

Разработка HybProb молекулярного маркера на аллель *Tsw* для маркер-опосредованной селекции перца сладкого *Capsicum* spp. на платформе Real-Time

Development of the HybProb molecular marker for the *Tsw* allele for marker-assisted selection of sweet pepper *Capsicum* spp. on the real-time PCR platform

Будылин М.В., Верба В.М.

Аннотация

Одним из условий создания современного высокотехнологичного гибрида сладкого перца является наличие в нём устойчивости к вирусу бронзовости (TSWV). Данный вирус относится к роду *Orthotospovirus* и приводит к большим потерям товарных плодов по всему миру. На сегодняшний день единственным доступным источником устойчивости сладкого перца к некоторым патотипам TSWV (патотип P0) является аллель гена *Tsw*, который был обнаружен в двух образцах вида *Capsicum chinense* L. (PI152225 и PI159236). Растения, несущие аллель *Tsw* показывают устойчивость в полевых условиях, которая обеспечивается механизмом реакции гиперчувствительности. Несмотря на то, что данная аллель не дает устойчивости против ряда патотипов TSWV (объединены в группу патотипов P1), она по-прежнему широко применяется в селекционных программах по всему миру. Однако, до сих пор не существуют эффективных инструментов молекулярной диагностики для ведения селекционных программ на внедрение аллели *Tsw* в генетический фон родительских линий сладкого перца. В статье мы приводим данные о разработке точного и рентабельного молекулярного маркера F195 для маркер-опосредованной селекции сладкого перца, основанного на гибридизационных зондах и платформе real-time PCR. Данная диагностическая система была валидирована на референсных образцах гермплазмы из международных генетических банков. Валидность маркера подтверждена в независимой лаборатории AgBiotech (США). Также, с помощью данного молекулярного маркера был проведен скрининг селекционного материала разных поколений, выявлены устойчивые линии и на их базе получены гибриды первого поколения, которые прошли испытания в производственных условиях.

Ключевые слова: *Capsicum*, *Tomato spotted wilt orthotospovirus*, ген устойчивости, *Tsw*, SNP, Real-Time PCR.

Для цитирования: Будылин М.В., Верба В.М. Разработка HybProb молекулярного маркера на аллель *Tsw* для маркер-опосредованной селекции перца сладкого *Capsicum* spp. на платформе Real-Time // Картофель и овощи. 2024. №7. С. 32-36. <https://doi.org/10.25630/PAV.2024.96.52.001>

Вирус бронзовости томата (*Tomato spotted wilt orthotospovirus*) относится к роду *Orthotospovirus*, семейству *Tospoviridae*, порядку *Bunyavirales* [1].

TSWV поражает более 900 видов растений, среди которых культурные и сорные растения.

Budylin M.V., Verba V.M.

Abstract

One of the conditions for creating a modern high-tech hybrid of sweet pepper is the presence of resistance to the Tomato spotted wilt virus (PMMoV). This virus belongs to the genus *Orthotospovirus* and leads to large losses of marketable fruits around the world. To date, the only universal source of sweet pepper resistance to some of TSWV pathotypes (pathotype P0) strains is the *Tsw* gene allele, which was found in *Capsicum chinense* L. (PI152225 and PI159236). Plants which contain *Tsw* allele show field resistance supported by hypersensitive reaction mechanism. Many other pathotypes (common named as pathotype P1), which break *Tsw*-resistance, exists, but *Tsw* allele is still used in the breeding programs the wide world over. However, there are still no effective molecular diagnostic tools for conducting breeding programs for the introduction of the *Tsw* allele into the genetic background of parental lines of sweet pepper. Here we report on the development of an accurate and cost-effective molecular marker for marker-assisted selection (MAS) sweet pepper selection based on hybridization probes and a real-time PCR platform. This diagnostic system has been validated on reference germplasm accessions from international genetic banks. The F195 marker's validity has been confirmed by the independent laboratory AgBiotech (USA). Also, using this molecular marker, screening of breeding material of different generations was conducted, stable lines were identified and first-generation hybrids were obtained on their basis, which were tested in production conditions.

Key words: *Capsicum*, *Tomato spotted wilt orthotospovirus*, gene resistance, *Tsw*, SNP, Real-Time PCR.

For citing: Budylin M.V., Verba V.M. Development of the HybProb molecular marker for the *Tsw* allele for marker-assisted selection of sweet pepper *Capsicum* spp. on the real-time PCR platform. Potato and vegetables. 2024. No7. Pp. 32-36. <https://doi.org/10.25630/PAV.2024.96.52.001> (In Russ.).

Поражаемые виды растений-хозяев относятся преимущественно к семействам Пасленовых и Астровых. Среди наиболее распространенных симптомов хлоротические и некротические пятна, круги на листьях и плодах (рис. 1). Остановка роста и развития растения с последующей гибелью.

Потери урожая могут составлять до 100% в защищенном грунте [2].

Впервые вирус бронзовости был зафиксирован на томате в Австралии в 1915 году [3]. В настоящее время тосповирусы зафиксированы на всех обитаемых континентах [4].

Процессу способствовало распространение крайне эффективного вектора-переносчика - западного цветочного трипса (*Frankliniella occidentalis*), а также широкий круг растений-хозяев. Вирус бронзовости переносится 9 видами трипсов (*Frankliniella occidentalis*, *F. fusca*, *F. schultzei*, *F. intonsa*, *F. bispinosa*, *F. cephalica*, *F. gemina*, *Thrips setosus*, *T. tabaci*) [5, 6]. Перенос осуществляется персистентным способом. Природными резервуарами вируса бронзовости служат сорные растения. Они чаще всего не проявляют симптомов заболевания и служат очагами сохранения и распространения вируса. Наиболее важными для распространения вируса являются *Stellaria media*, *Galinsoga parviflora*, *Amaranthus* sp., *Chenopodium* sp., на которых эффективно размножается трипс [2].

В настоящее время научной литературе описаны различные штаммы TSWV отличающиеся симптомами поражения и их интенсивностью, способностью распространяться с помощью трипсов, патологическими особенностями ([7–10]. Вариабельность генома подтверждена методами молекулярной биологии [10].

На данный момент в литературе нет данных о распространении TSWV с семенами. Поэтому использование чистого семенного материала и своевременная борьба с сорными растениями являются первоочередными способами борьбы с распространением вируса. Поскольку различные виды трипсов имеют различные параметры жизненного цикла, то борьба с ними крайне затруднена. Эффективным считается использование трансгенных растений или генов устойчивости, интрогрессированных из дикорастущих видов [2].

Только два доминантных гена устойчивости к вирусу бронзовости используются в коммерческих сортах в настоящее время — *Tsw* (перец) и *Sw-5b* (томат).

Ген *Tsw* был обнаружен в двух образцах вида *Capsicum chinense* — PI152225 и PI159236 [11] и интрогрессирован в культурные сорта перца. Но уже через несколько лет после начала выращивания этих сортов появились штаммы способные поражать устойчивые растения [8, 12–16].

Устойчивость растений с геном *Tsw* обеспечивается через механизм гиперчувствительной реакции (HR). Поэтому в настоящее время все штаммы вируса делят на два патотипа: вызывающие реакцию гиперчувствительности (патотип P0, часто обозначают как TSWV: 0) и поражающие устойчивые растения с геном *Tsw* (патотип P1). Работа механизма гиперчувствительной реакции сильно зависит от факторов внешней среды. Отдельные штаммы вируса бронзовости способны поражать устойчивые растения при температуре выше 28-30 °C [17, 18].

В отличие от аллеля *Sw-5b* (аллель генного кластера *Sw-5*) у томата, который обеспечивает довольно широкую и относительно стабильную устойчивость даже против отдаленных тосповирусов, ген *Tsw* у перца обеспечивает устойчивость только против ряда штаммов вируса бронзовости томата [19].

Штаммы, способные поражать устойчивые растения перца, не поражают томаты с *Sw-5* [20].

Локус *Tsw* был картирован на хромосоме 10 при помощи близко расположенного (0.9 cM) маркера SCAC568 [20]. Позже, для определения более точного расположения гена *Tsw* в одноименном локусе была разработана карта сцепления высокой плотности, основанная на гомологии геномов томата и перца [21]. Тесная связь была обнаружена с маркерами TG420 и TG408. В 2016 году ген *Tsw* был обнаружен в одном локусе с геном *Pvr4* и клонирован (GenBank accession number KT751527) [21].

Однако, несмотря на то что ген *Tsw* был клонирован и хорошо изучен, на данный момент, в открытом доступе нет упоминаний о молекулярном маркере, который мог бы быть использован в MAS для эффективного контроля интрогрессии данного гена в коммерческих F₁ гибридах перца.

Условия, материалы и методы исследований

Растительный материал

Валидация маркерных систем проводилась на селекционном материале, полученном селекционерами селекционно-семеноводческой компании «Гавриш». Статус устойчивых и неустойчивых контролей и линий-дифференциаторов был подтвержден при помощи фенотипического анализа в ходе многократного искусственного заражения штаммом вируса бронзовости томата PV-0393 (DSMZ) на базе Иорданского селекционного центра. Линии *C. chinense* PI152225 и PI159236 (Netherlands Centre of Genetic Resource, CGN) использовали в качестве устойчивого контроля *Tsw/Tsw*. Линии Л-Бутуз и С-1411 («Гавриш») использовали в качестве неустойчивого контроля с *tsw/tsw* в гомозиготном состоянии. Для скрининга использовали селекционные сортопопуляции различных поколений (F₃-F₆ и линии), расщепляющиеся по аллели *Tsw*. До момента анализа отбор проводили только по основным морфологическим признакам без учета состояния аллелей гена *Tsw*.

В каждом селекционном образце тестировали 96 растений. Каждое растение тестировали индивидуально.

Выделение ДНК

ДНК выделяли при помощи усовершенствованных методик (Hong Y et al., 1995, Foissac X. et al., 2001). 0.2 г образца было гомогенизировано с 300 мкл экстракционного буфера (0.4 M LiCl, 25mM

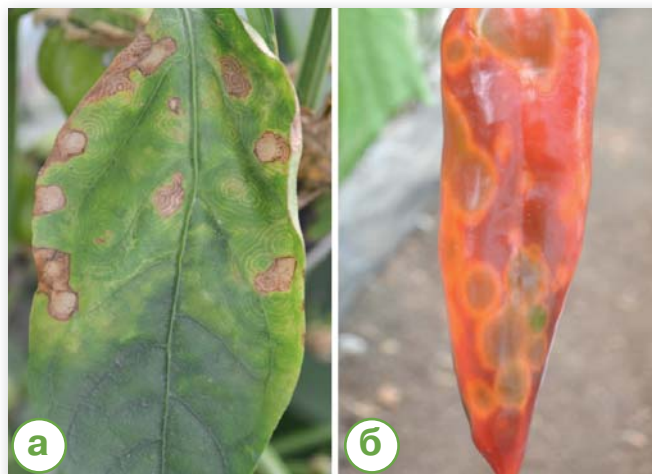


Рис. 1. Симптомы поражения растения перца вирусом TSWV: а) на листовой пластинке; б) на плоде (Крымск, 2024)

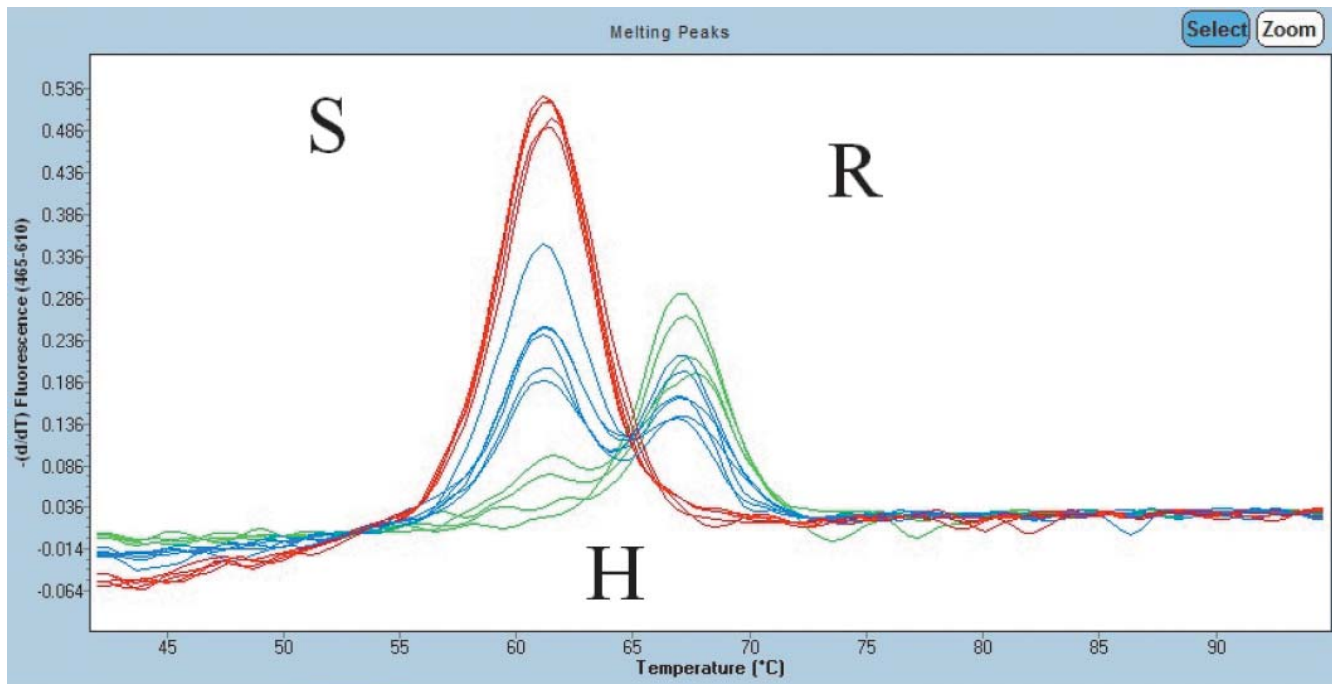


Рис. 2. Melting curve analysis с маркерной системой Fret195 на F₂ поколении *C. annuum*. Пик расплава для аллели *Tsw* располагается на 68 °С (зеленый цвет), пик расплава аллели *tsw* расположен на 62° С (красный цвет), сочетание обоих пиков расплава на 62 °С и 68 °С (синий цвет) соответствует гетерозиготе между аллелями *Tsw/tsw*.

EDTA, 0.2 M Tris-HCL (pH 9), 2.5 % PVP-40) на гомогенизаторе Tissue Lyser II (Qiagen, Germany). Затем следовала очистка хлороформ/изоамилом 24/1 и улавливание ДНК при помощи диоксида кремния (силика) с добавлением этанола и 6M NaI. Потом силику осаждали, промывали 70% спиртом и элюировали ДНК в MQ воду.

Генерация молекулярных маркеров

В силу того, что последовательность гена *Tsw* уже известны и находится в свободном доступе (GenBank accession number KT751527), мы использовали ее как исходные данные для генерации маркерной системы. Сложность создания достаточно чувствительного маркера заключалась в

том, что аллели *Tsw* и *tsw* отличаются между друг другом только количеством LRR постов. В то же время ген *Tsw* расположен в одном и том же локусе вместе с геном *Pvr4*. В результате биоинформатического анализа нам удалось обнаружить несколько SNP мутаций, которые позволяли идентифицировать именно аллель *Tsw* от всех дупликаций, представленных в локусе. В дальнейшем, молекулярные маркеры, созданные на основе этих SNP были подвергнуты валидации на расщепляющей популяции и контролях.

ПЦР амплификация

ПЦР реакционная смесь была рассчитана на 10 мкл 1× буфер, 2 mM MgCl₂, 0.1 mM dNTPs, 0.5

Результаты тестирования маркера F195 на селекционном материале, 2019 год

Название образца	Поколение	Предполагаемое аллельное состояние гена <i>Tsw</i>	Число проанализированных образцов	Результат скрининга, аллельное состояние гена/число растений
<i>Capsicum chinense</i> Jacq. PI152225	Поп.	<i>Tsw/Tsw</i>	96	<i>Tsw/Tsw</i> – 96
<i>Capsicum chinense</i> Jacq. PI159236	Поп.	<i>Tsw/Tsw</i>	96	<i>Tsw/Tsw</i> – 96
Katriona (EZ)	F ₁	<i>Tsw/tsw</i>	96	<i>Tsw/tsw</i> – 96
Л-Бутуз	Лин.	<i>tsw/tsw</i>	–	<i>tsw/tsw</i> – 96
С-1411	Лин.	?	–	<i>tsw/tsw</i> – 96
Э-911	Лин.	?	96	<i>Tsw/Tsw</i> – 94 <i>Tsw/tsw</i> – 2
Э-911 x С-1411	F ₁	<i>Tsw/tsw</i>	–	<i>Tsw/Tsw</i> – 90 <i>Tsw/tsw</i> – 6
GV-8	F ₃	?	2880 (30 семей)	<i>Tsw/Tsw</i> – 757 <i>Tsw/tsw</i> – 1311 <i>tsw/tsw</i> – 812
Burch	F ₃	?	2880 (30 семей)	<i>Tsw/Tsw</i> – 688 <i>Tsw/tsw</i> – 1250 <i>tsw/tsw</i> – 942
Капия	F ₄	?	960 (10 линий)	<i>Tsw/Tsw</i> – 3 <i>Tsw/tsw</i> – 501 <i>tsw/tsw</i> – 456
26-01	F ₅	?	960 (10 линий)	<i>Tsw/Tsw</i> – 10 <i>Tsw/tsw</i> – 280 <i>tsw/tsw</i> – 670

U Taq полимеразы (Fermentas, Waltham, MA, USA) 3–10 μ M праймеров и 10 нг ДНК. Условия реакции были следующие: первичная денатурация 95 °C 5 мин, с последующими 40 циклов 95 °C 10 сек, 62 °C 15 сек, и 72 °C 5 сек. Затем проводилось плавление ПЦР продукта при следующих условиях 95 °C 1 мин, 42 °C 2 с поднятием температуры 0,04 °C / сек, до 95 °C, проводя снятие флуоресценции по 5 раз/°C. Амплификация проводилась на приборе LightCycler 480 II. Обработка результатов проводилась при помощи программного обеспечения LightCycler® 480 SW 1.5.1.

Результаты исследований

В результате этой работы нами был разработан маркер F195 (рис. 2). Результаты его тестирования приведены в **таблице**. Тестирование контролей P1152225, P1159236, F₁ Katriona (EZ), Л-Буруз, С-1411 показало высокую стабильность работы.

Результаты тестирования селекционного материала поколений F₃-F₅ GV-8, Burch, Kapia и 26-01 показывают, что вероятность получить устойчивые линии с гомозиготным состоянием гена *Tsw* не применяя молекулярные маркеры довольно низкие. При отборе в каждом последующем поколении число устойчивых генотипов постепенно снижается, т. е. отбирая растения по основным важным фенотипическим признакам, соответствующим модели гибрида, селекционер неизбежно выбраковывает растения с гомозиготным состоянием аллелей *Tsw/Tsw*. Похожую закономерность мы наблюдали и по другим генам устойчивости. Объяснить это можно тем, что гены устойчивости, которые интрогрессируются из диких видов в культурные сорта, зачастую сцеплены с рядом отрицательных с хозяйственной точки зрения фенотипических признаков. В случае высокой степени гетерозиготности генотипа в целом и гена *Tsw*, в том числе отрицательные признаки частично нивелируются, но при повышении степени гомозиготности их отрицательное влияние на фенотип сказывается все сильнее (низкая урожайность и качество плода, генеративность и др.). В результате устойчивые растения выбраковываются при визуальной оценке. Использование систематического скрининга селекционного материала на каждом этапе отбора позволяет более точно позиционировать каждый генотип и принимать взвешенный компромиссный выбор между устойчивостью и наличием отрицательных признаков. При этом идет отбор относительно визуально лучших растений в группе гомозиготных по гену *Tsw*.

Из приведенных выше результатов видно, что статус устойчивости/восприимчивости, полученный при использовании молекулярного маркера F195 полностью соответствует фенотипическо-

му анализу. Данный маркер подтвердил свою приемлемость для использования в MAS, как надежный инструмент отбора. В силу того, что молекулярный маркер был создан на основе кодирующей последовательности гена *Tsw*, его сцепление с устойчивостью к вирусу бронзовости томата является 100%.

Устойчивые линии, полученные с помощью F195, были проверены на наличие устойчивого аллеля *Tsw* в гомозиготном состоянии в независимой лаборатории AgBiotech (США) в 2021 году.

После предварительного тестирования маркера был проведен массовый скрининг селекционного материала разных поколений, в том числе более 100 линий (данные не приведены). По результатам скрининга были обнаружены линия Э-911 (сортотип Капия) и линия Embergu (сортотип Блочный) с преимущественно гомозиготным состоянием аллелей *Tsw/Tsw* (выше 90%).

На базе этих линий созданы гибриды F₁ с-670 (сортотип Блочный), F₁ с-94 (сортотип Капия) и ряд других, которые в 2019-2021 году проходили испытания в Иорданском селекционном центре (Иорданская долина, Иордания) и в 2019-2023 году в Крымском селекционном центре компании «Гавриш». Эти гибриды рекомендованы для промышленного выращивания в пленочных теплицах Турции и Иордании.

Также в 2019-2020 нами была начата селекционная программа по получению устойчивых линий Венгерского сортотипа (конусовидная форма плода), который занимает наибольшие площади в промышленном овощеводстве. В качестве донора устойчивой аллели *Tsw* был использован гибрид F₁ Спрингбок (Clause). В 2024 году был получен ряд линий, значительная часть которых имеет аллель *Tsw* в гетерозиготном состоянии и одну линию с гомозиготным состоянием F6 (Спрингбок x Сноувайт)-137.

Выводы

В результате был разработан надежный инструмент молекулярной диагностики для использования в MAS. Маркер F195 был успешно валидирован на контрольных образцах и внедрен в селекционную программу перца компании Гавриш. Данный маркер показал свою эффективность в условиях лаборатории высокой пропускной способности. В то же время, технология генотипирования при помощи анализа кривых плавления, на основе которой был создан маркер F195 подтвердила свою экономическую эффективность и простоту использования.

Библиографический список

- 1.Pappu H.R., Resende H.R. Tomato Spotted Wilt Virus (Tospoviridae). Encyclopedia of Virology. 4th ed. Elsevier Ltd. 2021. Vol. 3. Pp. 507–515.
- 2.Almási A., Nemes K., Salánki K. Case Study of Tomato Spotted Wilt Virus–Pepper Interaction. Plant viruses: diversity, interaction and management. Boca Raton, FL: CRC Press (Taylor and Francis). 2018. Pp. 239–248.
- 3.Brittlebank C.C. Tomato diseases. Journal of the Department of Agriculture in Victoria. 1919. Vol. 17. Pp. 1348–1352.
- 4.Pappu H.R., Jones R.A.C., Jain R.K. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: successes achieved and challenges ahead. Virus research. Elsevier, 2009. Vol. 141. No2.

- 5.Whitfield A.E., Falk B.W., Rotenberg D. Insect vector-mediated transmission of plant viruses. Virology. Elsevier. 2015. Vol. 479. Pp. 278–289.
- 6.Thrips transmission of tospoviruses. D. Rotenberg, A.L. Jacobson, D.J. Schneeweis, A.E. Whitfield. Current opinion in virology. Elsevier. 2015. Vol. 15. Pp. 80–89.
- 7.Tomato Spotted WiltTospovirusGenome Reassortment and Genome Segment-Specific Adaptation.Virology. W.P. Qiu, S.M. Geske, C.M. Hickey, J.W. Moyer. Elsevier. 1998. Vol. 244. No1. Pp. 186–194.
- 8.Roggero P., Masenga V., Tavella L. Field Isolates of Tomato spotted wilt virus Overcoming Resistance in Pepper and Their Spread to Other Hosts in Italy. Plant Disease. 2002. Vol. 86, No9.

Pp. 950–954.

9. Jacobson A.L., Kennedy G.G. Specific insect-virus interactions are responsible for variation in competency of different Thrips tabaci isolines to transmit different Tomato spotted wilt virus isolates. *PLoS One. Public Library of Science San Francisco, USA*, 2013. Vol. 8. No1. Pp. e54567.

10. Identification of three new isolates of Tomato spotted wilt virus from different hosts in China: molecular diversity, phylogenetic and recombination analyses. Z. Zhang, D. Wang, C. Yu, Z. Wang, J. Dong, K. Shi, X. Yuan. *Virologia*. 2016. Vol. 13. No1. P. 8.

11. Black L.L., Hobbs H.A., Kammerlohr D.S. Resistance of Capsicum chinense lines to tomato spotted wilt virus isolates from Louisiana, USA, and inheritance of resistance. *Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops 431*. 1995. Pp. 393–401.

12. Thomas-Carroll M.L., Jones R.A.C. Selection, biological properties and fitness of resistance-breaking strains of Tomato spotted wilt virus in pepper. *Annals of Applied Biology*. 2003. Vol. 142. No2. Pp. 235–243.

13. Evidence That the Nonstructural Protein of Tomato spotted wilt virus Is the Avirulence Determinant in the Interaction with Resistant Pepper Carrying the *Tsw* Gene. P. Margaria, M. Ciuffo, D. Pacifico, M. Turina MPMI. 2007. Vol. 20. No5. Pp. 547–558.

14. Sharman M., Persley D.M. Field isolates of Tomato spotted wilt virus overcoming resistance in capsicum in Australia: 2. Australasian Plant Pathology. CSIRO Publishing, 2006. Vol. 35. No2. Pp. 123–128.

15. First Report of a Resistance-Breaking Strain of Tomato spotted wilt virus Infecting Tomatoes With the Sw-5 Tospovirus-Resistance Gene in California. O. Batuman, T.A. Turini, P.V. Oliveira, M.R. Rojas, M. Macedo, H.C. Mellinger, S. Adkins, R.L. Gilbertson. *Plant Disease*. 2017. Vol. 101. No4. Pp. 637–637.

16. Biological and molecular characterization of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance-breaking isolates from Argentina. L. Ferrand, M.M.S. Almeida, A.F. Orillio, E. Dal Bó, R.O. Resende, M.L. García. *Plant Pathology*. 2019. Vol. 68. No9. Pp. 1587–1601.

17. HR-mediated defense response is overcome at high temperatures in Capsicum species. B.N. Chung, J.-H. Lee, B.-C. Kang, S.W. Koh, J.H. Joa, K. San Choi, J.J. Ahn. *The plant pathology journal. The Korean Society of Plant Pathology*. 2018. Vol. 34. No1. P. 71.

18. De Ronde D., Lohuis D., Kormelink R. Identification and characterization of a new class of Tomato spotted wilt virus isolates that break *Tsw*-based resistance in a temperature-dependent manner. *Plant Pathology*. 2019. Vol. 68. No1. Pp. 60–71.

19. Turina M., Kormelink R., Resende R.O. Resistance to Tospoviruses in Vegetable Crops: Epidemiological and Molecular Aspects. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2016. Vol. 54. No1. Pp. 347–371.

20. Genetic Mapping of the *Tsw* Locus for Resistance to the Tospovirus Tomato spotted wilt virus in Capsicum spp. and Its Relationship to the Sw-5 Gene for Resistance to the Same Pathogen in Tomato. M. Jahn, I. Paran, K. Hoffmann, E.R. Radwanski, K.D. Livingstone, R.C. Grube, E. Aftergoot, M. Lapidot, J. Moyer MPMI. 2000. Vol. 13. No6. Pp. 673–682.

21. Kim S. et al. Divergent evolution of multiple virus-resistance genes from a progenitor in Capsicum spp. *New Phytologist*. 2017. Vol. 213. No2. Pp. 886–899.

References

1. Pappu H.R., Resende H.R. Tomato Spotted Wilt Virus (Tospoviridae). *Encyclopedia of Virology*. 4th ed. Elsevier Ltd. 2021. Vol. 3. Pp. 507–515.

2. Almási A., Nemes K., Salánki K. Case Study of Tomato Spotted Wilt Virus–Pepper Interaction. *Plant viruses: diversity, interaction and management*. Boca Raton, FL: CRC Press (Taylor and Francis). 2018. Pp. 239–248.

3. Brittlebank C.C. Tomato diseases. *Journal of the Department of Agriculture in Victoria*. 1919. Vol. 17. Pp. 1348–1352.

4. Pappu H.R., Jones R.A.C., Jain R.K. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: successes achieved and challenges ahead. *Virus research*. Elsevier, 2009. Vol. 141. No2.

Pp. 219–236.

5. Whitfield A.E., Falk B.W., Rotenberg D. Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology*. Elsevier. 2015. Vol. 479. Pp. 278–289.

6. Thrips transmission of tospoviruses. D. Rotenberg, A.L. Jacobson, D.J. Schneweis, A.E. Whitfield. *Current opinion in virology*. Elsevier. 2015. Vol. 15. Pp. 80–89.

7. Tomato Spotted Wilt Tospovirus Genome Reassortment and Genome Segment-Specific Adaptation. *Virology*. W.P. Qiu, S.M. Geske, C.M. Hickey, J.W. Moyer. Elsevier. 1998. Vol. 244. No1. Pp. 186–194.

8. Roggero P., Masenga V., Tavella L. Field Isolates of Tomato spotted wilt virus Overcoming Resistance in Pepper and Their Spread to Other Hosts in Italy. *Plant Disease*. 2002. Vol. 86. No9. Pp. 950–954.

9. Jacobson A.L., Kennedy G.G. Specific insect-virus interactions are responsible for variation in competency of different Thrips tabaci isolines to transmit different Tomato spotted wilt virus isolates. *PLoS One. Public Library of Science San Francisco, USA*, 2013. Vol. 8. No1. Pp. e54567.

10. Identification of three new isolates of Tomato spotted wilt virus from different hosts in China: molecular diversity, phylogenetic and recombination analyses. Z. Zhang, D. Wang, C. Yu, Z. Wang, J. Dong, K. Shi, X. Yuan. *Virologia*. 2016. Vol. 13. No1. P. 8.

11. Black L.L., Hobbs H.A., Kammerlohr D.S. Resistance of Capsicum chinense lines to tomato spotted wilt virus isolates from Louisiana, USA, and inheritance of resistance. *Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops 431*. 1995. Pp. 393–401.

12. Thomas-Carroll M.L., Jones R.A.C. Selection, biological properties and fitness of resistance-breaking strains of Tomato spotted wilt virus in pepper. *Annals of Applied Biology*. 2003. Vol. 142. No2. Pp. 235–243.

13. Evidence That the Nonstructural Protein of Tomato spotted wilt virus Is the Avirulence Determinant in the Interaction with Resistant Pepper Carrying the *Tsw* Gene. P. Margaria, M. Ciuffo, D. Pacifico, M. Turina MPMI. 2007. Vol. 20. No5. Pp. 547–558.

14. Sharman M., Persley D.M. Field isolates of Tomato spotted wilt virus overcoming resistance in capsicum in Australia: 2. Australasian Plant Pathology. CSIRO Publishing, 2006. Vol. 35. No2. Pp. 123–128.

15. First Report of a Resistance-Breaking Strain of Tomato spotted wilt virus Infecting Tomatoes With the Sw-5 Tospovirus-Resistance Gene in California. O. Batuman, T.A. Turini, P.V. Oliveira, M.R. Rojas, M. Macedo, H.C. Mellinger, S. Adkins, R.L. Gilbertson. *Plant Disease*. 2017. Vol. 101. No4. Pp. 637–637.

16. Biological and molecular characterization of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance-breaking isolates from Argentina. L. Ferrand, M.M.S. Almeida, A.F. Orillio, E. Dal Bó, R.O. Resende, M.L. García. *Plant Pathology*. 2019. Vol. 68. No9. Pp. 1587–1601.

17. HR-mediated defense response is overcome at high temperatures in Capsicum species. B.N. Chung, J.-H. Lee, B.-C. Kang, S.W. Koh, J.H. Joa, K. San Choi, J.J. Ahn. *The plant pathology journal. The Korean Society of Plant Pathology*. 2018. Vol. 34. No1. P. 71.

18. De Ronde D., Lohuis D., Kormelink R. Identification and characterization of a new class of Tomato spotted wilt virus isolates that break *Tsw*-based resistance in a temperature-dependent manner. *Plant Pathology*. 2019. Vol. 68. No1. Pp. 60–71.

19. Turina M., Kormelink R., Resende R.O. Resistance to Tospoviruses in Vegetable Crops: Epidemiological and Molecular Aspects. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2016. Vol. 54. No1. Pp. 347–371.

20. Genetic Mapping of the *Tsw* Locus for Resistance to the Tospovirus Tomato spotted wilt virus in Capsicum spp. and Its Relationship to the Sw-5 Gene for Resistance to the Same Pathogen in Tomato. M. Jahn, I. Paran, K. Hoffmann, E.R. Radwanski, K.D. Livingstone, R.C. Grube, E. Aftergoot, M. Lapidot, J. Moyer MPMI. 2000. Vol. 13. No6. Pp. 673–682.

21. Kim S. et al. Divergent evolution of multiple virus-resistance genes from a progenitor in Capsicum spp. *New Phytologist*. 2017. Vol. 213. No2. Pp. 886–899.

Об авторах

Будылин Михаил Вячеславович, канд. биол. наук, зам. директора по молекулярной диагностике и биотехнологии. E-mail: bmw@gavrish.ru

Верба Вадим Михайлович, канд. с.-х. наук, с.н.с. E-mail: verba@gavrish.ru, verbavm@mail.ru

ООО «Научно-исследовательский институт селекции овощных культур» (ООО «НИИСОК»).

Author details

Budylin M.V., Cand. Sci. (Biol.), deputy director for molecular diagnostics and biotechnology. E-mail: bmw@gavrish.ru

Verba V.M., Cand. Sci. (Agr.), senior research fellow. E-mail: verba@gavrish.ru, verbavm@mail.ru

LLC “Research Institute of Vegetable Breeding” (NIISOK LLC).