

**ZAMORANO**  
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN  
AGROPECUARIA

**Evaluación agronómica de 20 híbridos de  
maíz (*Zea mays*) transgénicos con el gen Bt  
(*Bacillus thuringiensis*) y sus contrapartes sin  
el gen**

Proyecto especial como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado  
Académico de Licenciatura.

Presentado por

Victor Hugo Tirado Pacheco

**Honduras**  
Diciembre, 2002

## RESUMEN

Tirado Pacheco, Victor. 2002. Evaluación agronómica de 20 híbridos de maíz (*Zea mays*) transgénico con el gen Bt (*Bacillus thuringiensis*) y sus contrapartes sin el gen. Proyecto Especial de graduación como requisito para optar al título de Ingeniero Agrónomo en Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras. 23p.

El cereal más importante en la dieta diaria de los hondureños es el maíz, éste es consumido como fuente de energía y otros nutrimentos. Por tal razón, aumentar los rendimientos por área es de suma importancia para satisfacer las necesidades de la población, la cual está en constante crecimiento. Con la ingeniería genética se ha manipulado el ADN y el traslado de genes deseados a la planta, con el fin de desarrollar cultivos tolerantes a herbicidas y plagas, como alternativa para reducir la dependencia del uso de plaguicidas. El objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento de los híbridos de maíz con o sin el gen Bt al ataque de lepidópteros (*Diatraea lineolata*, *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa zea*) y evaluar el daño ocasionado por ellos. El ensayo se realizó entre febrero y julio de 2002 en El Zamorano, Honduras. Se utilizó un diseño de parcelas divididas de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron 20 híbridos con el gen Cry 1 Ab y sus contrapartes normales que no tienen el gen incorporado, se sembró a mano a 0.20 m entre planta y 0.80 m en entre surco. Las plantas con el gen Bt (*Bacillus thuringiensis*) fueron tolerantes durante todo el ciclo del cultivo al ataque de *Diatraea lineolata* y parcialmente al ataque de *Spodoptera frugiperda*, pero no causó daños significativos a la planta, contrario a lo que sucedió con *Helicoverpa zea* el que ocasionó daños a la mazorca de las plantas con o sin el gen Bt (a. s 0.05). Se obtuvo un rendimiento mayor de 1.47 t/ha de grano con los híbridos con Bt, sobre los híbridos normales. Los híbridos 20, 6, 19, 11 Y 15 fueron los que mejor se adaptaron a la zona del Valle Yeguaré, presentando las mejores características en rendimiento y calidad de la mazorca. Esto indica que los insectos *Diatraea lineolata* y *Spodoptera frugiperda* al alimentarse del tallo, hojas, fruto de los híbridos transgénicos Bt no ocasionaron daños significativos en el desarrollo de la planta, obteniendo plantas vigorosas, grano de mejor calidad y un mayor rendimiento que los híbridos sin Bt.

**Palabras clave:** Gen Bt Cry 1 Ab, lepidópteros, plaguicidas, tolerancia, transgénicos.

## NOTA DE PRENSA

### **MAÍZ TRANSGÉNICO Bt (*Bacillus thuringiensis*) UNA ALTERNATIVA PARA AUMENTAR LA PRODUCTIVIDAD**

El maíz es uno de los cereales más importantes en el mundo, y su uso en la alimentación humana y animal es esencial, por tal motivo se deben aumentar los rendimientos por área para satisfacer de alimento a una población que está en continuo crecimiento.

En los últimos años, la ingeniería genética ha logrado, por medio de la manipulación de genes, desarrollar plantas transgénicas resistentes a herbicidas, plagas y enfermedades con el objetivo de aumentar la productividad y evitar el uso indiscriminado de plaguicidas, que son perjudiciales para el humano y el medio ambiente.

Entre febrero y julio, del año 2002, se realizó un estudio en Zamorano con el propósito de evaluar el daño ocasionado a la planta por plagas, tales como: gusano cogollero, gusano del fruto y gusano barrenador del tallo.

En el experimento se utilizaron 20 híbridos transgénicos 8t y 20 híbridos sin 8t.

Los resultados mostraron que los híbridos transgénicos fueron más productivos obteniendo al momento de la cosecha 1.47 t/ha más que los híbridos normales, este aumento en rendimiento se debe a que plantas con 8t, controló durante todo el ciclo del cultivo al barrenador del tallo y parcialmente al cogollero, el cual no causó daños representativos a la planta, al controlar estas dos plagas se logró obtener mejores resultados en cuanto al desarrollo y productividad de la planta.

El estudio concluye que los híbridos transgénicos Bt, generaron plantas vigorosas, mayor rendimiento y granos de mejor calidad.

## CONTENIDO

	Portadilla.....	1
	Autoría.....	11
	Página de firmas.....	11
	Dedicatoria .....	1
	Agradecimientos.....	IV
	Resumen .....	V
	Nota de prensa.....	VI
	Contenido .....	V11
	Índice de cuadros.....	V11
	Índice de gráficos.....	1 X
	Índice de anexos.....	XI X11
1	INTRO D U CCI ÓN.....	1
	OBJETIVO GENERAL.....	2
1.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
1.2	LIMIT ANTE DE ESTUDIO.....	2
1.3		
2	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	ORIGEN DEL CULTIVO.....	3
2.2	EL CULTIVO DE MAÍZ EN HONDURAS.....	3
2.3	LA BIOTECNOLOGÍA EN EL MUNDO.....	3
2.4	PLANTAS TRANSGÉNICAS.....	4
2.5	<i>Bacillus thuringiensis</i> .....	5
2.6	yIELGARD.....	6
2.6.1	Plagas que controla el Yielgard.....	6
2.6.1.1	<i>Spodoptera frugiperda</i> .....	6
2.6.1.2	<i>Helicoverpa zea</i> .....	7
2.6.1.3	<i>Diatraea lineo/ata</i> .....	7
2.7	VENTAJAS Y DESVENTAJAS EN EL USO DE PLANTAS TRANSGÉNICAS SOBRE HÍBRIDOS NORMALES.....	8
3	MATERIALES y MÉTODOS.....	
3.1	UBICACIÓN.....	10
3.2	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	10
3.3	TRATAMIENTOS .....	10
3.4	VARIABLES A MEDIR.....	10
		11

3.4.1	Muestreo de daño ocasionado a las plantas por <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	11
3.4.2	Muestreo de daño ocasionado por <i>Helicoverpa zea</i> .....	11
3.4.3	Muestreo de daño ocasionado al tallo por <i>Diatraea lineo/ata</i> .....	11
3.4.4	Muestreo de días a floración... ..	11
3.4.5	Altura de la mazorca .....	12
3.4.6	Número de mazorcas cosechadas .....	12
3.4.7	Humedad de la semilla .....	12
3.4.8	Calidad de la mazorca.....	12
3.4.9	Acame de tallo.....	12
3.4.10	Rendimiento .....	12
4	<b>RESULTADOS y DISCU CIÓN</b> .....	13
4.1	<b>EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO</b> .....	13
4.2	<b>DAÑO OCACIONADO POR <i>Diatraea lineo/ata</i>, <i>Spodoptera frugiperda</i> y <i>Helicoverpa Zea</i></b> .....	15
4.3	<b>ALTURA DE MAZORCA Y PLANTA</b> .....	17
5	<b>CONCLUSIONES</b> .....	18
6	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	19
7	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	20
8	<b>ANEXOS</b> .....	22

## 1. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays*) es el único cereal proveniente del Nuevo Mundo. Esta planta es usada para alimento humano, forraje para el ganado y como materia prima para la fabricación de muchos productos agroindustriales. Por su adaptabilidad y su alta productividad el maíz se ha difundido por todo el planeta después que los españoles y otros europeos exportaran la planta desde América durante los siglos XVI y XVII.

En la actualidad el maíz ocupa el tercer lugar en importancia después del trigo y el arroz. Los países más productores de maíz son Estados Unidos, la República Popular de China y Brasil, cubriendo casi el 73% de la producción anual global de aproximadamente 456 millones de toneladas.

El cereal más importante en la dieta diaria de los Hondureños es el maíz, el cual es consumido como fuente de energía y otros nutrientes (Priag, 1999). Por tal razón aumentar los rendimientos por área es de suma importancia para satisfacer las necesidades de los habitantes, la cual esta en constante crecimiento.

Para obtener un máximo rendimiento en cualquier cultivo es necesario conocer las características fisiológicas como su desarrollo, las cantidades adecuadas de fertilizante, agua, cantidad de semilla por hectárea, y las variedades adecuadas bajo las condiciones de clima, suelo y manejo que existan en diferentes ambientes y que puedan influir en el desarrollo de la planta. Para producir eficientemente se necesita introducir la menor cantidad de insumos y obtener la mayor producción (Doll, citado por Jaar 1993).

La biotecnología, a través de la ingeniería genética, está desarrollando plantas con características superiores a las convencionales. Esto se logra por medio de la transferencia de genes extraños de otras plantas, virus, bacterias, para obtener una planta con capacidad de generar su propio insecticida, resistentes a herbicidas específicos y resistencia a ciertas enfermedades logrando de esta manera que los genes insertados se manifiesten en las nuevas generaciones. (Gatehouse *et al.*, 1992).

Utilizar plantas transgénicas aumenta la calidad del producto, la eficiencia en la utilización del agua, fertilizantes, controla enfermedades, malezas y problemas de insectos. Sin embargo, la introducción de genes extraños a la planta puede acarrear efectos negativos sobre la salud de seres humanos y animales, problemas socioeconómicos y ecológicos. Los mayores riesgos en utilizar esta tecnología son: La disminución de la diversidad genética por la sustitución de variedades tradicionales por variedades genéticamente modificadas. Las plantas transgénicas resistentes a herbicidas con el pasar de los años se pueden convertir en malezas y a su vez la liberación de los genes de dichas

plantas puede causar un efecto similar. El desarrollo de resistencia de insectos plaga a *Bacillus thuringiensis* Bt se debe principalmente a que la producción de esta toxina dentro de la planta es constante durante todo el ciclo del cultivo provocando una presión de selección hacia las poblaciones de plagas.

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el comportamiento de varios híbridos con el gen de *Bacillus thuringiensis* CryIAb con sus contraparte sin el gen.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- . Determinar el daño que causan las plagas *Diatraea lineo/ata*, *Spodoptera frugiperda*, y *Helicoverpa zea* en los diferentes híbridos de maíz, con y sin Bt.
- . Evaluar los rendimientos de maíz con el gen Bt y sus contrapartes sin el gen.

### **1.3 LIMITANTE DE ESTUDIO**

Un factor limitante en este estudio fue el suelo, por su variabilidad en su textura de franca hasta franca arcillosa, afectando la saturación del suelo y por ende la absorción del agua por la planta.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 ORIGEN DEL CULTIVO**

El origen de maíz se remonta hacia unos 7000 años. Su centro de origen no está muy claro pero se considera que México es el principal por poseer el mayor número de especies silvestres y por tener diversidad de variedades cultivadas de una determinada especie.

Esta planta era diferente a la que hoy conocemos, pues una mazorca podía medir de 3 a 4 cm de largo y 1 cm de diámetro, y tenía sólo unos 8 ó 10 granos. A lo largo del tiempo los agricultores y personas dedicadas al desarrollo de nuevos cultivares han seleccionado y clasificado semillas de plantas que mostraron tener características favorables de adaptación a cierto ambiente. En la actualidad este cultivo está muy difundido por todo el resto de países de América Latina y en toda Europa donde ocupa una posición muy elevada.

### **2.2 EL CULTIVO DE MAÍZ EN HONDURAS**

En Honduras, el maíz es la gramínea más importante, en el año 2001 se cultivaron alrededor de 344,225 ha obteniendo una producción total de 516,079 t con un rendimiento aproximado de 1,49 t/ha, comparado con el rendimientos de Estados Unidos que fue de 8.67 t/ha, en el mismo año. (FAO, 2001).

El pequeño productor destina el 27% de sus cosechas para autoconsumo, repartido en consumo humano (elaboración de tortillas), alimentación animal (ganado, cerdo, aves) y una porción muy baja para semilla del siguiente año, El 73% restante es vendida al mercado local. Del área total de producción de maíz en Honduras, el 20% de los agricultores utilizan semilla híbrida el resto de productores 80 % utilizan una mezcla de variedades criollas (Sanabria, 1991).

### **2.3 LA BIOTECNOLOGÍA EN EL MUNDO**

Según (Monsanto, 2001) en la actualidad la población mundial está poniendo énfasis y valora las interacciones entre el bienestar humano, la estabilidad social y los procesos naturales de la tierra que sustentan la vida. Por la actual sobre-explotación de la tierra y con un crecimiento de la población que para el año 2030 será de 10 mil millones de habitantes, la humanidad debe estar consiente de las presiones que se ejercen sobre la tierra para poder satisfacer la necesidad alimenticia a una población en constante crecimiento.

Para obtener plantas más productivas y resistentes a insectos se utilizaban dos métodos: la selección de los mejores ejemplares y la hibridación por cruce o injertos que implicaba el cruzamiento de centenares de genes. En la actualidad la biotecnología hace posible seleccionar los genes que interesen, obteniendo de esta manera cultivos con cualidades predefinidas. Así se han obtenido nuevas variedades de plantas de mejor calidad e inmune a ciertas plagas.

La biotecnología involucra la manipulación del ADN y el traslado de genes, en la actualidad el enfoque por empresas transnacionales está plasmado en el desarrollo de cultivos tolerantes a herbicidas y plantas resistentes a plagas y enfermedades, como alternativa para reducir la dependencia del uso de insumos tales como: plaguicidas y fertilizantes, pero muchos científicos se sienten preocupados por esta nueva tecnología que si bien es cierto que los primeros beneficiarios serán los agricultores, quienes tendrían mayor disponibilidad de cultivos con mejores propiedades agronómicas, también existe la amenaza de la diversidad genética, la transferencia de "genes resistentes a herbicidas a variedades silvestres o parientes semidomesticados desarrollando supermalezas, el peligro que insectos adquieran resistencia a los cultivos que contienen la toxina Bt, el uso inapropiado de la toxina Bt puede causar efectos negativos en los procesos ecológicos y organismos benéficos (Altieri, 1998).

Según (ISAAA, el International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Application, institución norteamericana, 2002) en el año 2001 se cultivaron en todo el mundo 52.6 millones de hectáreas de cultivos genéticamente modificados fraccionados en: 63% Soja con una área de 33.3 millones de hectáreas, 19% de maíz con 9.8 millones de hectáreas, 13% de algodón en 6.8 millones de hectáreas y 5% de colza en un área de 2.7 millones de hectáreas. Las plantas modificadas genéticamente más utilizadas por los agricultores son las tolerantes a herbicidas con un 77%, las resistentes a insectos 15% y los dos eventos incluidos en una misma planta 8%.

En el año 2000 y 2001 salieron del mercado productos genéticamente modificados como: tomate FlavrSvr cuya característica era la maduración y por su buen sabor era vendido a mayor precio que los tradicionales pero el inconveniente era que no poseía características homogéneas, papas New Leaf con el gen Bt resistentes al virus del enrollamiento foliar de la papa, esta salió del mercado por su no aceptación por parte de las cadenas de comida (Byrne *et al.*, 2002).

## **2.4 PLANTAS TRANSGÉNICAS**

Las plantas transgénicas tienen un gran potencial para el control de plagas insectiles, enfermedades, cultivos tolerantes a herbicidas y aumentar el contenido proteico de productos derivados de dichos cultivos (Gatehouse *et al.*, 1992).

Para desarrollar plantas resistentes a plagas se debe conocer la influencia de los factores bióticos y abióticos acerca de la biología de la plaga, se debe tomar en cuenta los hábitos alimenticios, ovoposición, movimiento, parámetros de crecimiento y fecundidad (Maxwell y Gennings, 1991).

El maíz modificado tiene incorporada una proteína insecticida proveniente de un microorganismo natural del suelo *Bacillus thuringiensis* (Bt), que protege a las plantas contra los barrenadores del maíz y la supresión de defoliadores durante toda la temporada. La preocupación mayor que se tiene en la implementación de plantas es el desarrollo de resistencia que pueda causar el Bt, esto principalmente por la constante dosis letal durante toda la temporada l.

## 2.5 *Bacillus thuringiensis*

*Bacillus thuringiensis* es una bacteria entomopatógena que tiene las siguientes características, células en forma bastón recta o casi recta, la esporulación no es afectada por exposición al aire, en las primeras fases de crecimiento pueden ser gran positivo o negativo, son patógenos facultativos es decir no requieren de condiciones especiales u hospederos para reproducirse siendo fácilmente encontrados en suelo (Cave, 1995).

Hasta el año 1997 habían sido identificadas 45 cepas de Bt las cuales producen toxinas cristalinas químicamente diferentes con un rango de hospederos muy específico, las toxinas producidas son: Delta-endotoxinas, beta exotoxinas, alpha exotoxinas, toxina antibiótica pacteriana, toxina de factor piojo (Hruska y Pavon, 1997). Las Deltaendotoxina están codificada con genes específicos que son tóxicos para diferentes órdenes de insectos:

- CryI. para lepidópteros
- CryII para dípteros y lepidópteros
- CryIII para coleópteros
- CryIV para dípteros

Cada célula Bt produce un cristal proteico que tiene propiedades insecticidas, cuando un insecto susceptible come del follaje asperjado con Bt, el cristal proteico es digerido en el intestino del insecto los cuales al activarse forman pequeñas moléculas tóxicas produciendo parálisis estomacal, deterioro de las paredes intestinales, y cese de la alimentación provocando la muerte<sup>2</sup>.

Según (Hruska y Pavon, 1997) el problema de estas aplicaciones hacia el cultivo, es su alta sensibilidad a la luz degradándose rápidamente y teniendo una exposición reducida hacia los insectos por tal motivo se han desarrollado plantas transgénicas las cuales tienen diferentes características o ventajas sobre las aplicaciones foliares de Bt (Cuadro 1).

1 Arancivia. 2002. Maíz transgénico. Mejorador TI Maíz-Trait integration. Monsanto, México.

(Comunicación personal).

2 Bustamante. 2002. Clase de Manejo de Plaguicidas. Zamorano, Honduras.

Cuadro 1. Características de Característica	plantas transgénicas sobre el Bt comercial Dipel	
	Bt comercial ASDeriado	Plantas Transgénicas
Toxicidad para no- plaga	---	---
Alcance a la plaga	●●●	●●●●
Acción rápida	●●●●	●●●●
Costo	●●●	●●●●
Rango de hospedero	●●	●●
Persistencia en la planta	●●	●●●●
Residualidad en comensales	---	●●●●

--- Sin acción alguna

- Muy baja
- Baja
- Moderado
- Alta

## 2.6 YIELDGARD

Con el uso de la biotecnología, Monsanto ha desarrollado plantas transgénicas de maíz resistentes a insectos (Lepidópteros) en sus estados inmaduros o larvas, *Diatraea /ineolata*, *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa zea*, la planta produce la proteína natural CryIAb de *Bacillus thuringiensis* (Bt), siendo específicos contra especies de plagas de estos ordenes. La proteína se une a receptores específicos en el intestino medio de los insectos y le permite ejercer su toxicidad, la proteína adherida a las membranas celulares en pocos minutos altera el equilibrio osmótico celular, la larva deja de comer y posteriormente muere. (Monsanto, 2001)

Sagpya (2001) debido al sitio de acción específico donde actúa la proteína, la toxina Bt no tiene efectos tóxicos sobre otros organismos.

El maíz YieldGard es el nombre que Monsanto le ha dado al maíz con el gen del *Bacillus thuringiensis*. Investigaciones demostraron que la proteína CryIAb en el grano se encuentra en bajos niveles y se degrada con facilidad en fluidos gástricos simulados, no muestra similitud con alérgenos conocidos y no muestra efectos en los animales sujetos a una dieta con altos niveles de YieldGard (Monsanto, 2001).

### 2.6.1 Plagas que controla el YieldGard

#### 2.6.1.1 *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Es la principal plaga del maíz en Centroamérica, en su estado larval corta los tallos de plántulas a nivel del suelo, ataca hojas, tallos, nervaduras, y base de la mazorca, ocasionando la muerte de la planta si el ataque es temprano.

Los huevos son puestos en masas de aproximadamente 30-450 huevos, éstos son cubiertos por una telita transparente son de color rosado pálido que se toma gris a medida que se acerca la eclosión a los 3-4 días de la ovoposición. Las larvas al momento de emerger son de color blanco cremo so cubierta de pequeños puntos negros, cabeza negra. Después de 15 a 24 días la larva llega a su máximo desarrollo pudiendo llegar a medir de 34 a 44 mm de longitud, sus colores son de castaño a verde pálido con una línea media longitudinal de color café oscuro entre dos líneas laterales de color castaño en igual sentido. Los adultos copulan después de 1 a 2 días de haber emergido. Las hembras comienzan a poner huevos después de 3 días, obteniendo una longevidad promedio de 12 días, llegando a ovipositar un promedio de 1000 huevos (Navarro, 2001).

### **2.6.1.2 *Helicoverpa ,ea* (Lepidoptera: Noctudae)**

Esta plaga es polífaga porque su ataque es a diferentes cultivos como: maíz, tabaco, sorgo, algodón, garbanzo, hortalizas, frijol común. Los huevos son de color blanco y forma ovoidal, puestos sobre los pelos de la mazorca de uno en uno, antes de eclosionar se vuelven oscuros (Trabanino, 1998).

Díaz y Vazquez (1997) afirman que recién eclosionada la larva se alimenta del follaje tierno de las plantas para luego atacar los granos en formación y los frutos. Las larvas son de colores muy variados, teniendo una doble línea medio dorsal a lo largo de todo el cuerpo y alternando a los lados con rayas claras y oscuras con puntos negros y pelos, pasan por 6 estadios.

### **2.6.1.3 *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae)**

Es un barrenador del tallo de maíz, caña de azúcar y sorgo, su daño es formar galerías longitudinales en el tallo, impidiendo el transporte de nutrientes, interfiriendo en el llenado de la mazorca, los daños de esta plaga son detectados después de la cosecha por la mayoría de los productores. El control químico es deficiente una vez barrenado el tallo conllevando a obtener bajos rendimientos (King y Saunders, 1984).

El daño ocasionado al maíz por larvas grandes antes de la floración mata el cogollo y después de la floración mata el elote o panoja, en ocasiones la mazorca es barrenada permitiendo la entrada de otros organismos dañinos, lo que puede resultar en la producción del grano, el grado de daño ocasionado por *Diatraea línea/ata* depende del vigor, edad de la planta y fecha de siembra (Trabanino, 1998).

Los huevos son ovalados y aplanados, recién ovopositados son de color transparente, cambiando de color (bandas rojas) a los 2 días, son colocados en filas yuxtapuestas de 110 en las hojas terminales (Trabanino, 1998).

Las larvas eclosionan después de 4 ó 5 días de la ovoposición, el estadio larval dura de 16 a 25 días pasando por 5 instares, una larva completamente desarrollada mide de 25 a 30 mm, la cabeza y el tórax. son café claro o bronceado y el resto del cuerpo blanco-amarillento, en este estadio larval es donde causa el mayor daño a la planta (Mendoza, 1992).

## **2.7 VENTAJAS Y DESVENTAJAS EN EL USO DE PLANTAS TRANSGÉNICAS SOBRE HÍBRIDOS NORMALES**

En Honduras al igual que el resto de países en Centro América y México, existe preocupación al ingreso de cultivos genéticamente modificados pudiendo tener grandes amenazas, no obstante debemos mantener en mente las ventajas y desventajas proporcionadas por plantas transgénicas (Cuadro 2).

En vista que esta tecnología se muestra prometedora se debe evaluar el daño que podría ocasionar a la diversidad genética debido al intercambio genético entre plantas transgénicas y plantas silvestres nativas, el desarrollo rápido de resistencia a la toxina Bt por las plagas, para lo cual se debe tomar en cuenta los siguientes puntos.

Estudios realizados han demostrado que ningún plaguicida o ninguna herramienta de manejo de plagas escapará al desarrollo de resistencia por siempre, sin embargo el manejo de los factores ayuda a prevenir o retrasar la resistencia en insectos, las estrategias utilizadas para prevenir la resistencia son:

- . Diversificación de fuentes de mortalidad, con esto se logra que el insecto se adapte lentamente, si ellos se encuentran sometidos a más de un mecanismo mortal.
- . Mantener una población susceptible por medio de la creación de refugios de plantas no transgénicas, al proveer un área para vivienda e inmigración de los insectos ayudara a mantener poblaciones con genes susceptibles.
- . Implementar un programa de manejo de resistencia mediante monitoreos, predicción y evaluación del desarrollo de resistencia (Hruska y Pavon, 1997).

Cuadro 2. Ventajas y desventajas en el uso de híbridos transgénicos versus híbridos normales.

<u>CARACTERÍSTICAS</u>	HÍBRIDO TRANSGÉNICO	HÍBRIDO NORMAL
	<u>CON Bt</u>	<u>SIN Bt</u>
Efectos sobre humanos	No tiene	No tiene
Protección orgánica continua (Bt)	Si	No
Uso de insecticidas	No	Si
Rendimientos	Más altos	Aceptable
Costo de la semilla	Moderado	bajo
Aceptación por el consumidor	Baja	Alta
Acceso de la semilla por productores extensivos	alta	Baja
Afecta diversidad genética	Puede generar	No
Resistencia de plagas	Puede generar	No

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 UBICACIÓN**

El ensayo se realizó entre febrero y julio de 2002, en las Terrazas de San Nicolás de Zamorano ubicado en el Valle Yeguaré a 32 km, al suroeste de Tegucigalpa, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. Localizado Latitud norte de 14 y 87° con dos minutos longitud oeste, a una elevación de 825 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura media anual de 22°C y una precipitación media anual de 1,100 mm.

#### **3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL**

Debido al carácter experimental de los híbridos de maíz (*Zea mays*) fueron previamente etiquetado con números arábigos (Anexo 1).

Se utilizó un diseño de parcelas divididas de Bloques Completos al Azar (BCA), con 40 tratamientos y cuatro repeticiones. Las parcelas principales fueron los híbridos a nivel de subparcela. Cada bloque tenía una área total de 160 m<sup>2</sup> dividida en 10 unidades experimentales, cada unidad experimental consta de cuatro surcos a 0.80 m cada uno y 5 m de largo. El experimento fue aislado con una barrera de 5 m de ancho por 32 m de largo de maíz sin Bt. Cada bloque tenía calle de acceso de 1 y 3 m de ancho. Para la tabulación de los datos y las pruebas estadísticas se empleó el programa estadístico MINITAB<sup>®</sup> Y SAS<sup>®</sup> (Institute SAS Inc., 1999). Para el análisis de las variables se hizo un análisis de varianza del comportamiento de los híbridos con el gen de *Bacillus thuringiensis* CryIAb y sus contrapartes sin el gen, determinando su significancia a  $\alpha < 0.05$ , y se utilizó una prueba de separación de medias SNK (Student-Newman-Keuls).

#### **3.3 TRATAMIENTOS**

En este ensayo se evaluaron las características agronómicas de 20 híbridos transgénicos comparando con sus contrapartes sin el gen.

La siembra de las dos primeras repeticiones se realizó el 7 de febrero, las dos repeticiones restantes se sembraron el 21 de marzo de 2002 y se realizaron todas las labores convencionales para la producción de maíz en la región:

- . Preparación de suelo se hizo con dos pases de rastra.

- La fertilización básica antes de la siembra, se hizo mecanizada a razón de 4 qq/ha de (18-46-0), esta práctica nos facilitó la siembra ya que se utilizaron las líneas dejadas
- La siembra fue manual, colocando dos semillas por postura a 0.20 m entre planta y 0.80 m entre surco, a los ocho días de germinada se raleo para dejar una planta por postura.
- Los riegos se realizaron por aspersión de acuerdo con los requerimientos del cultivo.
- El control de malezas se hizo preemergente al cultivo con el uso de los herbicidas alachlor (Lazo) y atrazina (Gesaprin) a razón de 0.96 kg de i.a/ha y 0.72 kg de i.a./ha respectivamente.
- Fertilización nitrogenada urea (46% N) y aporque se realizó a los 30 días después de la siembra a razón 2 qq/ha.
- El control de plagas se llevó a cabo utilizando los niveles críticos utilizados en la producción comercial de semilla en Zamorano. Para *Spodoptera frugiperda* se utilizó de nivel crítico el 15% de infestación de larvas hasta las primeras 8 hojas se realizaron tres aplicaciones de clorpirifos (Pyrinex) a razón de 0.5 L/ha en 200 L/ha de agua, asperjada a la planta con bomba de mochila, posteriormente se aplicó en forma manual phoxim (Volatón) al cogollo a razón de 35 lb/ha.

### 3.4 VARIABLES A MEDIR

**3.4.1 Muestreo de daño ocasionado a las plantas por *Spodoptera frugiperda*:** Se muestrearon al azar 15 plantas en los dos surcos centrales por unidad experimental durante las primeras cuatro semanas de emergida la planta, el daño causado *por S. frugiperda* se evaluó mediante una escala de 0 - 9 siendo 0 plantas sin daño y 9 plantas con las hojas nueva y viejas casi destruidas (Davis y Williams 1992).

**3.4.2 Muestreo de daño ocasionado por *Helicoverpa zea*:** Se muestrearon 15 mazorcas al azar en los surcos centrales de cada unidad experimental y se evaluó el daño ocasionado por la plaga, tomando como parámetro la escala de 0 sin daño a la mazorca y 3 un daño mayor de 2 cm de largo (Davis y Williams 1992).

**3.4.3 Muestreo de daño ocasionado al tallo por *Diatraea lineolata*:** Una vez cosechado se muestrearon 15 tallos al azar de los surcos centrales de cada parcela, para esto se abrieron longitudinalmente los tallos y poder observar perforaciones del tallo y medir el largo de las galerías.

**3.4.4 Muestreo de días a floración:** Se tomaron las fechas en las que 50% de plantas, dentro de la unidad experimental alcanzaban floración.

**3.4.5 Altura de la mazorca:** Se midieron cinco plantas al azar de los surcos centrales de cada parcela desde la base del tallo hasta el primer entrenudo donde se encontraba la mazorca y se promediaron las alturas.

**3.4.6 Número de mazorcas cosechadas:** Al momento de la cosecha (120 después de la siembra) se contaron mazorcas sanas y dañadas tomadas aquellas con un daño superior del 10% ya sea este daño causado por hongos, insectos y/o pájaros.

**3.4.7 Humedad de la semilla:** Al momento de la cosecha se tomaron 100 g del total de mazorcas de cada unidad experimental y se procedió a medir la humedad y se estandarizo a 14% humedad.

**3.4.8 Calidad de la mazorca:** Se evaluaron el total de mazorcas cosechadas en cada parcela, se le dio una calificación de 0-7 (Cuadro 3) tomando en cuenta el numero de mazorcas malas, sanas, tamaño de la mazorca, uniformidad del grano y llenado de la mazorca.

Cuadro 3. Escala de calidad de la mazorca

<u>Calificación</u>	<u>Calidad de mazorca</u>
1	Super
2	Excelente
3	Muy buena
4	Buena
5	Regular
6	Mala
7	Muy mala

Fuente Arancivia 2002

**3.4.9 Acame de tallo:** Se tomaron las plantas dentro de los surcos centrales de cada parcela y se contaron plantas que presentaron problemas de acame (inclinación del tallo de 45° o más).

**3.4.10 Rendimiento:** Para obtener el rendimiento del cultivo se cosecharon los cuatro surcos de cada unidad experimental, se desgranaron todas las mazorcas en forma manual y se obtuvo el peso del grano por parcela estandarizandolo al 14% de humedad por medio de la fórmula.

$$\text{Peso final} = \text{Peso inicial} \times \left( \frac{100 - \text{humedad inicial}}{100 - \text{humedad final}} \right)$$

Obteniendo el peso del grano por cada parcela de 16 m<sup>2</sup> y luego extrapolado a t/ha.

I Arancivia. 2002. Maíz transgénico. Mejorador TI Maíz-Trait integration. Monsanto, México. (Comunicación personal).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El (Anexo 2). muestra los resultados obtenidos, del análisis de varianza (ANDEVA) para las variables medidas.

### 4.1 EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO

Al evaluar el rendimiento de grano al 14% de humedad los híbridos que tenían el gen *Bacillus thuringiensis* (Bt) produjeron 1.47 t/ha más que los que no tenían el evento ( $P=0.001$ ) (Cuadro 4). Esto nos indica que los híbridos con el evento soportaron mejor el daño de plagas y al mismo tiempo presentaron mejores características, obteniendo plantas vigorosas y un mayor rendimiento por área.

Al evaluar el rendimiento individual de los híbridos con y sin el evento Bt podemos notar que los híbridos 20, 6, 8,16,11,3,14,15,19,17,4. Con el evento Bt fueron los que presentaron mejores rendimientos.

En la actualidad la semilla de los híbridos sin el evento Bt 20, 6, 11, 3 son comercializados en México 1, ya que han sido adaptados a las condiciones edáficas y climáticas de la región, El rendimiento del híbrido Bt 20 fue significativamente mayor (8.74 t/ha) a los rendimientos de los híbridos con Bt 7, 18,5, 12, 10, 1, 13,2,9 Y todos los híbridos que no tenían el gen Bt (Cuadro 5).

Cuadro 4. Rendimiento promedio de los híbridos de maíz con y sin el gen *Bacillus thuringiensis* en t/ha. Honduras, Zamorano 2002.

Tratamiento	<u>Rendimiento</u> t/ha
Con el gen Bt	5.77 a*
Sin el gen Bt	4.30b
C.V	23
R <sup>2</sup>	0.85

\* Promedios con letras diferentes estadísticamente son diferentes SNK,  $P < 0.05$

1 Arancivia. 2002. Maíz transgénico. Mejorador TI Maíz- Trait integration. Monsanto, México. (Comunicación personal).

**Cuadro 5.** Prueba de medias para las variables rendimiento, No. de mazorcas sanas y dañadas, altura de la planta y mazorca, Honduras, Zamorano 2002.

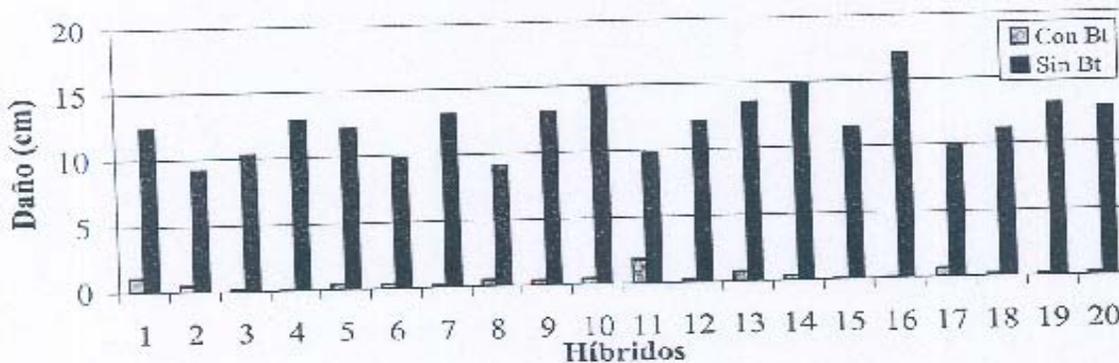
Tratamientos		Rendimiento t/ha	Diferencia Con y Sin Bt (t/ha)	No. Mazorcas		Altura (cm)	
				Sanas	Dañadas	Mazorca	Planta
Híbrido 20	Con	8.74 a*	4.22	80 ab	34 ab	85 c	191 ab
Híbrido 20	Sin	4.52 b		64 ab	33 ab	85 c	186 ab
Híbrido 6	Con	6.97 ab	1.27	83 ab	17 ab	102 abc	198 ab
Híbrido 6	Sin	5.70 b		78 ab	19 ab	94 abc	193 ab
Híbrido 8	Con	6.76 ab	1.94	60 ab	27 ab	102 abc	210 ab
Híbrido 8	Sin	4.82 b		56 ab	48 ab	104 abc	204 ab
Híbrido 16	Con	6.68 ab	2.07	83 ab	29 ab	80 c	186 ab
Híbrido 16	Sin	4.61 b		53 ab	32 ab	87 c	197 ab
Híbrido 11	Con	6.48 ab	1.69	70 ab	19 ab	101 abc	212 a
Híbrido 11	Sin	4.79 b		58 ab	22 ab	104 abc	212 a
Híbrido 3	Con	6.41 ab	2.76	60 ab	25 ab	90 abc	204 ab
Híbrido 3	Sin	3.65 b		55 ab	54 a	91 abc	207 ab
Híbrido 14	Con	6.23 ab	1.40	75 ab	25 ab	111 abc	212 a
Híbrido 14	Sin	4.83 b		55 ab	32 ab	106 abc	209 ab
Híbrido 15	Con	6.07 ab	1.61	90 a	30 ab	103 abc	199 ab
Híbrido 15	Sin	4.46 b		74 ab	44 ab	101 abc	196 ab
Híbrido 19	Con	5.92 ab	0.84	91 a	13 b	110 abc	216 a
Híbrido 19	Sin	5.08 b		74 ab	24 ab	103 abc	212 a
Híbrido 17	Con	5.89 ab	1.63	87 ab	17 ab	88 bc	189 ab
Híbrido 17	Sin	4.26 b		64 ab	22 ab	80 c	181 ab
Híbrido 4	Con	5.81 ab	0.90	76 ab	17 ab	121 ab	235 a
Híbrido 4	Sin	4.91 b		72 ab	29 ab	123 a	231 a
Híbrido 7	Con	5.40 b	2.01	74 ab	28 ab	108 abc	214 a
Híbrido 7	Sin	3.39 b		60 ab	38 ab	97 abc	203 ab
Híbrido 18	Con	5.31 b	0.86	62 ab	31 ab	104 abc	196 ab
Híbrido 18	Sin	4.45 b		82 ab	39 ab	97 abc	188 ab
Híbrido 5	Con	5.26 b	1.26	61 ab	24 ab	109 abc	207 a
Híbrido 5	Sin	4.00 b		53 ab	45 ab	105 abc	194 ab
Híbrido 12	Con	4.97 b	1.29	67 ab	20 ab	98 abc	214 a
Híbrido 12	Sin	3.68 b		48 ab	25 ab	101 abc	212 a
Híbrido 10	Con	4.94 b	0.62	72 ab	28 ab	81 c	207 ab
Híbrido 10	Sin	4.32 b		55 ab	34 ab	83 c	194 ab
Híbrido 9	Con	4.88 b	0.66	65 ab	32 ab	107 abc	207 ab
Híbrido 9	Sin	4.22 b		68 ab	29 ab	111 abc	208 ab
Híbrido 1	Con	4.51 b	0.19	52 ab	30 ab	78 c	149 b
Híbrido 1	Sin	4.32 b		58 ab	28 ab	108 abc	202 ab
Híbrido 13	Con	4.44 b	0.89	69 ab	25 ab	83 c	186 ab
Híbrido 13	Sin	3.55 b		32 b	26 ab	83 c	194 ab
Híbrido 2	Con	4.29 b	0.08	74 ab	36 ab	104 abc	201 ab
Híbrido 2	Sin	4.21 b		62 ab	33 ab	104 abc	200 ab

\* Promedios con letras diferentes estadísticamente son diferentes

#### 4.2 DAÑO OCASIONADO POR: *Diatraea lineolata*, *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa zea*

Las poblaciones *Diatraea lineolata*, *Spodoptera frugiperda*, y *Helicoverpa zea* fueron mayores en plantas que no tenían el gen *Bacillus thuringiensis* (Bt) lo cual fue fácilmente detectado en los rendimientos y en daño físico de la planta especialmente por el daño de *S. frugiperda*.

Al cuantificar el daño en los tallos en cm causado por *Diatraea lineolata* se observó una mayor diferencia entre los híbridos con Bt (0.40 cm) y sin Bt (12.10 cm) ( $P = 0.001$ ) (Gráfico 1). El control de *D. lineolata* por parte del maíz Bt se debió a la producción continua de la proteína CryIAb la que es sintetizada por la bacteria *B. thuringiensis* en forma de protoxinas inactivas, las cuales al ser ingeridas son activadas por el pH alcalino y proteasas presentes en el intestino medio de la larva. Las toxinas activadas se unen a receptores específicos, por lo tanto esta toxina trabajó muy bien sobre las larvas de *D. lineolata*, provocando un desbalance iónico alterando así el transporte de iones, nutrientes, agua y otros metabolitos, produciendo la muerte por inanición y septicemia. En



**Gráfico 1.** Daño en el maíz con Bt y sin Bt ocasionado por *Diatraea lineolata* Zamorano, Honduras, 2002.

El control de *S. frugiperda* también se vio influenciado por la presencia del gen Bt, ya que los tratamientos con el gen Bt presentaron daños más bajos (0.4 daño) significativamente que las presentadas por los híbridos contrapartes sin el gen Bt (2 daño) (Gráfico 2). Las plantas sin el gen Bt fueron las más susceptibles al ataque de estos insectos, el cual redujo su área foliar y por ende su capacidad de fotosíntesis.

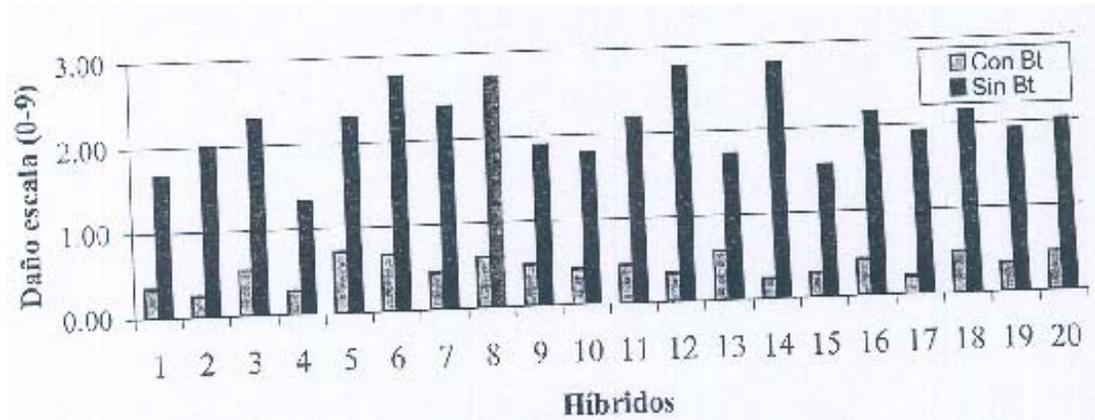


Gráfico 2. Daño en el maíz con y sin el gen Bt ocasionado por *Spodoptera frugiperda* Zamorano, Honduras, 2002.

Para el caso de *H. zea* se observaron diferencias significativas ( $P= 0.001$ ) entre los tratamientos con y sin el gen Bt. A pesar de esto la población de este insecto fue mayor con respecto a las poblaciones de *D. lineo/ata* y *S. frugiperda*, provocando daños a la mazorca de las plantas con el gen Bt. (1.72 daño) y sin el gen Bt. (2.46 daño) Las larvas de *H. zea* no fueron controladas por el gen Bt, debido a que la proteína Cry1Ab no fue desarrollada para controlar esta plaga. (Gráfico 3).

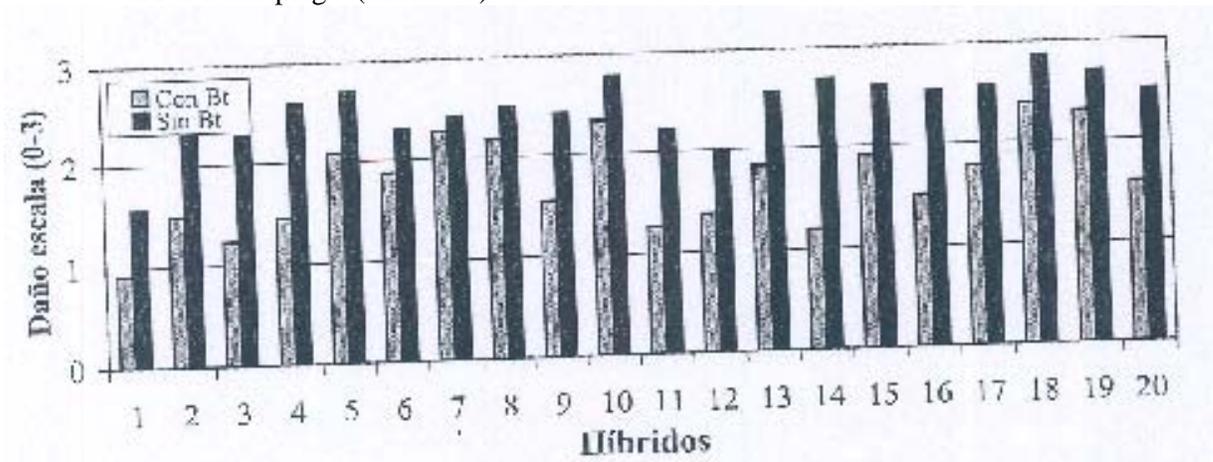


Gráfico 3. Daño en el maíz con y sin el gen Bt ocasionado por *Helicoverpa zea*. Zamorano, Honduras, 2002.

Estadísticamente los híbridos con y sin el gen Bt presentaron diferencias significativas en el número de mazorcas malas cosechadas (Cuadro 6). A pesar de esta diferencia entre el número de mazorcas malas, las mazorcas de los híbridos con Bt tuvieron un daño similar a las causadas en los híbridos sin Bt. Esto fue porque, la planta al desarrollarse fisiológicamente, la cantidad de toxina producida por la planta disminuye sin causar daño

al insecto cuando este se alimenta de la mazorca. Otro factor que influyó en el daño causado a la mazorca fue la especificidad de la proteína CryIAb.

Cuadro 6. Número de mazorcas malas cosechadas en el maíz con y sin el gen Bt Zamorano, Honduras, 2002.

Tratamiento	No. Mazorcas
	Malas
Sin Bt	32 a*
Con Bt	25 b

\* = días seguidas de letras distintas son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

#### 4.3 ALTURA DE MAZORCA Y PLANTA

Se encontró diferencia significativa para altura de mazorca y planta ( $P=0.001$ ) entre los tratamientos con y sin el gen Bt, siendo el híbrido 4 (DK200) sin el gen Bt el de mayor altura de mazorca (123 m) esta es diferente a los híbridos sin el evento con menor altura 10 (86 m), 16 (87 m), 20 (85 m), 13 (83 m), 17 (80 m) o híbridos con el evento 20 (85 m), 13 (83 m), 10 (81 m), 1 (78 m) mientras que el resto de híbridos no presentaron diferencias significativas. Los híbridos con menor altura de mazorca son más propensos al ataque de patógenos probablemente debido a que están más cerca de las malezas, las cuales son focos de infestación.

La altura de la planta presentó diferencia significativa entre el híbrido 1 MTC93 (149 m) con Bt y los híbridos con Bt 4 (235 m), 19 (216 m), 7 (214 m), 12 (214 m), 14 (212 m), 11 (212 m) e híbridos sin el evento 4 (231 m), 11 (212 m), 19 (212 m), 12 (212 m), no existiendo diferencia significativa con el resto de híbridos (Cuadro 4), La diferencia de alturas, es debido a la no adaptación a las condiciones de suelo y clima de la región, por parte los híbridos. Podemos decir que la altura de la planta tuvo correlación (0.20) con el acame de tallo ( $P < 0.05$ ) por lo que los híbridos más propensos al acame son las plantas que tienen mayor altura, provocado por la acción del viento o al efectuar los cambios de riego.

## 5. CONCLUSIONES

- Los maíces con el gen Bt CryIAb fueron tolerantes al ataque *Diatraea lineolata* (barrenador del tallo), en todo el ciclo del cultivo.
- *Spodoptera frugiperda* (cogollero) fue controlado parcialmente por el gen Bt, provocando solamente un daño cosmético al follaje de las plántulas.
- Los híbridos con Bt tuvieron menor daño (1.72 daño).ocasionado por *Helicoverpa zea* que los híbrido s sin Bt (2.46 daño), pero no lograron matar a la mayoría de las larvas.
- Los rendimientos de los híbrido s YieldGard fueron 25% superiores, comparado con los híbrido s sin el gen Bt.

## 6. RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos de comprobación con los híbridos transgénicos 20, 6, 19, 11, 15 ya que éstos presentaron las mejores características en cuanto a rendimiento, calidad de la mazorca, número de mazorcas buenas y malas.
- Evaluar los efectos indirectos en la planta (contenido de nutrientes, cambios metabólicos) y del daño que podría ocasionar a otros organismos presentes en el ecosistema.
- Establecer un programa de manejo de resistencia por parte del gobierno y universidades, el mismo que tiene que ser difundido a productores.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- AL TIERI, M. A. 1998. Riesgos ambientales de los cultivos transgénicos. Consultado el 26 oct. 2002. Disponible en: [http://acd.ufrj.br/consumo/leituras/lg\\_altieri98.rtf](http://acd.ufrj.br/consumo/leituras/lg_altieri98.rtf)
- BYRNE, P.; WARD, S.; HARRINGTON, J.; FULLER, L. 2002. Productos transgénicos cuya producción ha sido suspendida. Consultado el 28 de oct. 2002. Disponible en: [http://www.colostate.edu/lifesciences/CultivosTransgenicos/sp\\_defunc1.html](http://www.colostate.edu/lifesciences/CultivosTransgenicos/sp_defunc1.html)
- CAVE, R. 1995. Manual para la enseñanza del control biológico en América Latina. 1 ed. El Zamorano, Honduras, Zamorano Academic Presss. p. 57-60.
- DA VIS, F. M.; WILLIAMS, W. 1992. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall annywonn. Technical Bulletin 186. Miss. Agric. And Forestry Exp. S1., Mississippi State, Ms.
- DIAZ, J.; VAZQUEZ, L. 1997. Manejo integrado de plagas en hortalizas. Un manual metodológico para extensionistas. Edit. Por Susanne Scholaen. Tegucigalpa, Honduras. p. 30-33.
- DOLL, J.; ORAZEM, F. 1993. Production Economics: They with applications. 2ed. John Wiley and Sons, Inc. USA. 470 p.
- FAO. 2001. Datos agrícolas de FAOSTATS. Consultado el 29 de Sep. 2002. Disponible en: <http://apps.fao.org/lpage/collections?subset=agriculture&language=ES>
- ISAAA. 2002. Global Review of Commercialized Transgenic Crops. Consultado el 15 de sep. 2002. Disponible en: <http://www.isaaa.org/lpublications/briefs/BrieC24.htm>
- HRUSKA, J.; P A VON, L. 1997. Plantas transgénicas *Bacillus thuringiensis* en la agricultura Mesoamericana. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano Academic Press. El Zamorano, Honduras. p. 41-42-'78-79.
- GATEHOUSE, A.; HILDER, V.; BOULTER, D. 1992. Plant genetic manipulation for crop protection. U.K. Redwod press. 226 p.
- KING, A.; SAUNDERS, J. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. ODA. U,11UVII. mglaterra. p. 42-49
- MAXWELL, F.; GENNINGS, P. 1991. Mejoramiento de plantas resistentes a insectos. Editorial Limusa. México, D.F. 25 p.

MENDOZA, JORGE. 1992. El barrenador del tallo de maíz, *Uzatraea spp.* y su control. Estación experimental Tropical Pichilingue. Boletín Divulgativo .No. 238. p. 12.

NAVARRO, R. 2001. Plagas del algodonero en Venezuela. Consultado el 15 de oct. 2002.

Disponible en:

<http://www.plagasagricolas.info.ve/artropodos/areaagricola/algodonlspodopterafrugiperda.html>

PRIAG. Programa regional de Reforzamiento a la Investigación Agronómica Sobre los Granos en Centroamérica. 1999. Informes técnicos de Olanchito, Yoro, Honduras. San José, Costa Rica. 80 p.

SAGPY A. 2001. Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria. Programa de manejo de resistencia de insectos. Consultado el 18 de oct. 2002. Disponible en:

[http://www.sagpya.mecon.gov.ar/12/programa\\_manejo\\_resistencia\\_insectos.htm](http://www.sagpya.mecon.gov.ar/12/programa_manejo_resistencia_insectos.htm)

SANABRIA, O. 1991. Análisis de mercado de semilla mejorado en Honduras. El Zamorano, Honduras. Publicación interna de la Escuela Agrícola Panamericana. 93 p.

TRABANINO, R. 1998. Guía para el Manejo Integrado de Plagas invertebradas en Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano Academic Press. El Zamorano, Honduras. 156 p.