

21. Smirnov V.S., Petlenko S.V. Comparative influence of imiquimod topical preparations of intact skin guinea pigs. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2016; 10(3): 346—8. (in Russian)
22. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. *Statistical Methods in Microbiological Studies [Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh]*. Leningrad: Medgiz; 1962. (in Russian)
23. Schacker T.W., Conant M., Thoming C., Stanczak T., Wang Z., Smith M. Imiquimod 5-percent cream does not alter the natural history of recurrent herpes genitalis: a phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46(10): 3243—8.
24. Kan Y., Okabayashi T., Yokota S., Yamamoto S., Fujii N., Yamashita T. Imiquimod suppresses propagation of herpes simplex virus 1 by upregulation of cystatin A via the adenosine receptor A1 pathway. *J. Virol.* 2012; 86(19): 10338—46.
25. van der Snoek E.M., den Hollander J.C., van der Ende M.E. Imiquimod 5% cream for five consecutive days a week in an HIV-infected observational cohort up to 32 weeks in the treatment of high-grade squamous intraepithelial lesions. *Sex Transm. Infect.* 2015; 91(4): 245—7.
26. Harrison C.J., Jenki L., Voychehovski T., Bernstein D.I. Modification of immunological responses and clinical disease during topical R-837 treatment of genital HSV-2 infection. *Antiviral Res.* 1988; 10(4-5): 209—23.
27. Leeyaphan C., Surawan T.M., Chirachanakul P., Prasertworonun N., Punyaratabandhu P., Omcharoen V. et al. Clinical characteristics of hypertrophic herpes simplex genitalis and treatment outcomes of imiquimod: a retrospective observational study. *Int. J. Infect. Dis.* 2015; 33: 165—70.

Поступила 20.01.17

Принята в печать 19.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 578.841.1.083.2

*Колосов А.В., Терновой В.А., Швалов А.Н., Моисеева А.А., Сафатов А.С., Михеев В.Н.*

## АДАПТАЦИЯ ВИРУСА ОДИНОЧНО-КАПСИДНОГО ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА АМЕРИКАНСКОЙ ХЛОПКОВОЙ СОВКИ (*HELICOVERPA ZEA* SNPV) ДЛЯ КОНТРОЛЯ ПОПУЛЯЦИИ ХЛОПКОВОЙ СОВКИ (*HELICOVERPA ARMIGERA*)

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Роспотребнадзора, 630559, раб. поселок Кольцово, Новосибирская область

Вирус одиночно-капсидного ядерного полиэдроза (ВЯП) американской хлопковой совки (АХС) (*Helicoverpa zea* (Boddie, 1850)) был адаптирован к хлопковой совке Старого Света (ХС) *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) с помощью 5 слепых пассажей на личинках. Была определена полная геномная последовательность полученного штамма ХС-18 (GenBank № KJ004000.1). По биологической активности штамм ХС-18 превосходит как все ранее созданные в России варианты ВЯП, так и штамм HearSNPV-G4 на основе ВЯП хлопковой совки. Гусеницы хлопковой совки III и IV возрастов при заражении их штаммом ХС-18 гибнут значительно быстрее, чем при заражении эталонным штаммом HearSNPV-G4. Основным отличием генома ХС-18 от ближайшего родственного штамма ВЯП АХС, использованного в препарате Элькар, является наличие повтора из 18 пар нуклеотидных оснований внутри рамки считывания гена *RING-finger*, что подтверждает высокую изменчивость этого региона. Три другие вставки и обнаруженные 7 замен нуклеотидных оснований наблюдались ранее, 6 замен ранее не встречались. Мутации расположены в генах *ORF42*, *lef-9*, *ORF58*, *VP39*, *PIF-4*, *P48*, *SOD*, *ORF111*, *ORF129* и *ORF138*. Среди всех нуклеотидных замещений только одна является синонимичной, что свидетельствует о присутствии селективного давления на вирус. Полученный штамм ХС-18 рекомендован в качестве биопестицида для контроля численности ХС на полях хлопчатника.

Ключевые слова: бакуловирусы; штамм; вирус ядерного полиэдроза; хлопковая совка.

Для цитирования: Колосов А.В., Терновой В.А., Швалов А.Н., Моисеева А.А., Сафатов А.С., Михеев В.Н. Адаптация вируса одиночно-капсидного ядерного полиэдроза американской хлопковой совки (*Helicoverpa zea* SNPV) для контроля популяции хлопковой совки (*Helicoverpa armigera*). *Вопросы вирусологии*. 2017; 62(3): 134-137.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-3-134-137>

*Kolosov A.V., Ternovoy V.A., Shvalov A.N., Moiseeva A.A., Safatov A.S., Mikheev V.N.*

### ADAPTATION OF THE CORN EARWORM SINGLE NUCLEOCAPSID NUCLEOPOLYHEDROVIRUS (*HELICOVERPA ZEA* SNPV) FOR THE CONTROL OF THE COTTON BOLLWORM (*HELICOVERPA ARMIGERA*) POPULATION

State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, 630559, Novosibirsk Region, Russian Federation

*Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Hz) single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus (SNPV) was adapted to the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*, (Hübner, 1805) (Ha)) by five blind passages on larvae. The full genomic sequence of the resulting strain HS-18 has been determined (GenBank acc. №: KJ004000.1). Biological activity of the HS-18 strain is higher than the activity of all other Russian strains of NPV, as far as cotton bollworm strain HearSNPV-G4. HS-18-infected caterpillars at the 3-rd and 4-th ages died much faster than those infected with HearSNPV-G4 strain. A major difference of HS-18 genome is an 18 bp repeat in the RING-finger ORF that confirms high variability of this region. Three other insertions and seven base substitutions were observed earlier, while six base substitutions are new. Mutations are located at ORF42, *lef-9*, ORF58, VP39, PIF-4, P48, SOD, ORF111, ORF129 and ORF138 genes. Among

Для корреспонденции: Колосов Алексей Владимирович, канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований, ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область. E-mail: kolosov\_av@vector.nsc.ru

**all nucleotide mutation only one is synonymous. Thus we suppose the selective pressure to the virus. The resulting strain HS-18 is recommended as a biopesticide for controlling the number of cotton bollworm in cotton fields.**

**Key words:** baculoviruses; strain; nucleopolyhedrovirus; cotton bollworm *Helicoverpa armigera*.

**For citation:** Kolosov A.V., Ternovoy V.A., Shvalov A.N., Moiseeva A.A., Safatov A.S., Mikheev V.N. Adaptation of the corn earworm single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus (*Helicoverpa zea* SNPV) for the control of the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) population. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(3):134-137. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-3-134-137>

**For correspondence:** Alexey V. Kolosov, PhD Biol., Senior researcher, Department of biophysics and environmental investigations, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Kol'tsovo, 630559, Novosibirsk Region, Russian Federation. E-mail: kolosov\_av@vector.nsc.ru

**Information about authors:**

Shvalov A.N., <http://orcid.org/0000-0001-6890-1575>

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 15 September 2016

Accepted 11 October 2016

## Введение

Семейство бакуловирусов включает патогены членистоногих, главным образом относящихся к отрядам чешуекрылых, двукрылых и перепончатокрылых. Хлопковая совка (ХС; *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805)) широко распространена в умеренных областях Евразии, Африки и Австралии. В 2013 г. она впервые была зарегистрирована в Южной Америке и нанесла серьезный урон сельскому хозяйству Бразилии [1]. В Новом Свете традиционным вредителем являются близкородственные виды ХС — американская хлопковая совка (АХС; *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850)) и южноамериканская хлопковая совка (*Helicoverpa gelatopoeon* (Duar, 1921)).

Бакуловирусы эволюционно и серологически не связаны ни с одним вирусом позвоночных. Они подразделяются на 3 типа: вирусы ядерного полиэдроза (ВЯП), вирусы гранулеза и фильтрующиеся вирусы. Первые характеризуются наличием липопротеидной внешней оболочки — полиэдром, основу которого составляет белок полиэдрин [2]. Полиэдры помогают сохранить вирусные частицы в окружающей среде. По этой причине вирус может оставаться инфекционным, даже если он в течение ряда лет находится вне своего хозяина [3].

Благодаря этим свойствам, а также естественному происхождению и высокой специфичности бакуловирусы являются привлекательными агентами контроля численности насекомых-вредителей.

Многие государства, в частности Австралия, Бразилия, Германия, Индия, Китай, США, Швейцария и другие, активно занимаются разработкой и производством инсектицидов на основе бакуловирусов [4—8]. Важнейшим этапом этой работы является получение высоковирулентных штаммов вирусов, которые становятся активной основой биопрепаратов.

Вирусы одиночно-капсидного ядерного полиэдроза АХС, ХС Старого Света и южноамериканской хлопковой совки перекрестно поражают близкородственные виды совок рода *Helicoverpa*, большинство из которых являются вредителями.

Известно, что ВЯП АХС эффективно поражает несколько видов рода *Helicoverpa*, что делает его хорошим кандидатом для использования в качестве инсектицида. Так, выделенный в США в 1961 г. штамм ВЯП АХС Элькар (пассирован несколько раз на *Heliothis virescens*, полная нуклеотидная последовательность определена в 2002 г.) [9, 10] активен в отношении *H. armigera*. В 2013 г. в Бразилии наблюдались вспышки, вызванные ВЯП АХС, поражающей ХС [1], а в Аргентине в том же году

близкородственный вирус поразил южноамериканскую хлопковую совку [11].

В России в 2007 г. был выделен и охарактеризован штамм ВЯП, который депонирован в Коллекции культур микроорганизмов ГНЦ ВБ «Вектор» как ХС-17 под регистрационным номером VB-06 [12]. Хотя данный штамм обладает достаточно высокой вирулентностью по отношению к ХС, были продолжены поиски штаммов с независимой историей происхождения и еще более биологически активных, особенно по отношению к гусеницам старших возрастов.

Целью данного исследования было получение нового высоковирулентного штамма ВЯП ХС ХС-18, определение его геномной последовательности и вирулентности по отношению к гусеницам ХС средних и старших возрастов.

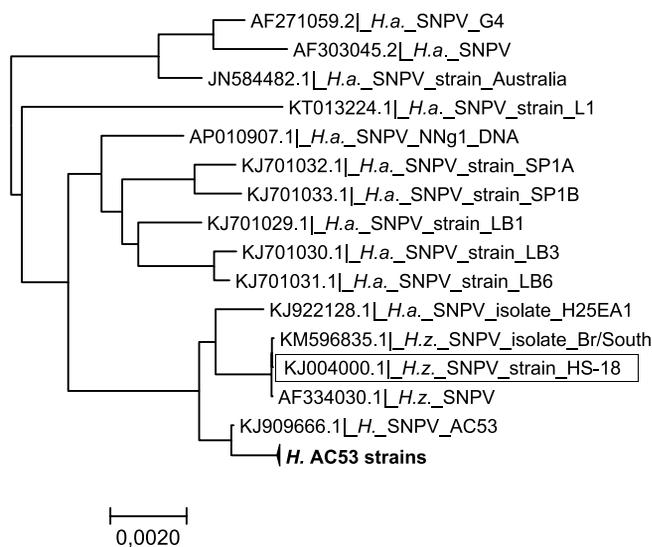
## Материал и методы

Все испытания проводили на гусеницах лабораторной популяции ХС *H. armigera*, выращенных в инсектарии отдела биофизики и экологических исследований ГНЦ ВБ «Вектор» (Новосибирская область, Новосибирский район, раб. поселок Кольцово).

Изолят ВЯП ХС был выделен в 2012 г. в инсектарии при активации латентной инфекции личинки III возраста лабораторной популяции ХС. Из погибшей от полиэдроза гусеницы ХС был приготовлен гомогенат, из которого методом грубой очистки был выделен образец ВЯП. Собственно штамм был получен посредством слепого пятикратного пассирования образца на личинках *H. armigera* путем заражения *per os* и приготовления гомогената из погибших личинок. На 7-е сутки после инфицирования из каждого пассажа для прохождения дальнейшего пассирования отбирали вирус, выделенный только из одной погибшей гусеницы. Данный штамм получил название ХС-18 (HS-18). Штамм прошел 4 пассажа на гусеницах ХС *H. armigera* лабораторной популяции.

Для установления генотипа штамма ХС-18 образцы вирусного материала были секвенированы на Ion Torrent PGM («Life Technologies»). Полученные последовательности выравнились на прототипные последовательности из международной базы данных GenBank.

Сравнительные испытания биологической активности нового штамма ВЯП ХС-18 и штаммов ХС-17, КС-3-86 [13], полученных из государственной коллекции микроорганизмов при ГНЦ ВБ «Вектор», проводили параллельно на лабораторной популяции гусениц. Биологическую активность штаммов оценивали путем определения величины ЛД<sub>50</sub> — дозы вируса (полиэдров на



Филогенетическое дерево, построенное для штаммов ВЯП совок рода *Helicoverpa*. Анализ проведен методом объединения ближайших соседей с использованием двухпараметрической модели Кимуры. Приведены оригинальные названия штаммов, депонированных в GenBank.

гусеницу), вызывающей гибель 50% инфицированных насекомых II возрастной стадии.

Для определения вирулентности ВЯП ХС-18 против различных возрастных групп личинок биопробы испытывали на личинках хлопковой совки III, IV и V возрастных стадий. Исследовали 4 концентрации вируса штамма ХС-18, полученные путем последовательных разведений, —  $4,3 \cdot 10^8$ ;  $4,3 \cdot 10^7$ ;  $2,2 \cdot 10^7$ ;  $2,2 \cdot 10^6$  полиэдров на 1 мл. Эксперимент проводили в трех повторностях. На одну пробу в каждой повторности в среднем использовали 240 гусениц. Для этого в чашки Петри диаметром 40 мм помещали маленький кусочек искусственной питательной среды (ИПС) массой  $70 \pm 10$  мг и с помощью пипетки наносили на него  $10 \pm 1$  мкл вирусной суспензии соответствующего разведения. Затем в эти чашки рассаживали гусениц ХС. Через 1 сут гусеницам подкладывали кусочки неинфицированной ИПС массой  $450 \pm 50$  мг. Личинок культивировали в контролируемых условиях с фотопериодом 16 ч света и 8 ч темноты при  $25 \pm 1$  °C и относительной влажности 70%. Учет смертности (в процентах) проводили ежедневно с 3-го по 10-й день после инфицирования. Определение ЛВ<sub>50</sub> — времени, в течение которого погибают 50% насекомых, и ЛД<sub>50</sub> — дозы вируса, вызывающей 50% гибель насекомых, проводили с помощью пробит-анализа.

Для филогенетического анализа полноразмерных последовательностей из базы данных GenBank были по-

Таблица 1

Сравнительные данные о биологической активности штаммов

Штамм	Биологическая активность, ЛД <sub>50</sub> *, полиэдров на 1 гусеницу
ХС-18 ВЯП ХС	$(1,5—3,0) \cdot 10^1$
ХС-17 ВЯП ХС	$(2,5—5,5) \cdot 10^1$
КС-3-86	$(2,3—7,0) \cdot 10^4$
HearSNPV-G4**	$(0,5—8,0) \cdot 10^2$

Примечание. \* ЛД<sub>50</sub> — количество полиэдров, после поедания которых погибли 50% съевших их насекомых II возрастной стадии; \*\* — данные из [18].

лучены известные на данный момент геномы ВЯП рода *Helicoverpa*. Затем они были выровнены в оболочке Unipro UGENE 1.23 [14] алгоритмом MAFFT [15], после чего проводили филогенетический анализ методом максимального правдоподобия PhyML [16] с использованием алгоритма TN93 [17] с поиском параметров G (степень гетерогенности) и I (пропорция постоянных сайтов) и типом оптимизации дерева SRT&NNI.

### Результаты

Определена полная геномная последовательность ВЯП штамма ХС-18 (GenBank № KJ004000.1), изолированного с помощью 5 слепых пассажей на личинках ХС *H. armigera*. Вирусную ДНК извлекали из гомогената личинок с использованием магнитных сфер со специфическими праймерами. Извлеченные ДНК секвенировали с применением секвенатора NGS Ion Torrent («Life Technologies»). Сборку последовательности выполняли картированием на наиболее близкую известную референсную последовательность — ВЯП АХС штамма Элькар с использованием программного обеспечения TMAP 4.0 со средним покрытием 41x без пропусков и средней длиной чтения 146 нуклеотидов. Длина ВЯП ХС-18 генома составила 130 890 пар оснований с содержанием С + G 39,08%.

На основании анализа полной нуклеотидной последовательности было построено филогенетическое дерево (см. рисунок) для различных штаммов ВЯП совок рода *Helicoverpa*. Штамм ХС-18 обозначен в рамке.

Данные для сравнения биологической активности известных штаммов ХС-17, КС-3-86, эталонного штамма HearSNPV-G4 и штамма ХС-18 приведены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что выделенный новый штамм ХС-18 патогенен для гусениц ХС, причем его активность превышает активность известных штаммов КС-3-86 и ВЯП ХС (штамм ХС-17).

Результаты изучения процента гибели гусениц III, IV и V возрастов при инфицировании их различными дозами вируса (табл. 2) показывают, что среди гусениц III и IV возрастов все испытанные дозы приводят к гибели более 90%. При этом гусеницы V возраста значительно устойчивее к действию вируса, чем гусеницы средних возрастов.

ЛВ<sub>50</sub> для гусениц III, IV и V возрастов представлены в табл. 3.

Из полученных данных видно, что для всех возрастов увеличение дозы инфицирования приводит к сокращению ЛВ<sub>50</sub> (см. табл. 3). Для гусениц III и IV возрастов увеличение дозы в 200 раз приводило к сокращению ЛВ<sub>50</sub> на 20%, а для гусениц V возраста это сокращение достигало почти 40%.

Было проведено сравнение показателей для штамма ХС-18 (ЛВ<sub>50</sub>) для III, IV и V возрастов с аналогичными показателями эталонного штамма HearSNPV-G4 [18]. Результаты сравнения приведены в табл. 4.

Сравнение данных о ЛВ<sub>50</sub> (см. табл. 4) показало, что

Таблица 2

Гибель на 10-е сутки после заражения личинок ХС III, IV и V возрастов ВЯП ХС-18

Доза инфицирования, полиэдров на 1 гусеницу	Погибшие личинки, %		
	III возраста	IV возраста	V возраста
$4,3 \cdot 10^6$	100	100	82
$4,3 \cdot 10^5$	100	100	72
$2,2 \cdot 10^5$	100	99	61
$2,2 \cdot 10^4$	99	95	49

Таблица 3

**ЛВ<sub>50</sub> для ВЯП ХС-18 против личинок ХС III, IV и V возрастов**

Доза инфицирования, полиэдров на 1 гусеницу	ЛВ <sub>50</sub> личинок, ч		
	III возраста	IV возраста	V возраста
4,3•10 <sup>6</sup>	98,4	112,8	156
4,3•10 <sup>5</sup>	120	124,8	184,8
2,2•10 <sup>5</sup>	126	129,6	200,88
2,2•10 <sup>4</sup>	132	136,8	249,6

Таблица 4

**Сравнительные данные об активности (ЛВ<sub>50</sub>\*) ВЯП ХС штаммов ХС-18 и эталонного HearSNPV-G4\*\***

Возраст личинок ХС	Штамм вируса	Доза инфицирования, полиэдров на 1 гусеницу	Общий процент погибших при указанной концентрации вируса	ЛВ <sub>50</sub> , ч
III	HearSNPV-G4	3,6•10 <sup>5</sup>	87	156,0 ± 2,6
	ХС-18 ВЯП	2,2•10 <sup>4</sup>	99	132,0 ± 5,1
IV	HearSNPV-G4	1,2•10 <sup>6</sup>	85	156,8 ± 3,1
	ХС-18 ВЯП	2,2•10 <sup>4</sup>	95	136,8 ± 3,1
V	HearSNPV-G4	1,4•10 <sup>7</sup>	85	163,0 ± 3,6
	ХС-18 ВЯП	4,3•10 <sup>6</sup>	82	156,0 ± 6,8

Примечание. \* ЛВ<sub>50</sub> — время после заражения, в течение которого погибают 50% инфицированных насекомых данной возрастной стадии; \*\* — данные из [18].

штамм ХС-18 превосходит эталонный штамм HearSNPV-G4 по данному показателю, особенно для гусениц III и IV возрастов, против которых в случае недостаточной оперативности обычно и применяют инсектициды.

**Обсуждение**

Основным отличием генома ХС-18 от штамма Элькар ВЯП является наличие повтора из 18 пар оснований внутри рамки считывания гена *RING-finger*, что подтверждает высокую изменчивость этого региона [19]. Три другие нуклеотидные вставки и обнаруженные 7 замен оснований наблюдались ранее, 6 замен оснований ранее не встречались. Мутации расположены в генах *ORF42*, *lef-9*, *ORF58*, *VP39*, *PIF-4*, *P48*, *SOD*, *ORF111*, *ORF129* и *ORF138*. Среди всех нуклеотидных замещений только одна является синонимичной, что свидетельствует о присутствии некоторого селективного давления на вирус.

Данные, полученные при секвенировании, показали, что штамм ХС-18 ВЯП ХС принадлежит к виду *H. zea*. Его оригинальная геномная последовательность депонирована в GenBank № KJ004000.

По биологической активности адаптированный штамм ХС-18 превосходит все ранее созданные в России варианты ВЯП в отношении ХС. Гусеницы ХС III и IV возрастов при заражении их штаммом ХС-18 гибнут значительно быстрее, чем при заражении эталонным штаммом HearSNPV-G4.

Полученный штамм ХС-18 рекомендован в качестве биоинсектицида для контроля численности ХС на полях хлопчатника.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1—11, 14—19 см. REFERENCES)**

12. Кошелев Ю.А., Рыжиков Г.А., Репин В.Е., Колосов А.В. *Штамм вируса ядерного полиэдроза хлопковой совки Helicoverpa armigera Hbn., используемый для получения инсектицидного препарата*. Патент РФ № 2359031; 2007.  
 13. Божко Н.А., Горбунова Е.Е., Петрова И.Д., Караваев В.С., Колосов А.В. *Штамм вируса ядерного полиэдроза капустной совки, используемый для получения инсектицидов*. Патент РФ № 2153258; 1999.

**REFERENCES**

1. Ardisson-Araújo D.M.P., Sosa-Gomez D.R., Melo F.L., Bao S.N., Ribeiro V.M. Characterization of *Helicoverpa zea* single nucleopolyhedrovirus isolated in Brazil during the first old world bollworm (*Noctuidae: Helicoverpa armigera*) nationwide outbreak. *Virus Reviews & Research*. 2015; 20: 1–4.  
 2. Blissard G.W., Rohrmann G.F. Baculovirus diversity and molecular biology. *Annu. Rev. Entomol.* 1990; 35: 127–55.  
 3. Jacques R.P. Persistence, accumulation and denaturation of Nuclear polyhedrosis and granulosis viruses. In: Summers M.D., Engler R., Falcon L.A., Vail P.V., eds. *Baculoviruses for insect pest control: safety considerations*. Washington, DC: American Society of Microbiology; 1975: 90–9.  
 4. Management Gmb. Available at: [http://slrecord.typepad.com/the\\_second\\_life\\_record/2015/01/management-gmb.html](http://slrecord.typepad.com/the_second_life_record/2015/01/management-gmb.html) (accessed 14 July 2016).  
 5. Andermatt Biocontrol: Products. Available at: <http://www.export.bio-control.ch/sites/products.html> (accessed 20 June 2016).  
 6. USDA Forest Service — Forest Health Protection Pesticide Viral Products. Available at: <http://www.fs.fed.us/foresthealth/pesticide/virus-products.shtml> (accessed 22 June 2016).  
 7. Pest Management Queensland: ViVus Max. Available at: <http://www.agbitech.com/au/home/products/vivus-max.aspx> (accessed 4 July 2016).  
 8. Bio-Pesticides Introduction: Agri Life. Available at: <http://www.agrilife.in/biopesticides.htm> (accessed 23 June 2016).  
 9. Chen X., Zhang W.J., Wong J., Chun G., Lu A., McCutchen B.F. et al. Comparative analysis of the complete genome sequences of *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* single-nucleocapsid nucleopolyhedroviruses. *J. Gen. Virol.* 2002; 83(Pt 3): 673–84.  
 10. Ignoffo C.M. The nuclear-polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (boddie) and *Heliothis virescens* (fabricius). *J. Invertebr. Pathol.* 1965; 7(3): 315–19.  
 11. Ferrelli M.L., Taibo C., Fichetti P., Sciocco-Cap A., Arneodo J.D. Characterization of a new *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus variant causing epizootic on a previously unreported host, *Helicoverpa gelatopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Invertebr. Pathol.* 2016; 138: 89–93.  
 12. Koshelev Yu.A., Ryzhikov G.A., Repin V.E., Kolosov A.V. *The strain of Helicoverpa armigera nuclear polyhedrosis virus used to produce the insecticide*. Patent RF N 2359031; 2007. (in Russian)  
 13. Bozhko N.A., Gorbunova E.E., Petrova I.D., Karavaev V.S., Kolosov A.V. *The strain of Mamestra brassicae nuclear polyhedrosis virus used to produce insecticides*. Patent RF N 2153258; 1999. (in Russian)  
 14. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012; 28(8): 1166–67.  
 15. Katoh K., Standley D.M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(4): 772–80.  
 16. Guindon S., Dufayard J.-F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., Gascuel O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 2010; 59(3): 307–21.  
 17. Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 1993; 10(3): 512–26.  
 18. Arrizubieta M., Williams T., Caballero P., Simón O. Selection of a nucleopolyhedrovirus isolate from *Helicoverpa armigera* as the basis for a biological insecticide. *Pest Manag. Sci.* 2014; 70(6): 967–76.  
 19. Le T.H., Wu T., Robertson A., Bulach D., Cowan P., Goodge K. et al. Genetically variable triplet repeats in a RING-finger ORF of *Helicoverpa* species baculoviruses. *Virus Res.* 1997; 49(1): 67–77.

Поступила 15.09.16

Принята в печать 11.10.16