



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 103 (2):  
1-7; 2026



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas,  
Tucumán, Argentina.

Trabajo ya publicado

**Trabajo  
presentado en  
el XXXII ISSCT  
Centennial  
Congress, 24 al 28  
de agosto de 2025,  
Cali, Colombia,  
traducido al  
castellano.**

Fecha de  
recepción:  
03/02/2026

Fecha de  
aceptación:  
06/02/2026

# La expresión de proteínas insecticidas en caña de azúcar transgénica aumenta la resistencia a *Diatraea saccharalis*

Budeguer, Florencia\*; Enrique, Ramón\*; García Degano, Florencia\*\*; Rodríguez, Débora\*\*; Mocoroa, Matías\*\*; Hernández, David\*\*; Gastaminza, Gerardo\*\*;  
Ostengo, Santiago\*; Noguera, Aldo\*; Perera, M. Francisca\* y Racedo, Josefina\*

\*Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA), Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Las Talitas, Tucumán, Argentina. \*\* Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Las Talitas, Tucumán, Argentina.  
Email: florbudeguer88@gmail.com

## RESUMEN

El barrenador de la caña de azúcar, *Diatraea saccharalis*, es una de las principales plagas del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en el continente americano. Este insecto es controlado parcialmente mediante prácticas culturales, métodos biológicos y aplicaciones químicas; sin embargo, continúa ocasionando importantes pérdidas económicas. La transformación genética de la caña de azúcar con genes derivados de *Bacillus thuringiensis* (Bt) constituye una tecnología eficiente para el manejo de esta plaga. En caña de azúcar se logró la expresión de proteínas Bt individuales, aunque no la sobreexpresión apilada (*stacking*) de proteínas Cry y proteínas insecticidas vegetativas (Vip). En el presente estudio, genes *cry* y *vip* fueron incorporados mediante bombardeo de microproyectiles en callos embriogénicos de caña de azúcar de la variedad TUC 03-12. La presencia de los transgenes se evaluó mediante ensayos de PCR. Posteriormente, las líneas transgénicas fueron aclimatadas y multiplicadas en invernadero para su evaluación fenotípica y molecular. La presencia de las proteínas Cry y Vip se determinó mediante kits de detección por flujo lateral. La resistencia de las líneas transgénicas frente a *D. saccharalis* se evaluó mediante bioensayos bajo condiciones controladas, y los niveles de expresión de los transcriptos en las líneas candidatas se cuantificaron mediante ensayos de qRT-PCR. De las 374 líneas evaluadas por PCR, 229 resultaron positivas para al menos uno de los transgenes. La presencia de la proteína Cry se detectó en 123 líneas transgénicas evaluadas, mientras que la proteína Vip se detectó en tres líneas. Entre las 134 líneas evaluadas mediante bioensayos, 31 presentaron altos niveles de toxicidad frente a larvas de *D. saccharalis* (>90 % de mortalidad) y 29 líneas mostraron niveles de toxicidad que ocasionaron entre 67 y 89 % de mortalidad. De las líneas evaluadas fenotípicamente, se analizaron los niveles de expresión relativa de 19 líneas, observándose variaciones entre 3 y 140 veces para el gen *cry* y entre 2 y 1400 veces para el gen *vip* en comparación con plantas control no transformadas. La resistencia a insectos se incrementó significativamente mediante la transformación genética de la caña de azúcar con los genes *cry* y *vip*. El desarrollo de variedades transgénicas resistentes constituye una solución tecnológica que podría integrarse a programas de manejo integrado de plagas.

**Palabras clave:** Biolística, Estrés biótico, Manejo de plagas, Genes Bt piramidados, *Saccharum* spp.

## ABSTRACT

**Transgenic sugarcane expressing insecticidal proteins increases resistance to *Diatraea saccharalis***

The sugarcane borer *Diatraea saccharalis* is a major pest of sugarcane (*Saccharum* spp.) in the Americas. The insect is partially controlled by cultural, biological, and chemical methods, but still causes significant economic losses. Genetic transformation of sugarcane

with genes from *Bacillus thuringiensis* (Bt) constitutes an efficient technology to address borer management. In sugarcane, the expression of individual Bt proteins has been previously reported, but not the stacking overexpression of Cry and vegetative insecticidal proteins (Vip). In the present study, *cry* and *vip* genes were incorporated by microprojectile bombardment into embryogenic sugarcane calli of the variety TUC 03-12. The presence of the transgenes was evaluated by PCR assays. Subsequently, transgenic lines were acclimated and multiplied in the greenhouse for phenotypic and molecular assessments. Lateral flow detection kits were used to determine the presence of Cry and Vip proteins. The resistance of transgenic sugarcane lines against *D. saccharalis* was evaluated through bioassays under controlled conditions. The expression levels of transcripts in candidate lines were quantified by qRT-PCR assays. Out of 374 lines evaluated by PCR, 229 were positive for at least one of the transgenes. The presence of the Cry protein was detected in 123 transgenic lines evaluated, whilst the Vip protein was detected in three lines. Among 134 lines evaluated in bioassays, 31 lines showed high toxicity levels to *D. saccharalis* larvae (>90% mortality) and 29 lines revealed toxicity levels causing 67-89% mortality. Of these phenotypically assayed lines, 19 relative gene expression levels were studied, showing variations between 3 to 140-fold for the *cry* gene and between 2 to 1400-fold for the *vip* gene compared with non-transformed control plants. Insect resistance was significantly improved by the genetic transformation of sugarcane with *cry* and *vip* genes. Developing resistant transgenic varieties will provide a technological solution that could be included into integrated pest management.

**Key words:** Biolistic, biotic stress, pest management, pyramided Bt genes.

## INTRODUCCIÓN

*Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) es una de las principales plagas de la caña de azúcar en las Américas (Ostengo *et al.* 2022), incluida Argentina. Las larvas neonatas se alimentan del parénquima foliar y de las vainas, mientras que las larvas más desarrolladas perforan los tallos, afectando la integridad fisiológica de la planta. Los túneles formados en los entrenudos favorecen además la colonización por hongos y bacterias asociados al complejo de podredumbre roja, lo que reduce indirectamente el rendimiento y la calidad del azúcar y el etanol.

Los avances tecnológicos han permitido un rápido progreso en el desarrollo de plantas transgénicas para la protección contra plagas mediante la transferencia de genes derivados de plantas, insectos y bacterias (Budeguer *et al.* 2021). Las proteínas insecticidas más relevantes son producidas por la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt), que las sintetiza tanto en su fase vegetativa (Vip) como en la fase de esporulación (Cry). Los genes *cry* y *vip* se han utilizado ampliamente para generar plantas transgénicas con un control efectivo de plagas lepidópteras de importancia económica. Estas proteínas poseen modos de acción similares, pero sin homología estructural y con sitios de unión diferentes en el intestino medio larval, lo que reduce notablemente la posibilidad de resistencia cruzada (Carrière *et al.* 2016).

Tras la adopción masiva de cultivos portadores de tecnologías Bt, se ha detectado resistencia en algunas poblaciones de plagas objetivo (Tabashnik *et al.* 2013). Para disminuir la presión de selección y retrasar el incremento en la frecuencia de alelos de resistencia, se aplican estrategias de manejo como la expresión de altos niveles de toxina Bt en la planta ("high-dose"), la pirimidación de proteínas con diferentes sitios de acción y la utilización de refugios no-Bt (Cristofolletti *et al.* 2018). En caña de azú-

car, actualmente no existe ninguna variedad transgénica comercial con genes Bt apilados.

El desarrollo de variedades comerciales de caña de azúcar con genes Bt piramidados podría constituir una herramienta valiosa para el manejo de plagas, reduciendo el uso de insecticidas químicos, disminuyendo costos de producción y contribuyendo a la sostenibilidad del cultivo.

El objetivo de este estudio fue desarrollar y caracterizar eventos transgénicos de la variedad local TUC 03-12, de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, que expresen genes Bt apilados (*cry* y *vip*) para conferir resistencia a *D. saccharalis*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal, vector y transformación genética

Los callos embriogénicos de TUC 03-12 utilizados para los bombardeos fueron preparados según lo descrito por Bower y Birch (1992). Las transformaciones se llevaron a cabo en dos ensayos independientes: el primero entre diciembre de 2022 y abril de 2023, y el segundo entre diciembre de 2023 y abril de 2024. Se utilizaron tres plásmidos: 1) gen *cry* bajo el promotor Zm-UBI1; 2) gen *vip* bajo el promotor Zm-UBI1; y, 3) gen *nptII* bajo el control del promotor Actina. El gen *nptII* codifica una proteína que confiere resistencia al antibiótico genético. Para el bombardeo de los callos, los tres plásmidos purificados se co-precipitaron siguiendo el protocolo descrito por Altpeter y Sandhu (2010). Se utilizaron un acelerador de micropartículas desarrollado por el Centro de Tecnología Copersucar (actual Centro de Tecnología Canaveira) y uno de BioRad, siguiendo las especificaciones del fabricante.

### Condiciones de selección, regeneración y micropropagación

Los callos transformados se seleccionaron en un medio de cultivo con 50 mg L<sup>-1</sup> de genética. Los brotes seleccionados se regeneraron en un medio con 0,7 mg L<sup>-1</sup> de 6-bencil amino purina (BAP) bajo un régimen de luz de 16 h (Noguera *et al.* 2015). Los brotes regenerados fueron luego micropropagados y enraizados siguiendo un protocolo previamente optimizado (Noguera *et al.* 2010), y aclimatados bajo condiciones especiales de invernadero (2500 lux y 80 – 100% de humedad) antes de ser transferidos a condiciones de crecimiento *ex vitro*.

### Detección de eventos transgénicos por PCR

Se extrajo ADN genómico a partir de tejido foliar de líneas potencialmente transgénicas resistentes a genética, de maíz Bt comercial con ambos genes *cry* y *vip* apilados (control positivo) y de plantas no transgénicas (control negativo), utilizando el método descrito por Aljanabi *et al.* (1999). La presencia de los genes *cry*, *vip* y *nptII* se detectó por PCR utilizando cebadores específicos y condiciones de termociclado descritas en Budeguer *et al.* (2024). Los productos de PCR se analizaron por electroforesis en gel de agarosa (1% p/v). La eficiencia de transformación se calculó como el total de las líneas transgénicas para al menos un gen de interés en función del número de callos transformados.

### Determinación de niveles de expresión de transcritos por RT-qPCR

Se utilizaron hojas jóvenes de los 21 eventos más promisorios del ensayo 2022–2023 y de la variedad no transformada TUC 03-12 para la extracción de ARN total, siguiendo las instrucciones del fabricante (SV Total RNA Isolation Kit; Promega, USA), empleando los cebadores y condiciones descritos en Budeguer *et al.* (2024). TUC 03-12 se usó como control de referencia y los datos se normalizaron con el gen actina. La expresión relativa se calculó mediante el método 2<sup>-ΔΔCt</sup> (Livak y Schmittgen, 2001), con muestras por triplicado. Los datos se analizaron mediante un modelo lineal generalizado con distribución binomial y enlace logit, seguido de la prueba a posteriori DGC en Navure 1.2.0 (Navure 2023).

### Detección de proteínas mediante tiras de flujo lateral

La presencia de las proteínas Cry y Vip en los eventos transgénicos se evaluó cualitativamente mediante el kit AgraStrips® ELISA lateral flow (Romer Lab®), siguiendo las instrucciones del fabricante. Una variedad comercial de maíz Bt con ambos genes apilados se utilizó como control positivo. Se analizaron todos los eventos del ensayo 2022–2023 que sobrevivieron a la aclimatación *ex vitro*, mientras que en el ensayo 2023–2024 se evaluaron únicamente los eventos apilados y aquellos que contenían

solo el gen *vip*.

### Ensayos fenotípicos contra *D. saccharalis* en condiciones controladas

Se realizaron ensayos fenotípicos en bandejas Pitman para evaluar la resistencia de las líneas transgénicas obtenidas en el ensayo 2022–2023 frente a *D. saccharalis*. Las líneas del ensayo 2023–2024 no fueron evaluadas debido a que no alcanzaron el tamaño adecuado al momento del estudio. En cada pocillo se colocó un fragmento foliar de cada línea y una larva L1 de *D. saccharalis*. Después de cuatro días, se registró la mortalidad larval y se corrigió mediante la fórmula de Abbott (Abbott, 1925). Se utilizó como control negativo la variedad no transformada TUC 03-12, mientras que un maíz Bt se empleó como control positivo.

En una primera etapa se evaluaron 134 líneas transgénicas, con valores promedio calculados a partir de triplicados. Posteriormente, las 50 líneas más resistentes se sometieron a una segunda evaluación con seis repeticiones. Los datos se analizaron mediante un modelo lineal generalizado con distribución binomial y enlace logit, seguido de la prueba a posteriori DGC en Navure.

## RESULTADOS

### Transformación, selección y detección de eventos transgénicos por PCR

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos en los ensayos 2022–2023 y 2023–2024.

### Niveles de expresión de transcritos por RT-qPCR

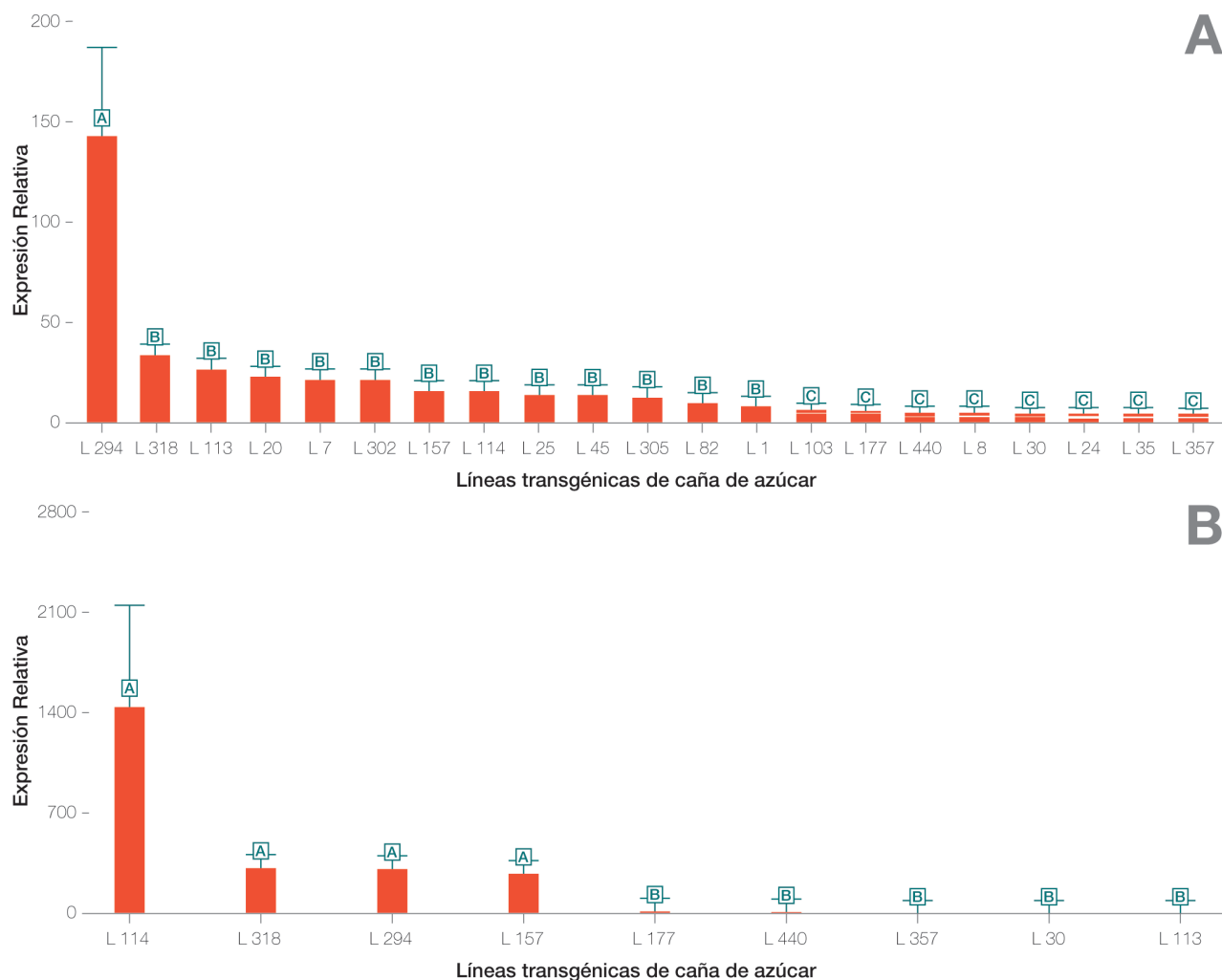
Entre los eventos del ensayo 2022–2023, la línea 294 mostró el nivel más alto de expresión para ambos genes (143,09 y 313,63 veces para *cry* y *vip*, respectivamente) (Figura 1). En las demás líneas, la expresión relativa del gen *cry* varió entre 3 y 34 veces respecto a las plantas control no transformadas (Figura 1A). Los niveles relativos de expresión del gen *vip* detectados fueron entre 2 y 1400 veces mayores respecto al control. Cuatro líneas (Grupo A, Figura 1b) se destacaron con niveles de expresión entre 280 y 1400 veces. La línea 114 presentó el mayor nivel de expresión para *vip* (1443,9 veces) (Figura 1B).

### Detección de proteínas Bt mediante tiras de flujo lateral

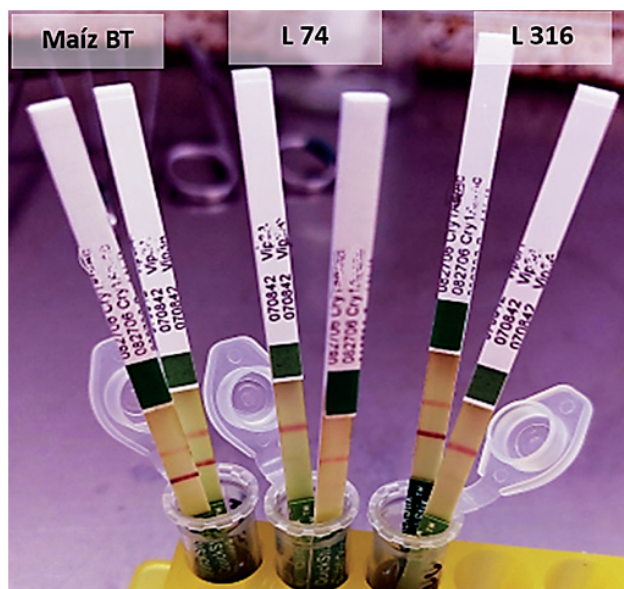
La proteína Cry se detectó en 131 de las 171 líneas evaluadas (76,6%) del ensayo 2022–2023. La proteína Vip se detectó en tres de las nueve líneas sobrevivientes, que resultaron apiladas (33,3%) (Figura 2). De las 50 líneas obtenidas en el ensayo 2023–2024 evaluadas, 36 fueron positivas para Cry y 14 para ambas proteínas, lo que indica un 100% de expresión del gen Cry.

**Tabla 1.** Resultados obtenidos de la transformación, selección y detección por PCR para dos ensayos de transformación.

| Ensayos transformación | Gene gun   | Callos bombardeados | Eventos seleccionados | Número de eventos PCR+ |            |                         | Eficiencia de transformación (%) |
|------------------------|------------|---------------------|-----------------------|------------------------|------------|-------------------------|----------------------------------|
|                        |            |                     |                       | <i>cry</i>             | <i>vip</i> | <i>cry</i> + <i>vip</i> |                                  |
| 2022-2023              | Copersucar | 3960                | 600                   | 229                    | 0          | 18                      | 6,24                             |
| 2023-2024              | BioRad     | 660                 | 345                   | 143                    | 4          | 63                      | 31,82                            |



**Figura 1.** Cuantificación de los niveles de expresión génica mediante análisis de RT-qPCR en líneas transgénicas, relativas a la expresión de la variedad sin transformar. A) Gen *cry* en 21 líneas transgénicas. B) Gen *vip* en nueve líneas transgénicas.



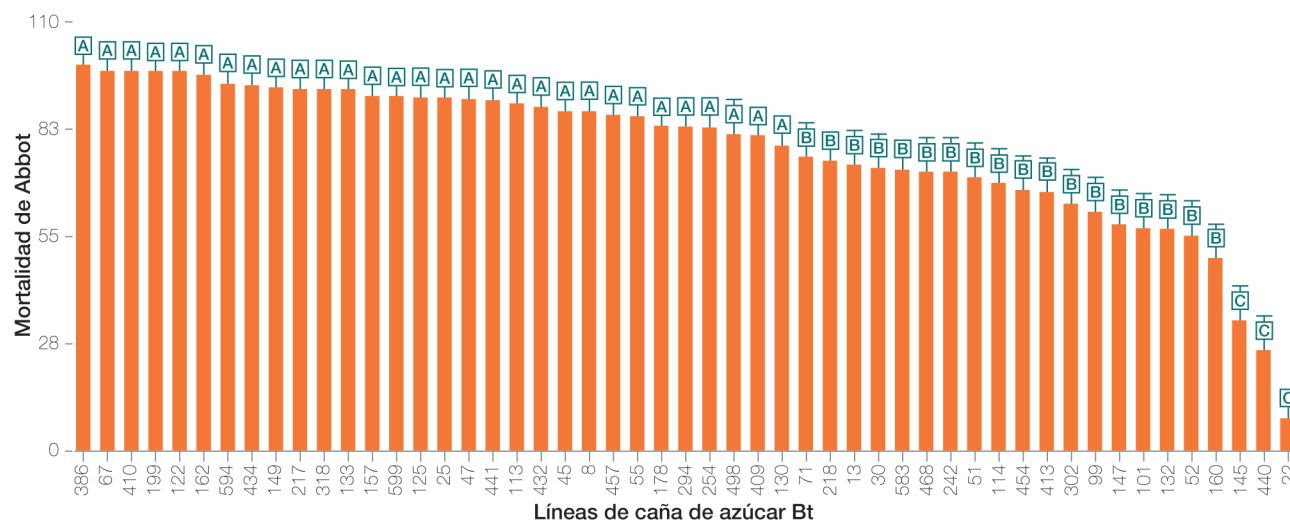
**Figura 2.** Detección de proteínas Bt en líneas transgénicas mediante tiras de flujo lateral para las proteínas Cry y Vip. El control de maíz Bt presentó bandas positivas para ambas proteínas. La línea 74 fue negativa para Cry y Vip. En la línea 316 se detectó Cry, pero no Vip.

### Ensayos fenotípicos

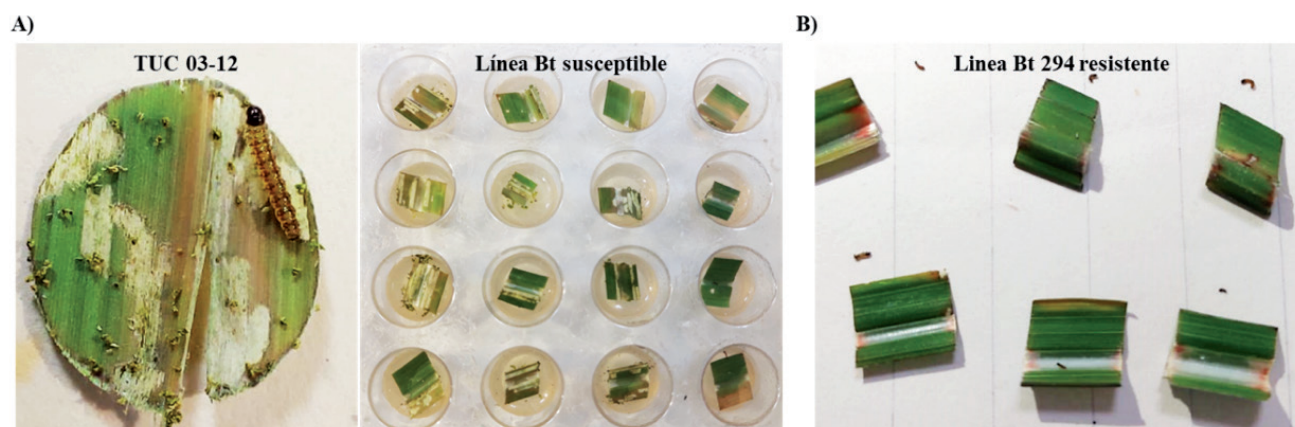
En la primera prueba, se evaluaron 134 líneas y se seleccionaron las 50 más resistentes, que pasaron a una segunda etapa de evaluación. En el segundo ensayo, 30 líneas (Grupo A) exhibieron mortalidades entre 78 y 99%. Dieciocho líneas se destacaron con mortalidad >90%, incluyendo dos eventos que expresaban ambas proteínas Bt, las líneas 157 y 294 (Figura 3). La Figura 4 muestra la respuesta de *D. saccharalis* (mortalidad de Abbot) en hojas de diferentes líneas transgénicas.

### DISCUSIÓN

Dado que la producción de caña de azúcar está fuertemente influenciada por el estrés biótico, el mejoramiento convencional, respaldado por herramientas biotecnológicas, busca constantemente desarrollar nuevos genotipos con mayor rendimiento de azúcar y biomasa, así como mayor tolerancia al estrés. Sin embargo, encontrar nuevos recursos genéticos para generar variedades con mayor tolerancia a las plagas es un desafío. Las variedades élite pueden utilizarse como material de partida para el mejoramiento de cultivos mediante ingeniería genética, incorporando nuevas características que confieran



**Figura 3.** Ensayos fenotípicos en hojas bajo condiciones controladas para evaluar la resistencia frente a *D. saccharalis*. Porcentaje de mortalidad de Abbot obtenido para las 50 líneas transgénicas evaluadas.



**Figura 4.** Ensayos fenotípicos en hojas desprendidas bajo condiciones controladas. A) Daño foliar causado por *D. saccharalis* en hojas de plantas control y línea susceptible, tras cuatro días de ensayo. B) Línea resistente con daño mínimo y larvas muertas al cuarto día de ensayo.

resistencia a *D. saccharalis*.

Un protocolo de transformación requiere un procedimiento de cultivo de tejidos que permita la recuperación del mayor número posible de plantas regeneradas con un método de transformación altamente eficiente, Neumann *et al.* (2020). La transferencia génica incluye varias etapas del cultivo de tejidos, incluyendo la selección y regeneración de plantas, que son los principales determinantes de la eficiencia de la transformación génica mediante bombardeo de partículas en la caña de azúcar (Singh *et al.*, 2013; Budeguer *et al.*, 2021). En este trabajo, se observó un mayor porcentaje de transformantes en el ensayo 2023-2024 (31,82%) en comparación con el ensayo 2022-2023 (6,24%). Esta mejora podría atribuirse al uso de un acelerador de partículas más eficiente (Biorad). Estos valores de eficiencia son superiores a los alcanzados por otros grupos en diferentes variedades de caña de azúcar (1,6%) utilizando la misma metodología (Budeguer *et al.*, 2021). La eficiencia de transformación se multiplicó por aproximadamente 6 para la misma variedad de caña de azúcar en comparación con estudios previos (Noguera *et al.*, 2015, Budeguer *et al.*, 2024, Enrique *et al.*, 2024).

En el presente trabajo, las construcciones se

diseñaron considerando el uso de promotores fuertes para obtener altos niveles de expresión de los transgenes (Mohan *et al.*, 2017). Los promotores Zm-Ubi1 del maíz y Act del arroz son promotores constitutivos fuertes que se utilizan frecuentemente en la transformación genética de monocotiledóneas, incluyendo la caña de azúcar (Weng *et al.*, 2006, Wang *et al.*, 2017). Nuestro grupo desarrolló la variedad transgénica TUC 87-3 RG con ambos promotores, y se obtuvieron resultados sobresalientes en cuanto al nivel de expresión de las proteínas NPTII y EPSPS (Noguera *et al.*, 2015). En este trabajo, el nivel de expresión relativo del gen *cry* mostró variaciones entre 3 y 140 veces en comparación con las plantas control no transformadas. Estos niveles observados fueron superiores a los citados previamente en Budeguer *et al.* (2024), donde las líneas transgénicas con el gen *cry* bajo el control del promotor Cab1 exhibieron niveles de expresión de hasta 11,7 veces en comparación con las plantas control. En cuanto al gen *vip*, el grupo A destacó con niveles de expresión de 280 a 1400 veces, como se observó en trabajos previos, donde ambos utilizaron el promotor de ubiquitina del maíz (Budeguer *et al.*, 2024).

La expresión de la proteína Bt puede mejorar la

resistencia a plagas en plantas transgénicas (Weng *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2016). En el presente trabajo, el 76,6 % y el 100 % de las líneas transgénicas para el gen *cry* expresaron esta proteína en ambos ensayos de transformación. Esto demuestra la eficacia tanto del promotor como del gen para la expresión en caña de azúcar. Por otro lado, el gen *vip* presentó un porcentaje de expresión del 33 % y el 26 % en ambos ensayos. Estos resultados podrían mejorarse mediante la optimización de codones para incrementar la expresión de la proteína Vip en cultivos de caña de azúcar (Kalia y Kaur, 2019; Khan *et al.*, 2020). Las plantas transgénicas que expresan proteínas Bt presentaron un porcentaje de mortalidad larvaria de Abbot significativamente mayor que las plantas control, con líneas que mostraron una mortalidad larvaria superior al 90 %. Estos resultados podrían correlacionar la expresión proteica con el nivel de resistencia de las líneas Bt obtenidas. Sin embargo, es necesario un análisis cuantitativo de la expresión proteica para confirmar esta correlación (Weng *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2016). Finalmente, consideramos necesario evaluar la resistencia en campo de las líneas más prometedoras para seleccionar el evento o eventos que impulsarán el proceso de desregulación para su comercialización.

#### ■ APOYO FINANCIERO

Este proyecto fue financiado por la EEAOC y por el proyecto PIP 2021-2023 GI (11220200101941CO01 de CONICET).

#### ■ BIBLIOGRAFÍA CITADA

**Abbott WS. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18(2): 265-267.

**Aljanabi S, Forget L, Dookun A. 1999.** An improved and rapid protocol for the isolation of polysaccharide and polyphenol free sugarcane DNA. *Plant Molecular Biology Report* 17: 281.

**Altpeter F, Sandhu S. 2010.** Genetic transformation-biologics. In *Plant cell culture: essential methods* (pp. 217-237). Wiley.

**Baranek J, Konecka E, Kaznowski A. 2017.** Interaction between toxin crystals and vegetative insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* in lepidopteran larvae. *BioControl* 62: 649-658. doi:10.1007/s10526-017-9828-6.

**Bower R, Birch RG. 1992.** Transgenic sugarcane plants via microprojectile bombardment. *The Plant Journal* 2(3): 409-416. doi:10.1111/j.1365-313X.1992.00409.x

**Budguer F, Enrique RA, Perera MF, et al. 2021.** Genetic transformation of sugarcane, current status and future prospects. *Frontiers in Plant Science* 2467.

**Budguer F, Racedo J, Enrique R, et al. 2024.** Transgenic sugarcane for the sustainable management of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. *Sugar Industry* 149: 133-138.

**Carrière Y, Fabrick JA, and Tabashnik BE. 2016.** Can pyramids and seed mixtures delay resistance to Bt

crops? *Trends in Biotechnology* 34: 291-302.

**Cristofolletti PT, Kemper EL, Capella AN, et al. 2018.** Development of transgenic sugarcane resistant to sugarcane borer. *Tropical Plant Biology* 11: 17-30. doi:10.1007/s12042-018-9198-y CTC, <https://ctc.com.br/produtos/>. Accessed 11 February 2025

**Enrique R, Budguer F, Ostengo S, et al. 2024.** Desarrollo de eventos transgénicos de caña de azúcar con tolerancia incrementada a estreses abióticos. XXII reunión nacional de técnicos de la caña de azúcar (SATCA).

**Gao S, Yang Y, Wang C, et al. 2016.** Transgenic sugarcane with a *cry1Ac* gene exhibited better phenotypic traits and enhanced resistance against sugarcane borer. *PLoS One*, 11(4), e0153929.

**Kalia V, and Kaur S. 2019.** Efficacy of transgenic tobacco carrying synthetic plant-preferred codon-optimized novel VIP3AA44 Gene towards *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. *Indian Journal of Entomology*, 81(2), 325-331.

**Khan MH, Mukhtar Z, Arshad M, et al. 2020.** Development and evaluation of synthetic vip3A gene in transgenic cotton for protection against chewing insect pests.

**Livak KJ, Schmittgen TD. 2001.** Analysis of Relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-DDCT method. *Methods* 25(4):402-408

**Mohan C, Schneider VK and Henrique-Silva F. 2017.** Novel Potential Candidate Promoters and Advanced Strategies for Sugarcane Transformation. In *Sugarcane Biotechnology: Challenges and Prospects* (pp. 75-85). Springer, Cham.10.31047/1668.298x.v31.n2.1 6538

**Navure Team. 2023.** Navure (1.2.0): A data-science-statistic oriented application for making evidence-based decisions. URL <http://www.navure.com>

**Neumann KH, Kumar A, Imani J, et al. 2020.** Genetic problems and gene technology. *Plant Cell and Tissue Culture—A Tool in Biotechnology: Basics and Application*, 337-435.

**Noguera A, Enrique R, Perera MF, et al. 2015.** Genetic characterization and field evaluation to recover parental phenotype in transgenic sugarcane: a step toward commercial release. *Molecular Breeding* 35: 115.

**Noguera A, Paz N, Díaz E, et al. 2010.** Proyecto Vitroplantas: La producción de caña semilla de alta calidad comienza en el laboratorio. Publicación Especial N°40 Proyecto Vitroplantas: producción de caña semilla de alta calidad Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Las Talitas.

**Ostengo S, Serino G, Perera, et al. 2022.** Sugarcane breeding, germplasm development and supporting genetic research in Argentina. *Sugar Tech* 24(1): 166-180.

**Singh RK, Kumar P, Tiwari NN, et al. 2013.** Current status of sugarcane transgenic: an overview. *Advancements in Genetic Engineering* 2: 112.

**Tabashnik BE, Brévault T, Carrière Y. 2013.** Review Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. *Nature Biotechnology* 31: 510-521. doi:10.1038/nbt.2597

**Trumper EV 2014.** Resistencia de insectos a cultivos

transgénicos con propiedades insecticidas. Teoría, estado del arte y desafíos para la República Argentina. *Agriscientia* 31: 109–126. doi: 10.31047/1668.298x.v31.n2.1 6538

**Wang WZ, Yang BP, Feng XY, et al. 2017.** Development and characterization of transgenic sugarcane with insect resistance and herbicide tolerance. *Frontiers in Plant Science* 8: 1535.

**Weng GX, Deng HH, Xu JG, et al. 2006.** Regeneration

of sugarcane elite breeding lines and engineering of strong stem borer resistance. *Pest Management Science* 62, 178-187.

**Weng LX, Deng HH, Xu JL, et al. 2011.** Transgenic sugarcane plants expressing high levels of modified cry1Ac provide effective control against stem borers in field trials. *Transgenic Res* 20(4):759–772 pmid:21046242