



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

ANEXO III

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Maíz genéticamente modificado (GM) MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 (MON87427 x MON89034 x NK603) que contiene la acumulación de los eventos MON-87427-7, MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6. Dicha acumulación presenta resistencia a ciertos insectos del orden Lepidoptera (conferida por MON-89Ø34-3) detallados en el presente documento y tolerancia a herbicidas formulados en base a glifosato (conferida por MON-ØØ6Ø3-6 y MON-87427-7). La solicitud fue presentada por la empresa Monsanto Argentina S.R.L. El presente Documento de Decisión incluye al maíz MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6, a las acumulaciones intermedias de los eventos, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier maíz no GM.

A partir del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscriptos, representantes de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y de la Dirección de Biotecnología acuerdan en dar por finalizada la Segunda Fase de Evaluación del maíz GM MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6. De esta evaluación, se concluye que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación del mencionado maíz GM en el agroecosistema, en cultivo a gran escala, no son significativamente diferentes de los inherentes al cultivo de maíz no GM.

El maíz MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6, que contiene la acumulación de los tres eventos de transformación individuales MON-87427-7, MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6, fue obtenido mediante cruzamiento convencional a partir de los eventos parentales. Los eventos MON-89Ø34-3, MON-ØØ6Ø3-6, y MON-87427-7 fueron evaluados oportunamente resultando en Documentos de Decisión favorables.

En Argentina el maíz MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 la CONABIA ha evaluado 4 (CUATRO) solicitudes de permisos para experimentación y/o liberación confinada al agroecosistema que han cumplido con la normativa vigente para los Organismos Vegetales Genéticamente Modificados (OVGM), y han sido autorizados por la



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP) y ha sido ensayado a campo en Argentina en 2013.

El presente Documento de Decisión incluye al maíz MON-87427-7 × MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6, a las acumulaciones intermedias de los eventos, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier maíz no GM.

I. ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombres común y científico: Maíz (*Zea mays L*)

2. Denominación de los eventos: MON-87427-7 × MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6

3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas

La acumulación de los eventos MON-87427-7 × MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presenta protección frente a ciertos insectos del orden Lepidoptera tales como *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa zea* y *Diatraea saccharalis*, otorgada por los productos de expresión de los genes *cry1A.105* y *cry2Ab2* (MON-89Ø34-3).

Por otro lado, la acumulación de eventos presenta tolerancia a herbicidas formulados en base a glifosato, resultado de la expresión del gen *cp4 epsps* aportado por los eventos MON-87427-7 y MON- ØØ6Ø3-6. Mientras que la proteína CP4 EPSPS producida a partir de este último evento se expresa constitutivamente en todos los tejidos de la planta, aquella generada por el evento MON-87427-7 se sintetiza en todo el vegetal a excepción de ciertos tejidos reproductivos masculinos claves para el desarrollo del polen en el maíz. En la acumulación de eventos co-existen las 2 copias del gen *cp4 epsps* con ambos patrones de expresión, por lo que la proteína CP4 EPSPS sintetizada a partir de la copia de expresión constitutiva enmascara la de expresión selectiva de la otra copia. De esta forma, no se manifiesta el fenotipo de androesterilidad al aplicar el herbicida sobre dicha acumulación de eventos. Por esta razón, el maíz MON-87427-7 × MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 es fenotípicamente equivalente al maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6.

La actividad insecticida de las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 se comprobó oportunamente en instancias de la evaluación de Segunda Fase del evento MON-89Ø34-3, resultando en Documento de Decisión favorable.



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Con la finalidad de evaluar la pérdida del fenotipo en la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 debido a la presencia simultánea de dos copias del gen *cp4 epsps*, se realizó un ensayo de dosis-respuesta en invernadero. Este consistió en la comparación del nivel de daño entre dicha acumulación de eventos y su contraparte convencional.

3.1. Modo de acción de los herbicidas

El glifosato actúa inhibiendo la enzima cloroplástica 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), la cual se encuentra involucrada en la ruta bioquímica del corismato y compuestos derivados (aminoácidos aromáticos, entre otros). De esta manera, el tratamiento con glifosato priva a las plantas de aminoácidos esenciales y de metabolitos secundarios, como el tetrahidrofolato, la ubiquinona y la vitamina K, necesarios para el crecimiento y normal desarrollo de la planta.

3.2. Especies blanco y características de las mismas

- *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

Es una de las plagas más importantes del cultivo de maíz en la Argentina, conocida como "barrenador del tallo". Tiene un potencial de merma de rendimiento del 10 - 20 % por daño fisiológico, a lo cual deben sumarse las eventuales pérdidas por caída de plantas y espigas. Las disminuciones en el rendimiento son ocasionadas por los daños que provocan las larvas al penetrar en el tallo. Cuando el ataque se produce sobre una planta joven, las larvas pueden dañar el brote terminal provocando su muerte. En plantas más desarrolladas, el efecto directo por la construcción de galerías produce disminución del rendimiento de la planta al cortar los haces vasculares y disminuir la conducción de fotoasimilados a la espiga. Los efectos indirectos consisten en el quebrado de plantas desde la fructificación a la cosecha, el ingreso de diversos patógenos, siendo la podredumbre del tallo (*Fusarium spp.* y *Sclerotium bataticola*) la enfermedad más común, y pérdidas durante la cosecha por caída de espigas como consecuencia del barrenado del pedúnculo y base de las mismas.

De acuerdo con numerosos estudios efectuados en nuestro país, *D. saccharalis* puede completar 3 a 4 generaciones por año en la región pampeana central. Las poblaciones de esta plaga aumentan desde la siembra hasta la cosecha de maíz.

La siembra directa ha posibilitado la mayor supervivencia de las larvas invernantes incrementado el potencial de daño de este insecto. Se ha determinado que en algunos rastrojos de maíz las larvas invernantes de *Diatraea* pueden alcanzar densidades muy



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

elevadas, lo cual representa un alto potencial de infestación de los adultos provenientes de los lotes infestados a los cultivos huéspedes vecinos.

- *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Es conocida comúnmente como "cogollero del maíz" u "oruga militar tardía". Es una plaga muy importante en los maíces de la zona NOA y NEA y en los maíces tardíos de la región pampeana. Fue declarada "Plaga Nacional" en 1988. El daño ocasionado por las larvas durante los primeros días de desarrollo de la planta puede causar la muerte de la planta si afecta el meristema apical. Durante el período subsiguiente de desarrollo vegetativo el daño generalmente se circunscribe al cogollo. En la última etapa del cultivo, puede afectar la panoja, barbas y granos.

- *Helicoverpa zea* (= *Heliothis zea*) (Lepidoptera: Noctuidae)

Esta plaga tiene impacto en los maíces de siembra tardía en la zona núcleo de la región pampeana. Luego del nacimiento en los estigmas o "barbas", las larvas penetran rápidamente en la parte superior de la espiga para alcanzar así los granos y el marlo tierno de los que se nutre, escapando no sólo de la acción de parásitos y predadores sino también de los insecticidas que se utilizan para su control. El daño normalmente se limita al extremo apical de la espiga. Esta plaga permite la entrada de diversos agentes patógenos que finalizan con el deterioro de la espiga.

3.3. Mecanismo de acción de los productos de expresión

Los mecanismos de acción de cada una de las proteínas responsables de conferir los fenotipos declarados, fueron evaluados oportunamente resultando en Documentos de Decisión favorables (MON-89Ø34-3, MON-ØØ6Ø3-6 y MON-87427-7). En esta sección se detallan brevemente.

a. Proteínas que confieren tolerancia a herbicidas

Las proteínas CP4 EPSPS, aportadas por los eventos MON-87427-7 y MON-ØØ6Ø3-6, son enzimas homólogas a la EPSPS endógena de maíz (y otras plantas y microorganismos) pero a diferencia de ésta, poseen mayor afinidad por su sustrato (fosfoenolpiruvato) que por el herbicida glifosato, permitiendo que la síntesis del corismato y



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

de los aminoácidos aromáticos continúe del mismo modo en que lo haría en ausencia del glifosato, siendo ésta la base para la tolerancia al herbicida.

b. Proteínas insecticidas

Las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 (MON-89Ø34-3) son toxinas con actividad insecticida que provienen de *Bacillus thuringiensis* y actúan sobre ciertas especies del orden Lepidoptera. Las proteínas Cry se almacenan como cristales parasporales durante la formación de la espora, Una característica importante de estas proteínas es que son inocuas para vertebrados. Su modo de acción depende del reconocimiento de la proteína por receptores altamente específicos presentes en las microvellosidades de las células intestinales de los insectos blanco. Posteriormente, dichas proteínas se insertan en la membrana formando un poro lítico que lleva al insecto a la muerte.

En instancias de la evaluación de Segunda Fase del evento MON-89Ø34-3, se demostró que el espectro de actividad de las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 se encuentra acotado al orden Lepidoptera.

4. Modificaciones genéticas introducidas:

4.1. Método de obtención del OVGM

El maíz MON-87427-7 × MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 es el resultado del cruzamiento convencional de variedades de maíz conteniendo los eventos individuales MON-87427-7, MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6.

Por su parte, los eventos parentales MON-87427-7 y MON-89Ø34-3 fueron obtenidos a través de transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, y el parental MON-ØØ6Ø3-6 fue obtenido mediante biobalística.

4.2. Secuencias introducidas

La información referente a todos los eventos parentales fue evaluada detalladamente en instancias de la evaluación de Segunda Fase de los eventos individuales, resultando en Documentos de Decisión favorables.

A continuación, se detallan los elementos genéticos responsables del fenotipo presente en cada uno de los eventos que forman parte de la acumulación objeto de esta solicitud y las proteínas que estos codifican:



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Evento	Elemento genético	Proteína
MON-87427-7	<i>cp4 epsps</i>	CP4 EPSPS
MON-89Ø34-3	<i>cry1A.105</i> <i>cry2Ab2</i>	Cry1A.105 Cry2Ab2
MON-ØØ6Ø3-6	<i>cp4 epsps</i>	CP4 EPSPS

4.3. Número de copias, integridad y/o rearrreglos dentro de los insertos y sus regiones flanqueantes.

Los resultados del análisis molecular mediante *Southern blot* confirman que, luego del proceso de cruzamiento convencional que dio origen a la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6, los insertos provenientes de los eventos parentales se mantuvieron íntegros y conservaron su *locus* en el genoma.

Por otra parte, la integridad y el número de copias de los insertos, los rearrreglos dentro de los mismos y en sus correspondientes regiones flanqueantes han sido evaluadas oportunamente en instancias de la evaluación de Segunda Fase de los eventos individuales resultando en Documentos de Decisión favorables en todos los casos. No se espera que éstas características hayan cambiado como consecuencia del cruzamiento convencional empleado para obtener la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6.

5. Método de Detección

La presencia de cada uno de los eventos parentales puede ser determinada experimentalmente mediante la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa o PCR (del inglés *Polymerase Chain Reaction*) utilizando cebadores específicos para cada evento. En este caso, el método se basa en la detección de la presencia simultánea de cada uno de los eventos parentales a partir de ADN extraído de una única muestra biológica.



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Productos de expresión de las secuencias introducidas

Durante la campaña 2014 se realizaron ensayos a campo en 5 localidades de Estados Unidos con el objetivo de evaluar los niveles de expresión de las proteínas presentes en la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 en comparación con los eventos parentales según corresponda. (Ver Tablas 1, 2 y 3).

Se analizaron diferentes muestras provenientes de la mencionada acumulación de eventos y de sus parentales (material de referencia), en distintos estadios del ciclo del cultivo: hoja (V3-V4 y VT), raíz (V3-V4) y forraje (R5), raíz de forraje (R5), polen (R1) y grano (R6). En todos los casos, los resultados de los niveles de expresión se indicaron como los valores promedio (y desvío estándar) a través de las 5 localidades.

Los niveles de expresión de las proteínas se determinaron mediante ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, del inglés *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Los resultados fueron expresados en microgramo (μg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco o al peso fresco.



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

Tabla 1: Niveles de expresión de la proteína CP4 EPSPS ($\mu\text{g/g}$, peso seco).

Tejido	Estadio de desarrollo	Media (DE) Rango ($\mu\text{g/g ps}$) ¹		
		MON 87427	NK603	MON 87427 × MON 89034 × NK603
Hoja	V2-V4	570 (220)	340 (110)	890 (270)
		250 – 970	130 – 480	470 – 1300
Grano	R6	4.4 (1.2)	5.6 (1.0)	9.2 (1.5)
		2.9 – 7.6	3.8 – 7.3	6.2 – 12
Polen	Polinización	< LC (NA)	350 (76)	330 (82)
		NA	210 – 470	130 – 460
Raíz	V2-V4	230 (62)	160 (90)	180 (73)
		78 – 350	59 – 320	89 – 330
Raíz de forraje	R5	69 (17)	25 (9.2)	87 (31)
		38 – 100	10 – 39	33 – 130
Planta entera	V10-V12	390 (150)	180 (52)	550 (160)
		65 – 650	93 – 270	340 – 880
Forraje	R5	120 (23)	56 (13)	170 (45)
		83 – 180	32 – 80	93 – 240

1. Niveles de proteína expresados como media aritmética y desvío estándar (D.E.) como microgramo (μg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores en peso seco fueron calculados dividiendo los $\mu\text{g/g pf}$ por el factor de conversión a peso seco que fue obtenido de los datos del análisis de humedad.

LC = límite de cuantificación; NA: no aplica; DE: desvío estándar



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Tabla 2: Niveles de expresión de la proteína Cry1A.105 ($\mu\text{g/g}$, peso seco).

Tejido	Estadio de desarrollo	Media (DE) Rango ($\mu\text{g/g ps}$) ¹	
		MON 89034	MON 87427 × MON 89034 × NK603
Hoja	V2-V4	210 (110)	190 (90)
		49 – 370	51 – 280
Grano	R6	3.9 (0.65)	4.4 (0.85)
		2.7 – 5.6	3.3 – 6.2
Polen	Polinización	8.4 (7.5)	6.8 (1.6)
		4.7 – 38	4.7 – 11
Raíz	V2-V4	47 (12)	41 (12)
		36 – 88	25 – 60
Raíz de forraje	R5	9.6 (1.7)	9.7 (2.1)
		6.8 – 14	5.9 – 13
Planta entera	V10-V12	61 (18)	50 (16)
		34 – 100	28 – 82
Forraje	R5	21 (5.8)	19 (5.3)
		10 – 31	11 – 31

1. Niveles de proteína expresados como media aritmética y desvío estándar (D.E.) como microgramo (μg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores en peso seco fueron calculados dividiendo los $\mu\text{g/g pf}$ por el factor de conversión a peso seco que fue obtenido de los datos del análisis de humedad.

LC = límite de cuantificación; NA: no aplica; DE: desvío estándar



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Tabla 3: Niveles de expresión de la proteína Cry2Ab2 ($\mu\text{g/g}$, peso seco).

Tejido	Estadio de desarrollo	Media (DE) Rango ($\mu\text{g/g ps}$) ¹	
		MON 89034	MON 87427 × MON 89034 × NK603
Hoja	V2-V4	150 (67)	140 (70)
		57 – 260	53 – 330
Grano	R6	1.7 (0.56)	1.6 (0.38)
		0.47 – 3.1	1.2 – 2.5
Polen	Polinización	0.78 (0.50)	0.60 (0.61)
		0.39 – 2.1	0.29 – 2.7
Raíz	V2-V4	50 (12)	61 (14)
		35 – 77	33 – 94
Raíz de forraje	R5	22 (7.3)	17 (5.6)
		5.1 – 36	6.2 – 25
Planta entera	V10-V12	32 (15)	25 (9.0)
		16 – 68	11 – 48
Forraje	R5	19 (5.1)	17 (5.4)
		8.5 – 29	9.0 – 30

1. Niveles de proteína expresados como media aritmética y desvío estándar (D.E.) como microgramo (μg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores en peso seco fueron calculados dividiendo los $\mu\text{g/g pf}$ por el factor de conversión a peso seco que fue obtenido de los datos del análisis de humedad.

LC = límite de cuantificación; NA: no aplica; DE: desvío estándar

Fuente tablas 1-3: Monsanto

Los niveles de expresión de las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 en las distintas muestras del maíz MON-87427-7 × MON-89034-3 × MON-00603-6 fueron consistentes con los niveles observados en el correspondiente evento parental MON-89034-3. (Ver tabla 2 y 3).

Por otro lado, el nivel de expresión de CP4 EPSPS es similar entre los eventos MON-00603-6 y MON-87427-7 excepto en grano de polen, debido a que ésta no se expresa en las células del *tapetum* y en las células madre de las microsporas del evento MON-87427-7 (fenotipo de androesterilidad). Consistentemente, para la acumulación de eventos, el nivel de expresión de la proteína CP4 EPSPS en grano de polen se corresponde con el observado para el evento MON-00603-6. Para el resto de las muestras, el nivel de expresión de la proteína CP4 EPSPS observado para la acumulación de eventos, es mayor que para los eventos individuales debido a que ésta se expresa en dos de los tres eventos que la componen. (Ver tabla 1).



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

Estos resultados confirman que la presencia simultánea de los productos de expresión introducidos en la acumulación de eventos, no modificó los niveles y patrones de expresión de cada uno de ellos respecto de los eventos parentales.

2. Análisis de interacción de los productos de expresión

Se analizó la posibilidad de interacción entre las proteínas CP4 EPSPS, Cry1A.105 y Cry2Ab2 en la acumulación de eventos considerando mecanismos de acción y niveles de expresión.

En primer lugar, a partir de la literatura científica, se sabe que la proteína que confiere tolerancia a herbicidas formulados en base a glifosato (CP4 EPSPS) y las proteínas insecticidas expresadas (Cry1A.105 y Cry2Ab2) actúan en rutas metabólicas diferentes.

En cuanto a los niveles de expresión de las proteínas en la acumulación de eventos, no se observaron cambios relevantes en comparación con los eventos parentales (Sección II, 1).

Estos resultados tomados en conjunto constituyen evidencia consistente para inferir que no existe interacción entre las 3 proteínas expresadas en la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6.

3. Formulación de posibles hipótesis de riesgo ambiental.

Cada uno de los eventos parentales fueron evaluados en instancia de solicitudes previas concluyendo en todos los casos que:

- a) son estables genética y fenotípicamente a lo largo de las generaciones;
- b) se transfieren a la progenie siguiendo un patrón de herencia mendeliano simple;
- c) no presentan riesgo de transferencia horizontal o intercambio de genes con otros organismos;
- d) expresan productos que carecen de potencial tóxico o alergénico;
- e) no han generado nuevos ORF que muestren características tóxicas o alergénicas y,



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

f) no presentan diferencias biológicamente relevantes en comparación a sus homólogos convencionales en lo referente a su comportamiento agronómico, capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación, interacciones agroecológicas, potencial impacto sobre organismos no blanco relevantes para el agroecosistema local, así como tampoco en el perfil composicional.

Como consecuencia de estas evaluaciones, se otorgaron Documentos de Decisión favorables para cada uno de los eventos parentales.

Además, debido a que la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 fue obtenida por cruzamiento convencional, no existen evidencias para suponer que se hayan modificado alguna de las mismas. Adicionalmente, se ha demostrado la ausencia de interacción entre los productos de expresión en la acumulación de eventos (Sección II, 2).

Finalizado el análisis del conjunto de esta información, no se han identificado hipótesis de riesgo asociadas a la presente acumulación de eventos, lo que constituye evidencia consistente para sostener que el maíz MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 no presentará efectos adversos sobre el agroecosistema.

4. Plan de Manejo de Resistencia de Insectos (MRI)

4.1. Propuesta de manejo para el retraso de la evolución de resistencia de los insectos:

El solicitante desarrolló un plan de manejo del maíz MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 con el fin de retrasar la selección de resistencia de las especies de Lepidópteros que ejercen mayor presión sobre el cultivo: *Diatraea saccharalis* y *Spodoptera frugiperda*. El mismo incluyó modelos de simulación predictivos de la durabilidad de la eficacia de acción, donde se tuvieron en cuenta diferentes escenarios. Dicho plan se integra dentro de una estrategia de Manejo Integrado de Plagas en la cual se contempla el uso de múltiples herramientas:

A. Rotación de cultivos

B. Monitoreo temprano de los lotes y mantenimiento del cultivo libre de malezas hospederas de la plaga.

C. Tratamiento de semillas según necesidades regionales.



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

D. Uso racional de insecticidas en un contexto de manejo integrado de plagas como complemento de la protección otorgada por las nuevas proteínas.

E. Preservación de los enemigos naturales.

F. Siembra, tipo y diseño espacial de refugio

Para extender la durabilidad de la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 se considera necesario implementar un refugio estructurado en bloque, utilizando al menos un 10% de la superficie con un material convencional o con tolerancia a herbicidas de ciclo igual o similar a la variedad Bt. La siembra debe ser realizada de manera que no haya más de 1500 m continuos de maíz sin refugio. En caso de aplicar insecticidas, deberá realizarse teniendo en cuenta los principios de MIP considerando el umbral de daño económico para cada plaga, no debiendo utilizarse en el refugio insecticidas microbianos a base de *Bacillus thuringiensis*.

El solicitante desarrollará un Plan de Comunicación y Capacitación para los productores que será definido previo al lanzamiento de la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 e incluirá: demostraciones a campo, capacitaciones, reuniones con productores, visitas a establecimientos, publicación de información en la página web y entrega de material conteniendo la información antes mencionada, entre otros.

4.2. Procedimientos a seguir ante la posible aparición de resistencia:

A. Canales de comunicación disponibles para el productor.

El solicitante se compromete a asesorar a los productores ante la suposición de una situación de daño no esperado en el cultivo, a través de los canales de ventas (distribuidores y vendedores) y de personal técnico presente en la zona. Sin perjuicio de lo anterior, ante la confirmación de resistencia en la plaga corresponde la notificación al SINAVIMO (SENASA).

B. Estudios y/o pasos para confirmar la resistencia.

En primer lugar, se confirmará el origen del daño observado, la identidad del material vegetal y la identificación taxonómica de la especie que cause el daño. Posteriormente, se realizará una evaluación de la susceptibilidad contra las dosis diagnóstico previamente



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

establecidas para cada una de las proteínas expresadas. Si se confirmara la supervivencia de los insectos frente a todas las proteínas se deberá estudiar que esta pérdida de susceptibilidad es heredada a las generaciones siguientes. Para cada proteína se realizará un ensayo de herencia, el cual tiene como objetivo evaluar si esta característica perdura en las generaciones siguientes y si su carácter es recesivo o dominante.

C. Acciones a tomar en caso de confirmarse la resistencia de insectos:

- i. Fijar objetivos de la estrategia de contención en función de la ecología y biología de la plaga en cuestión, las características geográficas, ambientales y productivas de la zona en donde se desarrolle la problemática. Asimismo, se establecerán alternativas para reducir y/o controlar el ecotipo resistente de la plaga. Si bien de acuerdo a la problemáticas se pueden desarrollar recomendaciones específicas, se citan sugerencias generales tales como el monitoreo de los cultivos, atención a los umbrales de daño, aplicaciones de insecticidas de ser superado el umbral, y todas las incluidas dentro de los principios de Buenas Prácticas de Manejo y de Manejo Integrado de Plagas en particular.
- ii. Trabajo con clientes y agencias de extensión. Se mantendrá informado de la situación y de las recomendaciones a los involucrados a través de comunicados o presentando información en reuniones y capacitaciones.
- iii. Seguimiento de las acciones propuestas a productores. Se realizarán recorridas y monitoreo de las zonas afectadas y reuniones informativas.
- iv. Comunicación con agencias regulatorias y gubernamentales pertinentes: se utilizarán los canales oficiales para la presentación de la información obtenida y las estrategias de manejo planeadas, de acuerdo a las competencias de cada agencia regulatoria y gubernamental involucrada en la problemática.