

# HAUT CONSEIL DES BIOTECHNOLOGIES

---

## COMITE SCIENTIFIQUE

Paris, le 8 novembre 2013

## COMMENTAIRES

sur le rapport de surveillance de culture du MON 810 en 2012

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été sollicité en septembre 2013 par les Autorités compétentes françaises (le Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt) pour examiner le rapport de surveillance de la société Monsanto relatif à la culture du MON 810 en 2012.

Ce rapport a été réalisé par Monsanto pour la Commission européenne suite à l'autorisation de culture du maïs MON 810 en 1998, obtenue dans le cadre de la directive 90/220/CEE, abrogée aujourd'hui par la directive 2001/18/CE. La Commission européenne a demandé aux Etats membres de leur faire parvenir leurs commentaires sur ce document pour examen ultérieur par l'Autorité européenne de sécurité des aliments.

Le Comité scientifique (CS)<sup>1</sup> du HCB a procédé à l'examen du rapport le 8 octobre 2013, à une discussion de ces commentaires le 5 novembre 2013, et une adoption par voie électronique le 8 novembre 2013 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès.

---

<sup>1</sup> La composition du CS est indiquée en annexe.



## TABLE DES MATIERES

<b>1. INTRODUCTION</b> .....	<b>4</b>
<b>2. COMMENTAIRES</b> .....	<b>5</b>
2.1 SURVEILLANCE SPECIFIQUE ET GESTION DE LA RESISTANCE AUX INSECTES.....	6
2.2 SURVEILLANCE GENERALE.....	10
<b>3. CONCLUSIONS</b> .....	<b>11</b>
<b>4. BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>12</b>
<b>ANNEXE 1 – ELABORATION DES COMMENTAIRES</b> .....	<b>13</b>
<b>ANNEXE 2 – TRADUCTION EN ANGLAIS</b> .....	<b>14</b>

## 1. Introduction

Le maïs génétiquement modifié MON 810 exprime la toxine Cry1Ab de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, qui lui confère une résistance à des insectes lépidoptères ravageurs, notamment la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) et la sésamie (*Sesamia nonagrioides*).

La mise sur le marché du maïs MON 810<sup>2</sup>, à des fins d'importation et de toute utilisation incluant la culture, est autorisée dans les Etats membres de l'Union européenne depuis le 3 août 1998, date à laquelle la France – en sa qualité de rapporteur du dossier pour la Commission – a ratifié la décision 98/294/CE du 22 avril 1998<sup>3</sup> prise dans le cadre de la directive 90/220/CEE<sup>4</sup>. En 2004, conformément au règlement (CE) n° 1829/2003<sup>5</sup>, la société Monsanto a notifié les différents produits du maïs MON 810 mis sur le marché pour l'alimentation humaine et animale et pour la culture comme « produits existants »<sup>6</sup>.

En conformité avec les exigences réglementaires, la société Monsanto a déposé plusieurs dossiers de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché couvrant tous les usages existants du maïs MON 810, incluant la culture, dans le cadre du règlement (CE) n° 1829/2003 en avril 2007, avant qu'une période de neuf ans ne se soit écoulée après l'autorisation initiale de la décision 98/294/CE. Ces dossiers de renouvellement sont toujours en cours de traitement par la Commission européenne, ce qui résulte en une prolongation automatique de l'autorisation de culture du maïs MON 810 selon les termes de l'autorisation initiale du 22 avril 1998, assortie des exigences en termes de détection, étiquetage et traçabilité requises pour tout produit existant dans le cadre du règlement (CE) n° 1829/2003.

La directive 90/220/CEE n'exigeant pas de plan de surveillance post-commercialisation, et la décision 98/294/CE d'autorisation initiale de mise sur le marché du MON 810 n'exigeant pas de rapport de surveillance de culture à la société Monsanto, il ressort qu'aucun rapport de cette nature n'est formellement exigé concernant la culture du MON 810 en Europe. La société Monsanto s'était toutefois engagée, dans son dossier initial de demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs MON 810, à informer la Commission et/ou les Autorités compétentes des Etats membres des résultats de la surveillance du développement de résistance à la toxine Cry1Ab, exprimée par le MON 810, chez les insectes ciblés par cette protéine. Cet engagement est rappelé dans la décision 98/294/CE.

En pratique, la société Monsanto produit annuellement, depuis 2005, des rapports de surveillance de culture du MON 810, incluant non seulement les résultats de surveillance du développement de résistance chez les insectes, mais aussi, sur une base volontaire, les résultats d'une surveillance générale. Par anticipation à l'obtention d'une nouvelle autorisation de culture dans le cadre du règlement (CE) n° 1829/2003, cette surveillance générale est

---

<sup>2</sup> L'autorisation de mise sur le marché décrite dans la décision 98/294/CE couvre toute lignée pure et tout hybride dérivé de la lignée de maïs MON 810 originale ainsi que toute la descendance issue de croisements avec une variété quelconque de maïs obtenue de façon traditionnelle. Par extrapolation, l'expression « maïs MON 810 » désigne ici l'ensemble de ces produits.

<sup>3</sup> Décision 98/294/CE de la Commission du 22 avril 1998 sur la mise sur le marché du maïs génétiquement modifié (*Zea mays* L. line MON 810) dans le cadre de la directive 90/220/CEE du Conseil. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1998:131:0032:0033:FR:PDF>

<sup>4</sup> Directive 90/220/CEE du Conseil, du 23 avril 1990, relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement. Cette directive a été abrogée par la directive 2001/18/CE. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31990L0220:FR:HTML>

<sup>5</sup> Règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés. (Plus précisément, pour clarifier une confusion inhérente à la traduction française de ce titre, ce règlement concerne les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, ces denrées alimentaires ou aliments pouvant consister en des OGM, contenir des OGM, ou être issus d'OGM.) <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1829:FR:HTML>

<sup>6</sup> Tout produit relevant du champ d'application du règlement (CE) n° 1829/2003 et mis sur le marché en vertu de la directive 90/220/CEE ou de la directive 2001/18/CE avant la date d'application de ce règlement peut continuer à être mis sur le marché si l'exploitant responsable de la mise sur le marché du produit concerné notifie à la Commission la date de la première mise sur le marché de ce produit dans la Communauté, dans les 6 mois qui suivent la date d'application du règlement (CE) n° 1829/2003 (Articles 8 et 20 du règlement (CE) n° 1829/2003 sur le statut des produits existants).

réalisée conformément à ce règlement, selon les règles définies dans la directive 2001/18/CE<sup>7</sup> et les formulaires établis dans la décision 2009/770/CE<sup>8</sup>.

La Commission européenne a saisi l'EFSA<sup>9</sup> d'une demande d'évaluation du dernier rapport de surveillance du MON 810 concernant la culture de l'année 2012 en Europe. Elle a également invité les Etats membres à envoyer leurs commentaires sur le rapport pour examen complémentaire par l'EFSA. Dans ce contexte, les Autorités compétentes françaises (le Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt) ont sollicité le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) en septembre 2013 pour une analyse de ce rapport.

Le Comité scientifique (CS) du HCB a examiné le rapport concernant la culture du maïs MON 810 en 2012 en tenant compte des résultats de surveillance des années précédentes. Par souci de concision et d'efficacité, les commentaires du CS du HCB se concentrent sur les points du rapport de surveillance identifiés comme critiquables.

## 2. Commentaires

En 2012, la culture du maïs MON 810 en Europe a couvert environ 129 042 ha répartis dans cinq pays – principalement en Espagne (116 306 ha, 90 %), mais également au Portugal (9 278 ha, 7,1 %), en République Tchèque (3 052 ha, 2,3 %), en Roumanie (217 ha, 0,168 %), et en Slovaquie (189 ha, 0,146 %).

La société Monsanto a réalisé une surveillance de deux types :

- une surveillance spécifique, dédiée au suivi de l'évolution de la sensibilité des populations de pyrales et de sésamies à la toxine Cry1Ab produite par le maïs MON 810, dans un contexte de gestion stratégique visant à prévenir/retarder le développement de résistance à la toxine chez ces insectes cibles.
- une surveillance générale, dont l'objectif est de détecter d'éventuels effets négatifs inattendus du maïs MON 810 sur l'environnement ou la santé. Cette surveillance a été réalisée par le biais d'enquêtes menées auprès de producteurs de maïs MON 810, par une analyse de la littérature scientifique publiée pendant la même période, et lors de mesures d'accompagnement réalisées par la société Monsanto.

Les analyses contenues dans le rapport de surveillance de Monsanto ne font apparaître aucun problème majeur associé à la culture du maïs MON 810 en 2012. Cependant, le CS du HCB relève des faiblesses dans les méthodologies et les analyses des données de surveillance, ainsi que dans la mise en œuvre des zones refuges. Il souligne que les conclusions que l'on peut tirer des études présentées sont plus limitées que ne l'indique le rapport, notamment sur le possible développement de résistance chez les insectes cibles. Il recommande plus particulièrement (1) de ré-échantillonner dès 2013 (*i.e.* sans attendre l'année 2014) les populations de pyrales échantillonnées en 2012 dans le sud-ouest de la Péninsule Ibérique, pour statuer sur une éventuelle augmentation de leur niveau de résistance à la toxine Cry1Ab, (2) de s'assurer de la stabilité de la sensibilité des souches de référence de laboratoire, et (3) de renforcer le respect des zones refuges par les producteurs de maïs MON 810 en Europe.

---

<sup>7</sup> Directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:FR:HTML>

<sup>8</sup> Décision 2009/770/CE de la Commission du 13 octobre 2009 établissant des formulaires types pour la présentation des résultats de la surveillance relative à la dissémination volontaire dans l'environnement d'organismes génétiquement modifiés, en tant que produits ou éléments de produits, aux fins de leur mise sur le marché, conformément à la directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:275:0009:0027:FR:PDF>

<sup>9</sup> EFSA : *European Food Safety Authority* (Autorité européenne de sécurité des aliments).

## 2.1 Surveillance spécifique et gestion de la résistance aux insectes

La toxine Cry1Ab produite par les plantes de maïs MON 810 exerce une pression de sélection qui favorise le développement de résistance chez les insectes pathogènes sensibles ciblés par cette protéine, notamment la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) en Europe et aux Etats-Unis, et la sésamie (*Sesamia nonagrioides*), plus spécifique des pays méditerranéens. Un tel développement de résistance conduirait à la perte d'une stratégie utile à l'ensemble de la communauté agricole pour lutter contre ces lépidoptères ravageurs du maïs et au retour à l'utilisation d'insecticides potentiellement plus dommageables pour l'environnement. Il est donc important de prendre des mesures pour minimiser ce risque, d'en contrôler la mise en œuvre et d'en suivre l'efficacité par un suivi de sensibilité des insectes.

Ces principes sont repris dans le Plan de gestion des résistances des insectes d'Europabio, élaboré par Monsanto et trois autres firmes<sup>10</sup> en 2003, mis à jour en 2012 et annexé au rapport de surveillance de Monsanto (Annexe 6). Le CS du HCB en critique ci-dessous la mise en œuvre et l'analyse des résultats.

### - Zones refuges

Pour prévenir ou retarder le développement de résistance à la toxine chez les insectes cibles du maïs MON 810, le Plan de gestion des résistances des insectes d'Europabio prévoit que les agriculteurs cultivant plus de 5 ha de MON 810 réservent une zone – dite refuge – à des plantes de maïs n'exprimant pas la toxine Cry1Ab, sur une surface correspondant à au moins 20 % de la surface cultivée en maïs MON 810.

Le respect des zones refuges par les producteurs de maïs MON 810 a été évalué par le biais d'enquêtes et d'inspections régionales en Espagne et au Portugal, et plus globalement dans les cinq pays producteurs de MON 810 via le questionnaire de surveillance générale. Les agriculteurs se déclarent bien informés des recommandations de Monsanto relatives à la mise en œuvre de zones refuges, et indiquent respecter ces mesures dans leur grande majorité. L'Espagne se distingue avec des résultats moins satisfaisants, dégradés par rapport à l'année dernière : dans le cadre du questionnaire de surveillance générale, 14 % des agriculteurs interrogés déclarent ne pas mettre en œuvre les zones refuges recommandées et 12 % déclarent ne pas planter de zones refuges parce que la taille de leur exploitation est inférieure à 5 ha. Parmi les raisons invoquées pour le manque de respect des zones refuges recommandées, les agriculteurs mentionnent à plus de 40 % un manque d'information technique sur la question ; d'autres raisons invoquées concernent des pertes économiques ou des inconvénients d'ordre pratique. Si les taux relativement importants de respect des zones refuges témoignent d'une sensibilisation positive des agriculteurs à la gestion du risque de développement de résistance chez les insectes cibles en Europe, les résultats de l'Espagne sont problématiques, puisqu'elle représente 90 % des surfaces semées avec du maïs MON 810 en 2012. Par ailleurs, les informations données par les agriculteurs sur leur respect des zones refuges peuvent présenter un *biais stratégique* au sens économique du terme (voir infra).

Le CS du HCB rappelle qu'il n'existe aucune obligation légale ni engagement contractuel des agriculteurs sur l'application des zones refuges en Europe. Ils n'encourent aucune sanction en cas de non respect de ces mesures. Le rapport de Monsanto mentionne (Monitoring report, p. 19) :

*“For cultural reasons, certain farming communities are reluctant to accept ‘signed agreements’ requiring them to adhere to particular agricultural practices. Moreover, seeds are usually sold through distributors and farmer cooperatives, which adds another ‘step’ in the commercial chain. The absence of direct sales between end-users and seed companies makes signed agreements very difficult to manage. As a consequence, the seed industry has put particular emphasis on the development of communication tools.”*

---

<sup>10</sup> Syngenta Seeds, Pioneer Hi-Bred International Incorporated, et Dow AgroSciences.

L'argumentation selon laquelle il serait difficile de faire signer des contrats par les agriculteurs en Europe devrait inciter la Commission à prendre des mesures réglementaires pour la gestion des zones refuges.

L'incitation des agriculteurs à respecter les zones refuges repose uniquement sur une recommandation de la société Monsanto, portée par des outils de communication. De ce point de vue, le plan de gestion des résistances est insuffisant, puisque si les agriculteurs ont un intérêt collectif à retarder le développement de la résistance, ils n'ont en théorie pas d'intérêt individuel à supporter les coûts associés à une zone refuge.

Le plan de gestion des résistances est plus cadré aux Etats-Unis, où les firmes commercialisant des plantes génétiquement modifiées exprimant une toxine Bt<sup>11</sup> sont légalement tenues de vérifier le respect des zones refuges et sanctionner les agriculteurs identifiés comme ne les respectant pas. La description, dans ce rapport de surveillance, des plans de gestion des résistances développés à travers le monde (Annexe 6, p. 8), pourrait être complétée en explicitant les différentes actions que les sociétés doivent entreprendre aux Etats-Unis pour inciter les agriculteurs au respect des zones refuges, actions renforcées par l'EPA en 2010 (US EPA, 2010).

Face aux résultats de ce rapport de surveillance et considérant l'enjeu du respect des zones refuges, le CS du HCB réitère deux recommandations pour en garantir la mise en œuvre :

1. Le CS du HCB propose que la Commission européenne impose le respect des zones refuges par les agriculteurs cultivant du MON 810 ou toute autre culture exprimant une toxine Bt, par l'intermédiaire d'une mention explicite dans la décision d'autorisation de cette culture. Dans ce contexte, des mécanismes incitant au respect des zones refuges pourraient être instaurés auprès des agriculteurs, tels qu'un engagement contractuel associé à un mécanisme de vérification/sanction.
2. Le plan de gestion des résistances chez les insectes cibles devrait être adapté aux conditions européennes, où les exploitations agricoles sont plus morcelées que sur le continent américain. Ainsi, les recommandations de mise en place de 20 % de zones refuges par surfaces cultivées de maïs Bt de plus de 5 ha devraient être considérées au niveau du territoire et non au niveau d'exploitations individuelles et faire l'objet d'une concertation entre agriculteurs de la zone considérée.

#### - **Suivi de sensibilité des insectes cibles**

##### Méthodologie suivie par le pétitionnaire :

La sensibilité à la toxine Cry1Ab des populations de pyrales et de sésamies présentes dans les champs de maïs MON 810 a été évaluée par la détermination, en laboratoire, des concentrations en toxine conduisant à l'inhibition de la mue (MIC<sup>12</sup>) des insectes récoltés. L'évolution de cette sensibilité à la toxine a été déduite de la comparaison des valeurs obtenues pour des insectes échantillonnés en 2012, à celles d'insectes échantillonnés dans les mêmes régions de culture du MON 810 les années précédentes.

##### Cas des pyrales :

L'analyse du suivi de sensibilité des pyrales en 2012 est résumée ainsi (Monitoring report, p. 23) :

*"Moulting inhibition concentrations at 50% (MIC50) and 90% (MIC90) for O. nubilalis collected in Southwest Iberia were 4.08 and 8.69 ng Cry1Ab/cm<sup>2</sup>, respectively. Variation in Cry1Ab susceptibility (MIC50 and MIC90) of O. nubilalis collected in the field during the 2012 growing season was 1.4-fold in both cases. The observed variation in susceptibility reflects natural variation in Cry1Ab susceptibility among O. nubilalis collections. Any evidence for a decrease of Cry1Ab susceptibility of O. nubilalis during the monitoring duration from 2005–2012 could not be detected."*

---

<sup>11</sup> Toxine insecticide dérivée d'une bactérie *Bacillus thuringiensis*.

<sup>12</sup> MIC : *moulting inhibition concentrations*, concentrations conduisant à l'inhibition de la mue. Ex : MIC<sub>50</sub> et MIC<sub>90</sub>, concentrations conduisant à l'inhibition de la mue de 50 % et 90 % des larves testées.

Monsanto conclut sur l'absence d'évidence d'une baisse de sensibilité des pyrales en 2012 par rapport aux années précédentes sur la seule base d'une comparaison directe entre les valeurs de MIC<sub>50</sub> et MIC<sub>90</sub> des populations de pyrales échantillonnées en 2012 et celles des années précédentes, sans s'interroger sur la pertinence de cette comparaison. Ce problème se pose d'autant plus cette année qu'un nouveau lot de toxines a été utilisé pour les tests en laboratoire des échantillons de 2012, remplaçant le lot utilisé les années précédentes.

Le rapport de Monsanto ne fournit pas de données de référence appropriées permettant de comparer au mieux les différents résultats de sensibilité d'une population au cours du temps, et de ce fait, de détecter le développement de résistance d'une année à l'autre dans une population donnée. En revanche, il fournit les valeurs annuelles de MIC<sub>50</sub> et MIC<sub>90</sub> obtenues depuis 2006 pour la souche de pyrale de laboratoire G 04. Le rapport de surveillance indique que cette souche, maintenue en élevage de laboratoire depuis 2005, provient d'une population de pyrales échantillonnée en Allemagne ; elle est utilisée comme souche sensible de référence par le pétitionnaire.

En l'absence de données de référence plus judicieuses, Monsanto aurait pu exploiter les données de sensibilité de cette souche de laboratoire pour faciliter la comparaison des résultats annuels de sensibilité des populations de pyrales entre eux. La comparaison des "resistance ratios" ou rapports entre les sensibilités à un même lot de toxine Cry1Ab des pyrales échantillonnées dans le sud-ouest de la Péninsule Ibérique et celles de la souche sensible de laboratoire met en évidence un décrochement majeur de plus d'un facteur 10 en 2012<sup>13</sup> (voir Tableau 1).

**Tableau 1** – Resistance ratios (RR) des populations de pyrales prélevées en 2012 en comparaison aux prélèvements antérieurs dans la même région.

Echantillons testés	Année du test	Lot de toxine	MIC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	MIC <sub>90</sub> <sup>a</sup>	RR MIC <sub>50</sub> <sup>b</sup>	RR MIC <sub>90</sub> <sup>b</sup>
<b>Sud-ouest de la Péninsule Ibérique</b>						
2008 (ES 01, ES 02, ES 03)	2009	1 <sup>st</sup>	3,39	6,9	0,93	0,72
2010 (ES 02, ES 10)	2011	1 <sup>st</sup>	5,76	11,85	0,95	0,68
2012 (ES 01, ES 03)	2013	2 <sup>nd</sup>	4,08	8,69	11,03	7,69
<b>Souche sensible de référence G 04</b>						
(maintenue en laboratoire)	2009	1 <sup>st</sup>	3,65	9,56		
	2011	1 <sup>st</sup>	6,08	17,43		
	2013	2 <sup>nd</sup>	0,37	1,13		

<sup>a</sup>Les données de MIC<sub>50</sub> et MIC<sub>90</sub> proviennent des rapports de surveillance de Monsanto de 2010 à 2013. <sup>b</sup>Les rapports entre les MIC annuels des échantillons collectés dans les champs de maïs MON 810 et ceux de la souche de référence ont été calculés par le CS du HCB.

Ces rapports doivent toutefois être interprétés avec prudence : s'ils ont le mérite de prendre en compte les variations dues aux conditions expérimentales et à l'utilisation de différents lots de toxine, ils introduisent un nouveau facteur de variation potentielle dans l'équation, spécifique à la souche de laboratoire. Ainsi, ce décrochement pourrait s'expliquer soit par une fragilisation de cette souche de laboratoire, soit par une réelle évolution de la résistance des pyrales présentes dans les champs de cette région d'Espagne.

En l'absence d'information supplémentaire sur l'état de la souche de référence de laboratoire, et en l'absence d'évaluation de sensibilité d'échantillons provenant d'autres régions européennes qui auraient pu servir de références supplémentaires pour relativiser les valeurs

<sup>13</sup> Le rapport RR MIC<sub>50</sub> entre les MIC<sub>50</sub> des pyrales échantillonnées dans le sud-ouest de la Péninsule Ibérique et les MIC<sub>50</sub> de la souche de laboratoire passe à 11,03 en 2012 à partir de 0,93 en 2008 et 0,95 en 2010. De même, le rapport RR MIC<sub>90</sub> passe à 7,69 en 2012 à partir de 0,72 en 2008 et 0,68 en 2010.

obtenues pour la souche de laboratoire, le CS du HCB n'est pas en mesure d'exclure une augmentation de la fréquence d'allèles de résistance à la toxine Cry1Ab dans les populations de pyrales de cette région d'Espagne. Le CS du HCB considère donc qu'il est important de renouveler les tests de sensibilité à la toxine Cry1Ab des populations de pyrales de cette région sur des échantillons de 2013, et de les mettre en regard de valeurs de références fiables et judicieuses pour pouvoir statuer sur l'évolution éventuelle de leur fréquence d'allèles de résistance.

#### Cas des sésamies :

Comme pour la pyrale, le CS du HCB critique la méthodologie de comparaison directe entre les valeurs de MIC<sub>50</sub> et MIC<sub>90</sub> d'échantillons de sésamies testés d'une année sur l'autre avec des lots de toxine différents. Un rapport peut être calculé annuellement entre les MIC des insectes échantillonnés et ceux d'une souche sensible de laboratoire testée dans les mêmes conditions expérimentales et avec la même toxine. Monsanto calcule ce rapport pour l'année 2012 mais ne fait pas l'analyse de son évolution d'année en année.

L'analyse des rapports de MIC<sub>50</sub> suggère une diminution légère mais constante de la sensibilité des sésamies à la toxine Cry1Ab entre les années 2007, 2010 et 2012 dans les échantillons du sud-ouest de la Péninsule Ibérique, et entre les années 2004, 2010 et 2012 dans les échantillons du centre de la Péninsule Ibérique. Ces tendances d'évolution constante ne sont toutefois pas observées sur les rapports de MIC<sub>90</sub> (Tableau 2)<sup>14</sup>.

**Tableau 2** – Resistance ratios (RR) des populations de sésamies prélevées en 2012 en comparaison aux prélèvements antérieurs dans les mêmes régions.

Echantillons testés	Année du test	Lot de toxine	MIC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	MIC <sub>90</sub> <sup>a</sup>	RR MIC <sub>50</sub> <sup>b</sup>	RR MIC <sub>90</sub> <sup>b</sup>
<b>Sud-ouest de la Péninsule Ibérique</b>						
Collectés en 2005	2005	1 <sup>st</sup>	16	30	.*	.*
Collectés en 2007	2007	1 <sup>st</sup>	17	226	1,06	2,40
Collectés en 2010	2010	1 <sup>st</sup>	16	86	2,00	1,16
Collectés en 2012	2012	2 <sup>nd</sup>	29	158	4,14	2,55
<b>Centre de la Péninsule Ibérique</b>						
Collectés en 2004	2004	1 <sup>st</sup>	12	248	0,67	2,51
Collectés en 2006	2006	1 <sup>st</sup>	7	321	.*	.*
Collectés en 2008	2008	1 <sup>st</sup>	28	170	.*	.*
Collectés en 2010	2010	1 <sup>st</sup>	10	119	1,25	1,61
Collectés en 2012	2012	2 <sup>nd</sup>	15	160	2,14	2,58
<b>Souche sensible de référence</b>						
(maintenue en laboratoire)	2004	1 <sup>st</sup>	18	99		
	2007	1 <sup>st</sup>	16	94		
	2010	1 <sup>st</sup>	8	74		
	2012	2 <sup>nd</sup>	7	62		

<sup>a</sup>Les données de MIC<sub>50</sub> et MIC<sub>90</sub> proviennent des rapports de surveillance de Monsanto de 2010 à 2013. <sup>b</sup>Les rapports entre les MIC annuels des échantillons collectés dans les champs de maïs MON 810 et ceux de la souche

<sup>14</sup> L'analyse de ces rapports est *a priori* soumise aux mêmes limites d'interprétation que celles soulignées dans le cas de la pyrale. On note toutefois que, contrairement à la souche de pyrale de référence, la sensibilité de la souche de sésamie de référence ne varie pas significativement selon les différents lots de toxine utilisés.

de référence ont été calculés par le CS du HCB. \* impossible à calculer car les données de sensibilité ne sont pas disponibles pour la souche de référence cette année-là.

Les données obtenues pour la sésamie en 2012 paraissent donc moins atypiques que celles obtenues pour la pyrale, même si le rapport de surveillance indique que les sensibilités des populations de sésamies échantillonnées en 2012 sont significativement inférieures à celles de la souche sensible de référence (Annexe 7, p. 11), ce qui n'était pas arrivé auparavant.

Dans son rapport de 2013, la société Monsanto conclut (Annexe 7, p. 16) :

*“The analysis of the historical series of data of susceptibility of S. nonagrioides to Cry1Ab has not shown a consistent increase of resistance to this toxin in field populations of S. nonagrioides from Southwest and Central Iberia”.*

L'analyse des données ne permet pas d'être aussi catégorique. Comme pour le cas de la pyrale, il est impossible de conclure à une diminution de la sensibilité à la toxine Cry1Ab dans les populations de sésamies au fil du temps, mais il serait souhaitable de renforcer également le suivi de sensibilité de ce second ravageur cible des maïs Bt MON 810, par un échantillonnage annuel des régions à haute densité de culture de maïs MON 810 et par l'exploitation de références de sensibilité judicieuses pour assurer la comparabilité des résultats dans le temps.

## **2.2 Surveillance générale**

### **- Analyse des réponses des agriculteurs au questionnaire de surveillance**

Un questionnaire de surveillance a été conçu pour faciliter le rapport et l'évaluation d'observations inattendues par les agriculteurs dans les régions où le MON 810 est cultivé. L'analyse des réponses des agriculteurs à ce questionnaire pose un certain nombre de problèmes relevés par le CS.

Le CS réitère ses remarques sur l'inadéquation des conclusions tirées des résultats des questionnaires avec l'analyse statistique qui a été menée. En effet, la société Monsanto conclut (*Monitoring report*, p. 13) :

*“The analysis of 249 questionnaires from the survey of farmers cultivating MON 810 in five European countries during the 2012 growing season did not reveal any unexpected adverse effects that could be associated with the genetic modification in MON 810.”*

Or, dans l'Annexe 1, qui détaille l'analyse statistique des questionnaires, il est expliqué que pour chaque aspect examiné, les effets observés en lien avec la culture du maïs MON 810 ne sont considérés par la société Monsanto que s'ils sont rapportés par plus de 10 % des agriculteurs questionnés. Autrement dit, si moins de 10 % des agriculteurs rapportent un effet négatif (*adverse effect*) particulier, cet effet ne sera pas pris en compte dans les résultats du questionnaire, et ce quelle que soit la taille de l'effet observé.

Le CS du HCB fait plusieurs remarques à ce sujet :

1. Si l'enquête permet de conclure que moins de 10 % des agriculteurs ont noté des effets négatifs (autres que ceux visés par la modification génétique) liés à la culture MON 810, il est abusif d'en déduire qu'aucun effet négatif n'a été observé. L'hypothèse testée ici porte sur un nombre de cultivateurs observant un effet. On ne teste donc pas la présence d'un effet, et encore moins la taille de cet effet.
2. Si la société Monsanto s'en tenait à la conclusion autorisée par l'analyse statistique des résultats du questionnaire, c'est-à-dire que pour chaque point abordé, moins de 10 % des agriculteurs auraient noté des effets négatifs liés à la culture MON 810, quel en serait le sens ? Comment en déduire alors qu'il n'y a pas d'effets significatifs ? Que vient faire la statistique ici ? Par exemple, si pour une question donnée, la proportion observée d'agriculteurs ayant noté une déviation par rapport à la situation habituelle était de 8 % au sein de la population, que pourrait-on en conclure, à part le fait que cette proportion est bien inférieure à 10 % ? L'effet est-il alors nécessairement négligeable ?

3. Comment justifier un traitement uniforme de questions aussi variées que la vigueur de germination ou la sensibilité des plantes aux maladies, que l'occurrence d'oiseaux ou d'insectes dans les champs, ou que les pratiques agricoles d'irrigation ou d'utilisation d'insecticides ? Certains paramètres, comme un usage accru d'insecticides, devraient être considérés comme problématiques à des seuils de réponses beaucoup plus faibles que d'autres paramètres du fait du caractère de résistance aux insectes du maïs MON 810. D'autres questions comme celles sur la vie sauvage sont formulées de telle manière qu'elles ne permettent pas de fournir une indication précise sur l'évolution de la biodiversité sauvage, dans et autour de la parcelle.

Enfin, le CS du HCB souligne un problème plus général associé à ces questionnaires destinés à être remplis par des agriculteurs. D'une part, les agriculteurs n'ont souvent pas tous les outils pour répondre de manière appropriée au questionnaire, et d'autre part, les réponses apportées peuvent présenter un biais stratégique au sens où les agriculteurs n'ont pas nécessairement intérêt à fournir des réponses conformes à la réalité. Pour remédier à ce double problème, le CS du HCB propose de faire reposer la surveillance générale non plus majoritairement sur l'outil du questionnaire mais également sur une collecte d'informations dans les champs par des personnes formées, dans le cadre de réseaux d'observation indépendants aux méthodologies bien définies.

#### - **Analyse bibliographique**

Le CS du HCB est en accord avec la société Monsanto sur son analyse des données de 37 publications relatives au MON 810 parues depuis le dernier rapport de surveillance (de juin 2012 à début juin 2013). La société Monsanto conclut (Monitoring report, p. 18) :

*"The peer-reviewed literature demonstrates that MON 810 is as safe to human and animal health as its conventional counterpart and confirms that there is negligible impact from the cultivation of MON 810 on biodiversity, abundance, or survival of non-target species, and the environmental risk of MON 810 is considered to be negligible compared to conventional maize."*

Cette conclusion reflète correctement la teneur des articles répertoriés. Toutefois, si le CS du HCB reconnaît qu'aucune preuve formelle d'effets négatifs associés au MON 810 n'a pu être établie à ce jour, il rappelle que l'absence de preuve d'effets négatifs ne permet pas de conclure à une absence d'effets négatifs.

#### - **Mesures mises en œuvre par la société Monsanto**

Parmi les mesures d'accompagnement diligentées par la société Monsanto, le CS du HCB note qu'elle met en place un système d'alerte environnementale via des réseaux de surveillance existants. Dans cet objectif, une liste de réseaux existants a été établie en Allemagne. Ce dispositif n'a toutefois pas été utilisé en 2012 car le MON 810 n'a pas été cultivé en Allemagne durant cette période. Basé sur cet exemple allemand, un groupe de travail de l'association Europabio a coordonné un effort plus général pour identifier ces réseaux de surveillance de l'environnement existants en Europe, et mettre en place un système de collecte centralisé des données de surveillance pour le futur.

Si le CS du HCB a déjà eu l'occasion de saluer cette initiative, conforme aux dernières recommandations de l'EFSA (EFSA, 2011) et à ses propres demandes récurrentes en termes de centralisation des données de surveillance, il regrette que le système d'alerte ne soit toujours pas mis en œuvre.

### **3. Conclusions**

En conclusion générale, les analyses contenues dans le rapport de surveillance de Monsanto ne font apparaître aucun problème majeur associé à la culture de maïs MON 810 en 2012. Cependant, le CS du HCB relève des faiblesses dans les méthodologies et les analyses des données de surveillance, ainsi que dans la mise en œuvre des zones refuges. Il souligne que

les conclusions que l'on peut tirer des études présentées sont plus limitées que ne l'indique le rapport, notamment sur le possible développement de résistance chez les insectes cibles. Il recommande plus particulièrement (1) de ré-échantillonner dès 2013 les populations de pyrales échantillonnées en 2012 dans le sud-ouest de la Péninsule Ibérique, pour statuer sur une éventuelle augmentation de leur niveau de résistance à la toxine Cry1Ab, (2) de s'assurer de la stabilité de la sensibilité des souches de référence de laboratoire, et (3) de renforcer le respect des zones refuges par les producteurs de maïs MON 810 en Europe.

#### **4. Bibliographie**

EFSA (2011). Scientific Opinion on guidance on the Post-Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. The EFSA Journal 9 (8): 2316, 40 pp.

U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs (2010). Terms and Conditions for Bt Corn Registrations.

## Annexe 1 – Elaboration des commentaires

Le dossier a été expertisé par six experts rapporteurs, tous membres du CS du HCB.

Ces commentaires ont été élaborés par le CS du HCB à partir de la discussion des rapports d'expertise en séance du 8 octobre 2013<sup>15</sup>, de la discussion d'un projet de commentaires en séance du 5 novembre 2013<sup>16</sup>, suivie d'une adoption par voie électronique le 8 novembre 2013, sous la présidence du Dr Jean-Christophe Pagès, sous la vice-présidence du Dr Jean-Jacques Leguay, et sous la coordination scientifique du Dr Catherine Golstein, responsable scientifique et chargée des affaires européennes au HCB.

Le CS du HCB est un comité pluridisciplinaire composé de personnalités scientifiques nommées par décret au titre de leur spécialité en relation avec les missions du HCB. Par ordre alphabétique des noms de famille, le CS du HCB est composé de :

Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Bruno Chauvel, François-Christophe Coléno, Denis Couvet, Jean-Luc Darlix, Elie Dassa, Maryse Deguegue, Marion Desquilbet, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Nathalie Eychenne, Anne Dubart-Kupperschmitt, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Mireille Jacquemond, André Jestin, Bernard Klonjkowski, Marc Lavielle, Jane Lecomte, Jean-Jacques Leguay, Didier Lereclus, Rémy Maximilien, Antoine Messéan, Alexandre Moatti, Jacques Pagès, Jean-Christophe Pagès, Daniel Parzy, Michel Renard, Catherine Regnault-Roger, Pierre Rougé, Patrick Saindrenan, Annie Sasco, Pascal Simonet, Bernard Vaissière, Jean-Luc Vilotte.<sup>17</sup>

Les membres du CS du HCB remplissent annuellement une déclaration publique d'intérêts. Ils sont également interrogés sur l'existence d'éventuels conflits d'intérêts avant l'examen de chaque dossier. Participant à l'élaboration de l'avis de l'EFSA sur ce rapport en tant que membre du panel OGM de l'EFSA, Antoine Messéan n'a contribué ni à l'élaboration ni à la rédaction de ces commentaires. Aucun autre membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêt avec ce dossier.

La participation à l'élaboration de l'avis indique qu'une majorité s'est dégagée en sa faveur, dans la limite des compétences des experts et après exposé de l'ensemble des points de vue.

---

<sup>15</sup> Membres du CS présents et représentés lors de l'examen du dossier en séance du 8 octobre 2013 : Claude Bagnis, Yves Bertheau, Denis Bourguet (au téléphone), Jean-Luc Darlix, Elie Dassa, Maryse Deguegue, Marion Desquilbet, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, André Jestin, Bernard Klonjkowski, Jean-Jacques Leguay, Didier Lereclus, Rémy Maximilien, Antoine Messéan, Jean-Christophe Pagès, Daniel Parzy, Catherine Regnault-Roger, Pierre Rougé, Pascal Simonet, Jean-Luc Vilotte, et dans l'anticipation de leur nomination imminente au CS du HCB : Avner Bar-Hen, Alexandre Moatti et Michel Renard.

<sup>16</sup> Membres du CS présents et représentés lors la discussion du projet d'avis en séance du 5 novembre 2013 : Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Bruno Chauvel, Denis Couvet, Elie Dassa, Maryse Deguegue, Marion Desquilbet, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Anne Dubart-Kupperschmitt, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, André Jestin, Bernard Klonjkowski, Marc Lavielle, Jane Lecomte, Jean-Jacques Leguay, Didier Lereclus, Rémy Maximilien, Antoine Messéan, Alexandre Moatti, Jean-Christophe Pagès, Daniel Parzy, Michel Renard, Catherine Regnault-Roger, Pierre Rougé, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Bernard Vaissière, Jean-Luc Vilotte.

<sup>17</sup> Composition du CS en vigueur suite au dernier décret de nomination des membres du Comité scientifique du HCB paru le 24 octobre 2013.

## Annexe 2 – Traduction en anglais

### 1. Introduction

Genetically modified MON 810 maize produces the bacteria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) toxin Cry1Ab, which confers resistance to the European corn borer (ECB, *Ostrinia nubilalis*) and the pink stem borer, also called Mediterranean corn stalk borer (MCB, *Sesamia nonagrioides*).

MON 810 maize<sup>18</sup> was authorised for import and use (including cultivation) in the European Union on 3 August 1998, when France, as *rapporteur*, ratified the Commission Decision 98/294/EC of 22 April 1998<sup>19</sup> pursuant to Council Directive 90/220/EEC<sup>20</sup>. In 2004, the Monsanto Company, referred to afterwards as Monsanto, notified the different MON 810 maize products placed on the market for food, feed and cultivation, as existing products under Regulation (EC) n° 1829/2003<sup>21</sup>.

In compliance with Regulation (EC) n° 1829/2003, Monsanto submitted applications to the European Commission for renewal of authorisation of all MON 810 maize existing products in April 2007, within a nine-year period since the initial marketing authorisation. These renewal applications are still under treatment by the European Commission. Meanwhile, the authorised products remain lawfully on the market on the basis of the initial Decision of 22 April 1998, with the additional requirements in terms of detection, labelling and traceability for all existing products in the legal framework of Regulation (EC) n° 1829/2003.

Given that Directive 90/220/EEC requires no post-market monitoring plan, and that Decision 98/294/EC for placing on the market of MON 810 maize products requires no cultivation monitoring report by Monsanto, no monitoring and no report of this kind are formally required for MON 810 cultivation in Europe. Monsanto had nevertheless offered, in its initial application for marketing MON 810 maize, to inform the Commission and/or the Competent Authorities of Member States of monitoring results regarding the development of insect resistance to the 98/294/EC.

In practical terms, Monsanto has submitted annual monitoring reports on MON 810 cultivation to the Commission since 2005. These reports comprised the results of insect resistance monitoring along with, on a voluntary basis, the results of general surveillance. In anticipation of an authorisation renewal under Regulation (EC) n° 1829/2003, this general surveillance followed the mandatory requirements for post-market environmental monitoring of this regulation, in accordance with Directive 2001/18/EC<sup>22</sup> and the forms established in Decision 2009/770/EC<sup>23</sup>.

---

<sup>18</sup> The consent described in Commission Decision 98/294/EC covers inbred lines and hybrids derived from maize line MON 810, as well as any progeny derived from crosses of the product with any traditionally bred maize. The expression "MON 810 maize" in this document stands for all of these products.

<sup>19</sup> Commission Decision 98/294/EC of 22 April 1998 concerning the placing on the market of genetically modified maize (*Zea mays* L. line MON 810), pursuant to Council Directive 90/220/EEC. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1998:131:0032:0033:EN:PDF>

<sup>20</sup> Council Directive 90/220/EEC of 23 April 1990 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms. This directive was repealed by Directive 2001/18/EC. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31990L0220:FR:HTML>

<sup>21</sup> Regulation (EC) N° 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed. [http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/labelling/Reg\\_1829\\_2003\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/labelling/Reg_1829_2003_en.pdf)

<sup>22</sup> Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:EN:HTML>

<sup>23</sup> Commission decision of 13 October 2009 establishing standard reporting formats for presenting the monitoring results of the deliberate release into the environment of genetically modified organisms, as or in products, for the purpose of placing on the market, pursuant to Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:275:0009:0027:EN:PDF>

The Commission requested EFSA<sup>24</sup> to assess the latest monitoring report of MON 810, concerning cultivation in Europe in 2012. Member States were invited to send their comments on the report for complementary analysis by EFSA. In this context, the French Competent Authorities (the Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt) solicited the High Council for Biotechnology (HCB) in September 2013 to assess the MON 810 2012 monitoring report.

The HCB Scientific committee (SC) has analysed the report concerning MON 810 2012 cultivation keeping in mind the results from the previous years. For the sake of conciseness and efficiency, the SC's comments focus on the aspects of the monitoring report identified as questionable.

## 2. Comments

In 2012, MON 810 maize was planted on approximately 129,042 ha over five countries – mainly in Spain (116,306 ha, 90%), but also in Portugal (9,278 ha, 7.1%), the Czech Republic (3,052 ha, 2.3%), Romania (217 ha, 0.168%) and Slovakia (189 ha, 0.146%).

Monsanto conducted out two types of surveillance:

- Case-specific monitoring to track evolution of susceptibility of populations of European corn borers (*Ostrinia nubilalis*) and Mediterranean corn stalk borers (*Sesamia nonagrioides*) to the Cry1Ab toxin produced by MON 810 maize, in the context of strategic management aimed at preventing/delaying development of target pest resistance to the toxin;
- General surveillance to identify any unexpected adverse effects of MON 810 maize on health or the environment. This surveillance was conducted through surveys of MON 810 growers, a review of scientific literature published over the same period, and company stewardship measures.

The analysis in the Monsanto monitoring report reveals no major problems relating to MON 810 maize cultivation in 2012. However, the HCB Scientific Committee notes weaknesses in methodology and monitoring data analysis as well as refuge implementation. It stresses that the conclusions that can be drawn from the data presented are more limited than the report suggests, especially regarding possible development of resistance in target pests. It particularly recommends (1) resampling in 2013 (*i.e.* prior to 2014) the *O. nubilalis* populations sampled in 2012 in South-West Iberia in order to determine whether there is any increase in their level of resistance to the Cry1Ab toxin, (2) making sure that susceptibility of laboratory reference strains is stable, and (3) improving refuge compliance by MON 810 maize growers in Europe.

### 2.1 Case-specific monitoring and insect resistance management

The Cry1Ab toxin produced by MON 810 maize plants exercises a selection pressure that encourages the development of resistance in susceptible pests targeted by this protein, such as the European corn borer in Europe and the United States (*Ostrinia nubilalis*) and the Mediterranean corn stalk borer more specific to the Mediterranean countries (*Sesamia nonagrioides*). Such development would lead to the loss of a strategy useful to the entire farming community for controlling these corn borers and a return to use of insecticides potentially more damaging to the environment. It is therefore important to take measures mitigating this risk, to supervise their implementation and to track their effectiveness by monitoring insect susceptibility.

These principles are included in the Europabio insect resistance management plan produced by Monsanto and three other firms<sup>25</sup> in 2003, updated in 2012 and appended to the Monsanto

---

<sup>24</sup> EFSA : European Food Safety Authority.

<sup>25</sup> Syngenta Seeds, Pioneer Hi-Bred International Incorporated and Dow AgroSciences.

monitoring report (Appendix 6). The HCB Scientific Committee below offers a critical assessment of the plan's implementation and the analysis of its results.

#### - Refuges

To prevent or delay development of resistance to the toxin in MON 810 target insects, the Europabio insect resistance management plan specifies that growers planting more than 5 ha of MON 810 should set aside a zone – known as a refuge – for maize plants not expressing the Cry1Ab toxin and that this should cover an area equivalent to at least 20% of that planted with MON 810 maize.

Refuge compliance by MON 810 maize growers has been assessed by means of regional inspections and surveys in Spain and Portugal and more generally through farmer questionnaires in the five MON 810 producer countries. Farmers replied that they knew about Monsanto recommendations on refuge implementation, and the great majority said that they complied with them. Spain stood out as having less satisfactory results, worse than the previous year: in the farmer questionnaire, 14% of farmers surveyed stated that they had not implemented the recommended refuges, while 12% said that they did not plant refuges because their farms were smaller than 5 ha. Among the reasons given for failure to comply with refuge recommendations, over 40% of farmers cited a lack of technical information; other reasons related to practical disadvantages and loss of revenue. While the relatively high level of refuge compliance indicates that farmers are properly aware of the need to manage the risk of resistance development in target insects in Europe, the findings for Spain are problematic, since Spain accounted for 90% of the total area planted with MON 810 maize in 2012. Moreover, the refuge compliance information supplied by farmers may show *strategic bias* in economic terms (see below).

The HCB Scientific Committee draws attention to the fact that farmers in Europe are under no contractual or statutory obligation to implement refuges. They incur no penalties for non-compliance. The Monsanto report states (*Monitoring report*, p. 19):

*'For cultural reasons, certain farming communities are reluctant to accept 'signed agreements' requiring them to adhere to particular agricultural practices. Moreover, seeds are usually sold through distributors and farmer cooperatives, which adds another 'step' in the commercial chain. The absence of direct sales between end-users and seed companies makes signed agreements very difficult to manage. As a consequence, the seed industry has put particular emphasis on the development of communication tools.'*

The line of argument according to which it is difficult in Europe to get farmers to sign agreements ought to prompt the Commission to pass regulatory measures on refuge management.

The incentive for farmers to implement refuges consists solely in a recommendation by Monsanto, supported by communication tools. In this respect the resistance management plan is wanting, since, while it is in farmers' collective interest to delay development of resistance, it is theoretically not in their individual interest to bear the costs associated with refuges.

The resistance management plan is more prescriptive in the United States, where firms marketing genetically modified plants expressing a Bt toxin<sup>26</sup> are required by law to verify compliance with refuge rules and penalize any growers found failing to comply. The monitoring report description of resistance management plans around the world (Appendix 6, p. 8) might be supplemented by detailing the various measures to be taken by firms in the United States to ensure that growers comply with refuge requirements – measures that were tightened by the EPA in 2010 (US EPA, 2010).

Given the findings of the monitoring report and considering the implications of refuge compliance, the HCB Scientific Committee is reiterating two recommendations for securing implementation:

1. The HCB Scientific Committee proposes that the European Commission make refuge implementation mandatory for farmers growing MON 810 or any other Bt crop through

---

<sup>26</sup> Pesticide derived from *Bacillus thuringiensis* bacteria.

specific reference to it in the decision to authorise the crop. In this connection, refuge compliance mechanisms might be introduced for farmers, such as a contractual requirement combined with a verification/penalty system.

2. The resistance management plan for target insects should be adapted to European conditions, where the agricultural landscape is more fragmented than in the United States. Thus the recommendation for a non-Bt refuge amounting to 20% of the area planted with Bt maize when this area is over 5 ha should be considered in terms of the landscape rather than the individual farm and be based on consultation between local farmers.

#### - **Monitoring of target pest susceptibility**

##### Applicant's methodology

Susceptibility to the Cry1Ab toxin in MON 810 maize field populations of *O. nubilalis* and *S. nonagrioides* has been assessed by laboratory determination of the toxin's moulting inhibition concentration (MIC)<sup>27</sup> for insects collected. Evolution in Cry1Ab susceptibility was inferred from comparison of values obtained for insects sampled in 2012 with those for insects sampled in the same MON 810 crop regions in previous years.

##### *Ostrinia nubilalis*

The analysis of *O. nubilalis* susceptibility data in 2012 is summed up as follows (*Monitoring report*, p. 23):

*'Moulting inhibition concentrations at 50% (MIC<sub>50</sub>) and 90% (MIC<sub>90</sub>) for O. nubilalis collected in Southwest Iberia were 4.08 and 8.69 ng Cry1Ab/cm<sup>2</sup>, respectively. Variation in Cry1Ab susceptibility (MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub>) of O. nubilalis collected in the field during the 2012 growing season was 1.4-fold in both cases. The observed variation in susceptibility reflects natural variation in Cry1Ab susceptibility among O. nubilalis collections. Any evidence for a decrease of Cry1Ab susceptibility of O. nubilalis during the monitoring duration from 2005–2012 could not be detected.'*

Monsanto's conclusion that there is no evidence of a drop in *O. nubilalis* susceptibility in 2012 in relation to previous years is based solely on a direct comparison of MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values for *O. nubilalis* populations sampled in 2012 and those from previous years, with no consideration of the comparison's relevance. This is all the more of a problem this year in that a new batch of toxins was used for laboratory testing of the 2012 samples, replacing the batch used in previous years.

The Monsanto report gives no suitable baseline data for effectively comparing the different susceptibility results of a population over time and therefore for detecting development of resistance from one year to the next in a given population. It does, on the other hand, provide annual values for MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> since 2006 for the G 04 laboratory strain of *O. nubilalis*. The monitoring report shows that this strain, bred in the laboratory since 2005, comes from an *O. nubilalis* population sampled in Germany; it is used as the reference susceptible strain by the applicant.

In the absence of sounder baseline data, Monsanto might have used the susceptibility data for this laboratory strain to facilitate comparison between annual susceptibility results for *O. nubilalis* populations. The resistance ratios between susceptibility values, tested with the same batch of Cry1Ab toxin, for *O. nubilalis* collected from South-West Iberia and for the susceptible laboratory strain – reveal a more than tenfold increase in 2012<sup>28</sup> (see Table 1).

---

<sup>27</sup> Moulting inhibition concentration (MIC): Concentration that inhibits moulting. MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub>, for example, are the concentrations at which moulting is inhibited in 50% and 90% of larvae tested.

<sup>28</sup> The MIC<sub>50</sub> resistance ratio (RR) for *O. nubilalis* collected in South-West Iberia in comparison with the laboratory strain rises to 11.03 in 2012 from 0.93 in 2008 and 0.95 in 2010. Similarly, the MIC<sub>90</sub> RR rises to 7.69 in 2012 from 0.72 in 2008 and 0.68 in 2010.

**Table 1** – Resistance ratios (RR) of *O. nubilalis* populations sampled in 2012 and previous samples from the same region.

Tested populations	Test year	Toxin batch	MIC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	MIC <sub>90</sub> <sup>a</sup>	MIC <sub>50</sub> RR <sup>b</sup>	MIC <sub>90</sub> RR <sup>b</sup>
<b>South-West Iberia</b>						
2008 (ES 01, ES 02, ES 03)	2009	1st	3.39	6.9	0.93	0.72
2010 (ES 02, ES 10)	2011	1st	5.76	11.85	0.95	0.68
2012 (ES 01, ES 03)	2013	2nd	4.08	8.69	11.03	7.69
<b>G 04 reference susceptible strain</b>						
Laboratory-bred	2009	1st	3.65	9.56		
	2011	1st	6.08	17.43		
	2013	2nd	0.37	1.13		

<sup>a</sup> The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> figures are taken from the 2010 to 2013 Monsanto monitoring reports. <sup>b</sup> The ratio between annual MIC values for samples collected in MON 810 maize fields and reference strain samples was calculated by the HCB Scientific Committee.

However, these ratios must be interpreted with caution: while they have the virtue of taking into account variations due to the experimental conditions and use of different toxin batches, they add a further potential variation to the equation, specific to the laboratory strain. Thus the tenfold increase could be explained either by a weakening of this laboratory strain or by an actual evolution in the resistance of field strains of *O. nubilalis* in this region of Spain.

Without additional information on the state of the laboratory reference strain and without assessment of susceptibility of samples from other European regions that might have served as supplementary references to provide context for the values for the laboratory strain, the HCB Scientific Committee is unable to rule out increased frequency of Cry1Ab-resistant alleles in *O. nubilalis* populations in this region of Spain. The HCB Scientific Committee therefore thinks it important to repeat the Cry1Ab susceptibility tests for *O. nubilalis* populations from this region using 2013 samples and to compare them with sound and reliable baseline values in order to determine any evolution in their resistance allele frequency.

### *Sesamia nonagrioides*

As in the case of *O. nubilalis*, the HCB Scientific Committee has criticisms of the methodology of direct comparison between the MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values for *S. nonagrioides* samples tested year on year with different toxin batches. It is possible to calculate annually the ratio between MICs for insects collected and for a susceptible laboratory strain tested in the same experimental conditions with the same toxin. Monsanto has calculated this ratio for 2012 but has not analysed its evolution year on year.

Analysis of the MIC<sub>50</sub> ratios suggests a slight but steady drop in *S. nonagrioides* susceptibility to the Cry1Ab toxin in the years between 2007, 2010 and 2012 in samples from South-West Iberia and in the years between 2004, 2010 and 2012 in samples from Central Iberia. However, these steady trends are not observed in the MIC<sub>90</sub> ratios (Table 2).<sup>29</sup>

<sup>29</sup> Analysis of these ratios is in principle subject to the same limits of interpretation as those noted for *O. nubilalis*. It should, however, be remarked that, unlike the *O. nubilalis* reference strain, the susceptibility of the *S. nonagrioides* reference strain does vary significantly with the batch of toxin used.

**Table 2** – Resistance ratios (RR) of *S. nonagrioides* populations collected in 2012 and previous samples from the same regions.

Tested populations	Test year	Toxin batch	MIC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	MIC <sub>90</sub> <sup>a</sup>	MIC <sub>50</sub> RR <sup>b</sup>	MIC <sub>90</sub> RR <sup>b</sup>
<b>South-West Iberia</b>						
Collected in 2005	2005	1st	16	30	-*	-*
Collected in 2007	2007	1st	17	226	1.06	2.40
Collected in 2010	2010	1st	16	86	2.00	1.16
Collected in 2012	2012	2nd	29	158	4.14	2.55
<b>Central Iberia</b>						
Collected in 2004	2004	1st	12	248	0.67	2.51
Collected in 2006	2006	1st	7	321	-*	-*
Collected in 2008	2008	1st	28	170	-*	-*
Collected in 2010	2010	1st	10	119	1.25	1.61
Collected in 2012	2012	2nd	15	160	2.14	2.58
<b>Reference susceptible strain</b>						
Laboratory-bred	2004	1st	18	99		
	2007	1st	16	94		
	2010	1st	8	74		
	2012	2nd	7	62		

<sup>a</sup> The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> figures are taken from the 2010 to 2013 Monsanto monitoring reports. <sup>b</sup> The ratio between annual MIC values for samples collected in MON 810 maize fields and reference strain samples was calculated by the HCB Scientific Committee. \* Impossible to calculate since reference strain susceptibility data are not available for this year.

The data obtained for *S. nonagrioides* in 2012 thus appear less atypical than those for *O. nubilalis*, even if the monitoring report shows that susceptibility for *S. nonagrioides* populations sampled in 2012 was significantly lower than for the reference susceptible strain (Annex 7, p. 11) – something that had not happened previously.

In its 2013 report, Monsanto concludes (*Monitoring report*, Appendix 7, p. 16):

*‘The analysis of the historical series of data of susceptibility of S. nonagrioides to Cry1Ab has not shown a consistent increase of resistance to this toxin in field populations of S. nonagrioides from Southwest and Central Iberia.’*

Analysis of the data does not allow us to be so categorical. As in the case of *O. nubilalis*, it is impossible to draw the conclusion that there has been a drop in Cry1Ab susceptibility of *S. nonagrioides* populations over time, and it would be advisable also to step up susceptibility monitoring for this second target pest of MON 810 Bt maize through annual sampling in regions of high-density MON 810 maize growing and through use of sound susceptibility baseline data to ensure comparability of results over time.

## 2.2 General surveillance

### - Analysis of farmers’ responses to the surveillance questionnaire

A questionnaire was designed to help collect and evaluate unexpected observations from farmers in regions growing MON 810. The way Monsanto analysed the farmers’ responses to the questionnaire raised a number of issues for the HCB Scientific Committee.

The Scientific Committee reiterates its comments concerning the fact that the conclusions drawn from the questionnaire results are not consistent with the statistical analysis of those results, since Monsanto concludes (*Monitoring report*, p. 12):

*'The analysis of 249 questionnaires from the survey of farmers cultivating MON 810 in five European countries during the 2012 growing season did not reveal any unexpected adverse effects that could be associated with the genetic modification in MON 810.'*

Yet in Annex 1, which presents the detailed statistical analysis of the questionnaire results, it is explained that, for each aspect considered, observed effects associated with cultivation of MON 810 maize were taken into account by Monsanto only if reported by over 10% of farmers surveyed. In other words, if under 10% of farmers report a specific adverse effect, this effect will be disregarded in the results of the analysis whatever the size of the observed effect.

The HCB Scientific Committee has several comments on this issue:

1. The survey only permits the conclusion that under 10% of farmers have reported adverse effects related to MON 810 cultivation (other than those for which the genetic modification was designed); it is wrong to infer that no adverse effects have been observed. The hypothesis being tested here is the number of growers observing an effect. The presence of an effect has therefore not been tested, still less the size of this effect.
2. If Monsanto limited itself to the conclusion permitted by its statistical analysis of the questionnaire results, that is, for each question answered, under 10% of the farmers reported an adverse effect related to MON 810 cultivation, what would this conclusion mean? How can it then be determined whether there are any significant effects? Why use statistics here? For example, if, for a given question, the proportion of interviewed farmers reporting a deviation from the usual situation were 8%, what could be inferred from this other than the fact that this proportion was under 10%? Would the effect necessarily be insignificant?
3. What is the justification for identical treatment of issues as varied as germination vigour, disease susceptibility, occurrence of birds or insects in fields, on-farm irrigation practices and pest control? Some parameters, such as increased use of insecticides, should be considered problematic at much lower reporting thresholds because of MON 810 maize's insect resistance trait. Other questions, such as those on wildlife, are phrased in such a way as to provide no specific information on changes in wildlife biodiversity in and around the fields.

Lastly, the HCB Scientific Committee draws attention to a more general problem with these farmers' questionnaires. On the one hand, the farmers do not always have all the tools to answer the questionnaire properly, and, on the other, their replies may show strategic bias as it is not necessarily in their interest to provide accurate answers. To solve this twofold problem, the HCB Scientific Committee proposes basing general surveillance also on collection of information by trained personnel, in fields, on behalf of independent observation networks with well-defined methodologies, rather than mostly on the questionnaire method.

#### - **Review of scientific literature**

The HCB Scientific Committee is in agreement with Monsanto regarding its analysis of over 37 publications relating to MON 810 published since the last MON 810 monitoring report (from June 2012 to the beginning of June 2013). Monsanto concludes (*Monitoring report*, p. 18) :

*'The peer-reviewed literature demonstrates that MON 810 is as safe to human and animal health as its conventional counterpart and confirms that there is negligible impact from the cultivation of MON 810 on biodiversity, abundance, or survival of non-target species, and the environmental risk of MON 810 is considered to be negligible compared to conventional maize.'*

This conclusion accurately reflects the tenor of the publications reviewed. However, while the HCB Scientific Committee acknowledges that no formal evidence of adverse effects related to MON 810 has been produced to date, it stresses that absence of evidence of adverse effects cannot be taken to indicate absence of the effects themselves.

- **Monsanto stewardship measures**

Among the stewardship measures introduced by Monsanto, the HCB Scientific Committee notes that it has set up a system of alerts on environmental issues using existing monitoring networks. For this purpose, a list of existing networks was produced for Germany. However, these networks were not used in 2012 because MON 810 was not grown in Germany that year. Based on this example in Germany, the EuropaBio working group on monitoring has coordinated a more general effort to map existing environmental monitoring networks in Europe and set up a centralised reporting system for future monitoring.

While the HCB Scientific Committee has already had occasion to welcome this effort, which is in line with the latest EFSA guidance (EFSA, 2011) and its own repeated requests for centralisation of monitoring data, it regrets that the alert system is still not operational.

### **3. Conclusions**

The analysis in the Monsanto monitoring report reveals no major problems relating to MON 810 maize cultivation in 2012. However, the HCB Scientific Committee notes weaknesses in methodology and monitoring data analysis as well as refuge implementation. It stresses that the conclusions that can be drawn from the data presented are more limited than the report suggests, especially regarding possible development of resistance in target pests. It particularly recommends (1) resampling in 2013 (*i.e.* prior to 2014) the *O. nubilalis* populations sampled in 2012 in South-West Iberia in order to determine whether there is any increase in their level of resistance to the Cry1Ab toxin, (2) making sure that susceptibility of laboratory reference strains is stable, and (3) improving refuge compliance by MON 810 maize growers in Europe.

### **4. References**

EFSA (2011). Scientific Opinion on guidance on the Post-Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. The EFSA Journal 9 (8): 2316, 40 pp.

U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs (2010). Terms and Conditions for Bt Corn Registrations.