



MicroRNA 对不完全变态昆虫变态及生殖调控作用的研究进展*

王 妮** 史肖肖 张 超 周文武 祝增荣***

(浙江大学农业与生物技术学院昆虫科学研究所, 杭州 310058)

摘 要 MicroRNAs (miRNAs) 是一类在真核生物中由内源基因编码的小分子 RNA, 参与昆虫变态、生殖发育、细胞分化等多种重要生物学过程, 在转录水平上发挥重要作用。在完全变态昆虫中, 大量调控其变态及生殖的 miRNA 被广泛报道且进行了深入的研究, 但 miRNA 调控不完全变态昆虫的变态及生殖发育的研究仍比较少, 对其具体的调控机制也需要进一步阐明。为此, 本文综述了近年来 miRNA 在调控不完全变态昆虫 (以直翅目飞蝗 *Locusta migratoria*、半翅目褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 和蚜虫以及部分蜚蠊目昆虫为代表) 的变态及生殖方面的研究进展, 以期深化理解 miRNA 对不完全变态昆虫变态和生殖发育方面的机制, 为害虫生态治理和综合防控提供科学依据。

关键词 MicroRNA; 不完全变态昆虫; 变态; 生殖; 生态治理

Progress in research on the regulatory role of microRNA in the metamorphosis and reproduction of hemimetabolous insects

WANG Ni** SHI Xiao-Xiao ZHANG Chao ZHOU Wen-Wu ZHU Zeng-Rong***

(State Key Laboratory of Rice Biology, Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract MicroRNAs (miRNAs) are a class of small RNAs encoded by endogenous genes in eukaryotes that are involved in many diverse biological processes, including metamorphosis, reproduction and cell differentiation, which also play an important role at the transcriptional level. A large number of miRNAs which regulate metamorphosis and reproduction have been widely reported in holometabolous insects, however, research on how miRNA regulate development in hemimetabolous insects is still in the early stage and the specific regulatory mechanisms need further clarification. Here, we review recent progress in research on miRNAs in three groups of hemimetabolous insects; migratory locusts, (Orthoptera), brown planthoppers (Hemiptera) and cockroaches (Blattaria), in order to improve understanding of the mechanisms regulating metamorphosis and reproduction in these taxa, and provide a scientific basis for improved ecological pest management and the comprehensive prevention and control of hemimetabolous insect pests.

Key words microRNA; hemimetabolous insects; metamorphosis; reproduction; ecological pest management

昆虫属于节肢动物门 Arthropoda 昆虫纲 Insecta, 是地球上进化非常成功, 生物多样性最丰富的生物种群。伴随着昆虫和自然环境之间长期的相互作用, 昆虫表现出变态这一复杂且有趣

的生物学现象, 进而驱动昆虫的进化和多样性 (Nicholson *et al.*, 2014; Rainford *et al.*, 2014)。昆虫变态发育主要有不完全变态发育和完全变态发育两种类型, 其中不完全变态昆虫包括卵、

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金面上项目 (31871962)

**第一作者 First author, E-mail: 1132749568@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zrzhou@zju.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-10-26; 接受日期 Accepted: 2021-03-22

若虫和成虫三大发育阶段,如褐飞虱 *Nilaparvata lugens*、飞蝗 *Locusta migratoria*、德国小蠊 *Blattella germanica* 等;完全变态昆虫包括卵、幼虫、蛹和成虫四个发育阶段,如家蚕 *Bombyx mori*、黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti*、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 等。许多研究表明,昆虫变态发育主要受到蜕皮激素 (20-hydroxyecdysone, 20-E) 和保幼激素 (Juvenile hormone, JH) 的协同调控,继而通过信号通路诱导下游一系列基因表达 (Truman and Riddiford, 1999; Dubrovsky, 2005; Jindra *et al.*, 2013), 如组织凋亡 (Mayhew, 2007; Belles, 2017)、表皮重塑 (Andersen, 1979; Chen *et al.*, 2010) 和蜕皮发育 (Riddiford *et al.*, 2000; Yamanaka *et al.*, 2013); 另一方面,外在营养物质也可通过营养信号影响激素信号进而控制变态发育进程 (刘素宁等, 2019)。昆虫生殖是种群繁衍进化的基础,包括卵巢发育、生殖行为和繁殖力三个方面。研究表明,在不完全变态昆虫中,生殖发育同样受到 20E 和 JH 的调控。在半翅目昆虫褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 中发现, 20E 与卵巢发育有关,敲除蜕皮酮合成酶基因导致昆虫产卵失败,卵细胞数目减少,表明昆虫卵巢发育需要蜕皮激素的参与 (Zhou *et al.*, 2020)。阻断内源 JH 合成,再使用 JH 或 JH 类似物 (JHA) 处理,发现 JH 可以通过保守的 JH-Met-Kr-h1 信号通路及其受体共激活者 Taiman 调节昆虫卵黄原蛋白 (Vitellogenin, Vg) 的合成、卵母细胞的发育和卵子的生成 (Riddiford, 2012), 说明保幼激素在调控昆虫的生殖发育中具有十分重要的作用。

MicroRNA (miRNA) 是一类长度为 19-25 nt 的非编码小 RNA 分子,多存在于病毒、线虫、植物和动物体内。典型的 miRNA 形成过程如图 1 所示。成熟的 miRNA 在细胞核内形成初级转录产物 (Pri-miRNA), 再由 Ribonuclease III (RNase III) 中的 Drosha 酶和脊椎动物中的辅助蛋白 DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region 8 gene) 切割形成 70 nt 的具有发夹结构的前体 (Pre-miRNA) (Gregory *et al.*, 2006; Winter

et al., 2009); 之后 Pre-miRNA 通过 Exportin5 蛋白运送到细胞质中经核糖核酸酶 Dicer 和哺乳动物中的辅助蛋白 TRBP 共同剪切形成成熟的 miRNA-miRNA* 复合体 (miRNA 代表向导链, guide strand; miRNA* 代表过客链, passenger strand), 再与 Argonaute 蛋白 (AGO 蛋白) 形成 RISC (RNA-induced silencing complex) 复合体, 从而引起靶基因 mRNA 降解或翻译抑制

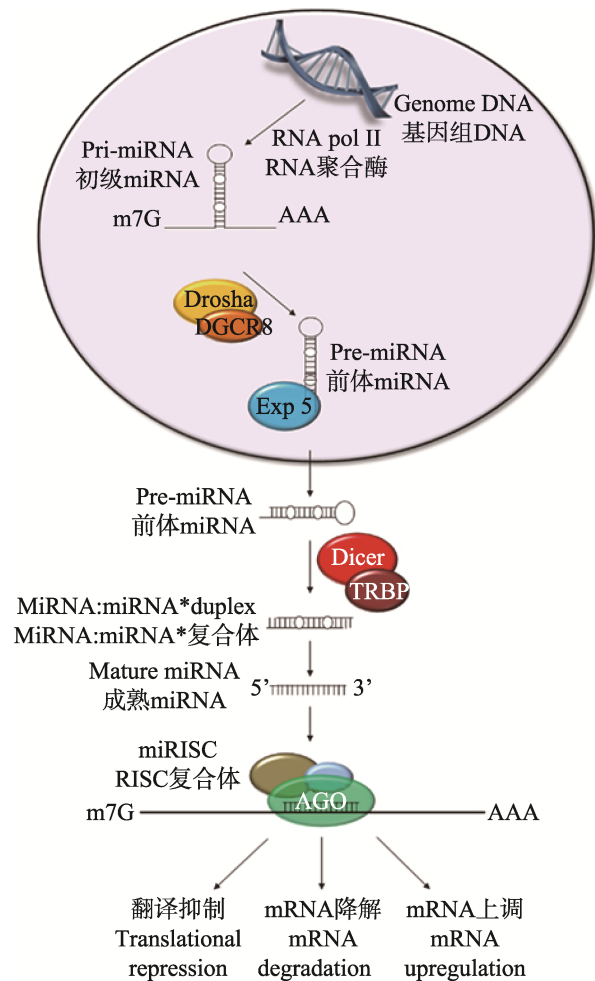


图 1 典型的 miRNA 生物合成过程 (Asgari, 2011)

Fig. 1 Canonical biosynthesis of miRNA (Asgari, 2011)

m7G: 7-甲基鸟嘌呤核苷酸; AAA: 多聚腺嘌呤尾巴; Drosha: Drosha 酶; DGCR8: 辅助蛋白 DGCR8; Exp 5: Exportin5 蛋白; Dicer: Dicer 酶; TRBP: 辅助蛋白 TRBP; AGO: Argonaute 蛋白。m7G: m7G cap; AAA: Poly A; Drosha: Drosha RNase; DGCR8: DGCR8 accessory protein; Exp 5: Exportin5 protein; Dicer: Dicer RNase; TRBP: TRBP accessory protein; AGO: Argonaute protein.

(Djuranovic *et al.*, 2012)。miRNA 在动物、植物和病毒等多物种间具有较高的保守性,对胚胎发育、组织分化、细胞增殖、细胞凋亡和形态发生等很多生物学过程都具有重要的调节作用 (Kloosterman and Plasterk, 2006; Legeai *et al.*, 2010; Weng and Cohen, 2012)。高通量测序技术和生物信息学技术的发展为 miRNA 的深入研究提供了很大的便利,使得其在家蚕 *Bombyx mori* (Jagadeeswaran *et al.*, 2010; Ling *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2018)、蚊子 (Bryant *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2014)、果蝇 (Sempere *et al.*, 2002; Bashirullah *et al.*, 2003; Sempere *et al.*, 2003) 等完全变态昆虫中,已经开展了广泛的研究且已取得了较大的进展,而在不完全变态昆虫中的研究还比较少。为此,本文综述了近年来 miRNA 对不完全变态昆虫 (以直翅目飞蝗、半翅目褐飞虱和蚜虫以及部分蜚蠊目昆虫为代表) 变态及生殖调控作用的研究进展,并将其与完全变态昆虫进行比较分析,丰富人们对 miRNA 调控两类昆虫的认知,使人们对不完全变态昆虫变态及生殖发育的调控过程有较为全面的认识,同时为不完全变态昆虫的生态治理和害虫防控提供全新的策略和方向。

1 miRNA 在直翅目飞蝗变态及生殖过程中的调控作用

飞蝗 *Locusta migratoria* 隶属于直翅目蝗总科飞蝗属,是研究激素水平调控蜕皮过程的模式昆虫之一。飞蝗蜕皮是变态发育中一个复杂的生物学过程,蜕皮过程中表皮代谢基因的转录调控对于昆虫蜕皮具有重要作用。通过对飞蝗表皮 miRNAs 转录组测序分析,共获得 15 459 187 个 reads 数,其中 4 590 268 个 (29.7%) 属于已知保守的 miRNAs 前体,此外还有许多飞蝗特有的 miRNAs,说明 miRNA 参与飞蝗表皮的代谢过程 (Wang *et al.*, 2015)。王艳丽等 (2017) 运用生物信息学方法预测了靶向调控飞蝗表皮代谢基因脂肪酸合成酶 (Fatty acid synthase, FAS), UDP-N-乙酰氨基葡萄糖焦磷酸化酶 (UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase, UAP), 糖基转

移酶 5 基因 (Asparagine-linked glycosylation protein 5 gene, ALG5) 和 Sinuous 基因 (Sinuous gene, Sinuous) 的 miRNAs,为研究 miRNAs 对飞蝗蜕皮的调控机制提供了重要科学依据。在昆虫生长发育过程中,miRNA 能够通过调控几丁质合成酶、几丁质降解酶等许多关键基因参与昆虫表皮的合成与降解过程。在飞蝗若虫体内,miR-71 与 miR-263 通过调节几丁质合成酶 1 (Chitin synthetase 1, CHS1) 与几丁质酶 10 (Chitinase 10, CHT10) 的表达来影响表皮几丁质的合成和旧表皮几丁质的降解,导致飞蝗因蜕皮异常而死亡 (Yang *et al.*, 2016)。最新研究还发现,miR-184 能够通过调控 *CYP303A1* 的表达继而引发飞蝗蜕皮障碍 (Wang *et al.*, 2020)。如图 2 所示, *Dicer* 和 *Ago* 是 miRNA 合成过程中的两个关键酶基因,沉默 *Dicer* 后飞蝗体内 miRNAs 表达量降低,使得虫体因蜕皮异常而死亡 (Wang *et al.*, 2013)。干扰 *Ago* 后飞蝗 5 龄幼虫出现大量死亡,且 miRNA 的表达量下降,表明 *Ago* 除参与 RISC 复合体形成之外,还可能参与 miRNA 的剪切加工进而调控飞蝗的正常发育 (王艳丽等, 2016)。

飞蝗因生殖能力强、产卵量大成为导致蝗灾大面积暴发的重要原因之一。飞蝗生殖包括卵黄生成和卵母细胞成熟等过程,这个过程主要受到 JH 的调控 (赵海虹, 2018)。JH 通过 JH-Met 促进 *Kr-h1* 的表达进而促进 Vg 合成来调控卵黄生成和卵母细胞成熟 (Song *et al.*, 2014), 除此之外, JH 还能通过其受体复合物 Met/Taiman 上调 *Mcm4*、*Mcm7* 以及 *Cdc6* 的变化,导致脂肪体 DNA 复制和多倍化的产生,从而促进卵黄生成和卵母细胞成熟 (Guo *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2016)。随后研究发现 miRNA 在调控飞蝗生殖发育方面具有重要作用。在雌性飞蝗成虫中,利用 RNA-seq 的方法测定 JH 处理后飞蝗脂肪体中的 miRNA,发现其表达响应 JH 滴度变化,干扰 *Ago* 能够阻断 miRNA 合成通路,进而抑制 Vg 合成、卵黄生成和卵母细胞成熟 (Song *et al.*, 2013)。研究还表明,miRNA 簇 miR-2/13/71 通过靶基因 *Notch* 调控飞蝗卵黄生成和卵母细胞成熟,从而

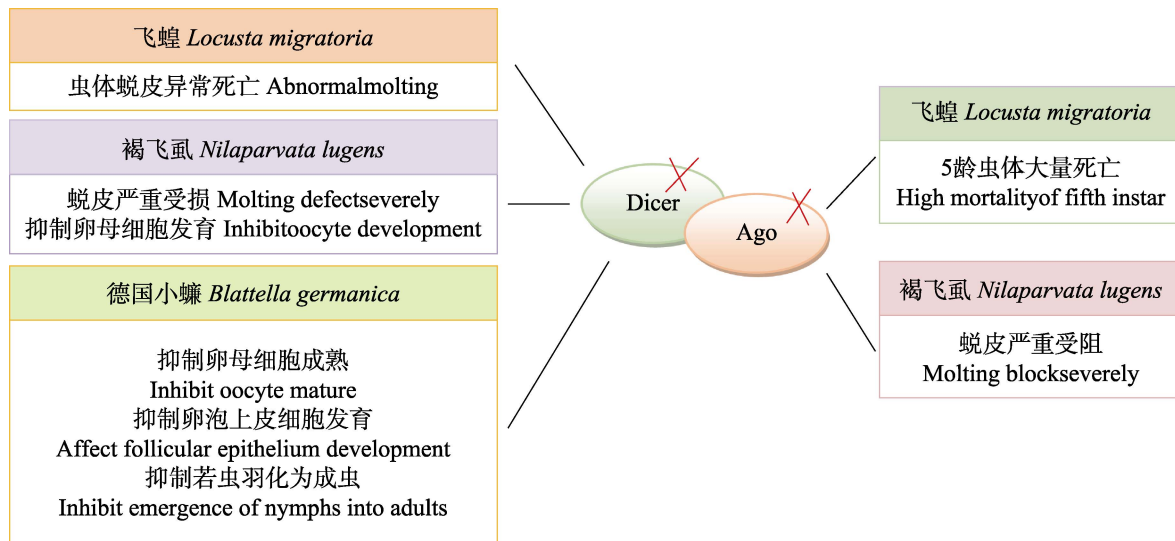


图 2 干扰 *Dicer* 和 *Ago* 对不完全变态昆虫变态及生殖发育的影响 (史磊等, 2019)

Fig. 2 Effects of interference of *Dicer* and *Ago* on metamorphosis and reproductive development of hemimetabolous insects (Shi et al., 2019)

进一步解析了其调控飞蝗生殖的分子机制 (Song et al., 2018a)。Let-7 和 miR-278 通过靶向 *Kr-h1* 影响 JH 信号通路从而调控飞蝗的卵黄生成和卵母细胞成熟, 揭示了 miRNA 对 JH 信号通路和生殖的作用机制 (Song et al., 2018b)。

飞蝗具有两型转变的典型表型可塑性现象, 能够根据种群密度表现出群居型和散居型 2 种形态, 是一个复杂的生物学过程。但诱导这一现象产生的原因和机制还不明确, 因此对飞蝗型变机制的深入研究也将有助于了解昆虫表型可塑性的形成机制。近年来, 研究发现 miRNA 在调节不同形态飞蝗行为可塑性方面具有重要作用。Wei 等 (2009) 应用高通量测序的方法在飞蝗中鉴定出 50 个进化上保守的 miRNAs 和 185 个特异性的 miRNAs, 通过分析发现飞蝗群散两型在小 RNA 的表达谱中存在着巨大的差异, 其中 miR-1 可能与飞蝗肌肉发育相关, 而 miR-125 可能调控飞蝗两型转变的过程。在东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 中, miR-133 通过调控多巴胺通路中的关键基因酪氨酸羟化酶 *pale* 和色氨酸羟化酶 *henna* 来介导飞蝗表型可塑性从而揭示了飞蝗型变的 miRNA 调控机制 (Yang et al., 2014)。miR-276 直接靶向 *brahma* (*brm*) 激活 *brm* 的上调, 其激活机制主要依赖位于 miR-276 结合位点附近的 *brm* 的二级结构从而调控 *brm* 的表达来

影响群散两型卵期发育的一致性 (He et al., 2016)。到目前为止, 对 miRNA 在飞蝗中的研究主要集中在蜕皮变态、生殖发育及群散两型方面 (表 1), 往往是针对某个信号通路中的关键基因或关键酶, 或者是干扰 miRNA 生物合成过程中的某个基因进行研究, 仍缺乏一定的系统性, 再加上 miRNA 自身调控的复杂性, 飞蝗中 miRNA 如何参与调控其生长发育以及具体调控机制还有待进一步研究。

2 miRNA 在褐飞虱变态及生殖过程中的调控作用

褐飞虱是危害我国水稻生产的重要迁徙性害虫, 它通过刺吸水稻汁液并传播某些病毒造成水稻减产或致病, 给水稻生产带来毁灭性的损失。褐飞虱所具有的一些如远距离迁飞、较高的繁殖率、食性单一、对抗性水稻的快速适应能力且抗药性强等特殊的生物学特性使得其防治起来仍十分困难, 且面临着农药处理造成生态污染等许多问题。随着 miRNA 调控基因表达的研究越来越深入, 我们期待是否可以从 miRNA 的角度发现防治褐飞虱的新策略。

蜕皮变态是昆虫的重要生理过程, 几丁质的合成和降解对这一过程至关重要。研究发现, 在

褐飞虱中 miR-8-5p 与 miR-2a-3p 分别通过调节几丁质合成通路中的海藻糖酶基因 (Trehalase, Tre-2) 和磷乙酰酶氨基葡萄糖变位酶基因 (Phosphoacetylglucosamine mutase, PAGM) 的表达来调控其体内几丁质的含量从而保证虫体的正常发育 (Chen *et al.*, 2013a)。miR-2703 通过靶向几丁质合成酶 1a 来响应 20E 信号通路从而调控几丁质生物合成途径 (Chen *et al.*, 2020)。研究还发现, 在全基因组水平上, miR-173 通过作用于其直接靶标 Ftz-F1 转录因子参与 20E 信号通路的转导, 同时也发现广谱复合物 (Br-C) 能够促进 miR-173 的转录过程, 表明 miR-173 通过 20E 信号通路参与了褐飞虱的蜕皮过程 (Chen *et al.*, 2018)。Xu 等 (2013) 将褐飞虱新组装转录组和基因组与黑腹果蝇、赤拟谷盗和秀丽隐杆线虫进行比较, 全面研究了褐飞虱

siRNA 和 miRNA 通路的核心基因的表达谱, 发现干扰 Ago 或 Dicer 导致褐飞虱蜕皮严重受损 (图 2)。

明确与褐飞虱繁殖力密切相关的 miRNA 也可以为褐飞虱的防治提供重要参考。在褐飞虱中干扰 Dicer, 发现卵母细胞发育受到显著抑制, 变小且畸形, 滤泡细胞异常 (图 2), 表明 miRNA 通路参与了褐飞虱的生殖发育过程 (Zhang *et al.*, 2013)。miR-4868b 通过靶向谷氨酰氨合成酶 (Glutamine synthase, GS) 影响其卵巢发育和 Vg 的表达从而参与调控褐飞虱的生殖过程 (Fu *et al.*, 2015)。祝增荣课题组基于多年的研究已经对昆虫的鞘脂代谢酶相关基因进行了克隆、表达和功能分析 (Yang *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2017; 史肖肖, 2018), 并且验证了多个以鞘磷脂合成酶 (Sphingomyelin synthase, SMS)、丝

表 1 不完全变态昆虫 miRNAs 及其经实验验证的功能

Table 1 miRNAs and their experimentally verified functions in hemimetabolous insects

物种 Species	miRNA	靶基因/通路 Target/Pathway	生物学功能 Biological function	参考文献 References
飞蝗 <i>Locusta moratoria</i>	miR-184	<i>CYP303A1</i>	影响蜕皮过程	Wang <i>et al.</i> , 2020
	miR-276b, miR-2796	<i>FAS, UAP</i>	参与表皮代谢	Wang <i>et al.</i> , 2017
	miR-275, miR-184	<i>ALGS, ALGS</i>		
	miR-2/13/71	<i>Notch</i>	抑制生殖发育	Song <i>et al.</i> , 2018a Song <i>et al.</i> , 2018b
	Let-7, miR-278	<i>Kr-h1</i>		
	miR-133	<i>Pale, Henna</i>	介导群散型变	Yang <i>et al.</i> , 2014 He <i>et al.</i> , 2016
	miR-276	<i>Brm</i>		
	miR-1	/	肌肉发育相关	Wei <i>et al.</i> , 2009
	miR-125	/	调控飞蝗型变	
褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	miR-2703	<i>CHS1</i>		Chen <i>et al.</i> , 2020
	miR-8-5p, miR-2a-3p	<i>Tre-2, PAGM</i>	抑制蜕皮变态	Chen <i>et al.</i> , 2013a
	miR-173	<i>Ftz-F1</i>		Chen <i>et al.</i> , 2018
	miR-4868b	<i>GS</i>	抑制卵巢发育	Fu <i>et al.</i> , 2015
	miR-34	<i>InR1, InR2</i>	参与翅型分化	Ye <i>et al.</i> , 2019
德国小蠊 <i>Blattella germanica</i>	miR-2/13a/13b	<i>Kr-h1</i>	参与蜕皮变态	Lozano <i>et al.</i> , 2015
	miR-252-3p	20-E	生长发育迟缓	Rubio <i>et al.</i> , 2012
	let-7, miR-100, miR-125	<i>Br-C</i>	抑制翅的发育	Rubio and Belles, 2013
蚜虫 <i>Aphis</i> sp.	miR-9b miR-92a-1-5p	<i>ABCG4 flightin</i>	参与翅型分化	Shang <i>et al.</i> , 2020 杨宗霖, 2020

氨酸棕榈酰转移酶 (Serine palmitoyltransferase, SPT) 和鞘磷脂磷酸酶 (Sphingolipid phosphatase, SPP) 为靶标的 miRNAs, 发现 miRNA 对褐飞虱的生长发育有重要作用 (朱晴子, 2016; 李飞强, 2018), 说明 miRNA 可能与鞘脂代谢酶之间存在重要的调控关系, 但内在的分子机制和靶向调控网络关系还有待进一步深入研究。除此之外, 在褐飞虱中, 运用 dsRNA 和 miRNA 两种方法干扰几丁质合成酶基因 (Chitin synthase, CHSA) 的结果表明, 两者都能较好的沉默基因的表达, CHSA 可能是基于 RNAi 的害虫防治的一个很有前途的靶点, 这些发现为害虫防治的运用提供了依据 (Li *et al.*, 2017)。

褐飞虱的翅二型现象也是一种典型的表型可塑性现象。从阐明褐飞虱翅型分化的确切机制 (Xu *et al.*, 2015) 至此, 调控昆虫翅型分化的分子机制的研究越来越多, 主要集中在胰岛素/胰岛素样生长因子信号 (Insulin/insulin-like growth factor signaling, IIS) 通路 (Zhuo *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2019; Ye *et al.*, 2019) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun NH₂-terminal kinase, JNK) 信号通路 (Lin *et al.*, 2016) 中。而最近的研究表明 miRNA 也可能通过与 IIS、昆虫激素 (JH 和 20E) 形成一个正向调控回路共同参与调控褐飞虱的翅型分化 (Ye *et al.*, 2019)。综合目前研究来看, miRNA 对褐飞虱的研究多数还处于发现新的 miRNA 阶段, 多是利用高通量测序鉴定其表达谱或是结合生物信息学进行预测分析等 (Chen *et al.*, 2012; Asokan, 2013; Zha *et al.*, 2016), miRNA 的功能有待明确 (表 1)。

3 miRNA 在蚜虫昆虫变态及生殖过程中的调控作用

蚜虫是一种农业生产中常见的害虫, 除通过自身取食给植物造成伤害外, 还能够传播许多植物病毒。蚜虫具有极强的繁殖能力和适应力, 能够以生殖转换和翅型分化的方式快速完成种群的繁殖或逃离不利的环境 (Le Trionnaire *et al.*, 2008)。研究表明, miRNA 在蚜虫的生长发育过

程中具有重要的调控作用 (表 1)。Shang 等 (2020) 在高通量测序的基础之上, 明确了蚜虫在种群密度拥挤环境下 miR-9b-ABCG4 与褐色桔蚜 *Aphis citricidus* 胰岛素信号通路的转录调控关系, 揭示了 miR-9b-ABCG4-IIS 调控褐色桔蚜翅型分化和翅发育的分子机制。在豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 中, 利用高通量测序结合生物信息学分析共鉴定出 149 个 miRNAs, 包括 55 个保守的 miRNAs 和 94 个豌豆蚜特异的 miRNAs。对比豌豆蚜产卵阶段 (Oviparae) 与孤雌生殖 (Virginoparae) 的 miRNA 表达谱发现, mir-29b, mir10、let-7 有 2 倍以上的差异表达, 表明这些 miRNAs 在蚜虫生殖方式转换中具有重要作用 (Legeai *et al.*, 2010)。mir-34 在豌豆蚜的不同生殖型中差异表达, 推测 miR-34 可能在蚜虫生殖型转变中发挥作用。保守的 mir-34 和 mir-307* (*代表 miRNA 的互补序列) 以及豌豆蚜特异的 mir-X47、mir-X103 和 mir-X52* 在有性生殖 (Sexuparae) 与孤雌生殖 (Virginoparae) 中的表达存在差异, 暗示这些 miRNA 可能在豌豆蚜从孤雌生殖到有性生殖的转变中发挥作用 (Legeai *et al.*, 2010; Le Trionnaire *et al.*, 2013; Lucas and Raikhel, 2013)。Jaubert-possamai 等 (2010) 对豌豆蚜部分 miRNA 的代谢途径研究发现, 在豌豆蚜 miRNA 的生物合成过程中涉及 2 个拷贝的特异性 *Dicer-1* 和 *Ago1* 及 4 个拷贝的 *Pasha*; RT-PCR 反应也表明, 不同的重复基因在豌豆蚜虫的不同形态中都有表达。通过对麦长管蚜 *Sitobion avenae* 成虫有翅蚜与无翅蚜进行小 RNA 测序, 发现 16 个 miRNAs 在有翅蚜中高表达, 12 个 miRNAs 在无翅蚜中高表达, GO 通路和 KEGG 通路分析表明这些 miRNA 在麦长管蚜代谢、发育和翅多型相关基因调控中存在的潜在功能, 但并没有进行深入研究 (Li *et al.*, 2016)。杨宗霖 (2020) 在对豌豆蚜的翅型分化研究中发现, miR-92a-1-5p 可能通过靶向修饰飞行肌蛋白 *flightin* 基因而间接调控 20E 信号通路相关基因的表达从而参与蚜虫翅型分化, 进而造成豌豆蚜后代有翅比例下降。目前对于 miRNA 调控蚜虫变态及生殖方面的报道比较少, 多是一些抗性方

面的研究。miRNA 在蚜虫昆虫变态及生殖方面还有许多值得我们去发现和研究的方面,充分挖掘 miRNA 在蚜虫害虫治理方面的作用更是一个需要长期探索的过程。

4 miRNA 在蜚蠊目昆虫变态及生殖过程中的调控作用

德国小蠊 *Blattella germanica* 属蜚蠊目硕蠊总科小蠊属,是一种重要的世界性卫生害虫,也是城市居室害虫,严重时会引起人们的过敏反应并传播多种疾病,防治难度大。近年来的研究表明,miRNA 在调控德国小蠊的生长发育过程中具有重要作用(表 1)。Cristino 等(2011)通过对德国小蠊末龄若虫和成虫卵巢的小分子 RNA 文库进行高通量测序,发现两个文库中 miRNA 组成存在一定的差异,且在卵巢中富集了大量的德国小蠊特异的 miRNA,暗示这些 miRNA 可能在其卵巢的发育中发挥作用。通过干扰 *Dicer1* 阻断 miRNA 的生物合成途径,发现德国小蠊卵泡细胞的发育以及卵母细胞的成熟均受到了显著的抑制(Tanaka and Piulachs, 2012)。如图 2 所示,沉默德国小蠊末龄若虫 *Dicer1* 的表达能够抑制末龄若虫羽化为成虫,说明 miRNA 在不完全变态昆虫的羽化中发挥着重要作用(Gomez-Orte and Belles, 2009)。在德国小蠊羽化过程中发现,let-7、miR-100 和 miR-125 在末龄若虫中高表达,抑制 let-7 和 miR-100 会导致成虫翅尺寸变小或翅出现畸形,而抑制 miR-125 却没有影响(Rubio and Belles, 2013)。miR-252-3p 在德国小蠊倒数第 2 龄若虫期高表达而在末龄若虫时表达水平显著降低,抑制 miR-252-3p 造成德国小蠊若虫生长和发育迟缓(Rubio et al., 2012)。研究还发现,miR-2 家族成员 miR-2、miR-13a 以及 miR-13b 能够通过靶向 *Kr-h1* 影响 JH 信号通路,进而调控其羽化过程(Lozano et al., 2015)。

除了德国小蠊外,美洲大蠊 *Periplaneta americana* 也是一种与人类关系十分密切的卫生害虫。但目前对美洲大蠊的研究主要集中在基因组(晋家正等, 2018)、转录组(Kim et al., 2016)

和繁殖(Nishino et al., 2010)等方面,miRNA 对其在基因表达中的调控机制还处于初步发现阶段。宝钲等(2017)对美洲大蠊雌成虫、雄成虫、3 龄幼虫、7 龄幼虫、白色体若虫和成虫 6 组 miRNA 样品进行了组成特征和功能预测性分析,有望为美洲大蠊后续的研究提供帮助。通过对雌雄美洲大蠊成虫进行了小 RNA 测序,在雄成虫预测出了 57 种已知的 miRNA 和 152 种潜在的新 miRNA,在雌成虫中预测出了 53 中已知的 miRNA 和 94 中潜在的新的 miRNA,这是首次在转录组水平研究美洲大蠊 miRNA 的组成并对其功能进行预测,为其后续研究奠定了基础(宝钲等, 2019)。杨巧等(2019)对美洲大蠊胚后发育的四个不同阶段(3 龄幼虫、7 龄幼虫、刚羽化成虫,成虫)的 miRNA 进行测序和生物信息学分析,发现这些 miRNA 的靶基因富集于 Notch 信号通路,表明这些 miRNA 分子可能对美洲大蠊蜕皮前的虫体发育起着重要的调控作用。通过构建 miRNA 文库对美洲大蠊雌雄之间的性别特异性基因进行研究确定了美洲大蠊与性别和繁殖相关的候选 miRNA,但没有展开后续研究(Chen et al., 2013b)。到目前为止,关于 miRNA 调控蜚蠊目昆虫的报道不多,可能是 miRNA 防治技术和方法上还没有成熟的体系,以至于被其他更好的防治措施所替代,对这类昆虫造成的危害和潜在的应用价值也没有引起足够的重视。蜚蠊目昆虫虽然是一类世界性的卫生害虫,但其提取物有较高的药用价值,如果能在有效地防治好这类卫生害虫的基础之上,开发其潜在的药用价值和市场价值,也不失为一项解决全球环境卫生害虫治理的对策和策略。

5 小结与展望

由于化学杀虫剂的大量使用,导致害虫抗药性不断产生、农业生态环境遭到破坏,急需开发绿色环保且对生态环境友好高效的新型害虫防治策略。随着高通量测序技术和生物信息学技术的发展,miRNA 在农业害虫防治中的作用和地位愈发重要。昆虫变态是一个复杂的生物学过程,涉及一系列生理、结构变化。许多研究结果

表明, miRNA 在不完全变态昆虫生长发育中起着重要的调控作用, 主要体现在昆虫的蜕皮、表型变化和生殖发育等方面, 往往涉及到一些重要的被广泛研究的信号通路, 如胰岛素信号通路, 几丁质合成通路等。与 miRNA 在完全变态昆虫中的已有研究相比, 两者在研究手段、研究内容以及涉及的信号通路等方面存在许多不同之处。尤其是在模式昆虫果蝇中, 对其 miRNA 的研究已经非常深入, 包括免疫、神经系统、器官发育和生殖发育等, 涉及的信号通路也比较多, 而 miRNA 对不完全变态昆虫的研究还比较单一通常是以 miRNA 的大规模测序为切入点, 通过生物信息学分析, 预测 miRNA 的功能和靶基因, 进而对候选 miRNA 的功能做比较深入的研究, 或者是干扰 *Dicer1*、*Ago1* 等与 miRNA 生物合成及功能执行有关的基因, 利用高通量测序鉴定与生殖相关的 miRNA, 预测分析其功能, 多处于鉴定发现和功能表达分析的阶段, 机制也尚不明确。我们期待能够发现更多的昆虫高度特异性 miRNA, 利用 miRNA 对其下游靶标基因进行干扰, 对农业害虫防治和生态治理提供新的研究策略。另一方面, 对其作用机制和调控过程进行探究, 揭示昆虫生命活动规律, 为研究 miRNA 对不完全变态昆虫的分子调控提供理论基础, 并为害虫绿色防控提供科学依据。

参考文献 (References)

- Andersen S, 1979. Biochemistry of the insect cuticle. *Annual Review of Entomology*, 24: 29–61.
- Asgari S, 2011. Role of microRNAs in insect host-microorganism interactions. *Frontiers in Physiology*, 2: 48.
- Asokan R, Rebijith KB, Ranjitha HH, Roopa HK, Ramamurthy VV, 2013. Prediction and characterization of novel microRNAs from brown plant hopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Delphacidae). *Entomological Research*, 43(4): 224–235.
- Bao Z, Yang MY, Zhang XY, Yue BS, Fan ZX, 2019. Preliminary research of microRNA in *Periplaneta americana*. *Sichuan Journal of Zoology*, 38(1): 47–55. [宝钲, 杨茗羽, 张修月, 岳碧松, 范振鑫, 2019. 美洲大蠊 microRNA 的初步研究. 四川动物, 38(1): 47–55.]
- Bao Z, Zhang XY, Shen YM, Yue BS, Fan ZX, 2017. Sequencing and analysis of miRNA in *Periplaneta americana*. Abstracted Papers of the 13th National Symposium on Wildlife Ecology and Resource Conservation and the 6th Western China Zoology Symposium. Chengdu. 181. [宝钲, 张修月, 沈咏梅, 岳碧松, 范振鑫, 2017. 美洲大蠊 miRNA 的测序与分析. 第十三届全国野生动物生态与资源保护学术研讨会暨第六届中国西部动物学学术研讨会. 成都. 181.]
- Bashirullah A, Pasquinelli AE, Kiger AA, Perrimon N, Ruvkun G, Thummel CS, 2003. Coordinate regulation of small temporal RNAs at the onset of *Drosophila metamorphosis*. *Developmental Biology*, 259(1): 1–8.
- Belles X, 2017. MicroRNAs and the evolution of insect metamorphosis. *Annual Review of Entomology*, 62: 111–125.
- Bryant B, Macdonald W, Raikhel AS, 2010. microRNA miR-275 is indispensable for blood digestion and egg development in the mosquito *Aedes aegypti*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(52): 22391–22398.
- Chen J, Tang B, Chen HX, Yao Q, Huang XF, Chen J, Zhang DW, Zhang WQ, 2010. Different functions of the insect soluble and membrane-bound trehalase genes in chitin biosynthesis revealed by RNA interference. *PLoS ONE*, 5(4): 1–13.
- Chen J, Liang ZK, Liang YK, Pang R, Zhang WQ, 2013a. Conserved microRNAs miR-8-5p and miR-2a-3p modulate chitin biosynthesis in response to 20-hydroxyecdysone signaling in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 43(9): 839–848.
- Chen J, Li TC, Pang R, Yue XZ, Hu J, Zhang WQ, 2018. Genome-wide screening and functional analysis reveal that the specific microRNA nlu-miR-173 regulates molting by targeting Ftz-F1 in *Nilaparvata lugens*. *Frontiers in Physiology*, 9: 1–12.
- Chen J, Li T, Pang R, 2020. miR-2703 regulates the chitin biosynthesis pathway by targeting chitin synthase 1a in *Nilaparvata lugens*. *Insect Molecular Biology*, 29(1): 38–47.
- Chen QH, Lu L, Hua HX, Zhou F, Lu LX, Lin YJ, 2012. Characterization and comparative analysis of small RNAs in three small RNA libraries of the brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). *PLoS ONE*, 7(3): 1–12.
- Chen W, Jiang GF, Sun SH, Lu Y, Ma F, Li B, 2013b. Identification of differentially expressed genes in American cockroach ovaries and testes by suppression subtractive hybridization and the prediction of its miRNAs. *Molecular Genetics and Genomics*, 288(11): 627–638.
- Cristino AS, Tanaka ED, Rubio M, Piulachs MD, Belles X, 2011. Deep sequencing of organ-and stage-specific microRNAs in the evolutionarily basal insect *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera, Blattellidae). *PLoS ONE*, 6(4): 1–11.
- Djuranovic S, Nahvi A, Green R, 2012. MiRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA

- deadenylation and decay. *Science*, 336(6078): 237–240.
- Dubrovsky EB, 2005. Hormonal cross talk in insect development. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 16(1): 6–11.
- Fu X, Li TC, Chen J, Dong Y, Qiu JQ, Kang K, Zhang WQ, 2015. Functional screen for microRNAs of *Nilaparvata lugens* reveals that targeting of glutamine synthase by miR-4868b regulates fecundity. *Journal of Insect Physiology*, 83: 22–29.
- Gao XL, Fu YT, Ajayi OE, Guo DY, Zhang LQ, Wu QF, 2019. Identification of genes underlying phenotypic plasticity of wing size via insulin signaling pathway by network-based analysis in *Sogatella furcifera*. *BMC Genomics*, 20: 1–21.
- Gomez-Orte E, Belles X, 2009. MicroRNA-dependent metamorphosis in hemimetabolon insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(51): 21678–21682.
- Gregory RI, Chendrimada TP, Shiekhattar R, 2006. MicroRNA biogenesis: Isolation and characterization of the microprocessor complex. *Methods in Molecular Biology*, 342: 33–47.
- Guo W, Wu ZX, Song JS, Jiang F, Wang ZM, Deng S, Walker VK, Zhou ST, 2014. Juvenile hormone-receptor complex acts on *mcm4* and *mcm7* to promote polyploidy and vitellogenesis in the migratory locust. *PLoS Genetics*, 10(10): 1–14.
- He J, Chen QQ, Wei YY, Jiang F, Yang ML, Hao SG, Guo XJ, Chen DH, Kang L, 2016. MicroRNA-276 promotes egg-hatching synchrony by up-regulating *brm* in locusts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(3): 584–589.
- Jagadeeswaran G, Zheng Y, Sumathipala N, Jiang HB, Arrese EL, Soulages JL, Zhang WX, Sunkar R, 2010. Deep sequencing of small RNA libraries reveals dynamic regulation of conserved and novel microRNAs and microRNA-stars during silkworm development. *BMC Genomics*, 11(1): 1–18.
- Jaubert-Possamai S, Risse C, Tanguy S, Gordon K, Walsh T, Edwards O, Tagu D, 2010. Expansion of the miRNA pathway in the hemipteran insect *Acyrtosiphon pisum*. *Molecular Biology and Evolution*, 27(5): 979–987.
- Jindra M, Palli SR, Riddiford LM, 2013. The juvenile hormone signaling pathway in insect development. *Annual Review of Entomology*, 58: 181–204.
- Jin JZ, Li WJ, Mou BQ, Shen YM, Geng FN, Yue BS, Fan ZX, 2018. Whole genome sequencing and analysis of medicinal *Periplaneta Americana*. *Sichuan Journal of Zoology*, 37(2): 121–126. [晋家正, 李午佼, 牟必琴, 沈咏梅, 耿福能, 岳碧松, 范振鑫, 2018. 药用美洲大蠊全基因组测序分析. *四川动物*, 37(2): 121–126.]
- Kim IW, Lee JH, Subramaniam S, Yun EY, Kim I, Park J, Hwang JS, 2016. *De novo* transcriptome analysis and detection of antimicrobial peptides of the American cockroach *Periplaneta americana* (Linnaeus). *PLoS ONE*, 11(5): 1–16.
- Kloosterman WP, Plasterk RHA, 2006. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Developmental Cell*, 11(4): 441–450.
- Legeai F, Rizk G, Walsh T, Edwards O, Gordon K, Lavenier D, Leterme N, Mereau A, Nicolas J, Tagu D, Jaubert-Possamai S, 2010. Bioinformatic prediction, deep sequencing of microRNAs and expression analysis during phenotypic plasticity in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *BMC Genomics*, 11(1): 1–9.
- Le Trionnaire G, Hardie J, Jaubert-Possamai S, Simon JC, Tagu D, 2008. Shifting from clonal to sexual reproduction in aphids: Physiological and developmental aspects. *Biology of the Cell*, 100(8): 44P1–451.
- Le Trionnaire G, Wucher V, Tagu D, 2013. Genome expression control during the photoperiodic response of aphids. *Physiological Entomology*, 38(2): 117–125.
- Li FQ, 2018. Identification and functional analysis of microRNA targeting *SPT1* and *SPP* key sphingolipid-metabolizing enzymes in *Nilaparvata lugens*. Master dissertation. Zhejiang: Zhejiang University. [李飞强, 2018. 褐飞虱靶向鞘脂代谢酶 *SPT1* 和 *SPP* 的 microRNA 的鉴定及其生物学功能分析. 硕士毕业论文. 浙江: 浙江大学.]
- Li TC, Chen J, Fan XB, Chen WW, Zhang WQ, 2017. MicroRNA and dsRNA targeting *chitin synthase* reveal a great potential for pest management of the hemipteran insect *Nilaparvata lugens*. *Pest Management Science*, 73(7): 1529–1537.
- Li XR, Zhang FM, Coates B, Zhang YH, Zhou XG, Cheng DF, 2016. Comparative profiling of microRNAs in the winged and wingless English grain aphid, *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: Aphididae). *Scientific Reports*, 6: 1–12.
- Ling L, Ge X, Li ZQ, Zeng BS, Xu J, Aslam AFM, Song QS, Shang P, Huang YP, Tan AJ, 2014. MicroRNA Let-7 regulates molting and metamorphosis in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 53: 13–21.
- Lin XD, Xu YL, Yao Y, Wang B, Lavine MD, Lavine LC, 2016. JNK signaling mediates wing form polymorphism in brown planthoppers (*Nilaparvata lugens*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 73: 55–61.
- Liu SP, Lucas KJ, Roy S, Ha JS, Raikhel AS, 2014. Mosquito-specific microRNA-1174 targets serine hydroxymethyl transferase to control key functions in the gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(40): 14460–14465.
- Liu SN, Ren CH, Li S, 2019. Progress in research on hormonal and nutritional regulation in insect metamorphosis. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(4): 639–651. [刘苏宁, 任充华, 李胜, 2019. 昆虫变态发育的激素和营养调控研究进展与展望. 应

- 用昆虫学报, 56(4): 639–651.]
- Liu ZL, Ling L, Xu J, Zeng BS, Huang YP, Shang P, Tan AJ, 2018. MicroRNA-14 regulates larval development time in *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 93: 57–65.
- Lozano J, Montañez R, Belles X, 2015. MiR-2 family regulates insect metamorphosis by controlling the juvenile hormone signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(12): 3740–3745.
- Lucas K, Raikhel AS, 2013. Insect microRNAs: Biogenesis, expression profiling and biological functions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 43(1): 24–38.
- Mayhew PJ, 2007. Why are there so many insect species? Perspectives from fossils and phylogenies. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 82(3): 425–454.
- Nicholson DB, Ross AJ, Mayhew PJ, 2014. Fossil evidence for key innovations in the evolution of insect diversity. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 281(1793): 1–7.
- Nishino H, Yoritsune A, Mizunami M, 2010. Postembryonic development of sexually dimorphic glomeruli and related interneurons in the cockroach *Periplaneta americana*. *Neuroscience Letters*, 469(1): 60–64.
- Rainford JL, Hofreiter M, Nicholson DB, Mayhew PJ, 2014. Phylogenetic distribution of extant richness suggests metamorphosis is a key innovation driving diversification in insects. *PLoS ONE*, 9(10): 1–7.
- Riddiford LM, 2012. How does juvenile hormone control insect metamorphosis and reproduction? *General and Comparative Endocrinology*, 179(3): 477–484.
- Riddiford LM, Cherbas P, Truman JW, 2000. Ecdysone receptors and their biological actions. *Vitamins and Hormones*, 60: 1–73.
- Rubio M, Belles X, 2013. Subtle roles of microRNAs let-7, miR-100 and miR-125 on wing morphogenesis in hemimetabolite metamorphosis. *Journal of Insect Physiology*, 59(11): 1089–1094.
- Rubio M, de Horna A, Belles X, 2012. MicroRNAs in metamorphic and non-metamorphic transitions in hemimetabolite insect metamorphosis. *BMC Genomics*, 13: 1–10.
- Sempere LF, Dubrovsky EB, Dubrovskaya VA, Berger EM, Ambros V, 2002. The expression of the let-7 small regulatory RNA is controlled by ecdysone during metamorphosis in *Drosophila melanogaster*. *Developmental Biology*, 244(1): 170–179.
- Sempere LF, Sokol NS, Dubrovsky EB, Berger EM, Ambros V, 2003. Temporal regulation of microRNA expression in *Drosophila melanogaster* mediated by hormonal signals and Broad-Complex gene activity. *Developmental Biology*, 259(1): 9–18.
- Shang F, Niu JZ, Ding BY, Zhang W, Wei DD, Wei D, Jiang HB, Wang JJ, 2020. The miR-9b microRNA mediates dimorphism and development of wing in aphids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(15): 8404–8409.
- Shi L, Gou YB, Shen Y, 2019. Regulation of growth, development and secondary metabolism of medicinal plants by miRNA. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 35(4): 361–371. [史磊, 郭艳兵, 申远, 2019. miRNA 调控药用植物生长发育和次生代谢. 中国生物化学与分子生物学报, 35(4): 361–370.]
- Shi XX, 2018. The functions of sphingolipids and their metabolic enzymes in development and reproduction of the rice brown planthopper. *Nilaparvata lugens* (Stål). Doctoral dissertation. Zhejiang: Zhejiang University. [史肖肖, 2018. 鞘脂类及其代谢酶在褐飞虱发育与生殖中的功能. 博士学位论文. 浙江: 浙江大学.]
- Song JS, Guo W, Jiang F, Kang L, Zhou ST, 2013. *Argonaute 1* is indispensable for juvenile hormone mediated oogenesis in the migratory locust, *Locusta migratoria*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 43(9): 879–887.
- Song JS, Wu ZX, Wang ZM, Deng S, Zhou ST, 2014. *Krüppel-homolog 1* mediates juvenile hormone action to promote vitellogenesis and oocyte maturation in the migratory locust. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 52: 94–101.
- Song JS, Li WW, Zhao HH, Gao LL, Fan YN, Zhou ST, 2018a. MicroRNA let-7 and miR-278 regulate insect metamorphosis and oogenesis via targeting juvenile hormone early response gene *Krüppel-homolog 1*. *Development*, 145(24): 1–8.
- Song JS, Li WW, Zhao HH, Zhou ST, 2018b. Clustered miR-2, miR-13a, miR-13b and miR-71 coordinately target Notch gene to regulate oogenesis of the migratory locust *Locusta migratoria*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 106: 39–46.
- Tanaka ED, Piulachs MD, 2012. *Dicer-1* is a key enzyme in the regulation of oogenesis in panoistic ovaries. *Biology of the Cell*, 104(8): 452–461.
- Truman JW, Riddiford LM, 1999. The origins of insects metamorphosis. *Nature*, 401(6752): 447–452.
- Wang YL, Yang ML, Jiang F, Zhang JZ, Kang L, 2013. MicroRNA-dependent development revealed by RNA interference-mediated gene silencing of *LmDicer1* in the migratory locust. *Insect Science*, 20(1): 53–60.
- Wang YL, Jiang F, Wang HM, Song TQ, Wei YY, Yang ML, Zhang JZ, Kang L, 2015. Evidence for the expression of abundant microRNAs in the locust genome. *Scientific Reports*, 5: 1–14.
- Wang YL, Yang ML, Song TQ, Ma EB, Zhang JZ, 2016. Molecular characterization and biological function of *Argonaute1* in *Locusta migratoria*. *Scientia Agricultura Sinica*, 49(18): 3569–3577. [王艳丽, 杨美玲, 宋天琪, 马恩波, 张建珍, 2016. 飞蝗 *Argonaute1*

- 的分子特性及生物学功能. 中国农业科学, 49(18): 3569–3577.]
- Wang YL, Yang ML, Ma EB, Zhang JZ, 2017. Identification and analysis of the miRNAs targeting key genes involved in cuticle metabolism in *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Acta Entomologica Sinica*, 60(3): 309–317. [王艳丽, 杨美玲, 马恩波, 张建珍, 2017. 靶向调控飞蝗表皮代谢相关基因的 miRNA 的鉴定与分析. 昆虫学报, 60(3): 309–317.]
- Wang YL, Wu LX, Li HY, Wen XQ, Ma EB, Zhu KY, Zhang JZ, 2020. The microRNA miR-184 regulates the *CYP303A1* transcript level to control molting of *Locusta migratoria*. *Insect Science*, 28(4): 941–951.
- Wei YY, Chen S, Yang PC, Ma ZY, Kang L, 2009. Characterization and comparative profiling of the small RNA transcriptomes in two phases of locust. *Genome Biology*, 10(1): 1–18.
- Weng RF, Cohen SM, 2012. *Drosophila* miR-124 regulates neuroblast proliferation through its target anachronism. *Development*, 139(8): 1427–1434.
- Winter J, Jung S, Keller S, Gregory RI, Diederichs S, 2009. Many roads to maturity: MicroRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nature Cell Biology*, 11(3): 228–234.
- Wu ZX, Guo W, Xie YT, Zhou ST, 2016. Juvenile hormone activates the transcription of Cell-division-cycle 6 (*Cdc6*) for polyploidy-dependent insect vitellogenesis and oogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 291(10): 5418–5427.
- Xu HJ, Chen T, Ma XF, Xue J, Pan PL, Zhang XC, Cheng JA, Zhang CX, 2013. Genome-wide screening for components of small interfering RNA (siRNA) and micro-RNA (miRNA) pathways in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Insect Molecular Biology*, 22(6): 635–647.
- Xu HJ, Xue J, Lu B, Zhang XC, Zhuo JC, He SF, Ma XF, Jiang YQ, Fan HW, Xu JY, Ye YX, Pan PL, Li Q, Bao YY, Nijhout HF, Zhang CX, 2015. Two insulin receptors determine alternative wing morphs in planthoppers. *Nature*, 519 (7544): 464–467.
- Yamanaka N, Rewitz KE, O'Connor MB, 2013. Ecdysone control of developmental transitions: Lessons from *Drosophila* research. *Annual Review of Entomology*, 58: 497–516.
- Yang ML, Wei YY, Jiang F, Wang YL, Guo XJ, He J, Kang L, 2014. MicroRNA-133 inhibits behavioral aggregation by controlling dopamine synthesis in locusts. *PLoS Genetics*, 10(2): 1–14.
- Yang ML, Wang YL, Jiang F, Song TQ, Wang HM, Liu Q, Zhang J, Zhang JZ, Kang L, 2016. miR-71 and miR-263 jointly regulate target genes chitin synthase and chitinase to control locust molting. *PLoS Genetics*, 12(8): 1–19.
- Yang Q, Bao Z, Zhang XY, Yue BS, 2019. Differential expression of miRNA in *Periplaneta americana* at different developmental stages. Proceedings of the 8th Western China Zoology Symposium. Guiyang. 90. [杨巧, 宝钰, 张修月, 范振鑫, 岳碧松, 2019. 不同发育阶段的美洲大蠊(*Periplaneta americana*) miRNA 差异表达分析. 第八届中国西部动物学学术研讨会. 贵阳. 90.]
- Yang Q, Gong ZJ, Zhou Y, Yuan JQ, Cheng JA, Tian L, Li S, Lin XD, Xu RJ, Zhu ZR, Mao CG, 2010. Role of *Drosophila* alkaline ceramidase (*Dacer*) in *Drosophila* development and longevity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(9): 1477–1490.
- Yang ZL, 2020. Preliminary study on the regulatory mechanism of ecdysone on wing-development-related miRNA and their target genes in pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae). Master dissertation. Henan: Nanyang Normal University. [杨宗霖, 2020. 蜕皮激素对豌豆蚜翅型发育相关 miRNA 及其靶标基因的调控机制初探. 硕士毕业论文. 河南. 南阳师范学院.]
- Ye XH, Xu L, Li X, He K, Hua HX, Cao ZH, Xu JD, Ye WY, Zhang J, Yuan ZT, Li F, 2019. miR-34 modulates wing polyphenism in planthopper. *PLoS Genetics*, 15(6): e1008235.
- Zha WJ, Zhou L, Li SH, Liu K, Yang GC, Chen ZJ, Liu K, Xu HS, Li PD, Hussain S, You AQ, 2016. Characterization and comparative profiling of the small RNA transcriptomes in the Hemipteran insect *Nilaparvata lugens*. *Gene*, 595(1): 83–91.
- Zhao HH, 2018. Let-7a and miR-278 regulate vitellogenesis and oocyte maturation by targeting *Krüppel-homolog 1* in *Locusta migratoria*. Master dissertation. Hennan: Hennan University. [赵海虹, 2018. let-7a 和 miR-278 通过 *Krüppel-homolog 1* 调控飞蝗的卵黄生成与卵成熟. 硕士毕业论文. 河南: 河南大学.]
- Zhang XY, Lu K, Zhou Q, 2013. *Dicer1* is crucial for the oocyte maturation of telotrophic ovary in *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Geometroidea). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 84(4): 194–208.
- Zhou X, Ye YZ, Ogihara MH, Takeshima M, Fujinaga D, Liu CW, Zhu Z, Kataoka H, Bao YY, 2020. Functional analysis of ecdysteroid biosynthetic enzymes of the rice planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 123: 1–17.
- Zhou YU, Lin XW, Begum MA, Zhang CH, Shi XX, Jiao WJ, Zhang YR, Yuan JQ, Li HY, Yang Q, Mao CG, Zhu ZR, 2017. Identification and characterization of *Laodelphax striatellus* (Insecta: Hemiptera: Delphacidae) neutral sphingomyelinase. *Insect Molecular Biology*, 26(4): 392–402.
- Zhu QZ, 2016. Identification and functional analysis of microRNA related with enzymes of Sphingolipid metabolism in brown rice planthoppers. Master dissertation. Zhejiang: Zhejiang University. [朱晴子, 2016. 褐飞虱鞘脂代谢酶 microRNA 的鉴定及其功能研究. 硕士毕业论文. 浙江: 浙江大学.]
- Zhuo JC, Lei C, Shi JK, Xu N, Xue WH, Zhang MQ, Ren ZW, Zhang HH, Zhang CX, 2017. *Tra-2* mediates cross-talk between sex determination and wing polyphenism in female *Nilaparvata lugens*. *Genetics*, 207(3): 1067–1078.