

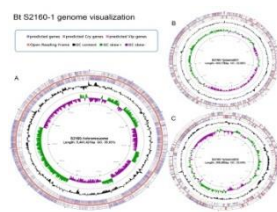
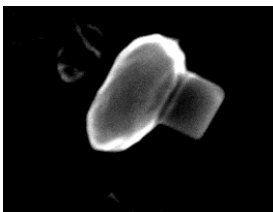
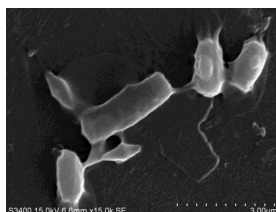
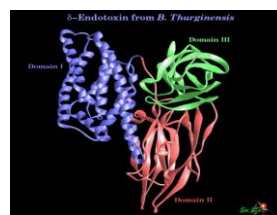
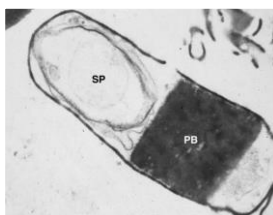


拥有 Bt 基因，引领中国种业

项目合作邀约

Bt 细菌、百年传奇、造福人类

1901 年在日本发现
1915 年在德国命名
1920 年用 Bt 作为农药杀虫
1985 年将 Bt 转入植物防虫
1996 年 Bt 作物商业化



新型 Bt 杀虫蛋白创新培育新一代转 Bt 作物 Discovering Novel *B.t.* Toxins for Better Bt Crops

本项目利用海德热带农业资源研究所自主拥有的 Bt 菌株，发现、鉴定对鳞翅目、鞘翅目、非昆虫类线虫有毒杀作用的新型 Bt 杀虫蛋白及其基因，形成自主知识产权的杀虫蛋白及其基因，为培育新一代转 Bt 作物提供基因资源和解决方案。

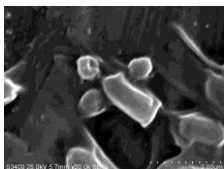
项目科学家：方宜钧 博士
电话：13901212279
邮箱：jim.xj.fang@hitar.org





海德的 Bt 研究及成果

发现新型 Bt 菌株和 Bt 杀虫蛋白为研制更好的生物农药和转 Bt 作物



苏云金芽孢杆菌（Bt 菌）是迄今最成功的生物农药细菌，其编码杀虫毒素的基因已经成功地应用于植物转基因，成为最有效的植物外来的“分子性状”之一。研究项目始于 2005 年，从热带原始雨林中收集土样分离 Bt 菌，鉴定和分离 Bt 毒素基因。为研发更好的生物农药和转 Bt 作物发掘新型 Bt 菌株和 Bt 杀虫蛋白。

海德的 Bt 资源

- 32,250 芽孢杆菌分离株
- 2,820 Bt 菌分离株
- 450 已经详细研究的 Bt 菌株
- 60 Bt 菌进行全基因组测序
- 10 Bt 菌推荐为现有模式菌株的替代菌

主要在研项目

- Bt 菌的分离鉴定、基因组测序及生物测定
- Bt 菌的杀虫毒素基因克隆、表达
- 杀蚊 Bt 菌及其基因克隆与应用
- 杀线虫 Bt 菌及其基因克隆与应用
- Bt 杀虫蛋白及基因用于生物农药及转基因植物

Bt 菌株用于生物农药及杀虫蛋白基因用于转 Bt 作物

- 20 Bt 菌可用于杀鳞翅目昆虫，目标昆虫：斜纹夜蛾、玉米螟、二化螟、棉铃虫
- 10 Bt 菌可用于杀鞘翅目昆虫，目标昆虫：马铃薯甲虫、椰心叶甲、甘蔗天牛
- 30 Bt 菌可用于杀双翅目昆虫，目标昆虫：库蚊、按蚊
- 7 Bt 菌可用于杀非昆虫种类，目标种类：美洲钩虫，根结线虫、胞囊线虫
- Cry1Ac 用于培育 Bt 棉花，抗棉铃虫
- Cry1Ab 用于培育 Bt 水稻，抗水稻二化螟

项目获奖

2013 年 9 月 17-19 日，在加拿大阿尔伯塔省卡尔加里市召开的第 13 届农业生物技术国际大会（The Agricultural Biotechnology International Conference, ABIC 2013），将本次大会的唯一奖项颁发给海德研究所方宣钧博士的科研项目 Discovering Novel Bt Toxins for Better Bio-pesticides and Biotech Crops。

本次大会来自全球 23 个国家的 424 代表出席了本届盛会，共同探讨农业生物技术在农业，能源，预防保健（人和动物）和投资四个领域中的作用。大会评审委员会对来自卫生和农业（粮食），环境/全球管理，和生产/质量三大类的所有优秀研究项目进行严格的选择，评选出大会唯一获胜者。



方宣钧博士发表获奖演讲

ABIC2013, Calgary, Alberta, Canada, 18, Sept. 2013



为什么种业要有自主知识产权的 Bt 基因？

目前，美洲大陆 90% 以上的主要作物是转基因植物，其中 50% 以上的转基因作物是转 Bt 作物。从技术上看，把植物变成一个表达 Bt 杀虫蛋白的植物农药，具有任何外部喷洒农药不可比拟的优点：高靶标特异性、环境安全（非靶标物种、动物及人类）、低种植成本（无需喷施）、产量损失少。

尽管转 Bt 作物已经在全球广泛的使用，但是转 Bt 作物的知识产权（Bt 杀虫蛋白基因及期转 Bt 基因作物）只掌握在少数跨国生物技术巨头，如美国：孟山都、杜邦先锋、陶氏农业；欧洲：先正达、拜耳、巴斯夫。

中国种业面临开放与整合，生物技术育种无疑将引领未来种业的发展，自主知识产权的基因资源必将是下一代种业的核心竞争力。Bt 作为最有效的植物外来的“分子性状”，是其它任何性状具有无可比拟的地位。如果没有自主的知识产权，中国农民播下的每一粒种子都将支付昂贵的专利使用费。

谁拥有 Bt 基因，谁就将控制中国种业，谁就有可能引领种业的未来。

世界上主要的转基因育种者

美国：孟山都、杜邦先锋、陶氏农业
欧洲：先正达、拜耳、巴斯夫
中国：创世纪

主要转基因商品名

玉米：Agrisure, YieldGard, Genuity, Herculex, Optimum
棉花：VipCot, Genuity Bollgard, Ingard, WidStriKe 国抗系列

主要抗虫基因

玉米：Cry 1Ab, Cry2Ab2, Cry 3Aa, Cry 1A.105, Cry3Bb1; Cry1F, Cry1Fa2; Cry34/35Ab1, Vip3Aa20
棉花：Cry 1Ac, Cry1Ab, Cry 1F, Cry1Ac/Cry2Ab2, Vip3Aa19

主要的靶标昆虫

ECB- European corn borer 欧洲玉米螟
WCR- Western corn rootworm 西部玉米根虫
CEW- Corn earworm 玉米穗螟
BCW- Black cutworm 小地老虎
BEC- Bean cutworm 豆夜蛾
CBW- Cotton bollworm 棉铃虫
TBW- Tobacco budworm 烟青虫
BAW- Beet armyworm 甜菜夜蛾
SBL- Soybean looper 大豆夜蛾
CL- Cabbage looper 甘蓝尺蠖
SCB- Sugar cane borer 甘蔗螟虫

成功例子（Bt 玉米）

Bt 玉米是防治欧洲玉米螟（*Ostrinia nubilalis*）的一个成功例子。玉米螟幼虫钻入玉米秸秆中和食用茎干破坏茎干结构的完整性。在茎杆中的幼虫，对农药而言是相对安全。将 Bt 基因转化到植株中，能有效地控制欧洲玉米螟的危害。

谁掌握 Bt 基因，谁就有机会引领种业的下一个时代！



为何选择与海德合作研发 Bt 作物？

海德热带农业资源研究所是一个有限责任的独立法人研究实体，独立的研发实力和自主的知识产权。海德是一个以开展植物和微生物遗传资源的分子遗传学、生物化学、分子生物学及生物信息学基础研究，重要农作物分子设计和遗传改良的科学创新研究机构（Inventor）和技术服务提供机构（Service Provider）。

海德并不直接利用自己的发现和技术去生产某种产品（如作物新品种或新型生物农药），但是一旦确认我们的知识和技术可以用来做成产品，或者具有商业化潜力，我们会对这些知识、技术、材料形成知识产权，并将这些知识产权许可给商业企业。

海德致力于植物分子标记辅助育种技术的研发、Bt 菌株的鉴定与新型杀虫蛋白及基因的研发，为开发更好的生物技术农药、遗传改良作物提供种质资源、基因资源和解决方案。

与海德合作开展 Bt 作物的研发，没有市场竞争，没有利益冲突。

海德优势

Bt 菌资源：海德拥有自主产权的独一无二的 Bt 菌株资源。

技术平台：海德建立了从菌株分离、鉴定、生测、基因组测序及数据分析、基因克隆、表达的技术平台。

育种平台：海德地处海南三亚，地理位置得天独厚，可周年开展农作物育种；海德积累和发展了成熟的分子育种技术和方法

试验设施：研究所拥有分子生物学实验室、转基因试验设施、昆虫饲养设施、在美国加州与 SynTech 建立昆虫生测联合实验室。

研究积累：从事 Bt 菌及杀虫蛋白研究 10 年。培养 Bt 研究博士 1 名，硕士 12 名；先后从事 Bt 研究人员达 30 人次。Bt 研究是微生物学博士学位的主要专业方向。

研究团队：方宣钧博士是海德研究所 Bt 研究的主导科学家，全职研究人员 7 人，在读博士生 2 名，硕士生 2 名，研究技术员 6 人。

合作模式

海德真诚邀约合作伙伴：种业企业、育种研究机构（客户），联合开展新型杀虫蛋白及基因的研发，通过获得具有自主知识产权的 Bt 基因和转 Bt 基因种质，实现互利双赢。

海德可以按照客户的需求，为客户量身定制合作方式。

客户需求

客户根据自身的需求提出何种作物（受体植物）、针对何种昆虫（靶标昆虫）以及对合作成果的分享方式。

靶标昆虫：如鳞翅目昆虫、鞘翅目昆虫、双翅目昆虫等；非昆虫种类如线虫。

受体植物：如水稻、小麦、玉米、大豆、棉花、甘蔗、高粱、马铃薯、甜菜等。

成果形式：杀虫蛋白 Bt 基因专利、转 Bt 基因中间材料、基因组数据、研究报告、发表论文等。

分享方式：独占拥有知识产权或材料所有权（Exclusive）；非独占拥有知识产权或所有权（Non-Exclusive）。

合作方案

海德将根据客户需求，提出项目建议、可行性分析、合作方式、经费预算及相关合同等。

出发 Bt 菌鉴定或使用：从海德拥有的 Bt 资源库中筛选出具有靶标物种特异毒杀活性的菌株，作为出发菌株；或选用海德已经初步完成鉴定的 Bt 菌株作为出发菌株。用于鉴定 Bt 杀虫蛋白、克隆 Bt 基因。

Bt 杀虫蛋白及基因专利：获得杀虫蛋白及其基因，完成异源表达，生物测定，获得 Bt 国际命名委员会命名，并进行国内及国外专利登记。

Bt 杀虫蛋白转基因应用：将具有明确靶标毒力特异性的 Bt 杀虫蛋白进行分子设计和植物表达构件设计，对受体植物进行遗传转化、获得转 Bt 杀虫蛋白事件及育种中间种质。

成果形式：杀虫蛋白 Bt 基因专利、转 Bt 基因中间材料、基因组数据、研究报告、发表论文等。

合作费用：协商



研发进程

从发现特异靶标的 Bt 杀虫蛋白，到研发成一个转 Bt 基因的作物，大约需要 10 年时间。研发过程可以分为四个阶段（Phases）。

第一阶段/Phase I

项目名称 Name	项目内容 Contents	技术细节 Details
发现特异靶标 Bt 蛋白	针对某个作物及其靶标昆虫，鉴定出具有特异毒性的 Bt 菌株及其杀虫蛋白和编码基因。	1. 明确 Bt 蛋白形态、生化特性及杀虫活性； 2. 编码 Bt 蛋白的基因序列及原核表达，表达蛋白杀虫活性； 3. 获得国际 Bt 蛋白命名委员会新 Bt 蛋白及基因命名； 4. 完整的科研报告及申请中国专利的报告；
Discovery of novel Bt toxin	Unique toxin & its China patent against specific insect pest and on specific crop.	A. Determination and characterization of the biochemical properties and the insecticidal activities of the newly discovered Bt crystal protein; B. DNA sequencing of the target gene encoding Bt protein and its expression in <i>E. coli</i>; Bioassay of the expressed protein; C. Registration of novel Bt protein by the International BtNC; D. Complete research reports & files of China patent;

BtNC: Bt delta-endotoxin nomenclature committee

第一阶段的研发时间一般需要 12 至 24 个月，研发经费需要 30 至 120 万元，视靶标昆虫和宿主植物，或知识产权的独家使用（exclusive）或非独家使用（non-exclusive）而不同。

第二阶段/Phase II

项目名称 Name	项目内容 Contents	技术细节 Details
Bt 杀虫蛋白在模式植物中的功能验证及建立转基因性状概念	针对 Phase I 选定的作物和靶标昆虫，设计 Bt 杀虫蛋白植物表达元件，构建植物表达 Construct；转化模式植物，鉴定杀虫蛋白的功能。	1. 植物表达元件的设计和植物表达载体的构建； 2. 转化模式植物获得大量转化子； 3. 模式植物转化子对靶标害虫的生物活性测定； 4. 建立转基因性状概念 5. 完整科研报告及申请中国专利的报告；
Conformation of the insecticidal activity of Bt protein in model plants; Set-up transgenic trait concept	Molecular design and construction of plant expressing construct; Expression of target protein in model plant to conform the function of the Bt toxin.	A. Molecular design and construction of plant expression vector; B. Transformation of model plant species so as to obtain a large quantity of transgenic events; C. Bio-assay of transformants against target insects and selection of positive ones; D. Set-up concept (with focus on FTO & requested options); E. Complete research reports & files of China patent;

FTO: Free to operation

第二阶段的研发时间一般需要 18 至 24 个月，研发经费需要 30 至 60 万元，视靶标昆虫和宿主植物，或知识产权的独家使用（exclusive）或非独家使用（non-exclusive）而不同。

研发进程

从发现特异靶标的 Bt 杀虫蛋白,到研发成一个转 Bt 基因的作物,大约需要 10 年时间。研发过程可以分为四个阶段（Phases）。

第三阶段/Phase III

项目名称 Name	项目内容 Contents	技术细节 Details
获得高效表达 Bt 杀虫蛋白的遗传转化事件	选用 Phase II 构建的植物表达载体对 Phase I 选定的作物进行遗传转化，获得高效表达 Bt 杀虫蛋白的转化事件。	1. 遗传转化目标作物；获得大量转化事件； 2. 分子及表型鉴定转化事件； 3. 转化事件对靶标害虫的生物活性测定； 4. 完整科研报告及申请中国专利的报告；
Identification of transformation events with high expression level of Bt insecticidal protein	Transformation of the selected crop by using the plant expressing construct to obtain transformation events with high expression level and insecticidal activity.	A. Genetic transformation of target crop and obtaining a large quantity of positive transformants; B. Event(s) selection & Identification; C. Bioassay against target insects and selection of candidate events; D. Complete research reports and application files for the China patent;

第三阶段的研发时间一般需要 36 个月，研发经费需要 60 至 120 万元，视靶标昆虫和宿主植物，或知识产权的独家使用（exclusive）或非独家使用（non-exclusive）而不同。

第四阶段/PhaseIV

项目名称 Name	项目内容 Contents	技术细节 Details
选育转 Bt 事件的优良株系	从 Phase III 鉴定出来的 Bt 转化事件，选育高代（T3-T8）转 Bt 纯合株系。	1. 分子与农艺性状表型鉴定； 2. 鉴定转 Bt 基因纯合株系； 3. 转 Bt 基因优良株系全生育期对靶标害虫的生物活性测定； 4. 转基因株系的环境和食品安全性评估； 5. 完整科研报告及种质登记报告。
Developing elite lines with Bt event	Selection of advanced lines (T3-T8) to develop elite homozygous lines with Bt gene insertion.	A. Molecular and phenotypic trait characterization; B. Identification of homozygous lines with Bt gene insertion; C. Whole life-cycle Bt gene expression and bioassay of the selected elite lines against the target insects; D. Risk assessment on environment and food safety; E. Complete research reports and files for germplasm registration.

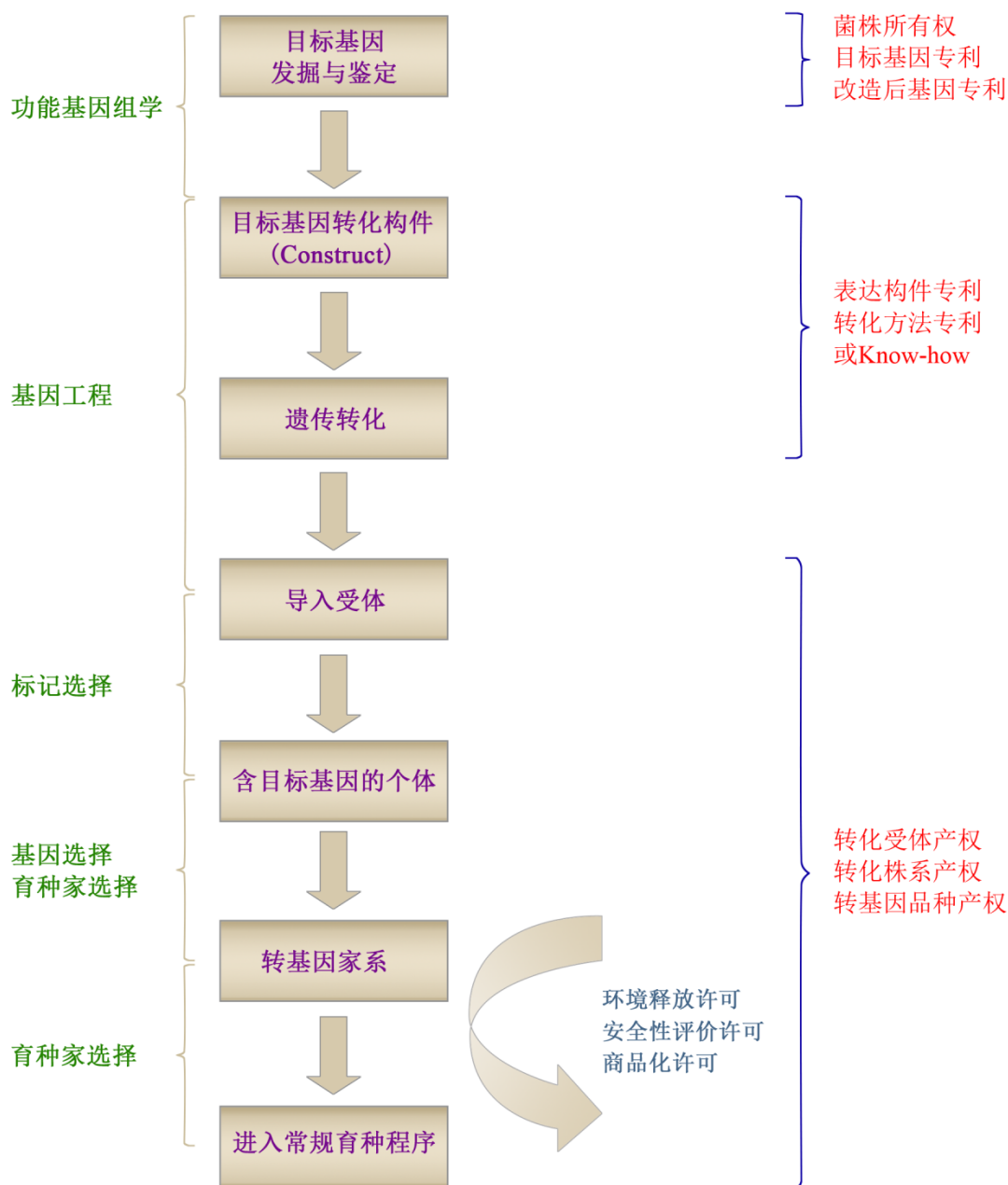
第四阶段的研发时间一般需要 36 至 60 个月，研发经费需要 90 至 240 万元，视靶标昆虫和宿主植物，或知识产权的独家使用（exclusive）或非独家使用（non-exclusive）而不同。不包括转基因事件的环境和食品安全性分析的费用。



转基因育种流程及相关的知识产权

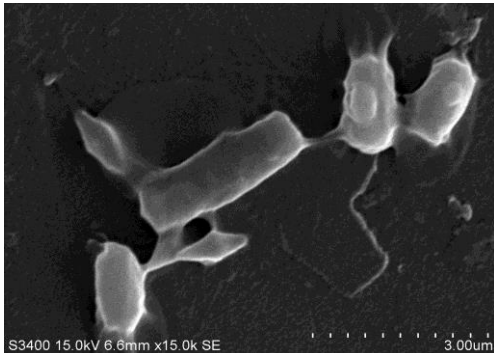
转基因育种是利用已知功能的目标基因，构建转化表达载体，通过农杆菌介导或花粉管介导等遗传转化方法直接转化受体，通过选择标记基因鉴定，获得转基因个体或株系。进一步在常规育种程序中选择目标基因功能突出、综合性状优良的品系。

转基因育种流程中，每个阶段都会涉及到知识产权的问题。首先是目标基因的知识产权，目前世界上最成功的转基因性状，如 Bt 杀虫基因及抗除草剂基因，都有专利保护；其次是转化构件中的各种元件，如启动子，增强子，选择标记等，也有专利保护；第三是转化受体的所有权。



什么是 Bt?

Bt 是 *Bacillus thuringiensis* 的简称，中文名称叫苏云金芽孢杆菌，是一种革兰氏阳性芽孢菌，能产生多种毒性因子，如磷脂酶，溶血素，肠毒素，外毒素和内毒素。苏云金杆菌与其它蜡状芽孢杆菌组的显著不同的特征是，苏云金杆菌在孢子形成是产生蛋白质的杀虫晶体。



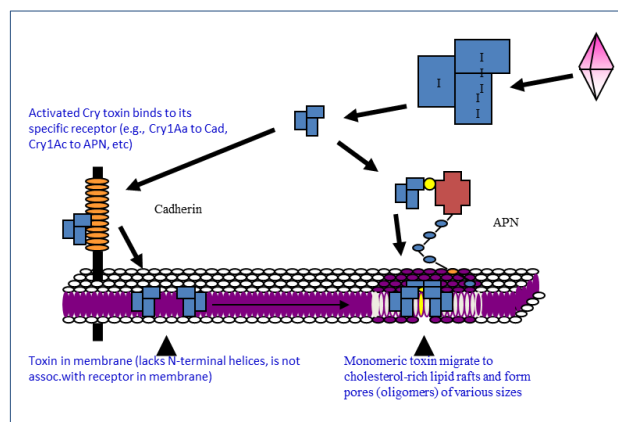
1901 年，日本科学家 Shigetane Ishiwata（石渡繁胤）首先发现了“猝死芽孢菌，sudden death bacillus”；1915 年，德国科学家 Ernst Berliner（恩斯特 贝尔林纳）对其在地中海粉蛾幼虫(*Anagasta kuehniella*)中分离的 Bt 菌做了全面的形态学描述，并根据该菌的发现地 Thuringia 命名为：*Bacillus thuringiensis* (B.t.)，Bt 的研发已经跨越了整整一个多世纪。

在孢子形成过程中，许多 Bt 菌能产生一种晶体蛋白（蛋白质的包涵体），叫做 δ -内毒素（ δ -endotoxins），或叫 crystal proteins 或 Cry proteins，这种内毒素具有毒杀昆虫的作用。正是由于这种作用，使得 Bt 菌广泛用作杀虫剂，而 Bt 基因则被用于遗传改良作物。

100 多年以来，没有任何其它细菌，能像 Bt 菌那样成为整个 20 世纪的传奇。人类从 Bt 获得了巨大的经济利益和友好的环境回报。进入 21 世纪的今天，Bt 成为农化公司、生物技术种业追逐的热点，谁掌握 Bt，谁才有可能引领农业生物技术行业的下一代。

Bt 的杀虫原理

对 Bt 敏感的昆虫摄入 Bt 杀虫蛋白后，昆虫幼虫肠道中的高碱性环境使 Bt 晶体包涵体变得可溶并易于酶解，释放出称作内毒素的 cry 蛋白，这种蛋白能够毒害昆虫的消化系统。内毒素的作用是插入肠道细胞膜并在昆虫的肠道壁衬里形成穿孔。一旦昆虫食物，Bt 孢子以及消化液通过这些小孔进入昆虫的血液，它会导致全身感染，杀死毛虫。而对于有酸性肠胃的动物，如鸟类、鱼类和哺乳动物，Bt 杀虫蛋白则没有作用。



(Credit: Neil Crickmore)



Bt 菌作为生物农药

目前，有 400 多种 Bt 生物农药制剂在市场上注册登记，据估计，全球销售的所有生物农药约占 80% 是 Bt 产品。生物农药广泛而持续的使用有两个主要的驱动力，一是主要依赖于 Bt 制剂控制害虫的有机认证农业；二是防治因蚊子传播疾病而进行的大规模政府采购行动。

Bt 农药的研发历史

1920 年，匈牙利有了将 Bt 用作杀虫剂防治昆虫的最早记录，其后 1930 年代初南斯拉夫也有了使用 Bt 防治欧洲玉米螟的记录。

1938 年，法国 Laboratoire Libec 生产出第一个 Bt 制剂商业产品，Sporeine，该芽孢制剂主要用于杀灭各种。

1957 年生产出 Thuricide 产品，并以液体浓缩剂、粉剂及可湿性粉末剂上市。

1958 年，Bt 在美国开始商业化应用。

1961 年，Bt 在美国 EPA 登记为杀虫剂。自此一些美国公司开始生产；欧洲国家也开始研发 Bt 产品及其用法；前苏联也生产 Bt 制剂并用于西伯利亚蚕和森林保护。

1988 年，Mycogen 用新亚种 Tenebrionis 菌株生产出了 M-one，用于防治马铃薯 *L.decemlineata* (Say) 幼虫。

1992 年，Ecogen 获得了其产品 Foil 的登记，这是一个将 Btk 和 Btt 混合用于马铃薯鳞翅目和鞘翅目害虫的混合产品。

优点：

- 对靶标昆虫的特异毒性
- 对非靶标物种安全、
- 无残留对环境安全、无负面效应

弱点：（与化学农药比较）

- 毒力持久性短
- 在阳光下易分解
- 对食根、钻杆害虫防治效果差



Bt 杀虫蛋白用于转基因作物

在过去的近 100 年间，Bt 农药因具有化学农药无可比拟的优点（对靶标昆虫的特异毒性。对非靶标物种安全、无残留对环境安全、无负面效应），获得公众广泛的接受，迄今仍然广泛的使用。但是为什么还要发展转 Bt 作物呢？原因也正是由于 Bt 农药的弱点（毒力持久性短、需要多次喷洒、在阳光下易分解、易被雨水冲洗、对食根、钻杆害虫防治效果差）。

自 1985 年人类将 Bt 基因转入植物，植物变成了一个能表达 Bt 杀虫蛋白的植物农药，克服了 Bt 制剂农药几乎不可解决的不足，其显而易见的优点：全生育期持久性毒力、有效防治食根、钻杆果害虫、对非靶标物种暴露最小化。转 Bt 作物受到全球农业种植主的欢迎，Bt 作物成为 20 世纪最成功的生物技术之一。

转 Bt 作物的研发历史 1985 年，比利时公司植物遗传系统率先开始利用 Bt cry 基因研制抗虫转基因植物（烟草）。 1993 年，转 Bt 基因烟草和西红柿植株问世。 1995 年，首个转 Bt 大田作物，Bt 玉米，在美国 EPA 登记。同年，美国 EPA 批准表达 Bt 杀虫蛋白的转基因马铃薯是安全的，使其成为第一个在美批准的抗虫作物。 1997 年，Bt 棉花，玉米，马铃薯在美国应用接近 1000 万英亩。 1998 年，中国允许 Mosanto 的 Bt 棉花在中国河北省商业化使用。 2009 年，中国农业部为中国自主研发的抗虫转基因水稻颁发农业转基因生物安全证书，这两个抗虫转基因水稻是由华中农业大学研发的“华恢 1 号”和“Bt 汕优 63”。	原因：（与 Bt 农药比较） ● 毒力持久性短、需要多次喷洒 ● 在阳光下易分解、易被雨水冲洗 ● 对食根、钻杆害虫防治效果差 优点： ● 全生育期持久性毒力、 ● 有效防治食根、钻杆果害虫 ● 对非靶标物种暴露最小化 成功例子（Bt 保铃棉） Bt 保铃棉是美国孟山都公司的杰作，是利用 Bt 基因防治棉铃虫的一个成功例子。棉铃虫幼虫钻入棉铃中并食用棉铃通常导致幼铃脱落，导致减产。在棉铃中的幼虫，农药喷施很难将其杀死。将 Bt 基因转化到植株中，在棉铃中表达 Bt 杀虫蛋白，能有效地控制棉铃虫的危害。
--	--

聚焦 Bt 研发，抢占行业高端

一个多世纪以来，Bt 细菌成为造福人类的不朽传奇。人类从 Bt 获得了巨大的经济利益和友好的环境回报。

进入 21 世纪的今天，Bt 成为农化公司、生物技术企业以及种业公司追逐的热点。谁掌握了 Bt，谁才有可能引领农业生物技术种业的未来，这话并非危言耸听。

海德欢迎与生物技术研发机构、种业公司，通过联合、委托等形式开展 Bt 基因的研究与开发，培育具有自主知识产权的转 Bt 抗虫作物。

2014 年是中国种业转型的关键年，没有研发的动力和技术的创新，就没有种业的未来。聚焦 Bt 研发，抢占行业制高点，是把握中国种业未来的上策。

专用名词：

海德/HITAR: 海德热带农业资源研究所

Bt 菌：苏云金芽孢杆菌

Bt 杀虫蛋白：Bt 杀虫蛋白即 Cry/Cyt/Vip 杀虫蛋白

Bt 基因：编码 Cry/Cyt/Vip 杀虫蛋白的 DNA 序列

转基因育种：基于基因遗传转化的育种技术

Bt 生物农药：用 Bt 菌生产的用于防治害虫的生物制剂

Bt 转基因作物：将 Bt 基因转入受体基因组产生杀虫效果的作物

更多的信息来源：

浏览海德研究所官方网站：www.hitar.org.cn

欢迎实地考察研究所：海南省三亚市崖城镇城西马丹村

欢迎直接与研究所所长方宣钧博士联系：

电话：13901212279

微信：13901212279

电子邮件：jim.xj.fang@hitar.org

