PHI MÉXICO SA DE CV

DOW AGROSCIENCES DE MEXICO SA DE CV

INFORMACIÓN NO CONFIDENCIAL

PERMISO PARA EVALUAR EL EVENTO DAS-59122-7 X DAS-01507-1 X MON-00603-6 EN COAHUILA

Solicitud 106_2010

Para la localidad de San Pedro de las Colonias, en el Estado de Coahuila

Para la Protección Contra Algunos Insectos Lepidópteros y Tolerancia a herbicidas conteniendo el ingrediente activo glifosato

Febrero de 2012

PERMISO PARA EVALUAR EL EVENTO DAS-59122-7 X DAS-01507-1 X MON-00603-6 EN COAHUILA

Reporte Final Febrero 2012

INTRODUCCIÓN

PHI México S.A. de C.V. y Dow AgroSciences de México S.A. de C.V. recibieron de la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria Acuícola y Pesquera el permiso B00.04.03.02.01.4859 para sembrar el maíz genéticamente modificado DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 en etapa experimental. El permiso establece las medidas de bioseguridad y condicionantes que deben establecerse durante la liberación experimental al ambiente. Durante el desarrollo de la experimentación se evaluaron, la Eficacia Biológica, la equivalencia agronómica y la dispersión de polen de maíz amarillo en maíz blanco como receptor. Este documento describe los resultados de las evaluación realizada en la parcela experimental sembrada el 06 de Julio del 2011 en San Pedro de las Colonias, Coahuila con el maíz genéticamente modificado DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 conforme a los protocolos autorizado por la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria Acuícola y Pesquera.

Si bien se ha discutido en muchos foros sobre los posibles riesgos del cultivo de maíz genéticamente modificado en México y se ha solicitado información de sus efectos a la diversidad biológica, a la sanidad vegetal, animal y acuícola, es necesario evaluar, mediante un análisis imparcial y objetivo los beneficios que podría presentar el cultivo del maíz genéticamente modificado en nuestro país.

Por lo anterior, es fundamental proceder a la experimentación de campo en donde se evalúen los beneficios potenciales de los híbridos de maíz genéticamente modificado para el medio ambiente, el agricultor y la calidad de la cosecha.

Pioneer Hi-Bred International y y Dow AgroSciences han desarrollado, a través cruzamiento convencional de los progenitores donadores de los genes con líneas

transformadas, plantas de maíz con el evento DAS 59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6, que expresan las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1, Cry1F y CP4 EPSPS que confieren resistencia a algunos insectos Coleópteros, algunos insectos Lepidópteros y tolerancia el herbicida Glifosato. Los eventos DAS-01507-1 y MON-00603-6 fueron evaluados en La Laguna durante el 2010 . En eésta ciclo se evaluó el evento DAS-59122-7 en maíz DAS 59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6, que confiere resistencia a algunos insectos Coleópteros plaga como son el Gusano de la Raíz de Oeste (*Diabrotica virgifera virgifera*), Gusano de la Raíz del Noroeste (*Diabrotica barberi*), y el Gusano de la Raíz de México (*Diabrotica virgifera zeae*). Para que las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 tengan efecto insecticida deben de ser ingeridas por la plaga (Essner, R. 2003).

El maíz con el evento DAS-01507-1 expresa la proteína Cry1F que proviene de la bacteria del suelo *Bacillus thuringiensis* (*Bt*).Ésta proteína tienen función insecticida y confiere a la planta resistencia al ataque de diferentes insectos lepidópteros. La proteína Cry1F contenida en el maíz, debe ser ingerida por el insecto para tener un efecto insecticida y en su forma cristalina es insoluble en solución acuosa a pH neutro o ácido (Huber and Luthy, 1981; Bulla *et al*., 1977); sin embargo, el pH del intestino de los insectos del orden Lepidoptera es alcalino lo cual favorece la solubilización del cristal proteínico. La proteína solubilizada es subsecuentemente activada por las proteasas del intestino del insecto, la cual se distribuye a través de la membrana peritrófica al epitelio del intestino medio y se une a receptores altamente específicos (Wolfersberger*et al*., 1986; Hofmann*et al.,* 1988). El intestino se paraliza como consecuencia de los cambios en los electrolitos y el pH causando que la larva del insecto pare de alimentarse y muera. La proteína Cry1F es específica para lepidópteros y es considerada inocua para mamíferos, pájaros e insectos no-blancos, ya que esta proteína no se solubiliza y no se disuelven en los intestinos ácidos de estos organismos no-blanco que incluyen a los insectos depredadores y parasitoides (Castillejos, *et al*., 2000).

La proteína CP4 EPSPS que expresa el maíz MON-00603-6 presenta afinidad reducida al Glifosato cuando se compara a la enzima nativa del maíz. Las plantas de maíz que expresan la enzima CP4 EPSPS son tolerantes a aplicaciones del herbicida Glifosato.

Los objetivos de esta investigación en la etapa de experimentación, fueron: a) Evaluar la Eficacia Biológica del evento DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 respecto a la resistencia contra algunos insectos Coleópteros y bajo las condiciones en que se desarrollaa el maíz en la región de la Laguna. b) Generar datos e información que nos permita estimar si la modificación genética de los eventos DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 ha alterado la equivalencia agronómica, en comparación con su control no modificado (Isohíbrido), y c) Determinar la distancia a la cual se dispersa el polen de maíz amarillo en un lote de maíz blanco.

MATERIALES Y METODOS

Localización y Característica de la Parcela

El presente experimento se llevo a cabo [redacted] en el Municipio de San Pedro de las Colonias, en el Estado de Coahuila.

El lote seleccionado para el experimento se encontraba aislado a una distancia de al menos 600 m de otros lotes en los que se sembraba el mismo cultivo para evitar cualquier tipo de contaminación en ambos sentidos. El área experimental que ocupó un total de 2,328.1 m^2 dentro de la parcela de liberación que fue rodeada con la siembra simultanea de 4 surcos de bordo y delimitada por una cerca de 4 hilos que se mantuvo bajo vigilancia durante las 24 horas del día, hasta la conclusión de las evaluaciones. La superficie total sembrada con maíz DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 fue de 192 m^2.

El manejo agronómico del cultivo durante el desarrollo del experimento se hizo en base a las prácticas agronómicas de la región lagunera del estado de Coahuila.

Material Genético. Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó el híbrido de maíz genéticamente modificado DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6, su isohíbrido, y un híbrido de referencia de uso en la región que se utilizo en bordos y para separarlo de tratamientos y repeticiones.

Diseño Experimental

Se elimina las coordenadas geográficas, en virtud de que estas son datos confidenciales, en razón de que hacen referencia a domicilios, ello de conformidad con lo previsto por los artículos 68 fracción VI y último párrafo y 116 de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública; 113 fracción I y último párrafo de la Federal de Transparencia y Acceso a la información Pública; y 3 fracción IX y 31, de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados.

El diseño experimental utilizado fue de parcelas divididas en bloques al azar con 4 repeticiones para cada tratamiento.

Tratamientos

Eficacia Biológica

La parcela grande consistió de 2 tratamientos; infestación natural y control insecticida (Figura 1). La parcela chica consistió de tres híbridos sembrados uno al lado del otro, en catorce surcos:

- 6 surcos de maíz DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6
- 6 surcos de maíz isohíbrido, y
- 2 surcos de híbrido de referencia.

La parcela útil estuvo conformada por los dos surcos centrales de cada material evaluado excepto el de referencia que solo se uso como bordo entre las parcelas. Los surcos de cada parcela chica tenían una longitud de 5 m de largo y a una distancia entre surco de 0.8 m. La superficie de la parcela chica fue de 56 m^2 y la del experimento 2,328.1 m^2, incluyendo calles y bordos (cuatro surcos); cada surco fue ajustado a 30 plantas para evitar diferencias en tratamientos y repeticiones. Los tratamientos evaluados en el presente experimento se describen a continuación:

Parcelas grandes:

1. Control insecticida al suelo.
2. Infestación natural (sin insecticida)

Parcelas chicas (apareadas)

1. DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6
2. Híbrido convencional (isohíbrido).
3. Híbrido de referencia (no se utilizó para el análisis estadístico)

Las parcelas del maíz DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y del híbrido de referencia se sembraron adyacentes a las de otros dos híbridos, tal y como se ilustra en la Figura 1.

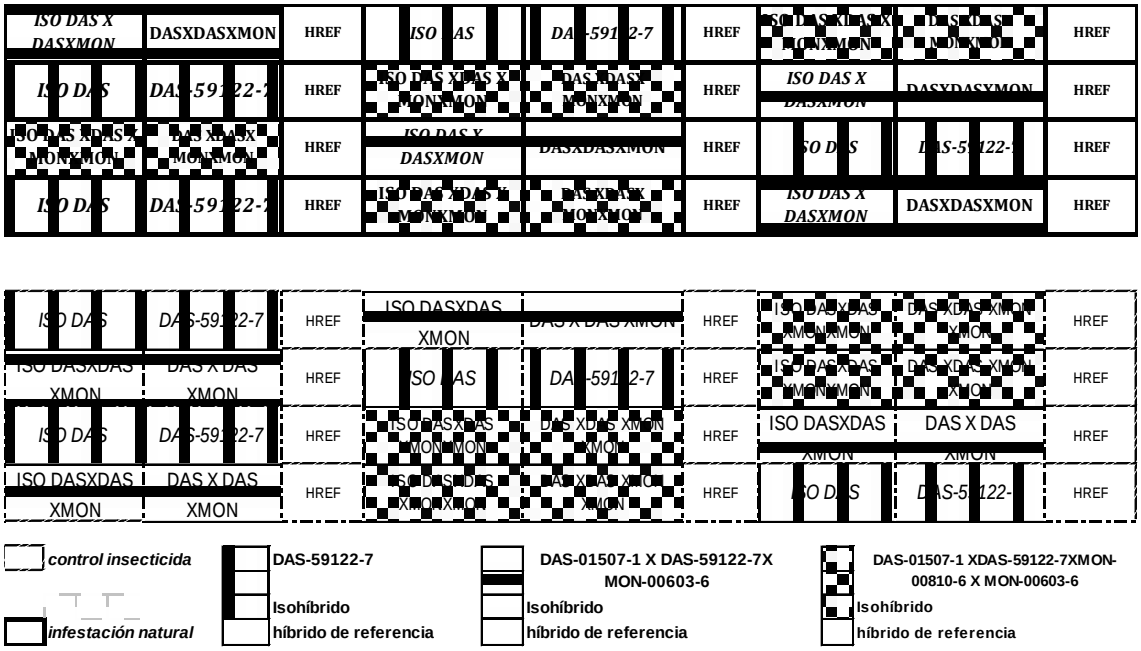

Figura 1. Diseño experimental para evaluar la efiacia biológica y equivalencia agronómica del evento DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6. **HREF**= híbrido de referencia, **ISO DASxDASxMON**= Isohíbrido de maíz DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y, **DASxDASxMON**= maíz GM DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6.

Variables Evaluadas

Eficacia Biológica

Daño por Diabrótica (*Diabrotica virgifera zeae*)

En la etapa reproductiva R2, se evaluaron 5 plantas de los surcos centrales del material genéticamente modificado DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6, y 5 plantas del isohíbrido en cada una de las parcelas. El daño se midió usando la escala de la Universidad de Iowa, donde el valor 0 indica sin daño y 3 indica tres o más nudos consumidos, así mismo el daño de menos de un nudo se cuantificó conforme al porcentaje del nudo consumido como se describe en el Tabla 1.

Tabla 1. Sistema de clasificación usado por Pioneer Hi-Bred Internation Inc. (Desarrollada por la Universidad de Iowa) para la evaluación del daño causado por diabrotica.

Valor *	Descripción
0.00	Sin daño (la menor puntuación que se puede dar)
1.00	Un nudo (círculo de las raíces), o el equivalente a un nudo completo, 1.5 pulgadas o menos consumido a partir del tallo (línea del suelo en el séptimo nudo.
2.00	Dos nudos consumidos
3.00	Tres o más nudos consumidos (la mayor puntuación que se puede dar)

*Los valores intermedios se asignaron conforme al porcentaje de nudo consumido:
¾ (0.75), ½ (0.50), ¼ (0.25)
(0.10) aproximadamente una raíz (o el equivalente) consumido.
(0.05) aproximadamente ½ raíz (o el equivalente) consumido.

Equivalencia Agronómica

La equivalencia agronómica se evaluó en la parcela con control de insecticida.

1. ~~1.~~ Vigor de Plántula (VP). Cuando el maíz alcanzo en promedio la etapa de desarrollo V1-V2, se determinó el valor del vigor de las plántulas. Una escala del 1-9 fue utilizada en la que, 1 es el valor más bajo y 9 el valor más alto. Estos datos se determinaron antes del raleo manual y/o la primera labor de cultivo.

2. Emergencia (EM). Cuando el maíz alcanzó la etapa de desarrollo promedio de V2-V4, se determinó la cantidad de plántulas emergidas por parcela. Este número se determinó antes del raleo y la primera labor de cultivo.

3. Días a Floración Masculina y Femenina (DFM/DFF). Se determinó la fecha en que el 50% de las plantas de la parcela presentaron estigmas de 2 cm de largo y la fecha en que el 50% de las espigas de las plantas se encontraban liberando polen.

4. Staygreen (SG). El *staygreen* se determinó cuando el 50% de las plantas alcanzaron la etapa de desarrollo R6 (madurez fisiológica). Una escala del 1-9 se utilizó, en donde, 1 es el valor más bajo y 9 es el valor más alto.

5. Altura de Mazorca (AM). La altura de mazorca se determinó desde la superficie del suelo a la base del nudo donde se encuentra unida la mazorca. Se cuantificó cuando el 50% de las plantas alcanzaron la etapa de desarrollo R2, cuantificando la altura de la mazorca en 5 plantas representativas de cada parcela.

6. Altura de Planta (AP). La altura de las plantas se determinó desde la superficie del surco hasta la lígula de la hoja bandera. Se cuantificó cuando el 50% de las plantas alcanzaron la etapa de desarrollo R2, cuantificando la altura de 5 plantas representativas de cada parcela.

7. Mazorcas Caídas (MC). Previo a la cosecha se cuantificó el número de mazorcas caídas por parcela. Las mazorcas caídas fueron aquellas que se encontraron en el suelo completamente desprendidas de la planta.

8. Acame de Tallo (AT). Previo a la cosecha se cuantificó el número de plantas por parcela quebradas por debajo de la mazorca. Los tallos quebrados por arriba de la mazorca principal no se incluyeron dentro de estos datos.

9. Acame de Raíz (AR). Un día antes de la cosecha, se cuantificó el número de plantas con acame de raíz por parcela (excluyendo tallos quebrados). Se consideraron plantas con acame de raíz aquellas que presentaban una inclinación mayor de 30^0 respecto de la vertical

10. Conteo final de Plantas (CF). Previo a la cosecha se determinó el número de plantas por parcela, incluyendo las plantas con acame de raíz o tallo.

11. Peso de la parcela (PP). La cosecha terminó el 01 de _Diciembre del 2011; la actividad se realizo de forma manual. Las mazorcas de cada material y parcela se contaron y desgranaron en una desgranadora marca Azteca Modelo 1.5 con un motor de 5.5 hp, el grano fue pesado en una balanza granataria Modelo ECO-B-30.

12. Humedad del grano (HM). la humedad del grano por parcela y material, se determinó con un medidor marca John Deere SW 08120.

13. Pudrición del Tallo (PT). El día de la cosecha se evaluaron 10 plantas de los surcos laterales de maíz GM y 5 de su isohíbrido en cada una de las parcelas. El tallo de cada planta se cortó longitudinalmente y se determinó si existía pudrición del tallo y la severidad de la misma, utilizando una escala de 1 a 9 en donde 1-2 daño severo, 3-5 daño moderado, de 6-8 ligero y 9 sin síntoma.

14. Pudrición de mazorca y granos (PM). Al momento de la cosecha se determinó el grado de pudrición de la mazorca, utilizando una escala 1-9, en donde 9 significa ningún síntoma, 6-8, síntomas ligeros; 3-5 moderado y 1-2, severo.

15. Escala de llenado de mazorca (LLM). Este parámetro se llevó a cabo previo a la cosecha, de la uniformidad de la mazorca en el llenado de grano y se realizó en 5 mazorcas de cada surco, utilizando una escala de 1 a 5 donde 1 es muy deficiente y 5 es óptimo.

16. Numero de mazorcas cosechadas (NM). La cosecha se llevó a cabo en los dos surcos centrales y de forma manual, posteriormente se contabilizo el número de mazorcas de cada material y se colocaron etiquetado.
17. Rendimiento (R). Se evaluó el porcentaje de humedad del grano y el peso del grano como se describe en el numeral 11 y 12. El rendimiento por parcela se calculo por medio de la siguiente fórmula: Rendimiento (ton/ha) = [((100-%Hum)/86) x Peso de Campo]/L x W x N x 0.1; donde:
    Rendimiento = Rendimiento de grano Total ajustado a ton/ha al 14% de humedad
    (%) Hum = Porcentaje de humedad en la muestra de grano
    Peso de Campo = Rendimiento de grano Total (kg por parcela)
    L = Longitud de la parcela en metros
    W = Distancia entre surcos en metros
    N = Número de surcos por parcela.

Cosecha

La cosecha se terminó el día 12 de Diciembre del 2011, la actividad se realizo de forma manual. Las mazorcas de cada material y parcela se contaron y desgranaron en una desgranadora marca Azteca Modelo 1.5 con un motor de 5.5 hp, el grano fue pesado en

una balanza granataria Modelo ECO-B-30, la humedad del grano por parcela y material, se determinó con un medidor marca John Deer SW 08120.

Posterior a la cosecha todo el grano y residuos vegetales fueron destruidos con un molino y todo el material resultante fue incorporado al suelo por medio de una rastra.

Postcosecha.

Durante 30 días posteriores a la finalización del experimento, el lote fue inspeccionado para la detección de plantas voluntarias las cuales fueron destruidas mecanicamente.

Análisis estadístico.

Se realizó un análisis estadístico con el paquete SAS (2004) para un diseño experimental de parcelas divididas con parcela chica apareadas, las medias de los tratamientos se compararon con una prueba de Tukey al (P> 0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Eficacia Biológica

Daño por Diabrotica *(Diabrotica virgifera zea)*

No se detectaron diferencias significativas entre el maíz con la tecnología DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y su isohíbrido en ambos tratamientos, donde el nivel de daño por Diabrótica varió entre 0.34 y 1.0 en la escala de Iowa (Figura 2). Entre los tratamientos con control de insecticida e infestación natural, hubo diferencias significativas como resultado de la disminución en la población de Diabrótica por efecto del insecticida en el tratamiento correspondiente.

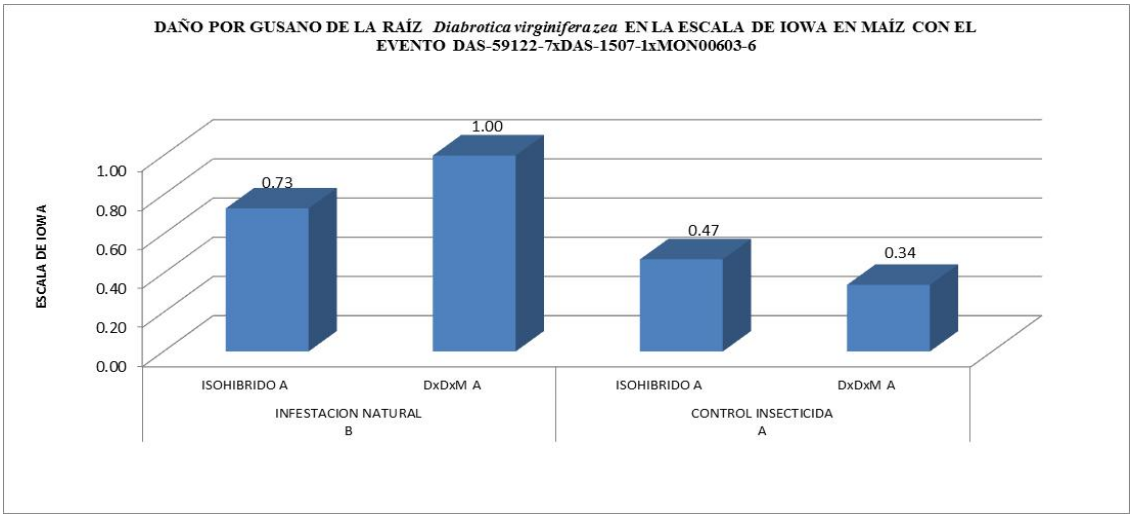

Figura 2. Evaluación del daño causado por Diabrótica en maíz con el evento DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y su isohíbrido en San Pedro de las Colonias, Coahuila. Primavera-Verano 2011. Tratamientos seguidos por la misma letra en el eje hoizontal, no difieren estadisticamente (Tukey 0.05).

Equivalencia Agronómica

Se tomaron en consideración 16 características fenotípicas y fisiológicas del cultivo para estimar si la modificación genética del evento DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 afectó significativamente la equivalencia agronómica en comparación con su isohíbrido.

El maíz con el evento DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 se comportó de manera equivalente a su Isohíbrido en 13 de las 16 características evaluadas, tal y como lo refleja la ausencia de diferencias significativas en las medias de cada uno de los parámetros (Tabla 5). La disminución en el Vigor de Planta (VP) en el maíz isohíbrido en comparación con el maíz GM DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6, puede atribuirse a la calidad del lote de semilla empleada, razón por la cual el protocolo establece que debe hacerse un aclareo a 30 plantas por surco para evitar que esto afecte la evaluación de otras características. La diferencia significativa en los parámetros Altura de Mazorca (AM) y Altura de Planta (AP) en el isohíbrido, que midió 3 y 10 centímetros menos en comparación con el maíz GM DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6, respectivamente; pudieran estar relacionados directamente con la disminución en el Vigor de Planta que presentó el isohíbrido.

Tabla 2. Equivalencia agronómica entre el maíz con el evento DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y su isohíbrido en San Pedro de las Colonias, Coahuila.

San Pedro de las Colonias			
Parámetro	Isohíbrido	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	Tukey
VP	8.7	9	*
EM	46.2	50.1	NS
DFM	54	54	NS
DFF	54	54	NS
SG	8	8	NS
AM[1]	0.91	0.94	*
AP[1]	1.7	1.8	*
MC	0	0	NS
AT	3.2	2	*
AR	0	0	NS
CF	28.6	29.5	NS
HG	15.0	15	NS
PM	8.4	8.4	NS
PG	8.1	9.0	NS
NM	52.7	53.5	NS
PT	8.7	8.3	NS
LL_M	-	-	-

VP.- Vigor de planta; **EM**.- Emergencia; **DFM**.- Días a floración masculina; **DFF**.- Días a floración femenina; **SG.-** Staygreen; **AM**.- Altura de mazorca; **AP.-** Altura de planta; **MC.-** Mazorcas caídas; **AT.-** Acame de tallo; **AR.-** Acame de raíz; **CF.-**Conteo final; **HG.-** Humedad del grano; **PM.-**Pudrición de la mazorca; **PG.-** Peso de grano; **NM.-** Número de mazorcas cosechadas; **PT.-**Pudrición del tallo

N/S Diferencias no significativas
*Diferencias significativas

Rendimiento

Se observaron diferencias significativas en rendimiento ajustado al 14% de humedad entre el maíz GM DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y su isohíbrido en el tratamiento con infestación natural (Figura 3). Para el tratamiento con control de insecticida a pesar de no haber diferencias significativas, el maíz GM DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 obtuvo mayor rendimiento en comparación con su isohíbrido (Figura 3). Éstas diferencias pudieran relacionarse al efecto de la protección que confirieron los eventos DAS-59122-7 y DAS-01507-1 contra larvas de Diabrótica y de algunos insectos lepidópteros como *Spodoptera frugiperda* (Gusano Cogollero),

[1] Metro

respectivamente. La aplicación de insecticida no afectó significativamente el rendimiento (Figura 3).

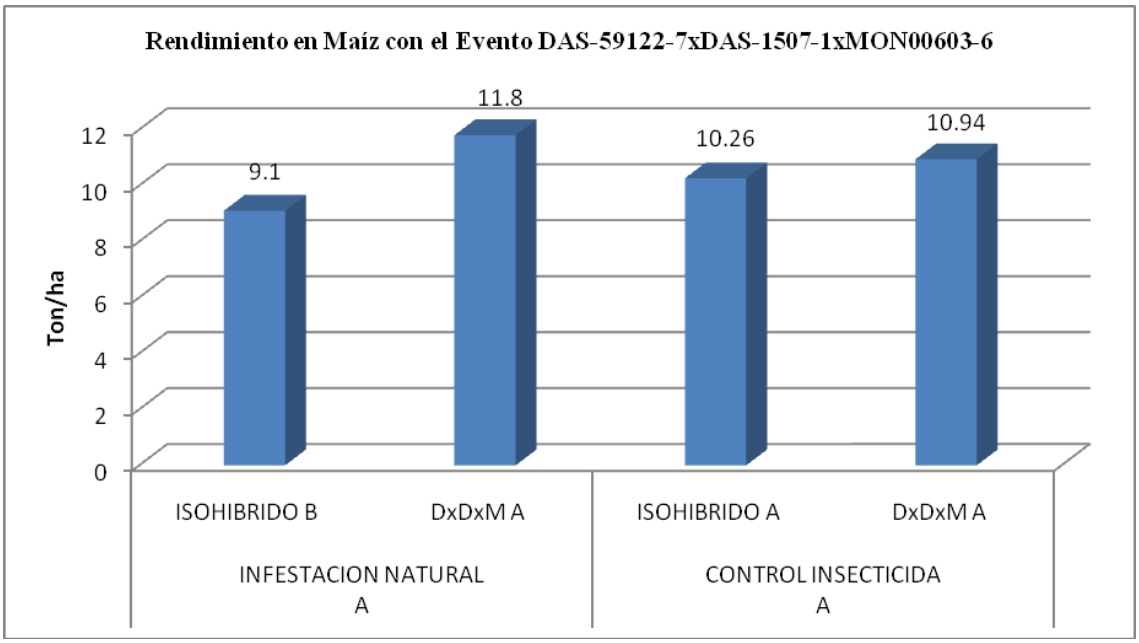

Figura 3. Rendimiento (ton/ha) en maíz GM DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y su isohíbrido en la localidad de San Pedro de las Colonias, Coahuila, ciclo Primavera-Verano 2011. Tratamientos seguidos por la misma letra en el eje hoizontal, no difieren estadisticamente (Tukey 0.05).

CONCLUSIONES

Eficacia Biológica

La Diabrótica (*Diabrotica virgifera zea*) presentó una densidad de población muy baja, por lo que no fue posible evaluar estadísticamente la eficacia biológica del evento DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 sobre la plaga,

Equivalencia AgronómicaEl maíz genéticamente modificado con el evento DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON -00810-6 x MON-00603-6fue

agronómicamente equivalente a su isohíbrido en la localidad de San Pedro de las Colonias en la Región de La Laguna.

REFERENCIAS

Aragón, J. 2002. Plagas de maíz y su control integrado. En: Guía Dekalb del cultivo de Maíz. E. Satorre et al. (Eds.). p 117-134. Monsanto Argentina S.A. Bs. As., Argentina. *Diatraea saccharalis*

Bulla, L. A., Jr., K. J. Kramer, and L. I. Davidson. 1977. Characterization of the entomocidal parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis*. J. Bacteriol. **130**:375-383.

Huber, H. E. and Luthy, P. 1981. *Bacillus thuringiensis* (5-endotoxin: composition and activation. In *Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases* (ed. E. W. Davidson), pp. 209-234. Allanheld: Osmun., Totowa, NJ.

Hofmann, C, Luethy, P., Huetter, R. and Pliska, V. (1988). Binding of the delta endotoxin from *Bacillus thuringiensis* to brush border membrane vesicles of the cabbage butterfly *(Pieris brassicae). Eur. J. Biochem.* **173**, 85-91.

Wolfersberger, M. G., Hofmann, C. and Luethy, P. (1986). Interaction of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin with membrane vesicles isolated from lepidopteran larval midgut. *Zentralbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. I.* (Suppl.) **15,** 237-238.

Davis, F.M., Sen, S.N. & Williams, W.P. 1989. Mechanisms of resistance in corn to leaf feeding by southwestern corn borer and European corn borer (Lipidoptera: *Phyralidae*). *J. Econ. Entomol.,* 82: 919-922.

Davis, F.M., Williams, W.P. & Wiseman, B.R. 1989. Methods used in screening and determining mechanisms of resistance to the southwestern corn borer and fall army-worm. In *CIMMYT 1989. Towards Insect Resistance Maíze for the Third World: Proc.*

Int. Symp. on Methodologies for Developing Host Plant Resistance to Maíze Insects. Mexico, DF, CIMMYT.

Essner, R. 2003. Agronomic characteristics, quantitative elisa and nutrient composition analysis of hybrid maíze lines containing Cry34Ab1, Cry35Ab1 and PAT Genes: Chile locations. Pioneer Hi-Bred International, Inc. unpublished report. Study ID: PHI-2002-050.

Guthrie, W.D., Dicke, F.F. & Neiswander, D.R. 1960. Leaf and sheath feeding resistance to the European corn borer in eight inbred lines of dent corn. Ohio Agric. Exp. Sta. Res. Bull. 860.

Mihm, J.A. 1983a. Efficient mass rearing and infestation techniques to screen for host plant resistance to maíze stem borers (*Diatraea spp*.). Mexico, DF, CIMMYT.16 pp.
Mihm, J.A. 1983b. Techniques for efficient mass rearing and infestation in screening for host plant resistence to corn earworm, *Heliothis zea*. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. CIMMYT, El Batan, México. 16 pp.

Castillejos Vasty, García Luis, Cisneros Juan, Goulson Dave, D. Cave Ronald, Primitivo Caballero & Williams Trevor. 2000. The potential of *Chrysoperla rufilabris* and *Doru taeniatum* as agents for dispersal of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus in maíze. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 353–359.

García, M., C. Watson y F. Salcedo. 2001. Evaluación de métodos para determinar resistencia al acame de raíces en maíz dulce (*Zea mays* L.). Bioagro 13 (1) 22-31.

Iannone, N. 2001. Control químico de Diatraea tecnología que apunta a la alta producción. Revista de tecnología agropecuaria. Divulgación técnica del INTA Pergamino. Vol. VI. Nro. 17. pp.33-37. *Diatraea saccharalis*

(http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/cry3435ab1-brad.pdf)