برای محققان این حوزه فراهم شده است. در اینجا تاریخچه تعیین جنسیت در زنبورعسل، ساختار و تنوع موجود در جایگاه csd و ارتباط آن با عملکرد تولیدی زنبور مورد مطالعه قرار گرفته است.

کلمات کلیدی: زنبورعسل، جایگاه مکمل تعیین جنسیت، هاپلودیپلوئیدی

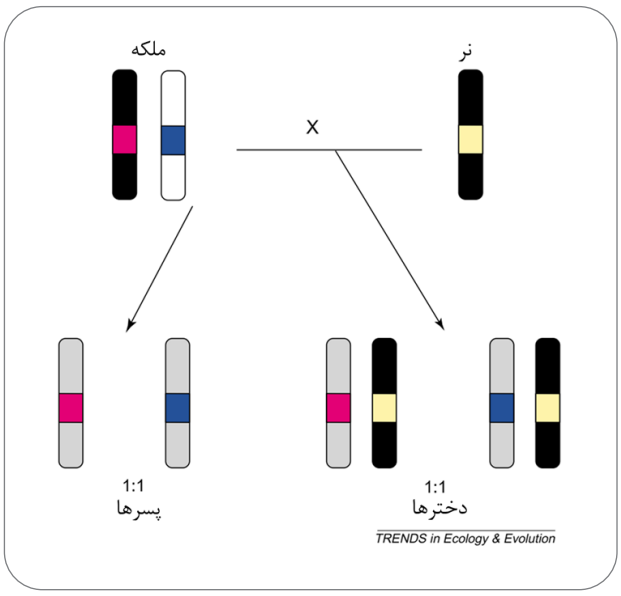
مقدمه:

راسته‌ی زنبورها مهم‌ترین گرده افشان‌های طبیعت هستند و از بین آنها، زنبورعسل به دلیل داشتن ویژگی‌های خاص، مهم‌ترین گرده‌افشان روی کره زمین به‌حساب می‌آید. به‌طوری‌که تقریباً یک‌سوم غذای بشر به طور مستقیم و غیر مستقیم وابسته به گرده‌افشانی زنبورعسل است (Wallberg *et al*., 2014). نقش گرده‌افشانی زنبورعسل به‌قدری پررنگ است که ارزش اقتصادی تولیدات مستقیم زنبورعسل از قبیل عسل ، گرده، ژل رویال و سایر تولیدات آن، در مقایسه با نقش گرده‌افشانی آن بسیار ناچیز است. به‌طوری که در مطالعات مختلف نقش زنبورعسل در افزایش تولیدات کشاورزی دنیا را ۶۰ تا ۱۴۳ برابر ارزش تولیدات مستقیم کندوهای زنبورعسل، برآورد کرده‌اند (Klein *et al*., 2007). در ایران نیز تحقیقات انجام شده حاکی از ارزش اقتصادی ۹۰ برابری زنبورعسل در گرده‌افشانی نسبت به تولیدات مستقیم آن دارد (Tahmasebi *et al*., 2019).

امروزه در صنعت پرورش زنبورعسل عوامل و پدیده‌های زیادی کلنی‌های زنبورعسل را تهدید و در نهایت باعث کاهش جمعیت و در نتیجه کاهش عملکرد کندوهای زنبورعسل می‌گردند. یکی از این عوامل، هموزیگوتی آلل‌های جنسی (نرهای دیپلوئید) در کلنی‌های زنبورعسل و به دنبال آن کاهش تعداد آلل‌های جنسی می‌باشد. کاهش تعداد آلل‌های جنسی در اثر بالا رفتن همخونی حاصل آمیزش‌های خویشاوندی است، بوجود می‌آید. آمیزش‌های خویشاوندی در زنبورعسل سبب افزایش هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی در کلنی‌های زنبورعسل شده و بالا رفتن همخونی می‌شود. در صورت عدم اطلاع زنبورداران از این عارضه و مدیریت غلط زنبورستان‌ها در فصل افزایش جمعیت، کلنی‌های زنبورعسل صدمات زیادی را متحمل خواهند شد و به‌تدریج قدرت سازگاری آنها با محیط کاهش یافته و در نهایت جمعیت کلنی‌های زنبورعسل و باروری و گرده‌افشانی گیاهان دچار مخاطره می‌شود (Rahimi *et al*., 2010).

ژنتیک زنبورعسل

اغلب موجودات دارای دو سری کروموزومی هستند، که هر سری آن را از یکی از دو والد خود دریافت می‌کنند. به این موجودات که حاوی دو سری ژن هستند، دیپلوئید گفته می‌شود. در زنبورعسل، جنس ماده شامل ملکه و کارگر دارای دو مجموعه‌ی ۱۶ کروموزومی (۳۲ کروموزوم) هستند (شکل ۱). که یک مجموعه ۱۶ کروموزومی آن را از اسپرم زنبور نر و یک مجموعه ۱۶ کروموزومی آن از تخمک ملکه، دریافت می‌کند. این وضعیت در مورد زنبور نر متفاوت بوده و زنبور نر فقط شامل یک مجموعه ۱۶ کروموزومی است که از ملکه ارث می‌برد. بنابراین زنبور نر هاپلوئید بوده و تمامی ماده و صفات ژنتیکی‌اش را از مادر خود به ارث می‌برد (Evans *et al*., 2004).



تصویر ۱- گراف مربوط به هاپلودیپلوئیدی و تعیین جنسیت زنبورعسل. در شکل یک فرد دیپلوئید (ملکه) و یک فرد هاپلوئید (نر)، با آلل‌های مجزا (سه آلل) برای جایگاه csd (صورتی و آبی برای ملکه؛ زرد برای نر). دو نوع فرزند به دنیا می‌آورد. -۱ فرزندان نر هاپلوئید (حاصل از تخم‌های غیر بارور با نسبت ۱:۱) و ۲ - فرزندان ماده دیپلوئید (حاصل از تخم‌های بارور با نسبت ۱:۱). در شرایطی که یکی از آلل‌های ملکه مشابه جفت نرش باشد (در اینجا زرد رنگ)، ۵۰ درصد از ماده‌ها نر دیپلوئید خواهد بود (گراف از Evans و همکاران (۲۰۰۴).

تعیین جنسیت در این جایگاه بدین صورت است که اگر در این جایگاه آلل‌ها به‌صورت هتروزیگوت (A1A2) باشد تخم تفریخ شده تبدیل به یک فرد ماده و اگر به‌صورت همی‌زایگوت در حالت هاپلوئید (A1 یا A2) یا هموزیگوت در حالت دیپلوئید باشد، فرد متولد شده نر خواهد بود (Cook & Crozier, 1995). ولی در حالتی که آلل‌ها در جایگاه csd به‌صورت دیپلوئید هموزیگوت (A1A1 یا A2A2) باشد، فرد متولد شده تبدیل به یک زنبور نر و در همان مراحل لاروی (تقریبا ۶ ساعت بعد از تولد) توسط زنبوران کارگر خورده یا نابود می‌گردد در نتیجه در شان‌های نوزادان بعضی از کلنی‌ها، حجرات خالی به

صورت پراکنده در کنار سلول‌های سربسته مشاهده می‌گردند. در بسیاری از مواقع این پدیده مشخص کننده هموزیگوتی آلل‌های جنسی در کلنی‌های زنبورعسل می‌باشد (Beye, 2004).

تعیین جنسیت در زنبورعسل

تقریبا تعیین جنسیت در تمام موجودات از قبیل پستانداران از طریق کروموزومهای جنسی، که احتمالا این کروموزومها دارای فاکتورهای تعیین جنسیت هستند، صورت می‌گیرد (Roberts & Mackensen, 2001). برخلاف پستانداران، جنسیت در زنبورعسل به‌صورت هاپلو-دیپلوئیدی تعیین می‌شود. در این سیستم تعیین جنسیت، نرها از تخمهای تلقیح نشده ملکه و به روش بکرزایی متولد میشوند و تنها حای یکسری ۱۶ تایی از کروموزوم‌ها هستند (Kaskinova & Nikolenko, 2017). البته تاکنون فرضیههای متعددی شامل موازنهی ژنتیکی، هاپلودیپلوئیدی، ژنگاههای هتروزایگوس چندگانه، کروموزوم جنسی و آلل‌های جنسی چندگانه در مورد زنبورعسل ارائه شده‌اند. تا دهه‌های اخیر تصور عموم بر این بود که تعیین جنسیت در زنبور صرفاً به‌صورت هاپلو-دیپلوئیدی تعیین میگردد، ولی مطالعات بعدی پرده از راز جنسیت در زنبور برداشتند و علت جنسیت در زنبور را آللهای جنسی موجود در جایگاه تعیین جنسیت عنوان کردند (Kaskinova & Nikolenko, 2017; Tarpy & page, 2001).

بر اساس نظریه‌ی آللهای جنسی، در زنبورهای عسل جنسیت توسط مکانیسمی موسوم به جایگاه مکمل تعیین جنسیت کنترل می‌شود (Beye *et al*., 2004; Heimpel, 2008). این مطالعات حاکی از آن است که جنسیت در زنبورعسل به‌وسیله هتروزیگوسی در یک جایگاه ژنی بنام جایگاه تعیین جنسیت (SDL) که در نزدیکی ژن csd قرار دارد، تعیین میشود. جایگاه csd ژن اصلی تعیین جنسیت در زنبورهای عسل میباشد و حالت اصلی تعیین جنسیت در حشرات بال‌غشائیان است (Beye, 2004; Kaskinova & Nikolenko, 2017). در مکانیسم جایگاه مکمل تعیین جنسیت، مادهها از تخم‌های بارور شده با آللهای هتروزیگوس (هتروزایگوسی در ژن جایگاه مکمل تعیین جنسیت) و نرها از تخم‌های نابارور و تنها یک آلل برای جایگاه مورد نظر (که اصطلاحا همی‌زایگوسی اطلاق می‌شود)، به‌وجود می‌آیند (Boer *et al*., 2007; Sanchez, 2008).

تاریخچه کشف جایگاه ژنی آلل های جنسی در زنبور عسل

در اواسط قرن نوزدهم (حدود ۱۵۰ سال قبل) مشخص شد که زنبورهای عسل نر از تخم نابارور و ماده‌های آنها از تخم بارور متولد می‌شوند (Dzierzon *et al*., 1861). در دهه‌های بعد محققی به نام ویتینگ با توجه به تحقیقاتی که بر روی یک نوع زنبور پارازیت به‌نام Habrobracon انجام می‌داد موضوع آلل‌های جنسی را مطرح کرد (Woyke, 1981). این مکانیسم به ظاهر عجیب برای تعیین جنسیت، سیستم تولید مثلی هاپلودیپلوئیدی نام داشت و در بیشتر گونه‌های بال غشائیان از قبیل مورچه‌ها، زنبورهای‌عسل، برخی زنبورهای بی‌عسل، زنبورهای‌های برگ‌خوار و کنه‌ها نیز مشاهده شد (Evans *et al*., 2004; Heimpel & Boer, 2008). مسئله تعیین جنسیت تا قریب به یک قرن مسکوت ماند. تا اینکه در سال ۱۹۵۱ مکنسن مشاهده کرد لاروهای زنبورعسل در برخی از فامیل‌های زنبور، بدون هیچ بیماری خاصی از بین می‌روند. مکنسن با توجه به یافته‌های دانشمندان روی گونه‌های دیگر، فرض را بر این گذاشت که جنسیت توسط یک جایگاه خاص در زنبورعسل تعیین می‌گردد (Mackensen, 1951; Roberts & Mackensen, 1951). Mackensen (1951) موضوع آلل‌های جنسی را روی زنبور مورد بررسی قرار داد و بحث هموزیگوتی وکشنده بودن آلل‌های جنسی را مطرح کرد. فرضیه مکنسن بعدها با مطالعات Woyke (۱۹۸۶) روی ملکه‌های زنبورعسل که با تلقیح مصنوعی با نرهای خویشاوندشان، مورد بررسی بیشتر قرار گرفته و تایید شد.

همخونی و ارتباط آن با جایگاه تعیین جنسیت

هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی بر میزان جمعیت و عملکرد کلنی تاثیر دارد. وجود رابطه منفی بین هموزیگوتی آلل‌های جنسی و جمعیت منطقی می‌باشد. چراکه با افزایش درصد هموزیگوتی آلل‌های جنسی و به دنبال آن کاهش رشد جمعیت کلنی، تمایل کلنی به بچه‌دهی و تکثیر کم می‌شود و لذا تولید زنبورها کاهش می‌یابد. یکی از واضح‌ترین دلایل کاهش جمعیت با افزایش هموزیگوتی جایگاه مکمل تعیین جنسیت، حذف تعدادی از نوزادان متولد شده در زمان لاروی (تخم‌های دیپلوئید هموزیگوت) به‌دلیل شرایط خاص آنها است (Tarpy & Page, 2002). بنابراین پیامد منفی جایگاه تعیین جنسیت مکمل در زنبورعسل، تشکیل نرهای دیپلوئید خواهد بود، که منجر به کاهش قدرت یک کلنی زنبورعسل می‌شود. از این رو، اگر یک ملکه با یک (یا چند) نر که دارای آلل مشترک هستند جفت‌گیری کنند، نیمی از فرزندان حاصل از تخمهای بارور

شده تبدیل به نرهای دیپلوئید میشوند. از آنجاکه یک ملکه به‌طور طبیعی با ۶-۸ نر جفت‌گیری میکند، حداقل اگر ۲-۳ زنبور نر دارای آللهای جنسی متفاوت از ملکه باشند، عواقب منفی تعیین جنسیت مکمل (نر دیپلوئید) را کاهش می دهد (Bormistrov *et al*., 2011). به هر حال، در جمعیت‌های زنبورعسل به‌خصوص آنهایی که دارای زندگی بسته هستند و تنوع ژنتیکی کمی دارند، تعداد آلل‌های جنسی CSD کاهش پیدا می‌کند، به‌گونه‌ای که باعث کاهش زنده‌مانی نوزادان و در نتیجه کاهش جمعیت کلنی می‌شود (Wang *et al*., 2012).

همچنین با بالا رفتن درصد هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی درکندوهای زنبورعسل به تدریج باعث کاهش و یا عدم مقاومت زنبورها در مقابل آفات و بیماری‌های مختلف کندو می شود (Tarpy & Page, 2002). این محققان نشان دادند کندوهایی که درصد هموزیگوسیتی پایین‌تری در آلل‌های جنسی خود دارند، در مقابل قارچ بیماریزای *Ascophaera apis* مقاومت بیشتر و تلفات کمتری داشتند (Rinderer .(Tarpy & Page, 2002 و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که همخونی روی مقاومت زنبورها به کنه واروا (Varroa)، که یکی از مهمترین و خطرناک‌ترین آفات کندو در دنیا و ایران می باشد، موثر است. این محققان نشان دادند که کلنی‌های با درصد هموزیگوسیتی کمتر در آلل‌های جنسی، رفتار بهداشتی بهتری از خود نشان دادند و تلفات کمتری در مقابل کنه واروا داشتند.

بر اساس نتایج مطالعات Lilia و همکاران (۲۰۰۲)، کلنی‌های با درصد هموزیگوسیتی بالا در آلل‌های جنسی، مقاومت کمتری در مقابل کنه تراشه (Acarapis woodi) زنبورعسل دارند. همچنین نتایج نشان داد افزایش هموزیگوسیتی روی طول عمر زنبورهای جمع آوری کننده شهد و گرده تاثیر زیادی داشته و به‌طور غیرمستقیم باعث کاهش تولیدات کندو می‌شود (Lilia *et al*., 2002). با توجه به موارد عنوان شده، تعداد آلل‌های جنسی می‌تواند به‌عنوان شاخصی از همخونی جمعیت‌های زنبورعسل محسوب شود و این عامل بایستی به‌طور دوره‌ای جهت شناخت وضعیت زنبورستان-های پرورشی و نیز در طراحی استراتژهای اصلاح نژادی، مورد توجه قرار بگیرد. بنابراین تنها با توجه به تعداد آلل‌های جنسی به‌عنوان شاخصی از همخونی و معطوف کردن توجه زنبورداران به این عامل می‌توان از کاهش بخشی از جمعیت که ناشی از بالا بودن میزان هموزیگوتی زنبورستان‌هاست و در نهایت کاهش تولید عسل را به همراه خواهد داشت، جلوگیری کرد (Usefi *et al*., 2021).

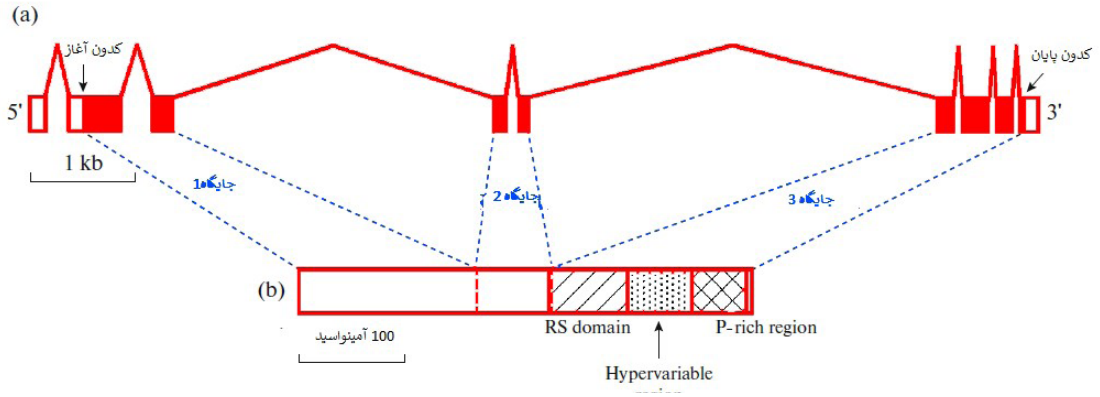
ساختار جایگاه csd

همان‌طور که در بخش همخونی آورده شد، همبستگی بسیار بالایی بین تنوع آلل‌های جنسی جایگاه csd و تعداد نرهای دیپلوئید (به‌عنوان شاخصی قابل مشاهده از هموزیگوتی آلل‌های جایگاه csd) وجود دارد (Usefi *et al*., 2021). خوشبختانه با پیشرفت تکنولوژی‌های توالی‌یابی ژنوم، بررسی مولکولی و شناخت ساختار این جایگاه برای محققان این حوزه فراهم شده است (Kaskinova & Nikolenko, 2017). در مطالعه Kaskinova & Nikolenko (۲۰۱۷) ساختار دقیق، عملکرد و مکانسیم تکاملی ژن csd به‌طور مفصل مورد بررسی قرار گرفته است. در سال ۱۹۹۴ مکان ژنی جایگاه تعیین جنسیت با استفاده روش نشانگر ژنتیکی RAPD در دو آزمایشگاه از کشورهای آمریکا و آلمان روی ژنوم زنبورعسل تعیین شد (Beye *et al*., 1994). نتایج این مطالعات نشان داد که این ژن در ناحیه‌ی انتهای تلومری کروموموزوم شماره ۸ زنبورعسل قرار دارد. از آن به بعد مطالعات جهت شناسایی جزئیات این جایگاه مهم در زنبورعسل ادامه یافت. به‌طوری که تا به امروز مشخص شده است، این ژن حاوی اطلاعات ژنتیکی زنانگی در زنبور عسل است (Hasselman *et al*., 2003). همچنین موقعیت دقیق ژن و جزئیات بیشتری از این ژن شناسایی شده است. این ژن حاوی ۱۳ اگزون است و طول آن ۱۱۷۳۴ جفت‌باز است (Hasselman & Beye, 2004). نتایج هاسلمن و بای (۲۰۰۴)، نشان داد اگزون‌های ۱ تا ۹ توسط دو ناحیه اینترونی طولانی به سه بخش مجزا تفکیک شده‌اند (شکل ۲).

سطوح پلی‌مورفیسم در نواحی کدکننده‌ی این نواحی ژنی در سه گونه اصلی و نزدیک به هم زنبورعسل شامل *Apis cerana*، *Apis mellifera* و *Apis Dorsata* حدود ۷ برابر بیشتر از بخش‌های غیرکدکننده ژن است (Cho *et al*., 2006). در مطالعه Hasselman & Beye (۲۰۰۴) ناحیه‌ی ژنومی سومین قطعه‌ی مورد بررسی یعنی اگزون ۶ تا ۹، بیشترین پلی‌مورفیسم را نسبت به دو ناحیه‌ی کدکننده‌ی دیگر داشت (Hasselman *et al*., 2008; Hasselman & Beye, 2004). پروتئین کد شده توسط ناحیه سوم ژنوم (اگزون ۶ تا ۹) حاوی تکرارهای آرژنین-سرین (دوماین RS) و دوماین غنی از پرولین هستند و بین این دو دوماین یک ناحیه آللی با تنوع بسیار بالا قرار دارد (Cho *et al*., 2006). به‌طور تئوریکی تعداد آلل‌های CSD می‌تواند به ۱۱۶ تا ۱۴۵ آلل برسد. در حال حاضر ۸۷ آلل برای ژن CSD شناسایی شده است (Lechner *et al*., 2014). اگر ملکه و نرها دارای آلل‌های متفاوتی باشند و ملکه با ۸-۶ نر

جفت‌گیری کند، ترکیباتی آللی ممکن این ژن در یک فامیل می‌تواند به ۱۲ تا ۱۶ ترکیب مختلف برسد.

جایگاه csd حداقل دارای ۱۵ نوع آلل می‌باشد که از لحاظ اسیدآمینه در حدود ۳ درصد اسیدآمینه‌های خود، متفاوت هستند (Beye & Hasselmann, 2004 و Beye) همکاران (۲۰۰۳) ژن csd را در *Apis mellifera* کلون کردند. آنها دریافتند که هیچ تفاوت رونویسی بین این دو جنس وجود ندارد، اما از بین بردن csd در کارگران با RNA دو رشته‌ای، منجر به فنوتیپ‌های نر می‌شود. جایگاه csd پروتئین آرژینین (Arginine) را رمزگذاری می‌کند. پروتئین csd زنبور عسل با پروتئین دروزوفیلاترا (نوعی پروتئین دخیل در تعیین جنسیت) همخوانی دارد. تحقیقات تکمیلی زیادی در مورد ژن csd در *Apis cerena*، *Apis mellifera* و *Apis dorsata* انجام شده است (Beye et al., 2003).



تصویر ۲: دیاگرام ساختار ژن (a) و پروتئین (b) مربوط به جایگاه تعیین جنسیت در زنبورعسل. تصویر توسط Beye و همکاران (۲۰۰۳) ارائه شده است.

بررسی مطالعات تنوع آللی جایگاه CSD

همچنین وانگ و همکاران (۲۰۰۹) پلی مورفیسم ژن csd را در شش زیرگونه *A.mellifera* مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که ژن csd عامل اصلی تعیین جنسیت در زنبورهای عسل است. در مجموع ۷۹ هاپلوتیپ از این شش زیر گونه به‌دست آمد. نتایج همچنین نشان داد، هرچند سطح پلی مورفیسم در ناحیه سوم ژن بالاتر است ولی این تفاوت در مقایسه با تنوع نواحی اول و دوم معنی‌دار نیست (Wang *et al.*, 2009). در مطالعات دیگر تعداد متفاوتی از آلل‌ها برای این جایگاه شناسایی و گزارش شده است.

در مطالعه Paolillo و همکاران (۲۰۲۲) از اطلاعات ژنومی زنبورهای کارگر مربوط به ۱۲۵ کلنی از ۷ زیرگونه *Apis mellifera* برای بررسی تنوع آللی جایگاه csd استفاده شد. در این بررسی تعداد ۱۳۸ آلل با توالی مختلف برای این جایگاه شناسایی شد. در مطالعات دیگر تنوع آللی برابر ۱۵ (Hasselmann *et al.*, 2008)، ۱۸ (Cho *et al.*, 2006)، ۱۲۱ (Zareba *et al.*, 2017)، ۲۰ (Kaskinova *et al.*, 2019)، ۲۵ (Kolics *et al.*, 2020)، ۱۶۰ (Bovo *et al.*, 2021) و ۱۱۹ (Fridi *et al.*, 2022) گزارش شد. Lechner و همکاران (۲۰۱۴)، با استفاده از اطلاعات توالی‌های مربوط به جایگاه csd تعداد ۲۴۴ نمونه از سراسر دنیا، تعداد آلل‌های شناسایی شده برای جمعیت‌های محلی *Apis mellifera*، ۵۳ گزارش شد. این تعداد برای کل جمعیت‌های *Apis mellifera* در سراسر جهان ۸۷ آلل گزارش شد. تفاوت‌های بالا مربوط به گزارشات ارائه شده به تنوع و تعداد نمونه‌های مورد مطالعه بستگی دارد.

به تازگی، مطالعه جامعی بر روی ۶۵۲ توالی ثبت شده برای جایگاه csd در پایگاه داده NCBI انجام گرفته است. نتایج این بررسی که طیف وسیعی از نمونه‌ها از سراسر دنیا را شامل می‌شود، در مجموع تعداد ۲۲۵ آلل شناسایی شد (Bilodeau & Elsik, 2021). تعداد بالای آلل‌ها در جایگاه csd، نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالای زنبورعسل است که بخاطر سازگاری با شرایط بسیار متنوع سراسر جهان هست (Wallberg *et al.*, 2014). با این حال، بایستی تعداد آلل در

جمعیت‌های زنبورعسل پرورشی، مورد توجه بوده و مدیریت شود (Paolillo *et al*., 2022).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نظریه‌ی آللهای جنسی، در زنبورهای عسل جنسیت توسط مکانیسمی موسوم به جایگاه مکمل تعیین جنسیت (csd)کنترل می‌شود. تنوع آللی این جایگاه ژنی بر میزان جمعیت و عملکرد کلنی تاثیر دارد. پیامد منفی جایگاه تعیین جنسیت مکمل در زنبورعسل، با حذف نرهای دیپلوئید در کلنی ارتباط دارد که در نهایت منجر به کاهش جمعیت و قدرت کلنی می‌گردد، بنابراین شناخت و بررسی این جایگاه بسیار مهم است. امروزه با استفاده از تکنیک‌های ژنتیک مولکولی، جزئیات بیشتری در ارتباط با جایگاه csd مشخص شده که می‌تواند در طراحی برنامه‌های اصلاحی و مدیریت زنبورستان‌ها مورد استفاده قرار بگیرد.

منبع ها:

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(10): 1131-1139.

Beye, M., Hasselmann, M., Fondrk, M., Page, R.E., Omholt, S.W. 2003. The gene csd is the primary signal for sexual development in the honeybee and encodes an SR-type protein. Cell, 114, 419–429

Bilodeau, L., Elsik, C. 2021. A scientific note defining allelic nomenclature standards for the highly diverse complementary sex-determiner (csd) locus in honey bees. Apidologie, 52, 749–754.

Bovo, S., Ribani, A., Utzeri, V.J., Taurisano, V., Schiavo, G., Bolner, M., Fontanesi, L. 2021. Application of Next Generation semiconductorbased sequencing for the identification of *Apis mellifera* complementary sex-determiner (csd) alleles from honey DNA. Insects, 12, 868.

Cho, S., Huang, Z.Y., Green, D.R., Smith, D.R., Zhang, J. 2006. Evolution of the complementary sex-determination gene of honey bees: Balancing selection and trans-species polymorphisms. Genome Research, 16, 1366–1375.

Cook, J., Crozier, R.H. 1995. Sex determination and population biology in the Hymenoptera. Trends in Ecology & Evolution, 10(7): 281-286.

Dzierzon, J. 1861. Neue verbesserte Bienen-Zucht des Pfarrers Dzierzon zu Carlsmarkt in Schlesien, Quedlinburg: Ernst'schen,

Evans, J.D., Shearman, D.C., Oldroyd, B.P. 2004. Molecular basis of sex determination in haplodiploids. Trends in Ecology & Evolution, 19(1): 1-3.

Fridi, R., Tabet-Aoul, N., Catays, G., Basso, B., Bienefeld, K., Gregorc, A., …, Canale-Tabet, K. 2022. Genetic diversity and population genetic structure analysis of *Apis mellifera* subspecies in Algeria and Europe based on complementary sex determiner (CSD) gene. Apidologie, 53(1): 1-14.

Hasselmann, M., Beye, N. 2004. Signatures of selection among sexdetermining alleles of the honey bee. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(14): 4888-4893.

Hasselmann, M., Vekemans, X., Pflugfelder, J., Koeniger, N., Koeniger, G., Tingek, S., Beye, M. 2008. Evidence for convergent nucleotide evolution and high allelic turnover rates at the complementary sex-determiner gene of western and asian honeybees. Molecular Biology and Evolution, 25: 696–708.

Heimpel, G.E. de Boer, J.G. 2008. Sex determination in the Hymenoptera, Annual Review of Entomology, 53: 209-230.

Hoell, H.V., Doyen, J.T., Purcell, A.H.1 998. Introduction to Insect Biology and Diversity, 2nd ed. Oxford University Press. p. 320. ISBN 0-19-510033-6.

Kaskinova, M. D., Nikolenko, A.G. 2017. csd gene of honeybee: Genetic structure, functioning, and evolution. Russian Journal of Genetics, 53(3): 297-301

Kaskinova, M.D., Gataullina, A.R., Saltykova, E.S., Gaifullinaa, L.R., Poskryakov, A.V., Nikolenko, A.G. 2019. Polymorphism of the Hypervariable Region of the csd gene in the *Apis mellifera* L. population in Southern Ural. Russian Journal of Genetics, 55: 267–270.

Klein, A.M., Vaissiere, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharntke, T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. Proceedings of the royal society B: Biological Sciences, 274(1608): 303-313.

Kolics, É., Parrag, T., Házi, F., Szepesi, K., Heltai, B., Mátyás, K., Kutasy, B., Virág, E. 2020. An alternative,high throughput method to identify csd alleles of the honey bee. Insects, 11: 483.

Lechner, S., Ferretti, L., Schöning, C., Kinuthia, W., Willemsen, D., Hasselmann, M. 2014. Nucleotide variability at its limit? Insights into the number and evolutionary dynamics of the sex-determining specificities of the honey bee Apis mellifera . Molecular Biology and Evolution, 31: 272–287.

Lilia, D.G., Rinderer, T.E., Delatter, G.T., Stelzer, J.N., Beaman L., Kuznetsor, V. 2002. Resistance to Acarapis woodi by honey bees from far-eastern Russia. Apidologie, 33(4): 411-415.

Mackensen, O. 1951. Viability and sex determination in the honey bee (*Apis mellifera* L.). Genetics, 36(5): 500-509.

Roberts, W.C. and O. Mackensen. 1951. Sex determination and bee breeding. American Bee Journal, 91(9): 382-384.

Oldroyd, B.P., Wongsiri, S. 2009. Asian honey bees: biology, conservation, and human interactions. Harvard University Press.

Paolillo, G., De Iorio, M.G., Filipe, J.F.S., Riva, F., Stella, A., Gandini, G., … Minozzi, G. 2022. Analysis of Complementary Sex-Determiner (csd) Allele Diversity in Different Honeybee Subspecies from Italy Based on NGS Data. Genes, 13(6): 991.

Pattamayutanon, P., S. Angeli, P. Thakeow, J. Abraham, T. Disayathanoowat and Chantawannakul, P. 2015. Biomedical activity and related volatile compounds of Thai honeys from 3 different honeybee species. Journal of Food Science, 80(10): 2228-2240.

Rahimi, A., Asadi, M., Nabati, K. 2010. Sex alleles homozygosity percent of honey bee colonies (*Apis mellifera* meda) (Hymenoptera: Apidae) in Kordestan province. Nature Montenegro, 10: 183-185.

Rinderer, T.E., Harris, J.H., Hunt, G.J., De Guzman, L.I. 2010. Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. Apidologie, 32: 381- 394.

Tahmasbi, G., Moharrami, M., Valizadeh, P. 2019. Biological threat management and genetic resources conservation of Iranian honeybee *Apis mellifera* meda. Honeybee Science Journal, 10(18): 44-51.

Tarpy, D.R. Page, R.E. 2002. Sex determination and the evolution of polyandry in honey bees (*Apis mellifera*). Behavioral Ecology and Sociobiology, 52: 143-150.

Usefi, J., Mokhber, M., Hashemi, A., Rahimi, A. 2021. Homozygosity of Sex Determination Locus and It's Correlation with Population and Honey Production of Honeybee (*Apis mellifera* Meda) Populations in West-Azerbaijan and Kurdistan Provinces. Research On Animal Production (Scientific and Research), 12(32): 131-139.

Wallberg, A., Han, F., Wellhagen, G., Dahle, B., *et al*. 2014. Worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera* . Nature Genetics, 46:1081–1088.

Wang, Z., Liu, Z., Wu, X., Yan, W., Zeng, Z. 2012. Polymorphism analysis of csd gene in six *Apis mellifera* subspecies. Molecular Biology Reports, 39(3): 3067-3071.

Woyke, J. 1963. What happens to diploid drone larvae in a honeybee colony. Journal of Apicultural Research, 2(2): 73-75.

Zareba, J., Blazej, P., Laszkiewicz, A., Sniezewski, L., Majkowski, M., et al. 2017. Uneven distribution of complementary sex-determiner (csd) alleles in *Apis mellifera* population. Scientific Reports, 7(1): 1-9.

An introduction to the csd locus and it's role in sex determining in the honeybee (*Apis mellifera*)

M.Mokhber[1], Sh.Parichehreh[2]

1- Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

2- Honey bee department, Animal Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

DOI: 10.22092/HBSJ.2022.127230

Abstract

Currently, the sex in honeybees is determined by a mechanism known as the complementary sex-determiner (CSD), which has high diversity. Heterozygous individuals for the csd gene develop into females, while homozygotes develop into diploid males, which are removed by workers at the larval stage. Due to the high correlation of the genetic diversity of this locus with the number of diploid males and colony performance, many studies have been conducted on this region of genome. Fortunately, with advantage in genome sequencing technologies, the investigation of the csd gene conducted to molecular investigation and getting accurate information about this gene. Here, the history of sex determination in honeybees, the structure and diversity of csd gene and its association with the honeybee performance are considered.

Key words: *Apis mellifera* , Complementary Sex-Determiner, Haplodiploids

Corresponding Author: M.mokhber
Email: m.mokhber@urmia.ac.ir