



ГАПЛОДИПЛОИДНОСТЬ И ПОЛ-ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ КАСКАД ГЕНОВ У ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ

Каскинова М.Д.*, Салтыкова Е.С., Гайфуллина Л.Р., Поскряков А.В., Николенко А.Г.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Республика Башкортостан, Уфа, проспект Октября, д. 71, [*kaskinovamilyausha@mail.ru](mailto:kaskinovamilyausha@mail.ru)

Резюме

В данном обзоре рассмотрены существующие и предполагаемые генетические системы, характерные для перепончатокрылых насекомых, а также показано, как устроен и функционирует пол-определяющий каскад у отдельных видов. Большинство перепончатокрылых насекомых являются гаплодиплоидными – самки имеют диплоидный набор хромосом, а самцы гаплоидный. Однако пол-определяющие механизмы внутри этого отряда значительно варьируют не только в отдельных семействах, но даже в пределах одного рода. Общей чертой для них является наличие иерархического пол-определяющего каскада, где продукты одних генов регулируют пол-специфичный сплайсинг других. Регуляция экспрессии осуществляется как при помощи альтернативного сплайсинга, так и положительных авторегуляторных петель.

Ключевые слова: определение пола; гаплодиплоидность; Hymenoptera; *csd*; *fem*; *tra*; *dsx*

Цитирование: Каскинова М.Д., Салтыкова Е.С., Гайфуллина Л.Р., Поскряков А.В., Николенко А.Г.

Гаплодиплоидность и пол-определяющий каскад генов у перепончатокрылых насекомых // Биомика. 2019. Т.11(2). С. 108 – 119. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-08

HAPLODIPLOIDY AND SEX-DETERMINING CASCADE OF GENES IN ORDER HYMENOPTERA

Kaskinova M.D., Saltykova E.S., Gaifullina L.R., Poskryakov A.V., Nikolenko A.G.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Republic of Bashkortostan, Ufa, prospect Oktyabrya 71, 450054, [*kaskinovamilyausha@mail.ru](mailto:kaskinovamilyausha@mail.ru)

Resume

This review examines the existing and proposed genetic systems of Hymenoptera, as well as shows how the sex-determining cascade in particular species works and functions. Most Hymenoptera are haplodiploid organisms – females have a diploid set of chromosomes, and males have a haploid one. However, the sex-determining mechanisms within this order vary considerably, not only in families, but even within the same genus. A common feature for these mechanisms is the presence of a hierarchical sex-determining cascade of genes, where the products of some genes regulate the sex-specific splicing of others. Expression is regulated both by alternative splicing and positive autoregulatory loops.

Keywords: sex determination; haplodiploidy; Hymenoptera; *complementary sex determiner*; *feminizer*; *transformer*; *doublesex*

Citation: Kaskinova M.D., Saltykova E.S., Gaifullina L.R., Poskryakov A.V., Nikolenko A.G. Haplodiploidy and sex-determining cascade of genes in order Hymenoptera. *Biomics*. 2019. V.11(2). P. 108 – 119. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-08 (in Russian)

Введение

Перепончатокрылые (Hymenoptera) – отряд насекомых, включающий в себя два подотряда (Symphyta и Apocrita), 132 семейства и 153088 современных описанных вида [Aguilar et al., 2013; Peters et al., 2017]. Предполагаемое число видов достигает 300 000, среди них есть неописанные виды в научных коллекциях и еще не обнаруженные виды (Heraty et al., 2009). Наиболее древние представители этого отряда найдены в отложениях Триасового периода (Ronquist et al., 2012). Предположительно, их видообразование началось около 281 млн. лет назад между Каменноугольным и Триасовым периодами [Peters et al., 2017] и шло параллельно с эволюцией покрытосеменных растений [Dyer et al., 2012; Hu et al., 2008].

Характерной особенностью Hymenoptera является их гаплодиплоидность (также называемая арренотокией, или арренотокическим партеногенезом) – самки имеют диплоидный набор хромосом, а самцы гаплоидный. Однако пол-определяющие механизмы Hymenoptera значительно варьируют не только в отдельных семействах, но даже в пределах одного рода [Gu et al., 2003; van Wilgenburg et al., 2006; Paladino et al., 2015].

Генетические системы насекомых

Классификация генетических систем насекомых была предложена Нормарком [Normark, 2003]. Он выделил три генетические системы: системы, в которых самцы диплоидны (диплодиплоидность), гаплоидны (гаплодиплоидность) и отсутствуют вовсе (телитокия). Под генетической системой подразумевают комплекс из структур и механизмов передачи наследственной информации, характерный для определенного вида организмов.

В диплодиплоидной системе самки и самцы имеют диплоидный набор хромосом, состоящий из гаплоидных геномов двух родителей. Это самая распространенная генетическая система, встречающаяся у большинства позвоночных и беспозвоночных организмов [Trukhina et al., 2013; Blackmon et al., 2016]. Для перепончатокрылых насекомых характерны две системы – гаплодиплоидность и телитокия.

При гаплодиплоидной системе самки возникают из оплодотворенных яйцеклеток и имеют диплоидный набор хромосом, а самцы появляются из неоплодотворенных яиц и, следовательно, имеют гаплоидный набор. Гаплодиплоидность была подтверждена для 1300 видов Hymenoptera [Blackmon et al., 2016]. К гаплодиплоидной системе, согласно классификации Нормарка [Normark, 2003], относятся арренотокия и элиминация отцовского генома.

Основное различие между этими типами определения пола заключается в том, что при арренотокии гаплодиплоидность потомства обеспечивается за счет процесса оплодотворения, а при элиминации отцовского генома наблюдается функциональная гаплодиплоидность, которая возникает за счет полного или частичного подавления экспрессии отцовского генома.

Комплементарное определение пола

Одной из форм арренотокического партеногенеза является комплементарное определение пола (complementary sex determination, CSD). CSD основывается на аллельной комбинации пол-определяющего гена или генов – гетерозиготы развиваются в самок, а гомо- и гемизиготы в самцов [Beye et al., 2003]. Впервые CSD было предположено для наездника *Bracon hebetor* из семейства Braconidae [Whiting, 1943]. Позже CSD было предположено для более 80 видов перепончатокрылых [van Wilgenburg et al., 2006], однако его наличие с установлением конкретных генов (*csd*, *fem1*) было доказано лишь для *A. mellifera* [Beye et al., 2003] и других представителей Apidae [Gadau et al., 2001; Hasselmann et al., 2008; Liu et al., 2011; Liu et al., 2012; Wang et al., 2013]. Для установления CSD используют несколько подходов, которые имеют разную степень достоверности. Так, о наличии CSD можно судить по соотношению полов, наблюдаемому в экспериментах по близкородственному скрещиванию, которое в случае CSD смещено в сторону мужского пола (male biased sex ratio). Более надежные данные можно получить при помощи цитологических (обнаружение диплоидных самцов) и генетических (картирование локуса пола, РНК-интерференция) методов [Butcher et al., 2000; van Wilgenburg et al., 2006].

Селективным недостатком комплементарного определения пола является производство диплоидных самцов (diploid male production, DMP), поскольку у большинства видов с CSD диплоидные самцы нежизнеспособны или производят диплоидную сперму, которая приводит к появлению нежизнеспособного триплоидного потомства [Hargur et al., 2012]. Если матка спаривается с трутнем (или с несколькими), имеющим общий с ней аллель пол-определяющего гена, то половина потомства из оплодотворенных яиц будет нежизнеспособна. Поскольку в естественных условиях матка спаривается с более чем с 15 трутнями [Targy et al., 2015], то отрицательные последствия комплементарной детерминации пола снижаются, если хотя бы 2–3 из них будут иметь отличные от матки аллели пол-определяющего гена *complementary sex determiner* (*csd*). Для того чтобы небольшая группа пчелиных семей на пасеке могла

продолжительное время существовать без угрозы вымирания, для неё крайне важно сохранение достаточного полиморфизма по гену *csd*.

У большинства перепончатокрылых с CSD диплоидные самцы являются генетическим тупиком, поскольку они бесплодны либо дают при скрещивании стерильное триплоидное потомство. Тем не менее, были обнаружены виды, такие как *Euodynerus foraminatus* [Stahlhut, Cowan, 2004], *Cotesia glomerata* L. [Elias et al., 2009] и *Mastrus ridens* [Zaviezo et al., 2017], у которых диплоидные самцы фертильны и дают при скрещивании плодовитое потомство.

Были обнаружены виды, у которых пол контролировался аллельной комбинацией двух и более генов, так называемой многолокусной CSD (multi-CSD) [Sanchez et al., 2008; de Boer et al., 2008; de Boer et al., 2012; Paladino et al., 2015]. Данная форма CSD имеет большее селективное преимущество, поскольку вероятность появления гомозиготного по всем локусам потомства заметно уменьшается. Многолокусная CSD была найдена у паразитической осы *Cotesia vestalis*, пилильщика *Arge nigrinodosa*, муравья *Vollenhovia emeryi* [de Boer et al., 2008; Naito et al., 2000; Miyakawa et al., 2018].

Определение пола на основе материнского эффекта и геномного импринтинга

Для объяснения механизмов определения пола у перепончатокрылых насекомых, которые не соответствуют CSD, были предложены модели non-CSD – это определение пола на основе материнского эффекта (maternal effect sex determination, MESD) и геномного импринтинга (genomic imprinting sex determination, GISD) [van de Zande et al., 2014]. Данные модели требуют экспериментального подтверждения. Определение пола на основе материнского эффекта заключается в том, что на раннем этапе развития у зародыша собственный генотип находится в неактивном состоянии и его фенотип определяется за счет мРНК матери, находящихся в яйцеклетке [van de Zande et al., 2014; Geuverink et al., 2018].

Геномный импринтинг (genomic imprinting) – это избирательная экспрессия аллелей некоторых генов в зависимости от родителя, от которого данный аллель получен. Этот эпигенетический процесс основан на метилировании ДНК [van de Zande et al., 2014]. Модель материнского эффекта была предложена для *Nasonia vitripennis*, однако позже ей на замену предложили модель MEGISD (Maternal Effect Genomic Imprinting Sex Determination). Эта модель включает в себя механизм материнского эффекта и геномного импринтинга. Согласно этой модели, активация транскрипции гена *tra* у зародыша

Nasonia vitripennis осуществляется за счет материнской мРНК гена *tra*, при этом у диплоидных зародышей для активации *tra* необходимы отцовские аллели гипотетического гена *womanizer* [van de Zande et al., 2014]. Модель MEGISD также была предположена для паразитоида *Asobara tabida* [Geuverink et al., 2018].

Элиминация отцовского генома

Следующий механизм определения пола, входящий в гаплодиплоидную систему, – элиминация отцовского генома (paternal genome elimination, PGE), или псевдо-арренотокция [Normark, 2003; Sanchez, 2008]. При PGE самцы развиваются из зиготы, содержащей гаплоидный геном матери и гаплоидный геном отца, однако отцовский геном полностью или частично подавляется. Один из способов элиминации отцовского генома обуславливается наличием хромосомы «отцовского соотношения полов» (paternal sex ratio chromosome) [Werren et al., 2003], которая передается через сперму и подавляет экспрессию отцовского генома. Другой способ – митотическая или мейотическая элиминация отцовского генома, возникающая за счет модификаций в метилировании гистонов, что препятствует конденсации отцовского хроматина в отдельные хромосомы [Escriba et al., 2011]. Еще один способ элиминации обуславливается цитоплазматической несовместимостью, вызванной эндосимбиотическими бактериями [Tram et al., 2006]. Все эти способы упираются в подавление конденсации отцовского хроматина [Aldrich et al., 2017]. PGE обнаружена у представителей отрядов Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Thysanoptera, Phthiraptera и Collembola [Normark, 2003; Blackmon et al., 2016]. Среди Hymenoptera PGE выявлена у представителей надсемейства *Chalcidoidea* [Tram et al., 2006; Heimpel et al., 2008].

Телитокция

При телитокции из неоплодотворенных яиц появляются самки. У одних видов наблюдается облигатная форма телитокции, при которой организмы размножаются исключительно бесполом путем, например как *Mycosepurus smithii* [Rabeling et al., 2009]. Облигатная телитокция относительно редкое явление среди перепончатокрылых, тогда как факультативная телитокция, при которой организмы размножаются как половым, так и бесполом путем, распространена довольно широко, особенно среди муравьев [Wang et al., 2017; Espinosa et al., 2017; Nugnes et al., 2015; Masuko et al., 2014; Doums et al., 2013; Pearcy et al., 2006; Ravary et al., 2004; Dobata et al., 2009]. Был обнаружен также вид *Platythyrea punctata*, у которого одна из популяций имеет

облигатную форму телитоккии, а другая – факультативную [Kellner et al., 2013]. Телитоккиа была обнаружена также у капской пчелы *A. m. capensis* [Baudry et al., 2004; Chapman et al., 2015; Cole–Clark et al., 2017].

По способу восстановления диплоидности хромосомного набора телитоккиа делится на два типа – генетическую (автомиксис и апомиксис) и эндосимбионт–индуцированную [Heimpel et al., 2008; Rabeling et al., 2013]. При апомиксисе (также известен как премейотическая дупликация и митотический партеногенез) зигота формируется митотически и потомство являются копиями матери. Апомиксис не распространен среди Перепончатокрылых [Rabeling et al., 2013], он обнаружен у паразитоидов *Meteorus pulchricornis* [Tsutsui et al., 2014] и *Trichogramma cacoeciae* [Vavre et al., 2004]. При автомиксисе происходит мейоз, что ведет к редукции числа хромосом диплоидной яйцеклетки, а восстановление диплоидности осуществляется за счет слияния пронуклеусов [Heimpel et al., 2008]. Автомиксическая телитоккиа наиболее изучена у капской медоносной пчелы *A. m. capensis*. При наличии плодной матки семья размножается обычным способом. Когда семья теряет матку и не имеет возможности вырастить новую, рабочие пчелы начинают откладывать яйца, из которых развиваются диплоидные самки. Восстановление диплоидности происходит за счет слияния пронуклеусов. При так называемом центральном слиянии (central fusion), когда сливаются пронуклеусы, полученные из разных вторичных ооцитов (не сестринские хроматиды), все потомство будет иметь генотип матери. При терминальном слиянии (terminal fusion), когда сливаются пронуклеусы, полученные из одного и того же вторичного ооцита (сестринские хроматиды), половина материнского генотипа теряется и потомство будет гомозиготным по всем локусам [Baudry et al., 2004; Cole–Clark et al., 2017]. Поскольку пол у медоносной пчелы контролируется аллельной комбинацией одного гена *csd* [Beye et al., 2003], то потомство от терминального слияния будет нежизнеспособно. Также возможно случайное слияние (random fusion), при котором центральное и терминальное слияние пронуклеусов происходит с равным соотношением [Adachi–Hagimori et al., 2008]. Автомиксис обнаружен у ряда видов *Formicidae* [Doums et al., 2013; Rabeling et al., 2013; Kellner et al., 2013].

Эндосимбионт–индуцированная телитоккиа характерна для надсемейств *Chalcidoidea* и *Cynipoidea* [Adachi–Hagimori et al., 2008; Nugnes et al., 2015; Ma et al., 2015]. Эндосимбионты восстанавливают плоидность путем дупликации гамет: после мейотической дупликации гаметы

бактерии прерывают анафазу I и в ядре остаются два идентичных гаплоидных набора хромосом.

Между существующими генетическими системами часто наблюдаются переходы. Например, в случае факультативной телитоккии обработка антибиотиками или высокой температурой приводит к обычной арренотокии [Schneider et al., 2003; Nguyen et al., 2013]. Считается, что гаплодиплоидность возникла из диплодиплоидности [Normark, 2003]. В пользу этого предположения говорит филогенетический анализ 13113 видов насекомых из 30 отрядов, который показал, что предковой формой определения пола является диплодиплоидность с мужской гетерогаметностью [Blackmon et al., 2016]. Гаплодиплоидность имеет семь [Ross et al., 2019], а по другим данным десять [Normark, 2003], независимых путей происхождения внутри класса насекомых.

Эволюция Hymenoptera привела к формированию разнообразных механизмов определения пола, которые могут варьировать даже в пределах одного рода. Такое разнообразие пол–определяющих механизмов могло стать причиной высокого видового разнообразия перепончатокрылых насекомых.

Каскад пол–определяющих генов и их эволюция

Определение пола зависит не только от половых хромосом, гаплоидности или дозового эффекта хромосом. На примере таких модельных организмов как *Drosophila melanogaster*, *Apis mellifera*, *Nasonia vitripennis* и *Bombyx mori*, было показано, что с развитием молекулярно–генетических технологий выявляется более тонкая и сложная организация механизмов, регулирующих определение пола и половую дифференциацию [Xu et al., 2017; Sun et al., 2017; Nagaraju et al., 2014; Ledon–Rettig et al., 2017; Shukla et al., 2012; Verhulst et al., 2010a; Roth et al., 2019]. Определение пола у насекомых характеризуется каскадом генов, который консервативен в основании, но имеет разные первичные сигналы на вершине каскада [Graham et al., 2003; Saccone et al., 2011; Verhulst et al., 2014]. У насекомых, включая двукрылых (мухи и москиты), перепончатокрылых (муравьи, пчелы, осы и пилильщики) и чешуекрылых (бабочки и моли) самым нижним в каскаде генов является ген–переключатель *doublesex* [Shukla et al., 2010]. Его «upstream» регулятор ген *transformer* присутствует у насекомых отряда Hymenoptera, Coleoptera и Diptera [Gotoh et al., 2016; Verhulst et al., 2015], но до сих пор не обнаружен у отряда Lepidoptera и в базальных линиях Diptera [Geuverink et al., 2014].

Среди перепончатокрылых насекомых пол–определяющий каскад наиболее полно изучен у *Apis*

mellifera и *Nasonia vitripennis* [Biewer et al., 2015; Beukeboom et al., 2007; Verhulst et al., 2010a]. У медоносной пчелы, которая характеризуется CSD, пол-определяющий каскад состоит из четырех генов (рис. 1): *doublesex* (*dsx*), *transformer2* (*tra2*), *feminizer* (*fem*) и *complementary sex determiner* (*csd*) [Biewer et al., 2015]. У *Nasonia vitripennis* и *Asobara tabida*, для которых была предположена модель MEGISD, каскад включает три гена: *doublesex* (*dsx*), *transformer2* (*tra2*) и *transformer* (*tra*) [Geuverink et al., 2018].

Молекулярным переключателем в основании каскада пол-определяющих генов у большинства насекомых является ген *dsx*. *Dsx* относится к семейству *Dmrt* генов, которые отвечают за половую дифференциацию млекопитающих, насекомых и круглых червей [Matsuda et al., 2002; Bratus et al., 2006; Zhang et al., 2006]. Он обнаружен у насекомых из 7 отрядов, однако полное филогенетическое распределение гена *dsx* внутри класса неизвестно [Price et al., 2015; Geuverink et al., 2014]. На данный момент среди перепончатокрылых он обнаружен у 41 вида из 14 семейств (<http://www.orthodb.org>), а его предполагаемые ортологи встречаются во всех 30 отрядах насекомых [Price et al., 2015].

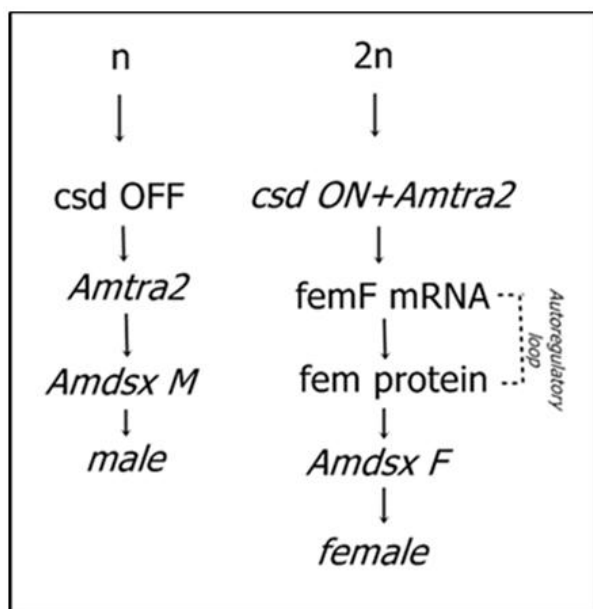


Рисунок 1. Схема пол-определяющего каскада генов *Apis mellifera*
Figure 1. Scheme of the sex-determining gene cascade of *Apis mellifera*

Ген *dsx* состоит из зависимого от пола DM-домена, который есть у всех генов семейства *Dmrt*, и пол-специфичного OD2 домена, который характерен для гена *dsx* и его ортологов [Hodgkin, 2002]. DM-домен состоит из цинк-зависимого ДНК-

связывающего домена и домена олигомеризации OD1. OD2 домен содержит не специфичный для пола N-конец и пол-специфичный C-конец [Narendra et al., 2002; Cho et al., 2007]. Ген *dsx* является транскрипционным фактором downstream генов каскада, который регулирует развитие пол-специфичных признаков, таких как морфология, производство феромонов и поведение [Shukla et al., 2010]. Он контролирует развитие половых органов [Roth et al., 2019]. При воздействии гена *transformer* он подвергается альтернативному сплайсингу в пол-специфичные варианты [Geuverink et al., 2014]. У медоносной пчелы было выявлено четыре изоформы *dsx* – *dsxM* (мужская), *dsxF1* и *dsxF2* (женские), *dsxB* (общая). По всей вероятности, *DsxB* не играет роли в определении пола, поскольку экспрессируется как у мужского, так и женского пола [Cho et al., 2007]. Две женские изоформы отличаются сайтом терминации транскрипции. Тогда как различие между *dsxF1* и *dsxM* заключается в пропуске одного из семи экзонов при транскрипции в мужской изоформе. Другая женская изоформа *dsxF2* отличается от мужской последовательностью 3'-конца [Cho et al., 2007]. У осы *Nasonia vitripennis* обнаружены две изоформы – мужская и женская [Oliveira et al., 2009]. У пилильщика *Athalia rosae* выявлено три мужские (*ArdsxM1*, *ArdsxM2* и *ArdsxM3*) и три женские (*ArdsxF1*, *ArdsxF2* и *ArdsxF3*) изоформы [Mine et al., 2017]. Результаты, полученные Cho et al. [2007], свидетельствуют о том, что у предковых насекомых с полным превращением женская форма *dsx* являлась формой по умолчанию, а мужская форма генерировалась путем подавления сплайсинга женской формы.

Transformer – следующий ген в пол-определяющем каскаде, регулирующий транскрипцию *dsx*. *Tra* принадлежит классу аргинин-сериновых (SR)-белков и содержит несколько консервативных доменов, один из которых распространен только среди двукрылых насекомых («the dipteran domain»), а другой – только среди перепончатокрылых («the hymenopteran domain») [Tanaka et al., 2018]. Функция этих доменов остается неизвестной [Verhulst et al., 2010b; Tanaka et al., 2018]. SR-дипептиды необходимы для ДНК-связывающей функции белка *tra* [Eirin-Lopez et al., 2015]. Полспецифичный сплайсинг мРНК *tra* происходит путем альтернативного сплайсинга, поддерживаемого авторегуляторной петлей [Sawanth et al., 2016]. Для большинства видов насекомых наличие функционального белка *tra* на ранней стадии эмбрионального развития необходимо для развития женского пола [Verhulst et al., 2010b; Saccone et al., 2011]. Пол-определяющая функция *tra* заключается в направлении сплайсинга пре-мРНК *dsx* в белок *dsx*,

специфичный для женского пола. Без *tra* пре-мРНК гена *dsx* подвергается сплайсингу, специфичному для мужского пола. Это подтверждают эксперименты по РНК-интерференции транскриптов гена *tra* – при их подавлении происходит развитие мужского пола [Hasselmann et al., 2008a, Verhulst et al., 2010b; Liu et al., 2015]. Регуляция сплайсинга геном *tra* обеспечивается SR-доменом путем его взаимодействия с другими белками, имеющими РНК-связывающие домены, например как *tra2*. *Tra* является наиболее быстро эволюционирующим геном пол-определяющего каскада [Eirin-Lopez et al., 2015], что затрудняет поиск его ортологов среди разных видов насекомых. Одним из ортологов *tra* является ген *fem* у *A. mellifera*. Предполагается, что *tra* является предковым у насекомых с полным превращением на основе его общих доменов и консервативных признаков авторегуляции и пол-специфичного сплайсинга. Дубликации *tra* обнаруживаются в отдельных семействах внутри отряда Hymenoptera, для которых характерно CSD [Geuverink et al., 2014].

Ген *tra2* является важным звеном в пол-определяющем каскаде у многих видов насекомых [Burghardt et al., 2005; Geuverink et al., 2014; Nissen et al., 2012]. По своей структуре он близок гену *tra* – он состоит из РНК-связывающего домена, фланкированного аргинин-сериновыми участками. Нокдаун исследования *tra2* показали его роль в эмбриональном развитии Hymenoptera и Coleoptera, но не у представителей Diptera и Lepidoptera. Ген *tra2* считается более консервативным геном, чем *tra*, в связи с тем, что его гомологи присутствуют у видов, у которых отсутствует *tra* и его ортологи. *Tra2* необходим для нормального развития мужского пола у *Nasonia vitripennis* [Geuverink et al., 2014]. Нокдаун исследования показали, что ген *AmTra2* необходим для сплайсинга мРНК downstream гена *fem* в продуктивную женскую или не репродуктивную мужскую форму [Schurko et al., 2013; Geuverink et al., 2014]. У медоносной пчелы транскрипты гена *AmTra2* подвергаются пол-неспецифичному альтернативному сплайсингу и транслируются в шесть белковых изоформ. Белки *AmTra2* регулируют сплайсинг пре-мРНК *fem* и являются необходимыми регуляторами сплайсинга женской формы *Amdsx*, что указывает на то, что *tra2* является предковым у насекомых с полным превращением. Также ген *Amtra2* играет важную роль в эмбриогенезе пчел, которая не связана с определением пола [Nissen et al., 2012].

Ген *fem* является ортологом гена *tra*. Он принадлежит семейству аргинин-сериновых белков и поддерживает развитие женского пола в течение всей жизни насекомого через положительную обратную петлю. Для насекомых является характерным участие

в регуляции экспрессии генов пол-определяющего каскада (такие как, *fem* у *Apis mellifera*, *Sex-lethal* у *Drosophila melanogaster*, *tra* у многих двукрылых, жуков и перепончатокрылых) положительной авторегуляторной петли сплайсинга [Sawanth et al., 2016]. РНК-интерференция гена *fem* у самок *Apis mellifera* приводит к развитию мужской головы, тогда как у самцов РНК-интерференция не приводит к каким-либо изменениям в строении головы [Hasselmann et al., 2008a]. Мутации в гене *fem*, индуцированные при помощи технологии CRISPR/Cas9, вызвали переключение развития пола от женского к мужскому. Это произошло потому, что самки, мутантные по *fem*, потеряли женские изоформы *dsx*, поскольку у медоносной пчелы ген *fem* необходим для пол-специфичного сплайсинга *dsx* [Roth et al., 2019]. Функция гена *fem* у рода *Apis* и его ортолога *tra* у других насекомых по контролю полового развития и регуляции альтернативного сплайсинга *dsx* является предковым среди насекомых с полным превращением [Gempe et al., 2009]. Ген *fem* у *Apis* не имеет РНК-распознающего домена. Его отсутствие компенсирует ген *tra2*, который вместе с геном *csd* (см. ниже) обеспечивают пол-специфичный сплайсинг мРНК *fem* [Biewer et al., 2015]. Ген *fem* эволюционировал под действием отрицательного отбора и является консервативным предшественником, от которого возник ген *csd* после дивергенции безжальных пчел (мелипоины), шмелей и медоносных пчел (около 70 млн. лет назад) [Hasselmann et al., 2010; Koch et al., 2014; The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006].

Ген *csd*, первичный сигнал определения пола у представителей Apidae, возник в результате дубликации гена *fem* и также относится к семейству аргинин-сериновых белков [Beye et al., 2003]. *Csd* содержит гипервариабельный участок (hypervariable region, ГВУ), который состоит из АТ-обогащенных нуклеотидных повторов и кодирует преимущественно тирозиновую и аспарагиновую аминокислоты. ГВУ фланкирован аргинин-сериновым и пролин-обогащенными доменами, которые принимают участие в межбелковых взаимодействиях [Zareba et al., 2017]. ГВУ является мутационной «горячей точкой» и играет основную роль в формировании новых аллелей *csd* [Lechner et al., 2014; Wang et al., 2012; Zareba et al., 2017]. Ген *csd* также обнаружен у других видов пчел из рода *Apis*: у азиатской пчелы *A. cerana* [Cho et al., 2006; Hasselmann et al., 2008; Gloag et al., 2016], гигантской медоносной пчелы *A. dorsata* [Cho et al., 2006; Hasselmann et al., 2008; Liu et al., 2012], красной карликовой пчелы *A. florea* [Liu et al., 2011; Biewer et al., 2016] и черной гигантской пчелы *A. laboriosa* [Wang et al., 2013]. У шмелей функциональную роль *csd* выполняет ген *fem1*,

однако они, вероятно, не являются ортологами, поскольку имеют независимое происхождение от гена *fem*. Ген *csd* считался предковым геном, однако полногеномный анализ *A. mellifera* показал, что ген *csd* возник в результате дупликации гена *fem* [Hasselmann et al., 2008a]. Гены *fem1* и *csd* неоднократно возникали через дупликацию генов у шмелей, пчел и муравьев за последние 100 миллионов лет [Koch et al., 2014]. Для других видов Hymenoptera наличие CSD предполагается только на основе данных по соотношению полов или на основе цитологических исследований [Butcher et al., 2000; van Wilgenburg et al., 2006]. На основе сравнительного анализа последовательностей транскриптов *csd* у разных видов пчел было предположено, что ген *csd* возник примерно 10 млн. лет назад до дивергенции видов медоносной пчелы вследствие тандемной дупликации гена *fem* [Hasselmann et al., 2010; Koch et al., 2014; Miyakawa, Mikheyev, 2015]. Ген *fem*, в свою очередь, является ортологом гена *tra* – главного пол-детерминирующего гена у *Drosophila melanogaster* [Cristino et al., 2006; The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006; Verhulst et al., 2010b], также содержащим аргинин–сериновый домен. Ген *csd* показывает умеренную гомологию к гену *tra* [Hasselmann et al., 2008b; Hasselmann et al., 2010].

Исследованию гена *csd* посвящена серия работ лаборатории Beye [Beye et al., 1994–2013]. В 1994 году, в попытке картировать пол-определяющий X-локус, они получили сцепленный с ним Z-маркер [Beye et al., 1994; Beye et al., 1996]. Одновременно с ними работы над картированием гена *csd* проводили в США Hunt и Page (1994). Они выявили RAPD маркер Q, сцепленный с X-локусом. В 1999 группой Beye et al. были получены фланкирующие маркеры для фрагмента пол-определяющего локуса размером 360 kb [Beye et al., 1999]. В 2001 году на основе этих данных методом хромосомной прогулки, используя в качестве стартовой точки маркер Q [Hunt, Page, 1994], Hasselmann и др. выполнили тонкое картирование локуса пола (fine-scale mapping) [Hasselmann et al., 2001]. Эти работы стали отправной точкой для дальнейших исследований не только гена *csd*, но и других генов из пол-определяющего каскада.

Закключение

Таким образом, основной генетической системой у Перепончатокрылых является гаплодиплоидность. При этом определение пола контролируется иерархичным каскадом генов, где первичный сигнал (например, *csd* у рода *Apis* и *fem1* у рода *Bombus*) запускает экспрессию последующих downstream генов. Последним и главным геном в каскаде у большинства насекомых является

doublesex, отвечающий за формирование пол-специфичных признаков. Наибольшее разнообразие имеет первичный сигнал, генетическая структура которого на данный момент определена только у *Apis* и *Bombus*. Сложность в поиске первичных сигналов показывает, что они варьируют не только между таксонами, но отличаются даже у близких родов, как это показано для медоносных пчел и шмелей. В отличие от первичного сигнала, downstream ген каскада (*dsx*) консервативен и формирует пол-специфичные изоформы. Гены из пол-определяющего каскада (такие как *fem*, *tra*, *tra2*, *dsx*) не только участвуют в определении пола, но и поддерживают развитие того или иного пола в течение всей жизни насекомого при помощи положительной обратной петли сплайсинга. Наличие положительной обратной петли и альтернативного сплайсинга в пол-определяющем каскаде является еще одними характерными чертами перепончатокрылых насекомых, помимо гаплодиплоидности.

Установление пол-определяющего механизма у разных видов перепончатокрылых насекомых важно не только с точки зрения фундаментальной науки, но необходимо также и для практического использования. Например, в целях биологического контроля вредителей сельского хозяйства, для поддержания генетического разнообразия популяций медоносной пчелы и для разведения в лабораторных условиях полезных паразитоидов [de Boer et al., 2012; Koukidou et al., 2014].

На сегодняшний день актуальным остается поиск генов, являющихся первичными сигналами в пол-определяющем каскаде у перепончатокрылых насекомых, и установление их механизма действия на downstream гены. Одними из отправных точек при этом являются сами downstream гены, поскольку на примере медоносной пчелы и шмелей было показано, что первичные сигналы (*csd* и *fem1*) возникли в результате дупликации downstream гена *fem*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-Поволжье № 17-44-020648 и госзадания АААА-А16-116020350026-0.

Литература

1. Adachi– Hagimori T., Miura K., Stouthamer R. A new cytogenetic mechanism for bacterial endosymbiont-induced parthenogenesis in Hymenoptera. *Proceedings Biological Sciences*. 2008. V. 275 (1652). P. 2667–2673. doi: 10.1098/rspb.2008.0792
2. Aguiar A.P., Deans A.R., Engel M.S., Forshage M., Huber J.T., Jennings J.T., Johnson N.F., Lelej A.S., Longino J.T., Lohrmann V., Miko I., Ohl M.,

- Rasmussen C., Taeger A., Sick Ki Yu D. Order hymenoptera. Zootaxa. 2013. V. 3703 (1). doi: 10.11646/zootaxa.3703.1.12
3. Aldrich, J.C. et al. Genome silencing and elimination: insights from a “Selfish” B chromosome / J.C. Aldrich, P.M. Ferree. *Frontiers in Genetics*. 2017. V. 8 (50). doi: 10.3389/fgene.2017.00050
 4. Baudry E., Kryger P., Allsopp M., Koeniger N., Vautrin D., Mougél F., Cornuet J.-M., Solignac M. Whole-genome scan in thelytokous-laying workers of the cape honeybee (*Apis mellifera capensis*): central fusion, reduced recombination rates and centromere mapping using half-tetrad analysis. *Genetics*. 2004. V. 167 (1). P.243–252. doi: 10.1534/genetics.167.1.243
 5. Beukeboom L.W., Kamping A., van de Zande L. Sex determination in the haplodiploid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Chalcidoidea): a critical consideration of models and evidence. *Semin Cell Dev Biol*. 2007. V. 18 (3). P. 3718.
 6. Beye M., Moritz R.F.A., Epplen C. Sex linkage in the honeybee *Apis mellifera* detected by multilocus DNA fingerprinting. *Naturwissenschaften*. 1994. V. 81. P.460–462. doi: 10.1007/BF01136650
 7. Beye M., Moritz R.F.A. Mapping the sex locus of the honeybee (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften*. 1996. № 83. P. 424 – 426.
 8. Beye M., Hunt G.J., Page R.E., Fondrk M.K., Grohmann L., Moritz R.F. Unusually high recombination rate detected in the sex locus region of the honey bee (*Apis mellifera*). *Genetics*. 1999. V. 153. P.1701–1708.
 9. Beye M., Hasselmann M., Fondrk M., Page R.E., Omholt S.W. The gene *csd* is the primary signal for sexual development in the Honeybee and encodes an SR-type protein. *Cell*. 2003. V. 114. P. 419–429. doi: 10.1016/S0092–8674(03)00606–8
 10. Beye M., Hasselmann M., Vekemans X., Fondrk M.K., Page R.E.Jr. Gradual molecular evolution of a sex determination switch through incomplete penetrance of femaleness. *Current Biology*. 2013. V. 23. P.2559–2564. doi: 10.1016/j.cub.2013.10.070
 11. Biewer M., Lechner S., Hasselmann M. Similar but not the same: insights into the evolutionary history of paralogous sex-determining genes of the dwarf honey bee *Apis florea*. *Heredity* (Edinb). 2016. V. 116 (1). P. 12–22. doi: 10.1038/hdy.2015.60
 12. Biewer M., Schlesinger F., Hasselmann M. The evolutionary dynamics of major regulators for sexual development among Hymenoptera species. *Frontiers in Genetics*. 2015. V.6. P. 11. doi: 10.3389/fgene.2015.00124
 13. Blackmon H., Ross L., Bachtrog D. Sex determination, sex chromosomes, and karyotype evolution in Insects. *Journal of Heredity*. 2016. P.1–16. doi:10.1093/jhered/esw047
 14. Bratus A., Slota E. *DMRT1/Dmrt1*, the sex determining or sex differentiating gene in Vertebrata. *Folia Biol*. 2006. V. 54. P. 81 – 86.
 15. Burghardt G., Hediger M., Siegenthaler C., Moser M., Dübendorfer A., Bopp D. The *transformer2* gene in *Musca domestica* is required for selecting and maintaining the female pathway of development. *Development Genes and Evolution*. 2005. V. 215(4). P.165 – 176. doi: 10.1007/s00427–004–0464–7
 16. Butcher R.D.J., Whitfield W.G.F., Hubbard S.F. Complementary sex determination in the genus *Diadegma* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Evol. Biol*. 2000. P. 13593 – 13606.
 17. Chapman N.C., Beekman M., Allsopp M.H., Rinderer T.E., Lim J., Oxley P.R., Oldroyd B.P. Inheritance of thelytoky in the honey bee *Apis mellifera capensis*. *Heredity* (Edinb). 2015. V. 114 (6). P. 584 – 592. doi: 10.1038/hdy.2014.127
 18. Cho S., Huang Z.Y., Green D.R., Smith D.R., Zhang J. Evolution of the complementary sex-determination gene of honey bees: Balancing selection and trans-species polymorphisms. *Genome Research*. 2006. № 2. P. 1366 – 1375. doi: 10.1101/gr.4695306
 19. Cho S., Huang Z.Y., Zhang J. Sex-specific splicing of the honeybee *doublesex* gene reveals 300 million years of evolution at the bottom of the insect sex-determination pathway. *Genetics*. 2007. V.177. P. 1733–1741. doi: 10.1534/genetics.107.078980
 20. Cole-Clark M.P., Barton D.A., Allsopp M.H., Beekman M., Gloag R.S., Wossler T.C., Ronai I., Smith N., Reid R.J., Oldroyd B.P. Cytogenetic basis of thelytoky in *Apis mellifera capensis*. *Apidologie*. 2017. V. 48 (5). P.623–634. doi: 10.1007/s13592–017–0505–7
 21. Cristino A.S., Nascimento A.M., Costa L.F., Simoes Z.L.P. A comparative analysis of highly conserved sex-determining genes between *Apis mellifera* and *Drosophila melanogaster*. *Genetics and Molecular Research*. 2006. V. 5 (1). P.154 – 168.
 22. de Boer J.G., Ode P.J., Rendahl A.K., Rendahl A.K., Vet L.E.M., Whitfield J.B., Heimpel G.E. Experimental support for multiple-locus complementary sex determination in the parasitoid *Cotesia vestalis*. *Genetics*. 2008. V. 180 (3). P. 1525–1535. doi: 10.1534/genetics.107.083907
 23. de Boer J.G., Kuijper B., Heimpel G.E., Beukeboom L.W. Sex determination meltdown upon biological control introduction of the parasitoid *Cotesia rubecula*? *Evol Appl*. 2012. V. 5. P. 444–454. doi: 10.1111/j.1752–4571.2012.00270.x
 24. Dobata S., Sasaki T., Mori H., Hasegawa E., Shimada M., Tsuji K. Cheater genotypes in the

- parthenogenetic ant *Pristomyrmex punctatus*. Proceedings of the Royal Society London Series B. 2009. V. 276. P. 567–574.
25. Doums C., Cronin A.L., Ruel C., Federici P., Haussy C., Tirard C., Monnin T. Facultative use of thelytokous parthenogenesis for queen production in the polyandrous ant *Cataglyphis cursor*. J Evol Biol. 2013. V. 26 (7). P. 143 – 144. doi:10.1111/jeb.12142
 26. Dyer A.G., Boyd–Gerny S., McLoughlin S., Rosa M.G., Simonov V., Wong B.B. Parallel evolution of angiosperm colour signals: common evolutionary pressures linked to hymenopteran vision. Proc. R. Soc. B. 2012. V. 279. P. 3606–3615. doi:10.1098/rspb.2012.0827
 27. Eirin–Lopez J.M., Sanchez L. The comparative study of five sex–determining proteins across insects unveils high rates of evolution at basal components of the sex determination cascade. Development Genes and Evolution. 2015. V. 225 (1). P. 23 – 30. doi:10.1007/s0042701504916
 28. Elias J., Mazzi D., Dorn S. No need to discriminate? Reproductive diploid males in a parasitoid with complementary sex determination. PLoS One. 2009. V. 4 (6). e6024. doi:10.1371/journal.pone.0006024
 29. Escriba M.C., Giardini M.C., Goday C. Histone H3 phosphorylation and non–disjunction of the maternal X chromosome during male meiosis in sciarid flies. Journal of Cell Science. 2011. V. 124 (10). P. 1715–1725. doi: 10.1242/jcs.083022
 30. Espinosa M.S., Virla E.G., Cuozzo S. Wolbachia infections responsible for thelytoky in Dryinid wasps. The case of *Gonatopus bonaerensis* Virla (Hymenoptera: Dryinidae). Neotrop Entomol. 2017. V. 46 (4). P. 409– 413. doi:10.1007/s137440160475x
 31. Gadau J. A linkage analysis of the sex determination in *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). Heredity. 2001. V.87. P. 234–242.
 32. Gempe T., Hasselmann M., Schiott M., Hause G., Otte M., Beye M. Sex determination in honeybees: two separate mechanisms induce and maintain the female pathway. PLoS Biology. 2009. V. 7 (10). doi:10.1371/journal.pbio.1000222
 33. Geuverink E., Verhulst E.C., van Leussen M., van de Zande L., Beukeboom L.W. Maternal provision of non sex–specific *transformer* messenger RNA in sex determination of the wasp *Asobara tabida*. Insect Mol Biol. 2018. V. 27 (1). P. 99–109. doi: 10.1111/imb.12352
 34. Geuverink E., Beukeboom L.W. Phylogenetic distribution and evolutionary dynamics of the sex determination genes *doublesex* and *transformer* in insects. Sex Dev. 2014. V. 8. P. 38–49. doi: 10.1159/000357056
 35. Gloag R., Ding G.L., Christie J.R., Buchmann G., Beekman M., Oldroyd B.P. An invasive social insect overcomes genetic load at the sex locus. Nature Ecology & Evolution. 2016. V.1. doi: 10.1038/s41559-016-0011
 36. Gotoh H., Zinna R.A., Warren I., DeNieu M., Niimi T., Dworkin I., Emlen D.J., Miura T., Lavine L.C. Identification and functional analyses of sex determination genes in the sexually dimorphic stag beetle *Cyclommatus metallifer*. BMC Genomics. 2016. P.17. doi: 10.1186/s12864-016-2522-8
 37. Graham P., Penn J.K., Schedl P. Masters change, slaves remain. Bioessays. 2003. V. 25. P. 1–4.
 38. Gu H., Dorn S. Mating system and sex allocation in the gregarious parasitoid *Cotesia glomerata*. Anim Behav. 2003. V.66 (2). P. 259– 264. doi: 10.1006/anbe.2003.2185
 39. Harpur B.A., Sobhani M., Zayed A. A review of the consequences of complementary sex determination and diploid male production on mating failures in the Hymenoptera. The Netherlands Entomological Society Entomologia Experimentalis et Applicata. 2012. P.1–9. doi: 10.1111/j.1570-7458.2012.01306.x
 40. Hasselmann M., Fondrk M.K., Page R.E., Beye M. Fine scale mapping in the sex locus region of the honey bee (*Apis mellifera*). Insect Molecular Biology. 2001. V. 10(6). P. 605–608. doi: 10.1046/j.0962-1075.2001.00300.x
 41. Hasselmann M., Gempe T., Schiott M., Nunes–Silva C.G., Otte M., Beye M. Evidence for the evolutionary nascence of a novel sex determination pathway in honey bees. Nature. 2008a. V. 454. P. 519 – 523. doi: 10.1038/nature07052
 42. Hasselmann M., Vekemans X., Pflugfelder J. Evidence for convergent nucleotide evolution and high allelic turnover rates at the *complementary sex determiner* gene of Western and Asian honeybees Mol. Biol. Evol. 2008b. V. 25 (4). P. 696–708. doi:10.1093/molbev/msn011
 43. Hasselmann M., Lechner S., Schulte C., Beye M. Origin of a function by tandem gene duplication limits the evolutionary capability of its sister copy. Proc Natl Acad Sci USA. 2010. V. 107 (30). P. 13378–13383. doi: 10.1073/pnas.1005617107
 44. Heimpel G.E., de Boer J.G. Sex determination in the Hymenoptera. Annu. Rev. Entomol. 2008. V. 53. P. 209–230. doi: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093441
 45. Heraty J.M., Darling D.C. Fossil *Eucharitidae* and *Perilampidae* (Hymenoptera: *Chalcidoidea*) from Baltic Amber. Zootaxa. 2009. V.2306. P.1 – 16.
 46. Hodgkin J. The remarkable ubiquity of DM domain factors as regulators of sexual phenotype: ancestry or aptitude? Genes Dev. 2002. V. 16. P. 2322–2326
 47. Hu S., Dilcher D.L., Jarzen D.M., Taylor D.W. Early steps of angiosperm–pollinator coevolution. Proc

- Natl Acad Sci USA. 2008. V. 10 (1). P. 240–245. doi: 10.1073/pnas.0707989105
48. Kellner K., Seal J.N., Heinze J. Sex at the margins: parthenogenesis vs. facultative and obligate sex in a Neotropical ant. *J Evol Biol.* 2013. V. 26 (1). P. 108 – 117. doi: 10.1111/jeb.12025
 49. Koch V., Nissen I., Schmitt B.D., Beye M. Independent evolutionary origin of fem paralogous genes and complementary sex determination in hymenopteran insects. *PLOS ONE.* 2014. V. 9. P. 11. doi: 10.1371/journal.pone.0091883
 50. Koukidou M., Alphey L. Practical applications of insects' sexual development for pest control *Sex Dev.* 2014. V. 8 (13). P. 127 – 136. doi: 10.1159/000357203
 51. Lechner S., Ferretti L., Schöning C., Kinuthia W., Willemsen D., Hasselmann M. Nucleotide variability at its limit? Insights into the number and evolutionary dynamics of the sex-determining specificities of the honey bee *Apis mellifera*. *Mol Biol Evol.* 2014. V. 29. doi:10.1093/molbev/mst207
 52. Ledon-Rettig C.C., Zattara E.E., Moczek A.P. Asymmetric interactions between *doublesex* and tissue- and sex-specific target genes mediate sexual dimorphism in beetles. *Nat Commun.* 2017. V. 8. doi: 10.1038/ncomms14593
 53. Liu G., Wu Q., Li J., Zhang G., Wan F. RNAi-mediated knock-down of *transformer* and *transformer2* to generate male-only progeny in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. (Hendel) *PloS One.* 2015. V. 10 (6). doi: 10.1371/journal.pone.0128892
 54. Liu Z.Y., Wang Z.L., Wu X.B., Zeng Z.J. *Csd* alleles in the red dwarf honey bee (*Apis florea*, Hymenoptera: Apidae) show exceptionally high nucleotide diversity. *Insect Sci.* 2011. V. 18. P. 645–651. doi:10.1111/j.1744-7917.2011.01437.x
 55. Liu Z.Y., Wang Z.L., Yan W.Y., Wu X.B., Zeng Z.J., Huang Z.Y. The sex determination gene shows no founder effect in the giant honey bee, *Apis dorsata*. *PLoS One.* 2012. V. 7. e34436. doi:10.1371/journal.pone.0034436
 56. Ma W.J., Pannebakker B.A., van de Zande L., Schwander T., Wertheim B., Beukeboom L.W. Diploid males support a twostep mechanism of endosymbiont-induced thelytoky in a parasitoid wasp. *BMC Evol. Biol.* 2015. V. 15. P. 84. doi: 10.1186/s12862-015-0370-9
 57. Masuko K. Thelytokous parthenogenesis in the ant *Myrmecina nipponica* (Hymenoptera: Formicidae). *Zoolog Sci.* 2014. V. 31(9). P. 5826. doi:10.2108/zs140050
 58. Matsuda M., Nagahama Y., Shinomiya A., Sato T., Matsuda C., Kobayashi T., Morrey C.E., Shibata N., Asakawa S., Shimizu N., Hori H., Hamaguchi S., Sakaizumi M. DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature.* 2002. V. 417. P. 559–563.
 59. Mine S., Sumitani M., Aoki F., Hatakeyama M., Suzuki M.G. Identification and functional characterization of the sex-determining gene *doublesex* in the sawfly, *Athalia rosae* (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Appl Entomol Zool.* 2017. V. 52(3). P. 497–509. doi: 10.1007/s13355-017-0502-3
 60. Miyakawa M.O., Mikheyev A.S. QTL mapping of sex determination loci supports an ancient pathway in ants and honey bees. *PLoS Genetics.* 2015. V. 11(11). e1005656. doi:10.1371/journal.pgen.1005656
 61. Miyakawa M.O., Tsuchida K., Miyakawa H. The *doublesex* gene integrates multi-locus complementary sex determination signals in the Japanese ant, *Vollenhovia emeryi*. *Insect Biochem Mol Biol.* 2018. V. 94. P. 42 – 49. doi: 10.1016/j.ibmb.2018.01.006
 62. Nagaraju J., Gopinath G., Sharma V., Shukla J.N. Lepidopteran sex determination: a cascade of surprises. *Sex Dev.* 2014. V. 8 (1–3). P. 104–112. doi: 10.1159/000357483
 63. Naito T., Ishikawa M., Nishimoto Y. Two-locus multiple-allele sex determination in the rose sawfly *Arge nigrinodosa*. Presented at 3rd Int. Hymenopt. Congr., Canberra, Aust. 2000.
 64. Narendra U., Zhu L., Li B., Wilken J., Weiss M.A. Sex-specific gene regulation. The Doublesex DM motif is a bipartite DNA-binding domain. *J. Biol Chem.* 2002. V. 277 (45). P. 43463–43473. doi: 10.1074/jbc.M204616200
 65. Nguyen T.M., Bressac C., Chevrier C. Heat stress affects male reproduction in a parasitoid wasp. *J Insect Physiol.* 2013. V. 59 (3). P. 248–254. doi:10.1016/j.jinsphys.2012.12.001
 66. Nissen I., Müller M., Beye M. The *Am-tra2* gene is an essential regulator of female splice regulation at two levels of the sex determination hierarchy of the honeybee. *Genetics.* 2012. V. 192. P. 1015–1026. doi: 10.1534/genetics.112.143925
 67. Normark B.B. The evolution of alternative genetic systems in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 2003. V. 48. P. 397–423.
 68. Nugnes F., Gebiola M., Monti M.M., Gualtieri L., Giorgini M., Wang J., Bernardo U. Genetic diversity of the invasive gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) and of its Rickettsia endosymbiont, and associated sex-ratio differences. *PLoS One.* 2015. V. 10(5). e0124660. doi:10.1371/journal.pone.0124660
 69. Oliveira D.C., Werren J.H., Verhulst E.C., Giebel J.D., Kamping A., Beukeboom L.W., van de Zande L. Identification and characterization of the

- doublesex* gene of *Nasonia*. Insect Mol Biol. 2009. V. 18 (3). P. 315 – 324. doi: 10.1111/j.1365-2583.2009.00874.x
70. Paladino L.C., Muntaabski I., Lanzavecchia S., Bagousse-Pinguet Y.L., Viscarret M., Juri M., Fueyo-Sanchez L., Papeschi A., Cladera J., Bressa M.J. Complementary sex determination in the parasitic wasp *Diachasmimorpha longicaudata*. PLoS One. 2015. 17p. doi:10.1371/journal.pone.0119619
 71. Percy M., Hardy O., Aron S. Thelytokous parthenogenesis and its consequences on inbreeding in an ant. Heredity (Edinb). 2006. V. 96 (5). P. 377 – 382. doi: 10.1038/sj.hdy.6800813
 72. Peters R.S., Krogmann L., Mayer C., Carlo P., Thomas S., Shanlin L., Xin Z., Torsten W., Rust J., Misof B., Niehuis O. Evolutionary History of the Hymenoptera. Current Biology. 2017. V.27 P.1013–1018. doi:10.1016/j.cub.2017.01.027
 73. Price D.C., Egizi A., Fonseca D.M. The ubiquity and ancestry of insect *doublesex*. Scientific Reports. 2015. V. 5. 13068. doi: 10.1038/srep13068
 74. Rabeling C., Kronauer D.J. Thelytokous parthenogenesis in eusocial Hymenoptera. Annu Rev Entomol. 2013. V. 58. P.273 – 292.
 75. Rabeling C., Lino-Neto J., Cappellari S.C., Dos-Santos I.A., Mueller U.G., Bacci M. Thelytokous parthenogenesis in the fungus-gardening ant *Mycocepurus smithii* (Hymenoptera: Formicidae). PLoS One. 2009. V. 4. e6781. doi: 10.1371/journal.pone.0006781
 76. Ravary F., Jaisson P. Absence of individual sterility in thelytokous colonies of the ant *Cerapachys biroi* Forel (Formicidae, Cerapachyinae). Insectes Sociaux. 2004. V. 51. P. 67–73. doi:10.1007/s00040-003-0724-y
 77. Ronquist F., Klopstein S., Vilhelmsen L., Schulmeister S., Murray D.L., Rasnitsyn A.P. A total-evidence approach to dating with fossils, applied to the early radiation of the Hymenoptera. Syst. Biol. 2012. V. 61. P. 973–999.
 78. Ross L., Davies N.G., Gardner A. How to make a haploid male. Evolution Letters. 2019. V. 3 (2). P. 173-184. doi:10.1002/evl3.107
 79. Roth A., Vleurinck C., Netschitailo O., Bauer V., Otte M., Kaftanoglu O., Page R. E., Beye M. A genetic switch for worker nutrition-mediated traits in honeybees. PLoS Biol. 2019. V. 17(3). e3000171. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000171>
 80. Saccone G., Salvemini M., Polito L.C. The *transformer* gene of *Ceratitis capitata*: a paradigm for a conserved epigenetic master regulator of sex determination in insects. Genetica. 2011. V. 139(1). P. 99-111. doi: 10.1007/s10709-010-9503-7
 81. Sanchez L. Sex-determining mechanisms in insects. Int. J. Dev. Biol. 2008. V.52. P.837 – 856. doi: 10.1387/jdb.072396ls
 82. Sawanth S.K., Gopinath G., Sambrani N., Arunkumar K.P. The autoregulatory loop: A common mechanism of regulation of key sex determining genes in insects. J. Biosci. 2016. V. 41(2). P. 283 – 294.
 83. Schneider M.V., Driessen G., Beukeboom L.W., Boll R., van Eunen K., Selzner A., Talsma J., Lapchin L. Gene flow between arrhenotokous and thelytokous populations of *Venturia canescens* (Hymenoptera). Heredity. 2003. V. 90. P. 260–267.
 84. Schurko A.M. To “Bee or not to bee” male or female? An educational primer for use with “The *Am-tra2* gene is an essential regulator of female splice regulation at two levels of the sex determination hierarchy of the honeybee”. Genetics. 2013. V. 193 (4). P. 1019–1023. doi: 10.1534/genetics.113.150417
 85. Shukla J.N., Nagaraju J. Doublesex: a conserved downstream gene controlled by diverse upstream regulators. Journal of Genetics. 2010. V. 89 (3). P. 341–356.
 86. Shukla J.N., Palli S.R. Sex determination in beetles: production of all male progeny by parental RNAi knockdown of transformer. Sci Rep. 2012. V. 2 (602). doi:10.1038/srep00602
 87. Stahlhut J.K., Cowan D.P. Inbreeding in a natural population of *Euodynerus foraminatus* (Hymenoptera: Vespidae), a solitary wasp with single - locus complementary sex determination. Molecular Ecology. 2004. V.13. P.631– 638. doi: 10.1046/j.1365-294X.2004.02090.x
 88. Sun D., Guo Z., Liu Y., Zhang Y. Progress and prospects of CRISPR/Cas systems in insects and other arthropods. Front Physiol. 2017. V. 8. P. 608. doi: 10.3389/fphys.2017.00608
 89. Tanaka A., Aoki F., Suzuki M.G. Conserved domains in the transformer protein act complementary to regulate sex-specific splicing of its own pre-mRNA. Sex Dev. 2018. V. 12 (4). P. 180-190. doi: 10.1159/000489444
 90. Tapy D.R., Delaney D.A., Seeley T.D. Mating Frequencies of Honey Bee Queens (*Apis mellifera* L.) in a Population of Feral Colonies in the Northeastern United States. PLoS One. 2015. V. 10 (3). e0118734. doi: 10.1371/journal.pone.0118734
 91. Tram U., Fredrick K., Werren J.H., Sullivan W. Paternal chromosome segregation during the first mitotic division determines Wolbachia-induced cytoplasmic incompatibility phenotype. Journal of Cell Science. 2006. V.119. P.3655– 3663. doi:10.1242/jcs.03095

92. Trukhina A.V., Lukina N.A., Wackerow-Kouzova N.D., Smirnov A.F. The variety of vertebrate mechanisms of sex determination. *Biomed Res Int*. 2013. V. 2013 (587460). doi: 10.1155/2013/587460
93. Tsutsui Y., Maeto K., Hamaguchi K., Isaki Y., Takami Y., Naito T., Miura K. Apomictic parthenogenesis in a parasitoid wasp *Meteorus pulchricornis*, uncommon in the haplodiploid order Hymenoptera. *Bull. Entomol. Res.* 2014. V. 104 (3). P.307–313. doi: 10.1017/S0007485314000017
94. van de Zande L., Verhulst E.C. Genomic imprinting and maternal effect genes in haplodiploid sex determination. *Sex Dev.* 2014. V. 8. P. 74–82. doi: 10.1159/0003571
95. van Wilgenburg E., Driessen G., Beukeboom L.W. Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an "unintelligent" design? *Frontiers in Zoology*. 2006. V. 3(1). doi: 10.1186/1742-9994-3-1
96. Vavre F., de Jong J.H., Stouthamer R. Cytogenetic mechanism and genetic consequences of thelytoky in the wasp *Trichogramma cacoeciae*. *Heredity (Edinb)*. 2004. V. 93 (6). P. 5926.
97. Verhulst E.C., van de Zande L. Double nexus – Doublesex is the connecting element in sex determination. *Briefings in Functional Genomics*. 2015. P. 1–11. doi: 10.1093/bfgp/005
98. Verhulst E.C., van de Zande L. Insect sex determination: a cascade of mechanisms. *Sex Dev.* 2014. V. 8(13). P.56. doi: 10.1159/000358405
99. Verhulst E.C., van de Zande L., Beukeboom L.W. Insect sex determination: it all evolves around transformer. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2010b. V.20. P.376–383. doi:10.1016/j.gde.2010.05.001
100. Verhulst E.C., Beukeboom L.W., van de Zande L. Maternal control of haplodiploid sex determination in the wasp *Nasonia*. *Science*. 2010a. 328. P. 620 – 623.
101. Wang H., Wang Z., Zeng Z., Wu X–B., Yan W–Y. Nucleotide diversity based on *csd* gene of the black giant honey bee, *Apis laboriosa* (Hymenoptera: Apidae). *Eur. J. Entomol.* 2013. V. 110(2). P.215–220. doi:10.14411/eje.2013.095
102. Wang X.X., Qi L.D., Jiang R., Du Y–Z., Li Y–X. Incomplete removal of Wolbachia with tetracycline has two–edged reproductive effects in the thelytokous wasp *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Sci Rep.* 2017. V.7. P.440 – 414. doi:10.1038/srep44014
103. Wang Z., Liu Z., Wu X., Yan W., Zeng Z. Polymorphism analysis of *csd* gene in six *Apis mellifera* subspecies. *Mol Biol Rep.* 2012. V. 39. P. 3067–3071. doi 10.1007/s11033-011-1069-7
104. The Honeybee Genome Sequencing Consortium. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*. 2006. V. 443 (7114). P. 931–949. doi:10.1038/nature05260
105. Werren J.H., Stouthamer R. PSR (paternal sex ratio) chromosomes: the ultimate selfish genetic elements. *Genetica*. 2003. V. 117 (1). P.85 – 101. doi:10.1023A:1022368700752
106. Whiting P.W. Multiple alleles in complementary sex determination of *Habrobracon*. *Genetics*. 1943. V. 24. P. 110–111.
107. Xu J., Chen S., Zeng B., James A.A., Tan A., Huang Y. *Bombyx mori* P–element somatic inhibitor (*BmPSI*) is a key auxiliary factor for silkworm male sex determination. *PLoS Genet.* 2017. V. 13 (1). e1006576. doi:10.1371/journal.pgen.1006576
108. Zareba J., Blazej P., Laszkiewicz A., Sniezewski L., Majkowski M., Janik S., Cebrat M. Uneven distribution of complementary sex determiner (*csd*) alleles in *Apis mellifera* population. *Scientific Reports*. 2017. V.7. doi:10.1038/s41598-017-02629-9
109. Zaviezo T., Retamal R., Urvois T., Fauvergue X., Blin A., Malausa T. Effects of inbreeding on a gregarious parasitoid wasp with complementary sex determination. *Evol Appl.* 2017. V. 11(2). P. 243 – 253. doi:10.1111/eva.12537
110. Zhang W., Li B., Singh R., Narendra U., Zhu L., Weiss M.A. Regulation of sexual dimorphism: mutational and chemogenetic analysis of the *doublesex* DM domain. *Mol. Cell Biol.* 2006. V. 26 (2). P.535–547. doi: 10.1128/MCB.26.2.535-547.2006