



林天然, 魏雅珍, 杨晓敏, 蒋桂花, 蒋代兵, 李亮生, 彭凌飞. RNAi在昆虫学研究中的递送方法及影响递送效率的因素 [J]. 环境昆虫学报, 2026, 48 (2): 336–345. LIN Tian-Ran, WEI Ya-Zhen, YANG Xiao-Min, JIANG Gui-Hua, JIANG Dai-Bing, LI Liang-Sheng, PENG Ling-Fei. Delivery methods of RNAi in entomological research and factors affecting delivery efficiency [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2026, 48 (2): 336–345.

RNAi在昆虫学研究中的递送方法及影响递送效率的因素

林天然^{1*}, 魏雅珍^{2*}, 杨晓敏², 蒋桂花³, 蒋代兵¹, 李亮生³, 彭凌飞^{2**}

(1. 福建省烟草公司龙岩市公司, 福建龙岩 364000; 2. 福建农林大学植物保护学院, 福州 350002;
3. 龙岩市烟草公司连城分公司, 福建连城 366200)

摘要: RNA干扰 (RNAi) 是一种由双链RNA (dsRNA) 介导的基因沉默现象, 该技术为生物学领域带来了重大变革, 在基因功能研究、医疗、农业等各个领域均表现出巨大价值。RNAi对靶标基因的干扰效率受多重因素影响, 其中dsRNA的递送方法对其影响很大。在昆虫学研究中, dsRNA的递送通常可通过注射、饲喂、体壁渗透 (浸泡或喷洒)、转基因植物介导等方法进行, 进而鉴别其基因功能或者进行其他应用开发。本文对这些递送方法进行了综述, 并对影响dsRNA递送效率的一些关键因素进行了分析, 以为众多的昆虫学研究以及该技术的应用方法提供参考。

关键词: RNAi; dsRNA; 递送; 研究方法

中图分类号: Q963

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2026) 02-0336-10

Delivery methods of RNAi in entomological research and factors affecting delivery efficiency

LIN Tian-Ran^{1*}, WEI Ya-Zhen^{2*}, YANG Xiao-Min², JIANG Gui-Hua³, JIANG Dai-Bing¹, LI Liang-Sheng³, PENG Ling-Fei^{2**} (1. Longyan Branch of Fujian Tobacco Company, Longyan 364000, Fujian Province, China; 2. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. Liancheng Branch of Longyan Tobacco Company, Liancheng 366200, Fujian Province, China)

Abstract: RNA interference (RNAi) is a gene silencing phenomenon caused by double-stranded RNA (dsRNA), which has brought about significant changes to the field of biology, and demonstrated great value in various areas such as gene function research, medicine, and agriculture. The efficiency of RNAi in interfering with target genes is influenced by multiple factors, among which the delivery method of dsRNA plays a crucial role. In entomological research, dsRNA can be delivered through methods such as injection, feeding, cuticle penetration (soaking or spraying), and transgenic plant-mediated delivery, enabling the identification of gene functions or other application developments. This article reviews these delivery methods and analyzes some key factors affecting dsRNA delivery efficiency, in order to provide references for numerous entomological studies and the application methodologies of this technology.

Key words: RNAi; dsRNA; delivery; research methodology

基金项目: 中国烟草总公司福建省公司项目 (2022350000240068); 福建省烟草公司龙岩市公司项目 (2022350800240090)

*共同第一作者: 林天然, 硕士, 高级农艺师, 从事烟草病虫害防治工作, E-mail: chltr@126.com; 魏雅珍, 硕士研究生, 研究方向为害虫生物防治, E-mail: 2698518236@qq.com

**通讯作者 Author for correspondence: 彭凌飞, 博士, 副教授, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: lingfeipeng@fafu.edu.cn

收稿日期 Received: 2025-07-09; 修回日期 Revision received: 2025-09-10; 接受日期 Accepted: 2025-09-12

1 RNAi技术的发现与作用机制

RNA干扰(RNA interference, RNAi)是双链核糖核酸(double-stranded RNA, dsRNA)介导特异性沉默靶基因的转录或转录后水平的基因调控现象,最早在植物学研究中发现,Napoli等在矮牵牛 *Petunia hybrida* 中首次观察到一种“共抑制”现象:将外源查尔酮合酶(Chalcone synthase, CHS)基因转入植株后,内源CHS基因与转入基因的表达竟同时被抑制,花冠颜色由紫变白。这一结果在当时被视为“基因沉默的意外”,却为RNAi的发现埋下伏笔(Napoli *et al.*, 1990)。1995年,有研究者试图将反义RNA注射进线虫体腔内,以干扰 *par-1* 基因的表达,发现反义RNA(Anti sense RNA)和正义RNA(Sense RNA)均可抑制该基因的表达,更奇怪的是,两种单链RNA混合物的沉默效率远高于单独使用反义链的沉默效率。这一“无法用传统反义机制解释”的现象,使他们推测真正起作用的可能是试验过程中无意形成的微量双链RNA(dsRNA)。然而他们受限于当时对RNA结构及细胞内RNA监视系统认识的不足,该团队未能进一步揭示dsRNA的作用本质(Guo *et al.*, 1995)。1998年,Andrew Fire和Craig Mello发表了一篇开创性论文,以严谨的对照试验证实:只有dsRNA才是触发线虫高效基因沉默的真正原因。他们将体外合成的dsRNA注入线虫体腔,发现0.4 ng/ μ L的dsRNA即可在子代中造成90%以上的靶基因沉默,而等量单链RNA几乎无效,揭示了双链RNA(dsRNA)是秀丽隐杆线虫转录后基因沉默(Post-Transcriptional Gene Silencing, PTGS)的致病因子,这种dsRNA是在转录正义RNA时形成的(Fire *et al.*, 1998),他们将这一现象称为RNA干扰(RNAi),由于这一重大发现,两人于2006年获得诺贝尔生理医学奖。RNAi的发现解释了植物和真菌中令人费解的基因沉默观察结果,并开启了一场生物学革命,这种dsRNA会导致生物体内靶标基因mRNA表达量的降低,从而导致基因沉默。2002年,Bettencourt和Terenius首次将RNAi技术应用于昆虫——在家蚕 *Hyalophora cecropia* 蛹中注射dsRNA,成功沉默了 *Hemolin* 基因,导致下一代胚胎100%死亡(Bettencourt *et al.*, 2002)。同年,Bucher团队通过显微注射dsRNA干扰赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 的 *Distal-less* 基因,

观察到成虫附肢发育异常,证明RNAi可高效应用于非模式昆虫(Bucher *et al.*, 2002)。众多科研人员已经证实RNAi技术能够有效抑制特定基因的表达,进而引发目标昆虫发育异常、生长停滞等表型变化,严重时可导致个体死亡。这种基于核酸水平的调控方法为害虫防治提供了全新的思路。RNAi技术在昆虫中最早的研究是使用dsRNA干扰进行表型无效突变的方法,表明RNAi可用于果蝇 *Drosophila* 和赤拟谷盗中同源物的表型突变(Brown *et al.*, 1999)。

RNAi是一个进化高度保守且功能多效的基因沉默通路,被认为是生物进化过程中保留下来的抑制转座子活动、抵抗病毒侵入和调节基因表达的一种有效机制。随着对线虫、拟南芥、脉孢菌、果蝇等模式生物RNAi的深入研究,科学家逐步揭示了RNAi的作用机制,发现了RNAi过程中重要的分子和元件,例如:起干扰作用的短/小干扰RNA(Small interfering RNA, siRNA);切割dsRNA产生siRNA的Dicer酶;起放大干扰效果的RNA依赖的RNA聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)等。功能层面, RNAi通过dsRNA识别、加工及靶向降解的级联反应,可有效抑制转座元件活性、阻断病毒复制循环并微调宿主基因表达网络(Jadhav *et al.*, 2024)。

目前,一般认为RNAi的核心通路有3种:短/小干扰RNA(siRNA)、微小RNA(microRNA, miRNA)和piwi互作RNA(Piwi-interaction RNA, piRNA),这些通路所涉及的步骤如图1(Zhu *et al.*, 2020)所示。当外源dsRNA跨越细胞膜进入细胞后被识别,随后被RNase III酶Dicer切割,产生20~25 bp的小RNA双链,该过程依赖于Dicer的PAZ(PIWI-Argonaute-Zwille结构域)、解旋酶及RNase III结构域协同构象变化,并在ATP存在时完成精确尺度的切割。所得的产物可分为两类:一是miRNA,由内源基因转录物加工而成,并在转录后水平精细调控发育、代谢及胁迫等相关重要作用(Asgari, 2013);二是源自dsRNA分子的siRNA, siRNA与RNA诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)在ATP供能的情况下结合,寻找到与siRNA序列互补的靶mRNA进行切割,使mRNA降解,最终达到降低mRNA表达水平的作用(Bucher *et al.*, 2002)。值得注意的是,尽管3种通路在底物来源、加工酶系及效应

蛋白上存在差异, 但均共享 Dicer 或 Dicer 样蛋白、Argonaute 家族蛋白以及 ATP 依赖性解旋机制。这一核心模块的保守性也解释了为何从酵母到昆虫再到高等植物, 均具备功能完备的 RNAi 系统, 并

可被外源 dsRNA 有效激活, 用于基因功能解析或害虫防治 (Christiaens *et al.*, 2014)。大多数真核生物以及动植物, 都具有 Dicer 酶和 Argonaute 蛋白, 并有 RNAi 机制 (Shabalina *et al.*, 2008)。

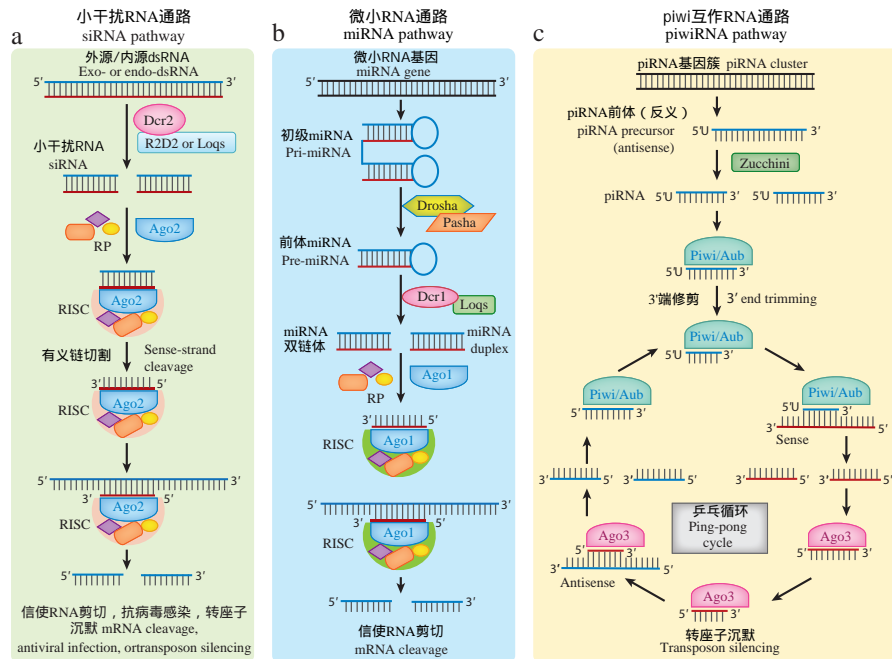


图1 昆虫3个不同RNAi途径的机制 (图片来自 Zhu *et al.*, 2020)

Fig. 1 Mechanism of three kinds of RNAi pathway in insects (From Zhu *et al.*, 2020)

然而, RNAi的效率在不同生物体 (Zhu *et al.*, 2020)、组织 (Wynant *et al.*, 2012) 和靶基因 (Christiaens *et al.*, 2020) 之间均呈现出明显差异, 已经成为 RNAi 技术从实验室走向田间应用的瓶颈。一般来说, 鞘翅目昆虫普遍表现出较高的 RNAi 敏感性, 而鳞翅目、双翅目、膜翅目和半翅目昆虫对 dsRNA 敏感性则相对较低 (Cooper *et al.*, 2019)。人们提出了许多假设来解释昆虫之间 RNAi 效率的差异: dsRNA 的不稳定性、dsRNA 内化不完全、核心 RNAi 机制缺陷、RNAi 信号的全身传播受损、以及难降解的靶基因等都被认为是限制 RNAi 效率的关键因素 (Cooper *et al.*, 2019)。相比鳞翅目昆虫, 鞘翅目昆虫摄取的 dsRNA 通过内吞作用和其他 dsRNA 转运体被肠道上皮细胞吸收, 然后被释放到细胞质中加工成 siRNA 以触发 RNAi, 而不会在内涵体中大量积聚 (Shukla *et al.*, 2016) (图2)。多组学证据指出, 限制敏感性的首要关卡在于 dsRNA 的体内稳定性: 鳞翅目中肠液富含高活性 dsRNase, 可在 30 min 内降解 90% 以上的裸露 dsRNA, 而鞘翅目同时间段降解率不足

20%; 且鳞翅目血清中存在一类 30~40 kDa 的 RNA 结合抑制因子, 可与 dsRNA 形成非功能性复合物, 进一步削弱有效浓度 (Wang *et al.*, 2016)。此外, 系统传播能力也决定全身沉默深度——在鞘翅目血腔中, dsRNA 可稳定存在 24~48 h, 并随血淋巴流动到达神经节与脂肪体; 而鳞翅目血淋巴富含脂多糖结合蛋白, 可与 dsRNA 形成 200~400 nm 的聚集颗粒, 加速肝样细胞清除, 致使半衰期缩短至 4~6 h。 (Yoon *et al.*, 2018)。同时, Dicers 结构和活性的差异及其底物的特异性, 可能导致昆虫在处理 dsRNA 到 siRNA 的过程中存在显著差异。最后, 靶基因自身的结构特征亦不可忽视: 高 GC 含量或复杂二级结构的 mRNA 对 RISC 切割表现出更强的耐受性, 该现象在 dsRNA 剂量受限的低敏感昆虫中尤为突出 (Miller *et al.*, 2012)。昆虫 RNAi 效率的差异是多层次、多环节协同作用的结果, 亟需从 dsRNA 递送载体设计、核酸酶抑制、膜转运蛋白工程及靶序列优化等维度系统突破 (Cao *et al.*, 2018)。

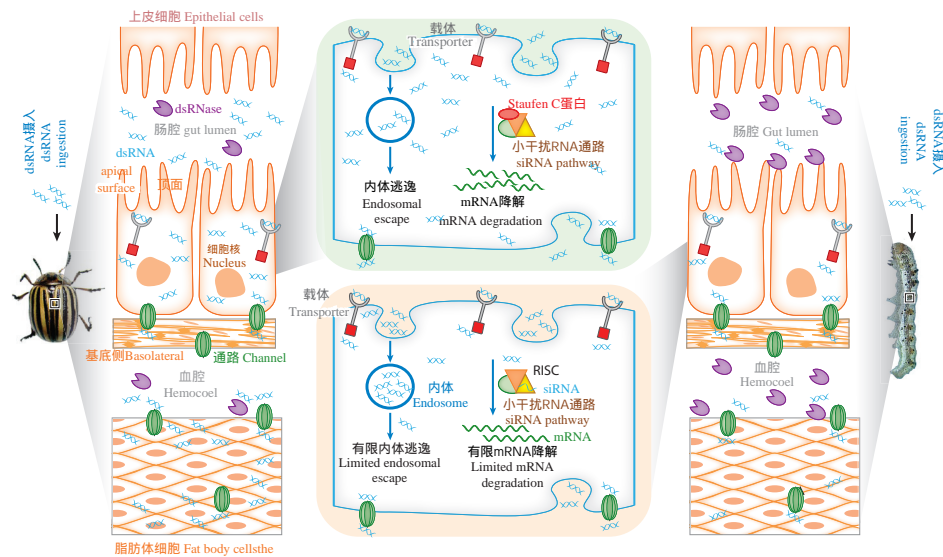


图2 鞘翅目和鳞翅目昆虫对 dsRNA 的摄取、细胞内运输和加工的区别 (Zhu *et al.*, 2020)

Fig. 2 Differences in the ingestion, intracellular transport and processing of dsRNA between Coleoptera and Lepidoptera (From Zhu *et al.*, 2020)

2 昆虫 RNAi 研究中的递送方法

RNAi 技术凭借其在基因沉默方面的高效性和特异性, 及操作简便的优势, 现已在昆虫学研究中得到广泛应用。dsRNA (200~600 bp) 被递送到昆虫细胞系或注射到昆虫体内, 从而诱导 RNAi 应答, 这使得在没有生物信息学工具的情况下, 更容易在实验室中实施, 这也是 RNAi 在昆虫学研究中广泛应用的原因之一。当前, 根据研究对象和实验目的不同, 发展出了注射法、饲喂法、喷洒法、浸泡法和转基因法等多种 dsRNA 的递送方法。

2.1 注射法

注射法是在体外大量合成 dsRNA, 然后利用显微注射仪将一定剂量的 dsRNA 注射进入昆虫的体腔 (血淋巴), 让 dsRNA 通过昆虫的循环系统进入各个组织中, 是 RNAi 研究中应用最广泛的方法, 这种方法主要用于昆虫的基因功能分析, 从 20 世纪初至今, 大量未知功能基因就是利用了这一方案进行阐述的。显微注射的优点是递送效率高, 能将准确剂量的 dsRNA 立即且直接输送到各个发育阶段的昆虫体内以及特定的器官 (Shi *et al.*, 2017)。注射是最直接的应用方法, 也是应用最多的案例, 最早在线虫中的研究即是通过注射的方法使 dsRNA 进入虫体 (Bettencourt *et al.*, 2002)。随后, 大量的研究表明注射法的可行性与便捷性,

如: 有研究表明, 注射 30 ng ds*NICHTSA* 至褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 2 龄若虫, 72 h 内几丁质合成酶表达量下降 90%, 若虫蜕皮失败率达 95% (Li *et al.*, 2017)。迄今为止在地中海实蝇 *Ceratitis capitata*、库蠅 *Culicoides*、褐飞虱、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、棕尾别麻蝇 *Sarcophaga peregrina*、蚊子 (*Anopheles*, *Aedes*, *Culex*) 等数百种害虫中均有成功案例 (Li *et al.*, 2017; Wise *et al.*, 2022; Feng *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2023a; Ortolà *et al.*, 2023; Yadav *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2023)。

注射法的优点是使用的 dsRNA 量相对较少, 同时可以用于不处于取食阶段的昆虫, 如卵期、蛹期和不取食的部分成虫, 并且干扰后的表型相对饲喂法等产生的可能性更大、更直观。但注射法无可避免地存在一些缺点: 首先是操作较为繁琐, 因注射会用到极细的玻璃微量注射针, 并且需要在显微镜下使用专业的微量注射仪将 dsRNA 注射进昆虫体内, 操作上不如饲喂法和浸泡简单; 其次, 注射法会对虫体产生一定的机械损伤, 容易造成昆虫的损伤而引起死亡, 尤其在小型昆虫中具有局限性, 因此需要多次试验, 优化注射的针头以及注射位置等; 最后, 因为显微注射需要熟练且精细的操作技巧, 且操作耗时较长, 仅适用于实验室内的少量研究试验, 而不适用于其他较大规模的试验。

此外, 利用植物内循环递送 dsRNA 到昆虫体内, 也被证实是一种行之有效的害虫控制方法 (Singewar *et al.*, 2023), 其方法是对植物尤其是一些高大树木进行枝干注射, 利用树木的维管系统将作物保护材料运输到树冠。该技术尤其适用于对紫外线敏感性较高的生物农药进行保护和应用。相较于传统喷雾法, 树干注射能确保最大限度地将作物保护材料输送到树冠, 同时最大限度地减少环境污染和脱靶效应。该技术对多种害虫 (如食叶类和刺吸类害虫) 均展现出良好的防治效果。如对苹果树干注射靶向苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 肌动蛋白 (Actin) 的 dsRNA (2 mg/株), 叶片会持续表达 21 d, 苹果蠹蛾的初孵幼虫校正死亡率稳定在 70% 以上。目前, 该技术已在美国进入商业化前试点 (Arends *et al.*, 2006)。但该技术目前仍有一定的局限性, 对果树树干注射传递 dsRNA 的研究仅限于半田间条件下的盆栽树木, 且对叶片内 dsRNA 持久性的观测仅持续数天或数周。

2.2 饲喂法

另一种昆虫 RNAi 最为便捷的递送方法就是将体外合成的 dsRNA 与昆虫食物进行物理混配, 随后饲喂昆虫。注射法和饲喂法在不同昆虫中都能够有效地使靶标基因沉默, 但通过昆虫主动取食的方式明显比注射更方便快捷。其次, 饲喂法不会造成不必要的机械损伤, 从而减少试验结果的误差, dsRNA 与饲料混合方便, 则有利于进行大规模的研究基因功能, 从而大大节约了 RNAi 的时间成本。当然, 饲喂法在应用过程中也存在一些弱点。昆虫取食 dsRNA 后, 一般在肠道进行吸收, 因此肠道细胞对 dsRNA 的吸收和转运效率就会影响干扰效果, 因此多数饲喂法的干扰效率远低于注射法, 饲喂法就需要更高的 dsRNA 浓度可能才会达到预期效果。如, 在对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 的 RNAi 试验证实, 单次饲喂很难发生明显的 RNAi 效应, 只有通过持续多次喂食 dsRNA 才能产生与一次注射相似的 RNAi 效果 (田宏刚等, 2013)。而在东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 的 RNAi 中, 通过注射而递送 dsRNA 的效率明显高于饲喂法, 其主要原因可能是昆虫肠道中双链核糖核酸酶 (dsRNases) 会导致进入肠道的 dsRNA 降解 (Song *et al.*, 2019)。Timmons 等 (2001) 为了解决饲喂法对 dsRNA 所需剂量较高的问题, 开发了一

种基于细菌表达 dsRNA 的新技术, 结果显示当线虫摄入这些表达 dsRNA 的细菌后, 能够对目的基因产生特异且有效的干扰。此外, 在意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 中, 将表达以色列急性麻痹病毒 (IAPV) 片段的重组大肠杆菌掺入糖浆, 可在 7 d 内使病毒载量下降, 且未观察到对工蜂存活及学习行为的负面影响; 家蚕 *Bombyx mori* 经口摄入携带家蚕核型多角体病毒 (BmNPV) ie-1 基因片段的工程菌后, 24 h 即可在血淋巴中检测到特异性 siRNA, 72 h 病毒复制水平降低至对照的 4% (Vogel *et al.*, 2018)。饲喂法 RNAi 的效率瓶颈主要集中于肠道环境的理化屏障及核酸酶降解, 通过载体工程、表达系统改良及宿主因子干预, 可在保持操作简便性的同时显著提升沉默效果, 为规模化害虫治理及有益昆虫疾病控制提供可行路径 (Vogel *et al.*, 2018)。

2.3 喷洒或浸泡法

饲喂方案的可行性研究已经证实, RNAi 技术可以实现基于外源应用实现害虫防治的效果, 基于此, 众多的研究发现外源应用于植物组织的 dsRNA 可以诱导 RNA 介导的靶向害虫或病原基因的沉默。目前, 采用传统的局部施用 dsRNA 的方法, 例如直接接触 (Killiny *et al.*, 2014)、叶面喷雾剂 (Jain *et al.*, 2022)、树干注射 (Avila *et al.*, 2018) 和全株喷雾 (Biedenkopf *et al.*, 2020) 等均可成功诱导 RNAi 通路 (Bragg *et al.*, 2022)。

喷雾诱导基因沉默 (Spray-Induced Gene Silencing, SIGS) 和其他外源应用技术, 如根或种子浸泡、树干注射、叶柄吸收和机械接种等, 都能够有效沉默目标生物的靶基因, 且不引入基因组中的可遗传变化以替代转基因植物提高植物抗性。例如, 通过外部应用细菌生产或体外合成的长 dsRNA、hpRNA 或 siRNA 诱导植物对真菌、昆虫和病毒的抗性, 这些 RNA 旨在选择性地针对害虫和病原体的基本基因。一些研究也表明, 局部应用的 dsRNA 可以作用于处理过的植物区域和远端未处理的部分, 如在机械损伤后, dsRNA 通过植物维管系统全身性易位 (Tiwari *et al.*, 2011)。Hunter 等人表明, 当 2.5 m 高的柑橘树通过根部浸泡和树干注射暴露于体外转录的 dsRNA 时, dsRNA 被运输到植物的顶端部分 (Hunter *et al.*, 2012)。叶面喷雾靶向柑橘木虱 *CYP4* 基因的

dsRNA (200 ng/叶), 7 d后木虱成虫死亡率为68%, 产卵量下降55% (Killiny *et al.*, 2014)。这些研究清晰地表明, 植物细胞可以主动吸收外源dsRNA。

由于dsRNA的吸收和韧皮部可利用性有限, 限制了基于RNA干扰的生物农药的开发。在几篇关于植物内源性基因和转基因的高效传递方法的报道中, 已经描述了通过外部应用裸dsRNA或脂质体、生物粘土、人工细胞外囊泡 (Extracellular Vesicles, EV) 保护的dsRNA或与纳米颗粒或蛋白质载体复合的dsRNA来下调植物内源性基因和转基因的方法 (Jain *et al.*, 2022), 其中纳米载体具有高度的选择性 (Rank *et al.*, 2021), 有助于外源dsRNA穿透害虫肠道的周营养膜和体壁等屏障 (Saxena *et al.*, 2022)。

2.4 转基因植物法

有学者将转基因植物法归入饲喂法大类中, 该方法是利用转基因植物表达dsRNA以实现昆虫的RNAi效应。其方法是首先将反向重复序列克隆到质粒载体中, 以构建转基因表达载体, 然后将其导入根瘤农杆菌中, 利用根瘤农杆菌去侵染目标植物, 从而部分质粒载体就整合到了植物的基因组中。目前已经有一些成功案例, 如分别将玉米根叶甲 *Diabrotica virgifera* 和棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的靶标dsRNA转入玉米和棉花中, 得到了具有较好抗虫效果的转基因抗虫植物 (Baum *et al.*, 2007; Mao *et al.*, 2007; Ramaseshadri *et al.*, 2013)。也有研究者开发了在植物质体 (如叶绿体) 中特异性表达dsRNA的转基因抗虫植物, 在叶绿体中特异表达Actin基因dsRNA的马铃薯植株可用来饲喂马铃薯甲虫, 其死亡率可达到100% (Zhang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017)。

拜耳孟山都 (Bayer/Monsanto) 公司最早开发了SmartStax Pro (Mon87411) 玉米种子于2017年上市, 并与2021年在我国拿到安全许可证, 最早实现了RNAi技术在转基因抗虫方向的技术应用。截至目前, 共有5款基于RNAi技术的转基因产品上市, 分别是Dow AgroSciences (DP23211; 2021); Bayer (VT4PROTM, 2022); Corteva Agriscience (VorceedTM Enlist®, 2022); Bayer (MON95275, 2023), 这些产品的出现, 更进一步证实了RNAi技术不同路径下的商业化可行性。

3 影响 dsRNA 递送效率的关键因素分析

尽管多种递送方法已被广泛应用于昆虫RNAi研究, 但其干扰效率常因多种因素而显著波动 (王海绮等, 2025)。系统梳理这些影响因素, 有助于优化实验设计、提高RNAi成功率, 并推动其在害虫防控中的实际应用。

3.1 昆虫自身因素

昆虫种类、发育阶段及生理状态是影响dsRNA递送效率的核心内在因素 (Tian *et al.*, 2004)。不同昆虫对dsRNA的敏感性和摄取机制差异显著 (Spit *et al.*, 2017)。鞘翅目 (如赤拟谷盗) 因具备特异的dsRNA内吞转运体及Staufen蛋白, 对dsRNA高度敏感, 其沉默效率可达注射量的80%以上, 而鳞翅目 (如棉铃虫) 则常因肠道dsRNase活性高、dsRNA内吞效率低而表现出抗性, 同等剂量下沉默效率不足30% (Swevers *et al.*, 2013)。同一昆虫在不同发育阶段也存在梯度变化, 幼虫期通常比成虫更易摄取dsRNA, 尤其是咀嚼式口器昆虫的幼龄阶段, 如甜菜夜蛾1龄幼虫取食dsRNA后靶基因下调幅度是5龄幼虫的2.4倍 (Christiaens *et al.*, 2018)。而蛹期或卵期因摄食停止, 则需要依赖注射法, 如棕尾别麻蝇蛹期的RNAi (Samerjai *et al.*, 2021)。此外体壁厚度、血脑屏障及中肠pH值均会限制dsRNA的全身扩散, 昆虫中肠上皮的通透性、血脑屏障的存在 (如蝗虫) 以及体壁的几丁质厚度 (如甲虫成虫) 均可能阻碍dsRNA的全身扩散 (Zuhorn *et al.*, 2007)。

3.2 环境因素

外部环境条件可通过影响dsRNA稳定性或昆虫行为间接调控递送效果 (Cooper *et al.*, 2019)。首先是温度与湿度, 温度>30℃时, 加速dsRNA降解, 如裸露dsRNA在叶片上的半衰期缩短至4 h, 而70%以上相对湿度可显著提高昆虫的取食量, 间接增强RNAi效果 (Yan *et al.*, 2020)。如, 东亚飞蝗在湿度70%以上时取食量增加20% (Song *et al.*, 2019)。其次, 田间紫外线照射可破坏dsRNA结构, 可在6 h内降解50%以上的裸露dsRNA (Thakre *et al.*, 2024)。而纳米材料 (如壳聚糖、介孔二氧化硅) 或脂质体包裹能有效对冲环境压力, 使叶片表面dsRNA滞留时间由24 h延长至7 d, 并且增强穿透昆虫体壁的能力 (Luo *et al.*,

2025)。此外,植物叶片表面的pH值(如柑橘叶pH5.5)可能影响dsRNA的吸附效率(Bernhardt *et al.*, 2012)。

3.3 dsRNA在细胞外环境的稳定性

在RNAi实验中,dsRNA通常被注射到体腔或饲喂给昆虫(Parise *et al.*, 2024)。因此,dsRNA在细胞摄取之前需在血淋巴或肠道内“存活”(Li *et al.*, 2023)。然而,昆虫体内的dsRNase可以快速降解外源dsRNA,从而降低昆虫体内RNAi的效率,dsRNase则被认为是dsRNA不稳定的关键因子。dsRNase的表达又受外源dsRNA诱导、发育阶段及饥饿状态等多种因素的影响,这也解释了为何同一物种的不同发育阶段,或不同试验方案下,RNAi的效果差异很大(Gao *et al.*, 2024)。在某些情况下,暴露于外源性dsRNA会上调dsRNase的基因表达,这表明dsRNase可能是一种病毒防御机制,而在其他情况下,dsRNase基因表达因生命阶段和饥饿反应而异(Necira *et al.*, 2024)。靶向核酸酶表达最低的组织 and 生命阶段可以用来克服昆虫dsRNA的稳定性问题,或者可以使用持续暴露于dsRNA来克服dsRNA的降解(Leggewie *et al.*, 2023)。其次,dsRNA分子自身的特性也会影响其稳定性。如,较长的dsRNA分子通常含有更多酶切位点,因此比短链dsRNA更易被降解;而GC含量较高的区域因通过3个氢键形成更稳定的碱基配对,从而增强了整体结构的稳定性。此外,外界环境因素如温度、pH值和离子强度等也会显著影响dsRNA的稳定性。

3.4 细胞对dsRNA的摄取效率

即便dsRNA在细胞外稳定存在,能否被靶细胞摄取仍是决定RNAi成败的第二道关卡。研究发现在蝶类、鞘翅目与直翅目中,dsRNA首先与膜表面清道夫受体结合,继而触发网格蛋白包被小窝的形成,通过经典的网格蛋白依赖内吞完成跨膜转运(Koo *et al.*, 2025)。该通路摄取dsRNA时受到“尺寸门控”与“表达门控”双重限制:首先,片段若低于60~100 bp,受体识别亲和力骤降,几乎无法启动内吞,具有明显的大小依赖性(Cordoba *et al.*, 2025);其次,持续口服dsRNA会在24~48 h内显著下调受体与衔接蛋白的mRNA水平,导致RNAi效率降低最长达30 d(Zhang *et al.*, 2024)。下调机制与血淋巴中多不饱和脂肪酸比例(亚油酸/花生四烯酸)相关,该比例通过改变膜流

动性、柔韧性与衔接蛋白结合能力进行膜脂重塑,削弱衔接蛋白AP-2同膜磷脂PIP₂的结合力,进而抑制网格蛋白外壳的组装与膜曲率形成(Dang *et al.*, 2025)。dsRNA摄取的限制可以通过带正电荷的亲脂性转染试剂和纳米颗粒来克服,这些试剂和纳米颗粒可以增强核酸对质膜的渗透(Dalaison-Fuentes *et al.*, 2023)。而将秀丽隐杆线虫的dsRNA跨膜通道Sid-1同源蛋白重组表达于家蚕及黑腹线虫培养细胞,则可在遗传层面直接提升dsRNA通量,从源头缓解摄取限制(Dang *et al.*, 2025)。

4 展望

粮食安全受到包括病虫害在内的生物因素严重影响,然而现阶段对作物的保护主要依赖于化学农药。化学农药的大量使用,带来了一系列的诸如食品安全、环境残留等问题,因此需要一种更可持续和对环境更友好的替代方案。RNAi技术自发现以来,已在昆虫基因功能研究、害虫防控等领域展现出巨大潜力,被称为“农药史上的第三次科技革命”。该技术不仅推动了对害虫生物学和杀虫剂作用机制的深入理解,也为绿色防控提供了新路径。尽管目前尚存在一些问题,应用中有诸多挑战,但正如大量研究表明的那样,RNAi在提高作物抗性,特别是对病原体的抗性方面,这项技术将成为未来可靠和重要的方法。

RNAi技术促进了对害虫生物学、杀虫剂靶点和杀虫剂抗性发展的了解。在过去的25年里,如果没有RNAi技术的使用,大多数对非模式昆虫的研究是不可能的(Yan *et al.*, 2024)。RNA干扰(RNAi)作为一种简单、快速的沉默各种生物基因的方法,广泛应用于基因功能和遗传学研究。同时,RNAi被开发为一种新型的害虫管理策略。通过显微注射、摄入或浸泡递送的双链RNA(dsRNA)可有效沉默害虫中的靶标基因,而饲喂和局部递送等方法可用于实际应用(Lu *et al.*, 2023b)。尽管RNAi在植物及其病原体中的分子过程仍有许多有待探索和了解的地方,但现有研究表明,外源RNAi技术是用于基因功能分析和害虫防治的强大工具,根据不同的物种和目的开发了不同的dsRNA使用方案。例如:显微注射对于大

多数昆虫和其他害虫的基因功能研究是有效的;浸泡和非转化喂养方法成本较低且更易于使用;摄取适用于高通量基因筛选,这些都是具有潜在应用价值的研究。

本文系统综述了dsRNA在昆虫中的主要递送方法(包括注射、饲喂、喷洒浸泡及转基因植物介导等),并分析了影响其递送效率的关键因素,如昆虫种类、发育阶段、环境条件以及dsRNA的稳定性及递送载体等。研究表明,不同递送方式各有优劣,适用范围和效率也存在显著差异。例如,注射法效率高但操作复杂,饲喂法更便于应用但易受消化道环境限制,喷洒浸泡法适合田间操作却面临环境降解挑战,而转基因植物法则可实现持续抗虫但研发和监管门槛较高。

展望未来,基于RNAi的生物防治有巨大潜力,有望替代部分化学农药,并且随着绿光公司针对马铃薯甲虫的ledprona产品获得EPA授权许可,将迎来RNA生物农药的快速发展。今后研究可重点关注以下方向:1)开发高效、稳定且安全的纳米递送系统,提高dsRNA在田间条件下的持久性和穿透效率;2)阐明不同昆虫中RNAi机制差异,尤其针对低敏感性物种探索新型靶基因和递送策略;3)推动RNAi与其他绿色防控技术(如生物农药、天敌昆虫等)的集成应用,构建多元、协同的害虫综合治理体系;4)加强RNAi产品的环境安全性与生态风险评估,建立科学规范的监管政策与国际互认标准。然而,针对RNAi技术的应用依然存在众多限制,可采取以下应对策略:1)针对不同物种,选择具有针对性的高效RNAi靶基因及递送方式;2)提高dsRNA在环境中的持久性与稳定性,并评估其后续影响;3)提升作物遗传转化效率,拓展质体转化等技术的应用范围;4)开展协同互用策略,推动RNAi与其他防控体系的兼容与整合;5)开发同时针对多种病虫害的RNAi策略;6)为RNA生物农药的商业化建立共识监管体系(Yan *et al.*, 2024)。

综上所述,虽然RNAi技术依然存在众多问题,但这项技术的发展在未来病虫害防治领域必然会发挥非常重要的作用,其产品将以一种与环境更相容的方式改善植物免受外来生物胁迫,正如欧洲所表明的绿色协议中预期的新线路所述,这项技术必将为人类的绿色生活带来相应的改变(Gebremichael *et al.*, 2021)。

参考文献 (References)

- Arends HM, Jehle JA. Sequence analysis and quantification of transposase cDNAs of transposon TCp3.2 in *Cydia pomonella* larvae [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2006, 63 (3): 135-145.
- Asgari S. MicroRNA functions in insects [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2013, 43 (4): 388-397.
- Avila LA, Chandrasekar R, Wilkinson KE, *et al.* Delivery of lethal dsRNAs in insect diets by branched amphiphilic peptide capsules [J]. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 2018, 273: 139-146.
- Baum JA, Bogaert T, Clinton W, *et al.* Control of coleopteran insect pests through RNA interference [J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25 (11): 1322-1326.
- Bernhardt HS, Tate WP. Primordial soup or vinaigrette: did the RNA world evolve at acidic pH? [J]. *Biology Direct*, 2012, 7: 4.
- Bettencourt R, Terenius O, Faye I. *Hemolin* gene silencing by ds-RNA injected into *Cecropia* pupae is lethal to next generation embryos [J]. *Insect Molecular Biology*, 2002, 11 (3): 267-271.
- Biedenkopf D, Will T, Knauer T, *et al.* Systemic spreading of exogenous applied RNA biopesticides in the crop plant *Hordeum vulgare* [J]. *ExRNA*, 2020, 2 (1).
- Bragg Z, Riese LK. Spatial distribution and retention in loblolly pine seedlings of exogenous dsRNAs applied through roots [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23 (16): 9167.
- Brown SJ, Mahaffey JP, Lorenzen MD, *et al.* Using RNAi to investigate orthologous homeotic gene function during development of distantly related insects [J]. *Evolution & Development*, 1999, 1 (1): 11-15.
- Bucher G, Scholten J, Klingler M. Parental RNAi in *Tribolium* (Coleoptera) [J]. *Current Biology*, 2002, 12 (3): R85-R86.
- Cao M, Gatehouse JA, Fitches EC. A systematic study of RNAi effects and dsRNA stability in *Tribolium castaneum* and *Acyrtosiphon pisum*, following injection and ingestion of analogous dsRNAs [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(4):1079.
- Christiaens O, Niu J, Nji Tizi Taning C. RNAi in insects: A revolution in fundamental research and pest control applications [J]. *Insects*, 2020, 11 (7): 415.
- Christiaens O, Swevers L, Smagghe G. DsRNA degradation in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) associated with lack of response in RNAi feeding and injection assay [J]. *Peptides*, 2014, 53: 307-314.
- Christiaens O, Tardajos MG, Martinez Reyna ZL, *et al.* Increased RNAi efficacy in *Spodoptera exigua* via the formulation of dsRNA with guanlylated polymers [J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 316.
- Cooper AM, Silver K, Zhang J, *et al.* Molecular mechanisms influencing efficiency of RNA interference in insects [J]. *Pest Management Science*, 2019, 75 (1): 18-28.
- Cordoba LE, Perez de Rosas AR, Garcia BA, *et al.* Protocol for RNA interference in gene expression in adult insects of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) [J]. *STAR Protocols*, 2025, 6 (2):

- 103865.
- Dalaison-Fuentes LI, Pascual A, Crespo M, *et al.* Knockdown of double-stranded RNases (dsRNases) enhances oral RNA interference (RNAi) in the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2023, 196: 105618.
- Dang SX, Zhu RQ, Wang SJ, *et al.* Integrated RNA interference and RNA-sequencing analysis of the effects of laccase2 on cuticular pigmentation and survival in *Halyomorpha halys* (Stål) (Hemiptera: Pentatomidae) [J]. *Pest Management Science*, 2025, 81 (9): 5903–5916.
- Feng Y, Wang S, Yang F, *et al.* Molecular identification and functional analysis of chitinase genes reveal their importance in the metamorphosis of *Sarcophaga peregrina* (Diptera: Sarcophagidae) [J]. *Journal of Insect Science*, 2023, 23 (6): 1–10.
- Fire A, Xu S, Montgomery MK, *et al.* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 1998, 391 (6669): 806–811.
- Gao Y, Cai T, Yu C, *et al.* A putative endonuclease reduces the efficiency of oral RNA interference in *Nilaparvata lugens* [J]. *Pest Management Science*, 2024, 80 (11): 5771–5779.
- Gebremichael DE, Haile ZM, Negrini F, *et al.* RNA interference strategies for future management of plant pathogenic fungi: prospects and challenges [J]. *Plants (Basel)*, 2021, 10 (4): 650.
- Guo S, Kempthues KJ. *par-1*, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed [J]. *Cell*, 1995, 81 (4): 611–620.
- Hunter WB, Glick E, Paldi N, *et al.* Advances in RNA interference: dsRNA treatment in trees and grapevines for insect pest suppression [J]. *Southwestern Entomologist*, 2012, 37 (1): 85–87.
- Jadhav V, Vaishnav A, Fitzgerald K, *et al.* RNA interference in the era of nucleic acid therapeutics [J]. *Nature Biotechnology*, 2024, 42 (3): 394–405.
- Jain RG, Fletcher SJ, Manzie N, *et al.* Foliar application of clay-delivered RNA interference for whitefly control [J]. *Nature Plants*, 2022, 8 (5): 535–548.
- Killiny N, Hajeri S, Tiwari S, *et al.* Double-stranded RNA uptake through topical application, mediates silencing of five CYP4 genes and suppresses insecticide resistance in *Diaphorina citri* [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9 (10): e110536.
- Leggewie M, Scherer C, Altinli M, *et al.* The *Aedes aegypti* RNA interference response against Zika virus in the context of co-infection with dengue and chikungunya viruses [J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2023, 17 (7): e0011456.
- Li S, Kim DS, Zhang J. Plastid-mediated RNA interference: A potential strategy for efficient pest control [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2023, 46 (9): 2595–2605.
- Li T, Chen J, Fan X, *et al.* MicroRNA and dsRNA targeting chitin synthase reveal a great potential for pest management of the hemipteran insect *Nilaparvata lugens* [J]. *Pest Management Science*, 2017, 73 (7): 1529–1537.
- Lu Q, Li Y, Liao J, *et al.* Histone acetylation is associated with pupal diapause in cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* [J]. *Pest Management Science*, 2023a, 80 (3): 1400–1411.
- Lu YZ, Deng XY, Zhu QJ, *et al.* The dsRNA delivery, targeting and application in pest control [J]. *Agronomy-Basel*, 2023b, 13 (3): 714.
- Luo Z, Chen Y, Kong Q, *et al.* Design and synthesis of nano-dsRNA nanoparticles targeting *Bombyx mori* acetyltransferase bmcbp and its impact on bmapolp-iii expression [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2025, 118 (3): e70051.
- Mao YB, Cai WJ, Wang JW, *et al.* Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol [J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25 (11): 1307–1313.
- Miller SC, Miyata K, Brown SJ, *et al.* Dissecting systemic RNA interference in the red flour beetle *Tribolium castaneum*: parameters affecting the efficiency of RNAi [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7 (10): e47431.
- Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans [J]. *The Plant Cell*, 1990, 2: 279–289.
- Necira K, Contreras L, Kamargiakakis E, *et al.* Comparative analysis of RNA interference and pattern-triggered immunity induced by dsRNA reveals different efficiencies in the antiviral response to potato virus X [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2024, 25 (9): e70008.
- Ortola B, Urbaneja A, Eiras M, *et al.* RNAi-mediated silencing of Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*) endogenous genes using orally-supplied double-stranded RNAs produced in *Escherichia coli* [J]. *Pest Management Science*, 2023, 80 (3): 1087–1098.
- Parise C, Galetto L, Abba S, *et al.* RNA interference protocols for gene silencing in the spittlebug *Philaeenus spumarius*, vector of *Xylella fastidiosa* [J]. *Scientific Reports*, 2024, 14 (1): 25812.
- Ramaseshadri P, Segers G, Flannagan R, *et al.* Physiological and cellular responses caused by RNAi-mediated suppression of Snf7 orthologue in western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*) larvae [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8 (1): e54270.
- Rank AP, Koch A. Lab-to-field transition of rna spray applications – how far are we? [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 755203.
- Samerjai C, Sukontason KL, Sukontason K, *et al.* Ultrastructure of male terminalia of *Boettcherisca peregrina* and *Boettcherisca nathani* (Diptera: Sarcophagidae), flesh fly species of forensic importance [J]. *Acta Tropica*, 2021, 224: 106148.
- Saxena S, Reddy KRK, Rajam MV. dsRNA-mediated silencing of chitin synthase A (CHSA) affects growth and development of *Leucinodes orbonalis*, brinjal fruit and shoot borer [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2022, 25 (2): 101908.
- Shabalina SA, Koonin EV. Origins and evolution of eukaryotic RNA interference [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2008, 23 (10): 578–587.
- Shi X, Zhang Y, Zhu K, *et al.* Comparison of the efficacy of different dsRNA delivery methods to silence antenna-rich genes in *Locusta migratoria* [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2017,

- 54 (5): 780–790.
- Shukla JN, Kalsi M, Sethi A, *et al.* Reduced stability and intracellular transport of dsRNA contribute to poor RNAi response in lepidopteran insects [J]. *RNA Biology*, 2016, 13 (7): 656–669.
- Singewar K, Fladung M. Double-stranded RNA (dsRNA) technology to control forest insect pests and fungal pathogens: challenges and opportunities [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2023, 23 (2): 185.
- Song H, Fan Y, Zhang J, *et al.* Contributions of dsRNases to differential RNAi efficiencies between the injection and oral delivery of dsRNA in *Locusta migratoria* [J]. *Pest Management Science*, 2019, 75 (6): 1707–1717.
- Spit J, Philips A, Wynant N, *et al.* Knockdown of nuclease activity in the gut enhances RNAi efficiency in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, but not in the desert locust, *Schistocerca gregaria* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 81: 103–116.
- Swevers L, Vanden Broeck J, Smaghe G. The possible impact of persistent virus infection on the function of the RNAi machinery in insects: a hypothesis [J]. *Frontiers in Physiology*, 2013, 4: 319.
- Thakre N, Carver M, Paredes-Montero JR, *et al.* UV-LASER adjuvant-surfactant-facilitated delivery of mobile dsRNA to tomato plant vasculature and evidence of biological activity by gene knockdown in the potato psyllid [J]. *Pest Management Science*, 2024, 80 (4): 2141–2153.
- Tian HG, Liu TX, Zhang WQ. RNAi technology and method in insects [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2013, 50 (5): 1453–1457. [田宏刚, 刘同先, 张文庆. 昆虫RNAi技术与方法 [J]. 应用昆虫学报, 2013, 50 (5): 1453–1457]
- Tian XL, Kadaba R, You SA, *et al.* Identification of an angiogenic factor that when mutated causes susceptibility to Klippel-Trenaunay syndrome [J]. *Nature*, 2004, 427 (6975): 640–645.
- Timmons L, Courtb DL, Firea A. Ingestion of bacterially expressed dsRNAs can produce specific and potent genetic interference in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Gene*, 2001, 263 (1–2): 103–112.
- Tiwari S, Mann RS, Rogers ME, *et al.* Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida [J]. *Pest Management Science*, 2011, 67 (10): 1258–1268.
- Vogel E, Santos D, Mingels L, *et al.* RNA interference in insects: protecting beneficials and controlling pests [J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 01912
- Wang HQ, Lin XX, Wang D, *et al.* Bottleneck problems and prospects of RNA pesticide development [J]. *Modern Agrochemicals*, 2025, 24 (2): 1–10. [王海琦, 蔺筱鑫, 王丹等. RNA农药创制的瓶颈问题与展望 [J]. 现代农药, 2025, 24 (2): 1–10]
- Wang K, Peng Y, Pu J, *et al.* Variation in RNAi efficacy among insect species is attributable to dsRNA degradation *in vivo* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 77: 1–9.
- Wise JC, Wise AG, Rakotondravelo M, *et al.* Trunk injection delivery of dsRNA for RNAi-based pest control in apple trees [J]. *Pest Management Science*, 2022, 78 (8): 3528–3533.
- Wynant N, Verlinden H, Breugelmans B, *et al.* Tissue-dependence and sensitivity of the systemic RNA interference response in the desert locust, *Schistocerca gregaria* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2012, 42 (12): 911–917.
- Yadav M, Dahiya N, Sehrawat N. Mosquito gene targeted RNAi studies for vector control [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2023, 23 (2): 180.
- Yan J, Nauen R, Reitz S, *et al.* The new kid on the block in insect pest management: sprayable RNAi goes commercial [J]. *Science China Life Sciences*, 2024, 67 (8): 1766–1768.
- Yan S, Ren B, Zeng B, *et al.* Improving RNAi efficiency for pest control in crop species [J]. *Biotechniques*, 2020, 68 (5): 283–290.
- Yoon JS, Mogilicherla K, Gurusamy D, *et al.* Double-stranded RNA binding protein, Staufin, is required for the initiation of RNAi in coleopteran insects [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115 (33): 8334–8339.
- Zhang J, Khan SA, Hasse C, *et al.* Full crop protection from an insect pest by expression of long double-stranded RNAs in plastids [J]. *Science*, 2015, 347 (6225): 991–994.
- Zhang J, Khan SA, Heckel DG, *et al.* Next-generation insect-resistant plants: RNAi-mediated crop protection [J]. *Trends in Biotechnology*, 2017, 35 (9): 871–882.
- Zhang Y, Ke Z, Xu L, *et al.* A faster killing effect of plastid-mediated RNA interference on a leaf beetle through induced dysbiosis of the gut bacteria [J]. *Plant Communications*, 2024, 5 (9): 100974.
- Zhu J, Li Z, Zhang M, *et al.* Transcriptome of excretory organs revealed potential targets for the control of *Nilaparvata lugens* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71 (46): 17733–17741.
- Zhu KY, Palli SR. Mechanisms, applications, and challenges of insect RNA interference [J]. *Annual Review of Entomology*, 2020, 65: 293–311.
- Zuhorn IS, Engberts JB, Hoekstra D. Gene delivery by cationic lipid vectors: overcoming cellular barriers [J]. *European Biophysics Journal*, 2007, 36 (4–5): 349–362.