

棉铃虫 (*Heliothis spp*) 核型多角体病毒
四个分离株的比较研究

孙修炼 张光裕

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430071)

S476.13

A 提要 本文从形态结构、生物活性、结构多肽、核酸限制性内切酶图谱和核酸同源性等方面对棉铃虫核型多角体病毒四个分离株(两个 SNPV 分离株, HaS, H₂S, 和两个 MNPV 分离株, HaM₁, HaM₂)进行了比较研究。它们对中国棉铃虫二龄末三龄初幼虫的 LD₅₀ 值依次为 361, 387, 2633, 3560 PIBs/克饲料, 当感染剂量为 5×10² PIBs/克饲料时, 其 LT₅₀ 值依次为 4.6, 4.9, 6.4 和 6.6 天。两个 SNPV 分离株的生物活性显著高于两个 MNPV 分离株。经 SDS-PAGE 分析, 四个分离株多角体蛋白均为一条带, 两个 MNPV 分离株结构多肽均具有相同的迁移率, 两个 SNPV 分离株的结构多肽图谱也颇相似, 但 SNPV 与 MNPV 分离株之间带型相差较大, 各分离株基因组经 BamHI, EcoRI, Hind III 和 Xba I 消化后, 得到的内切酶图谱表现为两个 MNPV 分离株一致, 两个 SNPV 分离株也很相似, 而 SNPV 与 MNPV 分离株之间相差很大。严格条件杂交结果表明, 两个 SNPV 分离株的基因组有较高的同源性, 而 SNPV 与 MNPV 基因组之间的同源性极低。

关键词 棉铃虫核型多角体病毒, 生物活性, 结构多肽, 核酸内切酶图谱, 核酸同源性

实夜蛾属 (*Heliothis*) 害虫是一类能够危害多种农作物的世界性害虫, 也是我国农业上的主要害虫。世界上第一个病毒杀虫剂——美洲棉铃虫 (*H. Zea*) 核型多角体病毒杀虫剂的研究成功, 极大地推动了我国棉铃虫核型多角体病毒的研究与开发, 现已发展为我国第一个商品病毒杀虫剂^[1], 大面积应用于防治棉花、烟叶、辣椒和蕃茄上的棉铃虫和烟青虫^[2,3]。

棉铃虫核型多角体病毒依据病毒粒子含核衣壳的多少在形态学上可分为单核衣壳型 (SNPV) 和多核衣壳型 (MNPV), 并有许多不同的地理分离株。它们的生物学和生物化学特性各异, 生物活性相差几十倍^[4]。国内一些学者就几个分离株从生物活性^[5,6]、多角体蛋白特性^[7]、血清学^[8,9]、核酸内切酶图谱^[10,11] 等方面分别作过一些报道。为了比较全面、系统地认识这一类病毒, 筛选高活性分离株, 并为其作为生物杀虫剂的标准提供依据, 我们从形态结构、生物活性、多角体蛋白和病毒粒子结构蛋白、核酸内切酶图谱、核酸同源性等方面, 就国内外收集到的四个分离株(两个 SNPV 和两个 MNPV 分离株)进行了比较研究。

材料和方法

1 病毒分离株

中国棉铃虫 (*H. virescens*) SNPV 分离株系本所分离, 简称 HaS; 美洲棉铃虫 SNPV 分离株由加拿大森林害虫防治研究所惠赠, 简称 H₂S; 两个中国棉铃虫 MNPV 分离株分离由湖北省荆州地区微生物所和江苏省灌云县植

保站提供,分别简称 HaM₁ 和 HaM₂。

2 多角体的纯化和电镜观察

各病毒材料分别感染中国棉铃虫健康幼虫,收集典型病死虫匀浆,差异离心数次后,加 SDS 至终浓度 1%,37℃处理 0.5hr,30%~60%蔗糖梯度 3000r/m 离心 1hr,收集多角体带,蒸馏水洗两次,用 TE(pH7.4)配成 50mg/ml 悬液。

多角体悬液直接滴于铜网或经碱解液[0.1mol/L Na₂CO₃,0.17mol/L NaCl,0.001mol/L EDTA,(pH11.0)](F同)碱解 5~20 分钟后制样,PTA 负染,HITACHI H-7000FA 透射电镜下观察并照相。

3 各分离株的毒力测定

由湖北省天门市蒋湖农场微生物所提供中国棉铃虫虫卵,表面消毒后,于 28±1℃孵化,长至二龄末三龄初,平均体重 15.1±3.5mg,供生物测定用。

将 1 克人工饲料^[12]立方块置入养虫瓶中,每瓶滴入多角体悬液 50μl,移入供试幼虫一头,每个剂量 50 头,另设一组无病毒对照。共设 5×10⁴、1.65×10⁴、5×10³、1.65×10³、5×10²、1.65×10²、5×10¹PIBs/克饲料七个不同感染剂量。感染后第三天起检查病毒感染死亡数,第 10 天结束试验。重复测定三次。死亡率在 15%~85% 之间的处理作数理统计。按 Finney^[13]的方法计算各分离株的 LD₅₀、LD₉₅、LD₁₀、LD₀₁ 及其 95% 置信限。各分离株 5×10⁴PIBs/克饲料这一剂量的逐天累计死亡率,转化为机率值后对时间对数值按最小二乘插值法通过微机作图,求出各分离株的 LT₅₀。

4 多角体蛋白及病毒粒子结构多肽的 SDS-PAGE

多角体蛋白提纯:多角体悬液 70℃保温 2hr,加入等体积碱解液,冰浴作用 10min,稀醋酸调至 pH7.8 20000g 4℃离心 30min,上清液过 1.5×40cm Sepharose 6B 层析柱,0.01mol/L 硼酸缓冲液(pH8.9)洗脱,XZ-85-1 型核酸蛋白检测仪监测,收集第二峰。

病毒粒子的提纯:多角体悬液加等体积碱解液于 10℃作用 15~20min,0.5mol/L 乙酸调至 pH8.0,4000g 离心 10min 去除未碱解物,上清液 60000g 离心 30min,沉淀悬浮于 TE(pH7.8),20%~60%蔗糖线性梯度 60000g 离心 1.5hr,收集白色病毒粒子带,TE(pH7.8)洗 2~3 次。

SDS-PAGE 分析:采用 Laemmli(1970)非连续系统^[14]。各样品上样前 100℃处理 3 min,电极缓冲液为 Tris-甘氨酸,恒压 100V。

5 基因组 DNA 的提取及限制性内切酶分析

纯净的多角体悬浮于 TE(pH8.0),加等体积碱解液处理 30~60min,0.1mol/L Tris·HCl(pH8.0)饱和酚抽提一次,水相用上述酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)及氯仿:异戊醇(24:1)各抽提一次后,对 0.01mol/L Tris·HCl(pH8.0)透析两天。

限制性内切酶、酶切缓冲液购自华美生物工程公司(SABC)。酶切、电泳参照文献^[15]方法进行。琼脂糖凝胶浓度 0.7%,电极缓冲液 0.5×TBE(pH8.3)。

6 DNA 同源性检测

缺口翻译 Kit 及 [α-³²P]dCTP 购自 promega 公司,X-光片为富士公司产品。HaSNPV DNA 按 Kit 说明书标记后,与 NC 膜上的各分离株 DNA/Hind III 片段在严格条件下(50%甲酰胺,42℃)杂交 36hr。杂交及放射自显影方法参照文献^[15]。

结 果

1 各分离株多角体及病毒粒子的形态结构

四个分离株多角体在透射电镜下均为不规则多边形或卵圆形颗粒。HaS 多角体直径 0.46~1.82μm,平均 1.08μm;HaS 多角体直径 0.38~1.22μm,平均 0.76μm;HaM₁ 和 HaM₂ 多角体直径分别为 0.44~2.64μm,平均 1.05μm 和 0.53~3.01μm,平均 1.30μm。

多角体碱解 5~10 分钟后制样电镜观察,可见多角体膜内留存许多病毒粒子(图 1)。HaS、HzS、HaM₁ 和 HaM₂ 每个多角体平均包含病毒粒子数分别为 49 个,29 个,41 个和 38 个。

碱解 20min 后,多角体完全溶解,释放出大量的病毒粒子。HaS 和 HzS 病毒粒子均为杆状,两端钝圆,大小分别为 340×79nm 和 371×68nm,两者一端均有帽状突起。HaM₁ 和 HaM₂ 病毒粒子均为短杆状,两端平截,长度都较均一,宽度都有较大差异。它们的大小分别为 345×68~126nm 和 365×64~135nm。经进一步碱解后,囊膜破裂,释放出一至多个核衣壳。



图 1 经碱解的各分离株的多角体及其包含的病毒粒子(×12000)

Fig. 1 Inclusion bodies of 4 *Heliothis* NPV isolates exposed to dilute alkali and the virus particles (×12000)

A. HaS B. HzS C. HaM₁ D. HaM₂

2 各分离株生物活性测定的结果

四个分离株分别感染中国棉铃虫幼虫,感染剂量对数值与死亡率机率值的回归方程分别为:

$$\text{HaS: } y = 2.7153 + 0.893x; \quad \text{HzS: } y = 2.0604 + 1.136x;$$

$$\text{HaM}_1: y = 1.3400 + 1.070x; \quad \text{HaM}_2: y = 0.9626 + 1.137x;$$

它们对应的函数图像见图 2。各分离株使中国棉铃虫幼虫死亡率达到 30%、50%、70% 和 90% 所需剂量及其 95% 置信限列于表 1。

经测验,SNPV 两分离株之间及 MNPV 两分离株之间 LD₅₀ 值都没有显著差异,但 SNPV 与

MNPV 分离株之间 LD_{50} 相差 6.8~9.8 倍。

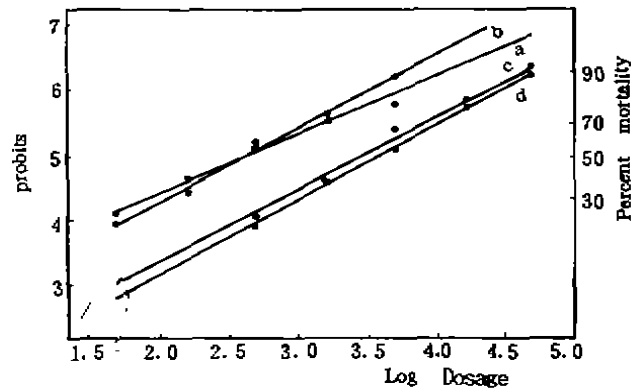


图 2 四个分离株对中国棉铃虫幼虫感染剂量对数值与死亡率机率值的回归曲线

Fig. 2 Regressions of log dosage of 4 *Helicoverpa* NPV isolates on mortality probits of *Helicoverpa armigera* larvae

a. HaS b. HzS c. HaM₁ d. HaM₂

表 1 四个分离株对中国棉铃虫幼虫的 LD_{30} 、 LD_{50} 、 LD_{70} 和 LD_{90} 值及其 95% 置信限 (PIBs/克饲料)

Tab. 1 LD_{30} , LD_{50} , LD_{70} and LD_{90} , with 95% fiducial limits for 4 *Helicoverpa* NPV isolates against *Helicoverpa armigera* larvae (PIBs/g of diet)

分离株 Isolates	LD_{30}	LD_{50}	LD_{70}	LD_{90}
HaS	94 (61-132)*	361 (372-464)	1.397 (1113-1782)	9838 (6921-15289)
HzS	134 (94-176)	387 (310-483)	1122 (916-1415)	5507 (3736-7942)
HaM ₁	852 (587-1150)	2633 (2050-3293)	8137 (6542-10316)	41506 (29888-62820)
HaM ₂	1231 (905-1576)	3560 (2866-4358)	10300 (8343-13113)	47745 (34528-72705)

* 95% 置信限的下限和上限 Lower and upper 95% fiducial limits

当感染剂量为 5×10^3 PIBs/克饲料时,感染时间对数值与累计死亡率对应的机率值经测验无明显线性关系。数据经微机处理后作图(图 3),可得到各分离株对中国棉铃虫幼虫的 LT_{50} 值。HaS、HzS、HaM₁ 和 HaM₂ 的 LT_{50} 值依次为 4.6、4.9、6.4 和 6.6 天。同样,SNPV 两分离株之间及 MNPV 两分离株之间 LT_{50} 值相差很小,而 SNPV 分离株比 MNPV 分离株的 LT_{50} 值短 1.5~2 天。由此可见,两个 SNPV 分离株的毒力明显高于两个 MNPV 分离株。

3 多角体蛋白及病毒粒子结构蛋白的比较

经 70°C 2hr 灭活多角体内源碱性蛋白酶后,四个分离株多角体蛋白经 12% SDS-PAGE 分析,都表现为一条带(图 4)。HaS、HzS、HaM₁ 和 HaM₂ 多角体蛋白分子量依次为 28750kD、28500kD、29500kD 和 29500kD。

四个分离株病毒粒子结构多肽经 12% SDS-PAGE 分析结果见图 5。各组分分子量列表 2。

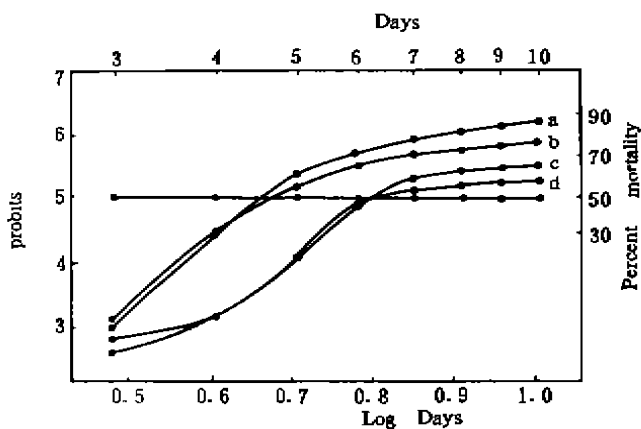


图 3 四个分离株对中国棉铃虫幼虫的感染时间与死亡率机率值的关系曲线

Fig. 3 Time-mortality curves of *Heliothis armigera* larvae to 5×10^8 PIBu/g, diet of 4 *Heliothis* NPV isolates

a. HaS b. HzS C. HaM₁ d. HaM₂

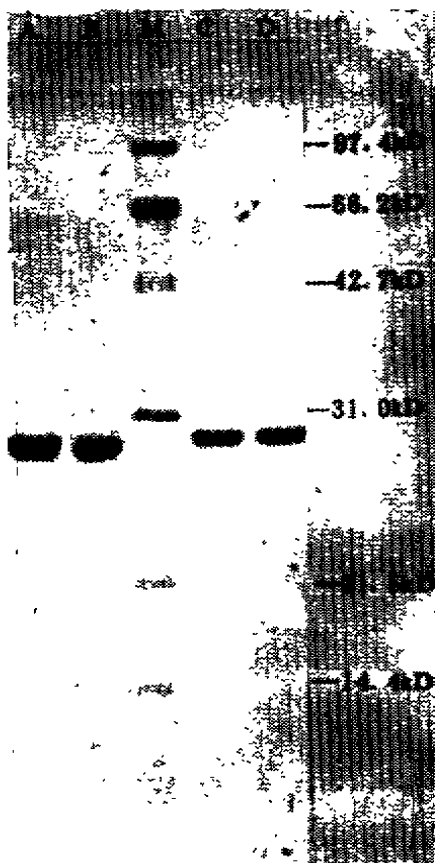


图 4 四个分离株多角体蛋白 SDS-PAGE 分析

Fig. 4 SDS-PAGE of 4 *Heliothis* NPVs polyhedrins

A; HaS B; HzS C; HaM₁ D; HaM₂ M; the standard proteins

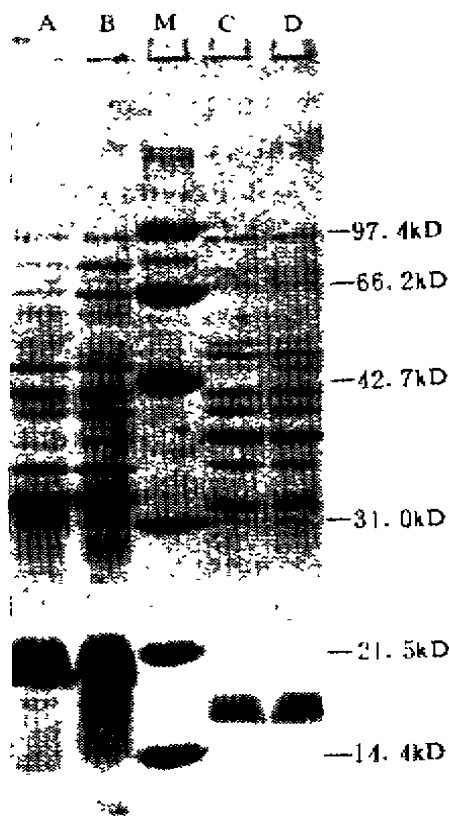


图 5 四个分离株病毒粒子结构多肽的 SDS-PAGE 图谱

A; HaS B; HzS C; HaM₁ D; HaM₂ M; the standard proteins

Fig. 5 SDS-PAGE of 4 *Heliothis* NPVs structural polypeptides.

A; HaS B; HzS C; HaM₁ D; HaM₂ M; the standard proteins

结果表明两个 NMPV 分离株带型完全一样,两个 SNPV 分离株带型也比较类似,特别是几条主要多肽位置几乎都一样,但 SNPV 分离株与 MNPV 分离株带型则相差较大。这说明棉铃虫核型多角体病毒 SNPV 与 MNPV 分离株具有不同的病毒粒子结构多肽组成。

4 限制性内切酶图谱的比较

用 BamH I、EcoR I、Hind III 和 Xba I 分别消化四个分离株 DNA,经 0.7% 琼脂糖凝胶电泳,所得图谱见图 6,各片段的分子量见表 3。两 SNPV 分离株有相似的限制性内切酶图谱,两个 MNPV 分离株的限制性内切酶图谱则完全相同,而 SNPV 与 MNPV 分离株之间几乎没有迁移率相同的限制性酶切片段。可见,棉铃虫核型多角体病毒 SNPV 与 MNPV 分离株的基因结构有较大差异。

5 四个分离株 DNA 同源性的比较

四个分离株 DNA 经 Hind III 酶切、电泳、转膜后与 α - 32 P 标记的 HaS DNA 在 50% 甲酰胺存在时于 42°C 杂交 36 小时,杂交结果见图 7。 α - 32 P 标记的 HaSDNA 不仅能与 HaSDNA 本身完全杂交,而且与 HaSDNA/Hind III 所有片段杂交,但与两个 MNPV 分离株的 DNA/Hind III 片段则无杂交带。这说明两个 SNPV 分离株 DNA 有较高的同源性,而 SNPV 与 MNPV 之间同源性极低。

表 2 四个分离株病毒粒子结构多肽分子量(kD)

Tab. 2 Molecular weight of the structural polypeptides of 4 *Heliothis* NPV Isolates (kD)

多肽编号	N. O	分离株 Isolates		
		HaS	HzS	HaM ₁ , HaM ₂
I		95.0	95.0	93.0
b		80.0	80.0	76.5
c		73.5	67.5	70.5
d		67.5	64.0	66.0
e		62.5	62.5	52.7
f		46.5	49.0	49.0
g		42.0	46.5	46.0
h		41.5	42.0	41.5
i		40.0	40.0	40.0
j		38.0	38.5	37.5
k		37.0	37.5	35.5
l		35.5	35.5	32.5
m		33.0	34.0	31.5
n		32.0	33.0	26.0
o		31.5	31.0	22.5
p		29.5	29.5	18.5
q		27.0	28.5	17.0
r		26.5	26.5	15.5
s		21.0	22.0	14.5
t		18.0	19.0	12.5
u		15.0	18.0	
v		11.5	11.5	

讨 论

Burher 和 Tomoson^[16]指出,不同工作者各自进行的毒力测定结果很难比较。这是由于因虫种、虫龄、测定方法和测定条件的不同而结果有很大的变化。本实验对四个 *Heliothis* NPV 分离株进行同步测定,能够比较真实地反映出各分离株的毒力差别。

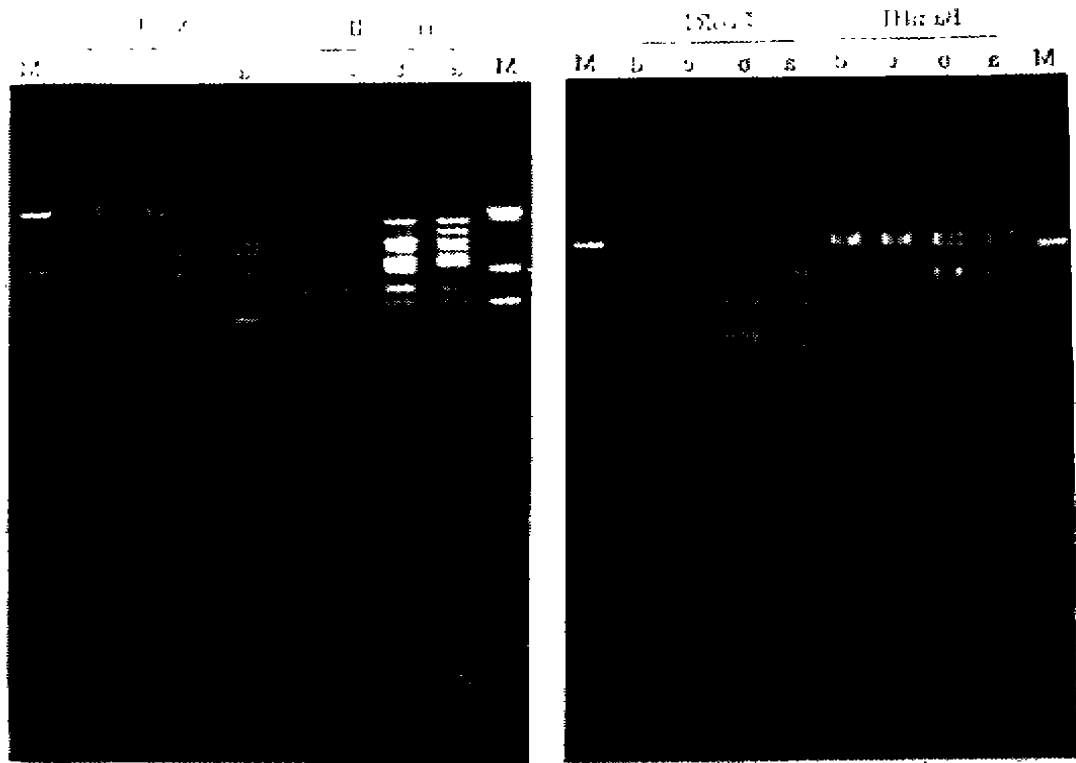


图6 四个分离株DNA的限制性内切酶图谱

Fig. 6 Electropherogram of 4 REN digestion fragments of 4 *Heliothis* NPV DNAs

a: HzS b: HzS c: HaM₁ D: HaM₂ M: ϕ DNA/Hind III

Hughes 等^[18]认为, *Heliothis* NPV 分离株中具有相同酶切位点的分离株 LT_{50} 相同或相关很小, 有几个不同酶切位点的分离株 LT_{50} 也有所不同, SNPV 分离株的 LT_{50} 值显著低于 MNPV 分离株。本实验中具有相同酶切位点的两个 MNPV 分离株无论 LD_{50} 还是 LT_{50} 都无明显差异。而两个 SNPV 分离株对四种内切酶都有几个不同的酶切位点, 它们的 LD_{50} 及 LT_{50} 值差异并不明显, 但它们的感染剂量对数值与死亡率的机率值的回归斜率却有所不同, 有待于测定更多的分离株来明确这种关系。我们的实验结果也表现为 SNPV 比 MNPV 分离株的毒力高, 这一现象的本质有待于更深入的研究。

表3 四个分离株 DNA 酶切片段的分子量($\times 10^6$ D)Tab. 3 The molecular weight of REN digestion fragments of 4 *Helicoverpa* NPV DNAs ($\times 10^6$ D)

分子量 M. W 片段 Fragments	DNA											
	HaS DNA				HzS DNA				HaM ₁ ,HuM ₂ DNA			
	BamH I	EcoR I	Hind III	Xba I	BamH I	EcoR I	Hind III	Xba I	BamH I	EcoR I	Hind III	Xba I
a	19.5	10.2	14.2	10.4	19.5	9.8	14.2	10.4	21.1	14.4	12.2	18.4
b	18.8	9.4	11.8	9.2	18.8	7.4	9.9	9.2	19.5	11.8	11.0	14.9
c	10.5	6.8	9.9	8.3	10.5	6.2	8.7	8.3	19.5	10.1	7.9	12.2
d	10.2	5.6	8.7	7.3	10.2	6.2	7.3	7.3	12.1	10.1	5.6	8.1
e	9.3	4.1	7.1	6.3	9.3	5.5	7.1	6.3	9.3	8.0	5.6	6.6
f	5.0	4.1	6.8	5.8	5.0	4.6	6.6	5.8	5.9	8.0	5.2	6.6
g	2.55	3.7	6.6	4.7	2.43	4.1	6.3	4.7	2.89	7.6	4.8	5.8
h	2.46	3.7	6.4	3.9	1.07	4.1	5.8	3.9	1.16	7.6	4.8	5.1
i	1.09	3.7	4.8	3.8	0.63	3.8	4.7	3.9	0.94	5.5	4.5	4.9
j	0.63	2.61	4.2	3.8		3.8	4.7	3.5	0.51	4.3	4.5	4.1
k		2.52	2.1	3.5		2.67	4.7	3.5		3.4	3.8	3.6
l		2.01	1.59	2.52		2.35	1.98	2.52		2.87	3.5	2.55
m		1.99	0.93	2.01		2.35	1.61	2.01		1.90	3.3	2.14
n		1.32		1.99		1.96	1.14	1.99		1.17	3.2	0.52
o		1.21		1.32		1.59	0.92	1.32		0.87	3.0	0.47
p		1.02		1.21		1.42		1.21		0.74	2.55	
q		0.66		1.02		1.06		1.02		0.48	1.75	
r		0.45		0.66		0.65		0.66			1.67	
s		0.41		0.45		0.49		0.45			1.59	
t				0.41				0.41			1.05	
u											0.64	
v											0.50	
总和 Total	80.03	70.34	85.03	78.64	79.86	70.04	85.25	78.39	92.9	98.83	93.14	95.51
平均分子量 Average M. W.		79				79				95		

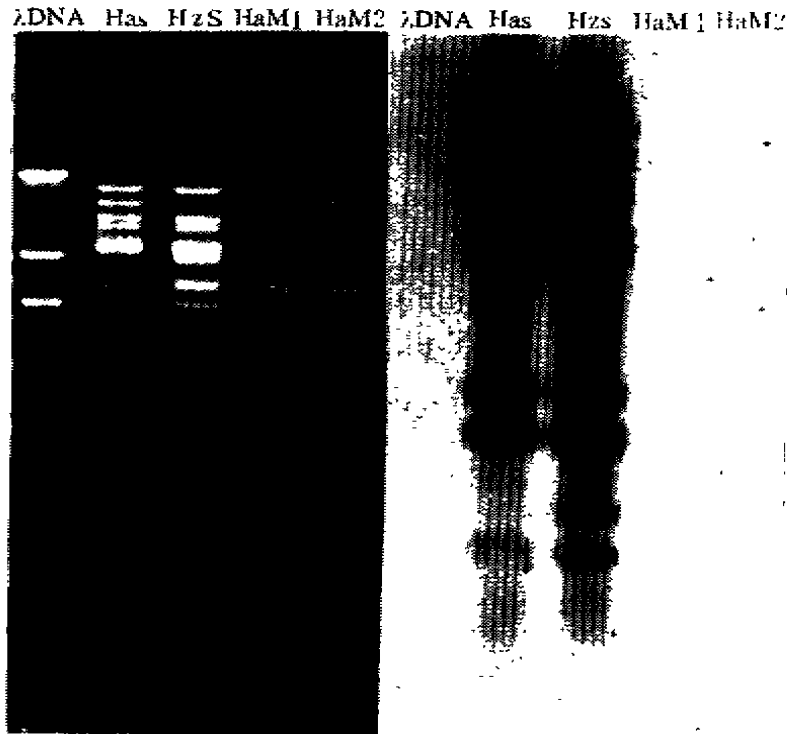


图7 四个分离株 DNA/Hind III 片段转膜后与 α - 32 P 标记 HaSDNA 杂交的结果

Fig. 7 Hybridization of 32 P-labelled HaS DNA to 4 *Heliothis* NPVs DNA/Hind III

参 考 文 献

- 1 Zhang Guanyu. Commercial viral insecticide—*Heliothis armigera* viral insecticide in China. *The IPM Practitioner*, 1989, 11(6): 13
- 2 张光裕, 王锋, 白传珍, 等. 我国第一个商品病毒杀虫剂——棉铃虫病毒杀虫剂的应用. *杀虫微生物*, 1992, 3: 254—255
- 3 张光裕, 刘毅化, 王锋, 等. 使用棉铃虫病毒杀虫剂防治辣椒烟青虫. *中国蔬菜*, 1992, 6: 19—20
- 4 Shapiro M, Ignoffo C M. Nucleopolyhedr Osis of *Heliothis*, activity of isolates from *Heliothis zea*. *J Invertebr Pathol*, 1970, 16: 107—111
- 5 张光裕, 周春莲, 张友清. 棉铃虫核多角体病毒的生物活性的测定. *植物保护学报*, 1982, 9(3): 193—197
- 6 蔡秀玉, 丁翠, 王牧牧. 棉铃虫核型多角体病毒新毒株的分离及其毒力的研究. *动物学集刊*, 1986, 4: 31—36
- 7 吴柏春. 中国棉铃虫核型多角体病毒 VHA273 毒株多角体蛋白某些理化特性的研究. *病毒学杂志*, 1990, 3: 274—299
- 8 张光裕, 黄文林, 朱必存, 等. 棉铃虫核型多角体病毒的血清学性质. *微生物学报*, 1985, 25(3): 262—269
- 9 吴柏春. 中国棉铃虫核型多角体病毒 VHA273 毒株血清学性质的研究. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 1990, 24(2): 188—194
- 10 黄解于, 朱国凯, 任德新, 等. 棉铃虫核多角体病毒新毒株 DNA 的限制性内切酶酶解图谱. *自然杂志*, 1985, 9(3): 239—240
- 11 李敏棠, 忻纪厚, 李载平, 等. 棉铃虫核多角体病毒 DNA 的限制性内切酶酶解图谱和电镜观察. *昆虫学报*, 1986, 29(2): 121—125
- 12 张光裕, 张友清, 葛路等. 棉铃虫(*Heliothis armigera*)的饲养及其多角体病毒的增殖. *病毒学集刊*, 1983, 3: 113—120

- 13 Finney D J. Probit Analysis. 3rd ed. London: Cambridge Univ. Press, 1973
- 14 Leammli U K. Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage ϕ . Nature(London), 1970, 227, 680—685
- 15 Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning, 2nd ed. CHS Press, 1989
- 16 Burgers H D, Tomoson E M. Microbial Control of Insects and Mites. Academia Press, 1971
- 17 Summers H D, Smith G E. Baculovirus structural polypeptides. Virology, 1978, 84, 390—402
- 18 Hughes P R, Wood H A. Comparison of the Time-Mortality response of *Heliothis zea* to 14 *Heliothis* Nuclear Polyhedrosis Viruses. J. Invertebr. Pathol, 1981, 154—159
- 19 Franki R I B, Frauquet C M, Knudson D L. *et al.* Classification and nomenclature of viruses. Archives of Virol, 1991, Sup 2, 117—123

A Comparison of Four Wild Isolates of *Heliothis* Nuclear Polyhedrosis Virus

Sun Xiulian Zhang Guanyu

(Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan 430071)

Four *Heliothis* NPV isolates (two SNPV: HaS and HzS; two MNPVs: HaM₁ and HaM₂) were compared on the shape and structure, biological activity, structural polypeptide, restriction pattern and DNA homology. The LD₅₀ values of the four isolates for late second to early third instar *H. armigera* larvae were 361, 387, 2633 and 3560 PIBs/g of diet; the LT₅₀ value for 5 × 10⁹ PIBs/g of diet were 4.6, 4.9, 6.4 and 6.6 days respectively. Bioactivities of two SNPV isolates were higher than that of two MNPV isolates. Assayed by SDS-PAGE, each polyhedrin of four isolates contained a single polypeptide. The structural polypeptides of HaM₁ and HaM₂ comigrated on SDS-gels, the structural polypeptide maps of HaS and HzS were similar, but there were little similarity between SNPV and MNPV structural polypeptides. Digested by BamHI, EcoRI, Hind III and XbaI, two MNPV genomes had identical restriction patterns, and two SNPV genomes had similar fragmentation profiles, showing only slight difference in the number and size of several fragments. But SNPV and MNPV genomes had little similarity in their fragmentation profiles. Detected by Southern blot hybridizations at the stringent condition, HaS genome had apperent homolgy, with HzS genome and no detectable homology with the MNPV genomes.

Key words: *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus, Bioactivity, Structural-polypeptide, Restriction pattern, DNA homology