蜜蜂专栏

蜜蜂非编码 RNA 研究进展*

朱玉洁** 刘 鹏 叶 良 李 来 施腾飞*** 余林生***

（安徽农业大学，合肥 230036）

摘 要 非编码 RNA（Non-coding RNA，ncRNA）是指不编码蛋白质的功能性 RNA 的统称，主要包括微小 RNA（MicroRNA，miRNA）、长链非编码 RNA（Long non-coding RNA，lncRNA）和环状 RNA（Circular RNA，circRNA）等，它们在各种生命活动中发挥着重要的调控作用。蜜蜂不仅是重要经济授粉昆虫，还是人类研究动物复杂社会行为的最佳模式生物。近年来，蜜蜂 ncRNA 亦是该领域研究热点，成果不断涌现，本文在介绍 ncRNA 的特征、分类及其主要作用机制的基础上，主要针对 ncRNA 在蜜蜂劳动分工、级型分化、繁殖性能和免疫防御等方面调控作用的最新研究进展进行综述，以期为深入探究 ncRNA 提供借鉴和参考。

关键词 蜜蜂；非编码 RNA；行为发育；级型分化；繁殖；免疫防御

Progress in research on non-coding RNAs in honey bees

ZHU Yu-Jie** LIU Peng YE Liang LI Lai SHI Teng-Fei*** YU Lin-Sheng***

(Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract Long, non-coding RNA (lncRNA), microRNA (miRNA) and circular RNA (circRNA) are classes of non-coding RNA (ncRNA) that play important roles in regulating various life activities in organisms. Honeybees are not only important economic pollinators, but also model organisms for studying complex social behavior in animals. Honeybee ncRNAs have been a popular research subject in recent years and there has been considerable progress in this field. This paper introduces the characteristics, classification and mode of action of the above three types of ncRNAs. We also summarize the latest research on the role of miRNA, lncRNA, and circRNA in regulating the division of labor, caste differentiation, reproductive performance and immune defense, in honeybees.

Key words honey bee; ncRNA; division of labor; caste determination; reproductive performance; immune defence

非编码 RNA（Non-coding RNA，ncRNA）是一类不编码蛋白的功能性 RNA 的统称，广泛存在于各种生物体中（Grozinger *et al.*，2007；Mello *et al.*，2014）。由于结构不同，ncRNA 可分为线性 ncRNA（Linear ncRNA）和环状 ncRNA（Circular RNA，circRNA）2 种，其中线性 ncRNA 又包括微小 RNA（MicroRNA，miRNA）和长链 ncRNA（Long non-coding RNA，lncRNA）。这些 ncRNA 由于不能编码蛋白质，曾一度被认为是基因转录过程中的垃圾而未受到重视（Hüttenhofer *et al.*，2005）。愈来愈多的研究证实 ncRNA 在生命活动中具有各种不同的重要生物学功能，ncRNA 也成为近年来生命科学研究领域又一个新的热点（Yamamura *et al.*，2018；Slack and Chinnaiyan，2019）。

蜜蜂是膜翅目中代表性昆虫之一，其作为重

*资助项目 Supported projects：现代农业蜂产业技术体系建设专项资金（CARS-45-KXJ10）；安徽省高等学校自然科学研究项目（KJ2020A0122）；安徽农业大学校自然科学青年基金项目（2020zd23）

**第一作者 First author，E-mail：a136896@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors，E-mail：stf0623@163.com；yulinsheng@ahau.edu.cn

收稿日期 Received：2021-06-08；接受日期 Accepted：2021-08-06

要的经济有益昆虫，不仅能够提供丰富多样蜂产品，还能够为作物和野生植物提供授粉服务。此外，蜜蜂作为真社会昆虫，亦是人类研究动物复杂社会行为的模式生物（Andrikopoulos and Cane，2018；Diao *et al.*，2018）。近年，探究蜜蜂 ncRNA 功能成为蜂学领域研究热点，成果不断涌现。本文中，笔者围绕近年来 ncRNA 在蜜蜂劳动分工、级型分化、繁殖性能和免疫防御等方面调控作用的研究进行综述，并展望了 ncRNA 在蜜蜂未来的研究方向，以期为进一步研究 ncRNA 提供借鉴和参考。

1　miRNA

miRNA 是一类长度约 20 nt 的内源性非编码 RNA 分子，主要通过与靶基因 mRNA 的 3′端非翻译区域不完全配对，抑制蛋白质的合成从而调控发挥作用（Bartel，2004；He and Hannon，2004）。miRNA 参与调控昆虫发育、代谢及其他生命特征相关的蛋白质水平，具有重要的基因表达调控作用（Schickel *et al.*，2008；Boyerinas *et al.*，2010）。研究表明，miRNA 在蜜蜂劳动分工、级型分化、繁殖性能和免疫防御等方面均发挥着重要的调控作用（Wing *et al.*，2003；Weaver *et al.*，2007；Chen *et al.*，2017；Liu *et al.*，2017）。

1.1　劳动分工调控

正常蜂群中工蜂的劳动分工行为具有明显的年龄依赖性。工蜂羽化后，日龄较小的工蜂主要在蜂巢内劳动，随着日龄的增长，逐渐过度到巢外采集的工作（Robinson，1992）。工蜂的这一行为具有可塑性，可以根据蜂群的需求灵活地加速或逆转其行为发育（Robinson，1987）。Behura 和 Whitfield（2010）研究表明 miRNA 在哺育蜂和采集蜂中的表达存在显著差异，尤其是 ame-miR-276 在年轻和年老哺育蜂中的表达量均极显著高于同龄的采集蜂，这表明 miRNA 可能在蜜蜂的劳动分工行为变化中发挥作用。Greenberg 等（2012）研究表明，ame-miR-2796 在哺育蜂和采集蜂脑部均高表达且存在显著差异，其可能调节与蜜蜂神经发育和劳动分工相关的磷脂酶 C 基因的表达（Wing *et al.*，2003；Tsuchimoto *et al.*，2004），该结果更是验证了 miRNA 对蜜蜂劳动分工行为的调控。通过对哺育蜂和采集蜂头部 miRNA 表达谱的检测，Liu 等（2012）发现有 9 个 miRNA 在这两者之间差异表达，其预测靶基因主要与与神经功能等相关。基于此，施腾飞等（2014）进一步检测了这 9 个 miRNA 在不同日龄工蜂中的表达变化，发现 ame-let-7、ame-miR-13b 和 ame-miR-279 的表达与工蜂年龄依赖性行为变化具有相关性和规律性。随后 Liu 等（2017）采用 RNAi、过表达、western blot、荧光素酶报告基因系统和行为学实验等验证了 ame-miRNA-279a 能够通过介导靶标基因 *MBLK-1* 表达影响蜜蜂糖反应能力，参与调控蜜蜂劳动分工行为转变。为消除日龄的影响，刘芳和施腾飞（2019）组建了同日龄蜂群，并检测了 ame-miR-31a 和 ame-miR-13b 在同日龄年轻和年老的哺育蜂和采集蜂的表达差异，发现 ame-miR-31a 总在哺育蜂中高表达，说明它们可能在工蜂行为转变过程中起着重要调控作用。

1.2　级型分化调控

正常蜂群中存在着三型蜂：雄蜂、工蜂和蜂王。雄蜂是由未受精卵发育而成；蜂王和工蜂的基因组相同，但行为和繁殖能力不同（Weaver，1955；Kucharski *et al.*，2008）。这种典型的发育可塑性现象被称为蜜蜂的级型分化，它是由幼蜂的饮食条件所决定，并通过营养途径转化为生理和表观遗传变化（West-Eberhard，1989）。Shi 等（2012）发现意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica*（简称意蜂）蜂王浆和中华蜜蜂 *Apis cerana cerana*（简称中蜂）蜂王浆的 miRNA 存在差异；两者饲喂而来的意蜂蜂王的转录组也存在差异，其中 23.3%受影响的基因是两种蜂王浆中差异 miRNA 的靶基因。该研究首次揭示了意蜂蜂王浆和中蜂蜂王浆的 miRNA 存在差异，并证明蜂王浆能够通过 miRNA 调控蜜蜂幼虫的基因表达。Guo 等（2013）检测到蜂粮中的 miRNA 表达量是蜂王浆的 7-215 倍，在蜂王浆中添加特定的 miRNA 后，蜂王幼虫中 mRNA 表达量和成年

蜂王的形态特征均发生了显著变化，因此推断哺育蜂分泌物中的 miRNA 是蜜蜂级型分化的调节中的一个额外因素。Zhu 等（2017）检测到植物 miRNA 在蜂粮中比在蜂王浆中富集，这些 miRNA 可延缓蜜蜂的发育，阻止幼虫分化为蜂王，其中 miR-162a 直接靶向调节级型分化的 amTOR 基因。这项研究确定了植物 miRNA 在蜜蜂级型分化中起着重要作用，为理解跨界相互作用和共同进化提供了线索。

研究表明 miRNA 的表达丰度在不同级型蜜蜂中差异显著，差异表达的 miRNA 可能参与调节蜜蜂的发育，在工蜂与蜂王的分化过程中发挥了重要作用（Weaver *et al.*，2007）。在 4 日龄蜂王和工蜂的幼虫中，Shi 等（2015）检测到 61 个与级型分化信号通路相关的差异表达 miRNA；Guo 等（2016）在 4-6 日龄工蜂幼虫中检测到调控级型分化相关靶基因的 miRNA 的表达水平比蜂王高 1.3-4.7 倍，这表明 miRNA 可能与工蜂和蜂王幼虫的发育差异有关。Ashby 等（2016）发现在蜜蜂不同级型幼虫发育的关键阶段之间差异表达的 miRNA，可以缓冲由不同摄食（环境）或单倍体基因组引起的级型分化所必须的靶基因表达波动，并可能参与调节神经元分化、细胞信号传导和形成级型分化的过程。Collins 等（2017）检测到 Bte-miR-6001-5p 和 Bte-miR-6001-3p 在欧洲熊蜂 *Bombus terrestris*（简称熊蜂）蜂王幼虫体内的表达高于工蜂幼虫，该研究表明这两个 miRNA 可能诱导幼蜂向蜂王发育。Liu 等（2019b）发现熊蜂头部表达水平最高的 8 个 miRNA 在 3 种级型中是相同的，其中 ame-miR-9a 和 ame-let-7 在雄蜂中的表达高于雌蜂，这提示 ame-miR-9a 和 ame-let-7 可能在雄蜂的发育中起着更重要的作用。

1.3 繁殖调控

Wu 等（2014）首次发现，婚飞后的意蜂蜂王与未婚飞的意蜂处女王中有 11 个差异 miRNA 靶向 9 个差异表达基因，提示 miRNA 可能在调节蜂王求偶飞行过程中的生理变化中发挥作用。Chen 等（2017）在蜂王卵巢产卵过程的各个阶段均检测到差异表达的 miRNA，这些 miRNA 参与调控与产卵密切相关的通路，由此推测它们可能在蜂王的产卵过程中起着关键作用。

Macedo 等（2016）发现在生殖和非生殖状态下的蜂王与工蜂卵巢中差异表达的 13 个 miRNA 参与调控卵巢生理变化和卵子产生，可用于区别卵巢是否具备产卵能力。Chen 和 Shi（2020）在工蜂与处女王和产卵蜂王差异表达的 miRNA 中发现，ame-miR-3747b、ame-miR-375 和 ame-miR-9891 靶向参与调节生殖过程的蜕皮素诱导蛋白 74 基因（Pandey and Bloch，2015），由此推测 miRNA 通过调节其他通路在蜜蜂卵巢表型中发挥潜在作用。

1.4 免疫防御调控

miRNA 在蜜蜂免疫系统方面的研究也取得了很多成果。Lourenço 等（2013）在被 *Serratia marcescens* 感染的工蜂中检测到 12 个 miRNA 差异表达，且这些 miRNA 在其他昆虫中被证明参与免疫调控过程（Winter *et al.*，2007）。Niu 等（2017）发现熊蜂在受 Slow bee paralysis 病毒和 Israeli acute paralysis 病毒分别感染后多个 miRNA 差异表达，这些差异表达的 miRNA 可能靶向病毒基因组 RNA 和参与熊蜂免疫调控网络，该结果可能表明 miRNA 参与了熊蜂-病毒相互作用。杜宇等（2019）在蜜蜂球囊菌（*Ascosphaera apis*，简称球囊菌）胁迫的 6 日龄中蜂幼虫肠道内检测到差异表达的 miRNA，其中 miR-6052-x 和 miR-1277-x 作为调控网络的核心可能通过影响细胞凋亡参与宿主的免疫防御，miR-26-x 和 miR-30-x 可能通过调控 Jak-STAT 信号通路参与宿主的胁迫应答。

蜜蜂微孢子虫病在我国是一种严重的成蜂疾病，大量研究为解读蜜蜂 miRNA 在应对东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 感染时的免疫调控作用做出贡献。Huang 等（2015）检测到被 *N. ceranae* 感染后的工蜂中有 17 个差异表达的 miRNA 参与调节蜜蜂代谢相关基因以应对 *N. ceranae* 感染。Evans 和 Huang（2018）检测到 *N. ceranae* 的 miRNA 可靶向结合意蜂体内 918

个 mRNAs，促进蜜蜂的代谢和免疫应答，这表明 *N. ceranae* 的 miRNA 可以调控蜜蜂的基因表达。Chen 等（2019b）对比 *N. ceranae* 胁迫 7 d 和 10 d 后的中蜂中肠，发现差异表达的 miRNA 在调控物质和能量代谢、细胞免疫和体液免疫系统中的靶 mRNA 具有潜在功能，差异表达 miRNA 可能在宿主应激反应中发挥重要作用，包括通过负向调控靶 mRNA 的免疫应答。该研究结果有助于进一步探索 miRNA 在宿主对 *N. ceranae* 感染反应中所起的调控作用，并为进一步研究中蜂-*N. ceranae* 相互作用的分子机制提供了可能。基于此，陈华枝等（2020）对比正常及 *N. ceranae* 胁迫 7 d 和 10 d 后的意蜂工蜂中肠发现差异表达的 miRNA 可能通过调控物质和能量代谢、细胞和体液免疫对 *N. ceranae* 产生应答，但不参与抗菌肽基因的表达调控；其中 miR-1-z 可能参与宿主的细胞增殖、细胞凋亡和免疫进程。

1.5　参与蜜蜂其他方面调控

miRNA 还对蜜蜂发育、学习以及农药侵害等方面有重要的调控作用。Hori 等（2011）检测到 ame-miR-276 和 ame-miR-1000 在蜜蜂的视叶细胞中富集，并预测靶点编码神经功能相关基因，表明 miRNA 参与蜜蜂神经功能的调控。Li 等（2012）发现 ame-miR-278 和 ame-miR-282 在舞蹈蜂中低表达，它们的靶基因与酶活和神经功能相关，提示 miRNA 可能调控蜜蜂舞蹈行为。Zondag 等（2012）检测到在早期蜜蜂胚胎中表达的 miRNA 在前后轴、背腹轴和胚胎外膜的模式形成中起作用，这可能表明 miRNA 在调节发育途径中发挥了作用。Freitas 等（2017）发现 miR-34-Sp 可直接作用于配对规则和细胞骨架基因，从而影响蜜蜂胚胎早期发育和体节分化。Qin 等（2014）检测到迷宫视觉学习后意蜂的 miRNA 表达均高于对照组，该结果表明 miRNA 可能在蜜蜂的学习和记忆过程中发挥着关键作用。随后，Cristino 等（2014）证实 miR-932 靶向 actin 调控蜜蜂的记忆能力，影响记忆在大脑中的形成，这为 miRNA 调控蜜蜂记忆提供了证据。Shi 等（2017）检测到意蜂的 7 个 miRNA 在受新烟碱类杀虫剂噻虫嗪胁迫后差异表达，这些 miRNA 的候选靶基因主要与行为、免疫和神经功能有关；Huang 等（2021）检测到在新烟碱类杀虫剂呋虫胺处理意蜂后，差异表达的 miRNA 的候选靶基因参与了蜜蜂生物学过程、细胞过程和行为的调控等，这些研究表明杀虫剂能够通过影响 miRNA 表达对蜜蜂健康产生危害。

2　lncRNA

lncRNA 是一类长度大于 200 nt 的 ncRNA，通常没有长阅读框，加工过程类似于蛋白质编码基因，通过 RNA 聚合酶 I 转录，并发生剪接。它具有 5′帽子结构和 3′PloyA 尾巴，最后形成的基因结构类似于 mRNA，主要通过转录调控和转录后调控基因的表达，也可以通过影响蛋白质定位和端粒复制发挥其强大的生物学功能（Guttman *et al.*，2009；Pian *et al.*，2016）。因其表达具有组织特异性和时序性，在细胞分化、发育和免疫等方面发挥着重要作用，逐渐成为整个生命科学研究领域的新热点（Okazaki *et al.*，2002）。目前，有关蜜蜂 lncRNA 的研究涉及到蜜蜂劳动分工、级型分化、繁殖、免疫防御和中肠的新陈代谢等生理过程中的调控。

2.1　劳动分工调控

Liu 等（2019a）比较了哺育蜂和采集蜂的 lncRNA 表达谱，发现 TCONS_00356023、TCONS_00357367 和 TCONS_00159909 可能在哺育蜂和采集蜂行为转变过程中起重要作用，为进一步研究 lncRNA 在蜜蜂行为转变过程中的作用提供了基础。Chen 等（2020c）检测到哺育蜂和采集蜂之间差异表达的 lncRNA 参与重要的信号传导和调控过程，推测 lncRNA 在哺育蜂向采集蜂转变时，参与社会信号触发的表观遗传协调作用。

2.2　级型分化调控

lncRNA 在发育和调控中发挥了重要的作用（Kornienko *et al.*，2013）。Guo 等（2015）发现

lncRNA 在蜜蜂幼虫的级型分化过程中表达显著差异，且表达差异的 lncRNA 的数量随时间的推移而增加，因此认为，lncRNA 也参与了蜜蜂的级型分化过程。进一步的分析显示，lncRNA 可能通过影响上下游基因的转录和功能执行的方式，在蜜蜂早期发育的多细胞组织发育、神经系统发育和转录调控的过程中起到重要的调控作用。

2.3 繁殖调控

根据 lncRNA 优先在动物卵巢组织表达的研究（Necsulea *et al.*，2014），Humann 和 Hartfelder（2011）注意到蜜蜂体内的 2 个 lncRNA：lnccov1 仅存在于工蜂体内，在工蜂的胚胎发育的过程中，它参与调控了卵巢管细胞的自噬死亡过程；lnccov2 在蜂王卵巢中过度表达，具有调节蜂王卵巢大小的作用。这一结果提示，这 2 个 lncRNA 可能直接参与了雌蜂卵巢表型形成的发育过程。Chen 等（2017）在蜂王产卵过程中发现调控卵巢大小性状的基因在基因组中的位置区域有 14 个差异表达的 lncRNA，它们被认为是影响卵巢大小和产卵的候选基因。该研究结果表明，lncRNA 可能在蜂群的产卵过程中激活和调控产卵的候选基因，为进一步研究蜜蜂产卵的遗传标记提供参考。

2.4 免疫防御调控

近年来，lncRNA 在蜜蜂疾病中的作用越来越受到人们的重视。Jayakodi 等（2015）发现 11 个 lincRNAs 在蜜蜂病毒感染中特异调节，其中 10 个似乎在不同的病毒感染中起作用，这一结果开启了 lincRNA 与蜜蜂疾病和激素信号通路相关的大门。Chen 等（2019a）检测到接种 *N. ceranae* 的意蜂中肠内差异表达的 lncRNA 和其靶 miRNA 形成了复杂的竞争性内源 RNA 网络，部分差异表达的 lncRNA 可能参与调控蜜蜂物质和能量代谢，以及蜜蜂细胞和体液免疫应对 *N. ceranae* 入侵过程，该研究为进一步了解蜜蜂微孢子虫病的宿主-病原体相互作用提供了新的视角。

2.5 参与蜜蜂其他方面调控

郭睿等（2018）对 7 日和 10 日龄意蜂中肠进行深度测序，发现差异表达的 lncRNA 广泛参与工蜂中肠的新陈代谢、细胞活动和免疫调控并作为竞争性内源 RNA 发挥作用，其中 TCONS_00020918 可通过调控西方蜜蜂王浆主蛋白 1 编码基因在意蜂工蜂中肠的营养吸收、级型分化中发挥功能，研究结果为关键 lncRNA 的筛选和功能研究提供了必要的数据支持。

3 circRNA

circRNA 是来源基因 3′端和 5′端共价闭合形成的一类非编码 RNA（Meng *et al.*，2017）。与 lncRNA 相比，circRNA 更耐 RNase R 酶消化，优良的稳定性使其具备了作为内源生物标志物的条件（Perkel，2013）。circRNA 可以通过与蛋白质、RNA 聚合酶和基因启动子的相互作用来调节基因的转录和可变剪切等生命活动（Zhang *et al.*，2013；Li *et al.*，2015；Kristensen *et al.*，2019），并具有组织表达的特异性和时序性等特点，能够吸附 miRNA，对基因具有表达调控作用（Memczak *et al.*，2013；Li *et al.*，2017）。虽然蜜蜂的 circRNA 研究起步较晚，但也取得了一定的成果。

3.1 劳动分工调控

哺育蜂向采集蜂转变的分子机制正在进行深入的研究，Thölken 等（2019）在意大利蜜蜂哺育蜂和采集蜂的大脑中检测到，circAmrsmep2 随着年龄的增长而在工蜂的大脑中累积；相反，circAmrad 与年龄无关而与所执行的任务有关，其亲代基因与抗失忆记忆有关。这一发现首次表明 circRNA 和蜜蜂的社会作用之间的关系，并推测 circRNA 与蜜蜂的任务分配相关。

3.2 繁殖调控

Chen 等（2019c）发现在蜂王产卵过程各阶段中，ame_circ_0005197 和 ame_circ_0016640 可以通过调控若干繁殖相关的 miRNA 来影响蜜蜂的产卵过程，这表明 circRNA 与蜜蜂卵巢内繁

殖相关 miRNA 相互作用，推断 circRNA 在蜜蜂卵巢发育过程中具有潜在作用。随后，Chen 和 Shi(2020)还发现 ame_circ_0001176 和 ame_circ_0001243 在工蜂与处女王和产卵蜂王的功能类神经调节中存在显著差异表达，并与蜜蜂繁殖相关的 miRNA 相互作用。由此推断，差异表达的 circRNA 可能通过竞争性内源 RNA 网络与 miRNA 相互作用，并通过蜜蜂的神经调节对卵巢状态产生影响。

3.3　免疫防御调控

蜜蜂球囊菌是一种真菌病原体，广泛存在于蜜蜂幼虫体内，其引起的白垩病在蜂业生产中造成了严重的损失（Spiltoir，1955；Spiltoir and Olive，1955）。Chen 等（2017）在球囊菌侵染的意蜂幼虫肠道中发现 novel_circ_017486 的源基因与抗原表达相关；novel_circ_009836 编码的一个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶（ncbi_107998746）的源基因与 MAPK 信号通路相关，这表明 circRNA 在蜜蜂的免疫防御过程中发挥作用，该研究为进一步探究意蜂中 circRNA 在球囊菌侵染后参与调控肠道免疫防御过程的分子机制提供了有价值的信息。陈华枝等（2020）发现中蜂 6 日龄幼虫响应球囊菌胁迫的过程中可能通过改变分布在不同长度和环化类型的 circRNA 数量，以及特异性表达一些 circRNA 和调节部分 circRNA 的表达量对病原产生应答；novel_circ_000027、novel_circ_000127、novel_circ_000312 等差异表达的 circRNA 可能通过调控氧化磷酸化、细胞和体液免疫而发挥免疫作用。Chen 等（2020b）在接种 *N. ceranae* 的意蜂工蜂中肠内检测到部分差异表达的 circRNA 可能参与调控蜜蜂物质和能量代谢，以及蜜蜂细胞和体液免疫应对 *N. ceranae* 入侵过程，该结果为探究 circRNA 在意蜂应对 *N. ceranae* 入侵的免疫应答分子机制发挥的调控作用提供了基础。

3.4　参与蜜蜂其他方面调控

蜜蜂中肠主要起着消化食物、吸收养分和抵御病原体等作用（Kumar *et al.*，2010），在 7 和 10 日龄意蜂工蜂中肠内，Xiong 等（2018）检测到 circRNA 的来源基因可注释到包括结合、细胞进程和细胞在内的 45 个 Gene ontology 数据库条目，其中 miR-136-y、ame-miR-6001-3p 及 miR-136-y 结合的 circRNA 最多，表明相应的差异表达 circRNA 可作为竞争性内源 RNA 在意蜂中肠发育过程发挥作用；基于此，郭睿等（2018）发现有 14 个差异表达 circRNA 可共同靶向结合 ame-miR-6001-3p，表明它们可能通过调控 ame-miR-6001-3p 对意蜂中肠干细胞的分裂和分化进行间接调控；随后，Chen 等（2020a）在 8 日龄和 11 日龄中蜂工蜂的中肠中发现，8 个差异表达的 circRNA 可能通过竞争性靶向 miR-6001-y 来调控发育相关基因的表达，从而影响中肠的发育，并可作为进一步研究中肠发育分子机制的潜在候选基因。这些研究揭示了差异表达的 circRNA 在中肠发育过程中的作用，为中肠发育相关的关键 circ RNA 的筛选和功能研究打下了基础。

4　小结与展望

近年来，有关 ncRNA 的研究逐渐兴起，其作用机制和生物学功能的研究也日趋深入，成为表观遗传学领域的研究热点。本文主要对 ncRNA 中 miRNA、lncRNA 和 circRNA 在蜜蜂生命活动中的作用研究进行了综述。其中，miRNA 的研究最多，而 lncRNA 和 circRNA 的研究才刚刚起步，这些 ncRNA 在蜜蜂劳动分工、级型分化、繁殖性能和免疫防御等方面都有着重要调控作用，它们的发现对于构建基因转录后的调控机制具有里程碑式的意义。但目前的研究只是筛选出一些可能对蜜蜂具有调控作用的 ncRNA，具体是哪些 ncRNA 在起作用以及具体的作用机制还是未知的，进一步挖掘蜜蜂体内 ncRNA 的调控机制，或会成为蜜蜂科学未来研究的一个重要突破口；与此同时，建立蜜蜂 ncRNA 的功能库也是该领域迫切需要解决的问题。

参考文献 (References)

Andrikopoulos CJ, Cane JH, 2018. Comparative pollination efficacies of five bee species on raspberry. *Journal of Economic*

Entomology, 111(6): 2513–2519.

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

Bartel DP, 2004. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2): 281–297.

Behura SK, Whitfield CW, 2010. Correlated expression patterns of microRNA genes with age-dependent behavioural changes in honeybee. *Insect Molecular Biology*, 19(4): 431–439.

Boyerinas B, Park SM, Hau A, Murmann AE, Peter ME, 2010. The role of let-7 in cell differentiation and cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 17(1): F19–F36.

Chen D, Chen H, Du Y, Zhou D, Geng S, Wang H, Wan J, Xiong C, Zheng Y, Guo R, 2019a. Genome-wide identification of long non-coding RNAs and their regulatory networks involved in *Apis mellifera ligustica* response to *Nosema ceranae* infection. *Insects*, 10(8): 245.

Chen D, Chen H, Du Y, Zhu Z, Wang J, Geng S, Xiong C, Zheng Y, Hou C, Diao Q, Guo R, 2020a. Systematic identification of circular RNAs and corresponding regulatory networks unveil their potential roles in the midguts of eastern honeybee workers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(1): 257–276.

Chen D, Du Y, Chen H, Fan Y, Fan X, Zhu Z, Wang J, Xiong C, Zheng Y, Hou C, Diao Q, Guo R, 2019b. Comparative identification of microRNAs in *Apis cerana cerana* workers' midguts in response to *Nosema ceranae* invasion. *Insects*, 10(9): 258.

Chen D, Guo R, Xu X, Xiong C, Liang Q, Zheng Y, Luo Q, Zhang Z, Huang Z, Kumar D, Xi W, Zou X, Liu M, 2017. Uncovering the immune responses of *Apis mellifera ligustica* larval gut to *Ascosphaera apis* infection utilizing transcriptome sequencing. *Gene*, 621: 40–50.

Chen H, Du Y, Zhu Z, Wang J, 2020b. Deciphering the mechanism underlying circRNA-mediated immune responses of western honeybees to *Nosema ceranae* infection. *BioRxiv*, doi: 10. 1101/2020. 10. 25. 353938.

Chen HZ, Fu ZM, Wang J, Zhu ZW, Fan XX, Jiang HB, Fan YC, Zhou DD, Li WD, Xiong CL, Zheng YZ, Xu GJ, Chen DF, Guo R, 2020. Circular RNA response of *Apis cerana cerana* 6-day-old larvae to *Ascosphaera apis* stress. *Acta Microbiologica Sinica*, 60(10): 2292–2310. [陈华枝, 付中民, 王杰, 祝智威, 范小雪, 蒋海宾, 范元婵, 周丁丁, 熊翠玲, 郑燕珍, 徐国钧, 陈大福, 郭睿, 2020. 中华蜜蜂 6 日龄幼虫响应蜜蜂球囊菌胁迫的环状 RNA 应答. 微生物学报, 60(10): 2292–2310.]

Chen X, Ma C, Chen C, Lu Q, Shi W, Liu Z, Wang H, Guo H, 2017. Integration of lncRNA-miRNA-mRNA reveals novel insights into oviposition regulation in honey bees. *PeerJ*., doi: 10. 7717/peerj. 3881.

Chen X, Shi W, 2020. Genome-wide characterization of coding and non-coding RNAs in the ovary of honeybee workers and queens. *Apidologie*, 51(5): 777–792.

Chen X, Shi W, Chen C, 2019c. Differential circular RNAs expression in ovary during oviposition in honey bees. *Genomics*, 111(4): 598–606.

Chen YJ, Li YJ, Wu S, Yang WC, Miao J, Gu SH, Li JH, Miao XQ, Li X, 2020c. Transcriptional identification of differentially expressed genes associated with division of labour in *Apis cerana cerana*. *Insect Science*, 28(2): 457–471.

Collins DH, Mohorianu I, Beckers M, Moulton V, Dalmay T, Bourke AF, 2017. MicroRNAs associated with caste determination and differentiation in a primitively eusocial insect. *Scientific Reports*, 7(1): 1–9.

Cristino AS, Barchuk AR, Freitas FC, Narayanan RK, Biergans SD, Zhao Z, Simoes ZL, Reinhard J, Claudianos C, 2014. Neuroligin-associated microRNA-932 targets actin and regulates memory in the honeybee. *Nature Communications*, 5(1): 1–11.

Diao Q, Sun L, Zheng H, Zeng Z, Wang S, Xu S, Zheng H, Chen Y, Shi Y, Wang Y, Meng F, Sang Q, Cao L, Liu F, Zhu Y, Li W, Li Z, Dai C, Yang M, Chen S, Chen R, Zhang S, Evans JD, Huang Q, Liu J, Hu F, Su S, Wu J, 2018. Genomic and transcriptomic analysis of the Asian honeybee *Apis cerana* provides novel insights into honeybee biology. *Scientific Reports*, 8(1): 1–14.

Du Y, Tong XY, Zhou DD, Chen DF, Xiong CL, Zheng YZ, Xu GJ, Wang HP, Chen HZ, Guo YL, 2019. MicroRNA responses in the larval gut of *Apis cerana cerana* to *Ascosphaera apis* stress. *Acta Microbiologica Sinica*, 59(9): 1747–1764. [杜宇, 童新宇, 周丁丁, 陈大福, 熊翠玲, 郑燕珍, 徐国钧, 王海朋, 陈华枝, 郭意龙, 2019. 中华蜜蜂幼虫肠道响应球囊菌胁迫的 microRNA 应答分析. 微生物学报, 59(9): 1747–1764.]

Evans JD, Huang Q, 2018. Interactions among host-parasite microRNAs during *Nosema ceranae* proliferation in *Apis mellifera*. *Frontiers in Microbiology*, doi: 10. 3389/fmicb. 2018. 00698.

Freitas FC, Pires CV, Claudianos C, Cristino AS, Simões ZL, 2017. MicroRNA-34 directly targets pair-rule genes and cytoskeleton component in the honey bee. *Scientific Reports*, 7(1): 1–10.

Greenberg JK, Xia J, Zhou X, Thatcher SR, Gu X, Ament SA, Newman TC, Green PJ, Zhang W, Robinson GE, Ben-Shahar Y, 2012. Behavioral plasticity in honey bees is associated with differences in brain microRNA transcriptome. *Genes, Brain and Behavior*, 11(6): 660–670.

Grozinger CM, Fan Y, Hoover SE, Winston ML, 2007. Genome-wide analysis reveals differences in brain gene expression patterns associated with caste and reproductive status in honey bees *(Apis mellifera*). *Molecular Ecology*, 16(22): 4837–4848.

Guo R, Geng SH, Xiong CL, Zheng YZ, Fu ZM, Wang HP, Du Y, Tong XY, Zhao HX, Chen DF, 2018. Differential expression analysis of long non-coding RNAs during the developmental process of *Apis mellifera ligustica* worker's midgut. *Scientia Agricultura Sinica*, 51(18): 3600–3613. [郭睿, 耿四海, 熊翠玲, 郑燕珍, 付中民, 王海朋, 杜宇, 童新宇, 赵红霞, 陈大福, 2018. 意大利蜜蜂工蜂中肠发育过程中长链非编码 RNA 的差异表达分析. 中国农业科学, 51(18): 3600–3613.]

Guo R, Chen HZ, Xiong CL, Zheng YZ, Fu ZM, Xu GJ, Du Y, Wang HP, Geng SH, Zhou DD, 2018. Analysis of differentially expressed circular rnas and their regulation networks during the developmental process of *Apis mellifera ligustica* worker's midgut. *Scientia Agricultura Sinica*, 51(23): 4575–4590. [郭睿, 陈华枝, 熊翠玲, 郑燕珍, 付中民, 徐国钧, 杜宇, 王海朋, 耿四海, 周丁丁, 2018. 意大利蜜蜂工蜂中肠发育过程中的差异表达环状 RNA 及其调控网络分析. 中国农业科学, 51(23): 4575–4590.]

Guo X, Su S, Geir S, Li W, Li Z, Zhang S, Chen S, Chen R, 2016. Differential expression of miRNAs related to caste differentiation in the honey bee, *Apis mellifera. Apidologie*, 47(4): 495–508.

Guo X, Su S, Skogerboe G, Dai S, Li W, Li Z, Liu F, Ni R, Guo Y, Chen S, Zhang S, Chen R, 2013. Recipe for a busy bee: MicroRNAs in honey bee caste determination. *PLoS ONE*, 8(12): e81661.

Guo Y, Su SK, Chen SL, Zhang SW, Chen RS, 2015. The function of lncRNAs in the caste determination of the honeybee. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 42(8): 750–757.

Guttman M, Amit I, Garber M, French C, Lin MF, Feldser D, Huarte M, Zuk O, Carey BW, Cassady JP, Cabili MN, Jaenish R, Mikkelsen TS, Jacks T, Hacohen N, Bernstein BE, Kellis M, Regev A, Rinn JL, Lander ES, 2009. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature*, 458(7235): 223–227.

He L, Hannon GJ, 2004. MicroRNAs: Small RNAs with a big role in gene regulation. *Nature Reviews Genetics*, 5(7): 522–531.

Hori S, Kaneko K, Saito TH, Takeuchi H, Kubo T, 2011. Expression of two microRNAs, ame-mir-276 and-1000, in the adult honeybee (*Apis mellifera*) brain. *Apidologie*, 42(1): 89–102.

Huang M, Dong J, Guo H, Wang D, 2021. Effects of dinotefuran on brain miRNA expression profiles in young adult honey bees (Hymenopptera: Apidae). *Journal of Insect Science*, 21(1): 3.

Huang Q, Chen Y, Wang RW, Schwarz RS, Evans JD, 2015. Honey bee microRNAs respond to infection by the microsporidian parasite *Nosema ceranae*. *Scientific Reports*, 5(1): 1–6.

Humann FC, Hartfelder K, 2011. Representational difference analysis (RDA) reveals differential expression of conserved as well as novel genes during caste-specific development of the honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41(8): 602–612.

Hüttenhofer A, Schattner P, Polacek N, 2005. Non-coding RNAs: Hope or hype? *Trends in Genetics*, 21(5): 289–297.

Jayakodi M, Jung JW, Park D, Ahn YJ, Lee SC, Shin SY, Shin C, Yang TJ, Kwon HW, 2015. Genome-wide characterization of long intergenic non-coding RNAs (lincRNAs) provides new insight into viral diseases in honey bees *Apis cerana* and *Apis mellifera. BMC Genomics*, 16(1): 1–12.

Kornienko AE, Guenzl PM, Barlow DP, Pauler FM, 2013. Gene regulation by the act of long non-coding RNA transcription. *BMC Biology*, 11(1): 1–14.

Kristensen LS, Andersen MS, Stagsted LVW, Ebbesen KK, Hansen TB, Kjems J, 2019. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. *Nature Reviews Genetics*, 20(11): 675–691.

Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R, 2008. Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science*, 319(5871): 1827–1830.

Kumar S, Molina-Cruz A, Gupta L, Rodrigues J, Barillas-Mury C, 2010. A peroxidase/dual oxidase system modulates midgut epithelial immunity in *Anopheles gambiae. Science*, 319(5871): 1827–1830.

Li L, Liu F, Li W, Li Z, Pan J, Yan L, Zhang S, Huang ZY, Su S, 2012. Differences in microRNAs and their expressions between foraging and dancing honey bees, *Apis mellifera* L. *Journal of Insect Physiology*, 58(11): 1438–1443.

Li X, Peng B, Zhu X, Wang P, Xiong Y, Liu H, Sun K, Wang H, Ou L, Wu Z, Liu X, He H, Mo S, Peng X, Tian Y, Zhang R, Yang L, 2017. Changes in related circular RNAs following ERβ knockdown and the relationship to rBMSC osteogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 493(1): 100–107.

Li Z, Huang C, Bao C, Chen L, Lin M, Wang X, Zhong G, Yu B, Hu W, Dai L, Zhu P, Chang Z, Wu Q, Zhao Y, Jia Y, Xu P, Liu H, Shan G, 2015. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nature Structural & Molecular Biology*, 22(3): 256–264.

Liu F, Shi TF, 2019. Expression difference of microRNAs ame-miR-31a and ame-miR-13b in brains of nurses and foragers of *Apis mellifera ligustica* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomologica Sinica*, 62(8): 1003–1008. [刘芳, 施腾飞, 2019. 微小 RNA ame-miR-31a 和 ame-miR-13b 在意大利蜜蜂哺育蜂和采集蜂脑部的表达差异. 昆虫学报, 62(8): 1003–1008.]

Liu F, Peng W, Li Z, Li W, Li L, Pan J, Zhang S, Miao Y, Chen S, Su S, 2012. Next-generation small RNA sequencing for microRNAs profiling in *Apis mellifera*: Comparison between nurses and foragers. *Insect Molecular Biology*, 21(3): 297–303.

Liu F, Shi T, Qi L, Su X, Wang D, Dong J, Huang ZY, 2019a. LncRNA profile of Apis mellifera and its possible role in behavioural transition from nurses to foragers. *BMC Genomics*, 20(1): 1–11.

Liu F, Shi T, Yin W, Su X, Qi L, Huang ZY, Zhang S, Yu L, 2017. The microRNA ame-miR-279a regulates sucrose responsiveness of forager honey bees (*Apis mellifera*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, doi: 10. 1016/j. ibmb. 2017. 09. 008.

Liu M, Huang J, Zhang G, Liu X, An J, 2019b. Analysis of miRNAs in the heads of different castes of the bumblebee *Bombus lantschouensis* (Hymenoptera: Apidae). *Insects*, 10(10): 349.

Lourenço AP, Guidugli-Lazzarini KR, Freitas FC, Bitondi MM, Simões ZL, 2013. Bacterial infection activates the immune system response and dysregulates microRNA expression in honey bees. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 43(5): 474–482.

Macedo LM, Nunes FM, Freitas FC, Pires CV, Tanaka ED, Martins JR, Piulachs MD, Cristino AS, Pinheiro DG, Simões ZL, 2016. MicroRNA signatures characterizing caste-independent ovarian activity in queen and worker honeybees (*Apis mellifera* L.). *Insect Molecular Biology*, 25(3): 216–226.

Mello TR, Aleixo AC, Pinheiro DG, Nunes FM, Bitondi MM, Hartfelder K, Barchuk AR, Simões ZL, 2014. Developmental regulation of ecdysone receptor (EcR) and EcR-controlled gene expression during pharate-adult development of honeybees (*Apis mellifera*). *Frontiers in Genetics*, 5: 445.

Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, Torti F, Krueger J, Rybak A, Maier L, Mackowiak SD, Gregersen LH, Munschauer M, Loewer A, Ziebold U, Landthaler M, Kocks C, Noble FL, Rajewsky N, 2013. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 495(7441): 333–338.

Meng S, Zhou H, Feng Z, Xu Z, Tang Y, Li P, Wu M, 2017. CircRNA: Functions and properties of a novel potential biomarker for cancer. *Molecular Cancer*, 16(1): 1–8.

Necsulea A, Soumillon M, Warnefors M, Liechti A, Daish T, Zeller U, Baker JC, Grützner F, Kaessmann H, 2014. The evolution of lncRNA repertoires and expression patterns in tetrapods. *Nature*, 505(7485): 635–640.

Niu J, Meeus I, De Coninck DI, Deforce D, Etebari K, Asgari S, Smagghe G, 2017. Infections of virulent and avirulent viruses differentially influenced the expression of dicer-1, ago-1, and microRNAs in *Bombus terrestris*. *Scientific Reports*, 7(1): 1–11.

Okazaki Y, Furuno M, Kasukawa T, Adachi J, Bono H, Kondo S, Nikaido I, Osato N, Saito R, Suzuki H, Yamanaka I, Kiyosawa H, Yagi K, Tomaru Y, Hasegawa Y, Nogami A, Schönbach C, Gojobori T, Baldarelli R, Hill DP, Bult C, Hume DA, Quackenbush J, Schriml LM, Kanapin A, Matsuda H, Batalov S, Beisel KW, Blake JA, Bradt D, Brusic V, Chothia C, Corbani LE, Cousins S, Dalla E, Dragani TA, Fletcher CF, Forrest A, Frazer KS, Gaasterland T, Gariboldi M, Gissi C, Godzik A, Gough J, Grimmond S, Gustincich S, Hirokawa N, Jackson IJ, Jarvis ED, Kanai A, Kawaji H, Kawasawa Y, Kedzierski RM, King BL, Konagaya A, Kurochkin IV, Lee Y, Lenhard B, Lyons PA, Maglott DR, Maltais L, Marchionni L, McKenzie L, Miki H, Nagashima T, Numata K, Okido T, Pavan WJ, Pertea G, Pesole G, Petrovsky N, Pillai R, Pontius JU, Qi D, Ramachandran S, Ravasi T, Reed JC, Reed DJ, Reid J, Ring BZ, Ringwald M, Sandelin A, Schneider C, Semple CA, Setou M, Shimada K, Sultana R, Takenaka Y, Taylor MS, Teasdale RD, Tomita M, Verardo R, Wagner L, Wahlestedt C, Wang Y, Watanabe Y, Wells C, Wilming LG, Wynshaw-Boris A, Yanagisawa M, Yang I, Yang L, Yuan Z, Zavolan M, Zhu Y, Zimmer A, Carninci P, Hayatsu N, Hirozane-Kishikawa T, Konno H, Nakamura M, Sakazume N, Sato K, Shiraki T, Waki K, Kawai J, Aizawa K, Arakawa T, Fukuda S, Hara A, Hashizume W, Imotani K, Ishii Y, Itoh M, Kagawa I, Miyazaki A, Sakai K, Sasaki D, Shibata K, Shinagawa A, Yasunishi A, Yoshino M, Waterston R, Lander ES, Rogers J, Birney E, Hayashizaki Y, FANTOM Consortium; RIKEN Genome Exploration Research Group Phase I & II Team, 2002. Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60, 770 full-length cDNAs. *Nature*, 420(6915): 563–573.

Pandey A, Bloch G, 2015. Juvenile hormone and ecdysteroids as major regulators of brain and behavior in bees. *Current Opinion in Insect Science*, doi: 10. 1016/j. cois. 2015. 09. 006.

Perkel JM, 2013. Assume nothing: The tale of circular RNA. *BioTechniques*, 55(2): 55–57.

Pian C, Zhang G, Chen Z, Chen Y, Zhang J, Yang T, Zhang L, 2016. LncRNApred: Classification of long non-coding RNAs and protein-coding transcripts by the ensemble algorithm with a new

hybrid feature. *PLoS ONE*, 11(5): e0154567.

Qin QH, Wang ZL, Tian LQ, Gan HY, Zhang SW, Zeng ZJ, 2014. The integrative analysis of microRNA and mRNA expression in *Apis mellifera* following maze-based visual pattern learning. *Insect Science*, 21(5): 619–636.

Robinson GE, 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annu. Rev. Entomol.*, 37(1): 637–665.

Robinson GE, 1987. Regulation of honey bee age polyethism by juvenile hormone. *Behavioral Ecology & Sociobiology*, 20(5): 329–338.

Schickel R, Boyerinas B, Park SM, Peter ME, 2008. MicroRNAs: Key players in the immune system, differentiation, tumorigenesis and cell death. *Oncogene*, 27(45): 5959–5974.

Shi TF, Wang YF, Liu F, Qi L, Yu LS, 2017. Influence of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam on miRNA expression in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Science*, 17(5): 96.

Shi TF, Liu F, Yu LS, Wang TS, Qi L, 2014. Expression levels of three miRNAs in the brain of different day-old workers of *Apis mellifera ligustica* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomologica Sinica*, 57(12): 1368–1374. [施腾飞, 刘芳, 余林生, 汪天澍, 齐磊, 2014. 意大利蜜蜂不同日龄工蜂脑部三种 miRNA 的表达水平. 昆虫学报, 57(12): 1368–1374.]

Shi YY, Wu XB, Huang ZY, Wang ZL, Yan WY, Zeng ZJ, 2012. Epigenetic modification of gene expression in honey bees by heterospecific gland secretions. *PLoS ONE*, 7(8): e43727.

Shi YY, Zheng HJ, Pan QZ, Wang ZL, Zeng ZJ, 2015. Differentially expressed microRNAs between queen and worker larvae of the honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 46(1): 35–45.

Slack FJ, Chinnaiyan AM, 2019. The role of non-coding RNAs in oncology. *Cell*, 179(5): 1033–1055.

Spiltoir CF, 1955. Life cycle of *Ascosphaera apis* (*Pericystis apis*). *American Journal of Botany*, 42(6): 501–508.

Spiltoir CF, Olive LS, 1955. A reclassification of the genus *Pericystis* Betts. *Mycologia*, 47(2): 238–244.

Thölken C, Thamm M, Erbacher C, Lechner M, 2019. Sequence and structural properties of circular RNAs in the brain of nurse and forager honeybees (*Apis mellifera*). *BMC Genomics*, 20(1): 1–15.

Tsuchimoto M, Aoki M, Takada M, Kanou Y, Sasagawa H, Kitagawa Y, Kadowaki T, 2004. The changes of gene expression in honeybee (*Apis mellifera*) brains associated with ages. *Zoological Science*, 21(1): 23–28.

Weaver DB, Anzola JM, Evans JD, Reid JG, Reese JT, Childs KL, Zdobnov EM, Samanta MP, Miller J, Elsik CG, 2007. Computational and transcriptional evidence for microRNAs in the honey bee genome. *Genome Biology*, 8(6): 1–12.

Weaver N, 1955. Rearing honeybee larvae on royal jelly in the laboratory. *Bee World*, 36(9): 157–159.

Wing MR, Bourdon DM, Harden TK, 2003. PLC-ε: A shared effector protein in Ras-, Rho-, and Gαβγ-mediated signaling. *Molecular Interventions*, 3(5): 273–280.

Winter F, Edaye S, Hüttenhofer A, Brunel C, 2007. Anopheles gambiae miRNAs as actors of defence reaction against *Plasmodium invasion*. *Nucleic Acids Research*, 35(20): 6953–6962.

Wu X, Wang Z, Zhang F, Shi Y, Zeng Z, 2014. Mating flight causes genome-wide transcriptional changes in sexually mature honeybee queens. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(1): 37–43.

Xiong CL, Chen HZ, Chen DF, Zheng YZ, Fu ZM, Xu GJ, Du Y, Wang HP, Geng SH, Zhou DD, 2018. Analysis of circular RNAs and their regulatory networks in the midgut of *Apis mellifera ligustica* workers. *Acta Entomologica Sinica*, 61(12): 1363–1375.

Yamamura S, Imai-Sumida M, Tanaka Y, Dahiya R, 2018. Interaction and cross-talk between non-coding RNAs. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(3): 467–484.

Zhang Y, Zhang XO, Chen T, Xiang JF, Yin QF, Xing YH, Zhu S, Yang L, Chen LL, 2013. Circular intronic long noncoding RNAs. *Molecular Cell*, 51(6): 792–806.

Zhu K, Liu M, Fu Z, Zhou Z, Kong Y, Liang H, Lin Z, Luo J, Zheng H, Wan P, Zhang J, Zen K, Chen J, Hu F, Zhang CY, Ren J, Chen X, 2017. Plant microRNAs in larval food regulate honeybee caste development. *PLoS Genetics*, 13(8): e1006946.

Zondag L, Dearden PK, Wilson MJ, 2012. Deep sequencing and expression of microRNAs from early honeybee (*Apis mellifera*) embryos reveals a role in regulating early embryonic patterning. *BMC Evolutionary Biology*, 12(1): 211.