

袁和奇,王 瑜,栗 帆,等. RNA 干扰技术防治灰霉病的研究进展[J]. 江苏农业科学,2026,54(9):25-33.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2026.09.004

RNA 干扰技术防治灰霉病的研究进展

袁和奇¹,王 瑜¹,栗 帆¹,乔 岩¹,赵 娣¹,肖 婷¹,段诗瑶¹,牛曼丽¹,张 猛²

(1. 北京市农业农村科技发展中心,北京 101117; 2. 河南农业大学植物保护学院,河南郑州 450002)

摘要:由灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)引起的灰霉病,是一种全球性真菌病害,其危害范围十分广泛,造成的经济损失巨大。常用的灰霉病病害防治方法主要借助化学农药,容易产生非靶标生物毒害、农药残留、抗药性等问题。RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术作为一种新兴的植物病害防治手段,因其高效、精准和环境友好等优势,逐渐成为灰霉病防控的研究热点。本文首先介绍灰霉病病原菌灰葡萄孢繁殖能力强、易发生病害流行的生物学特性,对其复杂多样的致病机制进行探讨;同时,依据双链 RNA/小干扰 RNA(dsRNA/siRNA)的设计、双链 RNA(dsRNA)的合成、dsRNA 的转化、靶基因的沉默 4 个步骤,对 RNA 干扰的原理进行阐述;然后,着重从病毒诱导的基因沉默(VIGS)、宿主诱导的基因沉默(HIGS)、喷雾诱导的基因沉默(SIGS)和纳米结构递送的 SIGS 的 4 种不同 RNA 干扰方式,综述 RNAi 防治灰霉病的研究进展;最后,对 RNA 干扰技术的优势与风险挑战进行分析,并对 RNA 干扰技术控制灰霉病害的未来发展进行展望,以期灰霉病的绿色高效防控提供理论依据。

关键词:RNA 干扰;灰霉病;研究进展

中图分类号:S432.4⁺4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2026)09-0025-09

灰霉病是由灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)引起的全球性真菌病害,能够危害蔬菜、水果、花卉等约 600 个属的 1 400 多种植物^[1],严重影响水果、蔬菜

及经济作物的产量与品质,每年给全球造成的经济损失达 100 亿~1 000 亿美元^[2-3],被认为是农业生产中重要性仅次于稻瘟病菌的植物病原菌^[4]。目前,灰霉病的防治主要依赖传统的化学农药,虽然在一定程度上控制了病害,但也面临着抗药性、环境残留和非靶标生物毒性等严重问题^[5-8]。因此,寻找高效、环境友好的新型防治技术势在必行。RNA 干扰(RNAi)技术作为一种高度特异性的基因沉默技术,通过靶向目标生物的关键基因、降低靶

收稿日期:2025-06-19

基金项目:北京市农业农村科技发展中心综合保障项目(编号:11000025Y000003355746);植物病虫害生物学国家重点实验室开放基金(编号:SKLOF202103)。

作者简介:袁和奇(1990—),男,陕西安康人,硕士,农艺师,主要从事植物病虫害防控技术应用与推广工作。E-mail: yuanheqi15@163.com。

国传媒科技,2023(10):55-58。

[4] 曾洪伟. 学术失语、学术安全与国家文化安全[J]. 中州学刊,2013,193(1):85-94。

[5] 司静辉. 新时代科技期刊数字出版平台的内容风控问题及应对思路[J]. 中国传媒科技,2024(6):117-121。

[6] 武晓耕. 科技期刊强化政治意识的意义及举措[J]. 编辑学报,2019,31(6):593-595。

[7] 陈明伟. 出版工作要履行好意识形态安全职责[J]. 今传媒,2020(6):29-32。

[8] 路可如. 新媒体时代学术期刊意识形态建设路径刍议[J]. 今传媒,2022,30(1):65-68。

[9] 陈 华,师玉华,朱祯. 转基因作物对生态环境是利还是弊[EB/OL]. (2013-05-13)[2026-01-05]. http://www.moa.gov.cn/ztl/zjyqwgz/kpxc/201305/t20130513_3459110.htm。

[10] 何永艳,丁萍. 新媒体时代科技期刊出版风险及防控措施[J]. 中国传媒科技,2021(7):26-29。

[11] 央视网评:熟蛋返生孵小鸡,奇葩论文侮辱了谁的智商?[EB/OL]. (2021-04-26)[2026-01-05]. <https://baijiahao.baidu.com/s?id=1698079626640611551&wfr=spider&for=pc>。

[12] 杨 静,武晓耕. 全媒体时代科技期刊意识形态风险防控对策研究[J]. 编辑学报,2024,36(3):237-242。

[13] 王 朋. 新媒体时代科技期刊出版中的保密管理[J]. 科技创新导报,2019(4):188-189。

[14] 黄可东,尚作燕. 科技期刊加强保密的工作思路[J]. 编辑学报,2018,30(增刊1):84-86。

[15] 中华人民共和国乡村振兴促进法[Z/OL]. (2021-04-29)[2026-01-05]. https://www.npc.gov.cn/c2/c30834/202104/t20210429_311287.html。

[16] 任滢滢. 英语霸权视角下对中国科技期刊建设意识引导的思考[J]. 编辑学报,2024,36(1):18-24。

[17] 刘 钦,杨春艳,张佳慧. 农业科研单位意识形态阵地监管体系构建研究[J]. 农业科技管理,2023,42(3):91-93。

基因的转录表达量,从而抑制或杀死病原菌和害虫,实现对病虫害的防控,近年来在植物病虫害防治领域展现出巨大潜力^[9]。RNA 干扰技术为病虫害的绿色防控提供了新的视角和方法,因此被称为农药史上的第 3 次革命^[10]。

1 灰霉病病原灰葡萄孢菌

1.1 灰葡萄孢菌的生物学特性

灰葡萄孢菌属于半知菌亚门(Deuteromycotina)丝孢纲(Hyphomycetes)葡萄孢属(*Botryotinia*)^[11-12],是一种弱寄生菌,具有腐生、寄生的双重特性,通过产生大量分生孢子、菌丝体和菌核进行繁殖,在土壤、病残体、种子等多种介质中广泛存在,已经成为病害传染源^[13-14]。灰葡萄孢菌病菌可借助土壤、空气、雨水、农事操作、昆虫及其他动物等方式传播,造成病害流行^[15-16]。灰葡萄孢菌喜低温、高湿环境,当温度在 20℃、相对湿度在 90% 以上时,病菌将快速繁殖,从而导致病害发生^[17]。

1.2 灰葡萄孢菌的致病机制

灰葡萄孢菌侵染植物的致病机制复杂多样,涉及多种生物学机制和生理过程。灰葡萄孢的分生孢子在植物表面萌发后,形成附着胞(appressoria)、侵染垫(infection cushions),通过伤口、自然孔口(如气孔、水孔等)及直接穿透植物表皮等方式侵染寄主植物^[18-19],其致病机制较为复杂,主要包括降解寄主植物细胞壁、干扰寄主细胞生理进程、抑制寄主植物免疫反应等。以降解植物细胞壁的功能为例,在侵染过程中,灰葡萄孢通过分泌大量细胞壁降解酶(CWDEs),如纤维素酶、半纤维素酶和果胶酶等,分解植物细胞壁,从而获取营养并促进感染^[20-22]。另外,灰葡萄孢会分泌草酸来降低植物组织的 pH 值,提高细胞壁降解酶的活性,同时还能螯合植物细胞壁中的钙离子,进一步削弱植物细胞壁的结构^[23-24]。以干扰寄主细胞生理进程为例,灰葡萄孢可以合成和分泌植物激素或其类似物[如脱落酸(ABA)],干扰植物的成熟和衰老过程,从而促进其侵染^[25-27]。此外,灰葡萄孢可以利用植物在侵染早期产生的活性氧(ROS),诱导植物细胞死亡,消耗植物的抗氧化物质,并增加脂质的过氧化作用。同时,病原菌自身也能够产生 ROS 来诱导宿主细胞死亡^[24,28-30]。研究发现,以抑制寄主植物免疫反应为例,灰葡萄孢可以通过分泌小 RNA(sRNA)、效应蛋白来干扰植物的免疫反应,当 sRNA 进入植物细

胞后,会产生 RNAi 效应,从而沉默宿主植物中的免疫相关基因,进而抑制植物的防御反应^[31-32]。效应蛋白可以直接抑制植物的细胞死亡反应,帮助病原菌在植物组织内建立感染^[33-34]。

2 RNA 干扰技术原理

RNA 干扰是生物体在进化过程中形成的一种保守的防御机制,当双链 RNA(dsRNA)进入细胞后,会诱导细胞内具有相同片段的基因沉默^[35]。研究人员利用生物体的这种机制,设计合成靶基因的双链 RNA/小干扰 RNA(dsRNA/siRNA),再通过技术手段使其进入目标生物体内,实现靶基因的沉默。

2.1 dsRNA/siRNA 的设计

dsRNA、siRNA 设计的前提是寻找合适的靶基因。通常情况下,靶向病原菌的基因主要有毒力相关基因、发育必需基因等,它们在病原菌侵染寄主植物和自身生长发育的过程中发挥重要作用,沉默后可有效降低病菌的致病力^[36-37]。当筛选出合适的靶基因后,无法直接用来设计 dsRNA,这是因为只有针对靶基因高度保守区域设计 dsRNA,才能保证 RNA 干扰的特异性,避免脱靶风险,而且 RNA 干扰对 dsRNA 长度也是有要求的,其长度通常为 20~1 000 bp^[38-39]。因此,靶基因内的目标片段选择是决定 RNAi 成功的关键因素。首先,dsRNA 必需设计成靶基因 mRNA 的可访问位点,以便 RNA 诱导沉默复合体(RISC)与 mRNA 互补区域进行交互^[40]。其次,要考虑 dsRNA 的稳定性,GC 含量应保持在 30%~52%,反义链 5'端的第 1 个碱基尽可能选择 A 或 U,正义链 5'端的第 1 个碱基尽可能选择 G 或 C^[41]。另外,产生的 siRNA 要避免在向导 RNA 中形成分子内二级结构,影响与 mRNA 的结合^[42]。

2.2 dsRNA 的合成

目前,dsRNA 的合成主要有 3 种生产方式:化学合成、体外转录和微生物工程菌体内合成^[43]。通过化学合成方式直接合成 dsRNA 的方法具有高度的灵活性,合成的 dsRNA 纯度较高,可以根据需要设计不同序列^[44]。体外转录合成法以目标基因 DNA 为模板,利用 RNA 聚合酶在体外转录产生的 2 条互补 RNA 单链,退火形成 dsRNA^[45]。工程菌的体内合成主要通过利用大肠杆菌、丁香假单胞菌、苏云金芽孢杆菌、酵母菌等微生物,构建细胞工厂,实现 dsRNA 的生产^[46-49]。

2.3 dsRNA 的转化

dsRNA、siRNA 只有进入病原菌体内才能发挥作用,并引发靶基因的沉默。目前常用的手段主要有 3 种:(1)病毒诱导的基因沉默(virus-induced gene silence,VIGS),即先将靶基因的互补序列插入病毒基因组中,再将重组病毒接种至宿主植物中,利用病毒在植物体内快速复制、传播的特点,转录出包含靶基因序列的 dsRNA,并经植物细胞 Dicer 核酸酶加工形成 siRNA,当病原菌感染植株时,其体内的 dsRNA、siRNA 会进入病原菌,从而触发目标基因的沉默^[39,50]。(2)宿主诱导的基因沉默(host-induced gene silence,HIGS),通过将靶基因的目标序列整合到植物基因组中,从而获得能够稳定表达与靶基因序列互补的 dsRNA 转基因植株,当受到病原菌入侵时,从而启动 RNA 干扰机制^[51-53]。(3)喷雾诱导的基因沉默(spray-induced gene silence,SIGS),通过将体外合成的靶向基因的 dsRNA 或 siRNA 喷施在植物表面,通过直接或间接方式被病原菌摄取,然后触发基因沉默^[54-56]。

2.4 靶基因的沉默

当 dsRNA 进入病原菌细胞后,细胞内的核酸酶 Dicer 会特异性地识别 dsRNA,将 dsRNA 切割成长度为 21~24 个核苷酸的 siRNA^[57-58]。随后,细胞中 Argonaute(AGO)蛋白的 PAZ 结构域会与 siRNA 的 3'端特异性地识别并结合^[59]。结合到 AGO 蛋白上的 siRNA 双链会在解旋酶的作用下发生解旋,其中一条链(乘客链)会被降解,而另一条链(引导链)会被保留在 RNA 诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex,RISC)^[60]中。RISC 能够特异性地识别并结合到与它互补的靶标 mRNA 序列上,AGO 蛋白发挥其核酸内切酶活性,在特定位置对靶标 mRNA 进行切割,导致靶标 mRNA 降解,从而实现基因表达的沉默^[61]。

3 RNA 干扰技术防治灰霉病的研究进展

3.1 病毒诱导的基因沉默

VIGS 技术是以植物病毒为载体的转化技术,常用的病毒载体有烟草花叶病毒(TMV)、番茄金色花叶病毒(TGMV)、烟草脆裂病毒(TRV)、马铃薯 X 病毒(PVX)等^[50]。VIGS 技术便捷,可操作性强,不依赖遗传转化体系,节省时间,是一种重要的生物工具^[62]。目前,尚无直接借助 VIGS 技术控制灰霉病病害的研究,主要通过 VIGS 技术鉴定一些灰

霉病的抗性基因,为改良植物抗病性提供新的思路和方法。Cao 等利用 VIGS 技术在玫瑰花瓣上进行研究,发现通过 VIGS 技术可以有效沉默玫瑰编码茉莉酸合成蛋白基因 *RhLOX5* 和乙烯调节蛋白基因 *RhEIN3* 的表达,从而影响花瓣对灰葡萄孢的抗性,并且发现 *RcbHLH112*、*RcbZIP17*、*RcbTBL16* 等基因在玫瑰花瓣抗灰葡萄孢感染中发挥了重要作用^[63]。此后,有研究先后证实番茄 DEK 基因、*IncRNA4504* 基因在参与灰葡萄孢菌抗病性的过程中发挥了重要作用^[64-65]。2023 年, Li 等发现猕猴桃 *Ac-miR160d* 基因被沉默后,植株更易感染灰葡萄孢,病害的发生更严重,从而显著降低了猕猴桃对灰霉病的抗性^[66]。

3.2 宿主诱导的基因沉默

自 2010 年 Nowar 等提出宿主诱导的基因沉默(host-induced gene silence,HIGS)以来,HIGS 技术被逐渐应用到病虫害防治领域^[51]。目前,利用 HIGS 技术防治灰霉病的研究在拟南芥、番茄、马铃薯、草莓、花卉上表现出良好的应用效果。2016 年, Wang 等通过 HIGS 技术获得能够靶向表达灰葡萄孢 *Bc-DCL1*、*Bc-DCL2* 基因 dsRNA 的拟南芥和番茄植株,可有效抑制灰葡萄孢的致病性,且 *Bc-DCL1*、*Bc-DCL2* 基因的表达水平明显下调^[67]。Xiong 等以灰葡萄孢的 *BcTOR* 基因为对象,借助 HIGS 技术进行研究,发现该技术显著增强了马铃薯、番茄植株对灰霉病的抗性^[68]。Capriotti 等借助 HIGS 技术在草莓品种 Romina 中稳定表达 hp-Bc-DCL1/2 发夹结构的 dsRNA,能够在整个生长周期内显著降低灰霉病菌的危害^[69]。Xu 等鉴定出一种核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)RAS-GTP 酶激活蛋白 SsGAP1,由于其与灰葡萄孢蛋白 BcGAP1 高度同源,因此通过 HIGS 技术获得的拟南芥植株对核盘菌、灰葡萄孢均表现出良好的抗性^[70]。然而,HIGS 仍具有一定的局限性,许多作物无法进行基因改造^[71],另外转基因作物在大多数国家的接受度较低,其潜在风险有待进一步评估^[72-74]。

3.3 喷雾诱导的基因沉默

与 HIGS 相比,喷雾诱导基因沉默(spray-induced gene silence,SIGS)技术是一种非转基因的 RNAi 应用方式,因其施用方式与传统农药类似,且操作简便,无需借助转基因技术,因而也被称为核酸农药^[10,75-76]。

2016 年, Wang 等首次利用 SIGS 技术在体外合

成针对灰葡萄孢 *Bc - DCL1*、*Bc - DCL2* 基因的 dsRNAs,其喷施在蔬菜、水果、花卉的叶片、果实和花瓣表面后,可以显著抑制灰霉病害的发生,同时也发现,灰葡萄孢能够主动摄取环境中的 dsRNA 分子^[67]。2017 年,McLoughlin 等利用 RNA 测序、生物信息学分析,筛选出一系列灰葡萄孢菌的靶向基因,并在体外合成这些基因的 dsRNA 分子,叶面喷施后可以显著减小油菜、拟南芥叶片的病斑大小,从而有效降低靶基因转录水平^[77]。2019 年,Gu 等研究发现,源自亚洲镰刀菌 (*Fusarium asiaticum*) 的 *Faβ2Tub - 3* 基因具有高度保守性,在小麦、黄瓜、大麦和大豆上喷施 *Faβ2Tub - 3* dsRNA 后,可以显著减少灰霉病、稻瘟病等病害症状,证明单一 dsRNA 可以靶向多种病原真菌的保守 β - 微管蛋白基因,具有广谱抗菌活性^[78]。2020 年,Nerva 等利用大肠杆菌表达产生 *BcCYP51 - dsRNA*、*Bcchs1 - dsRNA*、*BcEF2 - dsRNA*,并比较不同施用方法对葡萄灰霉病的防治效果,结果显示,3 种方式均能降低葡萄果穗的病害程度,其中果穗高压喷雾方法的效果最佳,优于叶柄吸附、高压喷雾叶片方法^[79]。2021 年,Qiao 等比较多种病原真菌对环境中 dsRNA 的摄取能力,发现喷施 dsRNA 后,灰霉病病的菌摄取效率较高,从而为利用 SIGS 技术防治真菌病害提供了重要理论依据^[80]。同年,Duanis - Assaf 等针对灰葡萄孢麦角甾醇生物合成途径中 *erg13*、*erg11*、*erg1* 基因,通过体外合成这些基因的 dsRNA;喷雾处理可产生系统保护作用,减弱番茄、甜椒果实的病害程度,同时与杀菌剂联合使用可以降低农药的施用量^[81]。Spada 等先后针对灰葡萄孢 *BcBmp3*、*BcBmp1*、*BcPls1* 基因体外合成了 dsRNA,用其体外喷施生菜叶片后,可明显减小病斑;生物信息学分析结果显示,3 种 dsRNA 具有高度特异性,对其他植物病原真菌、有益真菌、人类和生菜基因组均无非靶标效应^[82-83]。

3.4 纳米结构递送的 SIGS

SIGS、HIGS 技术都可用来控制灰霉病害,但二者的效果存在差异。Capriotti 等比较了这 2 种技术防治草莓灰霉病的效果发现,短期内 VIGS、HIGS 技术均能显著减少灰霉病的发生,但是 7 d 后转基因草莓植株表现出更高的稳定性、持久性,而外源应用的 dsRNA 抗病效果逐渐减弱,不具有持久性^[69]。为了进一步提高 SIGS 技术的效果,确保 dsRNA 的稳定性、递送效率,纳米材料递送技术进入众多研

究者的视线。纳米材料作为一种新型材料,在药物控制释放、递送方面具有明显优势,对于癌症临床治疗具有重要作用^[84-85],而且纳米材料在农药递送过程中具有高效携带毒力因子、延长持效期、提高防治效果的作用,已被广泛应用于农业生产中^[86]。

层状双氢氧化物 (LDH) 纳米颗粒是合成阴离子黏土纳米粒子的一部分,对于提高吸附能力、促进植物细胞摄取、保护 dsRNA 的稳定性具有重要作用。Jonatan 等研究发现,用层状双氢氧化物 (LDH) 纳米颗粒包裹的 dsRNA 可以延长番茄叶片、果实对灰霉病菌的保护周期,与裸露的 dsRNA 相比,在番茄叶片上的保护时间可从 7 d 增加到 14 d,在番茄果实上的保护时间可以从 5 d 增加到 10 d^[87]。Spada 等将 *B. cinerea* 中的 3 个关键基因 *BcBmp1*、*BcBmp3*、*BcPls1* 的 dsRNA 分子与小型层状双氢氧化物 (sLDH) 黏土纳米片结合后,进行压力喷雾处理,结果发现,与裸露的 dsRNA 相比,使用 dsRNA - sLDH 的保护作用更强,尤其是在接种后 27 d,保护效果更为明显^[88]。sLDH 黏土纳米片作为纳米载体,能够显著提高 dsRNA 的稳定性、持久性,从而提高对生菜灰霉病的防治效果。

脂质囊泡是基于磷脂双分子的纳米材料,因其自身特殊结构,可以包裹不同药物,已被广泛应用于医学领域、害虫防治领域^[89-90]。微小细胞作为脂质囊泡的一种,在增强 RNAi 效果上表现出良好效果。Tabibul 等将 *B. fuckeliana* 的目标基因 *DCL1*、*DCL2*、*Chs3a*、*Chs3b* 的 dsRNA 封装在大肠杆菌微小细胞中形成 ME - dsRNA,再将 ME - dsRNA 和裸露的 dsRNA 喷洒在草莓果实上,用 ME - dsRNA 处理的果实表现出长达 12 d 的保护效果,显著优于裸露 dsRNA 处理。同时,该研究也发现,ME - dsRNA 对于引起果实腐烂的链格孢菌 (*Alternaria alternata*)、青霉菌 (*Penicillium expansum*) 没有抑制作用,表明其具有高度的靶向特异性^[91]。2023 年,Qiao 等研究发现,用人工纳米囊泡 (AVs) 包裹的 dsRNA 可有效抑制核酸酶降解,延长对灰霉病的防治时间,并且新型 AVs 配方的成本较低^[92]。

壳聚糖纳米载体可以通过静电作用与 dsRNA 结合,表现出高装载容量,而且研究壳聚糖纳米粒子发现,其在 80 ℃ 高温和紫外线照射下能保护 dsRNA 不被降解^[93]。Dora 等发现,相比于裸露的 dsRNA,使用壳聚糖纳米颗粒 (NPsF) 包裹靶向灰葡萄孢 3 个关键基因 *BcCYP51*、*Bcchs1*、*BcEF2* 的

dsRNA, dsRNA 喷雾处理的 *Nicotiana benthamiana* 叶片对灰霉病菌表现出更持久的保护效果, 表现出良好的病害控制潜力^[94]。

Wu 等以灰葡萄孢的 4 个毒力基因 (*DCLI*、*PPII0*、*NMT1*、*BAC*) 为研究对象, 利用 hairpin-loop、kissing-loop、tetra-U motifs 等 RNA 结构基序

将多个 siRNA 连接成长单链 RNA (lssRNA), 在大肠杆菌中表达的 lssRNA 通过局部碱基配对自组装形成稳定的 RNA 纳米结构 (RNA NPs)。比较分析 dsRNA、RNA NPs 发现, 后者在抑制灰霉病菌孢子萌发和菌丝生长方面表现出更强的效果, 且对植物的保护作用更强^[95]。相关信息详见表 1。

表 1 RNA 干扰技术在灰霉病防治中的研究进展

靶标基因	寄主植物	RNAi 方法	参考文献
<i>Bc-DCLI/2</i>	拟南芥、番茄、草莓、葡萄、莴苣、洋葱、玫瑰	HIGS、SIGS	[67]
<i>BcTOR</i>	马铃薯、番茄	HIGS	[68]
<i>hp-Bc-DCLI/2</i>	草莓	HIGS、SIGS	[69]
<i>ScGAP1</i>	拟南芥	HIGS	[70]
<i>BC1G_04775</i> 、 <i>BC1G_01592</i> 、 <i>BC1G_04955</i> 、 <i>BC1G_07805</i> 、 <i>BC1G_10306</i>	油菜、拟南芥	SIGS	[77]
<i>Faβ2Tub-3</i>	小麦、黄瓜、大麦、大豆	SIGS	[78]
<i>BcCYP51</i> 、 <i>Bcchs1</i> 、 <i>BcEF2</i>	葡萄	HIGS、SIGS	[79]
<i>VPS51</i> 、 <i>SAC1</i> 、 <i>DCTN1</i> 、 <i>Bc-DCLI</i> 、 <i>Bc-DCL2</i>	番茄、莴苣、玫瑰、葡萄	SIGS	[80]
<i>erg13</i> 、 <i>erg11</i> 、 <i>erg1</i>	番茄/甜椒	SIGS	[81]
<i>BcBmp3</i> 、 <i>BcBmp1</i> 、 <i>BcPls1</i>	生菜	SIGS、SIGS-小型层状双氢氧化物	[82-83, 88]
<i>DCLI/2</i>	番茄、鹰嘴豆	SIGS-层状双氢氧化物	[87]
<i>DCLI/2</i> 、 <i>Chs3a/b</i>	草莓	SIGS-微小细胞	[91]
<i>VPS51</i> 、 <i>SAC1</i> 、 <i>DCTN1</i> 、 <i>Bc-DCLI</i> 、 <i>Bc-DCL2</i>	拟南芥、番茄、葡萄、生菜、玫瑰	SIGS-纳米囊泡	[92]
<i>BcCYP51</i> 、 <i>Bcchs1</i> 、 <i>BcEF2</i>	烟草	SIGS-壳聚糖纳米颗粒	[94]
<i>DCLI</i> 、 <i>PPII0</i> 、 <i>NMT1</i> 、 <i>BAC</i>	烟草	SIGS-RNA 纳米颗粒	[95]

4 技术优势与风险挑战

4.1 技术优势

RNAi 技术通过 dsRNA 诱导基因沉默, 具有高度的靶向特异性, 能够精准高效地沉默病原菌的关键基因, 从而在植物病害防控方面表现出显著效果^[96-98]。利用 HIGS 技术可以获得具有稳定抗性的植株, 对于生物育种具有重要意义。而 SIGS 技术操作简单, 不需要对作物进行基因改造, 避免了转基因技术可能带来的法律、伦理问题^[37, 71]。与传统化学农药相比, dsRNA 在环境中易降解, 不会对环境造成污染, 还可减少对化学农药的依赖^[99]。

4.2 风险挑战

虽然 RNAi 技术在灰霉病害控制方面极具潜力, 但是要走向商业化、产业化仍然面临诸多挑战。(1) 脱靶风险。尽管 RNAi 技术具有高度的特异性, 但是 dsRNA/siRNA 可能与其他非靶向基因结合, 导致非靶向生物如植物或其他病原物的基因沉默^[100]。已经有研究发现, 针对核盘菌 *SsGAP1* 基

因、亚洲镰刀菌 *Faβ2Tub-3* 基因设计的 dsRNA, 可使灰葡萄孢菌的同源基因沉默, 存在脱靶风险^[70, 77]。然而, 随着生物技术的发展, 会有更多高效靶基因被鉴定出来, 同时可借助计算机软件、生物信息学程序来合理设计 dsRNA/siRNA, 避免对非靶标生物的影响^[39, 97, 101]。(2) dsRNA 产业化成本高。dsRNA 的大规模、低成本生产是核酸农药商业化、规模化应用的前提^[102]。由于化学合成的工业成本仍然居高不下, 并且合成的 dsRNA 长度有限^[103], 而体外转录法所需的商业试剂盒价格虽然有所降低, 但是在用于规模化生产时还需控制成本^[104]。目前, 工程菌体内合成技术日渐成熟, 无需借助合成酶, 且复制速度快, 成本优势明显, 有望实现 dsRNA 的规模化生产, 从而降低生产成本^[70, 105]。(3) SIGS 干扰效率不理想。一方面, 由于裸露的 dsRNA 在环境中不稳定, 易被 RNA 降解酶、紫外线辐射和高温环境等降解^[106-109], 另一方面, 由于靶标生物具有厚实坚硬的细胞壁, 导致 dsRNA 递送效率不高^[110]。现有研究发现, 无机纳米材料(如层状

双氢氧化物黏土纳米颗粒)、有机纳米材料(如脂质囊泡、壳聚糖)可有效提升 RNA 的干扰效率,将来可进一步对不同纳米封装技术的优劣和田间适用场景进行探究和优化,并开展大面积田间试验。(4) HIGS 技术涉及转基因安全问题,需要进行严格评估,而目前公众的接受度还比较低。

5 展望

灰葡萄孢菌是农业生产中的重要病原菌,利用 RNA 干扰技术控制灰霉病害是当前的研究热点,目前在实验室阶段已经取得显著效果。虽然目前针对灰霉病菌的 RNAi 商业化产品尚未见报道,但是借助 RNA 干扰技术的研究已有突破,如转基因抗虫玉米品种 MON87411、DP23211 已经获得批准上市^[111-112]。同时,针对蜜蜂狄斯瓦螨(*Varroa destructor*)、科罗拉多马铃薯甲虫(*Leptinotarsa decemlineata*)的喷雾型核酸农药也获得登记^[113-114]。我国研发的烟草花叶病毒核酸干扰素 SG-RNA001 目前也已经进入农药登记田间测试阶段^[101],随着包含控制灰霉病在内的多种病虫害的 RNA 干扰农药产品的出现,可为绿色防控提供更多选择。

参考文献:

- [1] de Angelis G, Simonetti G, Chronopoulou L, et al. A novel approach to control *Botrytis cinerea* fungal infections: uptake and biological activity of antifungals encapsulated in nanoparticle based vectors[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 7989.
- [2] Garfinkel A R. The history of *Botrytis* taxonomy, the rise of phylogenetics, and implications for species recognition [J]. Phytopathology, 2021, 111(3): 437–454.
- [3] Ullah I, Yuan W B, Khalil H B, et al. Understanding *Botrytis cinerea* infection and gray mold management: a review paper on deciphering the rose's thorn[J]. Phytopathology Research, 2024, 6(1): 42.
- [4] Dean R, van Kan J A L, Pretorius Z A, et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(7): 804.
- [5] Fernández-Ortuño D, Grabke A, Li X P, et al. Independent emergence of resistance to seven chemical classes of fungicides in *Botrytis cinerea*[J]. Phytopathology, 2015, 105(4): 424–432.
- [6] Rupp S, Weber R W S, Rieger D, et al. Spread of *Botrytis cinerea* strains with multiple fungicide resistance in German horticulture[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 7: 2075.
- [7] Zhang Q C, Zhang S, Wu B, et al. Methionine represses gray mold of tomato by keeping nitric oxide at an appropriate level via ethylene synthesis and signal transduction [J]. Food Chemistry, 2024, 461: 140942.
- [8] Wan N F, Fu L W, Dainese M, et al. Pesticides have negative effects on non-target organisms [J]. Nature Communications, 2025, 16: 1360.
- [9] Wytinck N, Manchur C L, Li V H, et al. dsRNA uptake in plant pests and pathogens: insights into RNAi-based insect and fungal control technology[J]. Plants, 2020, 9(12): 1780.
- [10] Cagliari D, Dias N P, Galdeano D M, et al. Management of pest insects and plant diseases by non-transformative RNAi [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1319.
- [11] 张中义. 中国真菌志. 第二十六卷, 葡萄孢属, 柱隔孢属[M]. 北京: 科学出版社, 2006(2): 37–55.
- [12] 张莉, 张博源, 黄继红, 等. 植物灰霉病生物防治研究进展[J]. 现代牧业, 2021, 5(2): 55–60.
- [13] 董金皋. 农业植物病理学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2007(8): 391–393.
- [14] 刘福平, 黄台明, 宋淑芳, 等. 番茄灰霉病的生物学特性与防治研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(31): 10924–10926.
- [15] 王方方, 付清泉, 史学伟, 等. 灰霉病致病机理及其防治措施研究进展[J]. 中国果菜, 2024, 44(1): 47–53.
- [16] 马晨, 周欣玥, 王全. 番茄灰霉病生物防治的研究进展[J]. 园艺与种苗, 2018, 38(2): 61–62.
- [17] 陈宇春, 陈敏, 王其刚, 等. 植物灰霉病及抗性研究进展[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(15): 42–51, 63.
- [18] Staats M, van Kan J A L. Genome update of *Botrytis cinerea* strains B05.10 and T4[J]. Eukaryotic Cell, 2012, 11(11): 1413–1414.
- [19] Bi K, Liang Y, Mengiste T, et al. Killing softly: a roadmap of *Botrytis cinerea* pathogenicity[J]. Trends in Plant Science, 2023, 28(2): 211–222.
- [20] Fernández-Acero F J, Colby T, Harzen A, et al. 2-DE proteomic approach to the *Botrytis cinerea* secretome induced with different carbon sources and plant-based elicitors[J]. Proteomics, 2010, 10(12): 2270–2280.
- [21] Manteau S, Abouna S, Lambert B, et al. Differential regulation by ambient pH of putative virulence factor secretion by the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43(3): 359–366.
- [22] Blanco-Ulate B, Labavitch J M, Vincenti E, et al. Hitting the wall: plant cell walls during *Botrytis cinerea* infections. In: *Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* [D]. Switzerland: Springer International Publishing, 2016: 361–386.
- [23] Chakraborty N, Ghosh R, Ghosh S, et al. Reduction of oxalate levels in tomato fruit and consequent metabolic remodeling following overexpression of a fungal oxalate decarboxylase [J]. Plant Physiology, 2013, 162(1): 364–378.
- [24] Prusky D, Lichter A. Activation of quiescent infections by postharvest pathogens during transition from the biotrophic to the necrotrophic stage[J]. FEMS Microbiology Letters, 2007, 268(1): 1–8.
- [25] Siewers V, Smedsgaard J, Tudzynski P. The P450 monooxygenase BeABA1 is essential for abscisic acid biosynthesis in *Botrytis cinerea*

- [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70 (7): 3868 – 3876.
- [26] Siewers V, Kokkelink L, Smedsgaard J, et al. Identification of an abscisic acid gene cluster in the grey mold *Botrytis cinerea* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72 (7): 4619 – 4626.
- [27] Jia H F, Chai Y M, Li C L, et al. Absciscic acid plays an important role in the regulation of strawberry fruit ripening [J]. Plant Physiology, 2011, 157 (1): 188 – 199.
- [28] Cantu D, Vicente A R, Greve L C, et al. The intersection between cell wall disassembly, ripening, and fruit susceptibility to *Botrytis cinerea* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105 (3): 859 – 864.
- [29] Cantu D, Blanco – Ulate B, Yang L Y, et al. Ripening – regulated susceptibility of tomato fruit to *Botrytis cinerea* requires NOR but not RIN or ethylene [J]. Plant Physiology, 2009, 150 (3): 1434 – 1449.
- [30] Li H, Chen Y, Zhang Z Q, et al. Pathogenic mechanisms and control strategies of *Botrytis cinerea* causing post – harvest decay in fruits and vegetables [J]. Food Quality and Safety, 2018, 2 (3): 111 – 119.
- [31] Weiberg A, Wang M, Lin F M, et al. Fungal small RNAs suppress plant immunity by hijacking host RNA interference pathways [J]. Science, 2013, 342 (6154): 118 – 123.
- [32] Wang M, Weiberg A, Dellota E Jr, et al. *Botrytis* small RNA Bc – siR37 suppresses plant defense genes by cross – Kingdom RNAi [J]. RNA Biology, 2017, 14 (4): 421 – 428.
- [33] Choquer M, Fournier E, Kunz C, et al. *Botrytis cinerea* virulence factors: new insights into a necrotrophic and polyphageous pathogen [J]. FEMS Microbiology Letters, 2007, 277 (1): 1 – 10.
- [34] Veloso J, van Kan J A L. Many shades of grey in *Botrytis* – host plant interactions [J]. Trends in Plant Science, 2018, 23 (7): 613 – 622.
- [35] 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 (6669): 806 – 811.
- [36] Islam M T, Sherif S M. RNAi – based biofungicides as a promising next – generation strategy for controlling devastating gray mold diseases [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21 (6): 2072.
- [37] Mosquera S, Ginésy M, Bocos – Asenjo I T, et al. Spray – induced gene silencing to control plant pathogenic fungi: a step – by – step guide [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2025, 67 (3): 801 – 825.
- [38] 龚流娥, 应淑敏, 张雅芬, 等. 病虫害 RNAi 技术中的外源 RNA 递送策略 [J]. 生物工程学报, 2023, 39 (2): 459 – 471.
- [39] 李爽, 闫更轩, 田缘, 等. RNA 干扰技术防控作物真菌病害研究进展 [J]. 北方园艺, 2024 (3): 127 – 136.
- [40] Wilson R C, Doudna J A. Molecular mechanisms of RNA interference [J]. Annual Review of Biophysics, 2013, 42: 217 – 239.
- [41] Gong D, Ferrell J E Jr. Picking a winner; new mechanistic insights into the design of effective siRNAs [J]. Trends in Biotechnology, 2004, 22 (9): 451 – 454.
- [42] Patzel V, Rutz S, Dietrich I, et al. Design of siRNAs producing unstructured guide – RNAs results in improved RNA interference efficiency [J]. Nature Biotechnology, 2005, 23 (11): 1440 – 1444.
- [43] 崔锦程, 崔洁, 卞小莹. 生产双链 RNA 工程菌的研究进展 [J]. 生物工程学报, 2025, 41 (2): 546 – 558.
- [44] Elbashir S M, Harborth J, Lendeckel W, et al. Duplexes of 21 – nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells [J]. Nature, 2001, 411 (6836): 494 – 498.
- [45] Donze O. RNA interference in mammalian cells using siRNAs synthesized with T7 RNA polymerase [J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30 (10): e46.
- [46] Voloudakis A E, Holeva M C, Sarin L P, et al. Efficient double – stranded RNA production methods for utilization in plant virus control [M] // Plant virology protocols. New York: Springer New York, 2014: 255 – 274.
- [47] Niehl A, Soininen M, Poranen M M, et al. Synthetic biology approach for plant protection using dsRNA [J]. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16 (9): 1679 – 1687.
- [48] Park M G, Kim W J, Choi J Y, et al. Development of a *Bacillus thuringiensis* based dsRNA production platform to control sacbrood virus in *Apis cerana* [J]. Pest Management Science, 2020, 76 (5): 1699 – 1704.
- [49] Álvarez – Sánchez A R, Romo – Quinones C, Rosas – Quijano R, et al. Production of specific dsRNA against white spot syndrome virus in the yeast *Yarrowia lipolytica* [J]. Aquaculture Research, 2018, 49 (1): 480 – 491.
- [50] 任恒泽, 李丹莹, 余亚婷, 等. 植物 VIGS 载体构建策略研究与应用进展 [J]. 园艺学报, 2024, 51 (7): 1455 – 1473.
- [51] Nowara D, Gay A, Lacomme C, et al. HIGS host – induced gene silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis* [J]. The Plant Cell, 2010, 22 (9): 3130 – 3141.
- [52] Ghag S B. Host induced gene silencing, an emerging science to engineer crop resistance against harmful plant pathogens [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2017, 100: 242 – 254.
- [53] 冯丹丹, 邓蕾, 汪祖鹏, 等. 寄主诱导的基因沉默在增强植物真菌病害抗性方面的研究进展 [J]. 植物科学学报, 2021, 39 (3): 316 – 323.
- [54] Wang M, Jin H L. Spray – induced gene silencing: a powerful innovative strategy for crop protection [J]. Trends in Microbiology, 2017, 25 (1): 4 – 6.
- [55] Vetukuri R R, Dubey M, Kalyandurg P B, et al. Spray – induced gene silencing: an innovative strategy for plant trait improvement and disease control [J]. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 2021, 21: e387921S11. DOI: 10.1590/1984 – 70332021v21sa24.
- [56] 莫芹, 蒋玮, 陈一帆, 等. 喷雾诱导基因沉默技术在植物真菌病害防治中的研究进展 [J]. 中国生物防治学报, 2022, 38 (5): 1316 – 1324.
- [57] MacRae I J, Zhou K H, Li F, et al. Structural basis for double –

- stranded RNA processing by dicer[J]. *Science*, 2006, 311(5758): 195–198.
- [58] Meister G, Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA[J]. *Nature*, 2004, 431(7006): 343–349.
- [59] Song J J, Smith S K, Hannon G J, et al. Crystal structure of argonaute and its implications for RISC slicer activity[J]. *Science*, 2004, 305(5689): 1434–1437.
- [60] Schwarz D S, Hutvagner G, Du T T, et al. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex[J]. *Cell*, 2003, 115(2): 199–208.
- [61] Hannon G J. RNA interference[J]. *Nature*, 2002, 418(6894): 244–251.
- [62] 李志强, 曹延婷, 郭晓龙, 等. 基因功能研究工具 VIGS 在植物中的应用[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(2): 915–923.
- [63] Cao X Q, Yan H J, Liu X T, et al. A detached petal disc assay and virus-induced gene silencing facilitate the study of *Botrytis cinerea* resistance in rose flowers[J]. *Horticulture Research*, 2019, 6: 136.
- [64] Zhang H J, Yan M J, Deng R, et al. The silencing of DEK reduced disease resistance against *Botrytis cinerea* and *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 based on virus-induced gene silencing analysis in tomato[J]. *Gene*, 2020, 727: 144245.
- [65] Fu X D, Li J Z, Min D D, et al. LncRNA4504 involved in methyl jasmonate-induced resistance to *Botrytis cinerea* in postharvest tomato fruit[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 305: 111381.
- [66] Li Z X, Yang S, Ma Y J, et al. Molecular mechanism of miR160d in regulating kiwifruit resistance to *Botrytis cinerea*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(27): 10304–10313.
- [67] Wang M, Weiberg A, Lin F M, et al. Bidirectional cross-kingdom RNAi and fungal uptake of external RNAs confer plant protection[J]. *Nature Plants*, 2016, 2(10): 16151.
- [68] Xiong F J, Liu M, Zhuo F P, et al. Host-induced gene silencing of *BcTOR* in *Botrytis cinerea* enhances plant resistance to grey mould[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2019, 20(12): 1722–1739.
- [69] Capriotti L, Molesini B, Pandolfini T, et al. RNA interference-based strategies to control *Botrytis cinerea* infection in cultivated strawberry[J]. *Plant Cell Reports*, 2024, 43(8): 201.
- [70] Xu Y, Tan J Y, Lu J X, et al. RAS signalling genes can be used as host-induced gene silencing targets to control fungal diseases caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 22(1): 262–277.
- [71] Zotti M, dos Santos E A, Cagliari D, et al. RNA interference technology in crop protection against arthropod pests, pathogens and nematodes[J]. *Pest Management Science*, 2018, 74(6): 1239–1250.
- [72] Andow D A, Zwahlen C. Assessing environmental risks of transgenic plants[J]. *Ecology Letters*, 2006, 9(2): 196–214.
- [73] Yan S, Yu J, Han M, et al. Intercrops can mitigate pollen-mediated gene flow from transgenic cotton while simultaneously reducing pest densities[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 711: 134855.
- [74] Yan S, Zhu W L, Zhang B Y, et al. Pollen-mediated gene flow from transgenic cotton is constrained by physical isolation measures[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 2862.
- [75] 陈夕军, 石童, 陈宸, 等. 喷施诱导的基因沉默(SIGS)技术控制植物病害研究进展[J]. *植物保护*, 2022, 48(5): 15–22.
- [76] Dubrovina A S, Kiselev K V. Exogenous RNAs for gene regulation and plant resistance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(9): 2282.
- [77] McLoughlin A G, Wytinck N, Walker P L, et al. Identification and application of exogenous dsRNA confers plant protection against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 7320.
- [78] Gu K X, Song X S, Xiao X M, et al. A β -tubulin dsRNA derived from *Fusarium asiaticum* confers plant resistance to multiple phytopathogens and reduces fungicide resistance[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2019, 153: 36–46.
- [79] Nerva L, Sandrini M, Gambino G, et al. Double-stranded RNAs (dsRNAs) as a sustainable tool against gray mold (*Botrytis cinerea*) in grapevine: effectiveness of different application methods in an open-air environment[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 200.
- [80] Qiao L L, Lan C, Capriotti L, et al. Spray-induced gene silencing for disease control is dependent on the efficiency of pathogen RNA uptake[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(9): 1756–1768.
- [81] Duanis – Assaf D, Galsurker O, Davydov O, et al. Double-stranded RNA targeting fungal ergosterol biosynthesis pathway controls *Botrytis cinerea* and postharvest grey mould[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(1): 226–237.
- [82] Spada M, Pugliesi C, Fambrini M, et al. Silencing of the Sl2 – Type map kinase bmp3 in *Botrytis cinerea* by application of exogenous dsRNA affects fungal growth and virulence on *Lactuca sativa*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(10): 5362.
- [83] Spada M, Pugliesi C, Fambrini M, et al. Knockdown of Bmp1 and Pls1 virulence genes by exogenous application of RNAi – inducing dsRNA in *Botrytis cinerea*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(5): 4869.
- [84] Patra J K, Das G, Fraceto L F, et al. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2018, 16(1): 71.
- [85] Yuan Y, Gu Z, Yao C, et al. Nucleic acid-based functional nanomaterials as advanced cancer therapeutics[J]. *Small*, 2019, 15(26): 1900172.
- [86] 付淑莹, 江奕舟, 蒋沁宏, 等. 基于纳米递送系统的 RNA 农药及转基因植物研究进展[J]. *植物保护学报*, 2021, 48(2): 267–274.
- [87] Niño – Sánchez J, Sambasivam P T, Sawyer A, et al. BioClay™ prolongs RNA interference-mediated crop protection against *Botrytis cinerea*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64(11): 2187–2198.
- [88] Spada M, Pugliesi C, Fambrini M, et al. Spray-induced gene

- silencing (SIGS); nanocarrier-mediated dsRNA delivery improves RNAi efficiency in the management of lettuce gray mold caused by *Botrytis cinerea* [J]. *Agronomy*, 2025, 15(1): 194.
- [89] Shim G, Han S E, Yu Y H, et al. Trilysinoyl oleylamide-based cationic liposomes for systemic co-delivery of siRNA and an anticancer drug [J]. *Journal of Controlled Release*, 2011, 155(1): 60–66.
- [90] Zhang Y T, Cui J, Zhou Y Z, et al. Liposome mediated double-stranded RNA delivery to silence ribosomal protein P0 in the tick *Rhipicephalus haemaphysaloides* [J]. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2018, 9(3): 638–644.
- [91] Islam M T, Davis Z, Chen L S, et al. Minicell-based fungal RNAi delivery for sustainable crop protection [J]. *Microbial Biotechnology*, 2021, 14(4): 1847–1856.
- [92] Qiao L L, Niño-Sánchez J, Hamby R, et al. Artificial nanovesicles fords RNA delivery in spray-induced gene silencing for crop protection [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(4): 854–865.
- [93] Mudo L M D, Queiroz A F S, de Melo N F, et al. Stability evaluation of dsRNA and DNA encapsulated in chitosan nanoparticles [J]. *BioNanoScience*, 2022, 12(3): 774–784.
- [94] Scarpin D, Nerva L, Chitarra W, et al. Characterisation and functionalisation of chitosan nanoparticles as carriers for double-stranded RNA (dsRNA) molecules towards sustainable crop protection [J]. *Bioscience Reports*, 2023, 43(11): BSR20230817.
- [95] Wu F L, Yan L, Zhao X Y, et al. Development of an RNA nanostructure for effective *Botrytis cinerea* control through spray-induced gene silencing without an extra nanocarrier [J]. *Journal of Fungi*, 2024, 10(7): 483.
- [96] 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.
- [97] Gebremichael D E, Haile Z M, Negrini F, et al. RNA interference strategies for future management of plant pathogenic fungi: prospects and challenges [J]. *Plants*, 2021, 10(4): 650.
- [98] 张倩, 郭玉鸽, 曹可心, 等. RNA 干扰防控烟草黄瓜花叶病毒的效果 [J]. *江苏农业科学*, 2024, 52(13): 139–144.
- [99] Bramlett M, Plaetinck G, Maienfisch P. RNA-based biocontrols: a new paradigm in crop protection [J]. *Engineering*, 2020, 6(5): 522–527.
- [100] Lundgren J G, Duan J J. RNAi-based insecticidal crops: potential effects on nontarget species [J]. *BioScience*, 2013, 63(8): 657–665.
- [101] Naito Y, Ui-Tei K. siRNA design software for a target gene-specific RNA interference [J]. *Frontiers in Genetics*, 2012, 3: 102.
- [102] 路子琪, 王静, 张震, 等. 基于 RNAi 的生物农药研究进展 [J]. *浙江农业学报*, 2024, 36(4): 968–977.
- [103] Guan R B, Chu D D, Han X Y, et al. Advances in the development of microbial double-stranded RNA production systems for application of RNA interference in agricultural pest control [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 9: 753790.
- [104] Ahn S J, Donahue K, Koh Y, et al. Microbial-based double-stranded RNA production to develop cost-effective RNA interference application for insect pest management [J]. *International Journal of Insect Science*, 2019, 11(6): 1–8.
- [105] 何承帅, 张辉, 吴顺凡, 等. 核酸农药纳米递送系统研究进展 [J]. *农药学报*, 2023, 25(6): 1179–1197.
- [106] Sang H, Kim J I. Advanced strategies to control plant pathogenic fungi by host-induced gene silencing (HIGS) and spray-induced gene silencing (SIGS) [J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2020, 14(1): 1–8.
- [107] Dubelman S, Fischer J, Zapata F, et al. Environmental fate of double-stranded RNA in agricultural soils [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e93155.
- [108] Cooper A M, Silver K, Zhang J Z, et al. Molecular mechanisms influencing efficiency of RNA interference in insects [J]. *Pest Management Science*, 2019, 75(1): 18–28.
- [109] Zhu K Y, Palli S R. Mechanisms, applications, and challenges of insect RNA interference [J]. *Annual Review of Entomology*, 2020, 65: 293–311.
- [110] Dalakouras A, Wassenegger M, Dadami E, et al. Genetically modified organism-free RNA interference: exogenous application of RNA molecules in plants [J]. *Plant Physiology*, 2020, 182(1): 38–50.
- [111] Naegeli H, Birch A N, Casacuberta J, et al. Assessment of genetically modified maize MON 87411 for food and feed uses, import and processing, under Regulation (EC) No1829/2003 (application EFSA-GMO-NL-2015-124) [J]. *EFSA Journal*, 2018, 16(6): e05310.
- [112] Papadopoulou N, Devos Y, Álvarez-Alfageme F, et al. Risk assessment considerations for genetically modified RNAi plants: EFSA's activities and perspective [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 445.
- [113] 关若冰, 李海超, 苗雪霞. RNA 生物农药的商业化现状及存在问题 [J]. *中国农业科学*, 2022, 55(15): 2949–2960.
- [114] Rodrigues T B, Mishra S K, Sridharan K, et al. First sprayable double-stranded RNA-based biopesticide product targets proteasome subunit beta type-5 in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 728652.