

УДК 632.937.15 + 579.64

ОСОБЛИВОСТІ БІОТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ ЕНТОМОПАТОГЕННОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ *BACILLUS THURINGIENSIS*

Maryna Myhalchenko, O.Yu. Galkin, O.M. Dugan

National Technical University of Ukraine «Kiyev Politechnical Institute»
Pobeda avenue, 47, Kiev, 02127, Ukraine

Анотація. Проведено аналіз літературних даних щодо біотехнологічних основ отримання ентомопатогенних препаратів на основі *Bacillus thuringiensis*. Розглянуто наступні питання: переваги використання бактеріальних ентомопатогенних препаратів порівняно з хімічними аналогами; токсичні продукти, що виробляються *Bacillus thuringiensis*; будова кристалів δ-ендотоксину; механізм дії δ-ендотоксину на біохімічні процеси комах; загальна біологічна схема отримання ентомопатогенних препаратів; основні принципи формування технологічної схеми виробництва та особливості технології у випадку отримання порошкоподібних лікарських форм.

Ключові слова: *bacillus thuringiensis*, ентомопатогенні препарати, механізм дії δ-ендотоксину на біохімічні процеси комах, технологія виробництва ентомопатогенних препаратів.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Кожен рік значна частина світових комерційно важливих сільськогосподарських посівів, у тому числі харчових, текстильних та інших культурних рослин, втрачається внаслідок ураження шкідниками, що призводить до збитків у мільйони доларів [1].

Тому одним з важливих напрямків сільськогосподарської біотехнології є створення біопрепаратів для захисту рослин, в першу чергу від комах-шкідників.

АНАЛІЗ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Найбільші успіхи досягнуті у створенні мікробних інсектицидів. Біотехнологічні розробки проводяться тут у двох напрямках: створення біопрепаратів на основі ентомопатогенних мікроорганізмів та отримання хімічних засобів захисту рослин шляхом мікробного синтезу [2].

Ентомопатогенні препарати, які отримують на основі мікроорганізмів, виділених з природних умов і внесених знову у ті ж природні умови у вигляді мікробних патогенів, не викликають небажаних змін у біоценозах і не порушують екологічний стан у регіоні [3].

Серед таких препаратів провідне місце займають бактеріальні препарати, створені на базі *Bacillus thuringiensis* [2]. Унікальна властивість цих бактерій утворювати кристалічний білковий інсектицидний ендотоксин (δ-ендотоксин), безпечний для теплокровних і більшості холонокровних тварин, дає можливість використовувати їх для виробництва бактеріальних засобів боротьби з шкідливими комахами [4].

Широко відомі вітчизняні і закордонні біопрепарати — ентобактерин, дендробацилін, гомелін, лепідоцид, децимід, інсектин, кристалін, турицид, діпел, новодор та ін., створені на основі різних штамів цих бактерій; постійно пропонуються для використання нові штами *Bac. thuringiensis*. Накопичено значну кількість інформації щодо результатів токсикологічного дослідження біопрепаратів на основі цих мікроорганізмів [5].

Мета роботи полягала в аналізі сучасних підходів до технології виробництва ентомопатогенних препаратів на основі *Bacillus thuringiensis*.

РЕЗУЛЬТАТИ І ДИСКУСІЯ

Переваги використання бактеріальних ентомопатогенних препаратів порівняно з хімічними аналогами. Добре відомі основні недоліки пестицидів, одержуваних за допомогою хімічного синтезу, - стійкість в природних умовах, мала вибірковість і токсичність [2].

Мікробіологічний метод захисту рослин позбавлений перерахованих недоліків. Біологічні препарати більше специфічні, тобто здатні вражати тільки певні види комах, безпечні для людини, теплокровних тварин і культурних рослин. Можливості їх застосування різко розширилися з освоєнням промислових біотехнологій культивування мікроорганізмів. Мікробіологічні пестициди можна застосовувати в комплексі з іншими засобами захисту рослин (синтетичні пестициди, хижі і паразитичні комахи, феромони та ін.), включати їх в інтегровані системи захисту рослин [2].

Токсичні продукти, що виробляються *Bacillus thuringiensis*. Ентомопатогенні препарати на основі *Bacillus thuringiensis* представлені великою кількістю штамів та підвидів, і кожен з них синтезує токсин, специфічний по відношенню до певних комах [6]. Розрізняють наступні види токсинів.

1) *α-екзотоксин (фосфоліпаза C)* – продукт клітин бактерій, що ростуть. Токсична дія ферменту пов'язана з індукуванням розпаданням незамінних фосфоліпідів у тканинах комах, що призводить до їх загибелі [3];

2) *β-екзотоксин (термостабільний екзотоксин)* містить аденін, рибозу і фосфор у відношенні 1:1:1. Молекула екзотоксину складається з нуклеотиду, зв'язаного через рибозу і глюкозу з аლოსлизною кислотою. Дія екзотоксину обумовлена інгібуванням нуклеотидази і ДНК-залежної-РНК-полімерази, пов'язаних з АТФ, що призводить до припинення синтезу РНК. Токсин володіє широким спектром дії на комах і являється мутагеном, вражаючи генетичний апарат особин [3, 7]. Останнім часом все більше країн відмовляються від застосування препаратів, що містять β-екзотоксин, оскільки його визнали небезпечним для людини та тварин [8, 9];

3) *γ-екзотоксин* – недостатньо вивчений. Не доведена його токсичність;

4) *δ-ендотоксин (параспоральний кристалічний ендотоксин)*. Утворюється у процесі споруляції у протилежній до спори, що формується, частині бактерії. На завершальній стадії спороутворення токсин набуває форми правильного восьмикутного кристалу, розміри якого варіюють від 0,5x1,3 до 1x3,5 мкм [3, 7]. У більшості різновидів *Bacillus thuringiensis* утворення спори і кристалу супроводжується розпадом стінки клітини, у результаті чого спори і кристали вивільнюються і потрапляють у культуральне середовище. Для розчинення кристалу необхідне лужне середовище (рН=10-12), властиве кишкового комах. Білок кристалів δ-ендотоксину є протоксисомом, який розщеплюється у лужному середовищі кишечника комах під дією протеолітичних ферментів, утворюючи активізований токсин, який призводить до паралічу або загибелі комах [10].

Ентомопатогенні препарати, які зараз випускаються на основі *Bac. thuringiensis*, містять суміш сухих спор і кристалів δ-ендотоксину. Хоча відомо, що основним діючим початком є білковий інсектицидний δ-ендотоксин і наявність спор є не обов'язковою. Титр життєздатних спор в препаратах досягає 60-100 млрд./г. При застосуванні таких препаратів білкові кристали розкладаються і через деякий час зникають, тоді як спори завдяки своїй стійкості продовжують тривалий час існувати і в сприятливих умовах можуть проростати і розмножуватися. У зв'язку з цим перспективним є створення безспорних біоінсектицидів ще більш екологічно безпечних, ніж існуючі засоби захисту рослин [11].

Будова кристалів δ-ендотоксину. Різні штами *Bacillus thuringiensis* (часто навіть з одного сероваріанта) значно відрізняються за спектром інсектицидної дії і токсичності продукуемого ними кристалічного білку. Це пов'язано з великим різноманіттям δ-ендотоксинів, що синтезуються різними штамами *Bt*, так і з продукуванням у клітинах одного штаму параспоральних включень, що містять декілька різних інсектицидних білків [12].

Дельта-ендотоксини кодуються генами *Cry* кристалічних білків. Виділені з безлічі штамів *B. thuringiensis*, білки у відповідності до їх токсичності та структурної близькості можна згрупувати в чотири основні класи: *CryI*, *CryII*, *CryIII* і *CryIV* [1, 6]. Білки *CryI* токсичні для лускокрилих (*Lepidoptera*), *CryII* – для лускокрилих (*Lepidoptera*) і двокрилих (*Diptera*), *CryIII* – для жуків (*Coleoptera*), *CryIV* – для двокрилих (*Diptera*). Класи можна розділити далі на

підкласи (A, B, C, ...) і підгрупи (a, b, c, ...) згідно нуклеотидним послідовностей генів відповідних токсинів. Наприклад, клас генів *cryI* включає шість підкласів (від *cryIA* до F), а підклас *cryIA* - три підгрупи [від *cryIA* (a) до (c)].

Для токсинів показано чітко виражену доменну структуру. С-кінцевий район досить консервативний серед різних класів ентомоцидних білків. При протеолізі він легко деградує шляхом відщеплення невеликих фрагментів з молекулярною масою 15-35 кДа, які у свою чергу швидко піддаються подальшому гідролізу. N-кінцевий район (відповідний "істинному токсину") відносно стійкий до протеолізу і набагато більш варіабельний у різних білків, ніж С-кінцевий район. Таким чином, вихідні 130-145 кДа білки представляють собою протоксини, які потребують активації протеїназами кишкового соку комах [13].

Методом рентгеноструктурного аналізу третинна структура визначена для двох ентомоцидних білків: дельта-ендотоксину *Cry3Aa* (67 кДа), що продукується *spp. tenebrionis* і "істинного токсину", відповідного протоксину *Cry1Aa* (65 кДа, *spp. kurstaki*) [14]. Притому, що ідентичність цих білків за амінокислотної послідовності становить лише 33%, їх третинні структури подібні. Вирівнювання первинної структури інших ендотоксинів і розрахунок передбачуваної вторинної структури дозволяють припустити, що всі вони мають принципово подібне укладання поліпептидного ланцюга [13].

Третинна структура молекули «істинних токсинів» представлена трьома доменами (рис. 1). Перший, N-кінцевий, побудований з семи α -спіралей, при цьому переважно гідрофобна п'ята α -спіраль оточена шістьма амфільними так, що гідрофобні поверхні останніх повернені до α -5. Спіралі α -3 – α -7 мають достатню довжину (5-9 повних обертів, більше 30 Å), щоб пронизати двохшарову клітинну мембрану. Найбільш довга (45 Å) спіраль α -6 містить 9 повних обертів [16].

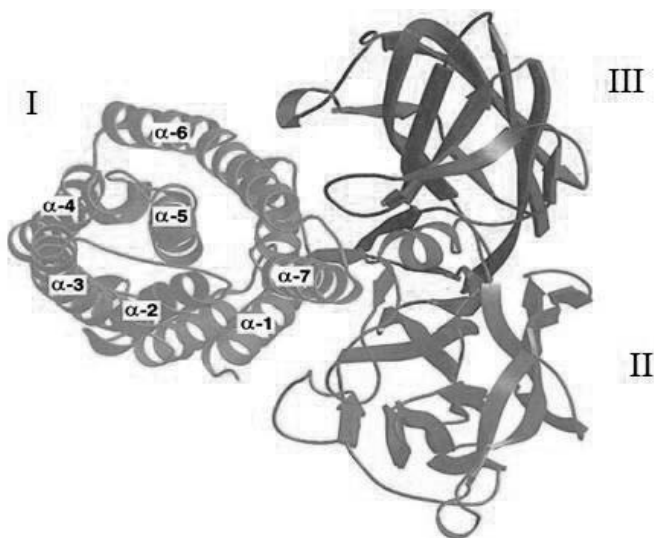


Рис. 1. Третинна структура *Cry3Aa* і *Cry1Aa* δ -ендотоксинів [15]

Другий домен складається з трьох β -листів, зімкнутих так, що в перерізі виходить трикутник. Два перших β -листа складаються з чотирьох антипаралельних складок; третій - з трьох β -складок і однієї невеликої α -спіралі (α -8). У складі кожного β -листа між двома внутрішніми нитками утворюється петля. Ці петлі зібрані відносно близько один до одного на вершині молекули [15, 16].

Третій домен являє собою "сендвіч" з двох антипаралельних β -листів.

Незважаючи на чітко виражену доменну структуру, в ході денатурації молекула ендотоксину веде себе як єдине ціле [17]. Ця цілісність забезпечується тісними міждоменими контактами.

Найбільш сильні контакти виявлені між першим і другим доменами (площа, зайнята контактами становить 1930 \AA^2), дещо менша площа контакту між доменами I і III (1180 \AA^2). У взаємодіях цих доменів велику роль грають водневі зв'язки і сольові містки. Другий і третій домен контактують досить невеликою поверхнею (910 \AA^2), та їх зв'язок зумовлений, в основному, гідрофобними взаємодіями [13, 14].

Механізми дії δ -ендотоксину на біохімічні процеси комах. Щоб комаха загинула, кристали повинні потрапити у його організм. При деяких індивідуальних відмінностей комах первинним місцем дії δ -ендотоксину завжди являється середній відділ кишківника [18].

У параспоральному кристалі інсектицид зазвичай знаходиться в неактивній формі; при сольобілізації кристала білок вивільняється у формі протоксину, попередника активного токсину. Протоксин класу токсинів CgtI має молекулярну масу приблизно 130 кДа. Після проковтування комахою параспорального кристалу, протоксин активується в кишківнику в умовах лужного рН (7,5-8,0) і під дією протеолітичних трипсино- та хімотрипсиноподібних ферментів перетворюється в активний токсин з молекулярною масою приблизно 68 кДа [13, 19].

Наступною стадією токсичного впливу є зв'язування активного токсину з афінним до нього білком (рецептором), експонованих на поверхні апікальних мембран епітеліальних клітин кишечника. Зв'язування токсину з рецептором є оборотним [20, 21].

На наступній стадії відбувається необхідна перебудова конформації молекули токсину з наступним впровадженням деяких з формуючих її структур у мембранний бішар. Після цього зв'язування токсину з мембраною стає незворотнім [23]. Необхідність вбудовування α -спіралей першого домену в мембрану чутливої клітини для того, щоб зв'язування стало незворотнім, доводиться тим, що неповноцінна молекула токсину, що складається тільки з II-го та III-го доменів, зв'язується з мембраною тільки оборотно.

Одночасно з вбудовуванням в мембрану відбувається асоціація декількох молекул токсину [24]. Ансамбль трансмембранних ділянок, що належать кільком асоційованим молекулам токсину, утворює (в залежності від конкретної пари токсин / мембрана) пору, або іонний канал. У першому випадку (утворення пори), відбувається загибель клітин за механізмом колоїдно-осмотичного лізису. У другому, (утворення іонного каналу) - внаслідок різкої зміни іонного складу і рН внутрішньоклітинного середовища.

Приблизно через 15 хвилин після формування такого іонного каналу клітинний метаболізм блокується, комаха перестає харчуватися, відбувається зневоднення організму і в кінці кінців настає смерть [25].

Оскільки перетворення протоксину в активний токсин відбувається тільки в умовах лужного рН і в присутності певних протеїназ, ймовірність шкідливого впливу токсинів на людину і сільськогосподарських тварин мала [25].

Біологічна схема отримання ентомопатогенних препаратів. Походження кристалу наразі залишається неясним. Існує думка, що кристалічний білок є речовиною, що утворюється в якості побічного продукту споруляції і видаляється з розчинного середовища шляхом кристалізації [26]. Проте, більш вірогідною вважають гіпотезу утворення його в результаті синтезу білку спор, можливо, генетично детермінованого. Таке уявлення базується на гомологічності білку спор і кристалів [26, 27].

Мічені амінокислоти, що додаються під час споруляції, включаються до складу кристалічного білку. Відповідно, кристал будується із компонентів поживного середовища і амінокислот, отриманих в результаті білкового обміну всередині спорангію. Кристал формується у вегетативних клітинах у процесі спорування. Звичайно вегетативна клітина продукує один кристал, проте *Bt var. israelensis* і *Bt var. darmstadiensis* продукують по 2, а *Bt var. kurstaki* – 2-5 кристалів [26, 27].

Послідовність розвитку спори та утворення параспорального кристалу у *B. thuringiensis*:

I етап (7 год) – формування осьової нитки, в якому немає очевидної причетності мезозом і нуклеоїда;

II етап (з 7 до 8 годин) – утворення проспорової перегородки (септи) за участю мезозом;

III етап (з 8 до 9 год) – поглинання за участі мезозом, перша поява яйцеподібних включень і параспорального кристалу, зміна стабільності мембрани і цитоплазми, і формування проспори;

IV - VI етапи (з 9 до 12 год) – формування екзоспориума, зародкової клітинної стінки, кортексу і оболонки спори супроводжується перетворенням нуклеоїду спори;

VII етап (12 год) – дозрівання спори.

Розвиток параспориального кристалу відбувається на етапах III-VI (з 8 до 12 год). Вперше параспориальний кристал *Bacillus thuringiensis* можна спостерігати під час поглинання (етап III), він має решітчасту структуру країв на цій ранній стадії розвитку. До того моменту, як з'являється екзоспориум, кристал має майже натуральну величину (етап IV) [28]. Для проходження споруляції необхідно підтримувати температуру 28-30°C, яка є оптимальною для життєдіяльності бактерії *Bacillus thuringiensis*.

Технологічна схема отримання порошкоподібних ентомопатогенних препаратів. Технологія одержання ентомопатогенних препаратів включає наступні етапи: виробниче культивування, сепарування (видалення культуральної рідини), розчинення продукту, сепарування (видалення осаду), внесення наповнювачу і прилипателю, сушіння продукту на розпилювальній сушарці.

Виробниче культивування. Отримання кінцевого продукту метаболізму у виробничому ферментері складає основну стадію у всьому технологічному циклі. У ферментер подається підготоване поживне середовище і посівний матеріал. Культивування у ферментері триває 35 – 40 год. при безперервному перемішуванні 200 об/хв. і аерації 0,2 л/л середовища за хвилину, при температурі 28 – 30°C і надлишковому тиску 40 – 50 кПа, рН=8,0 – 8,5. Культивування триває до повного лізису клітин [7].

Сепарування. Після стадії культивування мікроорганізму-продуценту, наступним технологічним етапом являється виділення і очистка кінцевого продукту з культуральної рідини [7].

В результаті сепарування культуральна рідина, що містить розчинні компоненти поживного середовища та розчинні продукти життєдіяльності бактерій, йде у відходи [29].

Розчинення продукту. Отримана після сепарації пастоподібна активна фракція містить нерозчинні компоненти поживного середовища, бактеріальні клітини, кристали дельта-ендотоксину, який є діючим початком препарату, та інші продукти метаболізму [29]. Додавання в активну фракцію біомаси лугу дозволяє розчинити діючий початок цільового продукту, а саме кристали дельта-ендотоксину [30]. У вказану активну фракцію додають 0,16%-ний розчин гідроксиду натрію до співвідношення об'ємів активної фракції та гідроксиду натрію відповідно 1:4 (рН 13,5), витримують, перемішуючи, до розчинення кристалів дельта-ендотоксину [29].

Сепарування. Відокремлюють непотрібний осад сепарацією. Осад йде у відходи.

Отриманий після сепарації лужний розчин містить в якості основного компонента дельта-ендотоксин (діючий початок препарату) [29]. Відділення осаду дозволяє отримати практично чистий розчин дельта-ендотоксину, що підвищує активність цільового продукту і, як наслідок, зменшує його витрати [30].

Внесення наповнювачу і прилипателю. До лужного розчину додають спиртову барду. Використання спиртової барди одночасно в якості наповнювача і прилипателя спрощує технологію приготування цільового продукту і підвищує економічність способу. Крім того, спиртова барда є біологічно і хімічно інертною речовиною, а також тією, що підвищує адгезивну здатність препарату [30].

Сушіння продукту на розпилювальній сушарці. Сушіння продукту відбувається на розпилювальній сушарці при температурі на вході в апарат – 120°C, на виході – 50°C. Вологість порошку після сушіння має становити 10% [30].

ВИСНОВОК

Узагальнено наукові дані щодо особливостей технології виробництва ентомопатогенних препаратів, механізму дії токсичних продуктів *Bacillus thuringiensis* на організм комахи-шкідника, наведено будову кристалів токсинів. Перспективними напрямками досліджень є отримання такого штаму для виробництва препарату, який був би універсальним і вражав більше видів комах-шкідників, а також збільшення терміну зберігання ентомопатогенних препаратів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пат. 49800 Україна. Штам *Bacillus thuringiensis* (варіанти), пестицид на композиція, спосіб боротьби із шкідливими комахами, спосіб підвищення пестицидної активності та спосіб одержання речовини з пестицидною активністю / Ліу Чі-Лі, Манкер Девіз, Лафбарроу Патріція, Старнес Роберт, Макмалан Аніта. – опубл. 14.03.1995 РСТ/US95/03329. – 10 с.
2. Основы сельскохозяйственной биотехнологии / Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихоненко Т.И., Прокофьев М.И. – М.: Агропромиздат, 1990. – 384 с.: ил.
3. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн. / Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 6: Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов / Быков В.А., Крылов И.А., Манаков М.Н. и др. – М.: Высшая школа, 1987. – 143 с.: ил.
4. Черенков М.С., Багаева Н.А., Джуртубаева Л.О., Багаева О.С. Біологічні властивості ларвіцидних бактерій *Bacillus thuringiensis* Л-14 // Вісник ОНУ. – 2003. – Т.8. – №1. – С. 183–188.
5. Омелянець Т.Г., Головач Т.М. Оцінка впливу біопрепаратів на основі бактерій *Bacillus thuringiensis* на організм теплокровних // Довкілля та здоров'я. – 2008. – №2. – С. 65–67.
6. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
7. Мосичев М.С., Складнев А.А., Котов В.Б. Общая технология микробиологических производств. – М.: Легкая и пищевая пром.-сть, 1982. – 264 с.
8. Дятлова К. Д. Микробные препараты в растениеводстве//Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т.7. – №5. – С. 17–22.
9. Пат. 2167528 Российской Федерации. Штамм *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* IPM-46, активный против насекомых из отрядов Coleoptera и Lepidoptera. / Добрица А. П., Гайтан В. И., Лосева О. И., Наумов А. Н. Опубл. 27.05.2001. – 5 с.
10. Патыка Т. И., Патыка Н. В., Патыка В. Ф. Энтмоцидная и лаврицидная активность *Bacillus thuringiensis* // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія біологія. – 2009. – №25. С.8-12.
11. Пат. 2033721 Российской Федерации. Штамм *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* для получения биоинсектицида. Шевцов В.В., Щелокова Е.В., Жиглецова С.К. – Опубл. 30.04.1995. – 4 с.
12. Добрица А.П., Корецкая Н.Г., Гайтан В.И., Коломбет Л.В., Дербышев В.В., Жиглецова С.К. Разработка биопестицидов против колорадского жука // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2001. – Т. XLV. – №5-6. – С. 174–184.
13. <http://www.rusbiotech.ru/article/endotoksin.php>
14. Grochulski P., L. Masson, S. Borisova, M. Pusztai-Carey, J.-L. Schwartz, R. Brousseau, M. Cygler, *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa insecticidal toxin: crystal structure and channel formation, *Journal of Molecular Biology*, 1995, 254: 447–464.
15. Arthur I. Aronson, Yechiel Shai. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. *FEMS Microbiology Letters* – №195, 2001. – P. 1–8.
16. Orth P., Zalunin I.A., Gasparov V.S., Chestukhina G.G., Stepanov V.M., 1995, *Journal of Protein Chemistry*, 1995, 14: 241–249.
17. Krieg A. *Bacillus thuringiensis* Berliner. Monograph N103; Paul Parey. Berlin-Hamburg, 1961. – 67 p.
18. Hofmann C., P. Luthy, Binding and activity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin to invertebrate cells, 1986, *Arch. Microbiology*, 146: 7–11.
19. Hofmann C., P. Luthy, R. Hutter, V. Pliska, Binding of the delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* to brush-border membrane vesicles of the cabbage butterfly (*Pieris brassicae*), 1988, *European Journal of Biochemistry*, 173: 85–91.
20. Li, J.; Carroll, J. , Ellar, D.J. Crystal Structure of Insecticidal d-Endotoxin from *Bacillus thuringiensis* at 2.5 Å resolutions. *Nature*, October 1991, vol. 353, no. 6347, p. 815–821.
21. Ruhfel R. E., Robillard N. J, Thorne C. B. J. *Bacteriol.*, 1984, v. 157, 3, p. 708–711.
22. <http://web.utk.edu/>
23. Ihara H., E. Kuroda, A. Wadano, M. Himeno, Specific toxicity of d-endotoxins from *Bacillus thuringiensis* to *Bombyx mori*, 1993, *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 57: P. 200–204.

24. Masson L, Tabashnik BE, Liu YB, Brousseau R, Schwartz JL., Helix 4 of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa toxin lines the lumen of the ion channel, *Journal of Biological Chemistry* 1999 Nov 5;274(45):31996-2000.
25. Яловицын М.В. Энтомопатогенные микроорганизмы и их применение в борьбе с вредными насекомыми. Учебное пособие по патологии насекомых. – Саранск: «Мордовское книжное изд-во», 1978. – 72 с.
26. Каменек Л.К. Структура, свойства и механизм действия δ -эндотоксина *Bacillus thuringiensis*/Энтомопатогенные бактерии и их роль в защите растений. – Новосибирск, 1987. – 184 с.
27. Бурцева Л.И. Бактериальные болезни насекомых //Л.И. Бурцева, М.В. Штерншис, Г.В. Калмыкова //Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. – М.: Круглый год, 2001. – С. 189–245.
28. Electron microscope study of sporulation and parasporal crystal formation in *Bacillus thuringiensis*. Donald B. Bechtel, Lee A. Bulla, JR. *Journal of Bacteriology*, Sept. 1976, p. 1472–1481.
29. Пат. 2027369 Российской Федерации. Способ получения эндотоксинсодержащих энтомопатогенных препаратов / Л. К. Каменек. – Оpubл. 27.01.1995. – 5 с.
30. Пат. 2062577 Российской Федерации. Способ получения бактериального энтомопатогенного препарата / Л. К. Каменек. – Оpubл. 27.06.1996. – 4 с.

FEATURES OF BIOTECHNOLOGY OF PRODUCING ENTOMOPATOGENIC PRODUCT BASED ON BACILLUS THURINGIENSIS

Summary. The analysis of published data on biotechnological basics of obtaining entomopathogenic products based on *Bacillus thuringiensis* has been done. The following issues have been studied: the advantages of using bacterial entomopathogenic products comparing with chemical analogues; toxic products produced by *Bacillus thuringiensis*; crystal structure of δ -endotoxin; mechanism of δ -endotoxin action on insect biochemical processes; general biological scheme of entomopathogenic products producing; the basic principles of the technological scheme formation for the manufacturing and technology features in the case of a powder dosage forms.

Key words: *bacillus thuringiensis*, entomopathogenic products, mechanism of δ -endotoxin action on insect biochemical processes, technology of entomopathogenic products production.