

昆虫 RNAi：二十年回顾与展望*

吕子豪^{1**} 马海宾¹ 张文庆^{2***}

(1. 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广州 510520; 2. 中山大学生命科学学院昆虫学研究所, 广州 510275)

摘 要 自 21 世纪初我国系统开展昆虫 RNAi 研究以来, 该领域取得了显著进展, 科研论文的发表数量与质量现均已达到国际先进水平。本文系统回顾了近二十年来 RNAi 技术对中国昆虫学研究的重大推动作用。借助 RNAi 技术, 我国学者在昆虫基因功能解析方面不断深入, 揭示了昆虫翅型分化等重要生物过程的分子机制。同时, 研究者们逐步探索了 RNAi 技术在田间应用的潜力, 在靶标基因筛选、dsRNA 递送技术、RNAi 脱靶风险预测及产业化应用等方面积累了大量成果。目前, 我国在政策支持与技术储备方面已具备良好基础, 加快推进 RNA 生物农药的研发与应用, 将显著提升我国农林产业的科技竞争力, 为推动农林业绿色可持续发展提供有力支撑。

关键词 昆虫; RNA 干扰; 基因功能; RNA 生物农药; 害虫控制; 脱靶效应

RNA interference in insects: A twenty-year review and future perspectives

LÜ Zi-Hao^{1**} MA Hai-Bin¹ ZHANG Wen-Qing^{2***}

(1. Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China;

2. Institute of Entomology, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract Remarkable progress has been in research on insect RNAi in China since research began in this field at the beginning of the 21st century. Indeed, China now leads the world in both the quantity and quality of scientific publications in this field. This review comprehensively summarizes the significant contributions of RNAi technology to entomological research in China over the past two decades. Using RNAi, Chinese researchers have deepened understanding of insect gene functions and uncovered a range of novel molecular mechanisms underlying various biological processes, such as wing type differentiation. Meanwhile, considerable advances have been made in exploring the potential of RNAi for field applications, including the identification of target genes, development of dsRNA delivery systems, prediction of off-target risks, and industrial implementation. With favorable policy support and a technological foundation already in place, accelerating the development and application of RNA biopesticides will significantly enhance the competitiveness of China's agriculture and forestry sectors, and provide substantial support for environmentally-friendly, sustainable agricultural development.

Key words insects; RNA interference; gene function; RNAi-based biopesticides; pest control; off-target effects

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 现象的发现可追溯到 1990 年, 研究者在矮牵牛中过表达 *Chalcone synthase* 基因时, 意外观察到外源基因的导入可导致内源基因表达量显著下降并抑制花青素合成, 这一现象在当时被称为“共抑

制” (Co-suppression) (Napoli *et al.*, 1990)。直至 1998 年, Fire 等通过系统实验明确了触发基因沉默的关键因子是双链 RNA (Double-stranded RNA, dsRNA) 而非单链 RNA (Single-stranded RNA, ssRNA), 导入超低剂量 dsRNA 即可诱导

*资助项目 Supported projects: 广东省重点研发计划项目 (2020B020214001); 国家自然科学基金 (32372519)

**第一作者 First author, E-mail: lvzihao@caf.ac.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: lsszwq@mail.sysu.edu.cn

收稿日期 Received: 2025-07-31; 接受日期 Accepted: 2025-08-28

比 ssRNA 更强烈且特异的表型。至此,“RNAi”现象作为一个科学概念被正式提出。RNAi 作为一种在真核生物中高度保守的机制,目前已在植物、真菌、线虫、昆虫和哺乳动物等多类生物中被发现和验证(田宏刚和张文庆, 2012)。

在 PubMed 数据库上进行的文献分析结果显示(检索关键词为:“RNA interference”,“Insect”,“China”),我国昆虫 RNAi 研究自 2005 年起呈现出快速上升趋势,作者所在实验室也在同年启

动了首个昆虫 RNAi 相关项目——利用 RNAi 技术研究几丁质合成酶对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 发育的影响。至 2024 年,我国昆虫 RNAi 论文数量已达 320 篇,占全球同领域论文 75.5% (图 1)。这些数据充分体现了 RNAi 技术在我国昆虫学领域得到了快速发展与深入应用,成果产出已处于国际先进地位,为推动我国昆虫分子生物学研究以及基于 RNAi 技术的生物农药(RNA 生物农药)研发提供了有力支撑和技术储备。

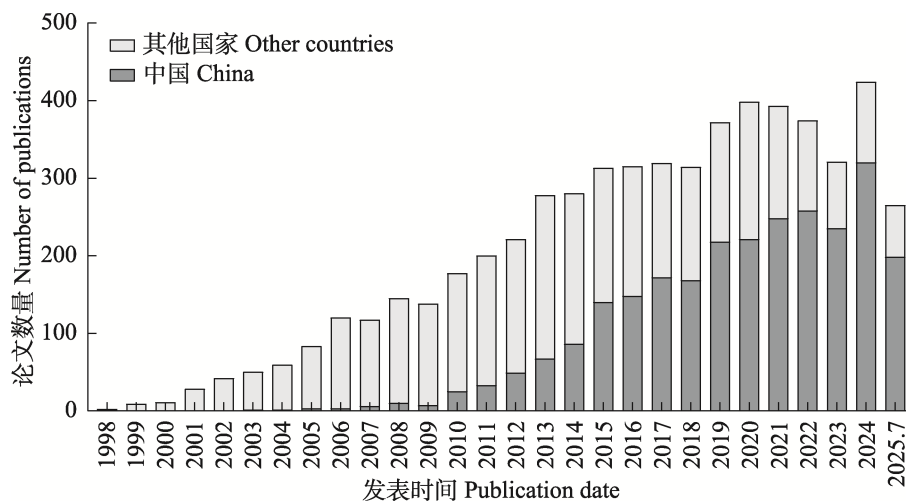


图 1 中外昆虫 RNAi 研究论文发表量比较 (1998-2025)

Fig. 1 Comparison of insect RNAi research publications between China and other countries (1998-2025)

1 RNAi 技术作为基因功能研究的工具

凭借高效、靶向性强和操作简便等优势, RNAi 技术已成为基因功能研究的重要工具(Zhu and Palli, 2020; 张文庆和王桂荣 2021)。与基因编辑技术相比, RNAi 不会引起基因组序列的永久性改变,而是通过降解 mRNA 降低靶基因的表达水平,可在特定的时间阶段(例如某一发育时期或生理状态)触发基因沉默效应,特别适用于致死基因的功能研究(基因编辑难以获得纯合致死的突变体)和需要保持遗传背景稳定的研究。借助 RNAi 技术,研究人员已在昆虫学多个领域开展了深入研究。

害虫的远距离迁飞与聚集能力是其种群快速扩散与暴发成灾的关键基础,也给防控带来了

巨大挑战。我国学者利用 RNAi 技术研究发现,褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 两个胰岛素受体基因 *InR1* 和 *InR2* 是决定翅型长短分化的关键开关(Xu *et al.*, 2015)。东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 的 4-乙烯基苯甲醚(4VA)是其聚集信息素,是促使蝗虫聚集并引发蝗灾的关键化学信号(Guo *et al.*, 2020)。干扰甲基转移酶基因 *4VPMT1* 和 *4VPMT2*,可显著降低群居飞蝗体内 4VA 的释放量,诱导群居蝗虫向散居行为转变,揭示了 *4VPMTs* 是 4VA 生物合成的分子开关(Guo *et al.*, 2025)。

植食性昆虫与植物在自然界中协同进化逾 4 亿年,已演化成一场攻防“军备赛”,研究人员借助 RNAi 技术逐步揭示了其中的相互适应与对抗机制(都慧和王晓伟, 2022)。例如,烟粉虱 *Bemisia tabaci* 通过基因水平转移获得了来源于

植物的酚醛糖苷丙二酰转移酶基因 *BtPMT1*, 干扰该基因后, 烟粉虱的解毒能力明显下降, 证明 *BtPMT1* 是烟粉虱应对不利植物次生物——酚糖苷的重要因子 (Xia *et al.*, 2021)。褐飞虱取食分泌唾液蛋白 *Bisp* 可抑制敏感水稻的防御反应, 但在抗性水稻中该蛋白会被识别并降解。注射靶向 *Bisp* 的 dsRNA 后, 褐飞虱在取食敏感水稻时死亡率显著升高; 而在抗性水稻上取食时, 其体重增长、蜜露分泌及存活率则与对照组无显著差异 (Guo *et al.*, 2023)。棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的唾液蛋白基因也在害虫与寄主植物互作中具有重要功能 (Chen *et al.*, 2019a)。

昆虫高度发达的化学感受系统在觅食、寻找配偶、产卵选址及规避天敌等行为中发挥关键作用。RNAi 技术已广泛应用于此类基因功能研究。例如, 棉铃虫齿唇姬蜂 *Campoletis chlorideae* 雄蜂触角中高表达的气味受体 *OR18* 和 *OR47* 分别用于识别性信息素组分十四醛 (14:Ald) 和 2-十七烷酮 (2-Hep) (Guo *et al.*, 2022)。豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 的天敌大灰优食蚜蝇 *Eupeodes corollae* 可通过气味受体 *OR3* 感知化学物质(E)- β -farnesene (EBF), 从而成功定位蚜虫 (Wang *et al.*, 2022); 而干扰豌豆蚜 *OR3*、*OBP5* 以及 *OBP7* 的表达后, 蚜虫对 EBF 的识别能力受损, 丧失驱避行为 (Zhang *et al.*, 2017)。

昆虫的变态发育和组织重塑是其适应环境并促进物种多样性形成的关键基础。利用 RNAi 技术证明, 棉铃虫的蛋白激酶 *C delta* 能够通过磷酸化作用修饰蜕皮激素的核受体, 进而调控幼虫向蛹的变态发育 (Chen *et al.*, 2017)。美洲大蠊 *Periplaneta americana* 的 ERK 信号通路下游的蛋白激酶 CK-2 通过调控细胞有丝分裂相关基因的表达, 从而控制芽基细胞的增殖, 干扰该基因的表达可完全阻断美洲大蠊足部的再生过程 (Zhang *et al.*, 2024)。

昆虫具有强大的繁殖能力, 并进化出精细的性别决定机制, 以保障种群的延续与数量维持。注射靶向转录因子 *FoxO* 的 dsRNA 至褐飞虱成虫体内后, 其产卵数量和卵孵化率均显著下降, 表明 *FoxO* 在调节繁殖过程中具有关键功能

(Dong *et al.*, 2021)。通过对褐飞虱胚胎基因进行大规模 RNAi 筛选, 鉴定出性别决定相关基因 *Nlfmd* 和 *Nlfmd2*, 在若虫期干扰 *Nlfmd* 或 *Nlfmd2* 表达后, 雌性体内的雄性 *Doublesex* 的表达被激活, 导致成虫羽化后出现雌雄嵌合体表型 (Zhuo *et al.*, 2021)。当雄性梨小食心虫 *Grapholitha molesta* 神经肽基因 *GmCrz* 或其受体基因 *GmCrzR* 的表达被干扰后, 雌虫精包中精子的激活过程受到干扰 (Cheng *et al.*, 2022); 而神经肽 *GmMS* 及其受体 *GmMSR* 则调控雌虫的生殖能力, 其表达下调会导致卵黄蛋白的合成减少, 卵巢发育受阻 (Cheng *et al.*, 2024)。干扰橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 的 *Sarcosine dehydrogenase* 基因 (Gao *et al.*, 2023; Gui *et al.*, 2023)、PDF-BDTF-GLA 基因模块 (Li *et al.*, 2024) 和羧肽酶基因 *Carboxypeptidase B* 及肽转运蛋白基因 *Peptide transporter 1* (Chen *et al.*, 2024) 的表达, 均可抑制橘小实蝇吡嗪类性信息素的合成, 揭示了橘小实蝇通过调控雄虫直肠内“氨基酸-葡萄糖-铵”的代谢通路, 最终影响雄虫的交配能力。

综上所述, 我国昆虫学者充分发挥 RNAi 技术优势, 系统开展了基因功能研究, 揭示了昆虫生命活动背后的分子机制, 在研究质量上也已达到国际先进水平。在国外, 昆虫 RNAi 研究则多集中于模式物种黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 和赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*, 在生长、发育、繁殖及抗药性等方面的关键基因功能得到了深入解析 (Palli, 2023)。近年来, RNAi 技术被探索作为新型防控手段, 已在玉米根萤叶甲 *Diabrotica virgifera virgifera* 和马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 的防治中显示出应用潜力 (Alves *et al.*, 2010; Pallis *et al.*, 2023)。总体而言, 国内外研究共同推动了昆虫 RNAi 从基础理论研究向应用转化的发展。

2 基于 RNAi 技术的生物农药

早在 2007 年, RNAi 技术在害虫防治领域便展现出巨大应用潜力。研究人员成功培育出两种转基因抗虫作物, 开创了该领域的先河。Baum 等 (2007) 的研究表明, 玉米根萤叶甲取食表达

ds*V-ATPase* 的转基因玉米后,会出现发育受阻或死亡的症状。与此同时,我国学者构建的表达 ds*CYP6AE14* 的拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 和烟草 *Nicotiana tabacum* 可显著降低棉铃虫对酚类物质的耐受能力,从而导致其发育延迟 (Mao *et al.*, 2007, 2011)。

近年来,“RNA 生物农药”概念逐渐形成,泛指以 dsRNA 为核心组分开发的抗病虫害制剂及转基因生物。与传统化学农药相比, RNA 生物农药具有多项独特优势 (Zotti *et al.*, 2018; Taning *et al.*, 2020; 张文庆和王桂荣, 2021): 1. 高度特异性 (专一性): 可针对特定物种的特定基因序列精准设计 dsRNA, 实现定向杀灭病虫害而不影响非靶标生物 (如天敌) 生存。2. 广谱性潜力: 通过靶向有害物种共有的基因或融合基因, 可实现 “一剂多杀”, 在保持精准性的同时兼具控害广谱性。3. 剂量可控: 广谱性有助于减少农药总使用量; 高效性使得少量 dsRNA 即可在害虫中触发 RNAi 并放大效应, 甚至产生母源干扰; 靶标基因可替换性高, 通过建立杀虫靶标库可应对抗性, 避免或缓解因抗性发生而增加施药量。4. 生物安全: RNAi 技术不会改变生物体的遗传特性, 不易引发公众的 “转基因焦虑” 情绪。5. 环境友好: dsRNA 在自然环境中易被光照或微生物降解, 半衰期不足 30 h。6. 研发成本低: RNA 生物农药研发周期仅需 4 年左右, 成本为 300-700 万美元, 性价比较高。

2.1 靶标基因的筛选方法及主要类别

靶标基因筛选研究是 RNA 生物农药发展的核心内容之一, 是提高防治效果的前提。毫无疑问, 能够显著提高目标生物死亡率的高致死靶标具有极高的应用潜力。但 RNAi 害虫控制并不仅限于 “直接致死” 这一策略, 限制害虫发育、繁殖、扩散及取食能力的方法同样具有重要价值。因此, 亚致死靶标可作为长期控制策略的重要补充。目前, 在非模式害虫的 RNAi 靶标基因筛选中, 通常采用同源搜索法、KEGG 通路法以及全基因组穷举法等主要策略 (张文庆和王桂荣, 2021)。

同源搜索法是筛选抗虫靶标基因的常规方法, 也是目前最为简便有效的策略。即通过查阅文献收集已报道的 RNAi 抗虫靶标基因, 再利用同源比对获得目标害虫的同源基因, 作为潜在的 RNAi 靶标, 随后通过生物测定验证其抗虫效果。因此, 一些已在多个物种中得到深入研究的 “明星基因” 往往被优先作为候选靶标用于抗虫性测试。然而, 该方法的局限在于依赖已有信息, 难以发现新的潜在抗虫靶标基因。

通过 KEGG 通路分析, 能够对靶标害虫关键基因及其所涉及的功能通路进行系统性注释, 便于进一步识别出通路中的其他重要基因。该方法具有可基于通路关系进行发散式筛选, 拓展新型潜在靶标基因库。然而, KEGG 通路的识别范围仅限于数据库已收录的通路相关基因, 难以涵盖功能尚不清楚或未被收录的基因及其家族, 因此仍需与其他方法结合, 以实现更加全面和有效的靶标拓展挖掘。

全基因组穷举法耗费大, 目前仅在黑腹果蝇和赤拟谷盗等少数重要模式昆虫中完成 (Boutros *et al.*, 2004; Schmitt-Engel *et al.*, 2015)。在非模式昆虫中, 可将该昆虫的转录本与模式昆虫的序列进行组学水平的同源比对, 获得候选 RNAi 靶标基因; 同时, 可结合文献分析, 选取高致死率的序列作为高效候选靶标基因 (黎丹等, 2020)。

此外, 持续系统地梳理并解析影响靶标致死效果的因素, 也有助于提升靶标挖掘效率 (Lyu *et al.*, 2025b)。目前, 部分具有应用潜力的 RNA 生物农药靶标已被报道 (张文庆和王桂荣, 2021), 可大致分为三类: 1. 昆虫特有的靶标基因; 2. 高效的持家基因; 3. 减少农药用量的靶标基因。

2.1.1 昆虫特有的靶标基因 这类靶标主要作用于昆虫蜕皮、变态等关键生长发育阶段, 而在高等生物中缺失或不具备重要生理功能, 因此理论上可减少对非靶标生物和生态环境的潜在危害, 并对人类及其他哺乳动物具有更高的安全性。

几丁质合成酶 (Chitin synthase, CHS) 是昆虫几丁质合成途径中最后一个关键酶, 大多数昆

虫具有 *CHSI* (或称 *CHSA*) 和 *CHS2* (或称 *CHSB*) 两种类型。甜菜夜蛾 *CHSA* 属于非中肠基因, 在早期研究中, 研究人员尚不清楚通过饲喂 dsRNA 是否能够有效靶向并抑制此类非中肠基因的表达。Tian 等 (2009) 通过饲喂法开创性地证实了 *SeCHSA* 可作为 RNAi 靶标基因。目前, 已在多种害虫中成功干扰 *CHS* 基因, 导致幼虫/若虫蜕皮畸形、围食膜破坏和消化吸收障碍, 降低成虫繁殖力与卵孵化率, 并最终导致高致死率 (Li *et al.*, 2017)。除实验室常用的注射和饲喂法外, 多种具田间应用潜力的递送策略, 如绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 与 dsRNA 混用、转 dsRNA 绿僵菌、纳米载体搭载 dsRNA, 也能有效干扰靶基因的表达, 并对害虫产生致死作用 (潘春艳等, 2016; Hu *et al.*, 2022; Lyu *et al.*, 2023)。总体而言, *CHS* 基因是多数害虫的重要 RNAi 致死靶标, 但其防控效果仍需结合物种特异性与递送体系进行综合评估。

UDP-N-乙酰氨基葡萄糖焦磷酸化酶 (UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase, UAP) 也是昆虫几丁质合成途径中的关键酶。在东亚飞蝗中, 2 龄和 5 龄若虫注射 3 和 10 μg ds*LmUAP* 后, 第 4 天死亡率达 100% (Liu *et al.*, 2013)。在褐飞虱中, 靶向 *NIUAP* 一段长度为 166 bp 区域的 dsRNA 具有低种间脱靶风险, 理论上在田间施用不会将对非靶标物种产生不利影响。干扰 *NIUAP* 表达可使几丁质合成前体及几丁质含量分别降低 16.6% 和 47.1%, 导致体壁结构异常、翅发育畸形及雌成虫繁殖力下降, 当处理浓度 ≥ 300 ng 时死亡率可达 100% (Lyu *et al.*, 2024); 在西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 中, 注射 ds*UAP* 可使成虫畸形率高达 80%, 且注射后 120 h 的总存活率仅为 5% (陆承聪等, 2019)。可见, *UAP* 基因在昆虫几丁质合成及能量代谢等多种生理过程中具有核心调控作用, 干扰其表达不仅可直接致死害虫, 还能通过降低成虫产卵量和卵孵化率, 持续影响后代种群, 从而延长对作物的保护期。

除以上介绍的几丁质合成与代谢通路基因外, 几丁质酶基因 (Xi *et al.*, 2015)、海藻糖合

成酶基因 (Tang *et al.*, 2018), 以及一系列参与昆虫生长发育的激素代谢及信号传导的基因, 如蜕皮激素受体 *EcR* (Yu *et al.*, 2014) 和保幼激素合成酶 *JHAMT* (Ni *et al.*, 2017) 也被证明是具有良好杀虫效果的昆虫特有靶标基因。

2.1.2 高效的持家基因 持家基因在不同物种间保守程度高, 其功能对昆虫生长发育至关重要。通常情况下, 持家基因极易被干扰, 且干扰后能引起较高的致死率, 因此需选取特异性较强的基因片段, 以避免对有益生物造成伤害。*Snf7* 是其中的“明星”代表。*Snf7* 是蛋白内体分选复合物 III (ESCRT-III) 的其中一个组分, ESCRT-III 在跨膜蛋白的运输、分选和降解过程中均发挥重要作用。干扰玉米根萤叶甲 *DvSnf7* 的表达可导致该虫体内的泛素化蛋白积累从而使自噬过程紊乱, 最终杀灭害虫 (Ramaseshadri *et al.*, 2013; Koči *et al.*, 2014)。

V-ATPase 是真核生物中高度保守的酶复合体, 由 V0 和 V1 (含 A、B、C、D、E、F、G 和 H 8 个亚基) 两个结构域组成。目前已被广泛应用于转基因植物介导的 RNAi 研究。例如, 棉铃虫取食表达 *V-ATPase* dsRNA 的转基因烟草后, 化蛹率降至 56.7% (Jin *et al.*, 2015); 棉粉蚧 *Phenacoccus Solenopsis* 取食转 dsRNA 烟草后校正死亡率约为 30% (Khan *et al.*, 2018); 绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 的 *V-ATPase A* 和 *E* 被转基因植物干扰后, 试虫死亡率升高, 达 46%-80% (Liu *et al.*, 2019)。上述研究表明, *V-ATPase* 作为植物介导 RNAi 的靶标展现出良好的应用前景。但需要注意的是, 转 *V-ATPase* dsRNA 与 Bt 作物联合使用时协同效应有限, *V-ATPase* 下调会削弱转 Bt 水稻对二化螟 *Chilo suppressalis* 的防控作用 (Qiu *et al.*, 2019)。

2.1.3 减少农药用量的靶标基因 由于化学农药的大量使用, 许多害虫已对常用药剂产生了严重抗药性, 其中 P450 基因的过表达与多类农药的高水平代谢抗性关系尤为密切 (Wu *et al.*, 2025)。然而, 单独利用 RNAi 沉默 P450 基因的杀虫效果有限; 若在下调其表达后再联合施用化学农药, 则可显著降低害虫抗性, 表现出明显的

“1+1>2”协同效应,从而减少农药用量并延缓抗性进化。例如,褐飞虱 *CYP6ER1* 的高表达可致对吡虫啉产生显著抗性,而干扰该基因后吡虫啉的致死率提高 34.42% (Pang *et al.*, 2016)。在甜菜夜蛾中,连续施用氯虫苯甲酰胺筛选 6 代后,有 11 个 P450 基因表达上调,干扰其中的 *CYP9A21v3* 可恢复甜菜夜蛾对氯虫苯甲酰胺的敏感性(Wang *et al.*, 2018)。在棉蚜 *Aphis gossypii* 中,不同 P450 基因分别介导不同杀虫剂的抗性。例如, *CYP6CY14*、*CYP6CY22* 和 *CYP6UN1* 在吡虫啉抗性形成中发挥关键作用 (Chen *et al.*, 2020); *CYP380C6* 参与棉蚜对溴氰虫酰胺的解毒代谢 (Zeng *et al.*, 2021); 而干扰 *CYP6A2* 则可增强其对螺虫乙酯的敏感性 (Peng *et al.*, 2016)。

除 P450 外,常见的减少农药用量的靶标基因还包括羧酸酯酶 (Li *et al.*, 2020) 和谷胱甘肽 S-转移酶 (Pavlidis *et al.*, 2018) 等解毒代谢酶,在农药解毒与排出中发挥作用的 ATP 结合盒转运蛋白 (Shan *et al.*, 2021), 农药作用靶标如乙酰胆碱酯酶 (孟祥坤等, 2019) 以及参与昆虫抗药性的化学感受蛋白 (乔宪凤等, 2023)。

2.2 具备田间应用潜力的 dsRNA 递送方式

2.2.1 纳米载体介导的 SIGS

喷雾诱导基因沉默 (Spray-induced gene silencing, SIGS) 是 RNA 生物农药的一种重要施用方式,通过将 dsRNA 直接喷洒于寄主植物或害虫表面,从而在取食或接触的虫体内诱导 RNAi 效应。该方法操作简便、实施迅速,同时属于非转基因技术,更易获得政策批准。例如,美国绿光公司 (GreenLight Biosciences) 开发的 Calantha™ 喷雾剂已于 2023 年获得美国环境保护署 (EPA) 批准上市,成为全球首个商品化的喷雾型 RNA 杀虫剂,其活性成分是一段靶向马铃薯甲虫 *PSMB5* 基因的 dsRNA,但该产品并未披露是否搭载纳米载体 (<https://www.greenlightbiosciences.com/calantha>)。需要指出的是,裸 dsRNA 在田间环境或害虫体内极易被核酸酶降解,导致稳定性不足,防治效果难以持久。

纳米材料具有尺寸微小、比表面积大等独特的物理性质,以及良好的水分散稳定性和光催化活性;同时,它们还具有细胞毒性低、转导效率高并能有效保护外源核酸等生物相容性优势 (He *et al.*, 2013)。近年来,各类纳米材料被引入以改善 dsRNA 的稳定性和递送效率,为 SIGS 的有效应用提供了创新的技术途径。例如,将 dsRNA 与 MgFe 层状双氢氧化物 (Layered double hydroxide, LDH) 结合形成的改良版 “BioClay” 核酸递送系统,可在棉花中显著提高 RNAi 效率,无论是在完整植株还是脱落叶片饲喂条件下,均能成功诱导烟粉虱 RNAi 效应,实现非转基因条件下对该虫的有效防控 (Jain *et al.*, 2022)。

以荧光苷酰亚胺 (PDI) 为核心合成的树枝状阳离子聚合物,可通过静电作用与带负电荷的核酸结合,形成稳定复合物,从而有效负载并保护外源核酸 (闫硕和沈杰, 2019)。利用 PDI 搭载 ds*CHT10* 可显著抑制亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 的生长发育,并诱导其死亡 (He *et al.*, 2013)。此外,在 PDI 与洗涤剂复合体系的辅助下,dsRNA 能够高效穿透大豆蚜 *Aphis glycines* 体壁,导致靶基因表达量下降 95.4%,种群密度降低 80.5% (Zheng *et al.*, 2019)。鉴于 PDI 材料成本较高,研究人员进一步开发了去除荧光核心的星状阳离子聚合物 Star polycations (SPc)。SPc 通过非共价相互作用结合并保护 dsRNA,使其免于酶降解,同时通过激活囊泡介导的内吞作用有效促进细胞对其摄取 (Ma *et al.*, 2022)。目前,SPc 在我国昆虫 RNAi 研究中被广泛应用,dsRNA/SPc 复合体在多种昆虫中被证实可有效地干扰基因表达 (Liu *et al.*, 2025)。

壳聚糖是一种天然阳离子聚合物,具有无毒、可降解和生物相容性好的优点,可通过静电作用与带负电的 dsRNA 结合形成复合物。大量研究表明,壳聚糖介导的 dsRNA 递送可提高多种害虫的 RNAi 效率,包括蚊子 (Zhang *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2019b)、欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* (Cooper *et al.*, 2021) 及草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 等 (Gurusamy *et al.*, 2020)。利用松香 (Rosin) 与聚乙二醇

(Polyethylene glycol, PEG) 改性的壳聚糖 (ROPE@C), 具备通过喷雾法对褐飞虱进行 RNAi 防治的潜力 (Lyu *et al.*, 2024)。

此外, 全氟化碳 (Perfluorocarbon, PFC) (Li-Byarlay *et al.*, 2013), 碳量子点 (Carbon quantum dot, CQD) (Kaur *et al.*, 2020) 和聚多巴胺 (Polydopamine, PDA) (Gao *et al.*, 2025) 等多种新型纳米载体, 也展现出在害虫防治中的应用潜力。

2.2.2 植物介导的 RNAi 在植物体内直接表达 dsRNA 以抑制害虫发育或生存, 是一种具有田间实际应用前景的 RNAi 害虫防治策略。首个采用该策略实现商业化的 RNAi 转基因作物是 SmartStax® PRO 玉米, 该品种同时表达 Bt 蛋白和靶向玉米根萤叶甲 *DvSnf7* 基因的 dsRNA, 比不表达 ds*DvSnf7* 的 SmartStax 玉米有更优的杀虫效果, 可使玉米根萤叶甲的发生程度降低 80% (Head *et al.*, 2017; Reinders *et al.*, 2023)。然而, 由于植物核酸酶的存在, 会导致虫体摄入的 dsRNA 量不足, 并非所有植物体内表达 dsRNA 来进行抗虫都能取得令人满意的结果。例如, 靶向编码羧肽酶基因 (*Carboxypeptidase*), 己糖转运子基因 (*Hexose transporter*) 和胰蛋白酶基因 (*Trypsin-like serine protease*) 的转 dsRNA 水稻可降低取食褐飞虱体内靶标基因的表达量水平至 40%-70%, 但遗憾的是, 没能展现出很好的杀虫效果 (Zha *et al.*, 2011)。与细胞核不同, 叶绿体中缺乏核酸酶和 RNAi 机制, 在叶绿体中表达的 dsRNA 可避免被 Dicer 酶降解。于是研究人员另辟蹊径, 在马铃薯叶绿体中稳定表达靶向马铃薯甲虫致死基因 β -actin 的 dsRNA, 其累积量可占细胞总 RNA 的 0.4%, 取食叶绿体转基因植株对马铃薯甲虫具有致命作用 (Zhang *et al.*, 2015)。相较于核转基因植物, 质体转基因植物表达的 dsRNA (如 β -actin、Tubulin、V-ATPase-B 和 *Snf7* 等基因) 也能导致西花蓟马更高的死亡率 (Wu *et al.*, 2022)。在烟草质体中表达靶向桃蚜 *Myzus persicae* 致死基因 *MpDhc64C*, 也可有效抑制该虫的危害 (Dong *et al.*, 2022)。值得注意的是, 若害虫取食的组织中不含叶绿体, 则无法摄入叶绿体来源的 dsRNA, 这会导致 RNAi

效率下降 (Dong *et al.*, 2020)。

2.2.3 微生物介导的 RNAi 利用可产生 dsRNA 的微生物感染或定殖昆虫, 是 RNAi 技术在生物防治中的重要拓展方向。该策略通过赋予微生物新的功能, 使其不仅作为天然的致病因子或共生体, 还能在宿主体内持续产生靶向基因的 dsRNA, 从而显著增强防治效果。例如, 在绿僵菌中表达靶向褐飞虱 *CHSA* 的 dsRNA, 可使褐飞虱死亡率提高约 30% (Hu *et al.*, 2022)。对渐狭蜡蚧菌 *Lecanicillium attenuatum* 进行改造, 使其能够表达靶向 *DcPPO*、*DcPPO-AF* 和 *DcLZM* 基因的 dsRNA, 也可提高对柑橘粉虱 *Dialeurodes citri* 的致死效果 (Yu *et al.*, 2019)。

利用肠道定殖共生菌表达 dsRNA 也具有良好应用前景。改造后的蜜蜂肠道共生菌 *Snodgrassella alvi* 可在肠道内定殖并持续合成靶向蜜蜂畸形病毒 (Deformed wing virus) 基因组的 dsRNA, 从而显著提高蜜蜂抵御病毒侵染的能力。若使 *S. alvi* 表达靶向杀蜂螨基因的 dsRNA, 则可有效加速寄生螨虫的死亡 (Leonard *et al.*, 2020)。通过染色体重组方式可赋予长红锥蝽 *Rhodnius prolixus* 肠道共生菌 *Rhodococcus rhodnii* 持续表达 dsRNA 的能力。该重组菌株在宿主体内可存活超过 250 d, 并实现水平传播; 当其产生的 dsRNA 靶向 *Vg* 基因时, 长红锥蝽产卵率下降 58.6%, 孵化率下降 72.3%, 种群生存力显著削弱 (Whitten *et al.*, 2016)。

综上, 利用病原微生物或共生菌介导的 RNAi 能够突破传统外源 dsRNA 递送方式的局限, 兼具持续性与生态友好性, 不仅能有效控制害虫种群, 还能在保障有益昆虫健康方面展现出独特优势。

3 RNAi 脱靶效应

昆虫学家指出, “如何鉴别并管理 dsRNA 的脱靶效应?” 是昆虫 RNAi 面临的主要问题之一 (Zhu and Palli, 2020)。控制有害生物防控策略的发展趋势为从广谱性过渡到选择性, 最终迈向专一性。RNA 生物农药既可实现高度专一的杀虫效果, 又兼具可调控的广谱杀虫潜力。然而,

过去的研究对 RNAi 脱靶风险关注不足,有 62.2% 的 RNA 生物农药相关文献(以褐飞虱为例)未关注脱靶风险,而调查的 58.7% (88/150) dsRNAs 对至少一种有益生物存在潜在脱靶风险 (Lyu *et al.*, 2025b)。利用生物信息学手段对 RNA 生物农药进行脱靶风险评估成本低、效率高,无需大量实验即可识别并规避潜在的非靶标效应,可为 RNAi 靶标的安全筛选提供第一道防线。本实验室最新开发的工具 dsOMG (<https://dsomg.sysu.edu.cn/>) 可为“基因功能研究”和“RNA 生物农药研发”筛选出低脱靶风险的 dsRNA 合成模板 (Lyu *et al.*, 2025a)。其他工具如 dscheck、SnapDragon、dsRNAEngineer 和 dsRIP 亦可用于预测 RNAi 脱靶效应,但用于比对的 Subject 物种数量仍较有限(表 1)。不断提升脱靶预测工具的准确性和适用性,将在很大程度上推动 RNA 生物农药的发展。

4 展望

4.1 RNAi 技术仍是不可或缺的基因功能研究工具

随着 CRISPR-Cas9 等基因编辑技术的快速发展,昆虫基因功能研究能够实现特定基因的敲除、定点突变或精确调控。而 RNAi 技术操作简便、成本低,可通过饲喂或注射法敲低目标基因表达,适合高通量筛选,尤其在非模式害虫研究中具有独特优势。

4.2 RNA 生物农药的产业化发展趋势

近年来,全球多家新兴生物科技公司积极布局昆虫 RNA 生物农药,该领域接连迎来多项具有里程碑意义的进展。除了已获得商业化批准的 SmartStax® PRO 玉米和 Calantha™ 喷雾剂外,2025 年,美国绿光公司一款 RNA 生物农药产品——Vadescana 拟获批,该产品的主要活性成分是靶向蜜蜂寄生虫瓦螨 *Varroa destructor* 钙调蛋白 *calmodulin* 基因的 dsRNA 分子,用于保护蜜蜂 (<https://www.epa.gov/pesticides/epa-proposes-register-new-pesticide-varroa-mite-control>)。美国

陶氏益农 (Dow AgroSciences LLC) 研发的转基因玉米 DP23211 表达针对玉米根萤叶甲 *DvSSJ1* 基因的 dsRNA,也已获澳大利亚和新西兰食品标准管理局 (FSANZ) 批准用于食品 (Anderson *et al.*, 2020)。美国 TechAccel 公司则正在积极开发可喷洒的 RNA 生物农药,用于防控小菜蛾 *Plutella xylostella* 和草地贪夜蛾等农业害虫 (<https://techaccel.net/>)。

在我国,上海植生优谷生物技术有限公司专注于棉蚜、桃蚜和黄曲条跳甲 *Phyllotreta striolata* 等害虫的喷施型 RNA 生物农药研发,并于 2022 和 2023 年先后开展了针对黄曲条跳甲和小麦蚜虫的田间试验(关若冰等, 2022)。北京微沃生物科技有限公司则以防控飞蝗、玉米螟、蚜虫和线虫等重大农业害虫为目标,围绕新型靶标创制和天然纳米材料递送等关键技术领域开展研究(张建珍等, 2025)。我国目前虽尚未有商品化的 RNA 生物农药产品上市,在应用转化和产业化方面与国际农化巨头仍存在一定差距。然而,国家层面对该领域发展高度重视,《“十四五”全国农药产业发展规划》明确提出优先发展 RNA 生物农药;《全国农业科技创新重点领域(2024-2028 年)》也明确提出要大力推动 RNA 农药的发展。

RNA 生物农药的生产效率和成本直接决定其产业化推广前景,因此也是全球多家公司竞相攻关的核心方向。加拿大 Renaissance BioScience 公司获得了酿酒酵母发酵生产 dsRNA 的专利,有望进一步降低生产成本 (<https://renaissancebioscience.com/>)。美国绿光公司 4 年逾百次田间试验表明,以 9.9 g/hm² 的剂量喷施 RNAi 喷雾剂,即可有效防治马铃薯甲虫,其开发的无细胞合成技术 GreenWorX™,将 dsRNA 的生产成本降至 0.5 美元/g (Taning *et al.*, 2020)。上海植生优谷公司则结合微生物发酵与无细胞合成技术,建成公斤级规模化生产体系,其成本具备市场竞争力。

4.3 RNA 生物农药发展中的挑战

探索提升 RNAi 效率的策略与机制,是 RNAi

表 1 dsRNA 脱靶风险预测网站功能比较
Table 1 Comparison of functions of dsRNA off-target risk prediction websites

	dscheck dscheck.mai.jp/	SnapDragon flymai.org/snapdragon	dsRNAEngineer www.dsma-engineer.cn	dsRIP dsrip.uni-goettingen.de	dsOMG dsomg.sysu.edu.cn/
	2005	2006	2023	2024	2024
Subject 物种数 Number of subjects	5	1	943	用户上传转录组 User-uploadable transcriptome	29 964
脱靶阈值设置范围 The range of the off-target threshold setting	19 bp match (Mismatch ≤ 2)	(1) Length: 16-50 bp (2) Mismatch: / (3) Gap: / (4) Mismatch&gap: /	(1) Length: 14-27 bp (2) Mismatch: ≤ 2 (3) Gap: / (4) Mismatch&gap: /	(1) Length: 19-23 bp (2) Mismatch: ≤ 2 (3) Gap: / (4) Mismatch&gap: /	(1) Length: ≤ 50 bp (2) Mismatch: ≤ 10 (3) Gap: ≤ 10 (4) Mismatch&gap: ≤ 10 ✔允许组合设置 Combination settings allowed: (AND/OR)
基因功能研究 Gene function study	5 物种 5 Organisms	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i>	943 物种 943 Organisms	上传转录组的物种 Transcriptome-upload organisms	29 964 物种 29 964 Organisms
RNA 生物农药研发 RNA biopesticide development	Subject 物种数量少, 不适用 Not applicable, due to the small number of subject organisms		限 10 个 Subjects 物种 Selection limited to 10 organisms as subjects	“内置 + 上传” Subjects Built-in + uploaded subjects	可选 29 964 个 Subjects 物种 29 964 Organisms available as subjects

研究需要长期坚持的方向,是推动 RNA 生物农药高效应用的核心。例如,研究发现肠道细菌可协同 dsRNA 介导杀虫 (Xu *et al.*, 2021); 开发 RNA 自组装纳米结构可降低合成成本并提高 RNAi 效率 (Xia *et al.*, 2025); 分析不同物种对 dsRNA 序列的切割偏好,可能有助于揭示其对 RNAi 效率及脱靶效应的影响 (Guan *et al.*, 2018; Fan *et al.*, 2022)。此外, RNAi 技术与转基因作物、化学农药、生防菌、天敌、信息素等防控策略的协同作用潜力仍有待深入发掘。

RNAi 脱靶风险问题或将成为 RNA 生物农药商业价值和推广应用的主要制约因素 (Lyu *et al.*, 2025b)。在 *Calantha*TM 的注册审查过程中,环境组织就曾呼吁开展更广泛的风险评估,他们特别关注非靶标生物的潜在风险 (Stokstad, 2024)。然而, dsOMG 的脱靶风险再分析结果提示,商业化的 RNAi 产品仍均存在不同程度的脱靶风险 (Lyu *et al.*, 2025a)。利用人工智能 (AI) 技术加速 RNAi 脱靶风险评估工具的迭代更新,有助于判定特定物种在施药区域的有害或有益性,从而辅助区域化用药决策。

RNA 生物农药的抗性风险也需要重视 (Tabashnik and Carrière, 2025)。玉米根萤叶甲和马铃薯甲虫可通过降低对 dsRNA 的吸收而产生抗性 (Khajuria *et al.*, 2018; Mishra *et al.*, 2021)。然而,害虫在田间环境中的抗性演化速度难以预测。为降低抗性风险,可采取综合管理策略。例如, EPA 要求种植 SmartStax® Pro 转基因玉米的农户设置害虫避难地,以保持害虫群体中对 dsRNA 敏感的基因; 另一方面,可通过交替使用不同作用机制的农药、优化 RNAi 产品的使用方式等手段,延缓抗性的出现,保障 RNA 生物农药在田间的长期有效性 (Stokstad, 2024)。

RNA 生物农药虽尚处于商业化初步阶段,但其推广价值已逐步显现。对于新型杀虫剂的发展前景,我们应保持乐观且兼具科学严谨的态度。随着研究数据和实践经验的持续积累,现有技术瓶颈有望逐步得到突破。发展 RNA 生物农药将有助于提升我国在农林业领域的国际竞争力,带来重要的技术创新和产业机遇。

参考文献 (References)

- Alves AP, Lorenzen MD, Beeman RW, Foster JE, Siegfried BD, 2010. RNA interference as a method for target-site screening in the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*. *Journal of Insect Science*, 10: 162.
- Anderson JA, Mickelson J, Challender M, Moellring E, Sult T, TeRonde S, Walker C, Wang Y, Maxwell CA, 2020. Agronomic and compositional assessment of genetically modified DP23211 maize for corn rootworm control. *GM Crops & Food*, 11(4): 206–214.
- Baum JA, Bogaert T, Clinton W, Heck GR, Feldmann P, Ilagan O, Johnson S, Plaetinck G, Munyikwa T, Pleau M, Vaughn T, Roberts J, 2007. Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nature Biotechnology*, 25(11): 1322–1326.
- Boutros M, Kiger AA, Armknecht S, Kerr K, Hild M, Koch B, Haas SA, Paro R, Perrimon N, Consortium HFA, 2004. Genome-wide RNAi analysis of growth and viability in *Drosophila* cells. *Science*, 303(5659): 832–835.
- Chen AQ, Zhang HH, Shan TS, Shi XY, Gao XW, 2020. The overexpression of three cytochrome P450 genes CYP6CY14, CYP6CY22 and CYP6UN1 contributed to metabolic resistance to dinotefuran in melon/cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 167: 104601.
- Chen CH, Pan J, Di YQ, Liu W, Hou L, Wang JX, Zhao XF, 2017. Protein kinase C delta phosphorylates ecdysone receptor B1 to promote gene expression and apoptosis under 20-hydroxyecdysone regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(34): E7121–E7130.
- Chen CY, Liu YQ, Song WM, Chen DY, Chen FY, Chen XY, Chen ZW, Ge SX, Wang CZ, Zhan S, Chen XY, Mao YB, 2019a. An effector from cotton bollworm oral secretion impairs host plant defense signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(28): 14331–14338.
- Chen JX, Jiang YL, Gao ZJ, Dai JW, Jia CS, Lu YY, Cheng DF, 2024. The sexual dimorphism in rectum and protein digestion pathway influence sex pheromone synthesis in male *Bactrocera dorsalis*. *Advanced Science*, 11(44): e2407353.
- Chen J, Lu HR, Zhang L, Liao CH, Han Q, 2019b. RNA interference-mediated knockdown of 3, 4-dihydroxyphenylacetaldehyde synthase affects larval development and adult survival in the mosquito *Aedes aegypti*. *Parasites & Vectors*, 12(1): 311.
- Cheng J, Liu JK, Wang TL, Wei W, Xiang HM, Li XW, Ma RY, Zhao ZG, 2024. Myosuppressin signaling deficiency affects

- ovarian development via repression of 20-hydroxyecdysone biosynthesis in *Grapholita molesta*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 205: 106116.
- Cheng J, Zhao P, Zhu L, Zhu F, Tian ZQ, Shen ZJ, Liu XM, Liu XX, 2022. Corazonin signaling modulates the synthetic activity of male accessory gland in *Grapholita molesta*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 216: 446–455.
- Cooper AM, Song HF, Yu ZT, Biondi M, Bai J, Shi XK, Ren ZY, Weerasekara SM, Hua DH, Silver K, Zhang JZ, Zhu KY, 2021. Comparison of strategies for enhancing RNA interference efficiency in *Ostrinia nubilalis*. *Pest Management Science*, 77(2): 635–645.
- Dong Y, Chen WW, Kang K, Pang R, Dong YP, Liu K, Zhang WQ, 2021. FoxO directly regulates the expression of TOR/S6K and vitellogenin to modulate the fecundity of the brown planthopper. *Science China Life Sciences*, 64(1): 133–143.
- Dong Y, Wu MT, Zhang Q, Fu JQ, Vanessa Loiacono F, Yang Y, Wang ZC, Li SC, Chang L, Bock R, Zhang J, 2022. Control of a sap-sucking insect pest by plastid-mediated RNA interference. *Molecular Plant*, 15(7): 1176–1191.
- Dong Y, Yang Y, Wang ZC, Wu MT, Fu JQ, Guo JY, Chang L, Zhang J, 2020. Inaccessibility to double-stranded RNAs in plastids restricts RNA interference in *Bemisia tabaci* (whitefly). *Pest Management Science*, 76(9): 3168–3176.
- Du H, Wang XW, 2022. Research progress on saliva of herbivorous insects regulating insect-plant interactions. *Journal of Plant Protection*, 49(1): 184–197. [都慧, 王晓伟, 2022. 植食性昆虫唾液调控昆虫-植物互作的研究进展. 植物保护学报, 49(1): 184–197.]
- Fan YH, Song HF, Abbas M, Wang YL, Liu XJ, Li T, Ma EB, Zhu KY, Zhang JZ, 2022. The stability and sequence cleavage preference of dsRNA are key factors differentiating RNAi efficiency between migratory locust and Asian corn borer. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 143: 103738.
- Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC, 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 391(6669): 806–811.
- Gao Z, Rensing C, Wang J, Shen CH, Elzaki MEA, Li XY, Tan JF, Jiang XQ, 2025. Increased and synergistic RNAi delivery using MOF polydopamine nanoparticles for biopesticide applications. *Nature Communications*, 16(1): 6384.
- Gao ZJ, Xie MX, Gui SY, He MY, Lu YY, Wang LL, Chen JY, Smagghe G, Gershenson J, Cheng DF, 2023. Differences in rectal amino acid levels determine bacteria-originated sex pheromone specificity in two closely related flies. *The ISME Journal*, 17(10): 1741–1750.
- Guan RB, Li HC, Miao XX, 2022. Commercialization status and existing problems of RNA-based biopesticides. *Scientia Agricultura Sinica*, 55(15): 2949–2960. [关若冰, 李海超, 苗雪霞, 2022. RNA 生物农药的商业化现状及存在问题. 中国农业科学, 55(15): 2949–2960.]
- Guan RB, Hu SR, Li HC, Shi ZY, Miao XX, 2018. The *in vivo* dsRNA cleavage has sequence preference in insects. *Frontiers in Physiology*, 9: 1768.
- Guo H, Mo BT, Li GC, Li ZL, Huang LQ, Sun YL, Dong JF, Smith DP, Wang CZ, 2022. Sex pheromone communication in an insect parasitoid, *Campoletis chlorideae* Uchida. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(49): e2215442119.
- Guo JP, Wang HY, Guan W, Guo Q, Wang J, Yang J, Peng YX, Shan JH, Gao MY, Shi SJ, Shangguan XX, Liu BF, Jing SL, Zhang J, Xu CX, Huang J, Rao WW, Zheng XH, Wu D, Zhou C, Du B, Chen RZ, Zhu LL, Zhu YX, Walling LL, Zhang QF, He GC, 2023. A tripartite rheostat controls self-regulated host plant resistance to insects. *Nature*, 618(7966): 799–807.
- Guo X, Gao L, Li S, Wang P, Liu X, Li B, Li K, Zhang L, Wang X, Yang P, Zhu K, Liu C, Wang S, Liu F, Wang W, Zhang W, Li S, Guo J, Liu Y, Chen X, Wang Y, Chen H, Liu Y, Yang Q, Guo Y, Liu X, Chen J, Wang H, Wang Y, Wang X, Yan R, Fan J, Zhang J, Wang Z, Yang M, Li H, Swevers L, Yang Z, Zhou S, 2025. Decoding 4-vinylanisole biosynthesis and pivotal enzymes in locusts. *Nature*, 644: 420–429.
- Guo XJ, Yu QQ, Chen DF, Wei JN, Yang PC, Yu J, Wang XH, Kang L, 2020. 4-Vinylanisole is an aggregation pheromone in locusts. *Nature*, 584(7822): 584–588.
- Gurusamy D, Mogilicherla K, Palli SR, 2020. Chitosan nanoparticles help double-stranded RNA escape from endosomes and improve RNA interference in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 104(4): e21677.
- Gui SY, Yuval B, Engl T, Lu YY, Cheng DF, 2023. Protein feeding mediates sex pheromone biosynthesis in an insect. *eLife*, 12: e83469.
- He BC, Chu Y, Yin MZ, Müllen K, An CJ, Shen J, 2013. Fluorescent nanoparticle delivered dsRNA toward genetic control of insect pests. *Advanced Materials*, 25(33): 4580–4584.
- Head GP, Carroll MW, Evans SP, Rule DM, Willse AR, Clark TL, Storer NP, Flannagan RD, Samuel LW, Meinke LJ, 2017. Evaluation of SmartStax and SmartStax PRO maize against western corn rootworm and northern corn rootworm: Efficacy

- and resistance management. *Pest Management Science*, 73(9): 1883–1899.
- Hu J, Cui H, Hong MS, Xia YX, Zhang WQ, 2022. The *Metarhizium anisopliae* strains expressing dsRNA of the NICHSA enhance virulence to the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Agriculture*, 12(9): 1393.
- Jain RG, Fletcher SJ, Manzie N, Robinson KE, Li P, Lu E, Brosnan CA, Xu ZP, Mitter N, 2022. Foliar application of clay-delivered RNA interference for whitefly control. *Nature Plants*, 8(5): 535–548.
- Jin SX, Singh ND, Li LB, Zhang XL, Daniell H, 2015. Engineered chloroplast dsRNA silences cytochrome P450 monooxygenase, V-ATPase and chitin synthase genes in the insect gut and disrupts *Helicoverpa zea* larval development and pupation. *Plant Biotechnology Journal*, 13(3): 435–446.
- Kaur R, Gupta M, Singh S, Joshi N, Sharma A, 2020. Enhancing RNAi efficiency to decipher the functional response of potential genes in *Bemisia tabaci* AsiaII-1 (Gennadius) through dsRNA feeding assays. *Frontiers in Physiology*, 11: 123.
- Khan AM, Ashfaq M, Khan AA, Naseem MT, Mansoor S, 2018. Evaluation of potential RNA-interference-target genes to control cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Insect Science*, 25(5): 778–786.
- Khajuria C, Ivashuta S, Wiggins E, Flagel L, Moar W, Pleau M, Miller K, Zhang YJ, Ramaseshadri P, Jiang CJ, Hodge T, Jensen P, Chen M, Gowda A, McNulty B, Vazquez C, Bolognesi R, Haas J, Head G, Clark T, 2018. Development and characterization of the first dsRNA-resistant insect population from western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *PLoS ONE*, 13(5): e0197059.
- Koči J, Ramaseshadri P, Bolognesi R, Segers G, Flannagan R, Park Y, 2014. Ultrastructural changes caused by *Snf7* RNAi in larval enterocytes of western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte). *PLoS ONE*, 9(1): e83985.
- Leonard SP, Elijah Powell J, Perutka J, Geng P, Heckmann LC, Horak RD, Davies BW, Ellington AD, Barrick JE, Moran NA, 2020. Engineered symbionts activate honey bee immunity and limit pathogens. *Science*, 367(6477): 573–576.
- Li D, Mao J, Li C, Zhang WQ, 2020. Screening of safe and efficient RNAi target genes and the control effects of a *Snf7* homologous gene in the brown planthopper. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni (Natural Science Edition)*, 59(6): 1–11. [黎丹, 毛婕, 李灿, 张文庆, 2020. 褐飞虱安全高效 RNAi 靶基因的筛选及 *Snf7* 同源基因的控害效果. 中山大学学报(自然科学版), 59(6): 1–11.]
- Li T, Chen J, Fan X, Chen W, Zhang W, 2017. MicroRNA and dsRNA targeting *chitin synthase A* reveal a great potential for pest management of the hemipteran insect *Nilaparvata lugens*. *Pest Management Science*, 73(7): 1529–1537.
- Li XL, Wang ZH, Chen JX, Teng HB, Yang XR, Ye L, Jiang YL, Chen HM, Cheng DF, Lu YY, 2024. Molecular module for glucose production influences sex pheromone synthesis in *Bactrocera dorsalis*. *Cell Reports*, 43(12): 115030.
- Li YQ, Bai LS, Zhao CX, Xu JJ, Sun ZJ, Dong YL, Li DX, Liu XL, Ma ZQ, 2020. Functional characterization of two *carboxylesterase* genes involved in pyrethroid detoxification in *Helicoverpa armigera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(11): 3390–3402.
- Li-Byarlay H, Li Y, Stroud H, Feng SH, Newman TC, Kaneda M, Hou KK, Worley KC, Elsik CG, Wickline SA, Jacobsen SE, Ma J, Robinson GE, 2013. RNA interference knockdown of DNA methyl-transferase 3 affects gene alternative splicing in the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(31): 12750–12755.
- Liu FZ, Yang B, Zhang AH, Ding DR, Wang GR, 2019. Plant-mediated RNAi for controlling *Apolygus lucorum*. *Frontiers in Plant Science*, 10: 64.
- Liu JS, He QY, Lin XF, Smaghe G, 2025. Recent progress in nanoparticle-mediated RNA interference in insects: Unveiling new frontiers in pest control. *Journal of Insect Physiology*, Doi: 10.1016/j.jinsphys.2025.104884.
- Liu XJ, Li F, Li DQ, Ma EB, Zhang WQ, Zhu KY, Zhang JZ, 2013. Molecular and functional analysis of UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylases from the migratory locust, *Locusta migratoria*. *PLoS ONE*, 8(8): e71970.
- Lu CC, Li H, Zhang XQ, Wang L, Chen YX, Tian HJ, Lin S, Zhang J, Chen Y, Wei H, 2019. Cloning and functional analysis of chitin synthase *UAP* gene in *Frankliniella occidentalis*. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 34(12): 1419–1425. [陆承聪, 李恒, 张祥琴, 王谅, 陈艺欣, 田厚军, 林硕, 张洁, 陈勇, 魏辉, 2019. 西花蓟马几丁质合成酶 *UAP* 基因克隆及功能分析. 福建农业学报, 34(12): 1419–1425.]
- Lyu ZH, Cai YS, Li SH, Liu JH, Lei X, Liu B, Zhang WQ, 2025a. dsOMG: A web-generator to minimize off-target risk in double-stranded RNA-mediated RNAi. *Entomologia Generalis*, 45(4): 1017–1028.
- Lyu ZH, Chen JX, Lyu J, Guo PP, Liu JH, Liu JH, Zhang WQ, 2024. Spraying double-stranded RNA targets *UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase* in the control of *Nilaparvata lugens*. *International Journal of Biological*

- Macromolecules*, 271: 132455.
- Lyu ZH, Sun JW, Zhang CC, Luo MS, Zhang WQ, 2025b. Analysis of factors affecting RNAi effect and off-target risk in pest control: A case study in *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Generalis*, 45(1): 195–203.
- Lyu ZH, Xiong MX, Mao J, Li WX, Jiang GB, Zhang WQ, 2023. A dsRNA delivery system based on the rosin-modified polyethylene glycol and chitosan induces gene silencing and mortality in *Nilaparvata lugens*. *Pest Management Science*, 79(4): 1518–1527.
- Ma ZZ, Zheng Y, Chao ZJ, Chen HT, Zhang YH, Yin MZ, Shen J, Yan S, 2022. Visualization of the process of a nanocarrier-mediated gene delivery: Stabilization, endocytosis and endosomal escape of genes for intracellular spreading. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1): 124.
- Mao YB, Cai WJ, Wang JW, Hong GJ, Tao XY, Wang LJ, Huang YP, Chen XY, 2007. Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol. *Nature Biotechnology*, 25(11): 1307–1313.
- Mao YB, Tao XY, Xue XY, Wang LJ, Chen XY, 2011. Cotton plants expressing *CYP6AE14* double-stranded RNA show enhanced resistance to bollworms. *Transgenic Research*, 20(3): 665–673.
- Meng XK, Miao LJ, Dong F, Wang JJ, 2019. Research progress on acetylcholinesterase in invertebrates. *Journal of Environmental Entomology*, 41(3): 508–519. [孟祥坤, 缪丽君, 董帆, 王建军, 2019. 无脊椎动物乙酰胆碱酯酶研究进展. 环境昆虫学报, 41(3): 508–519.]
- Mishra S, Dee J, Moar W, Dufner-Beattie J, Baum J, Dias NP, Alyokhin A, Buzza A, Rondon SI, Clough M, Menasha S, Groves R, Clements J, Ostlie K, Felton G, Waters T, Snyder WE, Jurat-Fuentes JL, 2021. Selection for high levels of resistance to double-stranded RNA (dsRNA) in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) using non-transgenic foliar delivery. *Scientific Reports*, 11(1): 6523.
- Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R, 1990. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes *in trans*. *The Plant Cell*, 2(4): 279–289.
- Ni M, Ma W, Wang XF, Gao MJ, Dai Y, Wei XL, Zhang L, Peng YG, Chen SY, Ding LY, Tian Y, Li J, Wang HP, Wang XL, Xu GW, Guo WZ, Yang YH, Wu YD, Heuberger S, Tabashnik BE, Zhang TZ, Zhu Z, 2017. Next-generation transgenic cotton: Pyramiding RNAi and Bt counters insect resistance. *Plant Biotechnology Journal*, 15(9): 1204–1213.
- Palli SR, 2023. RNAi turns 25: Contributions and challenges in insect science. *Frontiers in Insect Science*, 3: 1209478.
- Pallis S, Alyokhin A, Manley B, Rodrigues T, Barnes E, Narva K, 2023. Effects of low doses of a novel dsRNA-based biopesticide (Calantha) on the Colorado potato beetle. *Journal of Economic Entomology*, 116(2): 456–461.
- Pan CY, Cai YJ, Li TC, Zhang WQ, 2016. Control effect of *Metarhizium anisopliae* and its mixture with dsRNA on *Nilaparvata lugens*. *Journal of Environmental Entomology*, 38(6): 1071–1077. [潘春艳, 蔡尤俊, 李腾超, 张文庆, 2016. 绿僵菌及其与 dsRNA 混合使用对褐飞虱的防治效果. 环境昆虫学报, 38(6): 1071–1077.]
- Pang R, Chen M, Liang ZK, Yue XZ, Ge H, Zhang WQ, 2016. Functional analysis of CYP6ER1 a P450 gene associated with imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Scientific Reports*, 6: 34992.
- Pavlidis N, Vontas J, Van Leeuwen T, 2018. The role of glutathione S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. *Current Opinion in Insect Science*, 27: 97–102.
- Peng TF, Pan YO, Yang C, Gao XW, Xi JH, Wu YQ, Huang X, Zhu E, Xin XC, Zhan C, Shang QL, 2016. Over-expression of CYP6A2 is associated with spirotetramat resistance and cross-resistance in the resistant strain of *Aphis gossypii* Glover. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 126: 64–69.
- Qiao XF, Zhang XH, Peng X, Chen MH, 2023. Research progress on new mechanism of CSP-mediated pest resistance. *Journal of Environmental Entomology*, 45(2): 360–366. [乔宪凤, 张晓赫, 彭雄, 陈茂华, 2023. CSP 介导的害虫抗药性新机制研究进展. 环境昆虫学报, 45(2): 360–366.]
- Qiu L, Sun Y, Jiang Z, Yang P, Liu H, Zhou H, Wang X, Zhang W, Lin Y, Ma W, 2019. The midgut *V-ATPase subunit A* gene is associated with toxicity to *crystal 2Aa* and *crystal 1Ca*-expressing transgenic rice in *Chilo suppressalis*. *Insect Molecular Biology*, 28(4): 520–527.
- Ramaseshadri P, Segers G, Flannagan R, Wiggins E, Clinton W, Ilagan O, McNulty B, Clark T, Bolognesi R, 2013. Physiological and cellular responses caused by RNAi-mediated suppression of *Snf7* orthologue in western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*) larvae. *PLoS ONE*, 8(1): e54270.
- Reinders JD, Moar WJ, Head GP, Hassan S, Meinke LJ, 2023. Effects of SmartStax® and SmartStax® PRO maize on western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) larval feeding injury and adult life history parameters. *PLoS ONE*, 18(7): e0288372.
- Schmitt-Engel C, Schultheis D, Schwirz J, Ströhlein N, Troelenberg N, Majumdar U, Dao VA, Grossmann D, Richter T, Tech M,

- Dönitz J, Gerischer L, Theis M, Schild I, Trauner J, Koniszewski NDB, Küster E, Kittelmann S, Hu YG, Lehmann S, Siemanowski J, Ulrich J, Panfilio KA, Schröder R, Morgenstern B, Stanke M, Buchholz F, Frasch M, Roth S, Wimmer EA, Schoppmeier M, Klingler M, Bucher G, 2015. The iBeetle large-scale RNAi screen reveals gene functions for insect development and physiology. *Nature Communications*, 6: 7822.
- Shan JQ, Sun X, Li R, Zhu B, Liang P, Gao XW, 2021. Identification of *ABCG* transporter genes associated with chlorantraniliprole resistance in *Plutella xylostella* (L.). *Pest Management Science*, 77(7): 3491–3499.
- Stokstad E, 2024. The perfect pesticide? *Science*, 384(6703): 1398–1401.
- Tabashnik BE, Carrière Y, 2025. Rootworm resistance to Bt associated with increased injury to corn pyramids combining Bt proteins and RNA interference. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 122(38): e2518683122.
- Tang B, Wang S, Wang SG, Wang HJ, Zhang JY, Cui SY, 2018. Invertebrate *trehalose-6-phosphate synthase* gene: Genetic architecture, biochemistry, physiological function, and potential applications. *Frontiers in Physiology*, 9: 30.
- Taning CN, Arpaia S, Christiaens O, Dietz-Pfeilstetter A, Jones H, Mezzetti B, Sabbadini S, Sorteberg HG, Sweet J, Ventura V, Smagghe G, 2020. RNA-based biocontrol compounds: Current status and perspectives to reach the market. *Pest Management Science*, 76(3): 841–845.
- Tian HG, Peng H, Yao Q, Chen HX, Xie Q, Tang B, Zhang WQ, 2009. Developmental control of a lepidopteran pest *Spodoptera exigua* by ingestion of bacteria expressing dsRNA of a non-midgut gene. *PLoS ONE*, 4(7): e6225.
- Tian HG, Zhang WQ, 2012. Progress and prospects of RNAi technology in entomology. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(2): 309–316. [田宏刚, 张文庆, 2012. RNAi 技术在昆虫学中的研究进展及展望. 应用昆虫学报, 49(2): 309–316.]
- Wang B, Dong WY, Li HM, D'Onofrio C, Bai PH, Chen RP, Yang LL, Wu JN, Wang XQ, Wang B, Ai D, Knoll W, Pelosi P, Wang GR, 2022. Molecular basis of (E)- β -farnesene-mediated aphid location in the predator *Eupeodes corollae*. *Current Biology*, 32(5): 951–962.e7.
- Wang XG, Chen YQ, Gong CW, Yao XG, Jiang CX, Yang QF, 2018. Molecular identification of four novel cytochrome P450 genes related to the development of resistance of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole. *Pest Management Science*, 74(8): 1938–1952.
- Whitten MMA, Facey PD, Del Sol R, Fernández-Martínez LT, Evans MC, Mitchell JJ, Bodger OG, Dyson PJ, 2016. Symbiont-mediated RNA interference in insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1825): 20160042.
- Wu HX, Li ZS, Zhong ZC, Guo YJ, He LY, Xu XX, Mao YJ, Tang DY, Zhang WQ, Jin FL, Pang R, 2025. Insect cytochrome P450 database: An integrated resource of genetic diversity, evolution and function. *Molecular Ecology Resources*, 25(4): e14070.
- Wu MT, Dong Y, Zhang Q, Li SC, Chang L, Vanessa Loiacono F, Ruf S, Zhang J, Bock R, 2022. Efficient control of western flower *Thrips* by plastid-mediated RNA interference. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(15): e2120081119.
- Xia J, Guo Z, Yang Z, Han H, Wang S, Xu H, Yang X, Yang F, Wu Q, Xie W, Zhou X, Dermauw W, Turlings TCJ, Zhang Y, 2021. Whitefly hijacks a plant detoxification gene that neutralizes plant toxins. *Cell*, 184(7): 1693–1705.
- Xi Y, Pan PL, Ye YX, Yu B, Xu HJ, Zhang CX, 2015. Chitinase-like gene family in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Molecular Biology*, 24(1): 29–40.
- Xia Y, Zhang T, Ni XK, Zhu Y, Chen Q, Bamu AF, Dai H, Lin XD, 2025. Engineered RNA nanostructures for scalable and efficient RNAi-based pesticides. *Trends in Biotechnology*, Doi: 10.1016/j.tibtech.2025.07.027.
- 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, Frederik Nijhout H, Zhang CX, 2015. Two insulin receptors determine alternative wing morphs in planthoppers. *Nature*, 519(7544): 464–467.
- Xu LT, Xu SJ, Sun LW, Zhang YQ, Luo J, Bock R, Zhang J, 2021. Synergistic action of the gut microbiota in environmental RNA interference in a leaf beetle. *Microbiome*, 9(1): 98.
- Yan S, Shen J, 2019. Application and prospect of nanotechnology in green pest control. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(4): 617–624. [闫硕, 沈杰, 2019. 纳米技术在害虫绿色防控领域的应用与展望. 应用昆虫学报, 56(4): 617–624.]
- Yu R, Xu XP, Liang YK, Tian HG, Pan ZQ, Jin SH, Wang N, Zhang WQ, 2014. The insect ecdysone receptor is a good potential target for RNAi-based pest control. *International Journal of Biological Sciences*, 10(10): 1171–1180.
- Yu SJ, Pan Q, Luo R, Wang CL, Cheng LY, Yang JS, Zhou HN, Hou DY, Liu HQ, Ran C, 2019. Expression of exogenous dsRNA by *Lecanicillium attenuatum* enhances its virulence to *Dialeurodes citri*. *Pest Management Science*, 75(4): 1014–1023.
- Zeng XC, Pan YO, Song JB, Li JY, Lv YT, Gao XW, Tian FY, Peng

- TF, Xu HF, Shang QL, 2021. Resistance risk assessment of the ryanoid anthranilic diamide insecticide cyantraniliprole in *Aphis gossypii* Glover. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(21): 5849–5857.
- Zha WJ, Peng XX, Chen RZ, Du B, Zhu LL, He GC, 2011. Knockdown of midgut genes by dsRNA-transgenic plant-mediated RNA interference in the hemipteran insect *Nilaparvata lugens*. *PLoS ONE*, 6(5): e20504.
- Zhang J, Khan SA, Hasse C, Ruf S, Heckel DG, Bock R, 2015. Full crop protection from an insect pest by expression of long double-stranded RNAs in plastids. *Science*, 347(6225): 991–994.
- Zhang RB, Wang B, Grossi G, Falabella P, Liu Y, Yan SC, Lu J, Xi JH, Wang GR, 2017. Molecular basis of alarm pheromone detection in aphids. *Current Biology*, 27(1): 55–61.
- Zhang WQ, Wang GR, 2021. RNA Interference: From Gene Function to Biopesticides. Beijing: Science Press. 61–72. [张文庆, 王桂荣. 2021. RNA 干扰从基因功能到生物农药. 北京: 科学出版社. 61–72.]
- Zhang X, Zhang J, Zhu KY, 2010. Chitosan/double-stranded RNA nanoparticle-mediated RNA interference to silence chitin synthase genes through larval feeding in the African malaria mosquito (*Anopheles gambiae*). *Insect Molecular Biology*, 19(5): 683–693.
- Zhang XS, Wei L, Zhang W, Zhang FX, Li L, Li L, Wen YJ, Zhang JH, Liu SN, Yuan DW, Liu YM, Ren CH, Li S, 2024. ERK-activated CK-2 triggers blastema formation during appendage regeneration. *Science Advances*, 10(12): eadk8331.
- Zhang JZ, Li S, Li T, Wang YL, 2025. Biosynthesis and industrial status of RNA pesticides. *Trends Emerging Science and Technology Trends*, 4(1): 13–20. [张建珍, 李帅, 李涛, 王艳丽, 2025. RNA 农药的生物合成与产业现状. 新兴科学技术趋势, 4(1): 13–20.]
- Zheng Y, Hu Y, Yan S, Zhou H, Song D, Yin M, Shen J, 2019. A polymer/detergent formulation improves dsRNA penetration through the body wall and RNAi-induced mortality in the soybean aphid *Aphis glycines*. *Pest Management Science*, 75(7): 1993–1999.
- Zhu KY, Palli SR, 2020. Mechanisms, applications, and challenges of insect RNA interference. *Annual Review of Entomology*, 65: 293–311.
- Zhuo JC, Zhang HH, Hu QL, Zhang JL, Lu JB, Li HJ, Xie YC, Wang WW, Zhang Y, Wang HQ, Huang HJ, Lu G, Chen JP, Li JM, Tu ZJ, Zhang CX, 2021. A feminizing switch in a hemimetabolous insect. *Science Advances*, 7(48): eabf9237.
- Zotti M, Dos Santos EA, Cagliari D, Christiaens O, Taning CNT, Smagghe G, 2018. RNA interference technology in crop protection against arthropod pests, pathogens and nematodes. *Pest Management Science*, 74(6): 1239–1250.