

Биопестициды



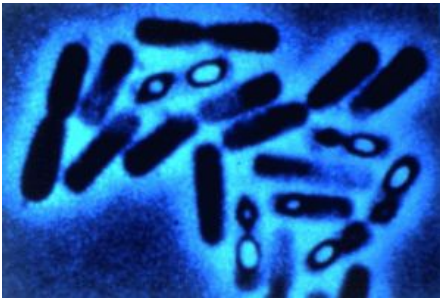
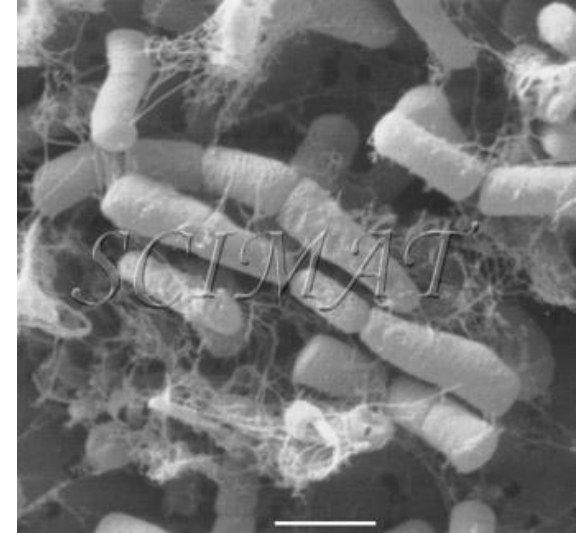
В зависимости от действующего вещества различают **бактериальные, биологические и химические препараты**. Первые созданы на основе живых клеток и спор бактерий-антагонистов, которые подавляют возбудителей фузариозного и вертициллёзного увядания, альтернариоза, фитофтороза, мучнистой росы, парши. Наибольшее распространение получили препараты Интеграл, Фитоспорин, Бактофит, Агат-25, Планриз, Фитолавин-300, Триходермин, Лепидоцид, Бикол, Битоксибациллин, Боверин.

Микробиологические препараты оказывают

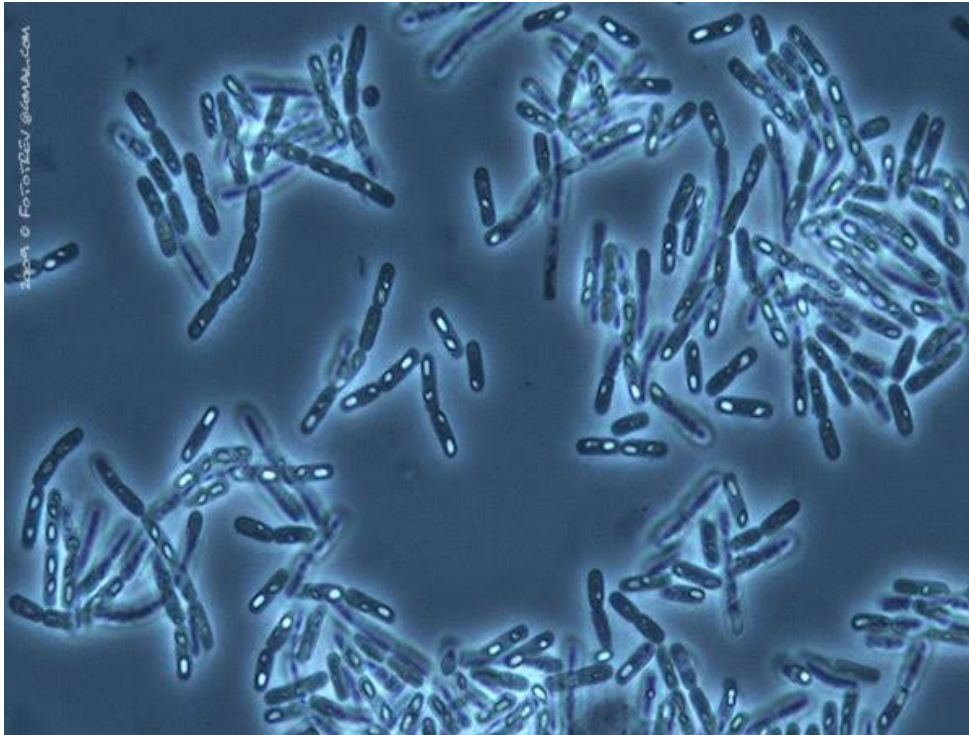
следующее действие:

1. Они повышают содержание агрономически полезных микроорганизмов в почве;
2. Оздоравливают почву, так как сдерживают рост фитопатогенов, увеличивая число микробов-антагонистов;
3. Улучшают структуру почвы;
4. Способствуют улучшению минерального питания растений;
5. Выделяют биологически-активные вещества и стимулируют рост растений, повышают иммунитет растений и урожайность;
6. Улучшают качество плодов.

Bacillus thuringiensis



Bacillus thuringiensis



В клетке, помимо эндоспоры (самая яркая область в клетке), располагается кристалл токсина – Cry-белок – вызывает паралич у насекомых и используется как пестицид. Активный токсин прикрепляется к мембранам эпителия среднего кишечника насекомых, вызывая уравнивание концентраций ионов снаружи и внутри клеток, что приводит к нарушению работы пищеварительной системы личинки, постепенно вызывая голодную смерть. Понижения pH кишечника личинок необходимо для создания благоприятных условий для своего развития и размножения в теле хозяина.

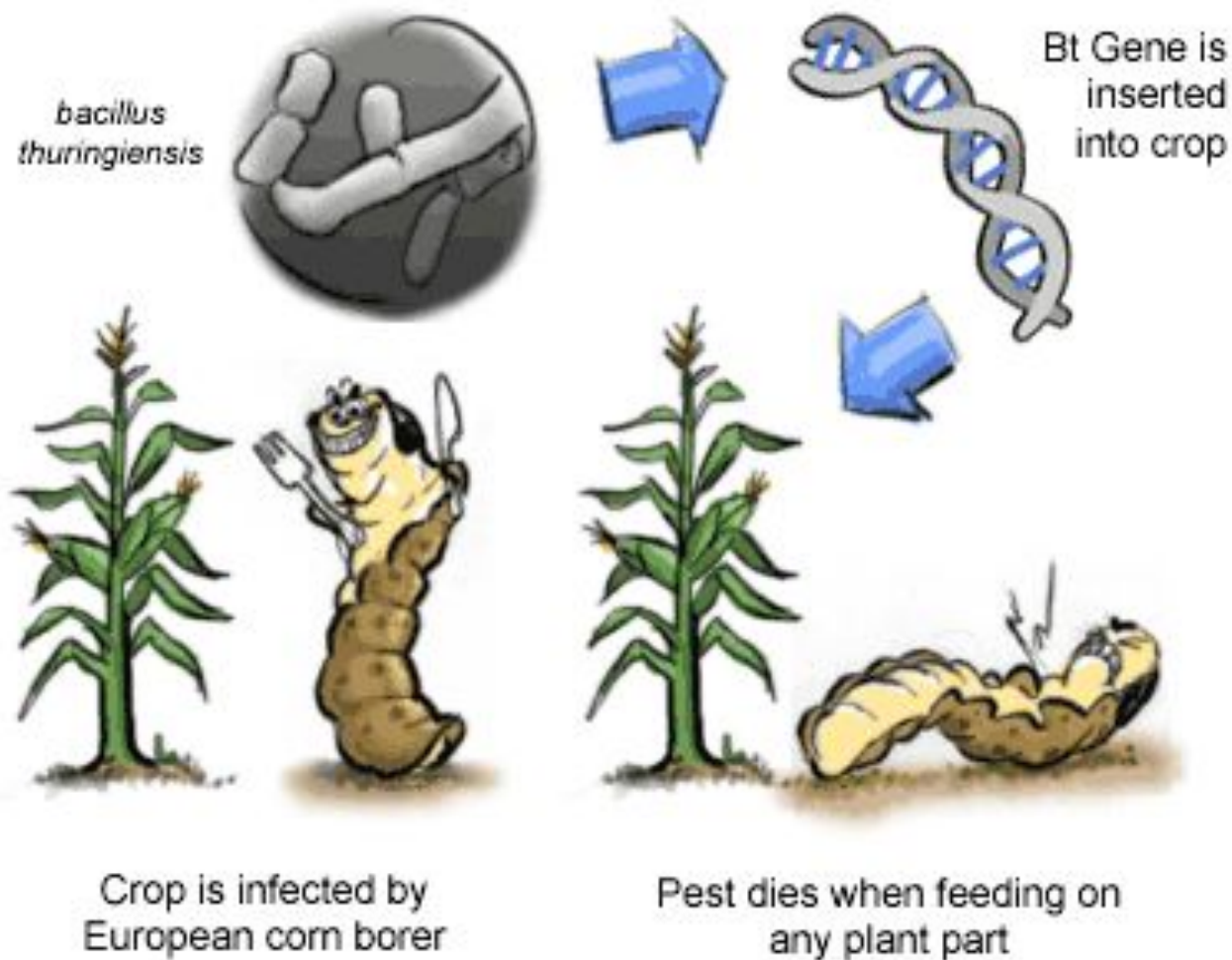
• **Битоксибациллин** - спорово-кристаллический комплекс, основан на культуре бактерии *Bacillus thuringiensis sub.sp. thuringiensis*, серотип I(H1). В препаратах кроме спор и кристаллов (эндотоксина) (1:1) содержится 0,8-1% экзотоксина.

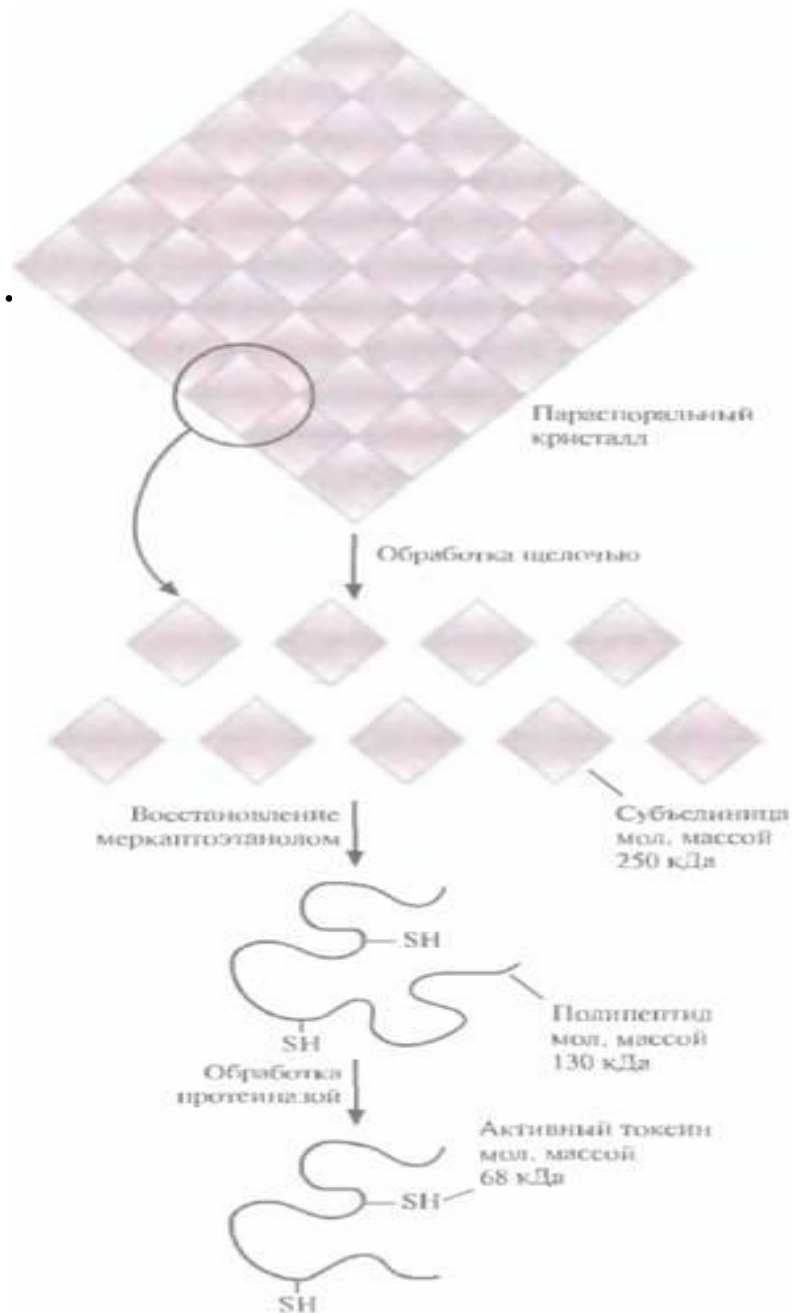
• **Дендробациллин.** Первый отечественный бактериальный препарат предназначается для борьбы с целевым объектом - Сибирским шелкопрядом. Культура бактерии *Bacillus thuringiensis sub.sp. dendrolimi*; серотип 4а-4в (Н4а Н4в,) была получена профессором Иркутского Государственного Университета З.Р. Талалаевым в 1949 г. На заводах Главмикробиопрома с 1955г. готовили сухой мелкодисперсный биопрепарат с титром 30 млрд. спор в 1г.



Разработка устойчивой ГМО кукурузы

-
-





Схематическое изображение параспорового кристалла *B. thuringiensis*, состоящего из белкового протоксина CryI. Каждая белковая субъединица имеет мол. массу 250 кДа и содержит два полипептида мол. массой 130 кДа каждый. Молекулярные массы определяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле; приведены округленные значения. Превращение протоксина (130 кДа) в активный токсин (68 кДа) происходит только в слабощелочных условиях (pH 7,5—8) в присутствии специфической протеиназы (протеиназ). Именно эти условия реализуются в кишечнике насекомого

Встраивание токсина *B. thuringiensis* в мембрану эпителиальной клетки кишечника насекомого и образование ионного канала.



Таблица
*thuringiensis*¹⁾ Некоторые свойства инсектицидных токсинов, синтезируемых разными штаммами *B.*

Штамм <i>B. thuringiensis</i> или подвид	Класс	Мол. масса протоксина, кДа	Насекомое-мишень	Серотип
<i>berliner</i>	CryI	130-140	Чешуекрылые	1
<i>kurstaki</i> KTO, HD-1	CryI	130-140	Чешуекрылые	3
<i>entomocidalis</i> 6.01	CryI	130-140	Чешуекрылые	6
<i>szentpalyi</i> 7.29	CryI	130-140	Чешуекрылые	7
<i>szentpalyi</i> IC 1	CryI	135	Чешуекрылые, двукрылые	7
<i>kurstaki</i> HD-I	CryII	71	Чешуекрылые, двукрылые	3
<i>tenebrionis</i> (San diego)	CryIII	66-73	Жесткокрылые	8
<i>morrisoni</i> PG 14	CryIV	125-145	Двукрылые	8
<i>israelensis</i>	CryIV	68	Двукрылые	14

¹⁾ Из работы Lacroix et al., p. 37—69, in Erdwitsch et al., (ed). *Bacillus thuringiensis, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice*, 1993.



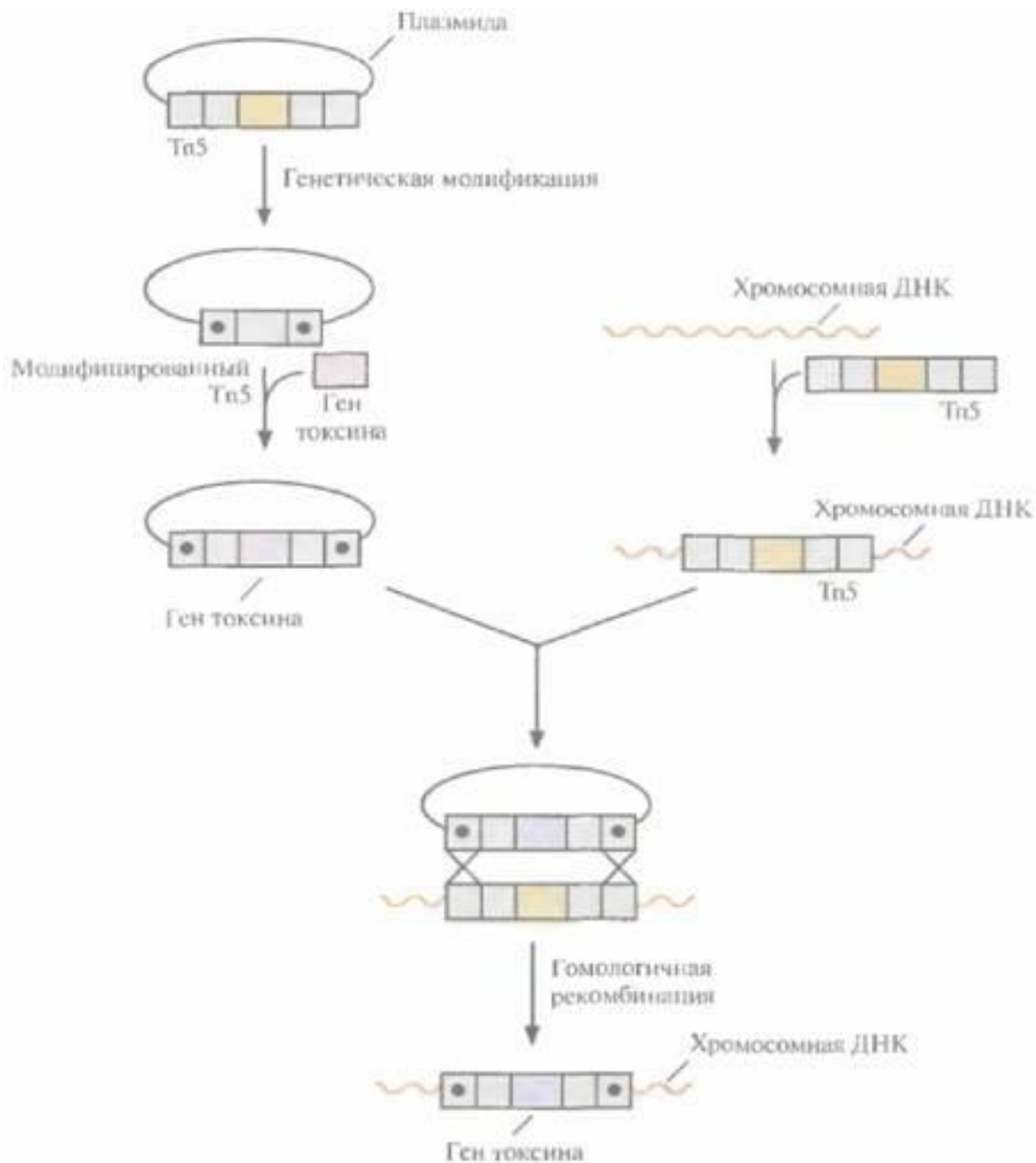
Выделение и фракционирование плазмид, одна из которых несет ген протоксина.

. Токсичность природных и рекомби-нантных подвидов *B. thuringiensis* для насекомых *Pieris brassicae* (капустница), *Aedes aegypti* (комар) и *Phaedon cochleariae* (жук)¹⁾

Хозяйская ДНК	Введенная ДНК	Токсичность дая ²⁾		
		<i>Pieris</i>	<i>Aedes</i>	<i>Phaedon</i>
<i>aizawai</i>	Нет	++	+	—
<i>israelensis</i>	Нет	—	++	—
<i>israelensis</i>	<i>aizawai</i>	++	++	—
<i>israelensis</i>	<i>tenebrionis</i>	+	++	++
<i>kurstaki</i>	Нет	++	+	—
<i>kurstaki</i>	<i>tenebrionis</i>	++	+	++
<i>tenebrionis</i>	Нет	—	—	++
<i>tenebrionis</i>	<i>aizawai</i>	++	+	+

1) Из работы Crickmore et al *Biochem J.* 270: 133—136 1990.

2) Обозначения: ++ повреждены от 0 до 5% листьев (для *Phaedon* и *Pieris*) или наблюдается 100%-ная гибель насекомых в течение 1 ч (*Aedes*); + повреждены от 5 до 50% листьев (*Phaedon* и *Pieris*) или наблюдается гибель от 50 до 100% насекомых в течение 24 ч (*Aedes*); — повреждены более 50% листьев (*Phaedon* и *Pieris*) или ни одно насекомое не погибает в течение 24 ч (*Aedes*). Эксперименты проводили на листьях капусты (для *Pieris*) или репы (для *Phaedon*).



Получение рекомбинантного штамма *P. fluorescens*, в хромосомную ДНК которого встроен ген токсина *B. thuringiensis*. Ген встраивают в не способный к вырезанию транспозон Tn5, локализованный в плазмиде. Такую конструкцию вводят в штамм *P. fluorescens*, содержащий в своей хромосомной ДНК транспозон Tn5 дикого типа. В результате гомологичной рекомбинации не способный к вырезанию транспозон Tn5, несущий ген токсина *B. thuringiensis*, оказывается встроенным в хромосому *P. fluorescens*.

Коммерческие препараты токсина *Bacillus thuringiensis*



Bacillus popilliae



• Грибные препараты

Для производства грибных препаратов разработано несколько рецептур питательных сред, на которых выращиваются сапрофитные энтомопатогенные грибы по-верхностным или глубинным способом.

Промышленного производства грибных препаратов нет, в небольшом объеме выпускают их биологические лаборатории и станции защиты растений.

Боверин. Готовят на основе гриба *Beuveria bassiana*, штамм ТС 92 (бластоспоры гриба). Титр не менее 2 млрд. спор/г. применяют с сосущими вредителями в закрытом грунте. Норма расхода по препарату 100 г/10 л воды.

Актофит



Действующим веществом препарата является комплекс природных авермектинов, продуцируемых почвенным грибом *Streptomyces avermitilis*. Авермектины - это природные высокоспецифичные нейротоксины, которые в микродозах проникая в организм членистоногих вредителей кишечным или контактным путем, не-обратимо поражают их нервную систему.

Микосан

Действующее вещество «Микосана», полученное из грибных клеток, проникает в клетки растений и стимулирует образование в растениях ферментов (хитиназ, хитозаназ и глюканазы). Эти ферменты обладают способностью разрушать клеточные стенки фитопатогенных грибов.

Благодаря этому Микосан обеспечивает высокую и продолжительную защитную реакцию растений от широкого спектра болезней, повышает устойчивость растений к экстремальным климатическим условиям.



Триходермин – биологический препарат на основе гриба *Trichoderma lignorum* (разные штаммы).



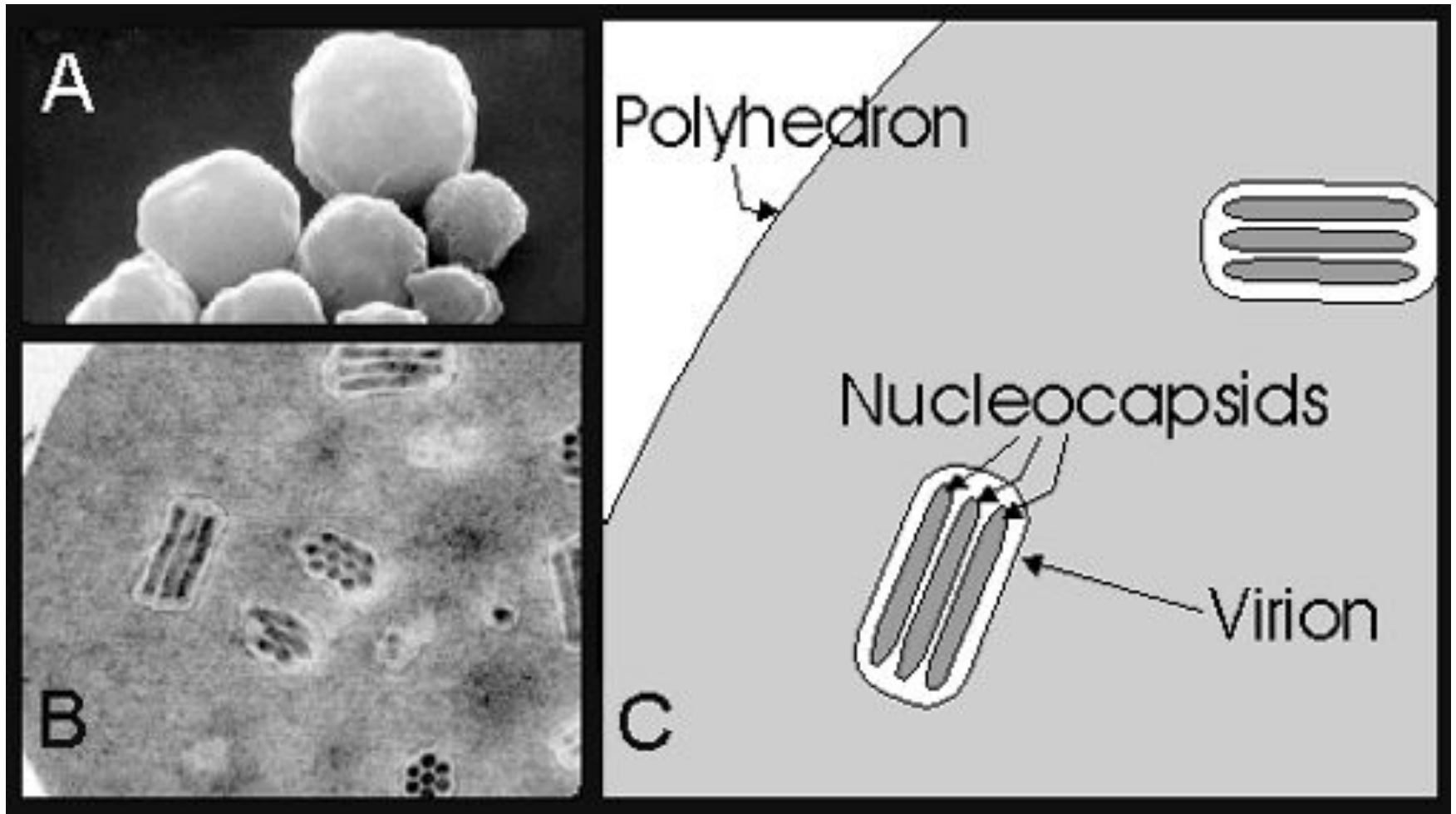
- Наилучший антагонист грибов-патогенов, вызывающих заболевания растений закрытого и открытого грунта, таких как ризоктония, альтернария, ботритис, фузариум, питиум, фитофтора, аскохита, настоящая и ложная мучнистые росы, и многих других возбудителей.
- Применение Триходермина при выращивании овощей, начинается с обработки семян 2% раствором препарата за сутки до посева.

• Вирусные препараты

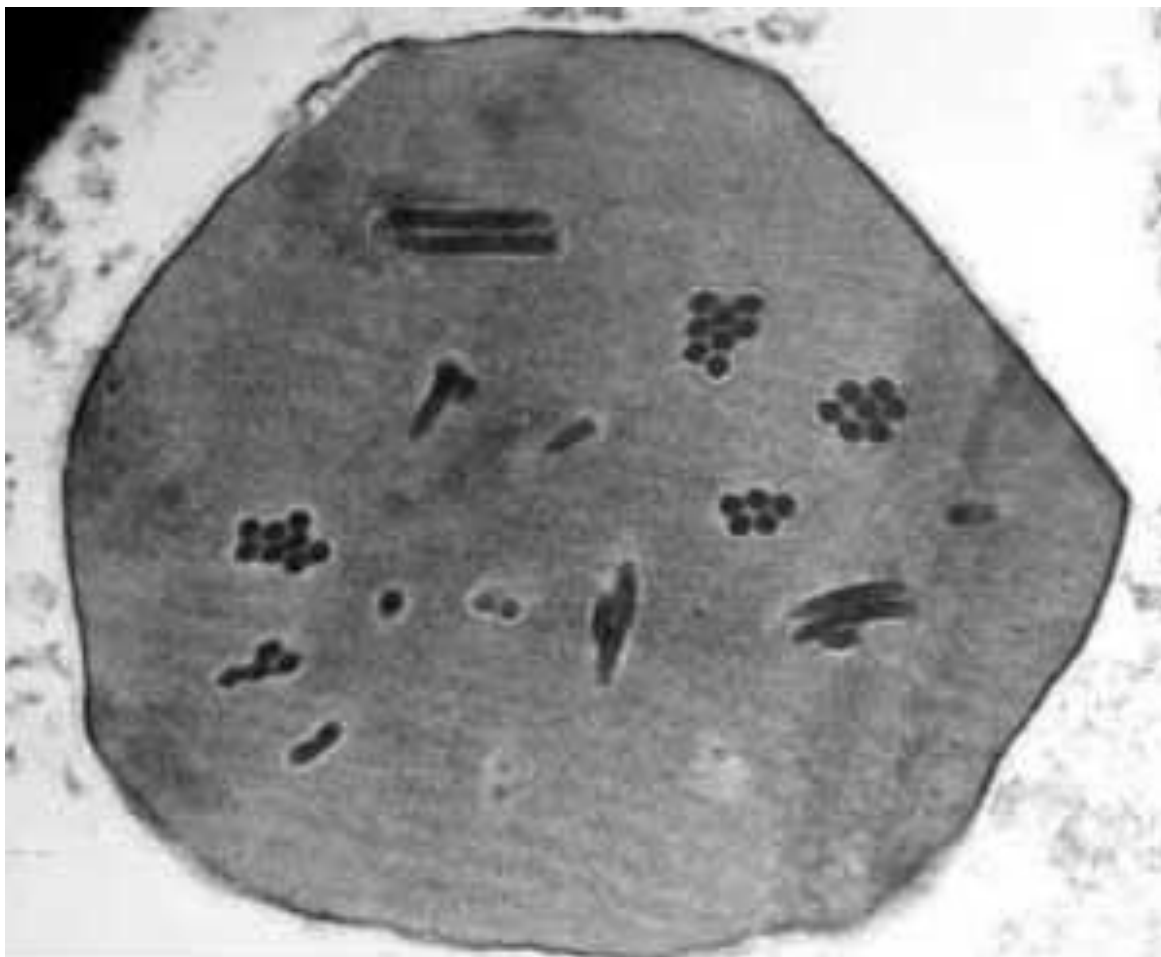
Трудность производства вирусных препаратов связана с проблемой содержания насекомых-хозяев чистых линий, свободных от скрытых (латентных) или хронических инфекций в инсектариях или специальных боксах и разработки для них рецептур искусственного питательного корма.

Вирин-применяют для борьбы с непарным шелкопрядом. У гусениц вызывает ядерный полиэдроз общего типа. Препарат выпускается в виде концентрированной суспензии полиэдров в 50%-ном глицерине. Титр не менее 4 млрд. полиэдров/мл.

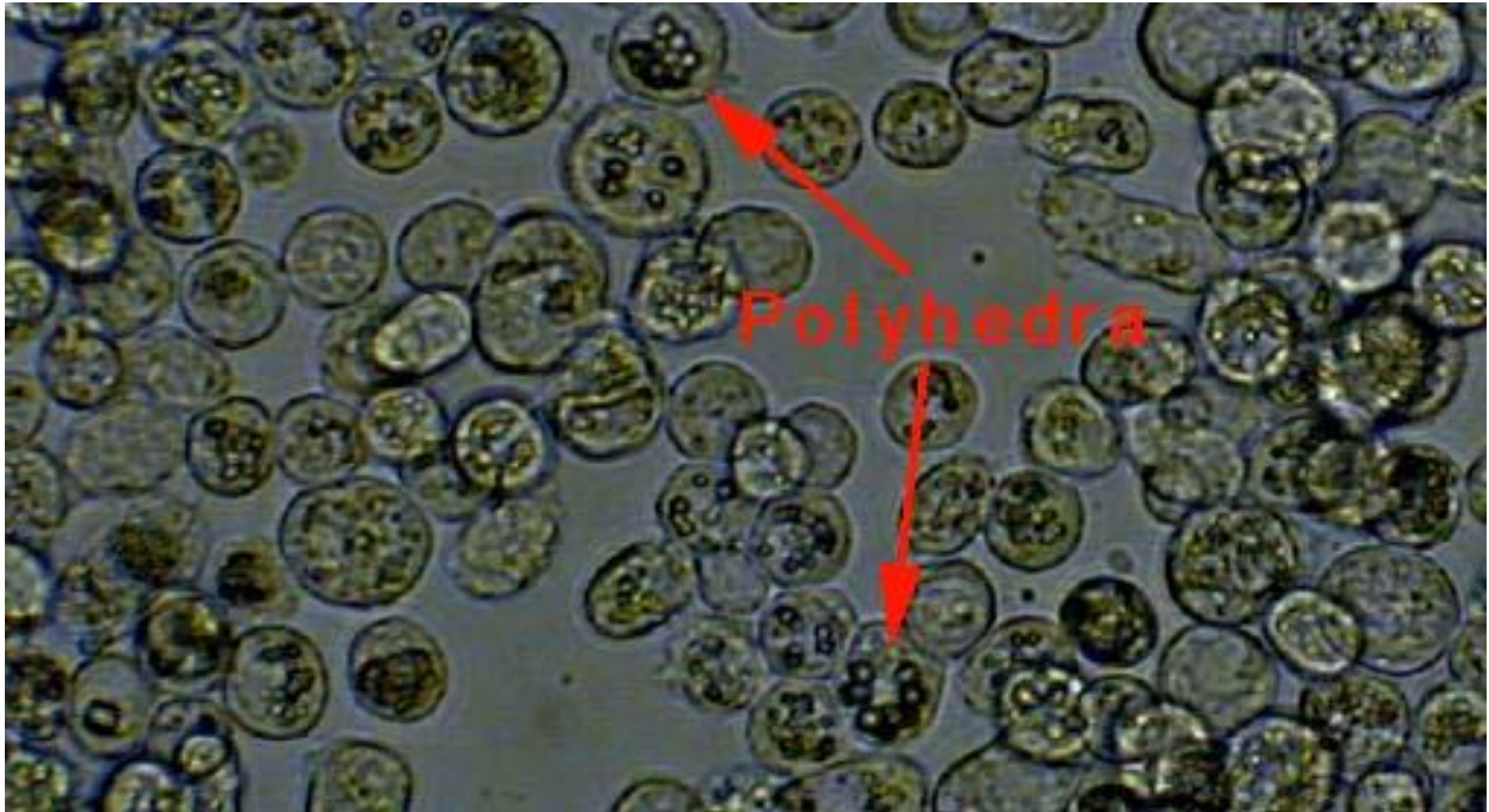
Бакуловирус



Полиэдрон Бакуловируса



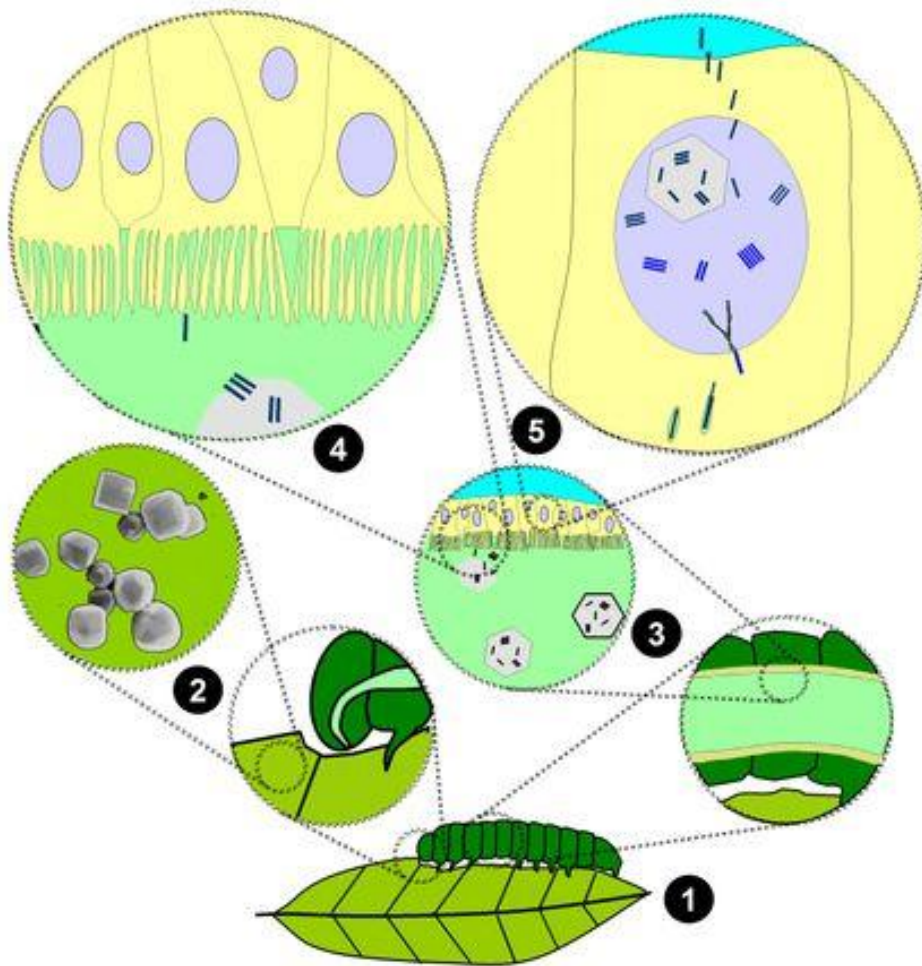
Клетки линии Sf9 через 4 дня после
инфицирования диким штаммом AcNPV ,
световой микроскоп










Некоторые насекомые-вредители, для контроля численности которых применяют бакуловирусы

Насекомое-вредитель	Тривиальное	Растение
	название	
<i>Neodiprion sertifer</i>	Пилильщик сосновый рыжий	Сосна
<i>Lymantria dispar</i>	Непарный шелкопряд	Широколиственные деревья
<i>Heliothis sp.</i>	Совка хлопковая	Хлопок, сорго
<i>Orgyia pseudotsugata</i>	Медведица	Лжетсуга тиссолистная
<i>Cydia pomonella</i>	Плодожорка яблонная	Грецкий орех, яблоня
<i>Trichoplusia ni</i>	Совка ни	Капуста
<i>Oryctes rhinoceros</i>	Жук- носорог	Кокосовый орех

Жизненный цикл бакуловирусов



- 1 Insect feeding on virus-contaminated foliage
- 2 Close up of occlusion bodies (OBs)
- 3 Lumen of digestive tract (alkaline conditions)
- 4 Virus particles being released from OBs and attaching to brush border of gut cells
- 5 Replication of virus in insect cell

- Virus 
- Occlusion body 
- Nucleus 
- Cytoplasm 
- Hemocoel 
- Gut lumen 
- Plant 

Эффект некоторых генов, введенных в бакуловирусы для повышения их инсектицидного действия	
Продукт гена	Влияние, оказываемое на насекомое- хозяина
Диуретический гормон	Уменьшение объема гемолимфы
Эстераза ювенильного гормона	Прекращение питания
Токсин <i>B. thuringiensis</i>	Прекращение питания
Токсин скорпиона	Паралич
Клещевой токсин	Паралич
Токсин осы	Преждевременная меланизация, медленное прибавление в весе

- **Полиднавирусы (Polidnaviridae)**
Семейство включает своеобразную группу вирусов, поражающих насекомых-паразитов.