

## **SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN**

**Soja genéticamente modificada MON-87751-7 x MON-87701-2 x MON-87708-9 x MON-89788-1 (OCDE), aquí denominado MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 resultado del cruzamiento convencional de los eventos individuales MON87751, MON87701, MON87708 y MON89788, los cuales confieren resistencia a los insectos Lepidópteros detallados en el presente documento (MON87751 y MON 87701) y tolerancia a los herbicidas en base a glifosato (MON89788) y a dicamba (MON87708), presentada por Monsanto Argentina S.A.I.C.**

Sobre la base del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscriptos, miembros de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y de la Dirección de Biotecnología acuerdan dar por finalizada la Segunda Fase de Evaluación de la soja genéticamente modificada MON87751 y la soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788. De esta evaluación se concluye que los riesgos derivados de la liberación de las mencionadas sojas genéticamente modificadas (GM) al agroecosistema, en cultivo a gran escala, no difieren significativamente de los inherentes al cultivo de la soja no GM.

La soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 que contiene la acumulación de los cuatro eventos de transformación individualmente denominados MON87751, MON87701, MON87708 y MON89788, fue obtenida mediante cruzamiento convencional de los parentales conteniendo cada uno de los eventos de transformación.

La acumulación intermedia MON87701 x MON89788 obtuvo aprobación comercial en Argentina en el año 2012. Por su parte, la acumulación de eventos MON87708 x MON89788 obtuvo dictamen favorable de CONABIA en 2015.

La soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 ha sido ensayado a campo en Argentina desde 2012. Para tal fin fueron evaluadas por la CONABIA cuatro (4) solicitudes de permisos para experimentación y/o liberación confinada al agroecosistema que han cumplido con la normativa vigente para los OVGm, y han sido autorizados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP). Por su parte, la soja MON87751 ha sido ensayada a campo en Argentina desde 2010.

El presente Documento de Decisión incluye a la soja MON87751, la soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788, los eventos acumulados intermedios, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier soja no GM obtenido en forma convencional.

## **I. CARACTERIZACIÓN DEL ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)**

**1. Nombres común y científico:** Soja (*Glycine max* L. Merr.)

**2. Denominación de los eventos:**

- MON87751
- MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788

**3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas**

El evento MON87751 confiere a la planta de soja resistencia a insectos Lepidópteros, especialmente *Rachiplusia nu*, *Chrysodeixis includens* y *Anticarsia gemmatalis*, y a otras plagas de menor relevancia en soja como *Helicoverpa gelatopoeon* y *Spodoptera frugiperda*, mediante los productos de expresión de los genes *cry1A.105* y *cry2Ab2*.

El evento acumulado MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 confiere a la planta de soja resistencia a los insectos Lepidópteros detallados en el párrafo anterior, mediante los productos de expresión de los genes *cry1A.105*, *cry2Ab2* y *cry1Ac* aportados por los eventos MON 87751 y MON87701. Además, el mencionado evento acumulado confiere tolerancia a los herbicidas glifosato y dicamba, otorgada por los productos de expresión de los genes *cp4-epsps* (MON89788) y *dmo* (MON87708) respectivamente.

**3.1. Descripción de los herbicidas**

El glifosato es un herbicida de amplio espectro y no residual. Es inhibidor de la enzima cloroplástica 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS).

El dicamba es un herbicida selectivo para malezas dicotiledóneas, y pertenece a la clase de agonistas auxínicos. Es eficaz sobre múltiples especies resistentes o difíciles de controlar con herbicidas a base de glifosato, como las pertenecientes a los géneros *Viola*, *Commelina* y *Conyza*.

Su aplicación puede ser realizada desde preemergencia hasta la etapa reproductiva temprana R1/R2 del cultivo.

Adicionalmente, la posibilidad del uso de dicamba en soja, proveerá un nuevo modo de acción a los programas actuales de manejo de malezas. Esta nueva tecnología representa una alternativa para retrasar el avance de la resistencia de malezas a glifosato y a otros herbicidas utilizados en el cultivo de soja.

### **3.2. Especies blanco más relevantes y características de las mismas**

- *Rachiplusia nu* (Lepidoptera:Noctuidae)

Comúnmente llamada “isoca u oruga medidora”. En Argentina, su área de distribución comprende desde el Norte del país hasta el Sur de la Provincia de Buenos Aires. En la región central tiene de 2 a 3 generaciones por año.

Es una plaga polífaga que generalmente inicia las infestaciones a partir de mediados de diciembre y alcanza los máximos niveles en enero y febrero. En estadios avanzados de la oruga ataca el tercio superior del canopeo consumiendo todo el parénquima de las hojas sin dañar las nervaduras. Las orugas del último estadio son las que provocan los mayores daños. Pasa el invierno en la hojarasca en forma de pupa. El estadio adulto posee capacidad migratoria.

Si bien se presenta en altas densidades poblacionales en el cultivo de soja en la zona norte de nuestro país, en las últimas campañas agrícolas se observó un gran incremento en la abundancia de larvas de esta especie en la región central de Argentina.

- *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera:Noctuidae)

También llamada falsa oruga medidora. En Argentina su presencia es predominante en el Centro-Norte del país. Es una especie polífaga que presenta 4 generaciones por año.

Las larvas consumen las hojas del estrato medio e inferior del cultivo, sin alimentarse de las nervaduras, de esta manera contribuyen en la reducción del área foliar.

Debido a sus hábitos de consumo, se dificulta la llegada de las aplicaciones de insecticidas químicos para su control y se ha registrado una disminución en la susceptibilidad a diversos grupos de insecticidas sintéticos. En las últimas campañas agrícolas, en ciertas localidades de la región central del país, esta plaga presentó una abundancia poblacional elevada causando importantes daños económicos.

- *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera:Noctuidae)

La Isoca de las leguminosas es una especie polífaga, migratoria y tiene entre 2 a 5 generaciones al año.

Las larvas se alimentan principalmente de hojas, aunque también pueden consumir de forma parcial o total las vainas tiernas o semillas en llenado. Afecta mayormente al cultivo de soja en estado reproductivo, produciendo daños rápidos e intensos en hojas y vainas con granos en formación.

Es una plaga que se encuentra durante todas las campañas agrícolas en altas densidades sobre el cultivo de soja. Si bien la presión de esta plaga es muy alta en el Norte del país, en la zona central es también causante de importantes daños económicos. Normalmente inicia sus ataques en el Norte argentino en enero y luego se dispersa hacia el sur (región central del país), produciendo su pico poblacional generalmente en marzo-abril.

- *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera:Noctuidae)

La oruga bolillera es una plaga polífaga que se encuentra ampliamente distribuida en la región sojera Argentina. Presenta dos a tres generaciones anuales en la Región Pampeana, y cuatro o cinco generaciones en el Norte del país.

Las larvas se alimentan de las partes tiernas de la planta y puede atacar en varios momentos del ciclo, causando mayores daños durante los estadios reproductivos del cultivo. Los ataques más severos y frecuentes ocurren en enero, especialmente en los cultivos de siembra tardía, en condiciones de sequía y altas temperaturas.

*Helicoverpa gelotopoeon* es una especie esporádica en el cultivo de soja pero que en ciertas regiones y campañas produce un gran impacto en el desarrollo de los cultivos, principalmente en períodos de estrés hídrico.

El uso de MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 como parte de un plan integral de manejo de resistencia de insectos (Plan de MRI) es una estrategia a largo plazo para controlar la presión ejercida por los insectos plagas mencionados anteriormente, permitiendo evitar mermas en el rendimiento del cultivo de soja.

### **3.3. Mecanismo de acción de los productos de expresión**

#### **3.3.1. Evento MON87751**

Las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 aportadas por el evento MON87751, provienen de *Bacillus thuringiensis* y son endotoxinas con actividad insecticida sobre ciertas especies del Orden Lepidoptera.

Una característica importante de las proteínas Cry producidas por *B. thuringiensis* es que son altamente específicas e inocuas para vertebrados. Su modo de acción depende del reconocimiento de la proteína por receptores altamente específicos presentes en la microvellosidad de las células intestinales de los insectos blanco. Posteriormente, éstas se insertan en la membrana formando un poro lítico que lleva al insecto a la muerte.

Se demostró experimentalmente que el espectro de actividad de las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 se encuentra acotado al Orden Lepidoptera y que se comportan con modos de acción independientes.

### **3.3.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788**

Las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2 y Cry1Ac aportadas por los eventos MON87751 y MON87701 respectivamente, son endotoxinas con actividad insecticida provenientes de *Bacillus thuringiensis*. Este tipo de proteínas actúa de manera análoga a las descritas en la sección anterior.

La proteína CP4 EPSPS del evento MON89788, es una enzima homologa a la EPSPS endógena de soja (y otras plantas y microorganismos), y se encuentra involucrada en la ruta bioquímica del corismato y los compuestos derivados (aminoácidos aromáticos, entre otros). El glifosato es un herbicida de amplio espectro que inhibe a la EPSPS endógena de las plantas causando la interrupción de la síntesis de aminoácidos aromáticos. A diferencia de la EPSPS endógena, CP4 EPSPS posee mucha mayor afinidad por su sustrato (fosfoenolpiruvato) que por el herbicida, permitiendo que la síntesis del corismato y aminoácidos aromáticos continúe del mismo modo en que lo haría en ausencia del glifosato, siendo ésta la base para la tolerancia al herbicida.

La proteína DMO, aportada por el evento MON87708, es una enzima con función oxigenasa y forma parte de un sistema de tres componentes que cataliza la desmetilación de dicamba convirtiéndolo en ácido 3,6-diclorosalicílico (DCSA), un compuesto sin actividad herbicida, y formaldehído.

Los mecanismos de acción de cada una de las proteínas presentes en el evento acumulado responsables de conferir los fenotipos declarados, fueron evaluados en detalle en instancias de la solicitud de liberación comercial de los eventos individuales, resultando en Documentos de

Decisión favorables en todos los casos (excepto el evento MON87751 cuya evaluación forma parte del presente Documento de Decisión).

#### 4. Modificaciones genéticas introducidas:

##### 4.1. Método de obtención del OVGM

La soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 es el resultado del cruzamiento convencional de variedades de soja conteniendo los eventos individuales MON87751, MON87701, MON87708 y MON89788.

Los eventos parentales MON87701, MON87708, MON89788 y MON87751 han sido obtenidos mediante transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

##### 4.2. Secuencias introducidas

La información referente a los eventos MON89788, MON87701 y MON87708 ya fue evaluada oportunamente en instancias de la solicitud de liberación comercial de los eventos individuales, resultando en Documentos de Decisión favorables en todos los casos.

##### 4.2.1. Evento MON87751

Elemento genético	Descripción	Función
RB	Borde derecho ( <i>Right Border</i> ) de plásmido Ti de <i>A. tumefaciens</i> .	Secuencia requerida para la transferencia del ADN-T al genoma de la célula vegetal.
P-Act2	Secuencias del promotor, líder e intrón del gen <i>act2</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Dirige la transcripción en las células de la planta. Promotor constitutivo.
Ts-CTP2	Secuencia de localización del gen <i>shkG</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Codifica la región péptido tránsito al cloroplasto, que dirige el transporte de la proteína CP4 EPSPS al cloroplasto.
CS-cry2Ab2	Secuencia codificante de la proteína Cry2Ab2 de <i>Bacillus thuringiensis</i> .	Codifica una toxina activa que provee a la planta protección frente al ataque de insectos Lepidópteros.
T-Mt	Secuencia de la región 3' no traducible del gen <i>OsMt</i> de arroz ( <i>Oryza sativa</i> ) codificante de la proteína del tipo	Dirige la poliadenilación del ARNm, señal para la terminación de la transcripción.

	metalotioneina.	
P-RbcS4	Promotor y líder de la familia génica <i>rbcS</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> codificante de la unidad pequeña <i>ats1</i> .	Dirige la transcripción en las células de la planta. Promotor constitutivo.
Ts-RbcS4	Secuencia de localización de la familia génica <i>rbcS</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> codificante de la unidad pequeña <i>ats1</i> que dirige el transporte de la proteína al cloroplasto.	Dirige el transporte de la proteína al cloroplasto.
CS-cry1A.105	Secuencia codificante para la proteína Cry1Ab.105 que es una proteína quimérica entre Cry1Ab, Cry1F y Cry1Ac de <i>Bacillus thuringiensis</i>	Codifica una toxina activa que provee a la planta protección frente al ataque de insectos Lepidópteros.
T-Pt1	Secuencia de la región 3' no codificante del gen <i>PT1</i> de alfalfa ( <i>Medicago truncatula</i> ) codificante del transportador de fosfato.	Dirige la poliadenilación del ARNm, señal para la terminación de la transcripción.
LB	Borde izquierdo ( <i>Left Border</i> ) del plásmido Ti de <i>A. tumefaciens</i> .	Secuencia requerida para la transferencia del ADN-T al genoma de la célula vegetal.

### 4.3. Número de copias, integridad y/o rearrreglos dentro de los insertos

#### 4.3.1 Evento MON87751

Mediante secuenciación de nueva generación (del inglés *Next Generation Sequencing*, NGS) en conjunto con un análisis bioinformático para detectar las secuencias de unión entre el inserto y el genoma de la planta (*Junction Sequence Analysis*, JSA), se determinó que los genes y las secuencias regulatorias insertadas (sección I 4.2.1.) se encuentran formando parte de un solo inserto en un único locus en el genoma nuclear de la soja MON87751.

La integridad del ADN-T se verificó mediante secuenciación directa del locus de inserción y posterior análisis bioinformático. Los resultados confirman que la organización de los elementos genéticos conservó la misma disposición dentro del inserto con respecto a las posiciones originales de dichos elementos en el vector de transformación. Los extremos del inserto corresponden a las secuencias remanentes del borde derecho e izquierdo del plásmido Ti como es de esperar para una transformación mediada por *A. tumefaciens*.

Por último, el análisis bioinformático a partir de los datos obtenidos mediante NGS demostró que no se introdujo en el genoma de la planta ningún otro elemento del vector de transformación que estuviera ubicado por fuera de la región del ADN-T.

#### **4.3.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788**

En cada uno de los eventos individuales, los genes y secuencias regulatorias insertadas se encuentran formando parte de un solo inserto en un único locus cromosómico. La integridad de cada uno de los insertos ha sido verificada experimentalmente y evaluada oportunamente en instancias de la solicitud de liberación comercial de los eventos individuales.

La integridad de los insertos en el evento acumulado se analizó comparando las secuencias de los insertos más regiones flanqueantes de los eventos parentales con las correspondientes secuencias en el evento acumulado. Los resultados del análisis de secuencias demuestran que, durante la obtención del evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 por cruzamiento convencional, los insertos provenientes de los eventos parentales se mantuvieron íntegros y conservaron su locus en el genoma.

#### **4.4. Regiones flanqueantes a los insertos**

##### **4.4.1. Evento MON87751**

Mediante secuenciación directa del locus de inserción se determinaron las secuencias flanqueantes al inserto. Según el mapa genómico de soja, la inserción del ADN-T se produjo en el cromosoma 2 del genoma de la soja MON87751.

Adicionalmente, se comparó la secuencia de las regiones flanqueantes de la soja MON87751 con la secuencia genómica del sitio de inserción de la soja convencional. El alineamiento de secuencias reveló una delección de 16 pb en la región 5' flanqueante al inserto. Asimismo, se identificó una delección de 7 pb y una inserción de 1 pb en el sitio de inserción como consecuencia del proceso de integración del ADN-T en el genoma de MON87751.

Por otro lado, se comparó la secuencia nucleotídica del sitio de inserción en el genoma de la soja convencional contra la base de datos EST (*Expressed Sequence Tag*) y la base de datos de nucleótidos no redundante, ambas de GenBank, utilizando el algoritmo BLASTn. Además, se utilizó la base de datos no redundante de secuencias aminoacídicas del GenBank con el algoritmo BLASTx. Los resultados indicaron que es improbable que se hayan interrumpido genes o secuencias regulatorias endógenas biológicamente relevantes en el sitio de inserción.

#### **4.4.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788**

A partir de la evaluación de las regiones flanqueantes de cada uno de los insertos en los eventos parentales se sabe que, el ADN-T del evento MON87751 se integró en el cromosoma 2, el ADN-T del evento MON87701 se integró en el cromosoma 3, ADN-T del evento MON87708 se integró en el cromosoma 6 y el ADN-T del evento MON89788 se integró en el cromosoma 1.

Dado que el evento acumulado se obtuvo mediante cruzamiento convencional y que los insertos provenientes de los eventos parentales se mantuvieron íntegros y conservaron su locus en el genoma (sección I 4.3.2.), no se espera que las regiones flanqueantes hayan cambiado en el evento acumulado.

### **5. Detección**

#### **5.1. Evento MON87751**

La presencia del evento MON87751 puede ser determinada experimentalmente mediante la técnica molecular de PCR (del inglés *Polymerase Chain Reaction*) utilizando oligos específicos para el evento y analizando muestras de semilla/grano, hoja, forraje y todo subproducto que contenga ADN de soja con un mínimo grado de integridad que permita su amplificación.

#### **5.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788**

La presencia de cada uno de los eventos parentales puede ser determinada experimentalmente mediante PCR. Para el evento acumulado, el método se basa en la detección de la presencia simultánea de cada uno de los eventos parentales a partir de ADN extraído de muestras de semilla/grano, forraje y todo subproducto que contenga ADN de soja con un mínimo grado de integridad que permita su amplificación.

## **II. EVALUACIÓN DE RIESGO**

### **1. Estabilidad genética y fenotípica**

#### **1.1. Evento MON87751**

La estabilidad genética del evento MON87751 se verificó experimentalmente a lo largo de cinco generaciones mediante secuenciación de nueva generación y posterior análisis bioinformático utilizando JSA. Se determinó que los genes introducidos en dicho evento están

ligados en un único locus de inserción en el genoma nuclear y que segregan según herencia mendeliana simple.

La estabilidad fenotípica se verificó en cuatro generaciones de cultivo mediante estudios confinados de eficacia de la actividad insecticida del evento contra las especies blanco mencionadas en la sección I, 3.2.

## **1.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788**

Se demostró previamente que los eventos parentales son genética y fenotípicamente estables. Cada uno de los insertos sigue un patrón de herencia mendeliana simple, comportándose como un locus cromosómico único.

Por otro lado, se comprobó que luego del cruzamiento convencional los insertos se mantuvieron íntegros y conservaron su locus en el genoma del evento acumulado (sección I 4.3.2.).

La estabilidad fenotípica de tolerancia a los herbicidas dicamba y glifosato fue evaluada oportunamente en ensayos confinados en instancias de la solicitud de liberación comercial del evento de soja MON87708 x MON89788, resultando en un Documento de Decisión favorable. Asimismo, se realizaron ensayos de laboratorio y confinados, llevados a cabo con insectos Lepidópteros blanco mencionados en la sección I 3.2., demostrando la actividad insecticida contra los mismos en cuatro generaciones del cultivo.

## **2. Productos de expresión de las secuencias introducidas**

### **2.1. Evento MON87751**

Tanto el gen *cry1A.105* como el gen *cry2Ab2* se expresan en todos los tejidos de la planta, bajo la regulación de promotores constitutivos. Para determinar los niveles de expresión de las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 en la soja MON87751 se tomaron muestras durante el año 2012 en 5 localidades de Estados Unidos. Se analizaron tejidos de hoja en cuatro estadios a lo largo de la campaña (V3-V4, V5-V7, R2-R3 y R6), raíz, semilla, forraje y tejidos de polen/antera. Los niveles de expresión de dichas proteínas se determinaron mediante ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, del inglés *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Los resultados fueron expresados en microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Luego se midió el contenido de humedad en cada tejido (a excepción de polen/anteras) y los niveles de proteínas (excepto para polen/antera) fueron convertidos y reportados en base al peso seco (ps) (Tabla 1 y Tabla 2).

**Tabla 1:** Niveles de expresión de la proteína Cry1A.105 en diferentes tejidos del evento MON87751.

Tejido	Estadio de desarrollo <sup>1</sup>	Media (DE) Rango (µg/g pf) <sup>2</sup>	Media (DE) Rango (µg/g ps) <sup>3</sup>	LC/LD <sup>4</sup> (µg/g pf)
Hoja	V3-V4	130 (50) 61 - 220	580 (250) 260 - 1100	1.500/0.406
Hoja	V5-V7	120 (54) 13 - 220	590 (270) 68 - 1100	1.500/0.406
Hoja	R2-R3	79 (45) 8.5 - 160	400 (220) 50 - 780	1.500/0.406
Hoja	R6	230 (82) 120 - 480	790 (280) 430 - 1600	1.500/0.406
Raíz	R6	<LD (N/A) N/A - N/A	N/A (N/A) N/A - N/A	0.563/0.322
Forraje	R6	62 (21) 31 - 110	230 (91) 110 - 440	1.500/0.524
Semilla	R8	2.1 (0.46) 1.5 - 2.9	2.4 (0.50) 1.7 - 3.2	0.900/0.226
Polen/Antera	R2	11 (N/A) N/A - N/A	NA (N/A) N/A - N/A	1.500/ND <sup>5</sup>

<sup>1</sup>Estadio de desarrollo en que fue colectado cada tejido.

<sup>2</sup>Niveles proteicos expresados como la media aritmética y desvío estándar (DE) en microgramos de proteína (µg) por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, DE y rangos (valores mínimos y máximos) se calcularon para cada tejido a través de todas las localidades (n=20 para todos los tejidos excepto hoja V3-V4 que tuvo n=19 debido a que una muestra arrojó <LD y polen n=1).

N/A: No Aplicable.

<sup>3</sup>Niveles proteicos expresados como la media aritmética y desvío estándar (DE) en microgramos de proteína (µg) por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco han sido calculados dividiendo los µg/g pf por los factores de conversión de peso seco obtenidos de los datos del análisis de humedad.

<sup>4</sup>LC = límite de cuantificación; LD = límite de detección.

<sup>5</sup>ND = No Determinado. El LD en polen y antera no fue determinado debido a insuficiente cantidad de tejido.

Fuente: MONSANTO Argentina S.A.I.C.

**Tabla 2:** Niveles de expresión de la proteína Cry2Ab2 en diferentes tejidos del evento MON87751.

Tejido	Estadio de desarrollo <sup>1</sup>	Media (DE) Rango (µg/g pf) <sup>2</sup>	Media (DE) Rango (µg/g ps) <sup>3</sup>	LC/LD <sup>4</sup> (µg/g pf)
Hoja	V3-V4	5.4 (0.74) 4.4 – 6.8	24 (5.9) 17 - 37	0.625/0.034
Hoja	V5-V7	5.2 (0.70) 4.0 – 6.6	26 (3.1) 20 - 33	0.625/0.034
Hoja	R2-R3	6.3 (0.80) 5.2 – 8.0	32 (5.2) 25 – 43	0.625/0.034
Hoja	R6	6.9 (0.79) 5.5 – 8.5	24 (2.7) 18 - 29	0.625/0.034
Raíz	R6	4.6 (1.0) 3.1 – 7.1	15 (2.7) 11 - 22	1.250/1.241
Forraje	R6	3.9 (0.60) 3.0 – 5.1	14 (2.2) 11 - 18	0.313/0.060
Semilla	R8	3.6 (0.71) 2.3 – 4.7	4.0 (0.77) 2.6 – 5.1	0.313/0.094
Polen/Antera	R2	7.7 (N/A) N/A – N/A	N/A (N/A) N/A – N/A	0.313/ND <sup>5</sup>

<sup>1</sup>Estadio de desarrollo en que fue colectado cada tejido.

<sup>2</sup>Niveles proteicos expresados como la media aritmética y desvío estándar (DE) en microgramos de proteína (µg) por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, DE y rangos (valores mínimos y máximos) se calcularon para cada tejido a través de todas las localidades (n=20 para todos los tejidos excepto en hoja V3-V4 que tuvo n=19 debido a que una muestra arrojó <LD y polen n=1).

N/A: No Aplicable.

<sup>3</sup>Niveles proteicos expresados como la media aritmética y desvío estándar (DE) en microgramos de proteína (µg) por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco han sido calculados dividiendo los µg/g pf por los factores de conversión de peso seco obtenidos de los datos del análisis de humedad.

<sup>4</sup>LC = límite de cuantificación; LD = límite de detección.

<sup>5</sup>ND = No Determinado. El LD en polen y antera no fue determinado debido a insuficiente cantidad de tejido.

Fuente: MONSANTO Argentina S.A.I.C.

## 2.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788

Para determinar los niveles de expresión de las proteínas presentes en el evento acumulado se colectaron muestras en un ensayo a campo realizado en 5 localidades representativas de la zona de producción comercial de soja de Estados Unidos durante el año 2013. Se analizaron tejidos de hoja en cuatro estadios a lo largo de la campaña (V3-V4, V4-V7, R2-R3, R6), raíz, forraje y semilla. Los niveles de expresión se cuantificaron mediante la técnica de ELISA y los valores fueron expresados en microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Luego se midió el contenido de humedad en cada tejido y los niveles de proteínas fueron convertidos y reportados en base al peso seco (ps).

No se observaron diferencias significativas en los niveles de expresión de las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ac, DMO y CP4 EPSPS (Tabla 3, Tabla 4, Tabla 5, Tabla 6 y Tabla 7 respectivamente) en los distintos tejidos del evento acumulado en comparación con los eventos parentales.

**Tabla 3:** Niveles de expresión de la proteína Cry1A.105 en diferentes tejidos de: **(a)** el evento acumulado MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 y **(b)** el control parental MON87751.

a)

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapas de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango ( $\mu\text{g/g pf}$ ) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango ( $\mu\text{g/g ps}$ ) <sup>4</sup>	LC/LD ( $\mu\text{g/g pf}$ ) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3 - V4	75 (28) 38 - 130	400 (150) 120 - 690	1,500/0,406
Hoja 2	V4 - V7	42 (36) 13 - 120	210 (160) 60 - 540	1,500/0,406
Hoja 3	R2 - R3	81 (48) 31 - 190	520 (270) 190 - 1100	1,500/0,406
Hoja 4	R6	310 (88) 150 - 510	1200 (410) 610 - 2100	1,500/0,406
Raíz	R6	< LC (N/A) N/A - N/A	N/A (N/A) N/A - N/A	0,563/0,322
Forraje	R6	95 (42) 31 - 210	340 (160) 100 - 760	1,500/0,523
Semilla	R8	3,4 (0,86) 2,1 - 5,2	3,7 (0,94) 2,3 - 5,7	0,900/0,226

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapas de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20). Todas las muestras de raíces tuvieron < LC excepto una muestra que contuvo un nivel de proteína de 2,0  $\mu\text{g/g ps}$ . N/A: No aplicable.

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo  $\mu\text{g/g pf}$  por el factor de conversión del peso seco obtenido del análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= límite de cuantificación; LD= límite de detección.

b)

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapa de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango (µg/g pf) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango (µg/g ps) <sup>4</sup>	LC/LD (µg/g pf) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3-V4	52 (34) 8.0-110	250 (140) 42-550	1.500/0.406
Hoja 2	V4- V7	44 (26) 14-130	230 (130) 61-570	1.500/0.406
Hoja 3	R2-R3	54 (26) 14-120	350 (150) 94-690	1.500/0.406
Hoja 4	R6	380 (170) 190-760	1,500 (700) 720-3,100	1.500/0.406
Raíz	R6	<LD (N/A) N/A – N/A	N/A (N/A) N/A – N/A	0.563/0.322
Forrage	R6	110 (43) 25-200	380 (160) 80-750	1.500/0.523
Semilla	R8	3.6 (1.2) 2.2-6.8	4.0 (1.3) 2.3-7.4	0.900/0.226

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapa de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20, excepto en Hoja 1 donde n=19 debido a que una de las muestras tuvo valores <LD). N/A: No aplicable.

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo µg/g pf por el factor de conversión del peso seco obtenido del análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= limite de cuantificación; LD= limite de detección.

Fuente: MONSANTO Argentina S.A.I.C.

**Tabla 4:** Niveles de expresión de la proteína Cry2Ab2 en diferentes tejidos de: **(a)** el evento acumulado MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 y **(b)** el control parental MON87751.

**a)**

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapas de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango (µg/g pf) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango (µg/g ps) <sup>4</sup>	LC/LD (µg/g pf) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3 - V4	1,8 (0,63) 0,80 - 3,1	9,8 (4,7) 2,5 - 17	0,625/0,034
Hoja 2	V4 - V7	3,5 (0,90) 1,7 - 4,9	19 (6,4) 7,6 - 30	0,625/0,034
Hoja 3	R2 - R3	3,3 (0,86) 1,5 - 4,6	22 (5,0) 12 - 31	0,625/0,034
Hoja 4	R6	3,3 (0,61) 2,5 - 5,3	13 (2,3) 8,8 - 18	0,625/0,034
Raíz	R6	2,4 (0,93) 1,4 - 5,5	7,7 (2,9) 4,4 - 17	1,250/1,241
Forraje	R6	1,6 (0,29) 1,1 - 2,2	5,6 (1,0) 3,4 - 7,5	0,313/0,060
Semilla	R8	2,4 (0,93) 1,0 - 4,4	2,6 (1,0) 1,1 - 4,8	0,313/0,094

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapas de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20 excepto en raíz donde n=16, debido a que una muestra expresa < LD).

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo µg/g pf por el factor de conversión del peso seco obtenido del análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= límite de cuantificación; LD= límite de detección.

b)

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapa de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango ( $\mu\text{g/g pf}$ ) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango ( $\mu\text{g/g ps}$ ) <sup>4</sup>	LC/LD ( $\mu\text{g/g pf}$ ) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3-V4	2.3 (0.99) 0.89-3.9	12 (5.0) 4.7-21	0.625/0.034
Hoja 2	V4- V7	3.3 (0.92) 1.9-4.8	18 (6.2) 8.4-29	0.625/0.034
Hoja 3	R2-R3	2.6 (0.81) 1.1-3.9	17 (3.9) 9.4-22	0.625/0.034
Hoja 4	R6	3.5 (1.5) 1.9-6.6	13 (5.1) 8.0-23	0.625/0.034
Raiz	R6	2.0 (0.63) 1.4-3.7	6.6 (2.2) 3.9-12	1.250/1.241
Forraje	R6	1.5 (0.37) 1.0-2.3	5.4 (1.4) 3.3-8.2	0.313/0.060
Semilla	R8	1.9 (0.75) 1.1-4.1	2.1 (0.81) 1.2-4.5	0.313/0.094

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapa de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20, excepto en Hoja 1y en Raiz donde n=19 debido a que en cada caso una de las muestras tuvo valores <LD).

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo  $\mu\text{g/g pf}$  por el factor de conversión del peso seco obtenido del análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= límite de cuantificación; LD= límite de detección.

Fuente: MONSANTO Argentina S.A.I.C.

**Tabla 5:** Niveles de expresión de la proteína Cry1Ac en diferentes tejidos de: **(a)** el evento acumulado MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 y **(b)** el control parental MON87701.

a)

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapas de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango (µg/g pf) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango (µg/g ps) <sup>4</sup>	LC/LD (µg/g pf) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3 - V4	53 (13) 28 - 78	290 (120) 85 - 480	2,500/1,860
Hoja 2	V4 - V7	46 (23) 20 - 92	240 (110) 97 - 500	2,500/1,860
Hoja 3	R2 - R3	86 (28) 43 - 140	560 (140) 350 - 780	2,500/1,860
Hoja 4	R6	530 (210) 260 - 1100	2000 (930) 890 - 4600	2,500/1,860
Raíz	R6	< LC (N/A) N/A - N/A	N/A (N/A) N/A - N/A	0,400/0,348
Forraje	R6	27 (9,1) 14 - 49	96 (36) 49 - 180	2,000/1,104
Semilla	R8	6,5 (1,3) 5,0 - 10	7,1 (1,4) 5,5 - 11	1,000/0,470

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapas de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20). N/A: No aplicable.

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo µg/g pf por el factor de conversión del peso seco obtenido del análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= límite de cuantificación; LD= límite de detección.

b)

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapas de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango (µg/g pf) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango (µg/g ps) <sup>4</sup>	LC/LD (µg/g pf) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3-V4	44 (16) 17-68	230 (95) 88-380	2.500/1.860
Hoja 2	V4- V7	94 (42) 36-200	490 (210) 220-920	2.500/1.860
Hoja 3	R2-R3	84 (28) 46-140	550 (150) 290-800	2.500/1.860
Hoja 4	R6	440 (110) 280-700	1,700 (490) 1,000-2,900	2.500/1.860
Raíz	R6	<LD (N/A) N/A – N/A	N/A (N/A) N/A – N/A	0.400/0.348
Forraje	R6	55 (38) 25-170	200 (150) 89-660	2.000/1.104
Semilla	R8	5.9 (0.92) 4.3-8.4	6.5 (1.0) 4.7-9.1	1.000/0.470

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapas de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20). N/A: No aplicable.

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo µg/g pf por el factor de conversión del peso seco obtenido del análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= limite de cuantificación; LD= limite de detección.

Fuente: MONSANTO Argentina S.A.I.C.

**Tabla 6:** Niveles de expresión de la proteína DMO en diferentes tejidos de: **(a)** el evento acumulado MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 y **(b)** el control parental MON87708.

**a)**

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapa de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango (µg/g pf) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango (µg/g ps) <sup>4</sup>	LC/LD (µg/g pf) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3 - V4	4,4 (3,2) 0,79 - 13	20 (12) 6,1 - 46	0,626/0,200
Hoja 2	V4 - V7	2,1 (1,1) 0,74 - 4,7	12 (6,9) 4,0 - 29	0,626/0,200
Hoja 3	R2 - R3	2,3 (0,82) 0,84 - 3,9	15 (4,7) 6,9 - 25	0,626/0,200
Hoja 4	R6	6,0 (5,9) 2,3 - 30	23 (20) 8,0 - 100	0,626/0,200
Raíz	R6	0,96 (0,86) 0,20 - 3,6	3,2 (2,9) 0,57 - 13	0,031/0,015
Forraje	R6	5,0 (1,2) 3,6 - 8,7	18 (4,0) 13 - 28	0,626/0,100
Semilla	R8	11 (3,1) 6,4 - 17	12 (3,5) 6,9 - 18	1,252/0,212

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapa de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20). N/A: No aplicable.

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo µg/g pf por el factor de conversión del peso seco obtenido de los análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= límite de cuantificación; LD= límite de detección.

b)

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapa de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango (µg/g pf) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango (µg/g ps) <sup>4</sup>	LC/LD (µg/g pf) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3-V4	2.5(1.3) 1.3-5.5	13(7.4) 5.3-29	0.626/0.200
Hoja 2	V4- V7	2.2(0.96) 0.72-4.0	12(6.1) 3.2-25	0.626/0.200
Hoja 3	R2-R3	3.9(2.2) 1.7-11	25(13) 11-67	0.626/0.200
Hoja 4	R6	7.6(2.9) 4.6-18	29(13) 16-76	0.626/0.200
Raiz	R6	0.34(0.13) 0.11-0.58	1.0(0.37) 0.35-1.8	0.031/0.015
Forraje	R6	5.5(2.2) 3.2-12	19(7.2) 11-37	0.626/0.100
Semilla	R8	25(4.4) 19-36	27(4.9) 20-39	1.252/0.212

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapa de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20 excepto en Hoja 2 donde n = 19 debido a que una de las muestras tuvo valores <LD).

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo µg/g pf por el factor de conversión del peso seco obtenido del análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= límite de cuantificación; LD= límite de detección.

Fuente: MONSANTO Argentina S.A.I.C.

**Tabla 7:** Niveles de expresión de la proteína CP4 EPSPS en diferentes tejidos de: **(a)** el evento acumulado MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 y **(b)** el control parental MON89788.

a)

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapa de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango ( $\mu\text{g/g pf}$ ) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango ( $\mu\text{g/g ps}$ ) <sup>4</sup>	LC/LD ( $\mu\text{g/g pf}$ ) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3 - V4	57 (23) 33 - 110	310 (190) 130 - 850	0,570/0,265
Hoja 2	V4 - V7	68 (13) 51 - 94	370 (97) 230 - 580	0,570/0,265
Hoja 3	R2 - R3	70 (21) 38 - 110	460 (120) 250 - 700	0,570/0,265
Hoja 4	R6	83 (17) 60 - 120	320 (65) 220 - 500	0,570/0,265
Raíz	R6	6,7 (3,0) 2,6 - 12	22 (11) 7,2 - 42	0,570/0,114
Forraje	R6	76 (36) 33 - 150	270 (120) 110 - 510	0,570/0,099
Semilla	R8	92 (32) 50 - 180	100 (35) 54 - 190	0,342/0,260

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapa de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20). N/A: No aplicable.

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo  $\mu\text{g/g pf}$  por el factor de conversión del peso seco obtenido de los análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= límite de cuantificación; LD= límite de detección.

b)

Tipo de tejido <sup>1</sup>	Etapa de desarrollo <sup>2</sup>	Media (DE) Rango ( $\mu\text{g/g pf}$ ) <sup>3</sup>	Media (DE) Rango ( $\mu\text{g/g ps}$ ) <sup>4</sup>	LC/LD ( $\mu\text{g/g pf}$ ) <sup>5</sup>
Hoja 1	V3-V4	48(15) 23-79	270(150) 71-600	0.570/0.265
Hoja 2	V4- V7	44(11) 28-69	240(83) 140-430	0.570/0.265
Hoja 3	R2-R3	66(21) 33-110	430(120) 270-720	0.570/0.265
Hoja 4	R6	69(28) 42-120	260(97) 170-440	0.570/0.265
Raíz	R6	20(8.4) 9.8-37	64(30) 30-130	0.570/0.114
Forraje	R6	61(20) 34-97	220(80) 110-380	0.570/0.099
Semilla	R8	170(24) 120-210	180(26) 140-230	0.342/0.260

<sup>1</sup>Hoja= tejido foliar tomado en diferentes estadios a lo largo de la campaña.

<sup>2</sup>Etapa de desarrollo del cultivo en la cual el tejido fue colectado.

<sup>3</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). Las medias, el desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido en todos los sitios (n=20).

<sup>4</sup>Los niveles de proteína se expresan como media aritmética y el desvío estándar (DE) como microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo  $\mu\text{g/g pf}$  por el factor de conversión del peso seco obtenido del análisis de humedad.

<sup>5</sup>LC= límite de cuantificación; LD= límite de detección.

Fuente: MONSANTO Argentina S.A.I.C.

### 3. Análisis del potencial tóxico o alergénico

#### 3.1. Evento MON87751

### **3.1.1. Productos de expresión: Cry1A.105 y Cry2Ab2**

Se determinó similitud de secuencia con proteínas tóxicas o alergénicas conocidas comparando la secuencia de aminoácidos de Cry1A.105 y Cry2Ab2 contra la base de datos para alérgenos AD\_2013 y toxinas TOX\_2013. Para determinar identidad de secuencia con alérgenos proteicos conocidos se realizaron dos tipos de análisis. En primer lugar, se comparó la secuencia aminoacídica completa de Cry1A.105 y Cry2Ab2, tomando como valor de referencia una identidad de secuencia superior al 35% en un segmento de al menos 80 aminoácidos usando el algoritmo FASTA. En segundo lugar, se utilizó un patrón de búsqueda de epítopes lineales cortos (8 aminoácidos) similares a los presentes en proteínas conocidas como alérgenos. El estudio bioinformático concluyó que las proteína Cry1A.105 y Cry2Ab2 no presentan similitud de secuencia con alérgenos o toxinas conocidas u otra proteína con actividad biológica relevante para mamíferos, más allá de su propia actividad como entomotoxinas específicas para ciertas especies del Orden Lepidoptera.

El estudio de digestibilidad indicó que Cry1A.105 se degrada completamente luego de treinta segundos de incubación en una solución de pepsina que simula las condiciones del sistema gástrico. Por su parte, Cry2Ab2 se degrada completamente luego de un minuto de incubación en fluido gástrico simulado.

La termoestabilidad de Cry1A.105 y Cry2Ab2 fue evaluada mediante un ensayo de actividad funcional utilizando *Helicoverpa zea*. Se determinó la concentración de proteína que produce la inhibición del crecimiento del 50% de las larvas evaluadas con respecto al control. Los resultados indicaron que Cry1A.105 es estable a 25°C, 37°C y 55°C, mientras que manifestó una reducción en la funcionalidad mayor al 97% al ser sometida a temperaturas de 75°C y 95°C durante 15 o 30 minutos. Asimismo, se demostró que Cry2Ab2 es estable a 25°C y 37°C, mientras que manifestó una reducción en la funcionalidad del 99% al ser sometida a temperaturas de 55°C, 75°C y 95°C durante 15 o 30 minutos.

Estos resultados tomados en conjunto conforman evidencia consistente para inferir que es altamente improbable que Cry1A.105 y Cry2Ab2 tengan características alergénicas o tóxicas.

### **3.1.2. Nuevos péptidos putativos**

Se realizó un estudio bioinformático para determinar posibles nuevos marcos de lectura abiertos (del inglés *Open Reading Frames*, ORFs) que pudieran codificar nuevos péptidos putativos. Estos ORFs determinados *in silico* son teóricos y no necesariamente implica que dichos péptidos teóricos se sinteticen en las plantas GM *in vivo*.

El análisis bioinformático se realizó dentro del inserto y en las regiones de unión entre el inserto y las secuencias 5' y 3' flanqueantes al mismo. Se identificaron doce secuencias aminoacídicas que podrían ser potencialmente generadas a partir de la traducción de las secuencias de unión 5' y 3' del ADN genómico con el inserto en todos los posible marcos de lectura. Asimismo, el inserto fue traducido en los seis marcos de lectura posibles. Las secuencias aminoacídicas obtenidas fueron analizadas mediante la herramienta FASTA utilizando las bases de datos AD\_2013, TOX\_2013 y PRT\_2013, y mediante un algoritmo de búsqueda de ventana móvil de 8 aminoácidos, utilizando la base de datos AD\_2013. No se encontraron similitudes estructurales relevantes entre los péptidos putativos y secuencias de alérgenos, toxinas o proteínas biológicamente activas presentes en las bases de datos mencionadas.

Se concluye que aún en el improbable caso de que cualquiera de los posibles ORFs teóricos resultaran traducidos, estos péptidos no presentan similitud de secuencia relevante con toxinas o alérgenos conocidos que sugieran riesgos asociados.

### **3.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788**

Los estudios de termoestabilidad y digestibilidad realizados con el fin de determinar posible efecto tóxico o alergénico de las proteínas Cry1Ac, DMO y CP4 EPSPS fue evaluado oportunamente en instancias de la solicitud de liberación comercial de los eventos parentales MON87701, MON87708 y MON89788, resultando en Documentos de Decisión favorables en todos los casos. Adicionalmente, se realizó un análisis de identidad de secuencia con proteínas tóxicas o alergénicas conocidas utilizando bases de datos actualizadas al año 2015 (AD\_2015, TOX\_2015, PRT\_2015, EST\_2015, NT\_2015 y NR\_2015). Los resultados demuestran que las proteínas Cry1Ac, DMO y CP4 EPSPS no presentan alineamientos significativos con proteínas conocidas asociadas a riesgo de alergenicidad o toxicidad. Los estudios realizados para las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 aportadas por el evento MON87751 se encuentran detallados en la sección II, 3.1.

Los estudios realizados en los sitios de integración de los eventos individuales MON87701, MON87708 y MON89788, con el fin de determinar posible generación de nuevos marcos de lectura abierto y/o nuevos péptidos putativos, fueron evaluados oportunamente en instancias de su solicitud de liberación comercial, resultando en un Documento de Decisión favorable. Los estudios realizados para el evento MON87751 se encuentran detallados en la sección II, 3.1.

## **4. Composición centesimal del OVG**

#### **4.1. Evento MON87751**

A partir de estudios composicionales comparativos de la soja MON87751 con la contraparte convencional se determinaron los niveles de diversos componentes a partir de muestras de grano y forraje (R6), obtenidas de ensayos a campo realizados en 8 localidades de los Estados Unidos durante el año 2012.

Los análisis composicionales de grano y forraje incluyeron componentes principales (ceniza, humedad, proteína, grasa total), nivel de carbohidratos y fibras (FDA, FDN). A su vez, en grano se midieron: aminoácidos, ácidos grasos (C8-C22), vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), vitamina K1 (filoquinona) y minerales (calcio y fósforo); también se analizaron antinutrientes (rafinosa, estaquiosa, ácido fítico, lectina e inhibidores de tripsina) y otros componentes (isoflavonas).

Los datos obtenidos evidencian que, para algunos analitos, se encontraron algunas diferencias significativas entre MON87751 y la contraparte convencional. No obstante, todos los valores obtenidos estuvieron dentro del rango de las variedades de referencia o de los valores reportados en la literatura científica. Por lo tanto, las diferencias observadas no fueron consideradas biológicamente relevantes.

#### **4.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788**

A partir de estudios composicionales comparativos de la soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 con la contraparte convencional se determinaron los niveles de diversos componentes a partir de muestras de grano y forraje (R6), obtenidas de ensayos a campo realizados en 5 localidades de los Estados Unidos durante el año 2013.

Los análisis composicionales de grano y forraje incluyeron componentes principales (proteína, grasa total, ceniza y humedad), carbohidratos, FDA y FDN. A su vez, en grano se midieron: aminoácidos, ácidos grasos, vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), vitamina K1 (filoquinona) y minerales (calcio y fósforo); y se analizaron antinutrientes (rafinosa, estaquiosa, ácido fítico, lectina e inhibidores de tripsina) y otros componentes (isoflavonas). Los datos obtenidos evidencian que, para algunos analitos, se encontraron algunas diferencias significativas entre MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 y la contraparte convencional. No obstante, todos los valores obtenidos estuvieron dentro del rango de la literatura científica. Por lo tanto, las diferencias observadas no fueron consideradas biológicamente relevantes.

A los fines del presente documento, estos resultados se consideran indicativos de la ausencia de efectos no esperados producto de la transformación genética.

## **5. Potencial para producir impactos en el agroecosistema**

### **5.1. Comportamiento agrofenotípico**

#### **5.1.1. Evento MON87751**

La evaluación agronómica para el evento MON87751 se llevó a cabo en la campaña 2012-2013 en 2 localidades de Argentina. Se compararon las características agrofenotípicas entre las plantas de soja portadoras del evento MON87751 con la contraparte convencional y se tomaron como referencia a cultivares comerciales. Los parámetros evaluados fueron: recuento inicial de plantas, días al 50% de floración, dehiscencia de vainas, vuelco, altura de plantas, recuento final de plantas, humedad del grano, peso de 100 granos, rendimiento, color de la flor, vigor de plántula, evolución de etapas fenológicas, respuesta a estreses abióticos, susceptibilidad a plagas y enfermedades.

No se encontraron diferencias significativas, excepto un aumento de 10 cm en promedio en la altura del evento MON87751 en comparación a su contraparte convencional. Sin embargo, dicha característica se encuentra dentro del rango de la referencia establecido por los cultivares comerciales y no implica un riesgo al agroecosistema.

Por otro lado, se realizó un ensayo de nodulación con *Bradyrhizobium japonicum* donde se midieron: número de nódulos, contenido total de nitrógeno, peso seco de la parte aérea, de la raíz y de los nódulos. Los resultados indicaron que el fenotipo asociado a la introducción de los genes *cry1A.105* y *cry2Ab2* en la soja MON87751 no modifican la relación simbiótica con *B. japonicum*.

Los resultados obtenidos demuestran que el evento MON87751 tiene un comportamiento agronómico equivalente a su contraparte convencional, excepto por las diferencias asociadas a la característica intencionalmente introducida.

Por otro lado, se evaluaron los posibles impactos de ambas proteínas sobre distintas especies de organismos no blanco pertenecientes a distintos grupos funcionales de artrópodos (descomponedores, parasitoides, polinizadores y predadores) relevantes para el agroecosistema local. Los estudios realizados en laboratorio (donde los organismos fueron expuestos a diferentes concentraciones de la proteína) y a campo, confirman la ausencia de actividad insecticida en otras especies no relacionadas con los insectos blanco de la tecnología.

Al no existir hipótesis de riesgo asociadas a los restantes organismos que se hallan presentes en el agroecosistema local, no se considera necesaria la realización de estudios específicos para los mismos.

Se concluye que el evento MON87751 no presenta un comportamiento agrofenotípico inesperado que pueda ser indicativo de efectos no intencionales producto de la transformación genética, o que pueda resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema.

#### **5.1.2. Evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788**

La evaluación agronómica para el evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 se llevó a cabo durante la campaña 2013-2014 en 4 localidades de Argentina. Se compararon las características agrofenotípicas entre las plantas de soja portadoras del evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 con su contraparte convencional y se tomaron cultivares comerciales como referencia. Los parámetros evaluados fueron: recuento inicial de plantas, días al 50% de floración, dehiscencia de vainas, vuelco, altura y recuento final de plantas, humedad y peso de 100 granos, rendimiento, color de la flor, vigor de plántula, respuesta a estreses abióticos, susceptibilidad a plagas y enfermedades. No se encontraron diferencias significativas en los parámetros analizados, excepto un aumento en la altura y en el número de plantas emergidas del evento acumulado. Sin embargo, dichas características se encuentran dentro del rango de la referencia.

Los resultados obtenidos demostraron que el evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 tiene un comportamiento agronómico equivalente a su contraparte convencional, excepto por las diferencias asociadas a las características intencionalmente introducidas.

La evaluación de posibles efectos sobre organismos no blanco de las proteínas presentes en el evento acumulado se realizó oportunamente en instancias de la solicitud de liberación comercial de los eventos individuales (excepto para el evento MON87751), resultando en Documentos de Decisión favorables en todos los casos. La información respecto de las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 aportadas por el evento MON87751, se encuentra en la sección II 6.1. del presente Documento de Decisión.

Por lo tanto, se concluye que el cultivo de soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 no impactará negativamente sobre los organismos pertenecientes a los distintos grupos funcionales de artrópodos relevantes para el agroecosistema local.

Al no existir hipótesis de riesgo asociadas a los restantes organismos que se hallan presentes en el agroecosistema local, no se considera necesaria la realización de estudios específicos para los mismos.

Se concluye que el evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 no presenta un comportamiento agrofenotípico inesperado que pueda ser indicativo de efectos no

intencionales producto de la transformación genética, o que pueda resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema.

## **5.2. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación**

Se llevó a cabo un estudio de poder germinativo y dormición sobre las semillas del evento MON87751 utilizando el protocolo de la Asociación de Analistas Oficiales de Semillas (AOSA), el cual recomienda una alternancia de temperatura de 20°C/30°C. Se ensayaron 5 regímenes de temperaturas adicionales: 10°C, 20°C, 30°C, 10°C/20°C y 10°C/30°C. No se observaron diferencias significativas para ninguna de las condiciones evaluadas, excepto un incremento en promedio de un 3% del poder germinativo en el evento MON87751 respecto de su contraparte convencional para la temperatura recomendada por AOSA. Sin embargo, dicho aumento del poder germinativo no le confiere a la soja MON87751 característica de maleza.

Debido a que no se observaron diferencias significativas en estudios previos de poder germinativo y dormición para cada uno de los parentales, y dado que el evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 fue obtenido por cruzamiento convencional, se evaluó el recuento inicial de plantas (sección II 5.1.2) como indicador indirecto del poder germinativo.

Estos resultados indican que, en comparación con la soja convencional, los eventos MON87751 y MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 no tienen mayor capacidad de sobrevivir sin asistencia humana.

Se concluye que los genes cuya expresión determinan el fenotipo de resistencia a insectos Lepidópteros y tolerancia a los herbicidas glifosato y dicamba, sólo confieren una ventaja selectiva a la soja GM cuando se la expone a las plagas y a los herbicidas mencionados, sin ser ello suficiente para que la planta adquiera características de maleza.

## **5.3. Potencial para la transferencia horizontal o intercambio de genes del OVGM con otros organismos**

La biología reproductiva de los eventos MON87751 y MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 no son diferentes a la soja no GM; además no existen en el país especies cultivables ni silvestres sexualmente compatibles con este cultivo.

A partir de la literatura científica disponible hasta el momento se sabe que no existen casos de transferencia horizontal desde soja hacia microorganismos, vectores virales o insectos. Por lo tanto, no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en los eventos MON87751 y MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788.

Por otro lado, las características de los eventos MON87751 y MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788, al igual que cualquier otra soja no GM, determinan que es improbable que pueda transferirse material genético desde los alimentos hacia los consumidores, o los microorganismos presentes en su tracto digestivo, como consecuencia de su ingesta. Asimismo la acción degradadora de las enzimas digestivas sobre los ácidos nucleicos ingeridos con los alimentos y fundamentalmente la ausencia de elementos de conjugación, transposición u otras formas de movilización que favorezcan la transferencia de genes desde el organismo en cuestión hacia otros organismos, hace que esto sea aún más improbable.

#### **5.4. Patogenicidad para otros organismos**

La soja es reconocida como una planta no patógena para otros organismos, esta característica no se encuentra alterada en las sojas GMs comprendidas en este documento.

Por otro lado, si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en la soja MON87751 y la soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 provienen de fitopatógenos, no se encuentran presentes en dichos eventos secuencias que confieran las correspondientes características patogénicas de los organismos de los que provienen, careciendo por lo tanto estos eventos de riesgos de patogenicidad.

#### **6. Análisis de interacción de los productos de expresión**

Mediante el análisis de los mecanismos de acción, niveles de expresión, ensayos de eficacia y estudios composicionales, se evaluó la posibilidad de interacción entre los nuevos productos de expresión (CP4 EPSPS, DMO, Cry1A.105, Cry2Ab2 y Cry1Ac) en el evento acumulado.

En primer lugar, se sabe que las proteínas que confieren tolerancia a herbicidas CP4 EPSPS y DMO son enzimas que actúan en rutas metabólicas diferentes (sección I 3.3.2.).

Para el caso de las proteínas insecticidas, estudios previos demostraron que Cry1A.105, Cry2Ab2 y Cry1Ac actúan sobre el mismo Orden de insectos (Lepidoptera). Los ensayos de eficacia realizados sobre el evento acumulado, tanto en condiciones de laboratorio como a campo (sección II 1.2.), no evidenciaron cambios en la actividad insecticida en comparación con los eventos parentales. Estos estudios demuestran que las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2 y Cry1Ac actúan en forma aditiva, sin sinergia ni antagonismo.

Por su parte, tampoco se identificaron diferencias significativas en los ensayos de tolerancia a los herbicidas dicamba y glifosato, en el evento de soja MON87708 x MON89788 en comparación con los eventos parentales (sección II 1.2.).

En cuanto a los niveles de expresión de las proteínas en el evento acumulado, no se observaron cambios significativos en comparación con los eventos parentales (sección II 2.2.).

Por último, todos los valores obtenidos en el estudio de composición centesimal del evento acumulado estuvieron dentro del rango de los valores reportados en la literatura científica (sección II 4.2.).

Estos resultados tomados en conjunto constituyen evidencia consistente para inferir que no existe interacción entre las cinco proteínas expresadas en el evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788.

## **7. Plan de Manejo de Resistencia de Insectos (MRI)**

### **7.1. Propuesta de manejo para el retraso de la evolución de resistencia de los insectos**

El solicitante desarrolló un plan de manejo responsable de la soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 con el fin de retrasar la selección de resistencia de las especies que ejercen mayor presión sobre el cultivo: *Anticarsia gemmatalis* y *Chrysodeixis includens*. El mismo incluyó modelos de simulación predictivos de la durabilidad del evento que contempló distintos escenarios de refugio estructurado. Además, tuvo en consideración estudios de eficacia llevados a cabo en laboratorio y a campo (realizados en Argentina) y un estudio comparativo de unión a receptores de membrana de células de intestino de larvas de *Anticarsia gemmatalis* y *Chrysodeixis includens*. Este último indicó que podría existir una muy baja probabilidad de resistencia cruzada entre Cry1A.105 y Cry1Ac en *C. includens*. Bajo esta condición, en los escenarios analizados con 20% de siembra de refugio en bloque con un cumplimiento del 25%, la durabilidad del evento excede las 75 generaciones de *C. includens* y 395 de *A. gemmatalis*. Por otro lado, se demostró que un incremento del cumplimiento del 75% de la siembra de refugio, la durabilidad del evento aumentaría a 226 generaciones de *C. includens* y superior a 1000 generaciones de *A. gemmatalis*, demostrando que tendría un efecto positivo significativo en la durabilidad de la soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788.

El solicitante integrará la soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 dentro de un Programa de Manejo Integrado de Plagas en el cual se contempla el uso de múltiples herramientas:

- A. Monitoreo temprano de los lotes (previo a la siembra) y eventualmente, control químico de plagas.
- B. Tratamiento de semillas según necesidades regionales.

- C. Planificación de la siembra de refugio (considerando tamaño, distancia y diseño espacial).
- D. Mantenimiento del cultivo libre de malezas y baja presión de insectos (monitoreo y aplicación según plaga y umbrales de acción).
- E. Rotación de modos de acción de insecticidas.
- F. Preservación de los enemigos naturales.

Para extender la durabilidad del evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 se considera necesario implementar un refugio estructurado en bloque, utilizando un 20% de la superficie con un material no Bt de ciclo igual o similar a la variedad Bt. El refugio debe ser sembrado de manera simultánea al cultivo Bt, pudiendo utilizarse cualquier variedad no Bt. La siembra debe ser realizada de manera que no haya más de 1200 m continuos de soja sin refugio.

El manejo dentro del refugio incluirá la correcta selección de insecticidas sintéticos de manera de obtener un nivel suficiente de individuos susceptibles en el área de refugio preservando además los enemigos naturales.

El solicitante desarrollará un Plan de Comunicación y Capacitación en relación al evento MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788 que incluirá: capacitaciones internas y externas, jornadas técnicas a campo, boletines electrónicos, información disponible en la página web y entrega de material conteniendo la información antes mencionada, entre otros.

## **7.2. Procedimientos a seguir ante la posible aparición de resistencia**

### **a. Canales de comunicación disponibles para el productor.**

Ante la detección por parte del productor de una situación de daño no esperado en el cultivo podrá reportarlo al solicitante a través de los canales de ventas (distribuidores y vendedores) y de personal técnico presente en la zona.

### **b. Estudios y/o pasos para confirmar la resistencia.**

La empresa procederá a realizar ensayos por etapas para descartar o confirmar la resistencia genética. 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 realizarán ensayos de laboratorio con el fin de evaluar la susceptibilidad de la población a la/s proteína/s.

### **c. Acciones a tomar en caso de confirmarse la resistencia de insectos:**

i. Establecer una estrategia de contención del problema en función de las características geográficas. Las zonas serán caracterizadas por profesionales técnicos mediante monitoreos de la

región afectada y de lotes comerciales, elaborando Informes de Cultivo y monitoreo regional por parte del equipo de MRI de la empresa.

ii. Trabajo con clientes y agencias de extensión: con el objetivo de verificar los daños, informar a otros productores y agencias de extensión de la región y validar el Plan de Mitigación de daño en la zona afectada.

iii. Alternativas para reducir y/o controlar el biotipo resistente de la plaga: Se realizará el debido monitoreo de zona afectada con aplicación de otras herramientas de control de la plaga problema (por ej.: insecticidas químicos) en los lotes afectados para reducir las poblaciones resistentes en la región. Se hará una propuesta a medida de la problemática comprendiendo diversas prácticas agronómicas según la conveniencia.

iv. Seguimiento de las acciones propuestas: El plan de mitigación que se implemente y recomiende será monitoreado por los equipos de técnicos profesionales de la empresa, adicionando ensayos acorde a las necesidades.

v. Canales de comunicación con agencias regulatorias y gubernamentales pertinentes: Se harán las debidas comunicaciones del caso, incluyendo análisis de situación, propuesta de acciones, conclusiones obtenidas tanto a la Dirección de Biotecnología como a la Dirección de Vigilancia y Monitoreo del SENASA, y a cualquier otra agencia que se determine apropiada.

## **8. Recomendación**

En adición a lo propuesto por el solicitante en el punto anterior, se recomienda la implementación de 20% de refugio estructurado (ver sección II, 7.1) e incorporar a *Helicoverpa gelotopoeon* al Plan de MRI en el caso de que ejerza una mayor presión sobre el cultivo.

En función de las características de la soja MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788, subsecuente a la eventual obtención de la autorización para su comercialización y con el fin de retrasar la selección de biotipos de malezas resistentes a glifosato y dicamba, se recomiendan las siguientes prácticas:

- Rotar cultivos y herbicidas con diferentes mecanismos de acción.
- Identificar las malezas presentes y definir el/los herbicida/s más adecuados para su manejo.
- Seguir las instrucciones del marbete (dosis, momento de aplicación, precauciones respecto al uso, almacenamiento y preparación del producto)
- Realizar monitoreos para verificar la eficacia de control en las malezas. Evitar su reproducción por semilla o proliferación vegetativa.

Dentro de este marco, se aconseja al solicitante comunicar y difundir esta información a través de los canales de distribución, venta, jornadas, entre otros, así como también generar espacios de capacitación a productores y asesores para implementar dichas recomendaciones.

Ante una sospecha de aparición de malezas resistentes, se sugiere que el productor lo informe al solicitante a través de alguno de canales de comunicación. Asimismo, una vez confirmada la resistencia, se recomienda que el solicitante asista al productor proponiendo acciones de mitigación, cuyo fin sea el control y/o la eliminación de los biotipos de malezas resistentes y que comunique a las agencias regulatorias pertinentes.