

Отчет по производственной практике

Тема

- Создание рекомбинантной бактерии *Bacillus subtilis* с геном рекомбинантного белка Cri

Цель исследования

- Создать рекомбинантную бактерию *Bacillus subtilis* с геном рекомбинантного белка Cri
- В последствии можно применить для защиты картофеля и пшеницы

Объекты исследования

- *Bacillus thuringiensis*
- вид грамположительных, спорообразующих почвенных бактерий. Клетки и специфический кристаллический белковый δ -эндотоксин проявляют инсектицидное действие по отношению к гусеницам многих представителей насекомых отрядов чешуекрылых и жёсткокрылых, личинкам москитов, мошек, нематод

- *Bacillus subtilis*
вид грамположительных спорообразующих аэробных бактерий, представителей рода бациллы (*Bacillus*). Имеет вид бесцветной прямой палочки, размером примерно 0,7 мкм в толщину и 2—8 мкм в длину. Может размножаться делением и спорами. Антагонист патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, таких как сальмонелла, протей, стафилококки, стрептококки, дрожжевые грибки; продуцируют ферменты, удаляющие продукты гнилостного распада тканей; синтезируют аминокислоты, витамины и иммунноактивные факторы.

Bacillus thuringiensis

- Пестицидные белки, входящие в состав кристаллических включений *Bt*, являются протоксинами.
- Кристаллические белки, или δ -эндотоксины, подразделяемые на два мультигенных семейства □ Cry- и Cyt-белки
- наиболее заметное влияние на активность оказывает термостабильный β -экзотоксин, токсичный для насекомых, устойчивых к кристаллическим белкам *Bt*

Механизм действия

- Механизм их действия включает растворение кристаллов в кишечнике насекомых, протеолитическое расщепление протоксинов до токсинов, связывание токсинов со специфическими рецепторами и формирование ими пор в мембранах клеток кишечника, что может приводить либо к нарушению клеточного гомеостаза, либо к лизису клеток и разрушению эпителия кишечника насекомых
- Преимущества биопестицидов на основе Bt
- отсутствие загрязняющих остатков,
- высокая специфичность действия, обуславливающая их безопасность для нецелевых организмов,
- сравнительно низкая стоимость процедур
- узкий спектр действия

Рекомбинантный штамм *Bacillus subtilis* 26Д с геном инсектицидного белка cry от *Bacillus thuringiensis*

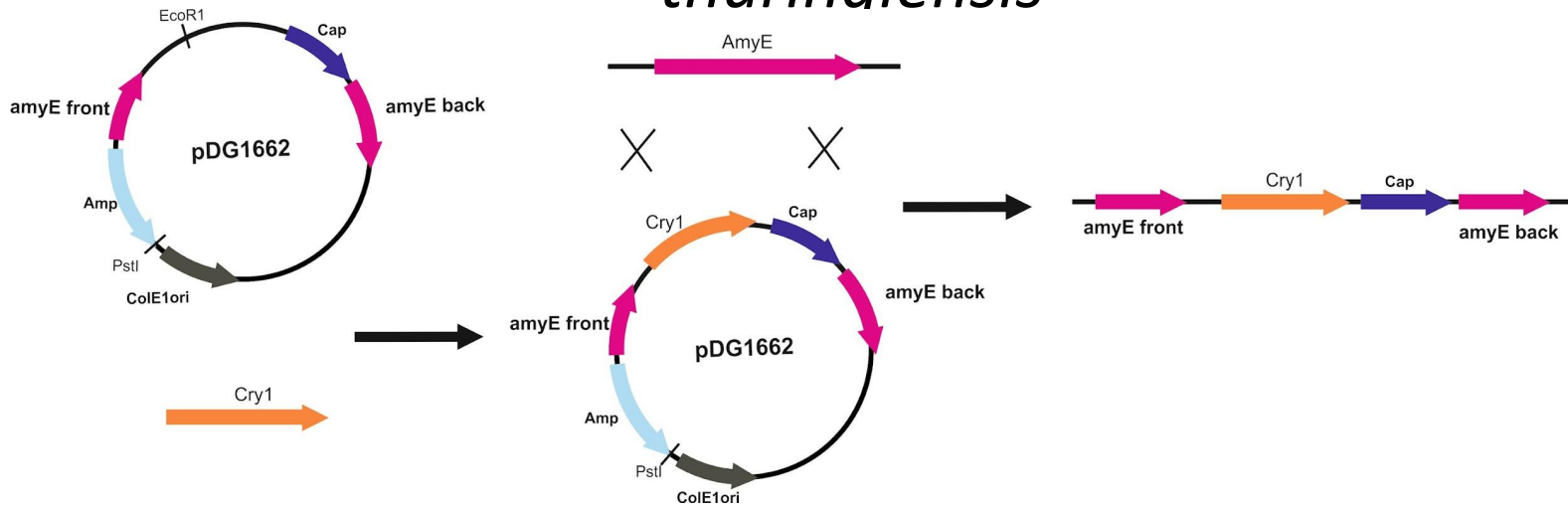
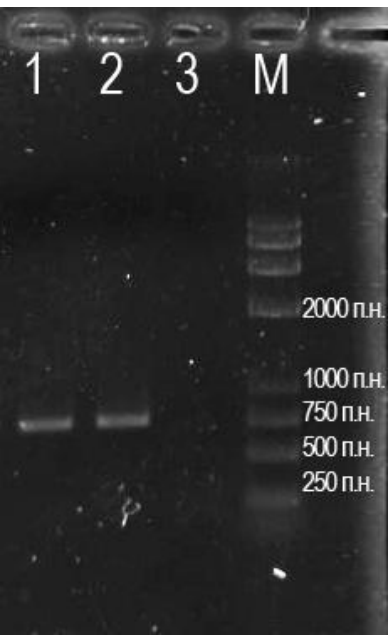


Схема получения плазмиды pDG1662, несущей ген *cry1la* и его интеграция в бактериальную хромосому

Электрофореграмма анализа рекомбинантного штамма *B.subtilis* 26Д на наличие гена *Cry1la*.

1. Штамм *B. thuringiensis subs kurstaki* ВПКМ-5351;
2. Рекомбинантная линия *B.subtilis* 26Дcry;
3. Исходный штамм *B. subtilis* 26Д; М- маркер

Показано, что рекомбинантная форма бактерии обладает свойствами, штамма *Bacillus subtilis* 26Д и инсектицидностью к колорадскому жуку, комнатную муху и злаковой тле.



ПРЕИМУЩЕСТВА ИММУНИЗАТОРОВ ПЕРЕД ХИМИЧЕСКИМИ СРЕДСТВАМИ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

1. Снижена опасность для людей, организмов, не являющихся мишенями действия препарата, и окружающей среды вследствие высокой специфичности и отсутствия биоцидности агентов.

2. Повышение устойчивости растений-хозяев к болезнетворным агентам, лишенных генов устойчивости, позволяет использовать лучшие в агрономическом отношении сорта.

3. Снижается опасность накопления резистентных к фунгицидам штаммов патогенов.

4. Индуцирование устойчивости на горизонтальном уровне создаст более длительную неспецифическую защиту растений от большого спектра патогенов, чем при применении фунгицидов, и потребует синтеза более низких концентраций специфичных для хозяина веществ.

5. Большинство индукторов устойчивости полифункциональны, то есть повышают устойчивость растений к грибам, бактериям, вирусам, а иногда – также к нематодам и насекомым.

6. Использование антагонистов-эндофитов снижает инфекционную нагрузку патогенов на растения.

Дальнейшая задача

- Произвести отбор более эффективной рекомбинантной линии бактерий, обладающей высокой инсектицидностью и стимулирующей системную индуцированную устойчивость растений

