|  |  |
| --- | --- |
|  | G |
| Internationaler Verband zum Schutz von Pflanzenzüchtungen |  |

|  |  |
| --- | --- |
| Erweiterter RedaktionsausschussGenf, 26. und 27. März 2018 | TC-EDC/Mar18/9Original: englischDatum: 8. März, 2018 |

TEILÜBERARBEITUNG DER PRÜFUNGSRICHTLINIEN FÜR TOMATEN-UNTERLAGEN

von einem Sachverständigen aus den Niederlanden erstelltes Dokument

Haftungsausschluss: dieses Dokument gibt nicht die Grundsätze oder eine Anleitung der UPOV wieder

 Zweck dieses Dokumentes ist es, einen Vorschlag für eine Teilüberarbeitung der Prüfungsrichtlinien für Tomatenunterlagen (Dokument TG/294/1 Corr. Rev. 2) vorzulegen.

 Die Technische Arbeitsgruppe für Gemüsearten (TWV) prüfte auf ihrer einundfünfzigsten Tagung vom 3. Juli bis zum 7. Juli 2017 in Roelofarendsveen, Niederlande, einen Vorschlag für eine Teilüberarbeitung der Prüfungsrichtlinien für Tomaten-Unterlagen (Dokument TG/294/1 korr. Rev.) aufgrund der Dokumente TG/294/1 korr. Rev. und TWV/51/11 „Teilüberarbeitung der Prüfungsrichtlinien für Tomaten-Unterlagen“ und schlug die folgenden Änderungen der Prüfungsrichtlinien für Tomaten-Unterlagen vor (vergleiche Dokument TWV/51/16 „Report“, Absatz 115):

1. Änderung der Erfassungsmethode für Merkmale 24.1 und 24.2:
	1. Merkmal 24.1 „Resistenz gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) - Pathotyp 0 (ex 1)“
	2. Merkmal 24.2 „Resistenz gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) - Pathotyp 1 (ex 2)“
2. Änderung der Erläuterung Zu 24 durch Hinzufügen einer alternativen Methode zur Erfassung der Resistenz und durch geringfügige Änderungen der derzeitigen Methode
3. Änderung der Erfassungsmethode für Merkmale 27.1, 27.2 und 27.3:
	1. Merkmal 27.1 „Resistenz gegen das Tomatenmosaikvirus (ToMV) - Pathotyp 0“
	2. Merkmal 27.2 „Resistenz gegen das Tomatenmosaikvirus (ToMV) - Pathotyp 1“
	3. Merkmal 27.3 „Resistenz gegen das Tomatenmosaikvirus (ToMV) - Pathotyp 2“
4. Änderung der Erläuterung Zu 27 durch Hinzufügen einer alternativen Methode zur Resistenzerfassung und durch geringfügige typographische Änderungen der derzeitigen Methode
5. Änderung der Erläuterung Zu 30 „Resistenz gegen das gelbe Tomatenblattrollvirus (TYLCV)“ durch Überarbeitung der derzeitigen Methode und durch Hinzufügen einer alternativen Methode zur Erfassung der Resistenz
6. Änderung der Erfassungsmethode für Merkmal 31 „Resistenz gegen das Tomatenbronzefleckenvirus (TSWV)“
7. Änderung der Erläuterung Zu 31 durch Hinzufügen einer alternativen Methode zur Erfassung der Resistenz
8. Hinzufügung eines Literaturhinweises in bezug auf Änderungen a) – h) in Kapitel 9 „Literatur“.

 Die vorgeschlagenen Änderungen sind nachfolgend durch Unterstreichen (Einfügungen) und ~~Durchstreichen~~ (Streichungen) angegeben.

Vorschlag für eine Änderung der Erfassungsmethode für Merkmale 24.1 und 24.2

*Derzeitiger Wortlaut*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 24.(+) |  | Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) | Résistance à *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) | Resistenz gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) | Resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) |  |  |
| 24.1(\*) | VG | – Race 0 (ex 1) | – Pathotype 0 (ex 1) | – Pathotyp 0 (ex 1) | – Raza 0 (ex 1) |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |   | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente | Emperador | 9 |
| 24.2(\*) | VG | – Race 1 (ex 2) | – Pathotype 1 (ex 2) | – Pathotyp 1 (ex 2) | – Raza 1 (ex 2) |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |   | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente | Emperador | 9 |
| 24.3(\*) | VG | – Race 2 (ex 3) | – Pathotype 2 (ex 3) | – Pathotyp 2 (ex 3) | – Raza 2 (ex 3) |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente | Emperador | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente | Colosus | 9 |

*Vorgeschlagener neuer Wortlaut*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 24.(+) |  | Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) | Résistance à *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) | Resistenz gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) | Resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) |  |  |
| 24.1(\*) | VG/VS | – Race 0 (ex 1) | – Pathotype 0 (ex 1) | – Pathotyp 0 (ex 1) | – Raza 0 (ex 1) |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |   | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente | Emperador | 9 |
| 24.2(\*) | VG/VS | – Race 1 (ex 2) | – Pathotype 1 (ex 2) | – Pathotyp 1 (ex 2) | – Raza 1 (ex 2) |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |   | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente | Emperador | 9 |
| 24.3(\*) | VG | – Race 2 (ex 3) | – Pathotype 2 (ex 3) | – Pathotyp 2 (ex 3) | – Raza 2 (ex 3) |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente | Emperador | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente | Colosus | 9 |

## Vorschlag zur Änderung der Erläuterung Zu 24 durch Hinzufügen einer alternativen Methode zur Erfassung der Resistenz und durch geringfügige Änderungen der derzeitigen Methode

*Derzeitiger Wortlaut*

Zu 24: Resistenz gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)

1. Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

3. Wirtsarten *Solanum lycopersicum*

4. Quelle des Inokulums Naktuinbouw[[1]](#footnote-2) (NL) und GEVES[[2]](#footnote-3) (FR)

5. Isolat Pathotyp 0 (ex 1) (z. B. Stämme Orange 71 oder PRI 20698 oder Fol 071 1 (ex 2) (z. B. Stämme 4152 oder PRI40698 oder RAF 70 und 2 (ex 3)

 Einzelne Stämme können hinsichtlich der Pathogenität abweichen

6. Feststellung der Isolatidentität Verwendung von Vergleichssorten (vergleiche 9.3)

7. Feststellung der Pathogenität an anfälligen Tomatensorten

8. Vermehrung des Inokulums

8.1 Vermehrungsmedium Kartoffeldextrose-Agar, Medium „S” nach Messiaen

8.4 Inokulationsmedium Wasser, um die Agarplatten abzuschaben oder Czapek-Dox-Kulturmedien (7 Tage alte belüftete Kultur)

8.6 Ernte des Inokulums durch doppeltes Musselintuch filtern

8.7 Prüfung des geernteten Inokulums Sporenzählung; anpassen an 106 pro ml

8.8 Haltbarkeit/Lebensfähigkeit

des Inokulums 4-8 Std., kühl stellen, um Keimen der Sporen zu verhindern

9. Prüfungsanlage

9.1 Anzahl der Pflanzen pro Genotyp mind. 20 Pflanzen

9.2 Anzahl der Wiederholungen .. 1 Wiederholung

9.3 Kontrollsorten für die Prüfung mit Pathotyp 0 (ex 1)

Anfällig (*Solanum lycopersicum*) Marmande, Marmande verte, Resal

Nur für Pathotyp 0 resistent (*Solanum lycopersicum*) Marporum, Larissa, „Marporum x Marmande verte“, Marsol, Anabel

Resistent für Pathotyp 0 und 1 (*Solanum lycopersicum*) Motelle, Gourmet, Mohawk

Kontrollsorten für die Prüfung mit Pathotyp 1 (ex 2)

Anfällig (*Solanum lycopersicum*) Marmande verte, Cherry Belle, Roma

Nur für Pathotyp 0 resistent (*Solanum lycopersicum*) Marporum**,** Ranco

Resistent für Pathotyp 0 und 1 (*Solanum lycopersicum*) Tradiro, Odisea

Anmerkung:……………………………………. Ranco ist etwas weniger resistent als Tradiro

Kontrollsorten für die Prüfung mit Pathotyp 2 (ex 3)

Anfällig für Pathotyp 2 Emperador

Resistent für Pathotyp 0, 1 und 2 Colosus

9.4 Gestaltung der Prüfung >20 Pflanzen; z. B. 35 Samen für 24 Pflanzen, einschl. 2 Nullproben

9.5 Prüfungseinrichtung Gewächshaus oder klimatisierter Raum

9.6 Temperatur 24-28°C (strenge Prüfung mit mildem Isolat)

20-24°C (weniger strenge Prüfung mit starkem Isolat)

9.7 Licht 12 Stunden pro Tag oder länger

9.8 Jahreszeit alle Jahreszeiten

9.9 Besondere Maßnahmen leicht saurer Torfboden ist optimal;

Boden feucht, aber nicht zu naß halten

10. Inokulation

10.1 Vorbereitung des Inokulums belüftete Messiaen oder PDA oder Agar Medium S nach Messiaen oder Czapek-Dox-Kultur oder Abschaben der Platten

10.2 Quantifizierung des Inokulums Sporenzählung, anpassen an 106 Sporen pro ml,

 Geringere Konzentration für ein sehr aggressives Isolat

10.3 Pflanzenstadium bei Inokulation 10-18 Tage, Keimblatt bis 1. Blatt

10.4 Inokulationsmethode Wurzeln und Hypocotyle werden 5-15 Min. in Sporensuspension getaucht; Kürzen der Wurzeln optional

10.7 Abschließende Erfassungen 14-21 Tage nach Inokulation

11. Erfassungen

11.1 Methode visuelle

11.2 Erfassungsskala Symptome:

Wachstumsverzögerung, Welken, Vergilbung

Braunfärbung der Gefäße bis oberhalb Keimblatt

11.3 Validierung der Prüfung Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden

12. Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mit Kontrollsorten

 fehlend ………………………..…………..[1] ausgeprägte Symptome

 vorhanden…………………..…………….[9] schwache oder keine Symptome

13. Kritische Kontrollpunkte:

Die Prüfungsergebnisse können hinsichtlich des Inokulumdrucks aufgrund von Unterschieden bei Isolat, Sporenkonzentration, Bodenfeuchtigkeit und Temperatur leicht abweichen. Standards in der Nähe des Grenzbereichs R/S helfen, zwischen verschiedenen Labors zu vergleichen.

*Vorgeschlagener neuer Wortlaut*

Zu 24: Resistenz gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)

Resistenz gegen Pathotyp 0 (ex 1) und Pathotyp 1 (ex 2) ist in einem Biotest (Methode i) und/oder in einem DNS-Marker-Test (Methode ii) zu testen. Resistenz gegen Pathotyp 2 (ex 3) ist in einem Biotest (Methode i) zu testen. Im Falle eines Biotests ist die Beobachtungsmethode VG. Im Falle eines DNS-Marker-Tests ist die Beobachtungsmethode VS.

i) Biotest

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Pathogen | *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* |
| 3. | Wirtsarten | *Solanum lycopersicum* |
| 4. | Quelle des Inokulums | Naktuinbouw[[3]](#footnote-4) (NL), GEVES[[4]](#footnote-5) (FR) oder INIA[[5]](#footnote-6) (ES) |
| 5. | Isolat | Pathotyp 0 (ex 1) (z. B. Stämme Orange 71 oder PRI 20698 oder Fol 071), Pathotyp 1 (ex 2) (z. B. Stämme 4152 oder PRI40698 oder RAF 70) und Pathotyp 2 (ex 3)Einzelne Stämme können hinsichtlich der Pathogenität abweichen |
| 6. | Feststellung der Isolatidentität | Verwendung von Vergleichssorten (vergleiche 9.3) |
| 7. | Feststellung der Pathogenität | an anfälligen Tomatensorten |
| 8. | Vermehrung des Inokulums |  |
| 8.1 | Vermehrungsmedium | Kartoffeldextrose-Agar, Medium „S” nach Messiaen |
| 8.4 | Inokulationsmedium | Wasser, um die Agarplatten abzuschaben oder Czapek-Dox-Kulturmedien (7 Tage alte belüftete Kultur) |
| 8.6 | Ernte des Inokulums | durch doppeltes Musselintuch filtern |
| 8.7 | Prüfung des geernteten Inokulums | Sporenzählung; anpassen an 106 pro ml |
| 8.8 | Haltbarkeit/Lebensfähigkeit des Inokulums | 4-8 Std., kühl stellen, um Keimen der Sporen zu verhindern  |
| 9. | Prüfungsanlage |  |
| 9.1 | Anzahl der Pflanzen pro Genotyp | mind. 20 Pflanzen |
| 9.2 | Anzahl der Wiederholungen | 1 Wiederholung |
| 9.3.1 | Kontrollsorten für die Prüfung mit Pathotyp 0 (ex 1) |  |
|  | Anfällig | (*Solanum lycopersicum*) Marmande, Marmande verte, Resal |
|  | ~~Nur~~ resistent ~~für Pathotyp 0~~ | „Marporum x Marmande verte“, ~~Marsol, Anabel~~ Motelle, Gourmet, Mohawk, Ranco, Tradiro |
|  | ~~Resistent für Pathotyp 0 und 1~~ | ~~(~~*~~Solanum lycopersicum~~*~~) Motelle, Gourmet, Mohawk~~ |
|  | Anmerkung: | Ranco ist etwas weniger resistent als Tradiro |
| 9.3.2 | Kontrollsorten für die Prüfung mit Pathotyp 1 (ex 2) |  |
|  | Anfällig  | (*Solanum lycopersicum*) Marmande verte, Cherry Belle, Roma, Marporum, Ranco |
|  | ~~Nur resistent für Pathotyp 0~~  | ~~(~~*~~Solanum lycopersicum~~*~~) Marporum, Ranco~~ |
|  | Resistent ~~für~~ ~~Pathotyp 0 und 1~~ | Emperador, Colosus und (*Solanum lycopersicum*) Tradiro, Odisea, „Motelle x Marmande verte“ |
|  | ~~Anmerkung:~~ | ~~Ranco ist etwas weniger resistant als Tradiro~~ |
| 9.3.3 | Kontrollsorten für die Prüfung mit Pathotyp 2 (ex 3) |  |
|  | Anfällig ~~für~~ ~~Pathotyp 2~~ | Emperador und (*Solanum lycopersicum*) Marmande verte, Motelle, Marporum |
|  | Resistent ~~für~~ ~~Pathotyp 0, 1 und 2~~ | Colosus und (*Solanum lycopersicum*) Tributes, Murdoch, „Marmande verte x Florida“ |
| 9.4 | Gestaltung der Prüfung | >20 Pflanzen; z. B. 35 Samen für 24 Pflanzen, einschl. 2 Nullproben |
| 9.5 | Prüfungseinrichtung | Gewächshaus oder klimatisierter Raum |
| 9.6 | Temperatur | 24-28°C (strenge Prüfung mit mildem Isolat)20-24°C (weniger strenge Prüfung mit starkem Isolat) |
| 9.7 | Licht | 12 Stunden pro Tag oder länger |
| 9.8 | Jahreszeit | alle Jahreszeiten |
| 9.9 | Besondere Maßnahmen | leicht saurer Torfboden ist optimal;Boden feucht, aber nicht zu naß halten |
| 10. | Inokulation |  |
| 10.1 | Vorbereitung des Inokulums | belüftete Messiaen oder PDA oder Agar Medium S nach Messiaen oder Czapek-Dox-Kultur oder Abschaben der Platten |
| 10.2 | Quantifizierung des Inokulums | Sporenzählung, anpassen an 106 Sporen pro ml, geringere Konzentration für ein sehr aggressives Isolat |
| 10.3 | Pflanzenstadium bei Inokulation | 10-18 Tage, Keimblatt bis 1. Blatt |
| 10.4 | Inokulationsmethode | Wurzeln und Hypocotyle werden 5-15 Min. in Sporensuspension getaucht; Kürzen der Wurzeln optional |
| 10.7 | Abschließende Erfassungen | 14-21 Tage nach Inokulation |
| 11. | Erfassungen |  |
| 11.1 | Methode | visuelle |
| 11.2 | Erfassungsskala | Symptome:Wachstumsverzögerung, Welken, VergilbungBraunfärbung der Gefäße bis oberhalb Keimblatt |
| 11.3 | Validierung der Prüfung | Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden. |
| 12. | Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mit Kontrollsorten |  |
|  | fehlend [1] | ausgeprägte Symptome |
|  | vorhanden [9] | schwache oder keine Symptome |
| 13. | Kritische KontrollpunkteDie Prüfungsergebnisse können hinsichtlich des Inokulumdrucks aufgrund von Unterschieden bei Isolat, Sporenkonzentration, Bodenfeuchtigkeit und Temperatur leicht abweichen. Standards in der Nähe des Grenzbereichs R/S helfen, zwischen verschiedenen Labors zu vergleichen.  |

 ii) DNS-Marker-Test

Resistenz gegen sowohl Pathotyp 0 (ex 1) als auch Pathotyp 1 (ex 2) gründet oft auf Resistenzgen I2. Das Vorhandensein des resistenten und/oder anfälligen Allels von Gen I2 kann durch den in dieser Methode beschriebenen kodominanten Marker erfaßt werden.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Pathogen | *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* |
| 2. | Funktionelles Gen | I2 |
| 3. | Primer |  |
| 3.1 | Anfälliges Allel | Z1063-i2-F 5’-GTT TGA CAG CTT GGT TTT GT-3’Z1063-i2-R 5’-CTC AAA CTC ACC ATC ATT GA-3’ |
| 3.2 | Resistentes Allel | TFusF1 5’-CTG AAA CTC TCC GTA TTT C-3’TFusRR1 5’-CGA AGA GTG ATT GGA GAT-3’ |
| 4. | Prüfungsanlage |  |
| 4.1 | Anzahl der Pflanzen pro Genotyp | mind. 20 Pflanzen |
| 4.2 | Kontrollsorten  | Homozygotes anfällige Allel vorhanden:(*Solanum lycopersicum*) MoneymakerHomozygotes resistentes Allel vorhanden: (*Solanum lycopersicum*) Tradiro |
| 5.  | Vorbereitung |  |
| 5.1 | Vorbereitung DNS | Ernten, pro einzelne Pflanze, eines Teils eines jungen Blattes. Isolat Gesamt-DNS mit einem Standard DNS-Isolationsprotokoll (CTAB/SDS-basiert). In 100 µl T10E0,1 resuspendieren. Gesamt- DNS auf 1/10 (H2O) verdünnen, um eine DNS-Konzentration zwischen 1-10 ng/µl zu erhalten. |
| 5.2 | Vorbereitung PCR | Verwendung von 3 µl jeder verdünnten DNS-Probe in einzelnen PCR-Reaktionen.Vorbereitung des PCR Master Mix, 20µl Reaktionsvolumen:* 3 µl 10x verdünnte DNS
* 2,5 µl 10x Reaktionspuffer
* 2 mM MgCl2
* jeweils 0.1 µM resistente Primer
* jeweils 0.1 µM anfällige Primer
* 200 µM von jeweils den vier dNTPs
* 1 Einheit Taq DNS-Polymerase
 |
| 6. | PCR-Bedingungen | 1. anfänglicher Denaturierungsschritt bei 94°C 3 Minuten lang2. 35 Zyklen bei 94°C 1 Minute lang, 56°C 1 Minute lang und 72°C 2 Minuten lang3. abschließender Erweiterungsschritt bei 72°C 10 Minuten lang |
| 7. | Erfassungen |  |
| 7.1 | Methode | visuell |
| 7.2 | Erfassungsskala |  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| Amplikon von 940bp nur | Amplikon von 600bp nur | Amplikons von 940bp und 600bp |
| homozygotes anfälliges Allel vorhanden | homozygotes resistentes Allel vorhanden | anfälliges und resistentes Allel vorhanden: heterozygot resistent |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 7.3 | Validierung der Prüfung | Kontrollsorten sollten die erwarteten Bänder ergeben. |
| 8. | Auswertung der Prüfergebnisse |  |
|  | 24.1 Pathotyp 0 (ex 1) |  |
|  | vorhanden [9] | Homozygot oder heterozygot resistent in dem DNS-Marker-Test. Wenn ein homozygotes anfälliges Allel vorhanden sind, sollte ein Biotest für Pathotyp 0 (ex 1) durchgeführt werden.Wenn das DNS-Marker-Testergebnis die Erklärung im TQ nicht bestätigt, sollte ein Biotest durchgeführt werden, um zu erfassen, ob die Resistenz für die Sorte fehlend oder vorhanden ist (an anderem Mechanismus, z.B. Gen I2 ohne I). |
|  | 24.2 Pathotyp 1 (ex 2) |  |
|  | fehlend [1] | Homozygot anfällig im DNS-Marker-Test |
|  | vorhanden [9] | Homozygot oder heterozygot resistent im DNS-Marker-Test. Wenn das DNS-Marker-Testergebnis die Erklärung im TQ nicht bestätigt, sollte ein Biotest durchgeführt werden, um zu erfassen, ob die Resistenz für die Sorte fehlend oder vorhanden ist (an anderem Mechanismus, z.B. Gen I3). |

## Vorschlag für Änderung der Erfassungsmethode für Merkmale 27.1, 27.2 und 27.3

*Derzeitiger Wortlaut*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 27.(+) |  | Resistance to Tomato mosaic virus (ToMV) | Résistance au virus de la mosaïque de la tomate (ToMV) | Resistenz gegen das Tomatenmosaikvirus (ToMV) | Resistencia al virus del mosaico del tomate (ToMV) |  |  |
| 27.1  | VG | – Strain 0 | – Souche 0 | – Pathotyp 0 | – Cepa 0 |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |   | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente | Emperador | 9 |
| **27.2** |  | – Strain 1 | – Souche 1 | – Pathotyp 1 | – Cepa 1 |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |  | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente |  | 9 |
| **27.3** |  | – Strain 2 | – Souche 2 | – Pathotyp 2 | – Cepa 2 |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |  | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente |  | 9 |

*Vorgeschlagener neuer Wortlaut*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 27.(+) |  | Resistance to Tomato mosaic virus (ToMV) | Résistance au virus de la mosaïque de la tomate (ToMV) | Resistenz gegen das Tomatenmosaikvirus (ToMV) | Resistencia al virus del mosaico del tomate (ToMV) |  |  |
| 27.1  | VG/VS | – Strain 0 | – Souche 0 | – Pathotyp 0 | – Cepa 0 |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |   | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente | Emperador | 9 |
| **27.2** | VG/VS | – Strain 1 | – Souche 1 | – Pathotyp 1 | – Cepa 1 |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |  | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente |  | 9 |
| **27.3** | VG/VS | – Strain 2 | – Souche 2 | – Pathotyp 2 | – Cepa 2 |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |  | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente |  | 9 |

## Vorschlag zur Änderung der Erläuterung Zu 27 durch Hinzufügen einer alternativen Methode zur Erfassung der Resistenz und durch geringfügige typographische Änderungen der derzeitigen Methode

*Derzeitiger Wortlaut*

Zu 27: Resistenz gegen das Tomatenmosaikvirus (ToMV)

1. Pathogen Tomatenmosaikvirus

3. Wirtsarten *Solanum lycopersicum*

4. Quelle des Inokulums Naktuinbouw (NL)[[6]](#footnote-7) oder GEVES[[7]](#footnote-8) (FR)

5. Isolat Stamm 0 (z. B. Isolat INRA Avignon 6-5-1-1) 1 und 2

6. Feststellung der Isolatidentität genetisch definierte Tomatenstandardsorten

 Mobaci (Tm1), Moperou (Tm2), Momor (Tm22)

7. Feststellung der Pathogenität bei anfälligen Pflanzen

8. Vermehrung des Inokulums

8.1 Vermehrungsmedium lebende Pflanze

8.2 Vermehrungssorte z. B. Moneymaker, Marmande

8.7 Prüfung des geernteten Inokulums Option: an *Nicotiana tabacum* „Xanthi”, Läsionen nach 2 Tagen prüfen

8.8 Haltbarkeit/Lebensfähigkeit

des Inokulums frisch>1 Tag, getrocknet>1 Jahr

9. Prüfungsanlage

9.1 Anzahl der Pflanzen pro Genotyp mind. 20 Pflanzen

9.2 Anzahl der Wiederholungen 1 Wiederholung

9.3 Kontrollsorten

Anfällig (*Solanum lycopersicum*) Marmande, Monalbo

Resistent gegen ToMV: 0 und 2 (*Solanum lycopersicum*) Mobaci

Resistent gegen ToMV: 0 und 1 (*Solanum lycopersicum*) Moperou

Resistent mit Nekrose (*Solanum lycopersicum*) „Monalbo x Momor“

Resistent (*Solanum lycopersicum*) Gourmet

9.4 Gestaltung der Prüfung Behandlung der Nullproben mit PBS und Carborundum oder vergleichbarer Pufferlösung

9.5 Prüfungseinrichtung Gewächshaus oder klimatisierter Raum

9.6 Temperatur 24 bis 26°C

9.7 Licht 12 Stunden oder länger

9.8 Jahreszeit Symptome sind im Sommer ausgeprägter

10. Inokulation

10.1 Vorbereitung des Inokulums 1 g Blatt mit Symptomen mit 10 ml PBS oder vergleichbarer Pufferlösung

 homogenisieren, Carborundum zu Pufferlösung hinzufügen (1g/30ml)

10.3 Pflanzenstadium bei Inokulation Keimblätter oder 2 Blätter

10.4 Inokulationsmethode vorsichtiges Einreiben

10.7 Abschließende Erfassungen 11-21 Tage nach Inokulation

11. Erfassungen

11.1 Methode visuelle

11.2 Erfassungsskala Symptome für die Anfälligkeit:

 Mosaik oben, Missbildung der Blätter

 Resistenzsymptome (basierend auf Überempfindlichkeit):

 Lokale Nekrose, Topnekrose, systemische Nekrose

11.3 Validierung der Prüfung Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden

Anmerkung: bei einigen heterozygoten Sorten kann ein variabler Anteil an Pflanzen ausgeprägte systemische Nekrose oder einige nekrotische Punkte aufweisen, wohingegen andere Pflanzen keine Symptome aufweisen. Dieser Anteil kann von Versuch zu Versuch unterschiedlich hoch sein.

12. Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mit Kontrollsorten

 fehlend …………………………. [1] Symptome für Anfälligkeit

vorhanden…………………………..…. [9] keine Symptome oder Symptome von Überempfindlichkeitsresistenz

13. Kritische Kontrollpunkte:

Temperatur und Licht können die Entwicklung von Nekrose beeinflussen. Mehr Licht bedeutet mehr Nekrose. Bei Temperaturen über 26°C kann die Resistenz zusammenbrechen.

Resistente heterozygote Sorten können symptomfreie Pflanzen und Pflanzen mit schwerer Nekrose aufweisen. Trotz der offensichtlichen Aufspaltung kann die Probe als beständig für Resistenz betrachtet werden.

Anmerkung: ………………………………… Der Stamm INRA Avignon 6-5-1-1 wird für ToMV empfohlen: 0. Dieser Stamm verursacht ein auffallend gelbes Aucuba-Mosaik

*Vorgeschlagener neuer Wortlaut*

Zu 27: Resistenz gegen das Tomatenmosaikvirus (ToMV)

Resistenz gegen Stamm 0, 1 und 2 ist in einem Biotest (Methode i) und/oder in einem DNS-Marker-Test (Methode ii) zu testen. Bei einem Biotest ist die Beobachtungsmethode VG. Bei einem DNS-Marker-Test ist die Beobachtungsmethode VS.

1. Biotest

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Pathogen | Tomatenmosaikvirus |
| 3. | Wirtsarten | *Solanum lycopersicum* |
| 4. | Quelle des Inokulums | Naktuinbouw[[8]](#footnote-9) (NL) oder GEVES[[9]](#footnote-10) (FR) |
| 5. | Isolat | Stamm 0 (z.B. Isolat INRA Avignon 6-5-1-1), Stamm 1 und Stamm 2 |
| 6. | Feststellung der Isolatidentität | genetisch definierte Tomatenstandardsorten Mobaci (Tm1), Moperou (Tm2), Momor (Tm22) |
| 7. | Feststellung der Pathogenität | bei anfälligen Pflanzen |
| 8. | Vermehrung des Inokulums |  |
| 8.1 | Vermehrungsmedium | lebende Pflanze |
| 8.2 | Vermehrungssorte | z.B.. Moneymaker, Marmande |
| 8.7 | Prüfung des geernteten Inokulums | Option: an *Nicotiana tabacum* „Xanthi“,Läsionen nach 2 Tagen prüfen |
| 8.8 | Haltbarkeit/Lebensfähigkeitdes Inokulums | frisch>1 Tag, getrocknet>1 Jahr |
| 9. | Prüfungsanlage |  |
| 9.1 | Anzahl der Pflanzen pro Genotyp | mind. 20 Pflanzen |
| 9.2 | Anzahl der Wiederholungen | 1 Wiederholung |
| 9.3 | Kontrollsorten |  |
|  | Anfällig | (*Solanum lycopersicum*) Marmande, Monalbo |
|  | Resistent für ToMV: 0 und 2 | (*Solanum lycopersicum*) Mobaci |
|  | Resistent für ToMV: 0 und 1 | (*Solanum lycopersicum*) Moperou |
|  | Resistent mit Nekrose | (*Solanum lycopersicum*) „Monalbo x Momor“ |
|  | Resistent |  (*Solanum lycopersicum*) Gourmet |
| 9.4 | Gestaltung der Prüfung | Behandlung der Nullproben mit PBS und Carborundum oder vergleichbarer Pufferlösung |
| 9.5 | Prüfungseinrichtung | Gewächshaus oder klimatisierter Raum |
| 9.6 | Temperatur | 24 bis 26°C |
| 9.7 | Licht | 12 Stunden oder länger |
| 9.8 | Jahreszeit | Symptome sind im Sommer ausgeprägter |
| 10. | Inokulation |  |
| 10.1 | Vorbereitung des Inokulums | 1 g Blatt mit Symptomen mit 10 ml PBS oder vergleichbarer Pufferlösung homogenisieren, Carborundum zu Pufferlösung hinzufügen (1g/30ml) |
| 10.3 | Pflanzenstadium bei Inokulation | Keimblätter oder 2 Blätter |
| 10.4 | Inokulationsmethode | vorsichtiges Einreiben |
| 10.7 | Abschließende Erfassungen | 11-21 Tage nach Inokulation |
| 11. | Erfassungen |  |
| 11.1 | Methode | visuelle |
| 11.2 | Erfassungsskala | Symptome für die Anfälligkeit: Mosaik oben, Missbildung der BlätterResistenzsymptome (basierend auf Überempfindlichkeit): Lokale Nekrose, Topnekrose, systemische Nekrose |
| 11.3 | Validierung der Prüfung | Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden |
|  | Anmerkung: bei einigen heterozygoten Sorten kann ein variabler Anteil an Pflanzen ausgeprägte systemische Nekrose oder einige nekrotische Punkte aufweisen, wohingegen andere Pflanzen keine Symptome aufweisen. Dieser Anteil kann von Versuch zu Versuch unterschiedlich hoch sein. |
| 12. | Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mit Kontrollsorten |  |
|  | fehlend [1] | Symptome für Anfälligkeit |
|  | vorhanden [9] | keine Symptome oder Symptome von Überempfindlichkeitsresistenz |
| 13. | Kritische Kontrollpunkte Temperatur und Licht können die Entwicklung von Nekrose beeinflussen. Mehr Licht bedeutet mehr Nekrose. Bei Temperaturen über 26°C kann die Resistenz zusammenbrechen.Resistente heterozygote Sorten können symptomfreie Pflanzen und Pflanzen mit schwerer Nekrose aufweisen. Trotz der offensichtlichen Aufspaltung kann die Probe als beständig für Resistenz betrachtet werden.Anmerkung: Der Stamm INRA Avignon 6-5-1-1 für ToMV wird empfohlen: 0. Dieser Stamm verursacht ein auffallend gelbes Aucuba-Mosaik. |

1. DNS-Marker-Test

Resistenz gegen ToMV gründet oft auf Resistenzgen Tm2 (allele Tm2 oder Tm22). Das Vorhandensein der resistenten Allele Tm2 und Tm22 und/oder des anfälligen Allels tm2 kann durch den in Arens, P. *et al* (2010) beschriebenen kodominanten Marker erfaßt werden. Spezifische Aspekte:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Pathogen | Tomatenmosaikvirus |
| 2. | Funktionelles Gen | Tm2/22 |
| 3. | Primer |  |
| 3.1 | Test 1 zur Prüfung der Resistenz Allele Tm2 oder Tm22 | Äußerer Primer TMV-2286F: 5’GGGTATACTGGGAGTGTCCAATTC3’Äußerer Primer TMV-2658R: 5’CCGTGCACGTTACTTCAGACAA3’Tm22 SNP2494F: 5’CTCATCAAGCTTACTCTAGCCTACTTTAGT3’Tm2 SNP2493R: 5’CTGCCAGTATATAACGGTCTACCG3’ |
| 3.2 | Test 2 zur Prüfung anfälliger oderresistenter Allele | Äußerer Primer TM2-748F: 5’CGGTCTGGGGAAAACAACTCT3’Äußerer Primer TM2-1256R: 5’CTAGCGGTATACCTCCACATCTCC3’TM2-SNP901misR: 5’GCAGGTTGTCCTCCAAATTTTCCATC3’TM2-SNP901misF: 5’CAAATTGGACTGACGGAACAGAAAGTT3’ |
| 4. | Prüfungsanlage |  |
| 4.1 | Anzahl der Pflanzen pro Genotyp | mind. 20 Pflanzen |
| 4.2 | Kontrollsorten | Homozygotes anfälliges Allel tm2 vorhanden: (Solanum lycopersicum) Moneymakerresistentes Allel Tm2 vorhanden: (Solanum lycopersicum) Moperouresistentes Allel Tm22 vorhanden: (Solanum lycopersicum) Momor, Persica, Campeon |
| 6. | PCR-Bedingungen | 1. anfänglicher Denaturierungsschritt bei 94°C 3 Minuten lang2. 35 Zyklen bei 94°C 1 Minute lang, 55°C 1 Minute lang und 72°C 2 Minuten lang3. abschließender Erweiterungsschritt bei 72°C 10 Minuten lang |
| 8. | Auswertung der Prüfungsergebnisse | Das Vorhandensein der Allele tm2, Tm2, Tm22 führt zu unterschiedlichen Auswertungen für Merkmale 27.1, 27.2 und 27.3, vergleiche Tabelle. Wenn das Ergebnis des DNS-Marker-Tests die Erklärung in dem TQ nicht bestätigt, sollte ein Biotest durchgeführt werden, um zu erfassen, ob die Resistenz für die Sorte fehlend oder vorhanden ist (an anderem Mechanismus, z.B. Gen Tm1). |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Testergebnis DNS-Marker-Test | tm2/tm2 | Tm2/tm2 oder Tm2/Tm2 | Tm22/tm2 oder Tm22/Tm22 oder Tm22/Tm2 |
|  |  | (tritt gelegentlich auf) |  |
| 27.1 Stamm 0 | [1] fehlend | [9] resistent | [9] resistent |
| 27.2 Stamm 1 | [1] fehlend | [9] resistent | [9] resistent |
| 27.3 Stamm 2 | [1] fehlend | [1] fehlend | [9] resistent |

## Vorschlag zur Änderung der Erläuterung Zu 30 „Resistenz gegen gelbes Tomatenblattrollvirus (TYLCV)“ durch Überarbeitung der derzeitigen Methode und durch Hinzufügen einer alternativen Methode zum Erfassen der Resistenz.

*Derzeitiger Wortlaut*

Zu 30: Resistenz gegen gelbes Tomatenblattrollvirus (TYLCV)

1. Pathogen gelbes Tomatenblattrollvirus (vergleiche Anmerkung unten)

2. Quarantänestatus . Ja

3. Wirtsarten *Solanum lycopersicum*

4. Quelle des Inokulums -

5. Isolat -

8. Vermehrung des Inokulums

8.6 Ernte des Inokulums symptomatische Blätter können bei -70°C aufbewahrt werden

9. Prüfungsanlage

9.1 Anzahl der Pflanzen pro Genotyp 20 Pflanzen

9.2 Anzahl der Wiederholungen 1 Wiederholung

9.3 Kontrollsorten

Anfällig: (*Solanum lycopersicum*) Montfavet H 63.5

Resistent: (*Solanum lycopersicum*) TY 20, Anastasia, Mohawk

9.5 Prüfungseinrichtung .. Feld mit natürlichem Krankheitsdruck

9.9 Besondere Maßnahmen … Verbreitung von weißen Fliegen verhindern

10. Inokulation

10.3 Pflanzenstadium bei Inokulation ..6-12 Wochen (ausgewachsene Pflanzen)

10.4 Inokulationsmethode ……………. Vektor (weiße Fliege Bemisia, die das TYLCV trägt)

10.7 Abschließende Erfassungen …. 1-2 Monate nach Inokulation

11. Erfassungen

11.1 Methode …… visuelle

11.2 Erfassungsskala …. Symptome: Blätter vergilben und rollen sich ein

11.3 Validierung der Prüfung ….. Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden

12. Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mit Kontrollsorten

 fehlend ……………………….[1] ausgeprägte Symptome

 vorhanden………………………… [9] keine oder schwach ausgeprägte Symptome

13. Kritische Kontrollpunkte:

TYLCV ist in vielen tropischen und subtropischen Gebieten endemisch und hat in vielen Ländern mit gemäßigtem Klima Quarantänestatus. TYLCV steht auf der EPPO-Warnliste. Einige gegen TYLCV resistente Sorten können anfällig für das eng verwandte gelbe Tomatenblattroll-Sardinienvirus (TYLCSV) sein.

*Vorgeschlagener neuer Wortlaut*

Zu 30: Resistenz gegen gelbes Tomatenblattrollvirus (TYLCV)

1. Agroinokulationsmethode

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Pathogen | Gelbes Tomatenblattrollvirus (TYLCV) IL Stamm. (vergleiche Anmerkung unten) |
| 2.  | Quarantänestatus | ja (vergleiche 13.) |
| 3. | Wirtsarten | *Solanum lycopersicum* |
| 4. | Quelle des Inokulums | Dr. Eduardo R. Bejarano, Plant Genetics Laboratory, IHSM UMA- CSIC)[[10]](#footnote-11) |
| 5. | Isolat | Alm:Pep:99, Stamm IL |
| 6. | Feststellung der Isolatidentität |  |
| 7. | Feststellung der Pathogenität |  |
| 8. | Vermehrung des Inokulums |  |
| 8.1 | Vermehrungsmedium | YEP/Kanamycin. |
| 8.2 | Vermehrungssorte |  |
| 8.3 | Pflanzenphase bei Inokulation | 3-4 Blatt  |
| 8.4 | Inokulationsmedium | YEP |
| 8.5 | Inokulationsmethode | Stengelpunkturagroinfiltration. Pflanzenagroinokulation wird unter Verwendung von Agrobacterium tumefaciens, mit Plasmiden transformiert, die die infektiösen Klone enthalten, ausgeführt (Morilla, et al. 2005. Phytopathology 95: 1089-1097)Das transformierte Agrobacterium tumefaciens ist ein genetisch veränderter Organismus und muß den Bestimmungen gemäß der Gesetzgebung für Umwelt, Gesundheits- und Tierschutz entsprechen. |
| 8.6 | Ernte des Inokulums  |  |
| 8.7 | Prüfung des geernteten Inokulums |  |
| 8.8 | Haltbarkeit/Lebensfähigkeit des Inokulums | *A. tumefaciens* Unterlagen werden für langfristige Lagerung in gefrorenem Zustand bei -80ºC in 15-20% Glyzerin aufbewahrt. Die aufzubewahrenden Kulturen werden in der Regel aus einer einzelnen Kolonie in 5 ml YEP +2,5 µl Kanamycin (100mg/ml) 48 Std. lang bei 28°C gezüchtet. |
| 9. | Prüfungsanlage |  |
| 9.1 | Anzahl der Pflanzen pro Genotyp | 20 |
| 9.2 | Anzahl der Wiederholungen | 2 |
| 9.3 | Kontrollsorten | Anfällig: Big Power, (*Solanum lycopersicum*) Moneymaker, MarmandeResistent: (*Solanum lycopersicum*) Delyca, Montenegro, Anastasia, TY20, Mohawk |
| 9.4 | Gestaltung der Prüfung |  |
| 9.5 | Prüfungseinrichtung | Gewächshaus oder Klimakammer mit Zulassung von beschränkter Verwendung von genetisch veränderten Organismen, Einschränkungsgrad 1 (N-1). |
| 9.6 | Temperatur | 23-25°C  |
| 9.7 | Licht | 16 Std. |
| 9.8 | Jahreszeit |  |
| 9.9 | Besondere Maßnahmen | Zulassung von beschränkter Verwendung von genetisch veränderten Organismen, mindestens Grad 1 (N-1) |
| 10. | Inokulation |  |
| 10.1 | Vorbereitung des Inokulums | Ausstreichen der Oberfläche der Röhre mit dem gefrorenen A. *tumefaciens* Bestand und Eintauchen in 5 ml YEP+2,5 µl Kanamycin (100mg/ml) 48 Std. lang bei 28ºC. Muß geschüttelt werden. Entnahme von 100 µl und Platzieren in 100 ml YEP und 50 µl Kanamycin (100mg/ml). Schütteln 48 Std. lang bei 28ºC. Zentrifugieren der gesättigten Kultur 20 min lang bei 3500 U/min und Verwerfen des Überstandes. |
| 10.2 | Quantifikation des Inokulums | Auflösung in sterilem deionisiertem Wasser auf endgültigen OD 600 Wert von 1. |
| 10.3 | Pflanzenstadium bei Inokulation | 3-4tes Blatt |
| 10.4 | Inokulationsmethode | Aufziehen in eine 1 ml Spritze mit einer Nadel der Stärke 27, woraufhin einige Tropfen (etwa 20 µl der Kultur) auf 10-15 Einstichverletzungen mittels der Nadel in dem Stengel der getesteten Tomatenpflanzen gegeben wurden. Während der Inokulation der Pflanzen sind diese auf Eis zu halten. |
| 10.5 | Erste Erfassung | 20 Tage nach Inokulation |
| 10.6 | Zweite Erfassung | 30 dpi |
| \*10.7 | Abschließende Erfassungen | 45 dpi |
| 11. | Erfassungen |  |
| 11.1 | Methode | Visuelle |
| 11.2 | Erfassungsskala | Symptome: Blätter vergilben und rollen sich ein |
| 11.3 | Validierung der Prüfung | Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden |
| 12. | Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mit UPOV-Ausprägungsstufen |  |
|  | fehlend [1] | ausgeprägte Symptome |
|  | vorhanden [9] | keine Symptome |
| 13. | Kritische Kontrollpunkte:TYLCV ist in vielen tropischen und subtropischen Gebieten endemisch und hat in vielen Ländern mit gemäßigtem Klima Quarantänestatus.TYLCV-IL ist der weltweit verbreitetste Pathotyp. Bei diesem Pathotyp treten Symptome nicht in Sorten mit Ty-1 und Ty-2 auf.TYLCV steht auf der EPPO-Warnliste. Einige gegen TYLCV resistente Sorten können anfällig für das eng verwandte gelbe Tomatenblattroll-Sardinienvirus (TYLCSV) sein.  |

1. Inokulationsmethode mit weißen Fliegen

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Pathogen | Gelbes Tomatenblattrollvirus (TYLCV) IL Stamm |
| 2.  | Quarantänestatus | ja (vergleiche 13.) |
| 3. | Wirtsarten | *Solanum lycopersicum* |
| 4. | Quelle des Inokulums | -Spanien[[11]](#footnote-12) |
| 5. | Isolat | -TYLCV-IL La Mayora |
| 8. | Vermehrung des Inokulums | Weiße Fliegen |
| 8.6 | Ernte des Inokulums |  |
| 9. | Prüfungsanlage |  |
| 9.1 | Anzahl der Pflanzen pro Genotyp | 20 |
| 9.2 | Anzahl der Wiederholungen | Zwei Wiederholungen |
| 9.3 | Kontrollsorten |  |
|  | Resistent | TY 20, Anastasia, Mohawk |
|  | Anfällig | Big Power, (*Solanum lycopersicum*) ~~Montfavet H 63.5~~ Moneymaker, Marmande |
|  | Resistent | (*Solanum lycopersicum*) Delyca, Montenegro, Anastasia, TY20, Mohawk |
| 9.5 | Prüfungseinrichtung | ~~Feld mit natürlichem Krankheitsdruck~~ Gewächshaus oder Kunststofftunnel |
| 9.9 | Besondere Maßnahmen | Verbreitung von weißen Fliegen verhindern |
| 10. | Inokulation |  |
| 10.3 | Pflanzenphase bei Inokulation | ~~6-12 Wochen (ausgewachsene Pflanzen)~~ 2-4 Wochen |
| 10.4 | Inokulationsmethode | Vektor (weiße Fliege Bemisia, die das TYLCV-IL trägt) |
| 10.7 | Abschließende Erfassungen | 1-2 Monate nach Inokulation |
| 11. | Erfassungen |  |
| 11.1 | Methode | visuelle |
| 11.2 | Erfassungsskala | Symptome: Blätter vergilben und rollen sich ein |
| 11.3 | Validierung der Prüfung | Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden |
| 12. | Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mitUPOV-Ausprägungsstufen |  |
|  | fehlend [1] | ausgeprägte Symptome |
|  | vorhanden [9] | keine oder schwach ausgeprägte Symptome |
| 13. | Kritische Kontrollpunkte: TYLCV ist in vielen tropischen und subtropischen Gebieten endemisch und hat in vielen Ländern mit gemäßigtem Klima Quarantänestatus. ~~TYLCV steht auf der EPPO Warnliste.~~TYLCV-IL ist der weltweit verbreitetste Pathotyp. Bei diesem Pathotyp treten Symptome nicht in Sorten mit Ty-1 und Ty-2 auf. Einige gegen TYLCV resistente Sorten können anfällig für das eng verwandte gelbe Tomatenblattroll-Sardinienvirus (TYLCSV) sein. |

## Vorschlag für Änderung der Erfassungsmethode für Merkmal 31 „Resistenz gegen das gefleckte Tomatenbronzefleckenvirus (TSWV)“

*Derzeitiger Wortlaut*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 31.(+) | VG | Resistance to Tomato spotted wilt virus (TSWV) | Résistance au virus de la tache bronzée de la tomate(TSWV) | Resistenz gegen das gefleckte Tomaten-bronzenfleckenvirus (TSWV) | Resistencia al virus del bronceado de tomate(TSWV) |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |  Big Power | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente |  Enpower | 9 |

*Vorgeschlagener neuer Wortlaut*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 31.(+) | VG/VS | Resistance to Tomato spotted wilt virus (TSWV) | Résistance au virus de la tache bronzée de la tomate(TSWV) | Resistenz gegen das gefleckte Tomaten-bronzenfleckenvirus (TSWV) | Resistencia al virus del bronceado de tomate(TSWV) |  |  |
| **QL** |  | absent | absente | fehlend | ausente |  Big Power | 1 |
|  |  | present | présente | vorhanden | presente |  Enpower | 9 |

## Vorschlag für Änderung der Erläuterung Zu 31 durch Hinzufügen einer alternativen Methode zur Erfassung der Resistenz

*Derzeitiger Wortlaut*

Zu 31: Resistenz gegen das Tomatenbronzefleckenvirus (TSWV)

1. Pathogen Tomatenbronzefleckenvirus (vergleiche Anmerkung unten)

2. Quarantänestatus … ja (vergleiche Anmerkung unten)

3. Wirtsarten *Solanum lycopersicum*

4. Quelle des Inokulums Naktuinbouw[[12]](#footnote-13) (NL), GEVES[[13]](#footnote-14) (FR)

5. Isolat Pathotyp 0, vorzugsweise eine für Thrips transmissiondefiziente Variante

7. Feststellung der Pathogenität …….. Biotest

8. Vermehrung des Inokulums

8.6 Ernte des Inokulums symptomatische Blätter können bei -70°C aufbewahrt werden

9. Prüfungsanlage

9.1 Anzahl der Pflanzen pro Genotyp .. 20 Pflanzen

9.2 Anzahl der Wiederholungen ……..1 Wiederholung

9.3 Kontrollsorten

Anfällig: .. Big Power und (*Solanum lycopersicum*) Monalbo, Momor,

 Montfavet H 63.5

Resistent: Enpower und (*Solanum lycopersicum*) Tsunami, Bodar, Mospomor,

 Lisboa

9.5 Prüfungseinrichtung Gewächshaus oder Klimakammer

9.6 Temperatur .. 20°C

9.7 Licht .. 12 Stunden oder länger

9.9 Besondere Maßnahmen … Thrips verhindern oder bekämpfen

10. Inokulation

10.1 Vorbereitung des Inokulums .. symptomatische Blätter in eiskalte Pufferlösung

 0,01 M PBS, pH 7,4, mit 0,01 M Natriumsulfit oder vergleichbare Pufferlösung pressen

 Option: Blättersaft durch doppelt gelegtes Musselintuch filtern

10.3 Pflanzenstadium bei Inokulation 1 oder 2 entfaltete Blätter

10.4 Inokulationsmethode ………..mechanisch, Reiben mit Carborundum an den Keimblättern, Inokulumssuspension < 10°C

10.7 Abschließende Erfassungen ….. 7-21 Tage nach Inokulation

11. Erfassungen

11.1 Methode ……………………….… visuelle

11.2 Erfassungsskala ….. Symptome: Top-Mosaik, Braunfärbung, diverse Missbildungen, Nekrose

11.3 Validierung der Prüfung ………… Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden

12. Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mit Kontrollsorten

 fehlend ………………….… [1] Symptome

 vorhanden …………………… [9] keine Symptome

13. Kritische Kontrollpunkte:

TSWV hat in einigen Ländern Quarantänestatus TSWV wird durch *Tabak-Thrips* und Kalifornische Blütenthrips (*Frankliniella occidentalis*) übertragen. Pathotyp 0 ist durch seine Unfähigkeit definiert, die Resistenz bei Tomatensorten, die das Resistenzgen Sw-5 tragen, zu brechen.

*Vorgeschlagener neuer Wortlaut*

Zu 31: Resistenz gegen Tomatenbronzefleckenvirus (TSWV)

1. Biotest

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Pathogen | Tomatenbronzefleckenvirus (vergleiche Anmerkung unten) |
| 2. | Quarantänestatus | ja (vergleiche Anmerkung unten) |
| 3. | Wirtsarten | *Solanum lycopersicum* |
| 4. | Quelle des Inokulums | Naktuinbouw [[14]](#footnote-15) (NL), GEVES [[15]](#footnote-16) (FR) |
| 5. | Isolat | Pathotyp 0, vorzugsweise eine für Thrips transmissiondefiziente Variante |
| 7. | Feststellung der Pathogenität | Biotest |
| 8. | Vermehrung des Inokulums |  |
| 8.6 | Ernte des Inokulums | symptomatische Blätter können bei -70°C aufbewahrt werden |
| 9. | Prüfungsanlage |  |
| 9.1 | Anzahl der Pflanzen pro Genotyp | 20 Pflanzen |
| 9.2 | Anzahl der Wiederholungen | 1 Wiederholung |
| 9.3 | Kontrollsorten |  |
|  | Anfällig | Big Power und (*Solanum lycopersicum*) Monalbo, Momor, Montfavet H 63.5 |
|  | Resistent | Enpower und (*Solanum lycopersicum*) Tsunami, Bodar, Mospomor, Lisboa |
| 9.5 | Prüfungseinrichtung | Gewächshaus oder Klimakammer |
| 9.6 | Temperatur | 20°C |
| 9.7 | Licht | 12 Stunden oder länger |
| 9.9 | Besondere Maßnahmen | Thrips verhindern oder bekämpfen |
| 10. | Inokulation |  |
| 10.1 | Vorbereitung des Inokulums | symptomatische Blätter in eiskalte Pufferlösung 0,01 M PBS, pH 7,4, mit 0,01 M Natriumsulfit oder vergleichbare Pufferlösung pressenOption: Blättersaft durch doppelt gelegtes Musselintuch filtern |
| 10.3 | Pflanzenstadium bei Inokulation | 1 oder 2 entfaltete Blätter |
| 10.4 | Inokulationsmethode | mechanisch, Reiben mit Carborundum an den Keimblättern, Inokulumssuspension < 10° C |
| 10.7 | Abschließende Erfassungen | 7-21 Tage nach Inokulation |
| 11. | Erfassungen |  |
| 11.1 | Methode | visuelle |
| 11.2 | Erfassungsskala | Symptome: Top-Mosaik, Braunfärbung, diverse Missbildungen, Nekrose |
| 11.3 | Validierung der Prüfung | Die Bewertung der Sortenresistenz sollte mit den Ergebnissen resistenter und anfälliger Kontrollen kalibriert werden |
| 12. | Auswertung der Testergebnisse im Vergleich mit Kontrollsorten |  |
|  | fehlend [1] | Symptome |
|  | vorhanden [9] | keine Symptome |
| 13. | Kritische Kontrollpunkte TSWV hat in einigen Ländern Quarantänestatus TSWV wird durch *Tabak-Thrips* und Kalifornische Blütenthrips (*Frankliniella occidentalis*) übertragen. Pathotyp 0 ist durch seine Unfähigkeit definiert, die Resistenz bei Tomatensorten, die das Resistenzgen Sw-5 tragen, zu brechen. |

1. DNS-Marker-Test

Resistenz gegen TSWV Stamm 0 gründet oft auf dem Resistenzgen Sw-5. Das Vorhandensein von resistentem Allel und/oder anfälligem(n) Allel(en) kann durch den bei Dianese, E.C. *et al* (2010) beschriebenen in kodominanten Marker erfaßt werden. Spezifische Aspekte:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Pathogen | Tomatenbronzefleckenvirus |
| 2. | Funktionelles Gen | Sw-5b |
| 3. | Primer |  |
| 3.1 | Anfällige Allele | Sw5-Vat1-F: 5’-ACAACATCAAACAATGTTAGCC-3’ Sw5-Vat2-F: 5’-CATCAAACAATGCAGTTAGCC-3’ |
| 3.2 | Resistente Allele | Sw5-Res-F: 5’-ATCAACCAATACAGCCTAACC-3 |
| 3.3 | Universal Reverse | Sw5-universal-R: 5’-TTTCTCCCTGCAAGTTCACC-3’ |
| 3.4 | Allelspezifische Sonden | Sw5-Sus1: 5’-VIC-TACATTATGAAGGGTTAACAAG-MGB-NFQ-3’Sw5-Sus2: 5’-6FAM-ACAACAGAGGGTTAACAAGTTTAGG-BHQ1-3’Sw5-Res: 5’-TEXAS RED-TGGGCGAAAATCCCAACAAG-BHQ2-3’ |
| 4. | Prüfungsanlage |  |
| 4.1 | Anzahl der Pflanzen pro Genotyp | mind. 20 Pflanzen |
| 4.2 | Kontrollsorten | Homozygotes anfälliges Allel 1 vorhanden:*Solanum lycopersicum*) MoneymakerHomozygotes anfälliges Allel 2 vorhanden:*Solanum lycopersicum*) Mountain MagicHomozygotes resistentes Allel vorhanden:(*Solanum lycopersicum*) Montealto |
| 6. | PCR-Bedingungen | 1. Initialer Denaturierungsschritt 10 min bei 95 °C2. 40 Zyklen 15 sec bei 95 °C und 1 min bei 60°C. Jeder Zyklus endet mit einem Plate Reading. |
| 8. | Auswertung der Testergebnisse |  |
|  | fehlend [1] | Anfällige(s) Allel(e) vorhanden und resistentes Allel fehlend |
|  | vorhanden [9] | resistentes Allel vorhanden (homozygot oder heterozygot)Wenn das DNS-Marker-Testergebnis die Erklärung im TQ nicht bestätigt, sollte ein Biotest durchgeführt werden, um zu erfassen, ob die Resistenz für die Sorte fehlend oder vorhanden ist (oder anderer Mechanismus). |

## Vorschlag für Hinzufügen eines Literaturhinweises bezüglich der Änderungen a) – h) zu Kapitel 9 „Literatur“

*Vorschlag für Hinzufügung zu 9. Literatur*

Dianese, E.C. et al, 2010: Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the Sw-5 (Topovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. Molecular Breeding, 25(1), pp. 133-142.

[Ende des Dokuments]

1. Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl [↑](#footnote-ref-2)
2. GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr [↑](#footnote-ref-3)
3. Naktuinbouw: resistentie@naktuinbouw.nl [↑](#footnote-ref-4)
4. GEVES: Valerie.GRIMAULT@geves.fr [↑](#footnote-ref-5)
5. INIA: cardaba@inia.sp [↑](#footnote-ref-6)
6. Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl [↑](#footnote-ref-7)
7. GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr [↑](#footnote-ref-8)
8. Naktuinbouw: resistentie@naktuinbouw.nl [↑](#footnote-ref-9)
9. GEVES: Valerie.GRIMAULT@geves.fr [↑](#footnote-ref-10)
10. Quelle des Inokulums; HMS UMA (CSIC) edu\_rodri@uma.es; INIA Cardaba@inia.es [↑](#footnote-ref-11)
11. IHSM, CSIC guillamon@eelm.csic.es oder INIA cardaba@inia.es [↑](#footnote-ref-12)
12. Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl [↑](#footnote-ref-13)
13. GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr [↑](#footnote-ref-14)
14. Naktuinbouw: resistentie@naktuinbouw.nl [↑](#footnote-ref-15)
15. GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr [↑](#footnote-ref-16)