

PESTICIDES INHIBITEURS DE GÈNES

Risques et craintes



Remerciements

Ce dossier a été rédigé par Eva Sirinathsinghji, Ph.D., Kendra Klein, Ph.D., senior staff scientist, les Amis de la Terre Etats-Unis et Dana Perls, M.C.P., directrice du programme Alimentation et Technologie des Amis de la Terre Etats-Unis

Nous remercions Jack Heinemann, Ph.D., Michael Hansen, Ph.D. de Consumer Reports et Ricarda Steinbrecher, Ph.D. d'EcoNexus pour la relecture de ce rapport.

"Gene-Silencing Pesticides - Risks and Concerns"

<https://foe.org/resources/gene-silencing-pesticides-risks-and-concerns/>

©Copyright October 2020 by Friends of the Earth U.S.



Traduction, adaptation et mise en page : [Amis de la Terre des Landes](#)



Présentation de la technologie ARNi

Comment fonctionnent les pesticides ARNi à silençage génétique ?

L'interférence par ARN (ARNi) est un processus cellulaire naturel chez les plantes, les champignons et les animaux, y compris les insectes. La voie de l'ARNi détermine si un gène est désactivé ou non. Les ingénieurs généticiens ont découvert comment activer ce processus dans les organismes en utilisant des molécules synthétiques d'ARN interférent produites en laboratoire. Les pesticides à ARNi qui en résultent peuvent tuer un ravageur en déclenchant un processus dans l'organisme qui désactive des gènes essentiels à sa survie.

L'ARN interférent pourrait être appliqué par exemple en épandage foliaire sur des plantes. Une fois que le ravageur a mangé les feuilles, l'ARN interférent pénètre dans l'estomac de l'insecte et réduit au silence un gène essentiel à la division cellulaire, après quoi le ravageur ne peut plus fabriquer de nouvelles cellules fonctionnelles et meurt.

Un autre exemple d'utilisation possible est un spray ARNi visant à inverser la tolérance au glyphosate chez les mauvaises herbes. Bayer serait en train de développer divers produits d'épandage à ARNi baptisés BioDirect. Il s'agit de produits conçus pour cibler la tolérance des mauvaises herbes au glyphosate.⁴³ L'ARN interférent serait absorbé par les adventices via les racines ou par pénétration des feuilles, après quoi il entrerait dans les cellules de la mauvaise herbe et réduirait au silence le gène qui confère la tolérance au glyphosate, la rendant ainsi à nouveau sensible au glyphosate. Ces ARN interférents pourraient potentiellement être utilisés en conjonction avec le glyphosate en tant que produit à formulation unique, préservant ainsi le marché des systèmes de cultures génétiquement modifiées tolérantes à cet herbicide, ou comment faire d'une pierre, trois coups !

Différents types de gènes font l'objet de recherches dans les laboratoires en vue de contrôler les insectes à l'aide de l'ARNi, notamment les

gènes létaux (gènes essentiels qui tueraient le parasite si leur fonction était interrompue), les gènes liés à la résistance/l'immunité (pour réduire la résistance des insectes aux pesticides), les gènes liés à la croissance/au développement, les gènes liés à la ponte (pour empêcher les parasites de déposer leurs œufs) et les gènes olfactifs (pour empêcher les insectes d'identifier les cultures).

Les formulations des pesticides à ARNi synthétique contiennent principalement des "molécules d'ARN interférent" (voir encadré 1) comme ingrédient actif, auquel on ajoute d'autres composants susceptibles d'améliorer leur efficacité - par exemple des nanoparticules qui retardent la dégradation dans l'environnement ou facilitent leur pénétration dans les cellules. (Voir section plus bas sur l'utilisation des nanoparticules). Les formulations peuvent contenir plus d'un ingrédient actif.



On peut appliquer les formulations aux plantes ou aux insectes directement dans les champs agricoles ou dans d'autres milieux en plein air, par épandage, trempage des racines ou injection dans le tronc.

La façon dont les pesticides ARNi peuvent atteindre les organismes nuisibles dépend de ces derniers. Après avoir été appliqués sur une culture, ils peuvent être absorbés directement par contact ou ingérés par le ravageur ou le pathogène. Certaines espèces, comme certains vers, sont capables d'absorber des ARN interférents par contact,³⁶ alors que d'autres espèces peuvent ingérer des ARN interférents, qui sont alors actifs durant la digestion qui suit dans l'organisme.³⁷ Ils peuvent être aussi absorbés par inhalation.² Les ARN interférents peuvent également être appliqués à la surface d'une plante ou absorbés par les plantes, soit par absorption directe des feuilles, soit par

absorption par les racines, soit par abrasion légère des feuilles ou par des traitements au laser effectués par des drones. Les ARN interférents peuvent ensuite être transportés dans la plante et transférés aux ravageurs ou aux pathogènes qui la consomment.

Les formulations des pesticides ARNi sont conçues pour interagir avec des séquences génétiques spécifiques. Tout organisme exposé à ces pesticides qui présente une séquence génétique correspondante ou similaire peut potentiellement être modifié génétiquement, qu'il s'agisse ou non d'un organisme cible.

Encadré 1 : Gros plan sur les mécanismes des ARNi

Les développeurs de pesticides ARNi cherchent à utiliser les voies naturelles de l'ARNi chez les plantes, les animaux et les champignons en fabriquant des ARN interférents synthétiques d'une séquence particulière avec comme objectif de réduire au silence un ou plusieurs gènes spécifiques. Il convient de noter que l'ARNi peut également servir à augmenter l'expression des gènes.

L'interférence ARN régule l'activité des gènes par la production d'un type de molécules d'ARN (techniquement appelées molécules d'ARN double brin - ARNdb). On appelle "ARN interférents" ces molécules qui sont un type de molécule d'acide nucléique similaire à l'ADN. (Des réactions similaires se produisent également dans les bactéries mais ne sont techniquement pas de l'ARNi).

Aujourd'hui les scientifiques produisent des ARN interférents synthétiques qui ont pour fonction d'éteindre ou de "réduire au silence" des gènes. Fondamentalement, le silençage d'un gène bloque son "expression". Cela peut stopper la traduction en une protéine, ou parfois stopper des étapes antérieures, un processus appelé "transcription". Les codes d'instruction du processus de synthèse des protéines sont apportés par les gènes. Il y a deux étapes majeures : la transcription du gène en ARN messenger - une molécule intermédiaire - et la "traduction" de cette molécule d'ARN messenger en protéine. Les protéines sont considérées comme responsables de la plupart des fonctions cellulaires d'un organisme, de sorte que la modification de leur expression peut modifier les caractéristiques des organismes.

L'ARNi bloque la production de la protéine en détruisant les molécules d'ARN messenger, en bloquant leur capacité à être traduites en protéines ou en modifiant l'ADN pour qu'il ne soit pas transcrit. Ces modifications sont parfois héréditaires.

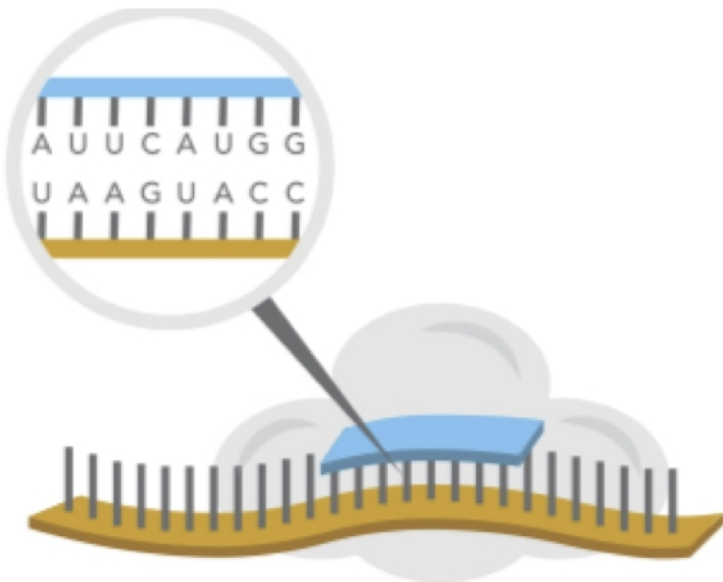
Dessin 1 : Mécanisme de l'ARN interférent

L'ARNi régule l'expression des gènes. L'ARNi bloque la synthèse des protéines. Les protéines sont les instructions qui dirigent de nombreux processus importants au sein d'un organisme.



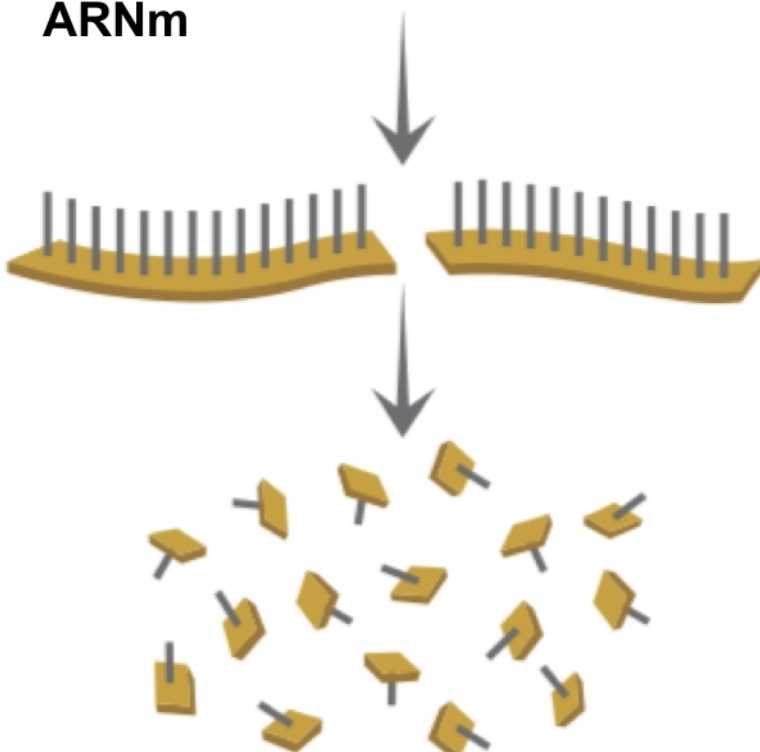
ARNdb

Les ARN à double brin (ARNdb) appelés ARN interférents sont traités en fragments actifs plus petits



ARNm

L'ARN interférent et l'ARN messenger ciblé se lient car ils ont en commun une séquence qui se correspond ou est similaire.



L'ARN messenger est maintenant coupé et détruit. L'interférence dans l'expression du gène, connue comme silençage du gène, a pour résultat qu'aucune protéine n'est produite.

Développement des produits ARNi

Parmi les entreprises de biotechnologies qui développent des pesticides ARNi on trouve évidemment les géants de l'agro-chimie Bayer, BASF, Syngenta, mais aussi d'autres firmes moins connues comme Viaqua Therapeutics, GreenLight Biosciences etc. La recherche fondamentale, elle, est menée dans les universités.³⁸ Plusieurs produits à ARN interfèrent sont en cours de commercialisation (voir tableau 2). Les pesticides sont appliqués par épandage, par trempage des racines et par injection dans le tronc. Bien sûr les recherches ne se limitent pas aux pesticides, mais portent aussi sur d'autres applications agricoles topiques de l'ARNi : spray pour annuler la tolérance des mauvaises herbes aux herbicides, additifs alimentaires pour poissons, crevettes et abeilles dans le but d'enclencher une résistance aux maladies, et application dans le but de modifier des caractéristiques post-récolte comme la maturation et d'allonger ainsi la durée de conservation des aliments.

Les défis de la commercialisation

La commercialisation de ces types de produits ARNi se confronte actuellement à un certain nombre de problèmes. Le coût élevé de la production d'ARN synthétique en est un, bien qu'un rapport affirme que les coûts aient chuté de façon spectaculaire, passant d'environ 600 \$ le gramme d'ARN en 2017 à environ 1 \$ en 2020³⁹. Parmi les autres problèmes à relever, on note les questions relatives à la manière dont les molécules d'ARNi se déplacent à travers les feuilles d'une plante jusqu'à ses cellules, la faible sensibilité à l'ARNi de certains insectes ravageurs comme les lépidoptères et les diptères⁴⁰, et les variations génétiques qui peuvent limiter l'efficacité des molécules d'ARNi dans certaines populations qui ne sont pas porteuses de la séquence génétique qu'on veut cibler. Un des autres principaux problèmes est que les ARN interférents, une fois introduits dans l'environnement, se décomposent en quelques jours. Les chercheurs travaillent sur différents moyens de rendre les molécules

d'ARNi plus stables dans l'environnement, notamment en les encapsulant dans des nanoparticules synthétiques. (Voir ci-dessous les inquiétudes sanitaires et environnementales que soulève l'utilisation des nanoparticules).

Autres applications de la technologie ARNi

Le présent rapport se concentre certes sur les applications topiques de cette technologie (c'est-à-dire celles applicables à l'extérieur des cultures ou ajoutées aux aliments pour animaux), mais la technologie de l'ARNi est également utilisée pour modifier génétiquement les cultures et les insectes (voir Encadré 2). Développer des cultures génétiquement modifiées est un processus long et coûteux qui présente un risque élevé d'échec. Le fait que les produits topiques à base d'ARNi puissent être développés et commercialisés plus rapidement et échappent actuellement aux réglementations existantes sur les OGM, suscite beaucoup d'intérêt pour cette technologie.⁴¹

Pulvérisations foliaires

Une des principales applications des technologies ARNi est sous forme de pulvérisations ou épandages qui pourraient être utilisés pour remplir diverses fonctions, que ce soit comme pesticides, stimulateurs de croissance, agents permettant d'annuler la résistance aux herbicides ou d'enclencher une résistance aux maladies dans les cultures ou les animaux ciblés.⁴²







On pense que Bayer est en train de développer divers produits d'épandage à ARNi baptisés BioDirect. L'un d'entre eux est un spray ARNi visant à annuler la tolérance au glyphosate chez les mauvaises herbes.⁴³ L'ARN interférent serait absorbé par les adventices via les racines ou par pénétration des feuilles, après quoi il entrerait dans les cellules et réduirait au silence le gène qui confère aux adventices la tolérance au glyphosate, les rendant ainsi à nouveau vulnérables au glyphosate. A plus grande échelle, il s'agit de préserver le marché des systèmes de cultures GM tolérantes aux

herbicides notamment au glyphosate. Ces ARN interférents pourraient même être utilisés en conjonction avec le glyphosate en tant que produit à formulation unique, préservant ainsi le marché des OGM tolérants au glyphosate et les ventes de ce pesticide - ou comment faire d'une pierre, trois coups ! Parmi les autres produits de BioDirect figurent des sprays ciblant l'altise du colza (dont le développement aurait débuté en 2016).⁴⁴

GreenLight Biosciences aurait un produit ciblant la pomme de terre du Colorado qui pourrait être présenté à l'Agence états-unienne de protection de l'environnement pour homologation en 2020, bien que les informations publiques sur ce produit soient rares.⁴⁵ Syngenta a également annoncé récemment qu'elle disposerait de pesticides ciblant le doryphore de la pomme de terre qui pourraient être commercialisés dans 7-10 ans.⁴⁶

Tableau 2 : principaux produits ARNi agricoles en développement

Figure 2: Key agricultural RNAi products in development

| Developer | Product | Target | Stage of development |
|--|------------------------------|--|--|
|  BASF We create chemistry | Spray | Plant fungal pathogen fusarium | Unclear |
|  | Spray | Reverse glyphosate resistance in weeds | Unclear |
| | Spray | Canola flea beetle | Early stages |
| | Feed additive for honey bees | Varroa mite | Submitted for EPA registration in 2019 |
|  GreenLight BIOSCIENCES™ | Spray | Colorado potato beetle | Expected to be submitted to EPA in 2020 |
|  syngenta | Spray | Colorado potato beetle | Expected commercialization within 7-10 years |
|  DONALD DANFORTH PLANT SCIENCE CENTER 20001 UNIVERSITY BLVD | Spray | Diamondback moth | Unclear |
|  VIAQUA THERAPEUTICS | Feed additive for shrimp | White Spot Shrimp Virus | Potential commercial launch in 2021 |

Le Donald Danforth Center for Life Sciences et TechAccel ont créé une nouvelle startup appelée RNAissance Ag, qui développe également un spray pour lutter contre la teigne des crucifères.⁴⁷

Le Centre prévoit d'agrandir sa plateforme pour développer des produits similaires ciblant d'autres ravageurs, tels que la chenille légionnaire d'automne et les vers de l'épi. Dans des publications de recherche préliminaires, il semblerait que RNAissance Ag fournisse à Bayer des ARN interférents⁴⁸.

BASF et ses collaborateurs développent également des produits topiques à base d'ARN interférents qui ciblent le champignon pathogène *Fusarium graminearum*. Leur publication de recherche de 2016 affirme que les ARN interférents sous forme de sprays ont été absorbés par les plants d'orge et transportés vers les sites d'infection, où ils ont pu réduire au silence des gènes essentiels de *Fusarium*, ce qui a entraîné une réduction de la croissance fongique.⁴⁹

Trempeage des racines et injections dans le tronc

Les pulvérisations foliaires qui sont appliquées à la surface des plantes n'atteignent pas les insectes qui pour se nourrir percent et sucent les tiges ou mangent les systèmes racinaires. C'est pourquoi les entreprises développent également le trempage de racines et les injections dans le tronc comme méthode de transmission des ARN interférents.⁵⁰ On pourrait ainsi les utiliser pour traiter des cultures comme les agrumes, plantes qui poussent lentement et ne sont donc pas idéales pour les stratégies transgéniques. Il ne semble pas encore y avoir de produits sur le point d'être commercialisés. Apparemment, aucun produit basé sur cette stratégie de transmission n'est sur le point d'être commercialisé, bien que certains brevets pour l'induction de l'ARNi couvrent toutes les méthodes d'administration potentielles, y compris le trempage des racines et les injections.

Traitements alimentaires post-récolte

Des recherches sont menées sur les traitements ARNi pour les cultures une fois récoltées, que ce soient les légumes frais, les fruits, les céréales et les fleurs, pour prolonger la durée de conservation en s'attaquant aux moisissures ou à d'autres formes de pathogènes,^{2,9} ou en modifiant les gènes responsables de la sénescence - c'est-à-dire du vieillissement - dans les cultures vivrières.

Incorporation dans les aliments pour animaux

Les ARN interférents sont également développés pour être administrés par voie orale aux animaux d'élevage tels que les crustacés, les petits poissons et les abeilles, afin de lutter contre divers parasites et agents pathogènes.

Viaqua Therapeutics développe son premier produit conçu pour lutter contre le virus du syndrome des points blancs qui affecte certaines espèces de crevettes. L'entreprise affirme avoir surmonté les problèmes d'instabilité de l'ARN dans les milieux aquatiques et les processus de production d'aliments pour animaux, ainsi que la dégradation dans le système digestif. Les derniers rapports suggèrent que l'entreprise prévoit un lancement commercial en 2021.⁵¹

Bayer développe un produit BioDirect conçu comme additif alimentaire pour les abeilles mellifères pour cibler et tuer le varroa. En 2019, Bayer indiquait cependant que le succès de ce produit était limité, même associé aux traitements actuels contre les acariens.⁵² Bayer possède également Beelogsics, une société qui développe des produits alimentaires à base d'ARNi ciblant le pathogène viral IAPV, un virus qui s'attaque aux abeilles. Les produits de Beelogsics ont été testés aux États-Unis en 2010⁵³. Cependant, depuis l'acquisition de Beelogsics par Bayer en 2012, le statut actuel de ce produit n'est pas clair.

Risques, craintes et connaissances lacunaires

Nos connaissances et de notre capacité à prédire ou à contrôler les résultats de cette nouvelle technologie sont extrêmement limitées et ce dans divers domaines. A l'heure actuelle nous ne comprenons pas complètement les voies de l'ARNi qui sont bien plus complexes que la théorie simpliste et linéaire exploitée par les développeurs. Les chercheurs ont déjà identifié toute une série d'impacts hors cible, aussi bien au sein du génome de l'organisme ciblé qu'au niveau d'organismes non ciblés. Des études démontrent que les conséquences accidentelles des pesticides ARNi pourraient notamment tuer des insectes bénéfiques ou créer des risques pour la santé des personnes qui consomment des aliments ou qui sont exposées à la dérive des épandages de pesticides ARNi.

Tab. 3 : Pesticides silenceurs de gènes

COMMENT ÇA FONCTIONNE ?

Les ARN interférents modifient les organismes à mi-vie. Ils peuvent tuer des ravageurs ou d'autres insectes en réduisant au silence des gènes nécessaires pour la survie.



La technologie est imprécise. Le silençage accidentel de gènes peut arriver dans le génome de la cible comme dans des organismes non-cibles. Des effets génétiques imprévus pourraient être hérités et persister dans l'environnement pendant des générations.



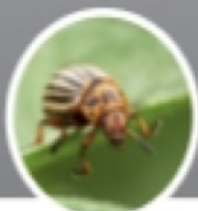
Les entreprises qui développent des pesticides ARNi revendiquent des brevets qui leur donnent la propriété sur les organismes exposés. C'est une expansion massive des droits de propriété sur la nature et une menace pour les droits des agriculteurs.



Nos connaissances trop lacunaires du génome, des organismes et des écosystèmes, nous empêchent de comprendre et évaluer correctement les impacts potentiels des pesticides ARNi.



Agriculteurs et communautés rurales peuvent être exposés aux ARNi lors de la dérive des pulvérisations. Les risques pour la santé par inhalation sont totalement inconnus.



Comment ça marche? Appliqués à une culture, les pesticides ARNi peuvent tuer les ravageurs soit par contact direct, soit lorsque les ravageurs mangent la plante traitée en surface, ou lorsque le pesticide est absorbé par la plante ensuite mangée.



Les pesticides ARNi peuvent contaminer les champs voisins et les écosystèmes où il existe une grande diversité génétique d'organismes.

Tout organisme exposé dont la séquence génétique est identique ou similaire peut potentiellement être modifié génétiquement et tué, y compris les insectes utiles.



Crainces environnementales

Expérimentation génétique en plein air

Les pesticides ARNi sont une technique de modification génétique en plein champ.² Il est difficile, voire impossible de contrôler l'exposition lorsque les organismes sont modifiés génétiquement en plein air. Des agroécosystèmes entiers pourraient s'en voir affectés, avec comme conséquences que des impacts génétiques non intentionnels puissent être hérités par les plantes et les insectes et persister dans l'environnement pendant des générations. Les risques potentiels sont amplifiés en milieu ouvert, où il existe une grande diversité génétique d'organismes et où les conditions écologiques peuvent affecter l'expression génétique de manière inconnue. En fait, la majorité des organismes potentiellement exposés sont inconnus, y compris les bactéries et les protistes bénéfiques omniprésents.⁵⁴

Silençage accidentel de gènes

Les technologies ARNi sont largement connues pour leur activité hors cible, c'est-à-dire la réduction au silence non intentionnelle de gènes qui n'étaient justement pas censés être réduits au silence.⁵⁵ Cela n'est pas surprenant : les ARN interférents sont des molécules courtes qui ne ciblent qu'une courte séquence d'un gène. Ces courtes séquences peuvent exister dans plusieurs régions du génome d'un organisme. Elles peuvent également se retrouver dans des espèces apparentées, ce qui augmente la probabilité que des séquences de gènes qui n'étaient pas censées être affectées, que ce soit dans les organismes destinataires ou dans des organismes non ciblés, soient affectées de manière significative.

Effets sur les organismes non ciblés, y compris les abeilles et les coléoptères

Il n'est pas nécessaire que les ARN interférents soient totalement complémentaires pour se lier à une séquence cible. Un insecte bénéfique, un pollinisateur par exemple, peut partager un gène avec un ravageur cible. Même si les gènes du

ravageur et du pollinisateur ne sont pas identiques, un ARN interférent ciblant un gène du ravageur peut quand même se lier à un gène du pollinisateur et le réduire au silence. Des études montrent que les effets hors cible peuvent aller au-delà des espèces étroitement liées qui partagent une similarité de séquence pour un gène cible, ce qui réduit encore plus notre capacité à prédire quels organismes non ciblés peuvent être sensibles à un pesticide ARNi donné.^{56,57}

Même si les pesticides ARNi étaient suffisamment précis pour réduire au silence uniquement les séquences génétiques visées, il y a potentiellement des milliers d'espèces différentes dans un milieu donné qui possèdent les mêmes séquences dans leurs génomes et dont les gènes pourraient ainsi être réduits au silence. De plus, on ne connaît pas les génomes de nombreux insectes. Les scientifiques ne peuvent donc pas prédire si leurs gènes correspondront à une cible d'ARN. En 2014, un groupe consultatif scientifique convoqué par l'Agence états-unienne de Protection de l'Environnement concluait que *"les lacunes dans les connaissances rendent difficile la prédiction"* des problèmes qui pourraient survenir chez les espèces non ciblées.⁵⁸

Abeilles

Une méta-analyse a montré que les ARN interférents pouvaient directement affecter les abeilles mellifères.⁵⁹ Les auteurs ont analysé 24 études sur les ARN interférents ciblant un large éventail d'organismes, y compris des parasites urbains, des pathogènes et des ravageurs agricoles. Ils ont constaté que 101 ARN interférents pouvaient se lier à des séquences du génome de l'abeille. Chacun de ces 101 ARN interférents, s'il était libéré dans l'environnement, pourrait potentiellement activer une réponse ARNi chez l'abeille, perturbant ainsi l'activité de ses gènes et ce, avec des conséquences imprévisibles.

Une autre étude sur les colonies d'abeilles montre combien il est important de comprendre le taux de dégradation des ARN interférents ainsi que leur persistance et leur déplacement dans les écosystèmes - connaissances qui font généralement défaut. L'étude de 2019 a mis en

évidence l'absorption et l'échange d'ARN interférents au sein des colonies d'abeilles. Publiée par des laboratoires universitaires basés au Royaume-Uni et en Israël, cette étude a démontré que des ARN interférents étaient absorbés par les abeilles ouvrières, transférés ensuite horizontalement à la gelée qui sert d'aliment et ainsi transmis aux abeilles individuelles et partagés à travers les générations.⁶⁰ Cette propagation horizontale d'ARN interférents à travers les populations et les générations met en évidence la persistance et la propagation potentielles des ARN interférents. Pourtant, les recherches actuelles se limitent essentiellement à comprendre les rôles fonctionnels des ARN interférents dans les organismes et les populations.

Coléoptères

Les cultures génétiquement modifiées conçues pour produire leurs propres ARN interférents illustrent la toxicité que peuvent avoir les ARNi sur des organismes non ciblés. Une étude sur une variété de maïs génétiquement modifiée par ARNi conçue pour tuer la chrysomèle occidentale des racines du maïs (par Bayer/Monsanto) a révélé que des espèces de coléoptères non ciblées étaient également tuées.²³ Cela s'est produit alors que les gènes des coléoptères non ciblées n'étaient identiques qu'à 79-83 % à ceux du ravageur ciblé. Cela montre le manque de précision dans la capacité des technologies ARNi à modifier uniquement le gène cible d'un organisme cible, ce qui contredit les affirmations des développeurs.^{61,62}

Pesticides : cercle vicieux sans fin

Comme pour les autres pesticides, tout indique que les organismes ciblés (ravageurs, adventices, etc...) développeront rapidement une résistance aux pesticides ARNi. C'est ce qui s'est produit avec d'autres stratégies transgéniques à ce jour, comme les cultures OGM tolérantes aux insecticides et aux herbicides. La tolérance généralisée des mauvaises herbes au glyphosate et la résistance des insectes aux toxines Bt rendent de plus en plus inefficaces certaines variétés de cultures GM.⁶³ Des scientifiques ont déjà documenté des cas de résistance du virus

de la tache annulaire de la papaye à une variété de papaye génétiquement modifiée commercialisée dans le sud de la Chine qui utilise la voie de l'ARNi.⁶⁴ Cette résistance a été documentée en 2012, juste six ans après la commercialisation de la variété. Les chercheurs supposent qu'une nouvelle lignée virale a évolué en réponse au mécanisme ARNi.



Ce type de résistance n'a rien de surprenant. L'ARNi est un des principaux mécanisme de défense contre les virus et c'est pour cela que ces derniers ont développé des méthodes pour contrer l'ARNi en inhibant pratiquement toutes les étapes de la voie. Il en résulte ce qui a été décrit comme une *"course complexe aux armements de défense, contre-défense et contre-contre-défense entre l'hôte et le pathogène"*.⁶⁵ On peut donc s'attendre à ce que l'utilisation de pesticides ARNi ne fasse que renforcer le *"cercle vicieux des pesticides"* qui caractérise l'agriculture industrielle, et qu'il faille dévelop-

per de nouveaux ARN interférents pour remplacer les versions plus anciennes devenues inefficaces. Ce développement de la résistance pourrait servir à sélectionner des organismes cibles et non cibles qui ne possèdent pas un système ARNi complètement fonctionnel et les rendre ainsi moins aptes à utiliser leurs propres défenses naturelles contre les agents pathogènes.

Craintes pour la santé humaine

Inhalation d'ARN interférents synthétiques

Agriculteurs, travailleurs agricoles et communautés rurales peuvent être exposés aux ARN interférents synthétiques par le biais des dérivés d'épandage. Par contre les risques liés à l'exposition par inhalation sont totalement inconnus. C'est une lacune grave et importante dans nos connaissances qu'il s'agit absolument de combler.

Modification de la composition génétique des cultures

Une des conséquences de l'exposition aux pesticides ARNi pourrait être le silençage accidentel de gènes dans les cultures ciblées. A ce jour, il a été mis en évidence qu'en perturbant l'activité des gènes et donc la production de protéines, les processus de génie génétique modifient les niveaux de composés présents naturellement dans une plante. Une récente étude qui portait sur le profil moléculaire du maïs "Roundup Ready" tolérant au glyphosate a révélé par exemple que l'activité de certains gènes augmentait, ce qui entraînait une production accrue de certains composés que l'on associe à une toxicité pour les humains dans certains contextes.⁶⁶

Consommation alimentaire d'ARN interférents synthétiques

Des études récentes sur les ARN interférents naturels présents dans notre alimentation soulèvent des questions de sécurité alimentaire relatives à l'introduction d'ARN interférents

synthétiques dans notre système alimentaire. Il est nécessaire de mener des recherches supplémentaires pour comprendre pleinement les implications que peut avoir la consommation d'ARN interférents synthétiques sur notre sécurité alimentaire.

Certaines recherches préliminaires suggèrent que les ARN interférents naturellement présents dans notre alimentation jouent un rôle dans la régulation des conditions physiologiques ou pathologiques de notre corps. Il est donc tout à fait possible que les produits à base d'ARNi synthétique interfèrent également avec la régulation des gènes humains, ce qui aurait des conséquences inattendues sur notre santé.

Et même si certains concepteurs de produits ARNi prétendent que les ARN interférents sont décomposés au cours de la digestion chez les mammifères, éliminant ainsi tout risque d'effets toxiques potentiels⁶⁷, des études suggèrent le contraire. Une étude a détecté l'absorption sélective de nombreux ARN interférents du riz dans différentes espèces de mammifères, où ils ont été trouvés circulant dans le sérum sanguin de l'humain, de la souris, du veau, du rat, du cheval et du mouton.⁵ Lorsque les scientifiques approfondirent leurs recherches sur des souris de laboratoire, ils constatèrent que l'un des ARN interférents réduisait au silence un gène du foie impliqué dans le métabolisme du cholestérol, ce qui les mena à se demander si les ARN interférents étaient importants au niveau fonctionnel. Une autre étude a montré que non seulement les ARN interférents survivent à la digestion des mammifères, mais qu'ils peuvent aussi réguler des gènes chez les mammifères.⁶⁸ D'autres études ont depuis confirmé la présence d'ARN interférents naturels chez l'humain, provenant notamment du riz, du maïs, de l'orge, de la tomate, du soja, du blé, du chou, du raisin et de la carotte.⁶⁹ D'autres recherches sont nécessaires pour comprendre les implications de la consommation d'ARN interférents.

Tirer les leçons de la recherche médicale sur les ARN interférents

La recherche sur les utilisations thérapeutiques des ARN interférents a été ralentie lorsqu'il fut observé qu'ils peuvent provoquer une réaction

immunitaire dans l'organisme, en déclenchant une réponse inflammatoire indésirable.⁷⁰ On pense qu'il s'agit d'un mécanisme cellulaire naturel qui permet aux organismes de détecter et combattre les pathogènes étrangers. Mais l'effet immunostimulant peut produire des effets toxiques indésirables, comme la réduction des niveaux de globules blancs chez les mammifères.⁷¹ De tels effets dépassent les seuls risques pour la santé humaine. Comme l'a noté l'Agence états-unienne de Protection de l'Environnement, on ne sait pas comment l'immunostimulation pourrait affecter les organismes non ciblés ou les réseaux alimentaires plus larges.²⁴

Craines socio-économiques

Les pesticides ARNi inquiètent aussi sur le plan socio-économique. En effet les sociétés de biotechnologie déposent des brevets sur les produits pesticides ARNi qui revendiquent aussi le droits de propriété sur les organismes exposés et leur descendance,⁷² que l'exposition ait été intentionnelle ou non.³ Comme l'explique Heinemann, ces brevets rendraient les propriétaires des traitements par ARNi aussi propriétaires des organismes exposés, "y compris potentiellement des champs entiers de cultures conventionnelles ou des arbres à longue durée de vie et leurs graines qui n'ont jamais été modifiés par l'insertion d'ADN".³ Cela constituerait une expansion massive des droits de propriété sur la nature, renforçant encore plus le pouvoir des entreprises de biotechnologie sur le système alimentaire et sur le monde naturel lui-même.

Si les pesticides ARNi dérivent et contaminent des cultures non traitées et non ciblées, la responsabilité de cette pollution génétique incombera probablement aux agriculteurs, comme nous l'avons vu avec la contamination génétique par des cultures génétiquement modifiées.^{73,74} Il y a vraiment matière à s'inquiéter face au développement des produits ARNi et la façon dont de tels abus de pouvoir peuvent se répéter et menacer les moyens de subsistance des futurs agriculteurs ainsi que les systèmes agricoles agroécologiques qui pourraient ne pas pouvoir coexister avec les systèmes de pesticides ARNi.

Craines liées aux nanoparticules

Les développeurs de pesticides ARNi affirment que les ARN interférents se dégradent rapidement dans l'environnement, limitant ainsi l'exposition humaine ou environnementale.⁷⁵ C'est pourquoi ils travaillent activement sur des méthodes pour augmenter la stabilité des produits d'épandages à ARNi afin qu'ils puissent remplir la fonction de pesticide pour laquelle ils ont été conçus. Les méthodes en cours de développement comprennent l'utilisation de nanoparticules, car il a été démontré que certaines d'entre elles augmentent la stabilité de l'ARN interférent dans l'environnement de 5 à 30 jours et qu'elles l'empêchent d'être lessivé des feuilles.⁷⁶

Cette situation soulève des inquiétudes tant sur le plan sanitaire qu'écologique. Certaines nanoparticules se sont révélées toxiques pour les cellules, déclenchant notamment des réactions immunitaires et la mort cellulaire dans des cellules de mammifères lors d'expériences en laboratoire.⁷⁷ Dans les plantes, il a été démontré qu'elles endommagent l'ADN, réduisent la teneur en éléments nutritifs et sont toxiques pour la santé.

Ces risques importants ont incité les scientifiques à demander des évaluations de la sécurité avant que les nanoparticules ne soient utilisées sur les cultures.⁷⁹ Les études évaluant les effets des nanoparticules sur l'environnement ont montré que celles-ci peuvent avoir des effets négatifs sur la santé humaine.

Les études évaluant les risques environnementaux des nanoparticules restent limitées, bien que les recherches indiquent que les nanoparticules peuvent persister dans les eaux de surface, les eaux souterraines et les sols.⁴² L'utilisation de produits nanoagrochimiques a donc été décrite comme une "source intentionnelle de nanoparticules manufacturées dans l'environnement" qui peut contaminer les sources d'eau et les produits alimentaires.⁸⁰

En plus de ces préoccupations, des produits ARN interférents plus stables peuvent conduire à une utilisation sur de plus grandes surfaces et, par conséquent, peuvent augmenter l'exposition environnementale des organismes cibles et non cibles.^{2,41} Cependant, même si elles sont

"instables", les formulations pourraient être appliquées si fréquemment que la stabilité n'est pas le problème.

Lacunes dans les connaissances

Nos connaissances présentent de nombreuses et profondes lacunes, ce qui limite notre capacité à évaluer correctement les impacts potentiels des pesticides ARNi. Il est difficile de catégoriser ces lacunes, car il existe des niveaux de complexité imbriqués, du génome à l'organisme et à l'écosystème. Nous sommes actuellement dans l'incapacité de répondre à des questions fondamentales comme quelles sont les espèces et les séquences de leur génome susceptibles d'être exposées ou quel est le degré de similitude entre les génomes des organismes non ciblés et ceux des organismes ciblés.



Dans l'idéal, nous devrions pouvoir modéliser les effets potentiels. Des facteurs comme les retards potentiels dans l'activation de la voie de l'ARNi à l'intérieur d'un organisme et la possibilité de transmettre la modification aux générations futures rendent encore plus difficile l'analyse.² En outre, de nombreux gènes ne sont pas exprimés tout le temps et leur expression dépend du contexte écologique. A ce jour, les recherches menées sur les mécanismes de l'ARNi l'ont été principalement sur des organismes modèles, et non sur la diversité des espèces qui existent dans la nature, ce qui limite

sérieusement notre compréhension sur la façon dont certaines espèces pourraient réagir à l'exposition à des pesticides ARNi.

Un certain nombre de facteurs ajoutent encore à la complexité de ces problèmes. Certains ARN interférents par exemple ont des centaines de cibles d'ADN, sans qu'il soit nécessaire qu'elles aient exactement la même séquence pour être réduites au silence. De plus, une fois que la voie de l'ARNi est activée dans un organisme par l'exposition à un ARN interférent, il existe divers processus supplémentaires qui accroissent son effet dans le temps et l'espace. Chez certaines espèces (par exemple, les nématodes), il peut se produire une amplification de l'ARN interférent via la production de nouveaux ARN interférents "*secondaires*".³³ Cela peut générer un pool d'ARN interférents de tailles différentes et potentiellement augmenter des effets imprévisibles dans l'expression des gènes. Enfin, la liaison hors cible à des gènes non ciblés est également influencée par des facteurs indépendants de la séquence, comme la structure et les propriétés biochimiques des ARN interférents, qui sont propres à chaque ARN interférent.⁸² Tous ces facteurs, pris individuellement ou conjointement, mettent sérieusement à l'épreuve notre capacité de prédire avec précision l'activité hors cible.

Nos connaissances sur le nombre d'organismes susceptibles d'absorber les ARN interférents au niveau d'un écosystème, souffrent actuellement d'énormes lacunes. Selon la forme d'administration, des plantes autres que la culture ciblée peuvent absorber les ARN interférents par le biais de la formulation (qui, dans certains cas, peut être aussi simple que de l'eau). Et certains organismes autres que ceux qui sont ciblés sont capables d'absorber facilement l'ARN interférent par contact direct, comme les nématodes et les arthropodes, alors que d'autres espèces semblent résistantes aux effets externes de l'ARNi.¹⁶ Qui plus est, le niveau de concentration des ARN interférents dans un produit nécessaire pour une modification peut également varier selon les espèces et les ARN individuels, ce qui complique encore l'évaluation de l'exposition et des risques.



Réponses aux fausses affirmations de l'industrie

Les entreprises de biotechnologie et d'agrochimie qui développent des produits de silençage génétique établissent de fausses distinctions entre l'ARNi et d'autres technologies de génie génétique et minimisent les risques potentiels afin d'éviter toute réglementation et de parvenir à une commercialisation rapide des produits ARNi.

Les effets des pesticides ARNi ne sont pas "transitoires" et peuvent parfois être transmis d'une génération à l'autre

Les développeurs prétendent que les pesticides ARNi ne sont pas une forme de génie génétique, mais plutôt une *"modification génétique transitoire"*. Cette distinction a pour but d'éviter qu'ils ne soient réglementés et que l'opinion ne les rejette comme sont rejetés les produits agricoles génétiquement modifiés. Pour les partisans de ces pesticides si une modification n'est pas héritée, c'est-à-dire transmise aux générations futures, elle n'entre pas dans la définition d'un OGM. Cette affirmation repose sur un principe central : les effets des technologies ARNi sur les organismes sont *"transitoires"*, c'est-à-dire temporaires. Pourtant, notre compréhension de

l'hérédité épigénétique ainsi que les recherches récentes sur l'héritabilité des altérations de l'ARNi démentent cette affirmation. Qui plus est, certaines demandes de brevet déposés par l'industrie pour des produits ARNi revendiquaient l'héritabilité, ce qui laisserait entendre que certains développeurs comprennent que la technologie peut avoir des effets héréditaires et durables.³

Les nouvelles connaissances sur l'épigénétique démontrent l'héritage d'informations qui ne sont pas codées dans la séquence d'ADN. L'ARNi est l'un des principaux mécanismes de cette transmission épigénétique. Il a été démontré que l'activité de l'ARNi induit des effets héréditaires qui durent jusqu'à 80 générations.^{3,83} Une recension menée par Heinemann (2019) résume les différents mécanismes par lesquels les ARN interférents peuvent entraîner des altérations héréditaires dans les organismes.³ Les effets héréditaires peuvent être causés par l'induction de changements épigénétiques comme le marquage chimique de l'ADN et de ses protéines associées (modifications de l'ADN ou des histones), qui sert à activer ou à désactiver un gène. En outre, les ARN interférents peuvent être hérités par l'intermédiaire de leur amplification. Par exemple, de nombreuses copies

d'ARN interférents sont générées à l'intérieur d'un organisme à la suite de l'activation de la voie ARNi ou par la production de nouveaux ARN interférents secondaires à la suite de l'activation de l'ARNi, et peuvent être ensuite transmises à la descendance. Qui plus est, des effets durables pourraient également se produire dans des organismes à longue vie comme les arbres, lorsque l'amplification de l'ARN interférent se produit.



Les ARN interférents peuvent également provoquer des modifications directes de l'ADN dans certains organismes par l'intermédiaire de trois mécanismes différents : délétions, réarrangements chromosomiques et modification de nucléotides individuels. Heinemann (2019) souligne également que la concurrence entre les ARN interférents introduits dans un organisme et les ARN interférents endogènes peut entraîner un déséquilibre des niveaux naturels de molécules d'ARN interférents.³ Cette concurrence entre les ARN interférents au sein d'un

organisme peut donc interférer avec sa capacité naturelle à réguler étroitement l'activité des gènes. Cela pourrait à son tour avoir des effets négatifs sur un organisme, que ce soit le silençage non désiré de gènes qui pourraient également être transmis aux générations futures, ou l'absence de silençage de gènes qui devraient être réduits au silence.

La constatation d'effets à long terme suggère que les organismes exposés aux ARN interférents synthétiques devraient être définis et donc réglementés comme organismes génétiquement modifiés. Et même si les effets sont transitoires, un organisme exposé et modifié par un épandage d'ARNi devrait toujours entrer dans la définition d'organisme "*modifié*" et "*vivant*" au sens du protocole de Carthagène sur la prévention des risques biotechnologiques.^{84,85}

Les pesticides ARNi ne sont pas "naturels"

Les concepteurs décrivent leurs pesticides ARNi comme étant "*écologiques*" et "*naturels*" parce que l'ingrédient actif, l'ARN interférent, est une forme de matériel génétique qui existe dans tous les organismes. Cependant, aucun fondement scientifique ne permet de mettre sur un pied d'égalité la sécurité des ARN interférents naturels dans les aliments avec celle des nouveaux ARN interférents produits synthétiquement. De même, ce n'est pas parce que des protéines sont consommées dans les aliments, que toutes les protéines sont sans danger pour la santé humaine. En fait, les insectes consomment aussi quotidiennement des ARN interférents d'origine naturelle qui sont présents dans les plantes, les animaux ou les champignons qui constituent leur régime alimentaire naturel. Pourtant, des ARN interférents synthétiques sont développés pour fonctionner comme insecticides. Il est clair que comme pour les protéines, la sécurité de la consommation dépend clairement des ARN interférents pris individuellement. En outre, les développeurs peuvent ajouter des produits chimiques, des nanoparticules et d'autres matériaux synthétiques aux produits ARNi pour améliorer leur fonction - par exemple, pour les rendre plus résistants à la dégradation. Ils devraient donc être évalués au cas par cas et ne pas être

simplement considérés comme équivalents à leurs homologues naturels.

Les pesticides ARNi ne sont pas "précis"

Les développeurs prétendent que les pesticides ARNi peuvent fournir une approche plus ciblée que les pesticides chimiques, car grâce aux ARN interférents ils peuvent cibler les gènes

d'une manière spécifique à la séquence. Comme expliqué en détail plus haut, les données actuelles démontrent que ces hypothèses ont une base scientifique limitée et sont fausses pour certains organismes. Notre compréhension scientifique des mécanismes sous-jacents de la voie de l'ARNi souffre d'importantes lacunes et les recherches scientifiques suggèrent une série d'effets potentiels non intentionnels, du génome à l'écosystème en passant par l'organisme.

Encadré 2 : autres applications des technologies à ARNi - cultures et insectes

Bien que le présent rapport se concentre sur les pesticides ARNi, qui sont appliqués par voie topique, il est important de comprendre que certaines entreprises ont déjà utilisé la technologie ARNi pour développer des insectes génétiquement modifiés, des moustiques par exemple, ainsi que des cultures, comme la pomme de terre Innate® et la pomme Arctic®. Ces cultures ARNi sont réglementées dans le cadre réglementaire existant en matière d'OGM, bien que soient régulièrement soulevées des préoccupations quant à la nécessité d'améliorer les réglementations afin de tenir compte des risques nouveaux et spécifiques que comportent ces produits et applications à base d'ARNi.⁸⁶

Cultures ARNi

La tomate Flavr Savr commercialisée en 1994 fut la première culture génétiquement modifiée. On utilisa une forme de silençage génique à base d'ARN avant que l'on ne comprenne comment activer la voie de l'ARNi.⁸⁷

Plus récemment ont été commercialisés du maïs, des pommes de terre, des pommes, du soja et des papayes utilisant des mécanismes ARNi. Le SmartStax Pro (MON87411) de Monsanto et Dow Agrosience est une lignée de maïs génétiquement modifié qui fut autorisée par l'Agence états-unienne de Protection de l'Environnement en 2017 et approuvée pour la commercialisation dans plusieurs pays.⁸⁸ Afin de tuer la chrysome du maïs, le SmartStax Pro code des instructions dans l'ADN du maïs qui fabrique ainsi un ARN interférent qui perturbe un gène essentiel de ce

ravageur.

La pomme de terre Innate® de JR Simplot (SPS-ØØE12-8 (E12)) a été autorisée à la culture aux États-Unis en 2014 et par la suite à l'importation dans divers pays, dont la Malaisie, le Canada, le Mexique, le Japon, l'Australie et la Nouvelle-Zélande. La pomme de terre Innate contient quatre gènes codant des ARN interférents, trois ciblant les niveaux d'acrylamide pour "améliorer" la friture et le quatrième ayant pour but de contrôler le virus de la tache noire.

La pomme Arctic® a été commercialisée au Canada et aux États-Unis en 2017 et cible les niveaux de polyphénol oxydase pour empêcher le brunissement de la pomme.⁸⁹

Après avoir acquis Monsanto en 2018, Bayer a commercialisé une variété de soja génétiquement modifiée (MON87705), conçue pour modifier les profils d'acides gras. L'entreprise a déposé une demande d'exportation internationale pour cette culture.

La papaye transgénique "Rainbow" ou "Sunup", conçue par les Universités de Cornell et Hawaï pour résister au virus de la tache annulaire a été commercialisée aux États-Unis.³⁸ En Chine, l'Université agricole de Chine du Sud a également conçu et commercialisé une papaye génétiquement modifiée, appelée "Huanong No.1", résistante au virus de la tache annulaire.³⁸ Un manioc porteur du gène AMY3 (breveté par Syngenta) pour modifier la teneur en amidon et développé dans le cadre d'une collaboration en-



tre l'Institut international d'agriculture tropicale (IITA) et le Laboratoire de biotechnologie végétale de l'Ecole Polytechnique de Zurich, a également été approuvé pour des essais en plein champ au Nigéria.⁹⁰

En 2019, la startup Tropical Biosciences obtenait la licence pour une nouvelle plateforme technologique qui utilise des systèmes d'édition du génome dans le but de cibler les gènes qui codent pour des ARN interférents.⁹¹ L'objectif est de modifier l'expression des gènes dans des cultures tropicales, mais elle peut également faire l'objet d'une licence pour être utilisée pour une gamme plus large de plantes agricoles comme le café et les bananes.

La littérature scientifique a également décrit diverses autres plantes transgéniques qui utilisent la technologie ARNi, notamment celles qui ciblent des traits comme l'amélioration nutritionnelle, la tolérance au stress biotique, la tolérance au stress abiotique, l'amélioration du rendement et de la biomasse, et l'amélioration des fruits.⁹² Pour l'instant, ces plantes ne semblent pas prêtes d'être commercialisées.

Insectes ARNi

Des insectes génétiquement modifiés ont également été mis au point récemment à l'aide de la technologie ARNi. Des moustiques *Aedes*, par exemple, ont été modifiés pour exprimer des

ARN interférents qui ciblent des séquences du génome du virus Zika. Ainsi les moustiques pourraient être rendus résistants à l'infection et incapables de la transmettre à l'homme.⁹³ Ces travaux constituent également une condition préalable à l'incorporation potentielle de ce montage génétique dans une version avec "forçage de gène". Dans ce cas, les transgènes codant pour les molécules d'ARN interférent pourraient être disséminés dans les populations de moustiques de manière "super-mendélienne" (voir Simoni et al. pour un exemple de "forçage génétique")⁹⁴. En d'autres termes, le "forçage génétique" a pour but de biaiser les modèles d'hérédité naturelle de telle sorte qu'au lieu des habituels 50 % de la descendance qui héritent de la modification, on a jusqu'à 100 % qui l'héritent ce qui permet ainsi de modifier par génie génétique des populations entières.

La recherche a également pour cible des gènes des moustiques essentiels à leur survie ou la perturbation de certaines fonctions comme l'odorat et l'alimentation par le sang.⁹⁵

Une société appelée Forrest Innovations Ltd. développe une méthode de stérilisation des moustiques par traitement des larves avec ARN interférent. L'objectif est de rendre les mâles stériles, dans le but de réduire la population globale et de réduire ainsi l'incidence des maladies dont le moustique est vecteur.⁹⁶ Les techniques de stérilisation d'insectes (SIT) sont une ancienne forme de lutte contre les insectes vecteurs de maladies où les mâles sont irradiés pour les rendre stériles. Un deuxième produit que la même société est en train de développer est l'utilisation de traitements par ARN interférent pour inverser la résistance aux pesticides dans les populations de moustiques. Il serait procédé aux traitements en laboratoire et les insectes modifiés seraient ensuite relâchés dans l'environnement. Il semble que l'entreprise ait encore à fournir des preuves de principe démontrant qu'elle peut effectivement induire la stérilité. Toutefois, en 2016, des chercheurs de cette société ont publié une étude indiquant que le traitement des larves permettait de maintenir une certaine sensibilité aux pesticides pyréthri-noïdes chez les adultes.⁹⁷ Mais on ne sait toujours pas quand ces produits pourront être commercialisés.



Règlementations internationales

Actuellement, les pesticides ARNi inhibiteurs de gènes et les autres nouveaux organismes à ARNi en cours de développement échappent largement aux réglementations encadrant les organismes génétiquement modifiés (OGM) et n'ont donc pas encore été réglementés dans la plupart des régions du monde. Il s'agit là d'une situation inquiétante, compte tenu des problèmes écologiques et sanitaires évoqués plus haut. La technologie des pesticides ARNi pose problème aux systèmes réglementaires qui n'ont pas été pensés à l'origine pour traiter le développement d'agents de modification génétique disséminés dans l'environnement.

Sur la base des preuves détaillées dans ce rapport, les pesticides ARNi devraient être réglementés en tant que forme de génie génétique. Il est prouvé que les processus ARNi peuvent avoir pour résultats des changements génétiques dans les organismes exposés ainsi que des traits modifiés qui peuvent être transmis à la descendance, c'est-à-dire qu'ils peuvent avoir des effets héréditaires.

Cette question a été soulevée par les délégués de l'ONU à la Convention des Nations Unies sur la diversité biologique (CDB), en particulier dans le cadre du Protocole de Carthagène sur la biosécurité (CPB). Les pesticides ARNi sont classés sous la bannière des *"techniques de biologie de synthèse"* (synbio) dont la réglementation devrait être envisagée en tant

que technologie de *"modification transitoire"*.⁹⁸ Cette approche reconnaît que ces techniques peuvent modifier génétiquement des organismes bien que le produit ne soit pas lui-même un OGM vivant, et n'entre donc pas dans le champ d'application de la réglementation actuelle de la CDB en matière d'OGM.

Dans le cadre de la Convention sur la Diversité Biologique, un organisme génétiquement modifié est défini comme *"tout organisme vivant qui possède une nouvelle combinaison de matériel génétique obtenue par l'utilisation de la biotechnologie moderne"*, et la CDB définit en outre le matériel génétique comme fonctionnant pour transmettre des caractères héréditaires à la descendance.⁴⁵ En outre, le groupe d'experts techniques spécial de la CDB sur la biologie de synthèse a reconnu *"l'interférence ARN sous forme de pulvérisations"* comme un *"développement technologique"* qui nécessitera une attention particulière de la part des délégués de l'ONU à la CDB. Les discussions futures dans le cadre de la CDB devront déterminer comment les produits pesticides ARNi (ou leurs composants) ou les organismes exposés à ces produits et ces composants peuvent être évalués, protégés et réglementés afin d'englober l'ensemble des effets intentionnels et non intentionnels de ces technologies de *"modification transitoire"* et de biologie de synthèse. (...)

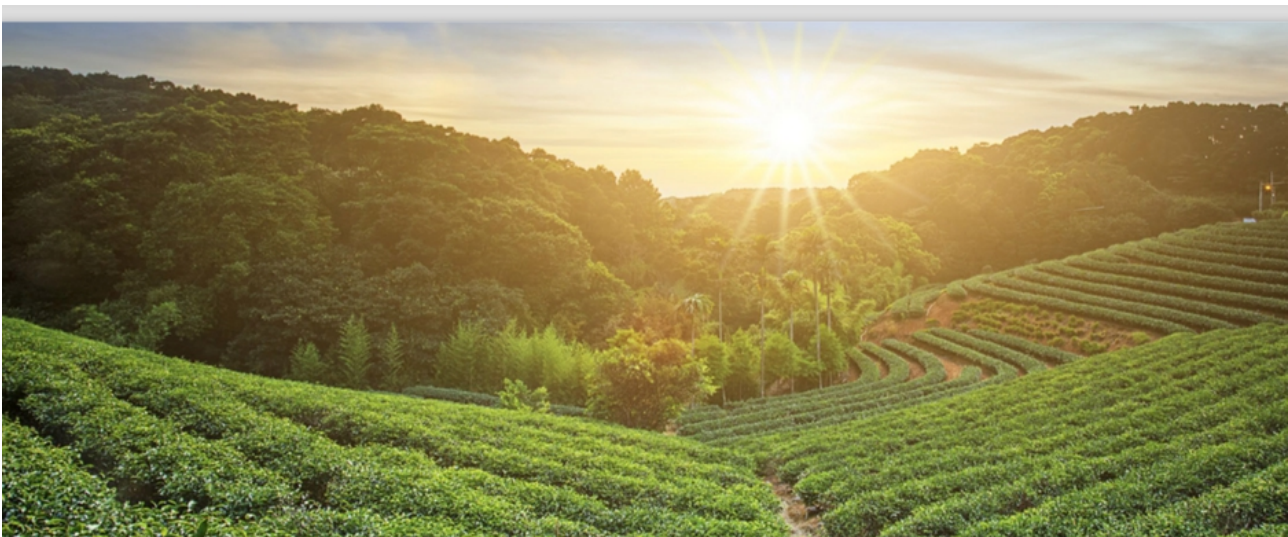
Aux États-Unis et dans l'Union Européenne, on

s'attend à ce que les pesticides ARNi soient réglementés dans le cadre des réglementations existantes sur les pesticides, mais elles sont insuffisantes pour répondre aux nouveaux problèmes de biosécurité et d'environnement que posent les pesticides et produits ARNi. Avec cette nouvelle application des biotechnologies, la nature des pesticides est en train de changer. Les réglementations sur les pesticides s'arrêtent aux ingrédients commerciaux définis d'un produit. On ne pourrait donc pas élargir l'évaluation sanitaire ou environnementale à toute modification génétique produite à l'intérieur d'un organisme à la suite d'une exposition à des ARN interférents de synthèse. Dans certains cas, de longues molécules d'ARN "précurseur" sont utilisées dans la formulation. Ces molécules précurseurs sont transformées en l'ingrédient actif final - un ARN interférent plus court - seulement une fois qu'elles se trouvent à l'intérieur d'un organisme exposé. Dans ce cas, la plupart des ARN interférents finaux qui seraient produits dans les plantes, les animaux ou les insectes ne seraient pas connus et ne seraient donc pas évalués. (...)

Etant donné le danger potentiel que représentent les produits agricoles à base d'ARNi, ils devraient en principe faire l'objet d'une surveillance réglementaire plus approfondie et qui anticipe d'avantage les problèmes. Les organismes de réglementation devraient s'appuyer sur le Principe de précaution pour guider leur action. En ce fondant sur les preuves scientifiques déjà disponibles qui signalent des dangers probables, des mesures de précaution devraient être prises dans le but de minimiser ou

éviter les menaces pour la santé humaine ou l'environnement, sans attendre des années ou des décennies pour avoir enfin une certitude scientifique totale sur les liens de cause à effet. Le principe de précaution souligne également l'importance d'évaluer pleinement des méthodes plus sûres avant d'aller de l'avant avec une nouvelle technologie risquée. Les mesures de surveillance devraient inclure une évaluation indépendante de la santé publique et de la sécurité environnementale, et les impacts à long terme devraient être évalués avant que les produits ne soient mis sur le marché ou disséminés dans l'environnement. Etant donné que les impacts seront supportés par la société dans son ensemble, des facteurs sociétaux devraient également faire partie - parallèlement à l'évaluation scientifique - des processus de décisions concernant les pesticides ARNi et l'utilisation du génie génétique dans l'agriculture.¹⁰² De même, les conséquences socio-économiques découlant de l'expansion massive des brevets d'entreprise et des droits de propriété sur la nature qu'entraîne cette technologie doivent être partie intégrante dans la prise de décision avant que les produits ne soient commercialisés.

Compte tenu des risques potentiels et de connaissances plus que lacunaires sur les pesticides ARNi, il est impératif que la société civile, les agriculteurs et les scientifiques concernés fassent pression pour obtenir des réglementations strictes et des évaluations des risques appropriées avant que cette technologie ne soit commercialisée.



Conclusion

Est-il possible d'être plus présomptueux que de prétendre pouvoir diffuser en toute sécurité des agents conçus pour induire des modifications génétiques d'organismes dans l'environnement, sans pour autant provoquer de conséquences inattendues ? En développant des pesticides ARNi inhibiteurs de gènes, nous sommes comme l'apprenti sorcier, avec le peu de connaissances nécessaires pour mettre les choses en mouvement, mais sans savoir comment contrôler le résultat. Cette technologie représente à la fois une énième béquille pour tenter de pallier l'échec du vieux paradigme de l'agriculture intensive basée sur les pesticides, mais aussi un ensemble totalement nouveau d'effets néfastes potentiels.



L'industrie des pesticides présente les pesticides ARNi comme une solution à un problème qu'el-

le a elle-même créé : l'émergence et la résistance des mauvaises herbes et des ravageurs. Depuis l'introduction généralisée des pesticides synthétiques après la Seconde Guerre mondiale, plus de 540 espèces d'insectes et plus de 360 espèces de mauvaises herbes ont développé une tolérance aux pesticides couramment utilisés.¹⁰³ Malgré l'augmentation astronomique et coûteuse de l'utilisation des pesticides, certaines analyses montrent que les agriculteurs perdent aujourd'hui une part plus importante de leurs récoltes à cause des ravageurs que dans les années 1940.^{104,105}

Plutôt que de poursuivre dans ce cercle vicieux des pesticides qui fait que les agriculteurs utilisent de nouvelles formulations de pesticides toxiques pour lutter contre les parasites devenus tolérants aux anciens, les méthodes d'agriculture écologique offrent une véritable alternative.¹⁰⁶

De plus en plus d'études scientifiques montrent que les agriculteurs qui utilisent des méthodes écologiques de lutte contre les parasites au lieu de pesticides peuvent égaler ou même dépasser leurs homologues conventionnels en termes de rendement et de bénéfices.^{107,108,109,110} Les techniques agricoles écologiques créent des sols sains qui confèrent aux plantes une plus grande immunité contre les parasites et augmentent la biodiversité dans les systèmes agricoles afin de perturber la croissance des parasites et de favoriser l'apparition de prédateurs naturels. Ces techniques comprennent la rotation des cultures, les cultures de couverture, le compostage, la réduction du travail du sol et la plantation d'habitats pour les insectes utiles.

Au cours de la dernière décennie, une série de rapports consensuels d'experts ont appelé à un passage rapide de l'agriculture industrielle intensive en intrants à des méthodes agricoles agroécologiques.^{111,112,113,114} Le maintien du statu quo n'est pas une option. Notre capacité à continuer à nous nourrir et à nourrir les générations futures est en jeu.

Sources :

- 1 FAO (2015). *Natural Capital Impacts in Agriculture: Supporting Better Business Decision-Making*. U.N. FAO: Rome, Italy.
- 2 Heinemann, J. and Walker, S. (2019). Environmentally Applied Nucleic Acids and Proteins for Purposes of Engineering Changes to Genes and Other Genetic Material. Biosafety and Health, <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2019.09.003>
- 3 Heinemann J. A. (2019). Should dsRNA treatments applied in outdoor environments be regulated? Environment international, 132, 104856. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.050>
- 4 Jackson, A. L., Bartz, S. R., Schelter, J., Kobayashi, S. V., Burchard, J., Mao, M., Li, B., Cavet, G., & Linsley, P. S. (2003). Expression profiling reveals off-target gene regulation by RNAi. Nature biotechnology, 21(6), 635–637. <https://doi.org/10.1038/nbt831>
- 5 Baum, J. A., Bogaert, T., Clinton, W., Heck, G. R., Feldmann, P., Ilagan, O., Johnson, S., Plaetinck, G., Munyikwa, T., Pleau, M., Vaughn, T., & Roberts, J. (2007). Control of coleopteran insect pests through RNA interference. Nature biotechnology, 25(11), 1322–1326. <https://doi.org/10.1038/nbt1359>
- 6 Qiu, S., Adema, C. M., & Lane, T. (2005). A computational study of off-target effects of RNA interference. Nucleic acids research, 33(6), 1834–1847. <https://doi.org/10.1093/nar/gki324>
- 7 Baum, J. A., Bogaert, T., Clinton, W., Heck, G. R., Feldmann, P., Ilagan, O., Johnson, S., Plaetinck, G., Munyikwa, T., Pleau, M., Vaughn, T., & Roberts, J. (2007). Control of coleopteran insect pests through RNA interference. Nature biotechnology, 25(11), 1322–1326. <https://doi.org/10.1038/nbt1359>
- 8 Mogren, C. L., & Lundgren, J. G. (2017). In silico identification of off-target pesticidal dsRNA binding in honey bees (*Apis mellifera*). PeerJ, 5, e4131. <https://doi.org/10.7717/peerj.4131>
- 9 International Herbicide-resistant Weed Database. <http://www.weedscience.org/Home.aspx>
- 10 Wu, Z., Mo, C., Zhang, S., & Li, H. (2018). Characterization of Papaya ringspot virus isolates infecting transgenic papaya 'Huanong No.1' in South China. Scientific reports, 8(1), 8206. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26596-x>
- 11 Mesnage, R., Agapito-Tenfen, S. Z., Vilperte, V., Renney, G., Ward, M., Séralini, G. E., Nodari, R. O., & Antoniou, M. N. (2016). An integrated multi-omics analysis of the NK603 Roundup-tolerant GM maize reveals metabolism disturbances caused by the transformation process. Scientific reports, 6, 37855. <https://doi.org/10.1038/srep37855>
- 12 Zhang, L., Hou, D., Chen, X., Li, D., Zhu, L., Zhang, Y., Li, J., Bian, Z., Liang, X., Cai, X., Yin, Y., Wang, C., Zhang, T., Zhu, D., Zhang, D., Xu, J., Chen, Q., Ba, Y., Liu, J., Wang, Q., ... Zhang, C. Y. (2012). Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. Cell Research, 22(1), 107–126. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.158>
- 13 Tomé-Carneiro, J., Fernández-Alonso, N., Tomás-Zapico, C., Visioli, F., Iglesias-Gutierrez, E., & Dávalos, A. (2018). Breast milk microRNAs harsh journey towards potential effects in infant development and maturation. Lipid encapsulation can help. Pharmacological research, 132, 21–32
- 14 Meng, Z., & Lu, M. (2017). RNA Interference-Induced Innate Immunity, Off-Target Effect, or Immune Adjuvant?. Frontiers in immunology, 8, 331. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00331>
- 15 Jackson, A.L., Linsley, P.S. (2010) Recognizing and avoiding siRNA off-target effects for target identification and therapeutic application. Nature reviews. Drug discovery, 9(1), 57-67. doi: 10.1038/nrd3010. PMID: 20043028
- 16 S. Huang, A.B. Iandolo, G.J. Peel, U.S.P. Office. Methods and Compositions for Introducing Nucleic Acids into Plants. Monsanto Technology LLC, United States (2018) <http://www.freepatentsonline.com/20180163219.pdf>
- 17 Hanning, J. E., Saini, H. K., Murray, M. J., van Dongen, S., Davis, M. P., Barker, E. M., Ward, D. M., Scarpini, C. G., Enright, A. J., Pett, M. R., & Coleman, N. (2013). Lack of correlation between predicted and actual off-target effects of short-interfering RNAs targeting the human papillomavirus type 16 E7 oncogene. British journal of cancer, 108(2), 450–460. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.564>
- 18 Shelton, S. B., Reinsborough, C., & Xhemalce, B. (2016). Who Watches the Watchmen: Roles of RNA Modifications

in the RNA Interference Pathway. *PLOS Genetics*, 12(7), e1006139.

19 Csorba, T., Kontra, L., & Burgyán, J. (2015). viral silencing suppressors: Tools forged to fine-tune host-pathogen coexistence. *Virology*, 479-480, 85–103. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.028>

20 Hourri-Zeevi, L., & Rechavi, O. (2017). A Matter of Time: Small RNAs Regulate the Duration of Epigenetic Inheritance. *Trends in genetics: TIG*, 33(1), 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.11.00>

21 Ad Hoc Technical Expert Group (AHTEG) on Synthetic Biology (2019). "Report of the Ad Hoc Technical Expert Group on Synthetic Biology." CBD/SYNBIO/AHTEG/2019/1/3 7 June 2019

22 United Nations Convention on Biological Diversity (2020). Overview of work done in response to decision XIII/17. Adhoc technical expert group on synthetic biology
<https://www.cbd.int/doc/c/569d/77c1/9ff18af57c187298c981e357/synbio-ahteg-2017-01-02- en.pdf>

23 University of Nebraska-Lincoln Institute of Agriculture and Natural Resources. Weed and Insect Resistance a Growing Problem. Online. <https://cropwatch.unl.edu/weed-and-insect-resistance-growing-problem>

24 KQED. Evolution. Pesticide Library. Online. http://www.pbs.org/wgbh/evolution/library/10/1/L_101_02.html

25 Pimentel, D. and Acquay, H. et al. (1992). Environmental and economic costs of pesticide use. *BioScience*, 42(10), pp.750-760

26 Pesticide Action Network. The Pesticide Treadmill. <http://www.panna.org/gmos-pesticides-profit/pesticide-treadmill>

27 LaCanne, C.E. and Lundgren, J.G. (2018). Regenerative agriculture: merging farming and natural resource conservation profitably. *PeerJ*, 6, p. e4428

28 Catarino, R., Bretagnolle, V., Perrot, T., Vialoux, F., & Gaba, S. (2019). Bee pollination outperforms pesticides for oilseed crop production and profitability. *Proceedings. Biological sciences*, 286(1912), 20191550.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1550>

29 Heikki, M., and Hokkanen., et al. (2017). Long-term yield trends of insect-pollinated crops vary regionally and are linked to neonicotinoid use, landscape complexity and availability of pollinators. *Arthropod-Plant Interactions*. 11(3): p/ 449-461. 21 April

30 Dainese, M., Martin, E. A., Aizen, M. A., Albrecht, M., Bartomeus, I., Bommarco, R., Carvalheiro, L. G., Chaplin-Kramer, R., Gagic, V., Garibaldi, L. A., Ghazoul, J., Grab, H., Jonsson, M., Karp, D. S., Kennedy, C. M., Kleijn, D., Kremen, C., Landis, D. A., Letourneau, D. K., Marini, L., ... Steffan-Dewenter, I. (2019). A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. *Science advances*, 5(10), eaax0121.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aax0121>

31 United Nations (2009). International Assessment of Agricultural Knowledge, Science, and Technology for Development (IAASTD)

https://apps.unep.org/redirect.php?file=/publications/pmtdocuments/Agriculture_at_a_Crossroads_Global_Report.pdf

32 International Panel of Experts on Sustainable Food Systems (IPES) (2016). From Uniformity to Diversity.
http://www.ipes-food.org/images/Reports/UniformityToDiversity_FullReport.pdf

33 FAO (2015). *Natural Capital Impacts in Agriculture: Supporting Better Business Decision-Making*. U.N. FAO: Rome, Italy.

34 Heinemann, J. and Walker, S. (2019). Environmentally Applied Nucleic Acids and Proteins for Purposes of Engineering Changes to

Genes and Other Genetic Material. *Biosafety and Health*, <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2019.09.003>

35 Heinemann J. A. (2019). Should dsRNA treatments applied in outdoor environments be regulated? *Environment International*, 132, 104856. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.050>

36 Conte, D., Jr, MacNeil, L. T., Walhout, A., & Mello, C. C. (2015). RNA Interference in *Caenorhabditis elegans*. *Current Protocols in Molecular Biology*, 109, 26.3.1–26.3.30. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb2603s1>

37 Zhang, L., Hou, D., Chen, X., Li, D., Zhu, L., Zhang, Y., Li, J., Bian, Z., Liang, X., Cai, X., Yin, Y., Wang, C., Zhang, T.,

- Zhu, D., Zhang, D., Xu, J., Chen, Q., Ba, Y., Liu, J., Wang, Q., ... Zhang, C. Y. (2012). Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Research*, 22(1), 107–126. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.158>
- 38 Bramlett, M., Plaetink, G., Maienfisch, P. (2019). RNA-Based Biocontrols—A New Paradigm in Crop Protection. Engineering. In Press, <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.09.008>
- 39 Forbes (2020). RNAi-Based Pesticides Contribute To The Promise Of A New Green Revolution <https://www.forbes.com/sites/michaelhelmstetter/2020/08/06/rnai-based-pesticides-contribute-to-the-promise-of-a-new-green-revolution/#2ac397e678e7>
- 40 Wynant, N., Santos, D., & Vanden Broeck, J. (2014). Biological mechanisms determining the success of RNA interference in insects. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 312, 139–167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800178-3.00005-1>
- 41 Cagliari, D., Dias, N. P., Galdeano, D. M., Dos Santos, E. Á., Smagghe, G., & Zotti, M. J. (2019). Management of Pest Insects and Plant Diseases by Non-Transformative RNAi. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1319. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01319>
- 42 Environmental Protection Agency (2014). White Paper on RNAi Technology as a Pesticide: Problem Formulation for Human Health and Ecological Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency Office of Chemical Safety and Pollution Prevention Office of Pesticide Programs Biopesticides and Pollution Prevention Division. <http://www.thecre.com/premium/wp-content/uploads/2012/04/RNAi-White-Paper.pdf>
- 43 Shaner, D. L., & Beckie, H. J. (2014). The future for weed control and technology. *Pest Management Science*, 70(9), 1329–1339. <https://doi.org/10.1002/ps.3706>
- 44 Monsanto (2016). Topical Application of dsRNA for Pest Management. SFIREG Policy and Other Matters Meeting. <https://aapco.files.wordpress.com/2016/09/dsrna.pdf>
- 45 Agropages (2020). RNAi opens a new vista for pest control <http://news.agropages.com/News/print-36154.htm>
- 46 Farmers Guardian (2020). Species specific insecticide 'seven-10 years' away.
- 47 Agfundernews. 2019. TechAccel and Donald Danforth Center Launch RNAissance to Create Environmentally-Friendly Pesticides. <https://agfundernews.com/techaccel-and-donald-danforth-center-found-rnaissance-to-create-environmentally-friendly-pesticides.html>
- 48 Mehlhorn, S. G., Geibel, S., Bucher, G., & Nauen, R. (2020). Profiling of RNAi sensitivity after foliar dsRNA exposure in different European populations of Colorado potato beetle reveals a robust response with minor variability. *Pesticide biochemistry and physiology*, 166, 104569.
- 49 Koch, A., Biedenkopf, D., Furch, A., Weber, L., Rossbach, O., Abdellatef, E., Linicus, L., Johannsmeier, J., Jelonek, L., Goesmann, A., Cardoza, V., McMillan, J., Mentzel, T., Kogel, KH. An RNAi-Based Control of *Fusarium graminearum* Infections Through Spraying of Long dsRNAs Involves a Plant Passage and Is Controlled by the Fungal Silencing Machinery. *PLoS Pathog.* 2016 Oct 13;12(10):e1005901. doi: 10.1371/journal
- 50 Joga, M. R., Zotti, M. J., Smagghe, G., & Christiaens, O. (2016). RNAi Efficiency, Systemic Properties, and Novel Delivery Methods for Pest Insect Control: What We Know So Far. *Frontiers in physiology*, 7, 553. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00553>
- 51 prnewswire.com (2020). ViAqua Therapeutics Makes Strides in Addressing Infections in Aquaculture. <https://www.prnewswire.com/il/news-releases/viaqua-therapeutics-makes-strides-in-addressing-infections-in-aquaculture-301007307.html>
- 52 Bayer (2019). Lessons learned from developing an RNAi-based *Varroa* control product. Apondia.com (accessed March 9, 2020) https://www.apimondia.com/en/component/easyfolderlistingpro/?view=download&format=raw&data=eNpFUMtOwzAQ_JWV7yVJEaV1TzwOCAFC8AGVa28SS45teZ1QhPh3Ni9xsndmHzOjZFXJH5I7KergDCZxJFkdpDBBU6GDxbxISFduyOhQTVU nRE 6a5mSZlinKlmh4p_y-6leJ0mrCx2s-jXnU4lqUU47ObUWvE0cpyHkroosrtSN-wlmILG7hHhFwnVC63xed3FwPZvoOH4HMKDKi9 8Y-WUBESKGScre2Dte7e9b5wqaCXcdwqJJA3UKHRgc0IVofcPz8PF2Zzd3mZgUCkFBXo5FIMwvc6s6fkKXhX1Wttx8bU UeMn LL5p6SVwwL9FyiKu9in2rnJVuO_TcfZ5QdhkTDha_5uQ4Fa-yHVjx7x9n2ogG

- 53 Hunter, W., Ellis, J., Vanengelsdorp, D., Hayes, J., Westervelt, D., Glick, E., Williams, M., Sela, I., Maori, E., Pettis, J., Cox-Foster, D., & Paldi, N. (2010). Large-scale field application of RNAi technology reducing Israeli acute paralysis virus disease in honey bees (*Apis mellifera*, Hymenoptera: Apidae). *PLOS Pathogens*, 6(12), e1001160. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001160>
- 54 Heinemann J (2019). Submission file 1 to New Zealand Environmental Protection Authority on deregulation of dsRNA. DOI: [10.13140/RG.2.2.32703.05286](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.32703.05286). https://www.researchgate.net/publication/336935400_Submission_file_1_to_New_Zealand_Environmental_Protection_Authority_on_deregulation_of_dsRNA
- 55 Jackson, A. L., Bartz, S. R., Schelter, J., Kobayashi, S. V., Burchard, J., Mao, M., Li, B., Cavet, G., & Linsley, P. S. (2003). Expression profiling reveals off-target gene regulation by RNAi. *Nature biotechnology*, 21(6), 635–637. <https://doi.org/10.1038/nbt831>
- 56 Qiu, S., Adema, C. M., & Lane, T. (2005). A computational study of off-target effects of RNA interference. *Nucleic Acids Research*, 33(6), 1834–1847. <https://doi.org/10.1093/nar/gki324>
- 57 Baum, J. A., Bogaert, T., Clinton, W., Heck, G. R., Feldmann, P., Ilagan, O., Johnson, S., Plaetinck, G., Munyikwa, T., Pleau, M., Vaughn, T., & Roberts, J. (2007). Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nature Biotechnology*, 25(11), 1322–1326. <https://doi.org/10.1038/nbt1359>
- 58 EPA (2014) Report of the FIFRA SAP Meeting held on January 28, 2014 on RNAi Technology: Program Formulation for Human Health and Ecological Risk Assessment. EPA-HQ- OPP-2013-0485-0049. Available from: <https://beta.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPP-2013-0485-0049>
- 59 Mogren, C. L., & Lundgren, J. G. (2017). *In silico* identification of off-target pesticidal dsRNA binding in honey bees (*Apis mellifera*). *PeerJ*, 5, e4131. <https://doi.org/10.7717/peerj.4131>
- 60 Maori, E., Garbian, Y., Kunik, V., Mozes-Koch, R., Malka, O., Kalev, H., Sabath, N., Sela, I., & Shafir, S. (2019). A Transmissible RNA Pathway in Honey Bees. *Cell Reports*, 27(7), 1949–1959.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.04.073>
- 61 RNAissance Ag. <https://www.rnaissanceag.net>.
- 62 Syngenta. RNA-based biocontrols for crop improvement. <https://www.syngenta.com/innovation-agriculture/research-and-development/rna-based-biocontrols>
- 63 International Herbicide-resistant Weed Database. <http://www.weedscience.org/Home.aspx>
- 64 Wu, Z., Mo, C., Zhang, S., & Li, H. (2018). Characterization of Papaya ringspot virus isolates infecting transgenic papaya 'Huanong No.1' in South China. *Scientific Reports*, 8(1), 8206. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26596-x>
- 65 Csorba, T., Kontra, L., & Burgyán, J. (2015). viral silencing suppressors: Tools forged to fine-tune host-pathogen coexistence. *Virology*, 479-480, 85–103. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.028>
- 66 Mesnage, R., Agapito-Tenfen, S. Z., Vilperte, V., Renney, G., Ward, M., Séralini, G. E., Nodari, R. O., & Antoniou, M. N. (2016). An integrated multi-omics analysis of the NK603 Roundup-tolerant GM maize reveals metabolism disturbances caused by the transformation process. *Scientific Reports*, 6, 37855. <https://doi.org/10.1038/srep37855>
- 67 Dickinson, B., Zhang, Y., Petrick, J. S., Heck, G., Ivashuta, S., & Marshall, W. S. (2013). Lack of detectable oral bioavailability of plant microRNAs after feeding in mice. *Nature Biotechnology*, 31(11), 965–967. <https://doi.org/10.1038/nbt.2737>
- 68 Tomé-Carneiro, J., Fernández-Alonso, N., Tomás-Zapico, C., Visioli, F., Iglesias-Gutierrez, E., & Dávalos, A. (2018). Breast milk microRNAs harsh journey towards potential effects in infant development and maturation. Lipid encapsulation can help. *Pharmacological Research*, 132, 21–32.
- 69 Wang, K., Li, H., Yuan, Y., Etheridge, A., Zhou, Y., Huang, D., Wilmes, P., & Galas, D. (2012). The complex exogenous RNA spectra in human plasma: an interface with human gut biota? *PLOS ONE* 7(12), e51009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051009>
- 70 Meng, Z., & Lu, M. (2017). RNA Interference-Induced Innate Immunity, Off-Target Effect, or Immune Adjuvant. *Frontiers in Immunology*, 8, 331. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00331>
- 71 Jackson, A.L., Linsley, P.S. (2010). Recognizing and avoiding siRNA off-target effects for target identification and

- therapeutic application. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(1), 57-67. doi: 10.1038/nrd3010. PMID: 20043028
- 72 S. Huang, A.B. landolino, G.J. Peel, U.S.P. Office. Methods and Compositions for Introducing Nucleic Acids into Plants. Monsanto Technology LLC, United States (2018) <http://www.freepatentsonline.com/20180163219.pdf>
- 73 Cullet, P. (2005) CASE LAW ANALYSIS: *Monsanto v Schmeiser*: A Landmark Decision concerning Farmer Liability and Transgenic Contamination. *Journal of Environmental Law (2005) Vol 17 No 1*, 83–108 doi: 10.1093/envlaw/eqi004
- 74 R.A. Repp (2000). Biotech Pollution: Assessing Liability for Genetically Modified Crop Production and Genetic Drift, *Idaho Law Review (Idaho L. Rev. 585)* 36, 615
- 75 Dubelman, S., Fischer, J., Zapata, F., Huizinga, K., Jiang, C., Uffman, J., Levine, S., & Carson, D. (2014). Environmental fate of double-stranded RNA in agricultural soils. *PLOS ONE*, 9(3), e93155. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093155>
- 76 Mitter, N., Worrall, E. A., Robinson, K. E., Li, P., Jain, R. G., Taochy, C., Fletcher, S. J., Carroll, B. J., Lu, G. Q., & Xu, Z. P. (2017). Clay nanosheets for topical delivery of RNAi for sustained protection against plant viruses. *Nature plants*, 3, 16207. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.207>
- 77 De Matteis, V., (2017). Exposure to inorganic nanoparticles: routes of entry, immune response, biodistribution and in vitro/in vivo toxicity evaluation. *Toxics*, 5(4), p. 29
- 78 Tripathi, D. K., Shweta, Singh, S., Singh, S., Pandey, R., Singh, V. P., Sharma, N. C., Prasad, S. M., Dubey, N. K., & Chauhan, D. K. (2017). An overview on manufactured nanoparticles in plants: Uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity. *Plant physiology and biochemistry : PPB*, 110, 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.07.030>
- 79 Kunte, N., McGraw, E., Bell, S., Held, D., & Avila, L. A. (2020). Prospects, challenges and current status of RNAi through insect feeding. *Pest Management Science*, 76(1), 26–41. <https://doi.org/10.1002/ps.5588>
- 80 Yan, S., Ren, B., Zeng, B., & Shen, J. (2020). Improving RNAi efficiency for pest control in crop species. *BioTechniques*, 68(5), 283–290. <https://doi.org/10.2144/btn-2019-0171>
- 81 Hanning, J. E., Saini, H. K., Murray, M. J., van Dongen, S., Davis, M. P., Barker, E. M., Ward, D. M., Scarpini, C. G., Enright, A. J., Pett, M. R., & Coleman, N. (2013). Lack of correlation between predicted and actual off-target effects of short-interfering RNAs targeting the human papillomavirus type 16 E7 oncogene. *British Journal of Cancer*, 108(2), 450–460. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.564>
- 82 Shelton, S. B., Reinsborough, C., & Xhemalce, B. (2016). Who Watches the Watchmen: Roles of RNA Modifications in the RNA Interference Pathway. *PLOS Genetics*, 12(7), e1006139. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006139>
- 83 Houri-Zeevi, L., & Rechavi, O. (2017). A Matter of Time: Small RNAs Regulate the Duration of Epigenetic Inheritance. *Trends in Genetics, TIG*, 33(1), 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.11.00>
- 84 Convention for Biological Diversity (2000). Cartagena protocol on biosafety to the convention on biological diversity, Montreal, Secretariat of the Convention on Biological Diversity, ISBN: 92-807-1924-6
- 85 Mackenzie, R., F., Burhenne-Guilmin, F., La Viña, A.G.M., and Werksman, J.D. (2003). An explanatory guide to the Cartagena protocol on biosafety. Available at <http://tinyurl.com/j9pvttd>
- 86 Heinemann, J. A., Agapito-Tenfen, S. Z., & Carman, J. A. (2013). A comparative evaluation of the regulation of GM crops or products containing dsRNA and suggested improvements to risk assessments. *Environment International*, 55, 43–55. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.02.010>
- 87 Chi-Ham CL, Clark KL, Bennet AB (2010). The intellectual property landscape for gene suppression technologies in plants. *Nat Biotechnol* 28, 32–36. <https://doi.org/10.1038/nbt0110-32>
- 88 ISAAA.org. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. GM Approval Database. <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/default.asp>
- 89 53 Wikipedia (2017). Artic Apples. https://en.wikipedia.org/wiki/Arctic_Apples
- 90 IITA (2017). IITA commences confined field trials of transgenic cassava. <https://www.iita.org/news-item/commencement-confined-field-trials-transgenic-cassava/> (accessed June 12, 2020)
- 91 Synbiobeta (2019). Tropic Biosciences launches breakthrough GEiGSTM platform to combat global crop protection challenges by combining gene editing and RNAi technologies. <https://synbiobeta.com/tropic-biosciences-launches->

[breakthrough-geigs- platform/](#) (accessed June 12, 2020)

92 Kamthan, A., Chaudhuri, A., Kamthan, M., & Datta, A. (2015). Small RNAs in plants: recent development and application for crop improvement. *Frontiers in Plant Science*, 6, 208. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00208>

93 Buchman, A., Gamez, S., Li, M., Antoshechkin, I., Li, H. H., Wang, H. W., Chen, C. H., Klein, M. J., Duchemin, J. B., Paradkar, P. N., & Akbari, O. S. (2019). Engineered resistance to Zika virus in transgenic *Aedes aegypti* expressing a polycistronic cluster of synthetic small RNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(9), 3656–3661. <https://doi.org/10.1073/pnas.1810771116>

94 Simoni, A., Hammond, A. M., Beaghton, A. K., Galizi, R., Taxiarchi, C., Kyrou, K., Meacci, D., Gribble, M., Morselli, G., Burt, A., Nolan, T., & Crisanti, A. (2020). A male-biased sex-distorter gene drive for the human malaria vector *Anopheles gambiae*. *Nature Biotechnology*, 10.1038/s41587-020-0508-1. Advance online publication. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0508-1>

95 Airs, P. M., & Bartholomay, L. C. (2017). RNA Interference for Mosquito and Mosquito-Borne Disease Control. *Insects*, 8(1), 4. <https://doi.org/10.3390/insects8010004>

96 Forrest Innovations Ltd. Natural Vector Control. <http://www.forrestinnovations.com/en/citrus-greenshield/citrus-market-5> (accessed July 20, 2020)

97 Bona, A. C., Chitolina, R. F., Fermino, M. L., de Castro Poncio, L., Weiss, A., Lima, J. B., Paldi, N., Bernardes, E. S., Henen, J., & Maori, E. (2016). Larval application of sodium channel homologous dsRNA restores pyrethroid insecticide susceptibility in a resistant adult mosquito population. *Parasites & Vectors*, 9(1), 397. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1634-y>

98 Ad Hoc Technical Expert Group (AHTEG) on Synthetic Biology (2019). "Report of the Ad Hoc Technical Expert Group on Synthetic Biology." CBD/SYNBIO/AHTEG/2019/1/3. June 7, 2019

99 United Nations Convention on Biological Diversity (2020). Overview of work done in response to decision XIII/17. Ad hoc technical expert group on synthetic biology <https://www.cbd.int/doc/c/569d/77c1/9ff18af57c187298c981e357/synbio-ahteg-2017-01-02-en.pdf>

100 USDA Press (2020). USDA SECURE Rule Paves Way for Agricultural Innovation. <https://www.usda.gov/media/press-releases/2020/05/14/usda-secure-rule-paves-way-agricultural-innovation#:~:text=The%20Sustainable%2C%20Ecological%2C%20Consistent%2C,technologies%20through%20a%20transparent%2C%20consistent%2C>

101 USDA Press (2018). Secretary Perdue Issues USDA Statement on Plant Breeding Innovation. <https://www.usda.gov/media/press-releases/2018/03/28/secretary-perdue-issues-usda-statement-plant-breeding-innovation>

102 Jasanoff, S. & Hurlbut, B.J. (2018). A global observatory for gene editing. *Nature* 555: 435-437; Jordan, N.R., Dorn, K.M., Smith, T.M., Wolf, K.E., Ewing, P.M., Fernandez, A.L., Runck, B.C., Williams, A., Lu, Y. & Kuzma J. (2017.) A cooperative governance network for crop genome editing. *EMBO Reports* 18: 1683-1687; Hartley, S., Gillund, F., van Hove, L., Wickson, F. (2016). Essential features of responsible governance of agricultural biotechnology. *PLOS Biology* 14: e1002453; Sarewitz, D. (2015). Science can't solve it. *Nature* 522: 412–413.

103 University of Nebraska-Lincoln Institute of Agriculture and Natural Resources. Weed and Insect Resistance a Growing Problem. Online. <https://cropwatch.unl.edu/weed-and-insect-resistance-growing-problem>

104 KQED. Evolution. Pesticide Library. Online. http://www.pbs.org/wgbh/evolution/library/10/1/_101_02.html

105 Pimentel, D. and Acquay, H. et al. (1992). Environmental and economic costs of pesticide use. *BioScience*, 42(10), 750-760

106 Pesticide Action Network. The Pesticide Treadmill. <http://www.panna.org/gmos-pesticides-profit/pesticide-treadmill>

107 LaCanne, C.E. and Lundgren, J.G. (2018). Regenerative agriculture: merging farming and natural resource conservation profitably. *PeerJ*, 6, p. e4428

108 Catarino, R., Bretagnolle, V., Perrot, T., Vialoux, F., & Gaba, S. (2019). Bee pollination outperforms pesticides for oilseed crop production and profitability. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1912), 20191550. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1550>

- 109 Heikki, M., and Hokkanen., et al. (2017). Long-term yield trends of insect-pollinated crops vary regionally and are linked to neonicotinoid use, landscape complexity and availability of pollinators. *Arthropod-Plant Interactions*. 11(3): 449-461
- 110 Dainese, M., Martin, E. A., Aizen, M. A., Albrecht, M., Bartomeus, I., Bommarco, R., Carvalheiro, L. G., Chaplin-Kramer, R., Gagic, V., Garibaldi, L. A., Ghazoul, J., Grab, H., Jonsson, M., Karp, D. S., Kennedy, C. M., Kleijn, D., Kremen, C., Landis, D. A., Letourneau, D. K., Marini, L., ... Steffan-Dewenter, I. (2019). A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. *Science Advances*, 5(10), eaax0121.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aax0121>
- 111 United Nations (2009). International Assessment of Agricultural Knowledge, Science, and Technology for Development (IAASTD).
https://apps.unep.org/redirect.php?file=/publications/pmtdocuments/Agriculture_at_a_Crossroads_Global_Report.pdf
- 112 United Nations Conference on Trade and Development report (2013). Wake Up Before It's Too Late.
https://unctad.org/en/PublicationsLibrary/ditcted2012d3_en.pdf
- 113 International Panel of Experts on Sustainable Food Systems (IPES) (2016). From Uniformity to Diversity.
http://www.ipes-food.org/images/Reports/UniformityToDiversity_FullReport.pdf