

УДК 579.852.11

ОСОБЕННОСТЬ КРИСТАЛЛООБРАЗОВАНИЯ У ПИГМЕНТООБРАЗУЮЩИХ КУЛЬТУР *Bacillus thuringiensis*

© 2013 г. Л. А. Чил-Акопян, А. А. Амбарцумян, А. Х. Чахалян

НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА, Армения, Ереван, 0056

e-mail: arm_biotech@yahoo.com, anachakh@gmail.com

Поступила в редакцию 13.10.2011 г.

У ряда пигментообразующих культур *Bacillus thuringiensis* (ВТ) обнаружена прямая корреляция между розовой пигментацией колоний и образованием инсектицидных кристаллов – токсинов. Указанная закономерность впервые установлена нами у штаммов ВТ серотипов Н3, Н10, Н16. Беспигментные клоны этих серотипов кристаллов не образуют. У штаммов серотипа Н14, образующих овальные включения, эта закономерность не отмечена.

Выявленная корреляция позволяет дифференцировать кристаллообразующие колонии в культурах указанных сероваров по наличию пигментации. Предлагаемый способ может служить эффективным экспресс-методом выявления вирулентных клонов, что особенно важно при использовании этих штаммов для производства инсектицидных препаратов.

DOI: 10.7868/S0555109913010030

Как известно, инсектицидность культур ВТ обусловлена в основном наличием в клетках кристалловидных включений. Обнаружение этих включений обычно осуществляется микроскопически. Массовые исследования культур ВТ необходимы при хранении и репродукции штаммов, при отборе наиболее продуктивных штаммов для промышленного изготовления бактериальных инсектицидов, для оценки кристаллообразования у культур, применяемых в производстве, в исследованиях по экспериментальной изменчивости и других работах. Очевидно, что для таких работ возможность визуальной оценки кристаллообразования предпочтительнее микроскопических исследований отдельных колоний.

Отмеченное нами в ранних работах [1] свойство некоторых культур серотипа Н10 образовывать розовый пигмент разной интенсивности или его отсутствие впоследствии стало предметом более тщательного исследования. Обнаружено, что эти культуры отличаются также разной степенью продуцирования кристаллов и вирулентностью. При изучении явления потери кристаллообразования штаммами ВТ серотипа Н10 в процессе их ферментации в производстве бактериальных инсектицидных препаратов было установлено, что появившиеся беспигментные клоны не образуют кристалловидных токсинов.

Впервые розовый пигмент обнаружен Бейеринком в 1919 г. у дрожжей *Candida pulcherrima* и назван пульхерримином. Образуется пульхерримин также споровыми бактериями [2]. Свойство продуцировать розовый пигмент культурами

B. thuringiensis var. *alesti* установлено еще в 1959 г. [3]. Этот признак использован Тумановым [3], а затем де Баржак и Бонфуа [4, 5].

Проведенный нами ранее микроскопический анализ пигментных и беспигментных колоний ряда культур ВТ серотипов Н10 и Н16 позволил допустить существование определенной корреляции между пигментацией и образованием кристалловидных дельта-эндотоксинов у исследованных культур. Последующие исследования позволили подтвердить существование отмеченной корреляции у некоторых культур ВТ серотипов Н10 и Н16 [6]. Других сведений о корреляции розовой пигментации с кристаллообразованием у культур ВТ в литературе нами не обнаружено.

Цель работы – изучение корреляции образования дельта-эндотоксина с пигментацией колоний у широкого спектра штаммов ВТ разных сероваров, продуцирующих розовый пигмент.

МЕТОДИКА

Материалом для исследований служили выделенные и идентифицированные нами ранее пигментообразующие штаммы серотипов Н10 и Н16 [7], а также новые пигментообразующие штаммы этих серотипов и серотипов Н3 и Н14. Все полученные штаммы включены в “Каталог культур микроорганизмов” Республиканского центра депонирования микробов (РЦДМ) НАН Армении, ранее Институт микробиологии АН Армении (ИНМИА). В качестве эталонных использованы штаммы, впервые выделенные нами, а также

Таблица 1. Пигментация и кристаллообразование у коллекционных и эталонных штаммов *B. thuringiensis*

Серотип	Серовар	№ штамма по ИНМИА	Пигментация	Кристаллообразование
Н3	<i>alesti</i>	890*, 1020*, 1116	+	+
		741, 743, 744, 1012, 1014, 1021	–	–
	<i>kurstaki</i>	1093*, 1094, 1095	–	+
Н10	<i>caucasicus**</i>	805**, 811, 837	+	+
	<i>darmstadiensis</i>	1075*	–	+
Н14	<i>israelensis</i>	1125*, 874*	+	+
Н16	<i>indiana</i>	1200*	–	+
		827*	+	+

Примечание к табл. 1, 3, 4.

* Коллекционные штаммы и впервые описанные нами штаммы, использованные в работе в качестве эталонных.

** Описан в 1968 г. как *B. thuringiensis* var. *caucasicus* [8–10]. Включен в список инвалидных наименований [11]. В настоящей работе для дифференциации от беспигментных штаммов серовара *darmstadiensis* [12] именуется сероваром *caucasicus*.

Таблица 2. Количество штаммов и колоний пигментообразующих серотипов *B. thuringiensis*, исследованных в работе

Серотип	Количество исследованных штаммов и колоний				
	всего штаммов	пигментация			число исследованных колоний
		П ⁺	П [–]	смесь колоний	
Н3	17	2	13	2	154
Н10	44	12	12	20	405
Н14	22	20	2	–	63
Н16	12	9	3	–	48
Всего	95	43	31	22	670

культуры из мировых коллекций, хранящиеся в РЦДМ [7]. Список исследованных эталонных штаммов приведен в табл. 1.

Параллельно с пигментными штаммами *alesti*, *caucasicus* и *israelensis* исследовались беспигментные культуры этих серотипов на наличие в них единичных пигментных клонов (табл. 2).

Образование пигмента этими штаммами проверяли на модифицированной питательной среде Беттхера [13]. Состав среды: 10%-ная эмульсия желтка куриного яйца в физиологическом растворе с 3% агар-агара. Желток из асептически вскрытого яйца добавляли в растопленную и остуженную до 40–50°C питательную среду. Тщательно перемешанную среду разливали в чашки Петри. Рассев исследуемых культур осуществляли с расчетом получения отдельных колоний. После двухсуточного инкубирования при 30°C из посева каждого исходного штамма выделяли

беспигментные колонии и колонии с розовой окраской для последующего их изучения. Из отдельных колоний готовились мазки, окрашивались карболовым фуксином Циля [14]. Препараты изучали на наличие энтомоцидных кристаллов с помощью микроскопа “БИОЛАМ ЛОМО” (Россия) в фазовом контрасте. Серотипирование выделенных колоний осуществляли Н-антисыворотками, полученными из Института Пастера в Париже, а также приготовленной нами антисывороткой к штамму ИНМИА 811 серовара *caucasicus*, по известной методике [4].

Выделенные из одной культуры П⁺ и П[–] колонии исследовали по некоторым физиолого-биохимическим тестам, составляющим ключ для дифференциации и идентификации ВТ: образование ацетилметилкарбинола (АМК) и уреазы; лецитинвителлиновая реакция; ферментация маннозы, сахарозы, салицина, целлобиозы; гид-

Таблица 3. Корреляция образования пигмента и кристалловидных токсинов у коллекционных и выделенных нами П⁺ культур *B. thuringiensis* серотипа НЗ

Серovar	Окраска колоний исходного штамма	Исследованы штаммы			Состав исследованных колоний			
		число штаммов	№ по ИНМИА	число колоний	П ⁺		П ⁻	
					К ⁺	К ⁻	К ⁺	К ⁻
<i>alesti</i>	П ⁺	2	1020*, 890*	5	5	—	—	—
	Смесь П ⁺ и П ⁻	2	1014, 1116	16	6	—	—	10
	П ⁻	5	741, 743, 744, 1012, 1021	51	—	—	—	51
<i>kurstaki</i>	П ⁻	3	1093*, 1094, 1095	18	—	—	18	—
подобные <i>kurstaki</i>	П ⁻	5	683, 710, 1105, 1106, 1114	56	—	—	11	45

Таблица 4. Корреляция образования пигмента и кристалловидных токсинов у коллекционных и выделенных П⁺ культур *B. thuringiensis* серотипа Н10

Серovar	Окраска колоний исходного штамма	Исследованы штаммы			Характеристика колоний			
		число штаммов	№ по ИНМИА	число колоний	П ⁺		П ⁻	
					К ⁺	К ⁻	К ⁺	К ⁻
<i>caucasicus</i>	П ⁺	12	837, 839, 841, 844, 853, 876, 880, 889, 893, 896, 917, 1096-3	37	37	—	—	—
	Смесь П ⁺ и П ⁻	20	805**, 811, 831, 871, 873, 875, 879, 884, 887, 888, 891, 895, 905, 914, 915, 918, 919, 921, 924, 1113	193	96	—	—	97
<i>darmstadiensis</i>	П ⁻	1	1075*	5	—	—	5	—
подобные <i>darmstadiensis</i>	П ⁻	6	911, 926, 927, 928, 939, 957	15	—	—	10	5
		5	641, 825, 828, 925, 950	155	—	—	—	155

ролиз крахмала, эскулина и желатина [4, 15]. Выделение плазмидной ДНК и электрофорез проводили по известным методикам [16].

В работе использовали акриламид, этидиум бромид, ЭДТА производства “Serva” (Германия). Все остальные реактивы были производства фирмы “Реахим” (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выделенные нами новые культуры ВТ серотипов НЗ, Н10, Н14, Н16 – продуценты розового пигмента, изучали на наличие пигментных (П⁺) и беспигментных (П⁻) колоний и сравнивали с коллекционными штаммами, принятыми нами в качестве эталонных для указанных серотипов.

В результате этих работ установлено значительное разнообразие штаммов по составу колоний в культурах разных сероваров. У одних штаммов в культуре обнаружены только розовые колонии или

колонии без пигмента, у других – колонии обоих типов. Всего проанализировано 670 колоний 95 штаммов (табл. 2).

В табл. 3 представлены результаты микроскопического анализа отдельных колоний штаммов ВТ серотипа НЗ. Эталонные штаммы 1020 и 890 и не эталонные 1014, 1116 серовара *alesti* соответствовали описанию, т.е. образовывали розовый пигмент и характеризовались кристаллообразованием (К⁺) [17]. Выделенные нами беспигментные варианты этих штаммов кристаллов не образовывали (К⁻).

Штаммы *alesti* из разных коллекций, утратившие в результате длительного хранения способность образовывать пигмент, не содержали кристаллов.

Коллекционные штаммы *kurstaki* 1093, 1094 и 1095 также соответствовали их описанию – П⁻К⁺ [18]. Группа штаммов “подобные *kurstaki*” отли-

Таблица 5. Корреляция образования пигмента и кристалловидных токсинов у коллекционных и выделенных нами П⁺ культур *B. thuringiensis* серотипов Н16 и Н14

Серо-тип	Серовар	Окраска колоний исходного штамма	Исследованы штаммы			Состав исследованных колоний			
			число штаммов	№ по ИНМИА	число колоний	П ⁺		П ⁻	
						К ⁺	К ⁻	К ⁺	К ⁻
Н16	<i>indiana</i>	П ⁻	3	1200*	14	—	—	14	—
				695, 716	10	—	—	—	10
	Подобные <i>indiana</i>	П ⁺	9	32, 43, 827*, 848, 854, 855, 962, 881, 903	25	25	—	—	—
Н14	<i>israelensis</i>	П ⁺	1	1125*	20	10	10	—	—
			11	6, 644, 685, 713, 858, 874*, 912, 913, 1096-2, 1109-1, 1111	22	22	—	—	—
			8	600, 619, 921, 622, 630, 732, 733, 899	16	—	16	—	—
		2	848, 762	5	—	—	—	5	

чалась содержанием колоний с кристаллами и без кристаллов при отсутствии пигментации. Наименование “подобные” связано с тем, что хотя дополнительный антиген у этих штаммов не определялся, по отсутствию пигмента эти штаммы близки к *kurstaki*.

Полученные при изучении штаммов серотипа Н3 результаты подтвердили корреляцию исследуемых признаков, обнаруженную у штаммов серовара *alesti*, образующих пигмент: кристаллы обнаружены только у пигментных клонов.

Штаммы серотипа Н10 так же, как и штаммы серотипа Н3, состоят из двух групп: П⁺ и П⁻ (табл. 4).

Как видно из табл. 4, большинство отдельных колоний из 32 выделенных и изученных нами штаммов серовара *caucasicus*, образуют пигмент и инсектицидные кристаллы. Однако в культуре этих штаммов обнаруживаются также клоны без пигмента, которые не имеют кристаллов. Культуры остальных штаммов, которые по отсутствию пигмента и ряду других свойств ближе к серовару *darmstadiensis* и обозначены как “подобные”, состоят из беспигментных колоний с кристаллами, аналогично эталонному штамму серовара *darmstadiensis* ИНМИА 1075, хотя обнаруживаются также клоны без кристаллов. Как и в беспигментных культурах сероваров *kurstaki* и *darmstadiensis*, пигментные клоны не выявляются.

Следовательно, для пигментообразующих штаммов серотипа Н10 так же, как и серотипа Н3, характерна корреляция признаков П⁺ и К⁺.

У типовых штаммов серовара *indiana* (Н16), по описанию авторов [19], а также у коллекционного штамма 1200 пигментация отсутствует при нормальном кристаллообразовании (табл. 5).

У двух беспигментных штаммов (695 и 716) этого серовара из нашей коллекции кристаллы не образуются. В отличие от них, описанные нами ранее представители серотипа Н16, в том числе эталонный штамм ИНМИА 827, продуцируют пигмент [7, 10]. При этом, исследованные пигментные колонии, выделенные из 9 штаммов этого серотипа, содержали кристаллы, т.е. у этих штаммов имела место корреляция пигментации и наличия кристаллов. Беспигментных колоний в рассевах указанных штаммов не обнаружено.

Таким образом, исследования пигментообразующих штаммов трех серотипов (Н3, Н10 и Н16) показали: как правило, если колония изучаемой культуры пигментирована, то ее клетки образуют ромбовидные или многогранные кристаллы токсинов. При отсутствии пигментации кристаллы также отсутствуют.

Штаммы серовара *israelensis* (Н14), в том числе эталонные штаммы ИНМИА 874 и коллекционный ИНМИА 1125 [20], также характеризуются присутствием пигмента (табл. 5). Только два штамма (848, 762) оказались П⁻К⁻. У 19 исследованных пигментных штаммов кристаллы выявлены только у 11. То есть, описанная закономерность корреляции П⁺ и К⁺, установленная для предыдущих трех сероваров, образующих ромбовидные и многогранные кристаллы, по-видимо-

Таблица 6. Физиолого-биохимическая характеристика П⁺К⁺ и П⁻К⁻ штаммов *B. thuringiensis* серовара *caucasicus*

№ штамма по ИНМИА	Продуцирование				Ферментация				Гидролиз		
	пигмент	АМК	лецитиназа	уреаза	сахароза	манноза	салицин	целлобиоза	крахмал	желатин	эскулин
831, 837, 853, 873, 879, 887, 891, 895, 905, 926, 939, 1113	+	+	+++	-	-	-	±	++	++	++	++
	-	+	+++	-	-	-	±	++	++	+++	++
811, 918, 924	+	+	+++	-	-	-	±	++	++	++	++
	-	+	+++	-	+++	-	±	++	++	+++	++
871	+	+	+++	-	+	-	±	++	++	++	++
	-	+	+++	-	+++	-	±	++	++	+++	++
875	+	+	+++	-	+++	-	±	++	++	++	++
	-	+	+++	-	+++	-	±	±	++	+++	++
884, 921	+	+	+++	-	-	-	±	++	++	++	++
	-	+	+++	-	-	-	±	++	++	+++	-
888	+	+	+++	-	-	-	+	++	++	++	++
	-	+	+++	-	+++	-	-	++	++	+++	++
914, 915	+	+	+++	-	++	-	±	++	++	++	++
	-	+	+++	-	+++	-	±	++	++	+++	++
919	+	+	+++	-	+	-	±	++	++	++	++
	-	+	+++	-	+++	-	±	++	++	+++	++
926	+	+	+++	-	-	-	±	++	++	++	-
	-	+	+++	-	-	-	±	++	++	+++	+
928	+	+	+++	-	-	-	±	++	++	++	-
	-	+	+++	-	++	-	±	++	++	+++	++
950	+	+	+++	-	+++	-	+	++	++	++	++
	-	+	+++	-	+++	-	+	++	++	+++	++

му, не распространяется на штаммы серовара *israelensis*, для которых характерными являются сферические параспоральные включения.

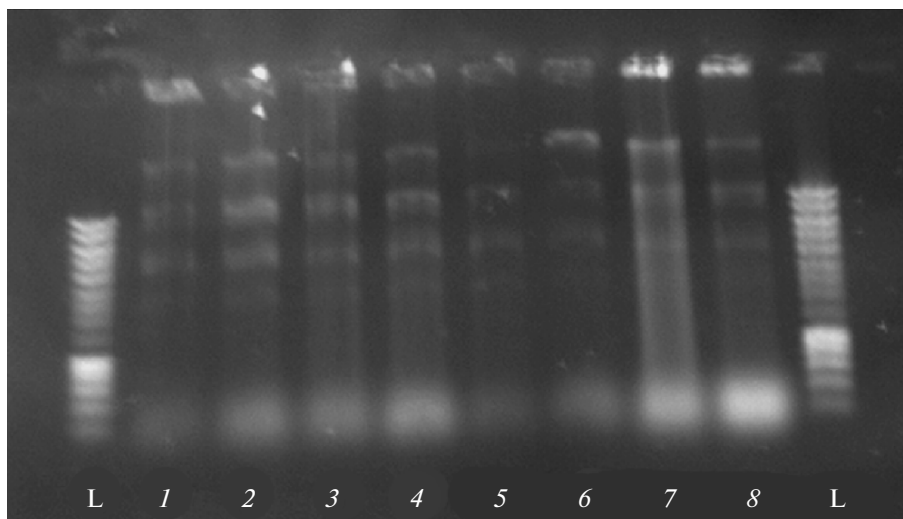
Поскольку серологические свойства штаммов являются основным дифференцирующим признаком для ВТ [21], выделенные из штаммов сероваров *alesti* и *caucasicus* П⁻К⁻ клоны были серотипированы антисыворотками к Н-антигенам типовых культур. Положительная реакция свидетельствовала об их гомологичности, а также исключала вероятность присутствия в пигментнообразующих культурах колоний *B. cereus* (П⁻К⁻) постороннего происхождения.

Идентичность указанных клонов была дополнительно подтверждена физиолого-биохимическими диагностическими исследованиями по 10 признакам. В табл. 6 обобщены данные сравнительного изучения П⁺ и П⁻ клонов культур серовара *caucasicus* (Н10).

Как видно из табл. 6, изученные клоны П⁻ по большинству признаков идентичны исходным П⁺. Некоторые различия наблюдаются лишь в усвоении сахарозы и эскулина. Основное отличие – наличие или отсутствие пигмента и кристаллов, по-видимому, является результатом внутриштаммовой изменчивости.

Вопросами внутриштаммовой изменчивости и вирулентности энтомопатогенных бактерий ВТ занимались еще в ранние годы развития промышленного производства и применения бактериальных инсектицидных препаратов [22, 23]. На культурах разных серотипов (Н1, Н4 и др.) была показана связь морфологии колоний со споро- и токсинообразованием [24, 25].

В настоящей работе выявлена корреляция между образованием розового пигмента и кристаллов δ-эндотоксина. Установлено, что эта особенность свойственна штаммам серотипов Н3, Н10 и Н16, продуцирующих ромбовидные и не-



Электрофореграмма плазмидных ДНК штаммов *B. thuringiensis*.

1 – 811 П⁺; 2 – 811 П⁻; 3 – 890 П⁺; 4 – 890 П⁻; 5 – 853 П⁺; 6 – 853 П⁻; 7 – 888 П⁺; 8 – 888 П⁻. L – маркеры молекулярных масс “EuroGenTec” (200–10000 п.о.).

определенной формы кристаллы, и не характерна для штаммов серотипа Н14, образующих кристаллы сферической формы. В культурах этого серотипа обнаруживаются как варианты П⁺К⁺, так и П⁺К⁻.

Одновременная потеря способности образовывать кристаллы и пигмент могла быть следствием элиминации плазмид. Однако изучение плазмидного состава некоторых штаммов ВТ серовара *caucasicus* (Н10) не выявило различий у П⁺К⁺ и выделенных из них П⁻К⁻ штаммов (рисунок).

По-видимому, в случае исследованных нами штаммов одновременная потеря признаков кристаллообразования и пигментации не связана с изменением генетического материала, а, как известно, [26–28], является следствием внутриштаммовой диссоциации.

Во всех случаях корреляция между образованием кристаллов δ-эндотоксина и розового пигмента, установленная в настоящей работе для энтомопатогенных штаммов ряда сероваров ВТ, может быть использована в исследованиях по экспериментальной изменчивости, служить критерием сохранения их активности при длительном хранении и эффективным средством отбора вирулентных клеток из популяций культур, что особенно важно при применении этих штаммов для производства инсектицидных препаратов.

Прикладное значение выявленной закономерности ранее было оценено нами после успешного применения разработанного подхода при производстве бактериального препарата БИП с использованием выделенного нами штамма 844 [7]. Исходя из опыта этой работы,

мы полагаем, что изучение других энтомопатогенных пигментообразующих штаммов на предмет выявления установленной нами корреляции, может быть полезно с точки зрения повышения эффективности производств, использующих эти штаммы, для получения инсектицидных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чил-Акопян Л.А., Африкян Э.К., Исмаилова А.Ю., Киракосян И.А., Пучинян Л.П., Чилингарян К.О. // Вопросы микробиологии V(XV). Ереван: Изд-во АН Арм ССР, 1972. С. 203–228.
2. Феофилова Е.П. Пигменты микроорганизмов. М.: Наука, 1974. 218 с.
3. Toumanoff C., Le Coroller J. // Ann. Inst. Paster. 1959. V. 96. P. 680–688.
4. de Varjas H., Bonnefoi A. // Entomophaga. 1962. V. 7. № 1. P. 5–31.
5. de Varjas H., Bonnefoi A. // J. Invertebr. Pathol. 1968. V. 11. № 3. P. 335–347.
6. Чил-Акопян Л.А., Чарчян С.З. А.с. № 927854 // Б. И. 1982. № 18.
7. Каталог культур микроорганизмов / Ред. Э.Г. Африкян, А.А. Хачатурян. Ереван: Гитутюн, 1996. 260 с.
8. Африкян Э.К., Чил-Акопян Л.А. // ДАН Арм. ССР. 1968. Т. 47. № 4. С. 227–231.
9. Зурабова Э.Р., Рыжкова А.С., Дубинина Т.П. // Биол. журн. Армении. 1980. Т. 33. № 4. С. 374–378.
10. Африкян Э.К., Чил-Акопян Л.А. // Биол. журн. Армении. 1980. Т. 33. № 4. С. 355–365.
11. Synonyms and Dated Names (Invalid for Bacteria), www.vkm.ru/catalog/pdf/synonyms.pdf.

12. Krieg A., de Barjac H., Bonnefoi A. // J. Invertebr. Pathol. 1968. V. 10. № 2. P. 428–430.
13. Беммхер К. // Микробиология. 1961. Т. 30. № 4. С. 673–678.
14. Smirnoff W.A. // J. Insect Pathol. 1962. V. 4. № 3. 384 p.
15. De Barjac H., Bonnefoi A. // Entomophaga. 1990. V. 35. № 2. P. 233–240.
16. Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor laboratory. 1982. 545 p.
17. Toumanoff C., Vago C. // C.R. Acad. Sci. 1951. V. 233. № 23. P. 1504–1506.
18. De Barjac H., Lemille F. // J. Invertebr. Pathol. 1970. V. 15. № 1. P. 139–140.
19. De Lucca A.J., Simonson J., Larson A. // J. Invertebr. Pathol. 1979. V. 34. P. 323–324.
20. De Barjac H. // Entomophaga. 1978. V. 21. № 4. P. 309–319.
21. Lecadet M.M., Frachon E., Cosmao Dumanoir V., Ripouteau H., Hamon S., Laurent P., Thiéry I. // J. Appl. Microbiol. 1999. V. 86. № 4. P. 660–672.
22. Талалаев Е.В. // Микроорганизмы в защите растений от вредных насекомых. Иркутск: Изд-во ИГУ, 1978. С. 3–11.
23. Барайшук Г.В. // Биология микроорганизмов и их использование в народном хозяйстве. Иркутск: Изд-во ИГУ, 1980. С. 100–105.
24. Бурцева Л.И., Штерншис М.В., Калмыкова Г.В. // Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / Ред. В.В. Глупова. М.: Круглый год, 2001. С. 124–156.
25. Секерина О.А., Чемерилова В.И. // Микробиология. 2003. Т. 72. № 5. С. 689–694.
26. Головлев Е.Л. // Микробиология. 1998. Т. 67. № 2. С. 149–155.
27. Дорошенко Е.В., Лойко Н.Г., Ильинская О.Н., Колпаков А.И., Горнова И.Б., Климанова Е.В., Эль-Регистан Г.И. // Микробиология. 2001. Т. 70. № 6. С. 811–819.
28. Чемерилова В.И., Секерина О.А., Талалаева Г.Б. // Микробиология. 2007. Т. 76. № 4. С. 507–514.

Crystal Formation Peculiarities in Pigmented Cultures of *Bacillus thuringiensis*

L. A. Chil-Hakobyan, A. A. Hambardzumyan, and A. Kh. Chakhalyan

SPC Arm biotechnology, National Academy of Sciences, Republic of Armenia, Yerevan, 0056 Armenia
e-mail: arm_biotech@yahoo.com, anachakh@gmail.com

Received October 13, 2011

Abstract—A direct correlation has been established between pink-colored pigmentation and the production of insecticide crystals (toxins) for some *Bacillus thuringiensis* (BT) pigmented cultures. This regularity was for the first time determined by us for BT strains of the H3, H10, and H16 serotype. Pigment-free clones of these serotypes do not produce crystals. A correlation was not observed in the case of H14 serotype strains with oval inclusions. The revealed correlation makes it possible to distinguish crystal-yielding colonies in cultures of the above-mentioned serotypes by the availability of pigmentation. This method can serve as an effective express method for the detection of virulent clones, which is especially important if these strains are used for obtaining insecticide preparations.