

◆ 专论:纳米农药青年论坛(特约稿) ◆

# 纳米载体在害虫RNA农药应用中的研究进展

姜义平,赵 静,肖留斌,徐德进,徐广春,张 昕,谭永安\*

(江苏省农业科学院植物保护研究所,南京 210014)

**摘要:** RNA干扰(RNA interference, RNAi)技术因其具有高效性和特异性等优势,已成为害虫绿色防控领域的一种新兴策略。然而,受双链RNA的易降解性及递送效率低下等关键因素限制,其在农业害虫防治中的实际应用受到极大的制约。近年来,纳米材料作为一种高效递送载体,在上述问题的解决上显示出巨大的应用潜力。本文就纳米载体在害虫RNA农药中的应用研究进展和纳米载体介导的核酸农药递送机制进行了综述,并对纳米载体在害虫RNA农药领域的应用前景及其面临的挑战进行了探讨。本文旨在为害虫RNA农药的研发与应用提供参考。

**关键词:** 纳米载体;害虫;RNA农药;双链RNA;小干扰RNA

**中图分类号:** TQ 450 **文献标志码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1671-5284.2025.03.004

## Advances in the application of nanocarriers in pest RNA pesticides

JIANG Yiping, ZHAO Jing, XIAO Liubin, XU Dejin, XU Guangchun, ZHANG Xin, TAN Yongan\*

(Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** RNA interference (RNAi) technology has emerged as a promising strategy in sustainable pest management owing to its high efficiency and specificity. However, its practical application in agriculture is severely constrained by challenges such as rapid degradation and limited delivery efficiency of dsRNA. Recent advances have demonstrated that nanoparticles can serve as effective delivery vehicles to overcome these limitations. This paper reviewed the progress in employing nanocarriers for the delivery of RNA pesticides targeting insect pests, elucidated the mechanisms underlying nanocarrier-mediated nucleic acid delivery, and discussed the prospects and challenges associated with this approach. The aim of this study was to provide a comprehensive reference for the research, development, and application of RNA pesticides in pest management.

**Key words:** nanocarrier; pest; RNA pesticide; dsRNA; siRNA

RNA干扰(RNA interference, RNAi)是一种在真核生物中普遍存在的转录后基因沉默的现象,主要通过双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)的诱导,实现对同源mRNA的高效且特异性的降解<sup>[1-2]</sup>。在害虫中,RNAi通常通过小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)途径调控,外源性或内源性dsRNA被特定的RNA内切酶(Dicer-2)切割成siRNA。随后,siRNA与RNA诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)结合形成活性复合物,该活

性复合物作用于互补的靶mRNA,促使其裂解<sup>[3]</sup>。目前,RNAi已广泛应用于多个领域,特别是在害虫防治中展现出巨大的应用潜力,通过RNAi技术靶向害虫生长、发育或繁殖的关键基因,实现靶标的基因高效沉默,最终达到有效控制害虫种群暴发和危害<sup>[4-7]</sup>。

RNAi技术作为一种具有潜力的害虫管理策略,其传统的递送系统包括显微注射、转基因植物以及饲喂等方式。显微注射法即通过注射方式,将dsRNA递送至昆虫血腔中,从而达到控制害虫的目的。这

收稿日期:2025-05-26

基金项目:国家重点研发计划(2022YFD1700500)

作者简介:姜义平(1990—),女,江苏泰州人,硕士,助理研究员,主要从事害虫RNA农药及纳米农药的研究。E-mail: 2312172062@qq.com

通信作者:谭永安(1982—),男,江苏江都人,博士,副研究员,主要从事害虫RNA农药及纳米农药的研究。E-mail: kellytan001@163.com

是一种在实验室条件下广泛应用的dsRNA递送方式,因其高效性和对dsRNA剂量控制的易操作性而备受青睐<sup>[8-9]</sup>。但是,显微注射技术要求高,极易对虫体造成机械损伤,且不适合体型小,体液多的昆虫,这种方法并不适合田间实际应用。转基因植物法是通过转基因作物表达针对害虫基因的dsRNA/siRNA,从而赋予作物自身防御害虫的能力<sup>[10]</sup>。尽管该方法效率高,但其研究周期较长,且可能引发潜在的环境风险<sup>[11-12]</sup>。相比之下,饲喂递送法因其时间短、抗性风险小、简单易操作等优点,对于田间应用而言,具有更高的适用性。迄今为止,饲喂递送法已在香蕉象甲(*Cosmopolites sordidus*)、具条实蝇(*Zeugodacus scutellata*)和桃蚜(*Myzus persicae*)等多种昆虫中成功得到应用<sup>[13-15]</sup>。但是,昆虫肠道和血淋巴中的核酸酶会导致外源dsRNA的降解,削弱其RNAi的效率<sup>[16-17]</sup>。此外,dsRNA在环境中还极易受到pH、温度及紫外光的降解,这在很大程度上限制了其在田间的广泛应用<sup>[18-19]</sup>。

纳米材料是指在三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围(1~100 nm)或由其作为基本单元构成的材料<sup>[20]</sup>。由于其具有较大的表面积、优异的分散性和生物相容性等性质,在医学、生物学、环境科学和农业等领域中发挥了重要作用<sup>[21-24]</sup>。在农业害虫治理方面,纳米载体介导的RNAi被认为是一种

递送dsRNA从而提高RNAi效率的新方法<sup>[25-28]</sup>。纳米载体可以通过静电作用、氢键及范德华力等方式与dsRNA形成稳定的复合物,有效降低其在昆虫消化道内的降解,同时增强其穿透细胞膜的能力,最终提高RNAi的效率<sup>[29-30]</sup>。鉴于此,本文对纳米载体在昆虫RNAi中的应用现状、挑战及未来发展方向进行了综述,旨在为害虫RNA农药的开发提供技术参考和理论依据。

## 1 纳米载体在害虫RNA农药中的应用研究进展

近年来,随着纳米材料应用的高速发展以及dsRNA合成技术的不断优化,基于纳米递送系统的核酸农药表现出更高的稳定性和靶向性,显著提升了对害虫的防治效果(图1)<sup>[25-28]</sup>。同时,纳米材料的多功能化设计,如兼具缓释和保护功能的复合纳米颗粒,进一步增强了dsRNA在复杂田间环境中的持效性和生物利用度。目前,已有多种不同类型的纳米颗粒被证实能够有效增强dsRNA在昆虫体内的稳定性以及传递效率。迄今,常见的核酸纳米载体主要包括3类:有机纳米材料、无机纳米材料以及生物衍生纳米载体。基于以上纳米材料,本研究结合一些典型的案例,较为系统地展示纳米载体介导的RNA农药的研究进展。

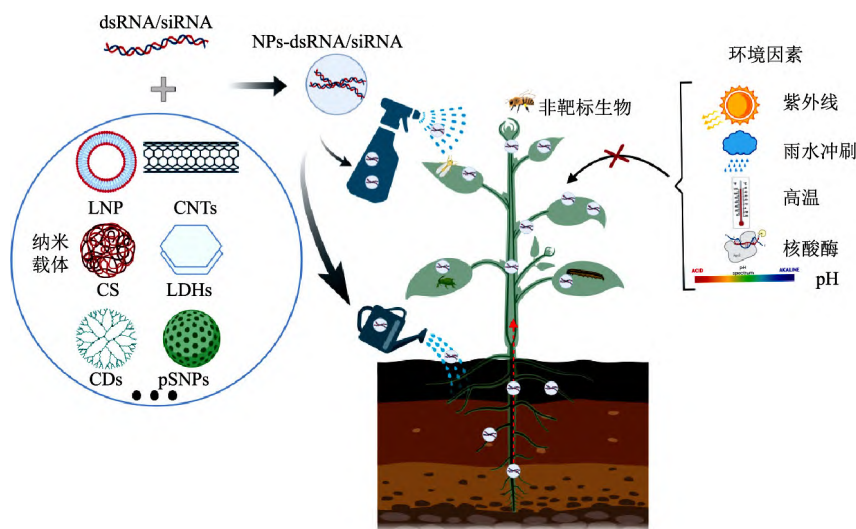


图1 纳米载体介导的害虫RNAi递送示意图(使用BioRender.com和PowerPoint 2019软件绘制)

### 1.1 基于有机纳米材料的RNA农药研究进展

有机纳米载体是指由天然或合成的有机分子构筑而成的纳米尺度材料。因其具有低毒性、良好的生物相容性及优异的可降解等特性,已成为核酸递送领域研究与应用的焦点。常见的有机材料包含

基于脂质的纳米材料、壳聚糖纳米颗粒、阳离子树状大分子、多肽纳米材料、胍基聚合物等(表1)。

#### 1.1.1 基于脂质的纳米材料

基于脂质的纳米材料是一类以天然或合成脂质为主要成分构建的纳米尺度递送系统。

表 1 有机纳米材料介导的 RNAi 在昆虫中的应用

| 纳米材料     | 表面改性         | 昆虫                                                                             | 靶标基因               | 递送方式       | 防治效果                                                                       | 参考文献 |
|----------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------|------------|----------------------------------------------------------------------------|------|
| 脂质体      |              | 德国小蠊( <i>Blattella germanica</i> )                                             | $\alpha$ -tubulin  | 饲喂法        | 基因沉默率约60%,死亡率约60%                                                          | [31] |
|          |              | 新热带区褐臭蟥( <i>Euschistus heros</i> )                                             | vATPase A、act-2    | 饲喂法        | 14 d后死亡率分别为45%和42%                                                         | [32] |
|          |              | 红火蚁( <i>Solenopsis invicta</i> )                                               | SiV-ATPaseE        | 饲喂法        | 工蚁死亡率为88.3%; 蚁后基因下调54.21%,校正死亡率为16.51%                                     | [33] |
|          | 硫酸鱼精蛋白       | 草地贪夜蛾( <i>Spodoptera frugiperda</i> )                                          | IAP                | 饲喂法        | 基因表达量显著下降39.5%,死亡率为55%                                                     | [34] |
|          | 甲硫氨酸         | 黑腹果蝇( <i>Drosophila melanogaster</i> )、<br>亚洲玉米螟( <i>Ostrinia furnacalis</i> ) | CHT10              | 饲喂法        | 黑腹果蝇蛹停止发育,最终导致死亡;亚洲玉米螟幼虫体长显著缩短42%~62%,且无法完成蜕皮,72 h后幼虫死亡率达80%               | [35] |
| 脂质纳米颗粒   | PEI          | 草地贪夜蛾( <i>S. frugiperda</i> )                                                  | Met                | 饲喂法        | 靶基因干扰率达91.7%,同时显著缩短幼虫期,导致幼虫提前进入化蛹阶段                                        | [36] |
|          |              | 甜菜夜蛾( <i>S. exigua</i> )                                                       | CHSB               | 饲喂法        | 基因干扰率达65%,7 d后死亡率为35%,幼虫体重显著减轻56%,体长显著缩短53%                                | [37] |
| 壳聚糖      |              | 冈比亚按蚊( <i>Anopheles gambiae</i> )                                              | AgCHS1、<br>AgCHS2  | 饲喂法        | 基因下调48.4%~63.4%,幼虫死亡率增加16.7%~48.0%                                         | [38] |
|          |              | 翠纹钻夜蛾( <i>Earias vittella</i> )                                                | Chitin synthase    | 饲喂法        | 基因显著下调,幼虫化蛹率和成虫羽化率分别降低36%和52%                                              | [39] |
|          |              | 西花蓟马( <i>Frankliniella occidentalis</i> )                                      | dsvATPaseB         | 饲喂法        | 室内防效约90%,田间防效达82.4%                                                        | [40] |
|          |              | 红带蜡象( <i>Piezodorus guildinii</i> )                                            | Srp54k             | 饲喂法        | 基因干扰率达87%,14 d后校正死亡率达66.67%                                                | [41] |
|          | TPP          | 埃及伊蚊( <i>Aedes aegypti</i> )                                                   | IAP                | 饲喂法        | 基因表达量降低60%,死亡率达65%                                                         | [42] |
|          | PEG-CO<br>OH | 甜菜夜蛾( <i>S. exigua</i> )                                                       | Ace1+Ace2          | 饲喂法        | 基因表达量降低65%,死亡率达51.82%,生育期延长25%,产卵量减少22.02%                                 | [43] |
|          |              | 家蚕( <i>Bombyx mori</i> )                                                       | TCTP               | 细胞培养       | 高效抑制靶基因的表达                                                                 | [44] |
| 阳离子树状大分子 |              | 亚洲玉米螟( <i>O. furnacalis</i> )                                                  | dsCHT10            | 饲喂法        | 幼虫体重明显减轻,并且蜕皮出现障碍及死亡率显著增加                                                  | [45] |
|          |              | 大豆蚜( <i>Aphis glycine</i> )                                                    | ATPD、ATPE、<br>CHS1 | 点滴法<br>饲喂法 | 基因表达量 58.87%~86.86%,死亡率达81.67%(dsATPD+dsATPE)<br>防治效果达78.5%(dsATPD+dsCHS1) | [46] |
|          |              | 绿盲蝽( <i>Apolygus lucorum</i> )                                                 | ECR-A、Tre-1        | 点滴法<br>饲喂法 | 基因表达量显著下调,死亡率达69%<br>基因表达量显著下调,死亡率达83%                                     | [29] |
|          |              | 豌豆蚜( <i>Acyrtosiphon pisum</i> )                                               | BiP                | 饲喂法        | 基因表达量显著下调,死亡时间提前6~9 d                                                      | [47] |
| 多肽纳米载体   |              | 赤拟谷盗( <i>Tribolium castaneum</i> )                                             | BiP、Armet          | 饲喂法        | 幼虫死亡率达75%                                                                  | [48] |
|          |              | 日本金龟子( <i>Popillia japonica</i> )                                              | peritrophin        | 饲喂法        | 基因递送效率和干扰效率显著提高                                                            | [49] |
|          |              | 赤眼蜂( <i>Trichogramma dendrolimi</i> )                                          | VgR                | 注射法        | 基因表达量最高下降98.6%,雌虫卵巢发育异常                                                    | [49] |
|          |              | 沙漠蝗( <i>Schistocerca gregaria</i> )                                            | Tub                | 饲喂法<br>注射法 | CPPs有效保护dsRNA免受肠道核酸酶降解,但未能触发RNAi反应<br>基因表达量显著下降                            | [50] |
| 胍基聚合物    |              | 草地贪夜蛾( <i>S. frugiperda</i> )                                                  | sfV-ATPase         | 饲喂法        | 基因敲除率超过80%,但29 d后幼虫死亡率较低                                                   | [51] |

凭借优异的生物相容性、可调控的物理化学性质及多功能性,脂质纳米材料在药物递送、基因治疗等领域广泛应用<sup>[52-54]</sup>。针对合成方式、脂质组成以及形态结构的异质性,现阶段用于核酸传递的脂质纳米材料可被分类为2类:脂质体和脂质纳米粒子。

脂质体(liposomes)是一种具有类似生物膜结

构的纳米级囊泡,主要由多种磷脂组成,其结构特点是磷脂分子在水溶液中能够形成封闭的脂质双层<sup>[53, 55]</sup>。脂质体具有低毒性、生物相容性以及易降解性等优点,且其囊泡结构能够包裹疏水性和亲水性药物,已成为递送小分子和大分子的强大药物载体<sup>[52, 56]</sup>。基于脂质体与细胞膜之间的高度相似性,它

们被认为是极具潜力的核酸递送纳米载体。Lin等<sup>[31]</sup>研究发现,脂质体能够有效保护dsRNA免受德国小蠊(*B. germanica*)肠道核酸酶的降解,比仅使用dsRNA处理具有更高的沉默效率(60%)和死亡率(60%)。与此类似,通过脂质体包裹靶向ATP酶(*vATPase A*)和肌肉肌动蛋白(*act-2*)的dsRNA,将其饲喂于新热带区褐臭蝽(*E. heros*),发现14 d后的死亡率分别为45%和42%<sup>[32]</sup>。近期,Wang等<sup>[33]</sup>以红火蚁(*S. invicta*) *SiV-ATPaseE*为靶基因,比较了脂质体、壳聚糖(chitosan, CS)和阳离子星形聚合物(star polycation, SPc) 3种载体的RNAi效率,发现3种载体中脂质体负载的dsRNA干扰效果最好。科研人员还通过将脂质体与聚合物结合,成功优化了纳米载体的稳定性和负载能力,从而极大地提高了核酸的递送效率。Dhandapani等<sup>[34]</sup>利用阳离子聚合物硫酸鱼精蛋白(protamine sulfate, PS)和脂质体(阳离子脂质cellfectin, CF)与dsRNA结合,成功制备了一种高效的基因递送系统(CF/dsRNA/PS复合体)。研究结果显示,该复合体显著提升了dsRNA的稳定性,有效防止了核酸酶的降解作用,并且在Sf9细胞内的转染率优于CF/dsRNA和PS/dsRNA复合体。此外,研究还揭示了该复合体增强了dsRNA内体逃逸的能力。对草地贪夜蛾(*S. frugiperda*)进行饲喂试验,观察到靶基因表达量显著下降39.5%,死亡率达到50%。这一结果进一步证实了PS/CF-dsRNA配方作为一种改进的dsRNA递送系统在害虫防控领域的应用潜力。Li等<sup>[35]</sup>报道了一组新型甲硫氨酸的硫脂质化合物(methionine-based sulfonium lipid compounds, MSLs),硫脂质化合物能有效结合dsRNA并保护其免受核酸酶降解。在果蝇Kc细胞中,MSL/dsRNA表现出良好的细胞摄取和基因转染能力。以几丁质酶基因(*CHT10*)为靶标,研究发现,在黑腹果蝇(*D. melanogaster*)和亚洲玉米螟(*O. furnacalis*)中,有4种MSLs能够介导dsRNA干扰机制,并在虫体发育过程中显著抑制其生长,最终导致害虫死亡。

脂质纳米颗粒(lipid nanoparticles, LNPs)在广义上是指由脂质构建而成的纳米级颗粒,但其不具备亲水空腔结构,以可电离脂质为核心,辅助脂质、胆固醇和聚乙二醇(PEG)化脂质通过自组装形成高度有序的纳米颗粒<sup>[33]</sup>。由于可电离脂质在酸性环境中的质子化作用,赋予了LNPs在递送核酸、小分子药物以及其他生物活性分子等诸多方面的优势。Su等<sup>[36]</sup>采用聚乙烯亚胺(polyethylenimine, PEI)修饰的LNPs为载体,以草地贪夜蛾保幼激素受体基因

(*Methoprenetolerant, Met*)的dsRNA为受体制备Met3@PEI@LNPs纳米复合体。该复合物显著增强了dsRNA在昆虫中肠碱性环境中的稳定性,并有效提升了细胞内的转染效率(达到96.4%)。饲喂结果表明,其基因干扰率达91.7%,同时显著缩短了幼虫期,导致幼虫提前进入化蛹阶段。此外,华东理工大学开发了一种基于微流控技术的纳米平台,以LNPs作为纳米载体,利用微流控技术增强的传质和连续处理能力来制备RNA农药<sup>[37]</sup>。该研究显示,在数秒内dsRNA@LNP能迅速制备,并且具备均匀的尺寸分布,这一特性显著提高了其在叶片上的湿润性和分散性。进一步的饲喂试验结果表明,dsRNA@LNP能够显著提高甜菜夜蛾(*S. exigua*)幼虫的死亡率及幼虫的发育进度。

### 1.1.2 壳聚糖纳米颗粒

壳聚糖是一种源自虾、蟹等甲壳类动物外壳的天然多糖聚合物,其通过酶解或化学脱乙酰化的方法从甲壳素中提炼出来,在生物学、医学研究及农业科技等领域拥有广泛的应用价值<sup>[57]</sup>。壳聚糖具有活性羟基和氨基,低廉的成本、优良的生物相容性以及卓越的生物降解性,使得其成为dsRNA、siRNA和质粒DNA等递送体系的优秀材料。在微酸环境下,壳聚糖带有正电荷,能够通过静电作用与带负电荷的dsRNA形成稳定的复合物,进而实现基因dsRNA的高效递送<sup>[58-59]</sup>。壳聚糖作为首个应用于昆虫RNAi技术的纳米载体,通过饲喂法发现dsRNA/CS纳米复合物显著提高了冈比亚按蚊(*A. gambiae*) *AgCHS1*基因的干扰效率<sup>[38]</sup>。Sandal等<sup>[39]</sup>以翠纹钻夜蛾(*E. vittella*)几丁质合成酶(*Chitin synthase*)为靶基因,制备了dsRNA/CS复合物并饲喂幼虫。结果显示,壳聚糖能够显著提高靶基因的干扰效率,并显著降低幼虫化蛹率和成虫羽化率。Khan等<sup>[40]</sup>发现,壳聚糖能显著增强dsRNA抵御紫外线和西花蓟马(*F. occidentalis*)肠道核酸酶的降解,具有更高的递送效率和沉默效应,显著提高了西花蓟马的死亡率;此外,叶面喷洒dsvATPase-B/CS复合物不仅可以提高田间防效(82.4%),同时,壳聚糖还可与3种不同蓟马[西花蓟马、花蓟马(*F. intonsa*)和烟蓟马(*Thrips tabaci*)]的特异性dsvATPaseB基因结合,扩大防治谱。Schvartzman等<sup>[41]</sup>通过饲喂红带蝽象(*P. guildinii*)发现,dsRNA/CS复合物能够通过抵御肠道及血淋巴中核酸酶的降解作用,从而提升RNAi的效率。

由于壳聚糖的dsRNA纳米颗粒在中性和碱性环

境中的不溶解特性,一定程度上限制了其作为dsRNA的高效递送载体的能力<sup>[60]</sup>。有趣的是,科学家尝试借助化学交联的手段(三聚磷酸钠、叶酸、聚乙二醇、聚乙烯亚胺和葡聚糖硫酸盐等)来提升其溶解性及递送效率<sup>[61]</sup>。将壳聚糖与三聚磷酸钠(TPP)交联,可以显著提高壳聚糖/dsRNA复合物的稳定性,CS-TPP-dsRNA复合物提高了埃及伊蚊(*A. aegypti*)的死亡率(65%),而CS/dsRNA复合物处理的死亡率仅为35%<sup>[42]</sup>。Jiang等<sup>[43]</sup>通过将羧基(-COOH)改性的聚乙二醇(PEG)与壳聚糖交联,构建了一种pH响应型纳米颗粒,即壳聚糖-聚乙二醇-羧基(CS-PEG-COOH),该纳米载体能够有效保护dsRNA免受甜菜夜蛾中肠液及RNase A的降解,该载体显著提高了RNAi效率。

### 1.1.3 阳离子树状大分子

阳离子树状大分子(cationic dendrimers, CDs)是一种具有中心小分子始发核、重复分支单元内部以及表面功能化特征的球状聚合物,其由多个分支单元构成<sup>[62]</sup>。这种特殊的聚合物因其低毒性、高转染效率以及具正电荷特性,也被认为是dsRNA、siRNA和质粒DNA等基因的理想载体。目前常见的阳离子树状大分子有聚酰胺-胺聚合物(poly amidoamine, PAMAM)、荧光阳离子纳米载体(fluorescent nanoparticles, FNP)和星形阳离子聚合物(star polycation, SPc)等。PAMAM树状大分子由于合成简单且成本低,能作为核酸载体被广泛应用,同时还应用于昆虫细胞的研究<sup>[63]</sup>。Lu等<sup>[44]</sup>通过细胞培养试验,证实G5-PAMAM树状大分子能够促进dsRNA递送至家蚕(*B. mori*)中肠细胞中,从而高效抑制靶基因的表达。中国农业大学研究团队研发了以荧光花二酰亚胺(perylene diimide, PDI)为核心的FNP和以季戊四醇为核心的SPc纳米材料。FNP与几丁质酶基因dsCHT10结合后处理亚洲玉米螟(*O. furnacalis*),幼虫体重明显减轻,且出现蜕皮障碍现象,死亡率显著增加<sup>[45]</sup>。该团队还开发了一种成本效益高、递送效率高且毒性低的dsRNA纳米载体-星形阳离子聚合物SPc<sup>[64]</sup>。Yan等<sup>[46]</sup>以SPc为载体,制备了针对ATP酶(V-ATPaseD)和几丁质合酶(CHSI)基因的dsRNA/SPc制剂,能够实现对大豆蚜(*A. glycine*)78.5%的防治效果。Qiao等<sup>[29]</sup>以绿盲蝽(*A. lucorum*)蜕皮激素受体(ecdyson receptor isoform A, ECR-A)和可溶性海藻糖酶1(soluble trehalase1, Tre-1)为靶标基因,成功制备了dsECR-A+Tre-1/SPc双负载复合物,该复合物对绿盲蝽具有显著的防治效果。

### 1.1.4 多肽纳米载体

多肽纳米载体是由多个氨基酸组成的短链,其阳离子基团带正电荷,与核酸通过静电相互作用形成稳定的复合物,从而实现高效递送<sup>[65]</sup>。多肽的构成基于天然产物,因此其具备无毒性、安全性和可降解等特点,是核酸农药载体材料的研究热点。多肽纳米载体主要有2类:支链两亲性肽胶囊(branched amphiphilic peptide capsules, BAPCs)和细胞膜穿透肽(cell membrane penetrating peptides, CPPs)。

BAPCs是由亲水性氨基酸形成的双层结构纳米囊泡,其表面富含阳离子赖氨酸基团<sup>[66-67]</sup>。目前,该类载体多用于负载DNA转染人与小鼠相关的多种细胞系研究,在昆虫中的研究相对较少。Avila等<sup>[47]</sup>首次在赤拟谷盗(*T. castaneum*)和豌豆蚜(*A. pisum*)中使用BAPCs递送dsRNA。该研究以BiP和Armet为靶标,通过饲喂法验证了该载体可以有效提高昆虫RNAi效率。采用dsRNA/BAPC饲喂日本金龟子(*P. japonica*),比仅使用dsRNA具有更高的递送效率和干扰效率<sup>[48]</sup>。Wang等<sup>[49]</sup>以赤眼蜂(*T. dendrolimi*)卵黄蛋白原受体(Vitellogenin receptor, VgR)基因为靶标,BAPC作为dsRNA的载体,开发了一种基于赤眼蜂寄生后寄主(米蛾*Corcyra cephalonica*和柞蚕*Antherea pernyi*)蛹期显微注射的RNAi系统,赤眼蜂VgR基因表达量最高下降98.6%,VgR缺陷导致雌虫卵巢发育异常,进一步抑制了赤眼蜂对寄主卵的寄生能力。

CPPs是一类能够携带大分子(核酸、蛋白质和附加肽等)跨过细胞膜屏障进入细胞内的短肽,通常由10~30个氨基酸组成,能够增强细胞对dsRNA的摄取,同时协助其在细胞内体中逃逸<sup>[68]</sup>。至今,已有超过1 000种CPPs被发现并在各个领域得到广泛应用<sup>[69]</sup>。其中,富含精氨酸的Tat肽(trans-activator of transcription)的发现,极大地推动了细胞穿透肽作为昆虫RNAi载体的应用研究。Tat肽具有阳离子胍基官能团,能与带有阴离子的细胞表面相互作用,从而触发细胞内吞过程,实现对细胞的有效摄取<sup>[70]</sup>。Erazo-Oliveras等<sup>[71]</sup>研究发现,Tat肽虽然可以被细胞有效地吸收,但内体逃逸率不高。为了解决这一问题,研究人员结合基因工程技术,开发出多种改良型的细胞穿透肽(CPPs),显著提高了内体逃逸的效率。肽蛋白转导结构域(protein transduction domain, PTD)和dsRNA结合域(dsRNA binding domain, DRBD)融合的多肽,穿透效率、靶向性及稳定性均显著提升,优于传统的Tat肽。Gillet等<sup>[72]</sup>发现

CPP-DRBD/dsRNA 复合物在酸性环境中增强了 dsRNA 的稳定性,并提高了其在草地贪夜蛾 Sf21 细胞中的递送效率。Vogel 等<sup>[50]</sup>比较了 5 种 CPPs (穿透肽衍生物 EB1 和 C6MI、融合肽细胞穿透肽 HA2-penetratin 和 HA2-TAT、多聚精氨酸肽 POA) 与 dsRNA 结合能力及其在沙漠蝗 (*S. gregaria*) 中肠环境中的保护作用。EB1、C6MI 和 POA 在一定程度上能够提高 dsRNA 在中肠液中的稳定性,而 HA2-penetratin 和 HA2-TAT 载体中的 dsRNA 均被迅速降解。此外,将 EB1/dsRNA 复合物饲喂沙漠蝗未能诱导 RNAi 反应,注射 EB1/siRNA 复合物时,dsRNA 表达量显著下降。

1.1.5 胍基聚合物

胍基聚合物 (guanidine-containing polymers, GCPs) 是一种携带胍基官能团的高分子材料,该载体主要用于在碱性肠道环境下的 RNAi。在碱性环境中,dsRNA/siRNA 容易水解,而胍基聚合物能够有效避免碱性 pH 对聚合物与核酸络合的不利影响<sup>[73]</sup>。胍基在碱性环境中仍能保持质子化状态 (带正电荷),质子化的胍基聚合物通过静电作用与 dsRNA 形

成稳定的网络结构,从而减缓碱性离子对聚合物主链的侵蚀<sup>[74]</sup>。

此外,该类聚合物与富含精氨酸的细胞膜穿透肽相似,能够通过细胞膜的内吞,将胍基聚合物运输至昆虫体内,并在内体中实现核酸的释放<sup>[72]</sup>。Parsons 等<sup>[51]</sup>合成了一种含胍基的阳离子聚合物聚-*N*-(3-胍基丙基)甲基丙烯酰胺 (poly-[*N*-(3-guanidino-propyl)methacrylamide], pGPMA), 该聚合物材料与 dsRNA 结合后能够在碱性环境中保持稳定。Sf9 细胞体外孵育试验表明,48 h 后 dsRNA 的表达量显著下降 90% 左右。以草地贪夜蛾 *sfV-ATPase* 基因为靶标,连续饲喂幼虫 7 d 后, pGPMA 递送的靶基因敲除率超过 80%。

1.2 基于无机纳米材料的 RNA 农药研究进展

无机纳米载体,是由无机分子构成的纳米尺度的材料。因其易修饰性、优异的生物相容性以及较高的核酸负载能力而成为核酸递送的理想材料。目前,常用的无机材料包括碳基纳米材料、层状双氢氧化物、金属有机框架、二氧化硅纳米颗粒等 (表 2)。

表 2 无机纳米材料介导的 RNAi 在昆虫中的应用

| 纳米材料    | 表面改性      | 昆虫                                                                                           | 靶标基因                                                                                                                                          | 递送方式 | 防治效果                                                                     | 参考文献 |
|---------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|--------------------------------------------------------------------------|------|
| 碳基纳米材料  | PAMAM     | 赤拟谷盗 ( <i>T. castaneum</i> )                                                                 | <i>αtub</i> 、 <i>mtpol</i>                                                                                                                    | 注射法  | 靶基因显著下调 93.0% ( <i>mtpol</i> ) 和 99.5% ( <i>αtub</i> ), 幼虫存活率显著降低        | [75] |
|         | PEI       | 亚洲飞蝗 ( <i>Locusta migratoria</i> )                                                           | <i>LmCht10</i> 、 <i>LmATP5A</i>                                                                                                               | 注射法  | 基因下降 36.5%~46.0%, 死亡率为 23.4%~39.0%                                       | [76] |
|         |           |                                                                                              |                                                                                                                                               | 饲喂法  | 死亡率增加 3.5 倍                                                              |      |
|         | PEI       | 埃及伊蚊 ( <i>A. aegypti</i> )                                                                   | <i>SNF7</i> 、 <i>SRC</i>                                                                                                                      | 饲喂法  | 基因表达量为 60% ( <i>SNF7</i> ) 和 29% ( <i>SRC</i> ), 7 d 后幼虫死亡率分别为 75% 和 53% | [77] |
|         | PEG/PEI   | 斑翅果蝇 ( <i>D. suzukii</i> )                                                                   | <i>vha26</i>                                                                                                                                  | 饲喂法  | 基因显著降低 25%, 7 d 后死亡率为 41%                                                | [78] |
| 层状双氢氧化物 | Imidazole | 棉铃虫 ( <i>Helicoverpa armigera</i> )                                                          | <i>HaLCP17</i>                                                                                                                                | 注射法  | 基因沉默率显著增强 1.66 倍, 10 d 后幼虫死亡率增加 92.88%, 成虫羽化率降低 31.42%                   | [79] |
|         |           | 烟粉虱 ( <i>Bemisia tabaci</i> )                                                                | <i>Suc</i> 、 <i>Duox</i> 、 <i>Syx1.2,3</i> 、 <i>Mlc2</i> 、 <i>Pnlipr2</i> 、 <i>SP-T</i> 、 <i>Duox</i> 、 <i>Gld</i> 、 <i>Vhaa</i> + <i>zfp</i> | 饲喂法  | 靶基因的干扰率显著下降 (50%~89%), 死亡率为 38%~72%                                      | [80] |
|         | 脂肪酸       | 褐飞虱 ( <i>Nilaparvata lugens</i> )                                                            | <i>EcR</i>                                                                                                                                    | 点滴法  | 基因干扰率达 71%, 存活率为 43%                                                     | [81] |
|         |           |                                                                                              |                                                                                                                                               | 饲喂法  | 基因干扰率达 56%                                                               |      |
|         |           | 暗黑鳃金龟 ( <i>Holotrichia parallela</i> )                                                       | <i>HpVAA</i>                                                                                                                                  | 注射法  | 基因干扰率达 99.19%, 5 d 后死亡率达 86.67%; 幼虫表皮色泽加深, 生长停滞或死亡                       | [82] |
|         |           |                                                                                              |                                                                                                                                               | 饲喂法  | 72 h 后基因干扰率为 89.69%, 死亡率达 75%                                            |      |
| 金属有机框架  |           | 柑橘全爪螨 ( <i>Panonychus citri</i> )、柑橘木虱 ( <i>Diaphorina citri</i> )、棉蚜 ( <i>A. gossypii</i> ) | <i>Chit</i> 、 <i>Chs</i>                                                                                                                      | 饲喂法  | 基因干扰率为 16.05%~65.58%, 死亡率为 6.51%~38.13%                                  | [83] |
|         |           | 褐飞虱 ( <i>N. lugens</i> )                                                                     | <i>CYP303A1</i>                                                                                                                               | 饲喂法  | 基因显著下调, 96 h 后存活率降低 82.22%                                               | [84] |
|         |           | 褐飞虱 ( <i>N. lugens</i> )                                                                     | <i>dsNICYP6ER1</i> 、吡虫啉                                                                                                                       | 饲喂法  | 基因显著下调, 若虫存活率为 24%                                                       | [85] |
|         | CS        | 柑橘木虱 ( <i>Diaphorina citri</i> )                                                             | <i>ABCH6</i> 、环氧虫啉                                                                                                                            | 饲喂法  | 2 d 内死亡率超过 80%                                                           | [86] |

(续表 2)

| 纳米材料         | 表面改性 | 昆虫                                  | 靶标基因                            | 递送方式 | 防治效果                                          | 参考文献 |
|--------------|------|-------------------------------------|---------------------------------|------|-----------------------------------------------|------|
| 二氧化硅<br>纳米颗粒 |      | 草地贪夜蛾 ( <i>S. frugiperda</i> )      | <i>IAP</i>                      | 细胞培养 | 促进细胞凋亡                                        | [87] |
|              |      | 埃及伊蚊 ( <i>A. aegypti</i> )          | <i>SRC</i>                      | 饲喂法  | mRNA 沉默效率、死亡率未显著增加                            | [77] |
|              |      | 棉蚜 ( <i>A. gossypii</i> )           | <i>CYP6CY13</i> 、吡虫啉            | 饲喂法  | 基因沉默率为 39.37%, 5 d 后死亡率达 82.45%               | [88] |
|              |      | 白背飞虱 ( <i>Sogatella furcifera</i> ) | <i>USP</i> 、 <i>Kr-h1</i> 、烯啶虫胺 | 饲喂法  | 基因表达量显著降低 9%~28.4%, 对烯啶虫胺的敏感性显著提高 5.37~7.13 倍 | [89] |

1.2.1 碳基纳米材料

碳基纳米材料是由碳元素构成的纳米尺度材料,具有低毒性、低成本和对环境安全等特点,在核酸农药纳米递送系统领域展现出巨大的应用潜力<sup>[90]</sup>。目前,应用在昆虫RNAi领域的这类材料主要有碳纳米管(carbon nanotubes, CNTs)、碳量子点(carbon dots, CDs)和石墨烯纳米载体等。

碳纳米管具有疏水性的圆柱形空心纳米结构,根据层状结构的数量,其可分为单壁碳纳米管(single wall carbon nanotubes, SWNTs)和多壁碳纳米管(multiwalled carbon nanotubes, MWNTs)<sup>[90]</sup>。鉴于其固有的疏水性质,未经修饰的CNTs生物相容性较低,因此在实际应用中通常需要对其进行功能化或表面改性的修饰<sup>[91]</sup>。常见的功能化物质有聚酰胺-胺(PAMAM)树状大分子、聚乙二醇(PEG)和聚乙烯亚胺(PED等阳离子聚合物,修饰后的CNTs能够显著提升核酸负载能力和递送效率<sup>[91]</sup>。Edwards等<sup>[75]</sup>阐明了PAMAM-CNT纳米载体对赤拟谷盗RNAi的影响,注射PAMAM-CNT-dsRNA复合物能够显著提高对赤拟谷盗的RNA干扰效率和死亡率。Ren等<sup>[76]</sup>采用PEI对CNTs进行表面修饰得到功能化的单壁碳纳米管(PEI-SWNT)纳米载体,阐明了3种无机纳米材料PEI-SWNT、聚乙烯亚胺功能化碳量子点(PEI-CQD)、层状双氢氧化物与dsRNA结合的功能。

碳量子点是由尺寸小于10 nm的球形碳纳米颗粒组成,其具有荧光特性,因此可对核酸进行标记和检测<sup>[92]</sup>。与CNTs相似,CDs递送核酸分子时需要用带正电荷的配体分子进行表面修饰<sup>[51]</sup>。Das等<sup>[77]</sup>采用PEI对CDs进行修饰得到带正电荷的碳量子点(carbon quantum dots, CQD),比较了3种纳米载体CQD-PEI、CS、二氧化硅纳米颗粒(amine functionalized silica nanoparticle, ASNP)与dsRNA结合后对埃及伊蚊的影响。但是,Wang等<sup>[33]</sup>发现,CQD纳米

颗粒对红火蚁具有一定的生物毒性,推测不同种类昆虫对CQD的敏感性存在差异。

石墨烯纳米载体主要包括氧化石墨烯(graphene oxide, GO)和石墨烯量子点(graphene quantum dots, GQD)<sup>[90]</sup>。GO是石墨烯的氧化态,持有准二维的空间结构以及众多含氧官能团,如环氧基、羟基和羧基基团等<sup>[93]</sup>。然而,GO本身具有毒性,能在昆虫组织中积累并导致其结构破坏,最终影响昆虫生长发育和繁殖,因此需谨慎评估体内应用安全性<sup>[94]</sup>。Xue等<sup>[78]</sup>采用PEG和PEI修饰GO获得一种功能改性氧化石墨烯载体(GONs),其能有效提高dsRNA在斑翅果蝇(*D. suzuki*)昆虫肠道、极端pH和极端温度环境中的稳定性,GONs增强了果蝇S2细胞和鳞翅目Sf9细胞对dsRNA的吸收和靶基因的敲除。GQD是由石墨或氧化石墨烯衍生而来的一类二维平面材料,融汇了石墨烯与量子点的独特优势,展现出卓越的荧光特性及出色的生物相容性。GQD因其极小的尺寸(<10 nm),在递送核酸方面展现出巨大潜力。Zhang等<sup>[79]</sup>在研究中尝试利用咪唑(imidazole)修饰的GOD(IGQDs)作为dsRNA载体,用于验证棉铃虫(*H. armigera*)的基因功能。

1.2.2 层状双氢氧化物

层状双氢氧化物(layered double hydroxides, LDHs)是一类具有独特二维层状结构的无机纳米材料,由带正电荷的片层与层间阴离子组成<sup>[95]</sup>。因其具有低毒性、良好的生物相容性和易降解等特点,在昆虫领域得到广泛关注和研究<sup>[96-98]</sup>。叶面喷施LDHs/dsRNA可以有效增强烟粉虱(*B. tabaci*)靶基因在棉花维管束组织中的吸收和移动,同时对烟粉虱具有良好的控制效果<sup>[80]</sup>。Tang等<sup>[81]</sup>采用脂肪酸对LDH进行了改性,制备出一种新型LDH纳米载体(LDHS)。该载体不仅具备与表面活性剂相似的高黏附性和良好的渗透性,还展现出良好的生物相容性,dsRNA-LDHS从水稻叶片向维管束转移,最后被

飞虱取食,递送效率提高了2.5倍,并且导致飞虱的死亡率高于含助剂的LDH处理组。Jiang等<sup>[82]</sup>发现,LDH可以有效结合暗黑鳃金龟(*H. parallela*) V-ATP酶- $\alpha$ 基因(*HpVAA*)的dsRNA,保护dsRNA在环境中的稳定性并能被花生植株有效吸收。Cheng等<sup>[83]</sup>研究了4种纳米载体(壳聚糖-三聚磷酸五钠CS-STPP、CQD、LDH和SPc)对植物中dsRNA的传递效率,LDH载体是递送和促进dsRNA在植物组织中转运的理想载体。此外,以3种刺吸式害虫(柑橘全爪螨、柑橘木虱和棉蚜)为研究对象,发现LDH纳米载体可以系统地将dsRNA从茎运输至叶片,进而传输至刺吸式害虫的肠道中,最终实现高效的杀虫效果。

1.2.3 金属有机框架

金属有机框架(metal-organic frameworks, MOFs)是由金属离子或金属簇与有机配体通过配位键自组装形成的多孔晶体材料,具有极高的比表面积、可调的孔径和多样化的功能设计等优点,在核酸递送领域展现出广泛的应用前景<sup>[9]</sup>。由金属离子(如 $Zn^{2+}$ )与咪唑类配体(如2-甲基咪唑)通过四面体配位方式构建的带有阳离子的沸石咪唑酯骨架材料(zeolitic imidazolate frameworks, ZIFs),能够通过静电吸附的方式包裹dsRNA。Du等<sup>[84]</sup>报道了基于沸石咪唑酯框架8(ZIF-8)纳米粒子包裹dsRNA对褐飞虱蜕皮相关基因(*CYP303A1*)的特性及其潜在应用。Yu等<sup>[85]</sup>通过将吡虫啉和ds*NICYP6ER1*封装在ZIF-8纳米颗粒中,设计了杀虫剂和dsRNA的共递送系统-吡虫啉/ds*NICYP6ER1*@ZIF-8复合物,旨在提升褐飞虱对吡虫啉的敏感性。Wang等<sup>[86]</sup>利用CS与MOF材料合成CS-MOF纳米颗粒,开发的双重递送系统增强了dsRNA和环氧虫啉对柑橘木虱的递送

效率及其杀虫效果。

1.2.4 二氧化硅纳米颗粒

二氧化硅纳米颗粒(silica nanoparticles, SiNPs)是一种由二氧化硅( $SiO_2$ )构建的纳米尺度材料,其粒径通常介于1~100 nm之间,具有高比表面积、可调控的孔隙结构、良好的生物相容性,其还能够进行有效的表面功能化,因此在递送核酸方面展现出巨大的应用前景<sup>[100]</sup>。Nadeau<sup>[87]</sup>报道,多孔二氧化硅纳米颗粒(porous silica nanoparticles, pSNPs)可促进草地贪夜蛾Sf9细胞对dsRNA的吸收,并保护其免受核酸酶的降解。为提高dsRNA的稳定性,Lv等<sup>[88]</sup>构建了一种基于粗糙表面中空介孔二氧化硅(RHMS)的基因/杀虫剂递送系统,该系统能够同时传递棉蚜的dsRNA(解毒代谢酶基因*CYP6CY13*)和吡虫啉(imidacloprid, IMI)。RHMS/dsRNA能够持续触发dsRNA的RNAi效应,且96 h后,基因沉默效率仍超过50%,RHMS/IMI/dsRNA复合物表现出更高的生物活性和更好的防治效果,有效解决了棉蚜对吡虫啉的高耐药性。Gong等<sup>[89]</sup>提出了一种基于树枝状介孔二氧化硅纳米材料(dendritic mesoporous silica nanoparticles, DMSNs)的载体,用于同时递送siRNA和烯啶虫胺化学杀虫剂。

1.3 基于生物衍生载体的RNA农药研究进展

生物衍生纳米载体(bio-derived nanocarriers)是从天然生物分子或结构中提取、改造的纳米级递送系统,具有优异的生物相容性、低免疫原性和靶向性,广泛用于药物递送及基因治疗(如RNAi、mRNA疫苗)等领域<sup>[101]</sup>。在当前昆虫RNAi研究中,涉及的生物源纳米载体主要包括病毒样颗粒和外泌体(表3)。

表 3 生物衍生载体介导的 RNAi 在昆虫中的应用

| 纳米材料  | 昆虫                                            | 靶标基因         | 递送方式 | 防治效果                      | 参考文献  |
|-------|-----------------------------------------------|--------------|------|---------------------------|-------|
| 病毒样颗粒 | 斑翅果蝇( <i>D. suzukii</i> )                     | <i>vha26</i> | 饲喂法  | 4 d后基因表达量显著下降33%, 死亡率达46% | [102] |
| 外泌体   | 科罗拉多马铃薯甲虫( <i>Leptinotarsa decemlineata</i> ) | <i>Luc</i>   | 细胞培养 | 荧光素酶活性显著降低                | [103] |
|       | 赤拟谷盗( <i>T. castaneum</i> )                   | <i>Luc</i>   | 细胞培养 | 靶基因显著下调                   | [104] |

1.3.1 病毒样颗粒

病毒样颗粒(virus-like particles, VLPs)来源于病毒的外层衣壳蛋白,由病毒单一或多个结构蛋白自组装形成的空心颗粒,通常粒径在10~200 nm<sup>[101]</sup>。在形态结构方面,虽然VLPs与天然病毒粒子具有相似性,但VLPs不含有病毒核酸,缺乏复制能力,因而不具备感染性,安全性较高<sup>[105]</sup>。此外,VLPs具有极高

的生物相容性、较大的核酸载量以及易于功能化修饰等特点,受到广泛关注和研究。作为昆虫核酸载体,VLPs可以通过杆状病毒表达载体系统在昆虫细胞中实现高效表达<sup>[106]</sup>。Xue等<sup>[102]</sup>于2024年报道了基于果蝇X病毒(*Drosophila X virus*, DXV)的病毒样颗粒(DXV-VLPs)作为dsRNA载体的研究结果。DXV-VLPs能够提高dsRNA在斑翅果蝇体液中

的稳定性,并且其能够在培养的昆虫细胞(果蝇S2)中高效递送dsRNA。

### 1.3.2 外泌体

外泌体(exosomes, EXO)作为细胞自然产生的纳米级磷脂双层细胞外囊泡(30~150 nm),是一种天然的细胞间信号传递载体,在基因传递中具有显著优势<sup>[101]</sup>。外泌体具有良好的生物相容性、可变的结构以及低免疫原性等特性,成为核酸的理想载体。Yoon等<sup>[103]</sup>以科罗拉多马铃薯甲虫(*L. decemlineata*)细胞为研究对象,发现dsRNA处理的昆虫细胞中能够分离获得含有dsRNA的外泌体,且其能触发RNAi反应,证明了外泌体是昆虫RNAi反应传播的重要参与者。此外,经核酸酶处理后,外泌体携带RNAi信号

的能力并未受到影响,表明外泌体能够有效保护dsRNA免受核酸酶降解。Mingels等<sup>[104]</sup>研究发现,源自赤拟谷盗细胞外泌体携带的siRNA与外源性引入细胞的dsRNA相匹配,并且含有siRNA的外泌体能够显著抑制赤拟谷盗细胞中靶基因的表达。

## 2 纳米载体介导的核酸农药递送机制

dsRNA/siRNA的低稳定性及其递送效率不足一直是核酸农药递送系统研发中面临的关键挑战。采用纳米材料作为载体的dsRNA/siRNA递送策略,能显著提升dsRNA/siRNA的稳定性与递送效率。该策略的主要递送机制包括:纳米载体与核酸结合、细胞摄取、内体逃逸以及核酸的释放(图2)。

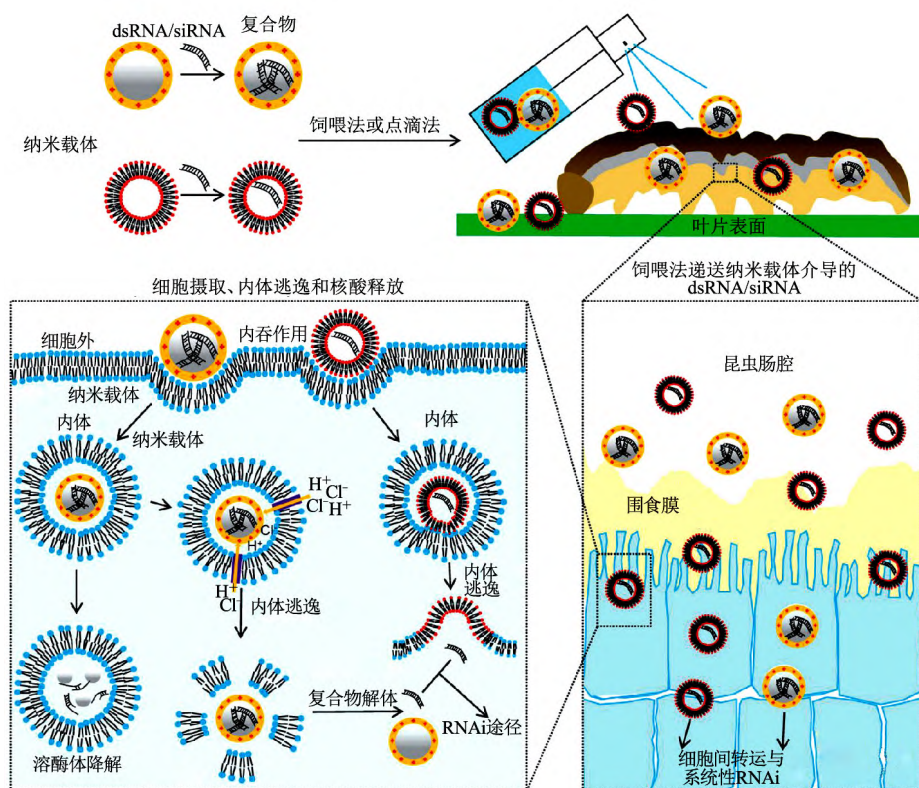


图2 纳米颗粒介导的dsRNA/siRNA递送系统示意图<sup>[27]</sup>

纳米材料与dsRNA结合能力是其作为核酸载体的一个基本前提。纳米载体能够通过静电作用、氢键、范德华力及包埋等多种方式与dsRNA结合,形成稳定的dsRNA/纳米复合物<sup>[30, 107]</sup>。其中,静电相互作用是dsRNA/纳米复合物中最常见的分子作用力<sup>[108]</sup>。壳聚糖分子中含有氨基(-NH<sub>2</sub>)基团,在酸性环境中容易发生质子化(-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>),使壳聚糖带正电荷,进而能够与dsRNA形成dsRNA/壳聚糖复合物<sup>[29, 38]</sup>。其他具备阳离子特性的聚合物,如阳离子树状大分子、胍基聚合物以及具有支链结构的两亲性肽胶囊等,也能

够通过静电相互作用实现dsRNA的有效负载<sup>[74, 109-111]</sup>。在这些复合物的自组装过程中,氢键与范德华力的负载方式同样扮演了不可或缺的角色。SPc可以通过静电、氢键和范德华力多种作用力与dsRNA结合<sup>[30]</sup>。此外,其他纳米载体如一些脂质体、病毒样颗粒以及外泌体,还通过包埋的方式将核酸封装在其载体内部,从而实现核酸的高效负载<sup>[112-114]</sup>。

细胞摄取是影响dsRNA作用的关键因素之一。细胞膜是由带负电荷的脂质双层和一些嵌入蛋白质组成,可以与带正电荷的dsRNA/纳米复合物结合,

并通过内吞作用进入细胞<sup>[115]</sup>。Ma等<sup>[30]</sup>发现,SPc可以通过上调一些关键基因来激活网格蛋白介导的内吞作用进入细胞。Zhou等<sup>[116]</sup>研究表明,CS制剂通过上调网格蛋白重链基因表达来增强网格蛋白依赖性内吞途径,从而提高靶细胞对dsRNA的摄取效率。同时,dsRNA/纳米复合物具有较小的粒径和强大的表面亲和力,能够促进害虫肠道摄取和表皮渗透。Zheng等<sup>[117]</sup>通过点滴法发现FNPs可以迅速穿透蚜虫体壁。Qiao等<sup>[29]</sup>通过点滴法验证SPc可以穿透绿盲蝽体壁进入虫体。细胞膜穿透肽还可以通过非内吞途径直接进入细胞<sup>[118]</sup>。

细胞摄取后,dsRNA/纳米复合物通常被囊泡内体包裹。如果复合物不能从细胞内体中释放,它们最终将与内体一起被溶酶体降解,因此复合物内体逃逸是dsRNA递送过程中的关键环节<sup>[119-120]</sup>。目前,被广泛认可的内体逃逸机制是质子海绵效应,该效应是指由纳米载体的质子缓冲能力引发渗透压失衡,最终导致溶酶体肿胀破裂。在pH 5~7的酸性环境中,一些阳离子聚合物的氨基会发生质子化反应,吸引大量质子进入溶酶体内,从而引起渗透压上升,导致水分流入,最终引发内体膜破裂,使纳米粒子从内体中逃离<sup>[119, 121]</sup>。此外,疏水性纳米载体具有独特的内体逃逸机制,即纳米粒子通过其可电离脂质的质子化过程,产生电荷排斥,导致结构膨胀,从而引发内体破裂<sup>[122]</sup>。例如,阳离子脂质纳米载体能够识别并结合内体膜上的阴离子磷脂,从而破坏内体的稳定性以实现内体逃逸<sup>[122-124]</sup>。

内体逃逸后,为了激活RNAi通路并实现基因的沉默效应,进而发挥核酸农药的生物学功效,dsRNA/siRNA必须从其纳米载体中解离。然而,关于纳米载体释放dsRNA/siRNA的机制研究较少,目前主要涉及2种释放机制。一种是竞争性置换机制,即采用与纳米载体具有高亲和力的聚阴离子(肝素和硫酸软骨素等)取代和释放dsRNA/siRNA,但此过程比较缓慢<sup>[125-126]</sup>。另一种机制是基于纳米载体响应细胞内刺激而诱导核酸释放的机制<sup>[125]</sup>。纳米载体自身的物理或化学性质可以响应细胞内环境因素(如酸性pH和胞质还原剂)的刺激,从而触发核酸的释放。例如,聚( $\beta$ -氨基酯)纳米载体含有二硫键(S-S),可被细胞中的谷胱甘肽氧化还原反应刺激,导致其断裂,最终实现dsRNA/siRNA的释放<sup>[127-128]</sup>。

### 3 当前的挑战和未来展望

核酸农药纳米递送系统,作为农业害虫管理中

的一项创新技术,已经在害虫防控领域取得了一系列成果。尽管如此,在实现广泛应用之前,该技术仍需克服多项技术挑战。其中,特异性靶基因的筛选尤为关键。不同种类昆虫对RNAi技术的响应存在显著差异。在鞘翅目和直翅目昆虫中,RNAi的效率相对较高,但在鳞翅目和半翅目昆虫中,其效率则显著降低。因此,需要不断筛选高致死率的特异性靶标基因。纳米核酸农药的生产成本也是考虑的重要因素之一,纳米载体的合成材料和制作工艺需要具有经济性和简易性。另一方面,dsRNA的生产成本亦需降低。目前,使用微生物发酵的大规模dsRNA合成被认为是最有前途的方法之一。L4440-HT115(DE3)系统是应用最广泛的dsRNA表达系统,该系统可在微生物体内大规模合成dsRNA,已成功应用于多种昆虫RNAi中<sup>[43, 85, 129]</sup>。最近,研究人员构建了一种新型pET28-BL21(DE3)RNase III-系统,能够高效表达dsRNA,表达量是L4440-HT115(DE3)系统的3倍<sup>[130]</sup>。

纳米颗粒介导的RNA农药的潜在风险还需要建立评估体系。首先,多种纳米材料本身可能具备毒性问题。例如,G5 PAMAM树状大分子会损伤线粒体细胞,高浓度的SPc材料会增加黑腹果蝇的死亡率以及氧化石墨烯GO会在昆虫组织中积累并破坏其结构,最终对昆虫的生长发育与繁殖造成不利影响<sup>[44, 131]</sup>。基于此,纳米材料的安全性评估在应用前需进行细致审慎的考量。其次,纳米载体对环境和人类健康的潜在影响还未知。纳米载体虽然具有优异的生物相容性,但其对人类和环境的风险评估研究相对缺乏,因此需要增加对环境和人类安全的评估。最后,需要增加dsRNA/纳米复合体对非靶标生物的影响以及对靶标生物的抗性进行评估。RNA农药通过沉默特定基因来发挥作用,但可能会与非靶标生物(如天敌和蜜蜂)的同源基因发生交叉反应。因此,需要通过生物信息学工具(如siRNA脱靶预测)和试验验证其特异性。此外,长期使用纳米载体介导的RNA农药可能引发害虫对RNA农药的抗性(如靶标基因突变或RNAi通路抑制)。因此,需设计多靶点的RNA或结合其他防治策略以延缓抗性的发生。

未来,随着纳米技术的不断进步,核酸农药纳米递送系统有望实现更高的效率和安全性。通过精准调控纳米载体的结构和功能,可实现核酸在昆虫体内定向释放,最大化药效。同时,结合大数据和人工智能技术,优化纳米载体的设计,提升其对环境的

适应性和稳定性。此外,跨学科的协同合作将加速新型纳米材料的研发进程,推动核酸农药纳米递送系统在农业领域的广泛应用,助力绿色农业发展。

#### 参考文献

- [1] FIRE A, XU S Q, MONTGOMERY M K, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. Nature, 1998, 391: 806-811.
- [2] HANNON G J. RNA interference[J]. Nature, 2002, 418(6894): 244-251.
- [3] PREALL J B, SONTHEIMER E J. RNAi: RISC gets loaded[J]. Cell, 2005, 123(4): 543-545.
- [4] HOWARD J D, BEGHYN M, DEWULF N, et al. Chemically modified dsRNA induces RNAi effects in insects in vitro and in vivo: a potential new tool for improving RNA-based plant protection [J]. Journal of Biological Chemistry, 2022, 298(9): 102311.
- [5] XU H F, YAN K P, DING Y P, et al. Chemosensory proteins are associated with thiamethoxam and spirotetramat tolerance in *Aphis gossypii* Glover[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(4): 2356.
- [6] SCHULTHEIS D, WEIBKOPF M, SCHAUB C, et al. A large scale systemic RNAi screen in the red flour beetle *Tribolium castaneum* identifies novel genes involved in insect muscle development [J]. G3: Genes, Genomes, Genetics, 2019, 9(4): 1009-1026.
- [7] CHITTARANJAN S, MCCONECHY M, HOU Y C C, et al. Steroid hormone control of cell death and cell survival: molecular insights using RNAi[J]. Plos Genetics, 2009, 5(2): e1000379.
- [8] DZITOYEVA S, DIMITRIJEVIC N, MANEV H. Intra-abdominal injection of double-stranded RNA into anesthetized adult *Drosophila* triggers RNA interference in the central nervous system[J]. Molecular Psychiatry, 2001, 6(6): 665-670.
- [9] KENNERDELL J R, CARTHEW R W. Use of dsRNA-mediated genetic interference to demonstrate that *frizzled* and *frizzled 2* act in the wingless pathway[J]. Cell, 1998, 95(7): 1017-1026.
- [10] MAO Y B, CAI W J, WANG J W, 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.
- [11] BAKHSH A, KHABBAZI S D, BALOCH F S, et al. Insect-resistant transgenic crops: retrospect and challenges[J]. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 2015, 39(4): 531-548.
- [12] ANDOW D A, ZWAHLEN C. Assessing environmental risks of transgenic plants[J]. Ecology Letters, 2006, 9(2): 196-214.
- [13] WANG Z G, QIN C Y, CHEN Y, et al. Fusion dsRNA designs incorporating multiple target sequences can enhance the aphid control capacity of an RNAi-based strategy[J]. Pest Management Science, 2024, 80(6): 2689-2697.
- [14] MWAKA H S, CHRISTIAENS O, BWESIGYE P N, et al. First evidence of feeding-induced RNAi in banana weevil via exogenous application of dsRNA[J]. Insects, 2021, 13(1): 40.
- [15] AL BAKI M A, VATANPARAST M, KIM Y. Male-biased adult production of the striped fruit fly, *Zeugodacus scutellata*, by feeding dsRNA specific to *transformer-2*[J]. Insects, 2020, 11(4): 211.
- [16] COOPER A M W, SILVER K, ZHANG J, et al. Molecular mechanisms influencing efficiency of RNA interference in insects [J]. Pest Management Science, 2019, 75(1): 18-28.
- [17] WYNANT N, SANTOS D, VERDONCK R, et al. Identification, functional characterization and phylogenetic analysis of double stranded RNA degrading enzymes present in the gut of the desert locust, *Schistocerca gregaria*[J]. Insect Biochemistry and Molecular B-iology, 2014, 46: 1-8.
- [18] BACHMAN P, FISCHER J, SONG Z, et al. Environmental fate and dissipation of applied dsRNA in soil, aquatic systems, and plants [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 21.
- [19] PENG Y C, WANG K X, FU W X, et al. Biochemical comparison of dsRNA degrading nucleases in four different insects[J]. Frontiers in Physiology, 2018, 9: 624.
- [20] MIERNICKI M, HOFMANN T, EISENBERGER I, et al. Legal and practical challenges in classifying nanomaterials according to regulatory definitions[J]. Nature Nanotechnology, 2019, 14(3): 208-216.
- [21] FAROOQ M A, HANNAN F, ISLAM F, et al. The potential of nanomaterials for sustainable modern agriculture: present findings and future perspectives[J]. Environmental Science: Nano, 2022, 9(6): 1926-1951.
- [22] DAMODHARAN J. Nanomaterials in medicine—an overview [J]. Materials Today: Proceedings, 2021, 37: 383-385.
- [23] MAJEED M I, BHATTI H N, NAWAZ H, et al. Nanobiotechnology: applications of nanomaterials in biological research[J]. Integrating Green Chemistry and Sustainable Engineering, 2019, 10: 581-615.
- [24] SHANG B, YAN S, TYAGIR D, et al. Applications of nanomaterials in environmental science and engineering[J]. Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management, 2009, 13(2): 110-119.
- [25] XING Y, JIANG H, CAI L. Engineered nanotransporters for efficient RNAi delivery in plant protection applications[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2025, 67(5): 1223-1245.
- [26] ARJUNAN N, THIRUVENGADAM V, SUSHIL S N. Nanoparticle-mediated dsRNA delivery for precision insect pest control: a comprehensive review[J]. Molecular Biology Reports, 2024, 51(1): 355.
- [27] YAN S, REN B Y, SHEN J. Nanoparticle-mediated double-stranded RNA delivery system: a promising approach for sustainable pest management[J]. Insect Science, 2021, 28(1): 21-34.
- [28] CHRISTIAENS O, PETEK M, SMAGGHE G, et al. The use of nanocarriers to improve the efficiency of RNAi-based pesticides in agriculture[J]. Nanopesticides, 2020(1): 49-68.
- [29] QIAO H, JIANG Q H, ZHAO J, et al. Nano-delivery platform with strong protection and efficient delivery: preparation of self-assembled RNA pesticide with dual RNAi targets against *Apolygus lucorum*[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2025, 23: 93.

- [30] MA Z Z, ZHENG Y, CHAO Z J, et al. Visualization of the process of a nanocarrier-mediated gene delivery: stabilization, endocytosis and endosomal escape of genes for intracellular spreading[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2022, 20(1): 124.
- [31] LIN Y H, HUANG J H, LIU Y, et al. Oral delivery of dsRNA lipoplexes to German cockroach protects dsRNA from degradation and induces RNAi response[J]. Pest Management Science, 2017, 73(5): 960-966.
- [32] CASTELLANOS N L, SMAGGHE G, SHARMA R, et al. Liposome encapsulation and EDTA formulation of dsRNA targeting essential genes increase oral RNAi-caused mortality in the Neotropical stink bug *Euschistus heros*[J]. Pest Management Science, 2019, 75(2): 537-548.
- [33] WANG J D, CHEN Y H, ZHANG Y X, et al. Establishment of RNAi-mediated pest control method for red imported fire ant, *Solenopsis invicta*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(19): 10936-10943.
- [34] DHANDAPANI R K, GURUSAMY D, PALLI S R. Protamine-lipid-dsRNA nanoparticles improve RNAi efficiency in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(22): 6634-6643.
- [35] LI J, CHEN W Y, LIN Y, et al. Methionine-based sulfonium lipid mediates dsRNA for gene silencing in pests[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(13): 7609-7619.
- [36] SU C Y, LIU S S, SUN M X, et al. Delivery of methoprene-tolerant dsRNA to improve RNAi efficiency by modified liposomes for pest control[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2023, 15(10): 13576-13588.
- [37] XIE J S, ZHANG J X, YANG J Y, et al. Microfluidic-based dsRNA delivery nanoplatfrom for efficient *Spodoptera exigua* control[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(22): 12508-12515.
- [38] ZHANG X, ZHANG J, ZHU K Y. Chitosan/double-stranded RNA nanoparticle-mediated RNA interference to silence chitin synthase genes through larval feeding in the African malaria mosquito (*Anopheles gambiae*) [J]. Insect Molecular Biology, 2010, 19(5): 683-693.
- [39] SANDAL S, SINGH S, BANSAL G, et al. Nanoparticle-shielded dsRNA delivery for enhancing RNAi efficiency in cotton spotted bollworm *Earias vittella* (Lepidoptera: Nolidae)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(11): 9161.
- [40] KHAN F, JIN G, KIM Y. Spraying dsRNA with chitosan formulation improves control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in a greenhouse[J]. Insect Molecular Biology, 2024, 33: 12954.
- [41] SCHVARTZMAN C, MURCHIO S, CASTRO A, et al. Chitosan double-stranded RNA nanocomplexes for *Piezodorus guildinii* control[J]. Pest Management Science, 2025, 81: 8744.
- [42] DHANDAPANI R K, GURUSAMY D, HOWELL J L, et al. Development of CS-TPP-dsRNA nanoparticles to enhance RNAi efficiency in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 8775.
- [43] JIANG Y P, ZONG S M, WANG X F, et al. pH-responsive nanoparticles for oral delivery of RNAi for sustained protection against *Spodoptera exigua*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 306: 141763.
- [44] LU C C, LI Z Q, CHANG L, et al. Efficient delivery of dsRNA and DNA in cultured silkworm cells for gene function analysis using PAMAM dendrimers system[J]. Insects, 2019, 11(1): 12.
- [45] HE B C, CHU Y, YIN M Z, et al. Fluorescent nanoparticle delivered dsRNA toward genetic control of insect pests[J]. Advanced Materials, 2013, 25(33): 4580-4584.
- [46] YAN S, QIAN J, CAI C, et al. Spray method application of transdermal dsRNA delivery system for efficient gene silencing and pest control on soybean aphid *Aphis glycines*[J]. Journal of Pest Science, 2020, 93: 449-459.
- [47] AVILA L A, CHANDRASEKAR R, WILKINSON K E, et al. Delivery of lethal dsRNAs in insect diets by branched amphiphilic peptide capsules[J]. Journal of Controlled Release, 2018, 273: 139-146.
- [48] CARROLL E, KUNTE N, MCGRAW E, et al. Gene silencing in adult *Popillia japonica* through feeding of double-stranded RNA (dsRNA) complexed with branched amphiphilic peptide capsules (BAPCs)[J]. Frontiers in Insect Science, 2023, 3: 1151789.
- [49] WANG C X, BAO H Q, YAN Z C, et al. Knockdown of vitellogenin receptor based on minute insect RNA interference methods affects the initial mature egg load in the pest natural enemy *Trichogramma dendrolimi*[J]. Insect Science, 2024, 30(2): 487-500.
- [50] VOGEL E, SANTOS D, HUYGENS C, et al. The study of cell-penetrating peptides to deliver dsRNA and siRNA by feeding in the desert locust, *Schistocerca gregaria*[J]. Insects, 2023, 14(7): 597.
- [51] PARSONS K H, MONDAL M H, MCCORMICK C L, et al. Guanidinium-functionalized interpolyelectrolyte complexes enabling RNAi in resistant insect pests[J]. Biomacromolecules, 2018, 19(4): 1111-1117.
- [52] ZHANG X C, HAI L, GAO Y B, et al. Lipid nanomaterials-based RNA therapy and cancer treatment[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2023, 13(3): 903-915.
- [53] MENDES B B, CONNIOT J, AVITAL A, et al. Nanodelivery of nucleic acids[J]. Nature Reviews Methods primers, 2022, 2(1): 24.
- [54] TENCHOV R, BIRD R, CURTZE A E, et al. Lipid nanoparticles from liposomes to mRNA vaccine delivery, a landscape of research diversity and advancement[J]. ACS Nano, 2021, 15(11): 16982-17015.
- [55] LAOUINI A, JAAFAR-MAALEJ C, LIMAYEM-BLOUZA I, et al. Preparation, characterization and applications of liposomes: state of the art[J]. Journal of Colloid Science and Biotechnology, 2012, 1(2): 147-168.
- [56] OZPOLAT B, SOOD A K, LOPEZ-BERESTEIN G. Liposomal siRNA nanocarriers for cancer therapy[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2014, 66: 110-116.
- [57] AZMANA M, MAHMOOD S, HILLES A R, et al. A review on chitosan and chitosan-based bionanocomposites: promising material for combatting global issues and its applications[J]. International

- Journal of Biological Macromolecules, 2021, 185: 832-848.
- [58] MALMO J, VARUM K M, STRAND S P. Effect of chitosan chain architecture on gene delivery: comparison of self-branched and linear chitosans[J]. Biomacromolecules, 2011, 12(3): 721-729.
- [59] MAO S R, SUN W, KISSEL T. Chitosan-based formulations for delivery of DNA and siRNA[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2010, 62(1): 12-27.
- [60] SERRANO-SEVILLA I, ARTIGA A, MITCHELL S G, et al. Natural polysaccharides for siRNA delivery: nanocarriers based on chitosan, hyaluronic acid, and their derivatives[J]. Molecules, 2019, 24(14): 2570.
- [61] RAGELLE H, RIVA R, VANDERMEULEN G, et al. Chitosan nanoparticles for siRNA delivery: optimizing formulation to increase stability and efficiency[J]. Journal of Controlled Release, 2014, 176: 54-63.
- [62] LI H N, SUN J Y, ZHU H Y, et al. Recent advances in development of dendritic polymer - based nanomedicines for cancer diagnosis [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology, 2021, 13(2): e1670.
- [63] KEDAR P, SARAF A, MAHESHWARI R, et al. Advances in dendritic systems and dendronized nanoparticles: paradigm shifts in cancer targeted therapy and diagnostics[J]. Molecular Pharmaceutics, 2024, 22(1): 28-57.
- [64] LI J H, QIAN J, XU Y Y, et al. A facile-synthesized star polycation constructed as a highly efficient gene vector in pest management [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2019, 7(6): 6316-6322.
- [65] HADIANAMREI R, ZHAO X. Current state of the art in peptide-based gene delivery[J]. Journal of Controlled Release, 2022, 343: 600-619.
- [66] BARROS S M, WHITAKER S K, SUKTHANKAR P, et al. A review of solute encapsulating nanoparticles used as delivery systems with emphasis on branched amphipathic peptide capsules [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2016, 596: 22-42.
- [67] BARROS S M, AVILA L A, WHITAKER S K, et al. Branched amphipathic peptide capsules: different ratios of the two constituent peptides direct distinct bilayer structures, sizes, and DNA transfection efficiency[J]. Langmuir, 2017, 33(28): 7096-7104.
- [68] DARIF N, VOGELSANG K, VORGIA E, et al. Cell penetrating peptides are versatile tools for enhancing multimodal uptake into cells from pest insects[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2023, 190: 105317.
- [69] KARDANI K, BOLHASSANI A. Cppsite 2.0: an available database of experimentally validated cell-penetrating peptides predicting their secondary and tertiary structures[J]. Journal of Molecular Biology, 2021, 433(11): 166703.
- [70] YANG N J, HINNER M J. Getting across the cell membrane: an overview for small molecules, peptides, and proteins[J]. Site-Specific Protein Labeling: Methods and Protocols, 2014, 1266: 29-53.
- [71] ERAZO-OLIVERAS A, MUTHUKRISHNAN N, BAKER R, et al. Improving the endosomal escape of cell-penetrating peptides and their cargos: strategies and challenges[J]. Pharmaceuticals, 2012, 5 (11): 1177-1209.
- [72] GILLET F X, GARCIA R A, MACEDO L L P, et al. Investigating engineered ribonucleoprotein particles to improve oral RNAi delivery in crop insect pests[J]. Frontiers in Physiology, 2017, 8: 256.
- [73] GARBUTT J S, BELLÉ S X, RICHARDS E H, et al. Persistence of double-stranded RNA in insect hemolymph as a potential determiner of RNA interference success: evidence from *Manduca sexta* and *Blattella germanica*[J]. Journal of Insect Physiology, 2013, 59(2): 171-178.
- [74] TABUJEW I. Guanidinium group-bearing polymers as nonviral delivery agents for polynucleotides [D]. Rhineland-Palatinate: Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2019.
- [75] EDWARDS C H, CHRISTIE C R, MASOTTI A, et al. Dendrimer-coated carbon nanotubes deliver dsRNA and increase the efficacy of gene knockdown in the red flour beetle *Tribolium castaneum*[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 12422.
- [76] REN Q R, ZHANG Q, LIU Y Y, et al. PEI-SWNT improves RNAi efficiency in *Locusta migratoria* via dsRNA injection delivery system[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2025, 209: 106361.
- [77] DAS S, DEBNATH N, CUI Y, et al. Chitosan, carbon quantum dot, and silica nanoparticle mediated dsRNA delivery for gene silencing in *Aedes aegypti*: a comparative analysis[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2015, 7(35): 19530-19535.
- [78] XUE Q, SAMAKOVLI D, SWEVERS L, et al. Drosophila X virus-like particles as efficient dsRNA carriers for improved RNAi against the invasive species, *Drosophila suzukii*[J]. Journal of Pest Science, 2024, 97(1): 429-443.
- [79] ZHANG M K, WANG F F, QIN P, et al. Imidazole-modified graphene quantum dots can effectively promote the efficient silencing of the larval cuticle protein gene *HaLCP17* in *Helicoverpa armigera*[J]. Entomologia Generalis, 2024, 44(3): 685-693.
- [80] JAIN R G, FLETCHER S J, MANZIE N, et al. Foliar application of clay-delivered RNA interference for whitefly control[J]. Nature Plants, 2022, 8(5): 535-548.
- [81] TANG X F, JIANG X J, CHEN Q, et al. Amphiphilic layered double hydroxides enhance plant-mediated delivery of dsRNAs to phloem-feeding planthoppers[J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 491: 151953.
- [82] JIANG L, WANG Q, KANG Z H, et al. Novel environmentally friendly RNAi biopesticides: targeting *V-ATPase* in *Holotrichia parallela* larvae using layered double hydroxide nanocomplexes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72 (20): 11381-11391.
- [83] CHENG X Q, ZHOU Q, XIAO J D, et al. Nanoparticle LDH enhances RNAi efficiency of dsRNA in piercing-sucking pests by promoting dsRNA stability and transport in plants[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 544.
- [84] DU Z Y, ZHANG G J, YU C, et al. Characterization of *CYP303A1* and its potential application based on ZIF-8 nanoparticle-wrapped dsRNA in *Nilaparvata lugens* (Stål)[J]. Pest Management Science, 2025, 81(2): 766-776.
- [85] YU C, LI J Q, ZHANG Z Y, et al. Metal-organic framework-based insecticide and dsRNA codelivery system for insecticide resistance

- management[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2023, 15 (41): 48495-48505.
- [86] WANG W J, GHAFAR M A, LIUYANG L, et al. Nanoscale metal-organic frameworks for the co-delivery of cycloxaprid and pooled siRNAs to enhance control efficacy in *Diaphorina citri*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(6): 3353-3362.
- [87] NADEAU E. Binding, protection, and RNA delivery properties of porous silica nanoparticles in *Spodoptera Frugiperda* Cells [D]. Lexington Kentucky: University of Kentucky, 2017.
- [88] LV H X, LI X C, LI J Q, et al. Overcoming resistance in insect pest with a nanoparticle-mediated dsRNA and insecticide co-delivery system[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 475: 146239.
- [89] GONG C W, WANG W, MA Y X, et al. Dendritic mesoporous silica-delivered siRNAs nano insecticides to prevent *Sogatella furcifera* by inhibiting metabolic detoxification and reproduction [J]. Journal of Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 736.
- [90] MOSTAFAVI E, ZARE H. Carbon-based nanomaterials in gene therapy[J]. OpenNano, 2022, 7: 100062.
- [91] BATES K, KOSTARELOS K. Carbon nanotubes as vectors for gene therapy: past achievements, present challenges and future goals[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2013, 65(15): 2023-2033.
- [92] MOHAMMADINEJAD R, DADASHZADEH A, MOGHASSEMI S, et al. Shedding light on gene therapy: Carbon dots for the minimally invasive image-guided delivery of plasmids and noncoding RNAs-A review[J]. Journal of Advanced Research, 2019, 18: 81-93.
- [93] TITELMAN G I, GELMAN V, BRON S, et al. Characteristics and microstructure of aqueous colloidal dispersions of graphite oxide [J]. Carbon, 2005, 43(3): 641-649.
- [94] XIN Y C, LIANG J W, REN C J, et al. Physiological and transcriptomic responses of silkworms to graphene oxide exposure [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2024, 278: 116434.
- [95] BAO W L, WAN Y L, BALUSKA F. Nanosheets for delivery of biomolecules into plant cells[J]. Trends in Plant Science, 2017, 22 (6): 445-447.
- [96] BAO W L, WANG J Y, WANG Q, et al. Layered double hydroxide nanotransporter for molecule delivery to intact plant cells [J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 26738.
- [97] YAN L, GONCA S, ZHU G Y, et al. Layered double hydroxide nanostructures and nanocomposites for biomedical applications[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2019, 7(37): 5583-5601.
- [98] YONG J X, WU M M, ZHANG R, et al. Clay nanoparticles efficiently deliver small interfering RNA to intact plant leaf cells [J]. Plant Physiology, 2022, 190(4): 2187-2202.
- [99] MISHRA M, DEY T, MISHRA M, et al. RNA encapsulation in metal-organic frameworks for targeting cancer-causing genes [J]. Advanced Therapeutics, 2024, 7(9): 2400144.
- [100] XIE X W, YUE T X, GU W T, et al. Recent advances in mesoporous silica nanoparticles delivering siRNA for cancer treatment[J]. Pharmaceutics, 2023, 15(10): 2483.
- [101] YANG R, ZHANG B, FEI X W, et al. Bioinspired micro-and nanostructured systems for cancer therapy[J]. MedComm, 2024, 5 (12): e70025.
- [102] XUE Q, LI J J, VEREECKEN S, et al. Functionally modified graphene oxide as an alternative nanovehicle for enhanced dsRNA delivery in improving RNAi-based insect pest control[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(41): 22512-22523.
- [103] YOON J S, KIM K, PALLI S R. Double-stranded RNA in exosomes: Potential systemic RNA interference pathway in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*[J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 2020, 23(4): 1160-1164.
- [104] MINGELS L, WYNANT N, SANTOS D, et al. Extracellular vesicles spread the RNA interference signal of *Tribolium castaneum* TcA cells[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2020, 122: 103377.
- [105] XUE Q, SWEVERS L, TANING C N T. Plant and insect virus-like particles: emerging nanoparticles for agricultural pest management [J]. Pest Management Science, 2023, 79(9): 2975-2991.
- [106] GARCEA R L, GISSMANN L. Virus-like particles as vaccines and vessels for the delivery of small molecules[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2004, 15(6): 513-517.
- [107] ZHOU T, LLIZO A, WANG C, et al. Nanostructure-induced DNA condensation[J]. Nanoscale, 2013, 5(18): 8288-8306.
- [108] SHMUELI R B, ANDERSON D G, GREEN J J. Electrostatic surface modifications to improve gene delivery[J]. Expert Opinion on Drug Delivery, 2010, 7(4): 535-550.
- [109] PALEOS C M, TSIOURVAS D, SIDERATOU Z. Molecular engineering of dendritic polymers and their application as drug and gene delivery systems[J]. Molecular Pharmaceutics, 2007, 4(2): 169-188.
- [110] AVILA L A, APS L R M M, PLOSCARIU N, et al. Gene delivery and immunomodulatory effects of plasmid DNA associated with branched amphiphilic peptide capsules[J]. Journal of Controlled Release, 2016, 241: 15-24.
- [111] SHEN Z L, XIAO Y Q, YANG Q S, et al. Polymer - nucleic acid interactions[J]. Polymeric Gene Delivery Systems, 2018: 41-64.
- [112] WU S Y, MCMILLAN N A J. Lipidic systems for in vivo siRNA delivery[J]. The AAPS Journal, 2009, 11: 639-652.
- [113] SWEVERS L, KONTOGIANNATOS D, KOLLIPOULOU A, et al. Mechanisms of cell entry by dsRNA viruses: insights for efficient delivery of dsRNA and tools for improved RNAi-based pest control[J]. Frontiers in Physiology, 2021, 12: 749387.
- [114] YIN C X, LAO Y L, XIE L H, et al. Citrus exosome-modified exogenous dsRNA delivery reduces plant pathogen resistance and mycotoxin production[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2024, 205: 106151.
- [115] VERMA A, STELLACCI F. Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions[J]. Small, 2010, 6(1): 12-21.
- [116] ZHOU H, WAN F L, JIAN Y F, et al. Chitosan/dsRNA polyplex nanoparticles advance environmental RNA interference efficiency through activating clathrin-dependent endocytosis[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 253: 127021.
- [117] ZHENG Y, HU Y S, YAN S, et al. A polymer/detergent formulation improves dsRNA penetration through the body wall and RNAi-induced mortality in the soybean aphid *Aphis glycines* [J]. Pest Management Science, 2019, 75(7): 1993-1999.
- [118] SINGH T, MURTHY A S N, YANG H J, et al. Versatility of

- cell-penetrating peptides for intracellular delivery of siRNA [J]. *Drug Delivery*, 2018, 25(1): 1996-2006.
- [119] VARKOUHI A K, SCHOLTE M, STORM G, et al. Endosomal escape pathways for delivery of biologicals[J]. *Journal of Controlled Release*, 2011, 151(3): 220-228.
- [120] GILLERON J, QUERBES W, ZEIGERER A, et al. Image-based analysis of lipid nanoparticle-mediated siRNA delivery, intracellular trafficking and endosomal escape[J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(7): 638-646.
- [121] YEZHLYEV M V, QI L, O'REGAN R M, et al. Proton-sponge coated quantum dots for siRNA delivery and intracellular imaging [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(28): 9006-9012.
- [122] TSENG Y C, MOZUMDAR S, HUANG L. Lipid-based systemic delivery of siRNA[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2009, 61(9): 721-731.
- [123] XU Y H, SZOKA F C. Mechanism of DNA release from cationic liposome/DNA complexes used in cell transfection[J]. *Biochemistry*, 1996, 35(18): 5616-5623.
- [124] ZELPHATI O, SZOKA JR F C. Mechanism of oligonucleotide release from cationic liposomes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93(21): 11493-11498.
- [125] KWON Y J. Before and after endosomal escape: roles of stimuli-converting siRNA/polymer interactions in determining gene silencing efficiency[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2012, 45(7): 1077-1088.
- [126] MORET I, PERIS J E, GUILLEM V M, et al. Stability of PEI-DNA and DOTAP-DNA complexes: effect of alkaline pH, heparin and serum [J]. *Journal of Controlled Release*, 2001, 76(1/2): 169-181.
- [127] LYNN D M, LANGER R. Degradable poly ( $\beta$ -amino esters): synthesis, characterization, and self-assembly with plasmid DNA [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2000, 122(44): 10761-10768.
- [128] TZENG S Y, GREEN J J. Subtle changes to polymer structure and degradation mechanism enable highly effective nanoparticles for siRNA and DNA delivery to human brain cancer[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2013, 2(3): 468-480.
- [129] UMA G S, SAAKRE M, SINGH J, et al. Double-stranded RNA mediated knockdown of sucrose gene induced mortality and reduced offspring production in *Aphis gossypii*[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2023, 23(4): 305.
- [130] MA Z Z, ZHOU H, WEI Y L, et al. A novel plasmid-*Escherichia coli* system produces large batch dsRNAs for insect gene silencing [J]. *Pest Management Science*, 2020, 76(7): 2505-2512.
- [131] YAN S, LI N, GUO Y K, et al. Chronic exposure to the star polycation (SPc) nanocarrier in the larval stage adversely impairs life history traits in *Drosophila melanogaster*[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 515.

(编辑: 顾林玲)

(上接第 9 页)

- mental impacts[J]. *Small*, 2024, 20(52): 2406419.
- [46] JAHAN N, HUSSAIN N, TOUQEER S I, et al. Formulation of mentha piperita-based nanobiopesticides and assessment of the pesticidal and antimicrobial potential[J]. *Life*, 2024, 14(1): 144.
- [47] 解维星, 谢勇, 王同波, 等. 40%联苯吡菌胺·啉菌酯纳米悬浮剂的研制[J]. *农药科学与管理*, 2024, 45(9): 37-41.
- [48] ZHU Z, SHAO C, GUO Y, et al. Facile pathway to generate agrochemical nanosuspensions integrating super-high load, eco-friendly excipients, intensified preparation process, and enhanced potency[J]. *Nano Research*, 2021, 14(7): 2179-2187.
- [49] TAKESHITA V, OLIVEIRA F F, GARCIA A, et al. Delivering metribuzin from biodegradable nanocarriers: assessing herbicidal effects for soybean plant protection and weed control[J]. *Environmental Science: Nano*, 2025, 12(1): 388-404.
- [50] CHENG X, WANG A, CAO L, et al. Efficient delivery of the herbicide quinclorac by nanosuspension for enhancing deposition, uptake and herbicidal activity[J]. *Pest Management Science*, 2024, 80(9): 4665-4674.
- [51] 王帅, 张信楠, 苏雨桐, 等. 20%氯虫苯甲酰胺纳米悬浮剂的制备及对玉米螟的防治效果[J]. *农药学报*, 2025, 27(2): 358-364.
- [52] CUI B, LV Y, GAO F, et al. Improving abamectin bioavailability via nanosuspension constructed by wet milling technique[J]. *Pest Management Science*, 2019, 75(10): 2756-2764.
- [53] PAN Z, CUI B, ZENG Z, et al. *Lambda*-cyhalothrin nanosuspension prepared by the melt emulsification-high pressure homogenization method[J]. *Journal of Nanomaterials*, 2015(1): 123496.
- [54] WANG C, CUI B, GUO L, et al. Fabrication and evaluation of *lambda*-cyhalothrin nanosuspension by one-step melt emulsification technique[J]. *Nanomaterials*, 2019, 9(2): 145.
- [55] CHEN K, FU Z, WANG M, et al. Preparation and characterization of size-controlled nanoparticles for high-loading  $\lambda$ -cyhalothrin delivery through flash nanoprecipitation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(31): 8246-8252.
- [56] 孙宇. 木质素分散剂及纳米微球在农药纳米水悬浮剂中的应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2023.
- [57] DONG J, LIU X, CHEN Y, et al. User-safe and efficient chitosan-gated porous carbon nanopesticides and nanoherbicides [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2021, 594: 20-34.
- [58] PARADVA K C, KALLA S. Nanopesticides: a review on current research and future perspective[J]. *Chemistry Select*, 2023, 8(26): e202300756.
- [59] 张源, 李杨, 陈波, 等. 有机改性膨润土对己唑醇水悬浮体系物理稳定性的影响[J]. *应用化学*, 2011, 28(5): 565-570.
- [60] 蔡梦玲, 马超, 徐妍, 等. 10%氟虫腈悬浮剂的配方优化及物理稳定性分析[J]. *农药*, 2013, 52(3): 188-191.
- [61] LI L, XU Z, KAH M, et al. Nanopesticides: a comprehensive assessment of environmental risk is needed before widespread agricultural application[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(14): 7923-7924.
- [62] KAH M, JOHNSTON L J, KOOKANA R S, et al. Comprehensive framework for human health risk assessment of nanopesticides[J]. *Nature Nanotechnology*, 2021, 16(9): 955-964.

(编辑: 顾林玲)