



TC/49/40

ORIGINAL: Inglés

FECHA: 7 de febrero de 2013

UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES

Ginebra

COMITÉ TÉCNICO

Cuadragésima novena sesión Ginebra, 18 a 20 de marzo de 2013

REVISIÓN PARCIAL DE LAS DIRECTRICES DE EXAMEN DEL TOMATE (DOCUMENTO TG/44/11)

Documento preparado por la Oficina de la Unión

1. En su cuadragésima quinta sesión, celebrada en Monterrey (Estados Unidos de América) del 25 al 29 de julio de 2011, el Grupo de Trabajo Técnico sobre Hortalizas (TWV) convino en proponer al Comité Técnico (TC) que apruebe la revisión parcial de las directrices de examen del tomate (documento TG/44/11) a fin de incluir:

- (a) un formato revisado para los caracteres de resistencia a las enfermedades con arreglo a las explicaciones relativas a los caracteres de resistencia a las enfermedades en las directrices de examen, que figuran en la sección 2.4 del documento TGP/12/2 Draft 2 "Orientación sobre ciertos caracteres fisiológicos"; y
- (b) un método de marcador genético específico para el examen de la resistencia al virus del bronceado del tomate (TWS) – Raza 0.

2. En su cuadragésima octava sesión, celebrada en Ginebra del 26 al 28 de marzo de 2012, el TC señaló que, en respuesta a algunas preguntas relativas a la resistencia a las enfermedades planteadas por expertos interesados tras la sesión del TWV, el Presidente del TWV, el anterior Presidente del TWV y el Experto Principal decidieron examinar, en la cuadragésima sexta sesión del TWV, un nuevo borrador de la revisión parcial de las directrices de examen del tomate (véase el párrafo 147 del documento TC/48/22, "Informe sobre las conclusiones").

3. En su cuadragésima sexta sesión, celebrada cerca de la ciudad de Venlo (Países Bajos) del 11 al 15 de junio de 2012, el TWV examinó el documento TWV/46/19 y convino en proponer la revisión parcial de las directrices del tomate (documento TG/44/11) como se expone en los Anexos del presente documento:

ANEXO I Propuesta de corrección de los nombres de las enfermedades en los capítulos: 5.3, 7, 8 y 10;

ANEXO II Inclusión de un formato revisado para los caracteres de resistencia a las enfermedades con arreglo a las explicaciones relativas a los caracteres de resistencia a las enfermedades en las directrices de examen, que figuran en la sección 2.4 del documento TGP/12/2 Draft 2 "Orientación sobre ciertos caracteres fisiológicos" (el texto actual y el nuevo texto propuesto se exponen en páginas opuestas);

ANEXO III Adición de referencias bibliográficas en el capítulo 9: Bibliografía.

4. La revisión parcial del documento TG/44/11 se aprobará como documento TG/44/11 Rev.

[Siguen los Anexos]

Propuesta de corrección de los nombres de las enfermedades en los capítulos: 5.3, 7 ,8 y 10. TQ

Texto actual:

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
49. (+)	VG Resistance to <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i> (Forl)	Résistance à <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i> (Forl)	Resistenz gegen <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i> (Forl)	Resistencia a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i> (Forl)		

Propuesta:

49. (+)	VG Resistance to <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> (Forl)	Résistance à <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> (Forl)	Resistenz gegen <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> (Forl)	Resistencia a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> (Forl)		
------------	---	---	---	---	--	--

Texto actual:

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
51. (+)	VG Resistance to Tomato Mosaic Tobamovirus (ToMV)	Résistance au virus de la mosaïque de la tomate (ToMV)	Resistenz gegen das Tomatenmosaikvirus, Tobamovirus (ToMV)	Resistencia al virus del mosaico del tomate (ToMV)		

Propuesta:

51. (+)	VG 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)		
------------	---	--	---	--	--	--

Texto actual:

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
54. (+)	VG Resistance to Stemphylium	Résistance à Stemphylium	Resistenz gegen Stemphylium	Resistencia a Stemphylium		

Propuesta:

54. (+)	VG Resistance to Stemphylium spp. (Ss)	Résistance à Stemphylium spp. (Ss)	Resistenz gegen Stemphylium spp. (Ss)	Resistencia a Stemphylium spp. (Ss)		
------------	--	---------------------------------------	--	--	--	--

Texto actual:

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
57. (+)	VG Resistance to Tomato Yellow Leaf Curl Begomovirus (TYLCV)	Résistance au bégomovirus des feuilles jaunes en cuillère de la tomate (TYLCV)	Resistenz gegen gelbes Tomatenblattrollvirus, Begomovirus (TYLCV)	Resistencia a Begomovirus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)		

Propuesta:

57. (+)	VG Resistance to Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)	Résistance au virus des feuilles jaunes en cuillère de la tomate (TYLCV)	Resistenz gegen gelbes Tomatenblattrollvirus (TYLCV)	Resistencia a virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)		
------------	--	--	--	---	--	--

Texto actual:

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
58. (+)	VG Resistance to Tomato Spotted Wilt Tospovirus (TSWV) - Race 0	Résistance au virus de la tache bronzée de la tomate (TSWV) - Pathotype 0	Resistenz gegen das Tomatenbronzenfleckenvirus, Tospovirus (TSWV) - Pathotyp 0	Resistencia a Tospovirus del bronceado de tomate (TSWV) - Raza 1		

Propuesta:

58. (+)	VG Resistance to Tomato spotted wilt virus (TSWV) - Race 0	Résistance au virus de la tache bronzée de la tomate (TSWV) - Pathotype 0	Resistenz gegen das Tomatenbronzenfleckenvirus (TSWV) - Pathotyp 0	Resistencia a virus del bronceado de tomate (TSWV) - Raza 1		
------------	---	--	---	--	--	--

Texto actual:

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
61. (+)	VG Resistance to Tomato Torrado Virus (ToTV)	Résistance au virus Tomato Torrado (ToTV)	Resistenz gegen Tomato Torrado Virus (ToTV)	Resistencia al virus del torrado del tomate (ToTV)		

Propuesta:

61. (+)	VG Resistance to Tomato torrado virus (ToTV)	Résistance au virus tomato torrado (ToTV)	Resistenz gegen Tomato Torrado Virus (ToTV)	Resistencia al virus del torrado del tomate (ToTV)		
------------	--	---	---	--	--	--

Propuesta de inclusión de un formato revisado para los caracteres de resistencia a las enfermedades
(el texto actual y el nuevo texto propuesto se exponen en páginas opuestas)

Texto actual:

Ad. 46: Resistencia a *Meloidogyne incognita* (Mi)

Método

Mantenimiento de las cepas

Tipo de medio: en raíces de variedades susceptibles

Condiciones especiales evítese la pudrición de las raíces

Ejecución del ensayo

Temperatura: no superior a 28° C

Método de cultivo: preferiblemente en invernadero

Método de inoculación: las plantas se siembran en suelo infestado

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: inoculación antes de la siembra,
- desde la inoculación a la evaluación: 30 a 45 días

Número de plantas examinadas: 10 a 20

Observaciones: evítese la pudrición de las raíces, evítese las altas temperaturas

Notación: número de nudos de la raíz contaminados con huevos y deformación de la raíz

Variedades estándar: susceptibles: Clairvil, Casaque Rouge
moderadamente resistentes: Madyta, Vinchy
muy resistentes: Anabel, Anahu, F1 Anahu x Monalbo

Propuesta:

Ad 46: Resistencia a *Meloidogyne incognita* (Mi)

1. Agentes patógenos *Meloidogyne incognita*
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo Naktuinbouw¹ (NL) o GEVES² (FR)
5. Aislado no capaz de superar la resistencia
6. Establecimiento de la identidad del aislado utilizar variedades estándar de tomate o portainjertos
7. Establecimiento de la capacidad patógena utilizar una variedad estándar susceptible de tomate o portainjertos
8. Multiplicación del inóculo
- 8.1 Medio de multiplicación planta viva
- 8.2 Variedad para la multiplicación preferiblemente resistente al oídio
- 8.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación véase 10.3
- 8.5 Método de inoculación véase 10.4
- 8.6 Cosecha del inóculo el sistema radicular se corta con unas tijeras en trozos de 1 cm de longitud aproximadamente
- 8.7 Comprobación del inóculo cosechado comprobación visual de la presencia de nudos radiculares
- 8.8 Período de conservación/viabilidad del inóculo 1 día
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo 20 plantas
- 9.2. Número de réplicas 1 réplica
- 9.3 Variedades de control
- Susceptibles: Clairvil, Casaque Rouge
- Moderadamente resistente Champion, Madyta, Vinchy
- Altamente resistente Anabel, Anahu, Anahu x Casaque Rouge
- 9.4 Diseño del ensayo incluir variedades estándar
- 9.5 Instalación del ensayo invernadero o sala climatizada
- 9.6 Temperatura no superior a 28°C
- 9.7 Luz 12 horas al día como mínimo
10. Inoculación
- 10.1 Preparación del inóculo trozos pequeños de raíces enfermas mezclados con tierra y trozos de raíces infestadas
- 10.2 Cuantificación del inóculo relación tierra/raíz = 8:1, o en función de la experiencia
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación semillas o cotiledones
- 10.4 Método de inoculación las plantas se siembran en tierra infestada o contaminación de la tierra después de la siembra cuando las plántulas están en estado de cotiledones
- 10.7 Observaciones finales de 28 a 45 días después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método inspección de las raíces
- 11.2 Escala de observación Síntomas:
. formación de agallas, deformación de las raíces,
. reducción del crecimiento, muerte de la planta
- 11.3 Validación del ensayo la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse en variedades estándar con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control:
Tener en cuenta que las variedades resistentes pueden presentar algunas agallas. Estas no se consideran como plantas fuera de tipo.
ausente (susceptibles): [1] gran reducción del crecimiento, gran cantidad de agallas
intermedio (moderadamente resistente) [2] reducción moderada del crecimiento, cantidad moderada de agallas
presente (altamente resistente) [3] sin reducción del crecimiento, ausencia de agallas
13. Puntos de control esenciales:
Evítese la pudrición de las raíces; las altas temperaturas provocan la quiebra de la resistencia.

¹ Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl

² GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Texto actual:

Ad. 47: Resistencia a *Verticillium* sp. (Va y Vd)

Método

Mantenimiento de las cepas

Se utiliza la raza 0 representada por cepas Toreilles 4-1-4-1. La raza 0 es la raza común definida por su capacidad para infectar plantas con el gen Ve.

Almacenamiento a largo plazo de las cepas: conidias suspendidas en solución de glicerol a -80°C. La cepa puede subcultivarse en el medio Agar-Papa-Dextrose (PDA)

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas

Las plantas se cultivan en invernadero o en cámaras de cultivo. La inoculación puede efectuarse desde la fase de cotiledón (brote de las primeras hojas) hasta la fase de desarrollo de dos hojas.

Como controles pueden utilizarse las siguientes variedades. Como mínimo, en el ensayo debería haber un control resistente y un control susceptible. La variedad heterocigótica contribuirá a interpretar los resultados en el caso de un ensayo agresivo. Podría ser interesante añadir la variedad Clarion en los controles susceptibles, ya que es menos susceptible y podría además ayudar a comprobar la presión de inoculación del ensayo. Estas 2 variedades son optativas.

Variedad estándar Vd:0

Marmande verte, Flix	S
Clarion	s
Monalbo x Marmande verte	RH
Monalbo, Elias	R

R resistencia presente; sin síntomas
RH resistencia presente; a veces síntomas muy débiles
s resistencia ausente; síntomas débiles
S resistencia ausente; síntomas evidentes

Temperatura:

Examen efectuado bajo condiciones controladas a una temperatura comprendida entre 20 y 22°C.

Inoculación:

Verticillium sp. se cultiva en los medios líquidos Czapek Dox Broth o S de Messiaen, durante un período de 3 a 7 días a oscuras, a una temperatura de entre 20 y 25°C con aireación. Las esporas se cosechan y ajustan a 10⁶sp/ml.

Método de inoculación

Las plántulas se cosechan, las raíces se cortan e impregnan de 5 a 15 minutos en la suspensión del inóculo. Las plántulas se trasplantan en suelo.

Duración del ensayo

33 días como mínimo desde la siembra hasta la notación.

Número de plantas examinadas

20 plantas como mínimo.

Notación:

De 25 a 30 días después de la inoculación.

Escala de la notación e interpretación de los resultados:

R: sin síntomas

S: clorosis en las hojas inferiores, desarrollo reducido y vasos marrones o desarrollo no reducido y vasos marrones.

El análisis de los resultados debe calibrarse con los resultados de los controles de R y S.

Propuesta:

Ad 47: Resistencia al *Verticillium* sp (Va y Vd)

1. Agentes patógenos *Verticillium dahliae* o *Verticillium albo-atrum*
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo Naktuinbouw³ ((NL) o GEVES⁴ (FR)
5. Aislado Raza 0 (p.ej., cepa Toreilles 4-1-4-1)
8. Multiplicación del inóculo
- 8.1 Medio de multiplicación papa-dextrosa-agar, medio agar "S" de Messiaen
- 8.4 Medio de inoculación agua para raspar las placas de agar, o caldo Czapek-Dox (cultivo aireado de 3 a 7 días a 20-25°C, en la oscuridad)
- 8.6 Cosecha del inóculo filtrar a través de una capa doble de muselina
- 8.7 Comprobación del inóculo cosechado recuento de esporas (ajustar a 10⁶ por ml)
- 8.8 Período de conservación/viabilidad del inóculo un día a 4°C
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo 35 semillas para 24 plantas
- 9.2. Número de réplicas 1 réplica
- 9.3 Variedades de control
- Susceptibles Flix, Marmande verte, Clarion, Santonio, Anabel
- Resistentes: Monalbo, Elias, Monalbo x Marmande verte, Daniela, Marmande VR
- 9.4 Diseño del ensayo 20 plantas inoculadas como mínimo, 2 controles como mínimo
- 9.5 Instalación del ensayo invernadero o sala climatizada
- 9.6 Temperatura óptima 20 a 25°C, 20 a 22°C tras la inoculación
- 9.7 Luz 12 horas como mínimo
10. Inoculación
- 10.1 Preparación del inóculo cultivo líquido aireado (8.4)
- 10.2 Cuantificación del inóculo recuento de esporas (ajustar a 10⁶ por ml)
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación de cotiledón a tercera hoja
- 10.4 Método de inoculación sumergir las raíces durante 4 a 15 minutos en la suspensión de esporas
- 10.7 Observaciones finales de 14 a 33 días después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método visual
- 11.2 Escala de observación retraso del crecimiento, marchitez, clorosis y pardeamiento de los vasos
- 11.3 Validación del ensayo la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control:
ausentes [1] síntomas intensos
presentes [9] síntomas ausentes o leves

13. Puntos de control esenciales:

En las variedades resistentes pueden presentarse todos los síntomas, pero con una intensidad claramente menor que en las variedades susceptibles. El retraso del crecimiento suele ser notablemente menor en las variedades resistentes que en las susceptibles. La observación del pardeamiento de los vasos es importante para el diagnóstico. Por lo general, el pardeamiento de los vasos no se extiende a la primera hoja en las variedades resistentes. Muchas variedades híbridas son heterocigóticas y parecen tener síntomas leves en el bioensayo.

³ Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl
⁴ GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Texto actual:

Ad. 48.1 + 48.2 + 48.3: Resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), raza 0 (ex 1), raza 1 (ex 2) y raza 2 (ex 3)

Método

Mantenimiento de las cepas

Almacenamiento a largo plazo de las cepas: a -80°C en 20% de glicerol.

Se utiliza la raza 0 (ex 1), representada por cepas Orange 71 o PRI 20698 o Fol 071, y la raza 1, representada por cepas 4152 (más agresivas) o PRI40698 o RAF 70 (menos agresivas).

Las cepas pueden reproducirse en los medios PDA o S de Messiaen.

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas

Las plantas se cultivan en invernadero o en cámaras de cultivo durante un período de 10 a 18 días (cotiledones hasta la fase de la primera hoja).

Como controles se utilizan las siguientes variedades. Cada línea estará representada por una variedad como mínimo, que puede elegirse de entre las variedades indicadas; se indica el fenotipo de resistencia a los dos patotipos de Fol. La variedad heterocigótica tiene un fenotipo de resistencia normalmente más débil que las líneas homocigóticas. Esta resistencia débil puede utilizarse para calibrar el límite entre la resistencia y la susceptibilidad. El control heterocigótico para Fol:1 es opcional.

Controles para el ensayo de resistencia a Fol:0

	Fol:0	Fol:1*
Marmande, Marmande verte, Resal	S	S
Marporum x Marmande verte (heterocigótico)	R	S
Marporum, Larissa	R	S
Motelle, Gourmet, Mohawk	R	R

* Para información

Controles para el ensayo de resistencia a Fol:1

	Fol:0*	Fol:1
Cherry Belle, Roma, Marmande verte	S	S
Ranco**, Marporum	R	S
Motelle x Marmande verte	R	R
Tradiro, Odisea	R	R

* Para información

** Para Ranco: débil resistencia a Fol:0 con varios escapes

R = resistencia presente

S = resistencia ausente

Temperatura:

Examen efectuado en cámaras climatizadas o en invernadero a una temperatura de 24 a 28°C. En caso de que sea un ensayo agresivo, la temperatura puede disminuirse de 20 a 24°C.

Inoculación:

La variedad *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* se cultiva en los medios PDA o S de Messiaen o en cultivos líquidos Czapek-Dox aireados durante un período de 7 a 10 días. Las esporas se cosechan y ajustan a 10⁶sp/ml para cepas cultivadas en medios. En los casos de aislamiento muy agresivo, puede disminuirse la concentración del inóculo.

Método de inoculación

Inmersión de las raíces (la sección de las raíces es opcional) y del eje de hipocotilo durante un período de 5 a 15 minutos en la suspensión del inóculo y trasplante, tras la inoculación, de las plántulas en suelo.

Duración del ensayo

28 días como mínimo desde la siembra hasta la notación.

Número de plantas examinadas:

20 plantas como mínimo.

Notación:

21 días como mínimo tras la inoculación.

Escala de la notación:

4 clases:

- 0: sin síntomas,
- 1: aspecto externo de la planta sano (sin reducción del desarrollo) con vasos marrones (a veces extendidos por encima de los cotiledones, generalmente situados debajo los cotiledones),
- 2: reducción del desarrollo y vasos marrones por encima de los cotiledones,
- 3: planta muerta.

Interpretación de la escala:

Generalmente, 0 y 1 equivalen a resistentes, 2 y 3 son susceptibles, pero el análisis de los resultados debería calibrarse con los resultados de los controles R y S.

Propuesta:

Ad 48: Resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)

1. Agentes patógenos.....*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*
3. Especies huéspedes.....*Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo.....Naktuinbouw⁵ (NL) y GEVES⁶ (FR)
5. Aislado.....Raza 0 (ex 1) (p. ej., cepas Orange 71 o PRI 20698 o Fol 071 1 (ex 2)
(p. ej., cepas 4152 o PRI40698 o RAF 70 y 2 (ex 3)
.La capacidad patógena puede variar de una cepa a otra
6. Establecimiento de la identidad del aislado.....utilizar variedades diferenciales (véase 9.3)
7. Establecimiento de la capacidad patógena.....en variedades de tomate susceptibles
8. Multiplicación del inóculo
- 8.1 Medio de multiplicación.....papa-dextrosa-agar, medio "S" de Messiaen
- 8.4 Medio de inoculación.....agua para raspar las placas de agar o medio de cultivo Czapek-Dox
(cultivo aireado de 7 días)
- 8.6 Cosecha del inóculo.....filtrar a través de una capa doble de muselina
- 8.7 Comprobación del inóculo cosechado.....recuento de esporas (ajustar a 10⁶ por ml)
- 8.8 Período de conservación/viabilidad
del inóculo.....de 4 a 8 horas (mantener a baja temperatura para evitar la germinación de
las esporas)
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo.....20 plantas como mínimo
- 9.2. Número de réplicas.....1 réplica
- 9.3 Variedades de control para el ensayo con la raza 0 (ex 1)
- Susceptibles.....Marmande, Marmande verte, Resal
- Resistentes únicamente a la raza 0.....Marporum, Larissa, "Marporum x Marmande verte", Marsol, Anabel
- Resistentes a las razas 0 y 1.....Motelle, Gourmet, Mohawk
- Variedades de control para el ensayo con la raza 1 (ex 2)
- Susceptibles.....Marmande verte, Cherry Belle, Roma
- Resistentes únicamente a la raza 0.....Marporum, Ranco
- Resistentes a las razas 0 y 1.....Tradiro, Odisea
- Observación:.....Ranco es ligeramente menos resistente que Tradiro
- Variedades de control para el ensayo con la raza 2 (ex 3)
- Susceptible a las razas 0, 1 y 2.....Marmande verte, Motelle, Marporum
- Resistente a las razas 0, 1 y 2.....Tributes, Murdoch, Marmande verte x Florida
- 9.4 Diseño del ensayo.....>20 plantas; p. ej., 35 semillas para 24 plantas (incluidas 2 de control)
- 9.5 Instalación del ensayo.....invernadero o sala climatizada
- 9.6 Temperatura.....de 24 a 28°C (ensayo severo, con aislado moderado)
de 20 a 24°C (ensayo moderado, con aislado severo)
- 9.7 Luz.....12 horas por día o más
- 9.8 Estación.....cualquier estación
- 9.9 Medidas especiales.....una tierra de turba ligeramente ácida resulta óptima; mantener la tierra
húmeda pero evitar el estrés hídrico
10. Inoculación
- 10.1 Preparación del inóculo.....Messiaen aireado o PDA o medio Agar S de Messiaen o cultivo Czapek
Dox o raspado de placas
- 10.2 Cuantificación del inóculo.....recuento de esporas (ajustar a 10⁶ por ml). Una concentración más baja
para un aislado muy agresivo
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento
de la inoculación.....de 10 a 18 días (de cotiledón a primera hoja)
- 10.4 Método de inoculación.....inmersión de las raíces y los hipocótilos en una suspensión de esporas
durante 5 a 15 minutos; opcionalmente se pueden trocear las raíces
- 10.7 Observaciones finales.....de 14 a 21 días después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método.....visual
- 11.2 Escala de observación.....Síntomas:
.retraso del crecimiento, marchitez, amarilleo, pardeamiento de los vasos
extendido por encima del cotiledón
- 11.3 Validación del ensayo.....la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los
resultados de los controles resistentes y susceptibles. Las variedades
estándar cercanas al límite entre la resistencia y la susceptibilidad serán
útiles para las comparaciones entre laboratorios.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
- ausentes.....[1] síntomas intensos
- presentes.....[9] síntomas leves o ausentes
13. Puntos de control esenciales:
Los resultados de los ensayos pueden variar ligeramente en cuanto a la presión del inóculo debido a las diferencias relativas a los
aislados, la concentración de esporas, la humedad de la tierra y la temperatura.

⁵ Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl

⁶ GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Texto actual:

Ad. 49: Resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (Forl)

Método

Mantenimiento de la raza

Tipo de medio: en medio PDA o sintético (según Messiaen)

Condiciones especiales: en frigorífico a 4° C

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: aparición de la tercera hoja

Temperatura: diurna: 22° C, nocturna: 16° C

Luz: 14 horas

Método de cultivo: en sala climatizada o invernadero

Método de inoculación: inmersión de las raíces y del eje del hipocotilo durante cinco minutos en la solución de inóculo

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: 18 a 20 días
- desde la inoculación a la evaluación: 10 días

Número de plantas examinadas: 10 a 20 plantas

Observaciones: se precisa una renovación frecuente de las razas debido a la pérdida de la capacidad patógena

Variedades estándar:

- susceptibles: Motelle
- resistentes: - Momor (homocigótica)
 - F1 Momor x Motelle (heterocigótica)
 - el gen FrI no controla completamente la enfermedad en la fase heterocigótica.

Propuesta:

Ad 49: Resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl)

1. Agentes patógenos *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo Naktuinbouw⁷ (NL) y GEVES⁸ (FR)
5. Aislado -
7. Establecimiento de la capacidad patógena síntomas en tomates susceptibles Multiplicación del inóculo
- 8.1 Medio de multiplicación papa-dextrosa-agar o medio agar "S" de Messiaen
- 8.4 Medio de inoculación agua para raspar las placas de agar o medio de cultivo Czapek-Dox (cultivo aireado de 7 días)
- 8.6 Cosecha del inóculo filtrar a través de una capa doble de muselina
- 8.7 Comprobación del inóculo cosechado recuento de esporas (ajustar a 10⁶ por ml)
- 8.8 Período de conservación/viabilidad del inóculo de 4 a 8 horas (mantener a baja temperatura para evitar la germinación de las esporas)
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo 20 plantas como mínimo
- 9.2. Número de réplicas 1 réplica
- 9.3 Variedades de control
- Susceptibles: Motelle, Moneymaker
- Resistentes: Momor, "Momor x Motelle"
- Observación: la resistencia de "Momor x Motelle" es ligeramente menor que la de Momor
- 9.4 Diseño del ensayo >20 plantas; p.ej., 35 semillas para 24 plantas (incluidas 2 de control)
- 9.5 Instalación del ensayo invernadero o sala climatizada
- 9.6 Temperatura de 24 a 28°C (ensayo severo, con aislamiento moderado)
de 17 a 24°C (ensayo moderado, con aislamiento severo)
- 9.7 Luz 12 horas al día como mínimo
- 9.8 Estación cualquier estación
- 9.9 Medidas especiales una tierra de turba ligeramente ácida resulta óptima; mantener la tierra húmeda pero evitar el estrés hídrico
10. Inoculación
- 10.1 Preparación del inóculo cultivo aireado o raspado de placas
- 10.2 Cuantificación del inóculo recuento de esporas (ajustar a 10⁶ por ml)
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación de 12 a 18 días (de cotiledón a tercera hoja)
- 10.4 Método de inoculación inmersión de las raíces y los hipocótilos en una suspensión de esporas durante 5 a 15 minutos
- 10.7 Observaciones finales de 10 a 21 días después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método visual; al final del ensayo se recogen algunas plantas
- 11.2 Escala de observación Síntomas:
muerte de la planta, retraso del crecimiento a causa de la degradación de las raíces, degradación de las raíces, puntos necróticos y lesiones necróticas en los tallos
- 11.3 Validación del ensayo la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
ausentes [1] síntomas
presentes [9] ausencia de síntomas
13. Puntos de control esenciales: La temperatura no debe superar nunca los 27°C durante el período de ensayo; puede ser necesario renovar frecuentemente las razas debido a la pérdida de la capacidad patógena.

⁷ Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl

⁸ GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Texto actual:

Ad. 50.1 – 50.6 Resistencia a *Fulvia fulva* (Ff) (ex *Cladosporium fulvum*)

Método

Mantenimiento de las razas

Tipo de medio: medio PDA o sintético

Condiciones especiales: subcultivo de aislados

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: 3 hojas desarrolladas

Temperatura: diurna: 24° C, nocturna: 16° C

Luz: 12 horas

Método de cultivo: en sala climatizada, con el mayor nivel de humedad posible, reducir el crecimiento pocos días antes de la inoculación regando las raíces con ALAR 85 (daminozoides), o en invernadero con alto nivel de humedad, por ejemplo, bajo una cobertura de polietileno.

Método de inoculación: pulverizar una solución con los hongos sobre las hojas.

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: 22 a 25 días
- desde la inoculación a la evaluación: 20 a 25 días

Número de plantas examinadas: 30 plantas

Observaciones: el nivel de expresión de los síntomas puede variar entre las plantas debido a la complejidad de la genética de la resistencia

Variedades estándar:

- susceptibles: Monalbo
- resistentes: deben escogerse con los alelos pertinentes.
 - cf1: Stirling Castle
 - cf2: Vetomold
 - cf3: V 121
 - cf4: Purdue 135
 - cf5: IVT 1149
 - cf2 cf4: Vagabond
 - cf2 cf5: F1 "Vetomold x IVT 1149"
 - cf2 cf4 cf5: F1 "Vagabond x IVT 1149"
 - cf6: F 77-38
 - cf9: IVT 1154

Raza 0: Angela, Estrella, Sonatine, Sonato, Vemone
Grupo A: Angela, Estrella, Sonatine, Sonato
Grupo B: Angela, Estrella, Sonatine, Sonato, Vemone
Grupo C: Angela, Estrella, Sonatine
Grupo D: Estrella, Sonatine, Vemone
Grupo E: Sonatine

Propuesta:

Ad 50: Resistencia a *Fulvia fulva* (Ff) (ex *Cladosporium fulvum*)

1. Agentes patógenos *Fulvia fulva* (ex *Cladosporium fulvum*)
 3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
 4. Fuente del inóculo Naktuinbouw⁹ (NL) o GEVES¹⁰ (FR)
 5. Aislado Grupos de razas 0, A, B, C, D y E
 6. Establecimiento de la identidad del aislado..... con variedades diferenciales genéticamente definidas procedentes de GEVES (FR)
. A supera la resistencia de Cf-2, B la de Cf-4, C la de Cf-2 y Cf-4, D la de Cf-5, E la de Cf-2, Cf-4 y Cf-5
 7. Establecimiento de la capacidad patógena síntomas en tomates susceptibles
 8. Multiplicación del inóculo
 - 8.1 Medio de multiplicación papa-dextrosa-agar, o malta agar o un medio sintético
 - 8.8 Período de conservación/viabilidad del inóculo 4 horas (mantener a baja temperatura)
 9. Formato del examen
 - 9.1 Número de plantas por genotipo más de 20 plantas
 - 9.2. Número de réplicas 1 réplica
 - 9.3 Variedades de control
 - Susceptibles: Monalbo, Moneymaker
 - Resistentes a la raza 0: Angela, Estrella, Sonatine, Sonato, Vemone, Vagabond, IVT 1149, Vagabond x IVT 1149, IVT 1154
 - Resistentes al grupo de razas A: Angela, Estrella, Sonatine, Sonato
 - Resistentes al grupo de razas B: Angela, Estrella, Sonatine, Sonato, Vemone
 - Resistentes al grupo de razas C: Angela, Estrella, Sonatine
 - Resistentes al grupo de razas D: Estrella, Sonatine, Vemone
 - Resistentes al grupo de razas E: Sonatine, Jadviga, Rhianna, IVT 1154
 - 9.5 Instalación del ensayo..... invernadero o sala climatizada
 - 9.6 Temperatura..... día: 22° C, noche: 20° o día: 25°C, noche 20°C
 - 9.7 Luz 12 horas como mínimo
 - 9.9 Medidas especiales..... en función del local y del clima, puede ser necesario aumentar la humedad, p. ej., campana de humedad cerrada 3 a 4 días después de la inoculación y después de esto, 66% hasta 80% cerrada durante el día hasta el final
 10. Inoculación
 - 10.1 Preparación del inóculo..... preparar placas colonizadas de manera uniforme (una por cada 36 plantas); extraer las esporas de las placas raspando con agua desmineralizada con Tween20; filtrar a través de una capa doble de muselina
 - 10.2 Cuantificación del inóculo..... recuento de esporas (ajustar a 10⁵ por ml o más)
 - 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación de 19 a 20 días (incluidos 12 días a 24°C), 2 a 3 hojas
 - 10.4 Método de inoculación pulverizar sobre hojas secas
 - 10.7 Observaciones finales 14 días después de la inoculación
 11. Observaciones
 - 11.1 Método inspección visual de la cara abaxial de las hojas inoculadas
 - 11.2 Escala de observación Síntoma: manchas blancas y aterciopeladas
 - 11.3 Validación del ensayo la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.
 12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
ausentes [1] síntomas
presentes..... [9] ausencia de síntomas
- Una humedad excesivamente alta puede producir manchas marrones acentuadas en todas las hojas. Estas no se consideran como plantas fuera de tipo.
13. Puntos de control esenciales:
El tamaño y la forma de las esporas Ff son variables. Las esporas pequeñas también son viables.
Las placas con los cultivos fúngicos se hacen gradualmente estériles en el transcurso de 6 a 10 semanas. Los cultivos de buena calidad deben conservarse a -80°C.
No es posible mantener las plantas más de 14 días dentro de una campana por razones prácticas.

⁹ Naktuinbouw: resistentie@naktuinbouw.nl
¹⁰ GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Texto actual:

Ad. 51.1 – 51.3: Resistencia al virus del mosaico del tomate (ToMV), Cepas 0, 1 y 2

Método

Mantenimiento de las cepas

Las cepas se almacenan a largo plazo como hojas deshidratadas a una temperatura inferior a 10°C. Se utiliza la raza 0 representada por aislado INRA Avignon 6-5-1-1 (cepa mosaico aucuba). Los virus deberían reproducirse en el control susceptible antes de utilizarlos para la inoculación del examen.

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas

Las plantas se cultivan en invernadero o en cámaras de cultivo desde la aparición de los cotiledones (brote de las primeras hojas) hasta la aparición de dos hojas desarrolladas.

En cada ensayo se incluye al menos una variedad estándar resistente y una variedad estándar susceptible.

Como controles se utilizan las siguientes variedades: cada línea estará representada por un fenotipo de resistencia como mínimo que pueden elegirse de entre las variedades indicadas; se indica el fenotipo de resistencia a los 3 patotipos de ToMV. Las variedades Mobaci y Moperou permitirán comprobar la identificación del patotipo del virus. Las variedades Monalbo x Momor contribuirán a interpretar los distintos fenotipos de resistencia con necrosis.

Variedad	Fenotipo de resistencia		
	ToMV:0	ToMV:1	ToMV:2
Marmande, Monalbo	S	S	S
Mobaci	R	S	R
Moperou	R	R	S
Monalbo x Momor	RN	RN	RN
Momor, Gourmet	R	R	R

R = resistencia presente; sin síntomas.

RN = resistencia presente; una proporción variable de plantas muestra algo de necrosis o mucha necrosis; todas las demás plantas no presentan síntomas.

S = resistencia ausente; síntomas del mosaico.

Temperatura:

El examen se efectúa en cámaras climatizadas o en invernadero a una temperatura de 24 a 26°C. A temperaturas más altas, la resistencia puede quebrantarse.

Inóculo y método de inoculación

Inoculación mecánica por frotación de cotiledones (brote de las primeras hojas) o de dos hojas desarrolladas con una solución de inóculo consistente en hojas sintomáticas molidas en un amortiguador con carborundo añadido. Las hojas pueden lavarse después de la inoculación. La luz es importante para la expresión del síntoma.

Duración del ensayo

De 24 a 42 días desde la siembra hasta la notación.

Número de plantas examinadas:

20 plantas como mínimo.

Notación:

De 12 a 21 días después de la inoculación, cuando los síntomas están bien desarrollados en el control susceptible.

Escala de notación e interpretación de los resultados:

R: sin síntomas o con necrosis (la necrosis puede observarse en plantas heterocigóticas; para genes de resistencia, estas plantas se anotan como resistentes).

S: síntomas del mosaico.

Propuesta:

Ad 51: Resistencia al virus del mosaico del tomate (ToMV)

1. Agentes patógenos Virus del mosaico del tomate
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo..... Naktuinbouw¹¹ (NL) o GEVES¹² (FR)
5. Aislado Cepa 0 (p.ej., aislado INRA Avignon 6-5-1-1) 1 y 2
6. Establecimiento de la identidad del aislado..... variedades estándar de tomate genéticamente definidas Mobaci (Tm1), Moperou (Tm2), Momor (Tm2²)
7. Establecimiento de la capacidad patógena en plantas susceptibles
8. Multiplicación del inóculo
- 8.1 Medio de multiplicación planta viva
- 8.2 Variedad para la multiplicación p. ej., Moneymaker, Marmande
- 8.7 Comprobación del inóculo cosechado opcionalmente: en *Nicotiana tabacum* "Xanthi"; comprobar las lesiones al cabo de 2 días
- 8.8 Período de conservación/viabilidad del inóculo fresco, más de 1 día; desecado, más de 1 año
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo 20 plantas como mínimo
- 9.2. Número de réplicas 1 réplica
- 9.3 Variedades de control
- Susceptibles Marmande, Monalbo
- Resistentes al ToMV: 0 y 2 Mobaci
- Resistentes al ToMV: 0 y 1 Moperou
- Resistentes con necrosis "Monalbo x Momor"
- Resistentes Gourmet
- 9.4 Diseño del ensayo..... tratamiento de control con PBS y carborundo, o tampón similar
- 9.5 Instalación del ensayo..... invernadero o sala climatizada
- 9.6 Temperatura..... de 24 a 26°C
- 9.7 Luz 12 horas como mínimo
- 9.8 Estación los síntomas son más notorios en verano
10. Inoculación
- 10.1 Preparación del inóculo..... 1 g de hojas con síntomas y 10 ml de PBS, o tampón similar. Homogeneizar y añadir carborundo al tampón (1 g/30 ml)
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación cotiledones o 2 hojas
- 10.4 Método de inoculación frotar suavemente
- 10.7 Observaciones finales de 11 a 21 días después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método visual
- 11.2 Escala de observación Síntomas de susceptibilidad: mosaico apical, deformación de las hojas; síntomas de resistencia (debida a hipersensibilidad): necrosis local, necrosis apical, necrosis sistémica
- 11.3 Validación del ensayo la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.

Observación: En algunas variedades heterocigóticas, es posible que una proporción variable de plantas presenten una intensa necrosis sistémica o algunas manchas necróticas y otras plantas no presenten síntomas. Dicha proporción puede variar de un experimento a otro.

12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
- ausente [1] síntomas de susceptibilidad
- presente..... [9] sin síntomas, o con síntomas de resistencia por hipersensibilidad

13. Puntos esenciales de control:

La temperatura y la luz pueden influir en el grado de necrosis. Cuanta más luz, mayor será el grado de necrosis. A temperaturas por encima de los 26°C la resistencia puede quebrantarse.

En las variedades heterocigotas resistentes puede haber plantas sin síntomas y plantas con necrosis intensa; a pesar de esta aparente segregación, la muestra puede considerarse homogénea con respecto a la resistencia.

Observación: Para el ToMV: 0 se recomienda la cepa INRA Avignon 6-5-1-1. Dicha cepa produce un llamativo mosaico Aucuba de color amarillo.

¹¹ Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl
¹² GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Texto actual:

Ad. 52: Resistencia a *Phytophthora infestans* (Pi)

Método

Mantenimiento de la raza

Tipo de medio: medio en agar

Condiciones especiales: 18° C

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: 10 hojas desarrolladas

Temperatura: 18° C

Luz: tras la inoculación, oscuridad durante 24 horas, a partir de ese momento, 10 horas de oscuridad por día

Método de cultivo: en sala climatizada o invernadero

Método de inoculación: pulverizar una suspensión de esporas, aislado tomado recientemente de las hojas

Duración del ensayo

- desde la cosecha hasta la inoculación: 6 a 7 semanas
- desde la inoculación a la evaluación: 7 a 8 días

Humedad: muy alta durante los cuatro primeros días después de la inoculación (cubrir las plantas con una cobertura de polietileno)

Observaciones: los heterocigotos pueden mostrar un nivel de expresión de resistencia inferior

Variedades estándar:

- susceptibles: Saint Pierre, Heinz 1706
- resistentes: Peraline, Heline, Pyros
F1 "Peraline x Peralbo"

Propuesta:

Ad 52: Resistencia a *Phytophthora infestans* (Pi)

1. Agentes patógenos.....	<i>Phytophthora infestans</i>
3. Especies huéspedes	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Fuente del inóculo	
5. Aislado	altamente patógeno en el tomate
6. Establecimiento de la identidad aislado	bioensayo
7. Establecimiento de la capacidad patógena.....	bioensayo
8. Multiplicación del inóculo.....	
8.1 Medio de multiplicación	V8 Agar o PDA o medio agar de malta
8.2 Variedad para la multiplicación.....	variedad susceptible de tomate
8.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación.....	4 semanas
8.4 Medio de inoculación	agua
8.5 Método de inoculación.....	pulverización
8.6 Cosecha del inóculo	se retiran las esporas de las placas mojadas
8.7 Comprobación del inóculo cosechado	contabilización de las esporangiosporas
8.8 Periodo de conservación o viabilidad del inóculo	4 horas tras refrigeración a 8-10°C
9. Formato del examen.....	
9.1 Número de plantas por genotipo ...	20 plantas
9.2 Número de réplicas.....	1 réplica
9.3 Variedades de control.....	
Susceptibles	Saint Pierre, Heinz 1706
Resistentes	Pieraline, Heline, Pyros, "Pieraline x Pieralbo", Fline
Observación:	las variedades heterocigóticas pueden presentar un nivel de expresión de resistencia ligeramente inferior.
9.5 Instalación del ensayo	invernadero
9.6 Temperatura	18°C
9.7 Luz	tras la inoculación, oscuridad durante 24 horas, a partir de ese momento, 10 horas de oscuridad por día (24h)
9.9 Medidas especiales	campana de humedad durante 4 días después de la inoculación
10. Inoculación.....	
10.1 Preparación del inóculo.....	retirar las esporas de las hojas, refrigerar a 8-10°C la refrigeración producirá la liberación de zoosporas
Observación	utilizar esporas frescas a partir de la repetición de los ciclos de infección en la planta del tomate durante 3 semanas antes de la inoculación
10.2 Cuantificación del inóculo.....	contabilización de las esporangiosporas; ajustar a 104 esporas por ml
10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación.....	10 hojas desarrolladas (6 a 7 semanas)
10.4 Método de inoculación.....	pulverización
10.7 Observaciones finales	5-7 días tras la inoculación
11. Observaciones.....	
11.1 Método.....	visual
11.2 Escala de observación	síntomas: lesiones impregnadas, amarilleo y muerte
11.3 Validación del ensayo.....	la evaluación de la resistencia de la variedad debe calibrarse a partir de los resultados de los controles de resistencia y susceptibilidad
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control	
ausentes	[1] síntomas severos
presentes	[9] ausencia de síntomas o síntomas leves
13. Puntos esenciales de control:.....	la resistencia sólo se manifiesta adecuadamente en la planta adultas

Propuesta:

Ad 53: Resistencia a *Pyrenochaeta lycopersici* (PI)

1. Agentes patógenos.....*Pyrenochaeta lycopersici*
3. Especies huéspedes*Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo-
5. Aislado-
7. Establecimiento de la capacidad patógena.....bioensayo
8. Multiplicación del inóculo
 - 8.1 Medio de multiplicaciónV8 agar
 - 8.2 Variedad para la multiplicación.....variedad susceptible de tomate
 - 8.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculaciónsemilla
 - 8.4 Medio de inoculaciónmezcla de tierra (70%), arena (20%) e inóculo (10.1) (10%) o tierra mezclada con raíces enfermas cortadas en trozos pequeños
 - 8.5 Método de inoculación.....siembra, o trasplante del fruto en estado de madurez
 - 8.6 Cosecha del inóculolas raíces enfermas se recogen al cabo de 2 a 4 meses
 - 8.7 Comprobación del inóculo cosechado.....inspección visual de las lesiones en las raíces
 - 8.8 Período de conservación/viabilidad del inóculo.....el hongo no muere rápidamente, pero puede perder su capacidad patógena en el transcurso de una semana tras su aislamiento en agar
9. Formato del examen
 - 9.1 Número de plantas por genotipo20 plantas
 - 9.2. Número de réplicas.....1 réplica
 - 9.3 Variedades de control
- Susceptibles:Montfavet H 63.5
- Resistentes:Kyndia, Moboglan, Pyrella
- 9.5 Instalación del ensayoinvernadero o cámara climatizada
- 9.6 Temperaturadiurna: 24°C, nocturna: 14°C
- 9.7 Luz12 horas como mínimo
10. Inoculación
 - 10.1 Preparación del inóculop. ej., mezcla de tierra y un 10% de harina de avena, esterilizada dos veces en autoclave p. ej., incubar durante 10 a 14 días a 20°C, volteando varias veces ocasionalmente
 - 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación6 semanas
 - 10.4 Método de inoculación.....trasplantar a la mezcla de tierra, arena e inóculo (8.4) o a tierra mezclada con raíces enfermas cortadas en trozos pequeños, o tierra infectada de forma natural
 - 10.7 Observaciones finales6 a 8 semanas después del trasplante (planta en floración)
11. Observaciones
 - 11.1 Método.....visual
 - 11.2 Escala de observaciónSíntomas: lesiones de color pardo en las raíces
 - 11.3 Validación del ensayo.....la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
 - ausentes[1] síntomas
 - presentes[9] ausencia de síntomas
13. Puntos de control esenciales:
El hongo pierde rápidamente su capacidad patógena tras su aislamiento en agar. Es aconsejable mantener el aislado vivo en plantas vivas.

Texto actual:

Ad. 54: Resistencia a *Stemphylium*

Método

Mantenimiento del aislamiento

Tipo de medio: en medio PDA o sintético

Condiciones especiales: frigorífico a 4° C sin luz

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: tres hojas desarrolladas

Temperatura: constante, diurna: 24° C, nocturna: 24° C

Luz: 12 horas

Método de desarrollo: invernadero o sala climatizada

Método de inoculación: pulverización sobre las hojas

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: 20 a 22 días
- desde la inoculación a la evaluación: 10 días

Número de plantas examinadas: 30 plantas

Observaciones: producción del inóculo en medio V8 bajo la luz
Variedades estándar: susceptibles: Monalbo
resistentes: Motelle, F1 Motelle x Monalbo

Propuesta:

Ad 54: Resistencia a *Stemphylium* spp. (Ss)

1. Agentes patógenos..... *Stemphylium* spp. p.ej. *Stemphylium solani*
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo GEVES (FR)
5. Aislado -
7. Establecimiento de la capacidad patógena..... bioensayo
8. Multiplicación del inóculo
- 8.1 Medio de multiplicación PDA (12 horas al día bajo luz del ultravioleta cercano para inducir la esporulación) o V8
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo 20 planta como mínimo
- 9.2. Número de réplicas..... 1 réplica
- 9.3 Variedades de control
- Susceptibles: Monalbo
- Resistentes: Motelle, F1 Motelle x Monalbo
- 9.5 Instalación del ensayo invernadero o cámara climatizada
- 9.6 Temperatura 24°C
- 9.7 Luz 12 horas como mínimo
- 9.9 Medidas especiales incubación en túnel con una humedad relativa del 100% o campana de humedad cerrada 5 días después de la inoculación, después de ello, 80% hasta el final
10. Inoculación
- 10.1 Preparación del inóculo Las placas de esporulación (8.1) se raspan y se dejan secar al aire durante la noche.
..... Al día siguiente, las placas se sumergen en un vaso de precipitados con agua desmineralizada y se remueven durante 30 minutos, o las placas de esporulación se raspan con agua con Tween
..... La suspensión de esporas se filtra a través de una capa doble de muselina.
- 10.2 Cuantificación del inóculo..... $5,10^3 - 10^5$ esporas por ml
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación de 20 a 22 días (tres hojas desarrolladas)
- 10.4 Método de inoculación..... pulverización
- 10.7 Observaciones finales de 4 a 10 días después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método..... visual
- 11.2 Escala de observación Síntomas: lesiones necróticas en los cotiledones y hojas; amarilleo de las hojas
- 11.3 Validación del ensayo..... la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
- ausentes [1] síntomas (11.2)
- presentes [9] sin síntomas o con menos que la variedad estándar resistente
13. Puntos de control esenciales:..... 8.1 y 10.1

Nota: Algunos aislados de *Stemphylium* no pueden clasificarse fácilmente como *Stemphylium solani* o una especie relacionada. No obstante, dichos aislados de *Stemphylium* pueden resultar útiles para determinar la resistencia a *Stemphylium solani*.

Texto actual:

Ad. 55: Resistencia a *Pseudomonas syringae* pv. tomato (Pst)

Método

Mantenimiento de las razas

Tipo de medio: en medio King B
Condiciones especiales: 20 a 22° C a oscuras, efectuando un transplante cada 10 días

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: tres hojas desarrolladas
Temperatura: diurna: 22° C, nocturna: 16° C
Luz: 12 horas
Método de cultivo: sala climatizada en verano, invernadero en invierno
Método de inoculación: pulverización sobre las hojas

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: 20 a 22 días
- desde la inoculación a la evaluación: 8 días

Número de plantas examinadas: 30 plantas
Observaciones: las razas deben renovarse cada año

Variedades estándar: susceptibles: Monalbo
resistentes: Ontario 7710, F1 Monalbo x Ontario 7710

Propuesta:

Ad 55: Resistencia a *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst)

1. Agentes patógenos.....	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
3. Especies huéspedes	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Fuente del inóculo	GEVES ¹³ (FR) o Naktuinbouw ¹⁴ (NL)
5. Aislado	
6. Establecimiento de la identidad aislado	
7. Establecimiento de la capacidad patógena	bioensayo
8. Multiplicación del inóculo.....	
8.1 Medio de multiplicación	medio King's B agar, oscuridad
8.2 Multiplicación de la variedad	variedad susceptible
8.4 Medio de inoculación.....	agua
8.8 Periodo de conservación o viabilidad del inóculo	las placas envejecen al cabo de 10 días
9. Formato del examen.....	
9.1 Número de plantas por genotipo ...	20 plantas como mínimo
9.2 Número de réplicas.....	1 réplica
9.3 Variedades de control.....	
Susceptible:	Monalbo
Resistente:	Ontario 7710, "Monalbo x Ontario 7710", Tradiro, Hypeel 45
9.5 Instalación del ensayo	invernadero o cámara de cultivo
9.6 Temperatura	día: 22° C, noche: 16° C o 20°C
9.7 Luz	12 horas
9.9 Medidas especiales	campana de humedad necesaria durante 3 días o más
10. Inoculación.....	
10.1 Preparación del inóculo	retirar las esporas de la placa. La placa no debe tener más de 2-4 días
10.2 Cuantificación del inóculo.....	dilución en placas, densidad de 10 ⁶ unidades que forman colonias por ml
10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación	tres hojas desarrolladas (20-22 días)
10.4 Método de inoculación.....	pulverizar una suspensión de bacterias en las hojas
10.7 Observaciones finales	8 días a partir la inoculación o más
11. Observaciones.....	
11.1 Método.....	visual
11.2 Escala de observación	mancha bacterial, apariencia grasa con clorosis marginal lesiones identificadas < 1.0 mm
11.3 Validación del ensayo.....	la evaluación de la resistencia de la variedad debe calibrarse a partir de los resultados de los controles de resistencia y susceptibilidad
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control	
ausente	[1] mancha bacterial
presente.....	[9] ausencia de síntomas o de lesiones identificadas
13. Puntos esenciales de control:.....	las cepas pueden perder virulencia en el almacenamiento

¹³ GEVES; Valerie.GRIMAUULT@geves.fr

¹⁴ Naktuinbouw; resistantie@naktuinbouw.nl

Texto actual:

Ad. 56: Resistencia a *Ralstonia solanacearum* (Rs), raza 1

Método

Mantenimiento de la raza : dos razas pueden afectar al tomate: raza 1 (activa entre 25 y 30° C) y raza 3 (activa entre 20 y 23° C)

Tipo de medio: congelación a -80° C; cultivo en PYDAC inmerso en aceite; suspensión en agua destilada estéril

Condiciones especiales: conservación a 15° C en agua destilada estéril

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: tres a cuatro hojas bien desarrolladas

Temperatura (en sala climatizada): diurna: de 26 a 30° C, nocturna: 25° C

Luz: 10 a 12 horas

Método de cultivo: 2 posibilidades:
- en cámara climatizada: ensayo rápido
- en campo abierto: ensayo largo (aplicable solamente en clima tropical)

Método de inoculación: depositar al menos 2 ml de inóculo, a 10^7 colonias por ml, en el pie de cada plántula antes de plantarlas

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: 3 a 4 semanas
- desde la inoculación a la evaluación:
 - 3 semanas para el ensayo rápido
 - 2 meses para el ensayo largo

Número de plantas examinadas: 30 como mínimo

Observaciones: mantener un nivel elevado de humedad

Variedades estándar:
- susceptibles: Floradel
- resistentes: Caraïbo

Propuesta:

Ad 56: Resistencia a *Ralstonia solanacearum*, raza 1 (Rs)

1. Agentes patógenos.....	<i>Ralstonia solanacearum</i> (ex <i>Pseudomonas solanacearum</i>)
2. Quarantine status	sí
3. Especies huéspedes	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Fuente del inóculo	
5. Aislado	la raza 1 tiene una amplia gama de huéspedes, incluido el tomate la raza 3 tiene una pequeña gama de huéspedes, también incluido el tomate
8. Multiplicación del inóculo.....	
8.1 Medio de multiplicación	Yeast Peptone Glucose (YPG) Agar o PYDAC
Condiciones especiales:.....	25-30°C (la raza 3 necesita normalmente 20-23°C)
8.5 Método de inoculación.....	2 ml del inóculo en el pie de cada plántula antes de plantarlas
8.8 Periodo de conservación o viabilidad del inóculo	suspensión en agua destilada estéril 15°C (<1 de un año)
9. Formato del examen.....	
9.1 Número de plantas por genotipo ...	20 plantas
9.2 Número de réplicas.....	1 réplica
9.3 Variedades de control.....	
Susceptible:	Floradel
Resistente.....	Caraibo
9.5 Instalación del ensayo	sala climatizada
9.6 Temperatura	día: 26-30° C; noche: 25° C
9.7 Luz	10 - 12 horas
9.9 Medidas especiales	alta humedad
10. Inoculación.....	
10.2 Cuantificación del inóculo.....	densidad de 10^7 unidades que forma colonias por ml
10.3 Estado de desarrollo en el Momento de la inoculación.....	de 3 a 4 hojas bien desarrolladas (3 semanas)
10.4 Método de inoculación.....	
10.7 Observaciones finales	3 semanas tras la inoculación
11. Observaciones.....	en variedades de resistencia intermedia, la parte inferior de la planta podría presentar bacterias
11.3 Validación del ensayo.....	la evaluación de la resistencia de la variedad debe calibrarse a partir de los resultados de los controles de resistencia y susceptibilidad
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control	
ausente	[1] síntomas
presente.....	[9] sin síntomas, o menos que la variedad estándar resistente
13. Puntos de control esenciales:	
<i>Ralstonia solanacearum</i> tiene un estado de cuarentena en algunos países y está en la lista de alertas de la EPPO.	

Texto actual:

Ad. 57: Resistencia a Begomovirus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)

Método

Ejecución del ensayo: las plantas se examinan en condiciones de cultivo a campo abierto respetando los periodos de plantación y lugares en que se haya demostrado que existe la enfermedad. Se cultiva el 100% de plantas contaminadas de variedades locales susceptibles, a fin de garantizar la transmisión natural por medio del insecto *Bemisia* y la reproductibilidad de los resultados

Estado de desarrollo de las plantas: en plantas adultas de cultivos a campo abierto

Método de inoculación: inoculación natural por *Bemisia*

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: 6 semanas como mínimo
- desde la inoculación a la evaluación: 2,5 meses como máximo

Número de plantas examinadas: 20 plantas como mínimo

Observaciones:

Variedades estándar:
- susceptibles: variedades locales
- resistentes: TY 20 o accesiones de *L.pimpinellifolium* y *L. peruvianum*

Propuesta:

Ad 57: Resistencia al virus del enrollamiento del bronceado de la hoja (TYLCV)

1. Agentes patógenos.....Virus del enrollamiento del bronceado de la hoja (TYLCV)
2. Estado de cuarentenasí
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo-
5. Aislado-
8. Multiplicación del inóculo
- 8.6 Cosecha del inóculolas hojas con síntomas pueden conservarse a -70°C
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo20 plantas
- 9.2. Número de réplicas.....1 réplica
- 9.3 Variedades de control
- Susceptibles:Montfavit H 63.5
- Resistentes:TY 20, Anastasia, Mohawk
- 9.5 Instalación del ensayocampo con presión natural de la enfermedad
- 9.9 Medidas especialesevitar la propagación de moscas blancas
10. Inoculación
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento
de la inoculaciónde 6 a 12 semanas (plantas adultas)
- 10.4 Método de inoculación.....vector (moscas blancas *Bemisia* portadoras del TYLCV)
- 10.7 Observaciones finalesde 1 a 2 meses después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Métodovisual
- 11.2 Escala de observaciónSíntomas: amarilleo y rizado de las hojas
- 11.3 Validación del ensayo.....la evaluación de la resistencia de la variedad deberá
calibrarse con los resultados de los controles resistentes y
susceptibles.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
ausentes[1] síntomas intensos
presentes[9] síntomas ausentes o leves
13. Puntos de control esenciales:
El TYLCV es endémico en muchas zonas tropicales y subtropicales y está sujeto a cuarentena en muchos países de clima templado. El TYLCV figura en la lista de alertas de la EPPO. Algunas variedades resistentes al TYLCV pueden ser susceptibles a otro virus estrechamente relacionado, el de la hoja en cuchara de Cerdeña (TYLCSV).

Texto actual:

Ad. 58: Resistencia a Tospovirus del bronceado de tomate (TSWV), raza 0

Método

Mantenimiento de las razas

Tipo de medio: en plantas de tomate o congelación a -70°C

Condiciones especiales:

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: una o dos hojas desarrolladas

Temperatura: diurna: 20°C , nocturna: 20°C

Luz: luz adicional en invierno

Método de cultivo: en invernadero

Método de inoculación: mecánica, frotando los cotiledones con carborundo, suspensión del inóculo a $< 10^{\circ}\text{C}$

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: 20 días
- desde la inoculación a la evaluación: 14 a 20 días

Número de plantas examinadas: 15 a 30 plantas

Observaciones: téngase cuidado con los thrips

Variedades estándar:

- susceptibles: Monalbo
- resistentes: Tsunami, Bodar, Lisboa

Propuesta:

Ad 58: Resistencia al virus del bronceado del tomate (TSWV)

1. Agentes patógenos.....Virus del bronceado del tomate
2. Estado de cuarentenasí
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo Naktuinbouw¹⁵ (NL) o GEVES (FR)
5. Aisladoraza 0, preferiblemente una variante no transmisible por tisanópteros (trips)
7. Establecimiento de la capacidad patógena.....bioensayo
8. Multiplicación del inóculo
- 8.6 Cosecha del inóculolas hojas con síntomas pueden conservarse a -70°C
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo20 plantas
- 9.2. Número de réplicas..... 1 réplica
- 9.3 Variedades de control
- Susceptibles:Monalbo, Momor, Montfavet H 63.5
- Resistentes:Tsunami, Bodar, Mospomor, Lisboa
- 9.5 Instalación del ensayoinvernadero o sala climatizada
- 9.6 Temperatura20°C
- 9.7 Luz 12 horas como mínimo
- 9.9 Medidas especialesprevenir o combatir los trips
10. Inoculación
- 10.1 Preparación del inóculopresionar las hojas con síntomas en un tampón helado a PBS 0,01 M, pH 7,4, con sulfito de sodio 0,01 M o tampón similar
.Opcionalmente: filtrar la savia de las hojas a través de una capa doble de muselina
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculaciónuna o dos hojas desarrolladas
- 10.4 Método de inoculación.....mecánica, frotando los cotiledones con carborundo, suspensión de inóculo <10°C
- 10.7 Observaciones finalesde 7 a 21 días después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método.....visual
- 11.2 Escala de observaciónSíntomas: mosaico apical, bronceado, diversas deformaciones, necrosis
- 11.3 Validación del ensayo.....la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
ausentes[1] síntomas
presentes[9] ausencia de síntomas
13. Puntos de control esenciales:
El TSWV está sujeto a cuarentena en algunos países. El TSWV se transmite mediante *Thrips tabaci* y el trips occidental de las flores (*Frankliniella occidentalis*). El patotipo 0 se caracteriza por su incapacidad para superar la resistencia en variedades de tomate portadoras del gen de resistencia Sw-5.

¹⁵ Naktuinbouw; resistantie@naktuinbouw.nl

Texto actual:

Ad. 59: Resistencia a *Leveillula taurica* (Lt)

Método

Mantenimiento de las razas

Tipo de medio: plantas de tomate

Condiciones especiales:

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: en plantas adultas de cultivos en campo abierto

Método de inoculación: infección natural

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: infección posible desde el momento de la plantación hasta el pleno desarrollo de las plantas
- desde la inoculación a la evaluación: antes de la cosecha

Número de plantas examinadas: 20 plantas

Observaciones: manchas cloróticas amarillas en el haz de las hojas; micelio en el envés de las hojas
Observar el cleistotecio en el microscopio para determinar si se relaciona realmente con la *Leveillula* y no con otro oidio

Variedades estándar:
- susceptibles: Monalbo
- resistentes: Atlanta

Propuesta:

Ad 59: Resistencia a *Leveillula taurica* (Lt)

1. Agentes patógenos.....	<i>Leveillula taurica</i>
3. Especies huéspedes	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Fuente del inóculo	no se dispone del método de almacenamiento a largo plazo
5. Aislado	
8.1 Medio de multiplicación	hojas separadas de una planta huésped susceptible
9. Formato del examen.....	
9.1 Número de plantas por genotipo ...	20 plantas
9.2 Número de réplicas.....	1 réplica
9.3 Variedades de control.....	
Susceptible:	Monalbo, Montfavet H 63.5
Resistente:.....	Atlanta
10. Inoculación.....	
10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación.....	plantas adultas
10.4 Método de inoculación.....	infección natural, principalmente por dispersión de las esporas causada por el viento
10.7 Observaciones finales	antes de la cosecha
11. Observaciones.....	
11.1 Método.....	visual
Observación:	observar el cleistotecio en el microscopio para confirmar la presencia de la <i>Leveillula</i> y no de otro oidio
11.3 Validación del ensayo.....	la evaluación de la resistencia de las variedades debe calibrarse a partir de los resultados de los controles de resistencia y susceptibilidad
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control	
ausente.....	[1] síntomas
presente.....	[9] sin síntomas, o menos que la variedad estándar
13. Puntos de control esenciales:	
Síntomas: puntos cloróticos amarillos en el haz de las hojas, micelio en la cara abaxial de las hojas	

Texto actual:

Ad. 60: Resistencia a *Oidium neolycopersici* (On) (ex *Oidium lycopersicum* (Ol))

Método

Mantenimiento de las razas

Tipo de medio: en plantas de tomate

Condiciones especiales: en sala climatizada

Ejecución del ensayo

Estado de desarrollo de las plantas: 3 semanas
Temperatura: diurna: 24°C, nocturna: 18°C
Luz: 12 horas

Método de inoculación: - pulverizando 10⁴ conidia/ml sobre las hojas
- espolvoreando (inóculo incontrolado) sobre las hojas

Ejecución del ensayo

Duración del ensayo

- desde la siembra a la inoculación: 18 a 20 días
- desde la inoculación a la evaluación: 15 a 18 días

Número de plantas examinadas: 30 plantas por parcela

Observaciones:

Escala de notas: - no esporulación }
- esporulación con extensión }Resistentes
(puntos necróticos) }
- esporulación moderada }
- esporulación abundante }Susceptibles

Variedades estándar: - susceptibles: Momor (*L. esculentum*).
- resistentes: *L. hirsutum* PI-247087 (accesión), Romiror

Propuesta:

Ad 60: Resistencia a *Oidium neolycopersici* (On)

1. Agentes patógenos..... *Oidium neolycopersici* (oídio)
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo -
5. Aislado véase la observación que figura en el punto 13
7. Establecimiento de la capacidad patógena bioensayo
8. Multiplicación del inóculo
 - 8.1 Medio de multiplicación planta
 - 8.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación 3 semanas
 - 8.4 Medio de inoculación agua
 - 8.5 Método de inoculación véase 10.4
 - 8.6 Cosecha del inóculo mediante lavado
 - 8.7 Comprobación del inóculo cosechado comprobación de la presencia de contaminantes al microscopio
 - 8.8 Período de conservación/viabilidad del inóculo de 1 a 2 horas
9. Formato del examen
 - 9.1 Número de plantas por genotipo 20 plantas
 - 9.2. Número de réplicas 1 réplica
 - 9.3 Variedades de control
Susceptibles: Momor, Montfavet H 63.5
Tomates resistentes: Atlanta, Romiro, PI-247087
 - 9.5 Instalación del ensayo invernadero
 - 9.6 Temperatura 20°C o de 18 a 24°C
 - 9.7 Luz 12 horas
10. Inoculación
 - 10.1 Preparación del inóculo recoger las esporas en agua
 - 10.2 Cuantificación del inóculo 10⁴ conidias/ml
 - 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación 3 semanas
 - 10.4 Método de inoculación pulverizar o rociar sobre las hojas
 - 10.7 Observaciones finales de 7 a 18 días después de la inoculación
11. Observaciones
 - 11.1 Método visual
 - 11.2 Escala de observación 0. ausencia de esporulación
.1. puntos necróticos y, ocasionalmente, esporulación escasa y localizada
.2. esporulación moderada
.3. esporulación abundante
 - 11.3 Validación del ensayo la evaluación de la resistencia de la variedad deberá calibrarse con los resultados de los controles resistentes y susceptibles.
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control
 - ausentes [1] esporulación moderada o abundante
 - presentes [9] esporulación ausente o escasa
13. Puntos de control esenciales:

Deben evitarse los aislados capaces de superar la resistencia. Por lo general, la resistencia a *O. neolycopersici* es específica para una raza. Sin embargo, mientras no se disponga de una serie diferencial de genotipos de tomate con resistencias bien definidas, será difícil determinar la existencia de diferentes razas de *O. neolycopersici*.

Texto actual:

Ad. 61: Resistencia al virus del torrado del tomate (ToTV)

Método

Mantenimiento de las razas

Tipo de medio:	material vegetal con síntoma, almacenado a -80° C
Multiplicación:	en <i>N. tabacum</i> 'Xanthi' 3 semanas antes del comienzo del experimento
Condiciones especiales:	utilizar procedimientos de cuarentena
Observaciones:	el mosquito blanco puede ser un vector de ToTV
Ejecución del ensayo	
Estado de desarrollo de las plantas:	inocular cuando los cotiledones están plenamente desarrollados, volver a inocular 7 días después en las primeras hojas propiamente dichas
Temperatura:	diurna: 23° C, nocturna: 21° C, evitar temperaturas superiores a 25°C
Luz:	luz adicional en invierno, 16 h. diarias, 8 h. nocturnas
Método de cultivo:	facilidades de cuarentena; invernadero
Método de inoculación:	refrigeración con hielo 0,01 M PBS pH 7 y carborundo
Duración del ensayo	
- desde la siembra a la inoculación:	14 días
- desde la inoculación a la evaluación:	14 a 21 días
Número de plantas examinadas:	20 a 30 plantas
Observaciones:	manchas necróticas en las hojas superiores de plantas susceptibles
Variedades estándar:	variedad estándar resistente: Matias

Nota: Patentes pendientes de concesión con respecto a parte del método: WO2006/085749 y WO2008/150158 y equivalentes. Utilizar exclusivamente a los fines del examen DHE y de elaboración de descripciones de variedades por parte de la UPOV y autoridades de miembros de la UPOV. Cortesía de De Ruiter Seeds R&D B.V./Monsanto Invest N.V.

Propuesta:

Ad 61: Resistencia al virus del torrado del tomate (ToTV)

1. Agentes patógenos.....	Virus del torrado del tomate
2. Estado de cuarentena	en regiones con clima templado
3. Especies huéspedes	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Fuente del inóculo	-
5. Aislado	-
7. Establecimiento de la capacidad patógena.....	bioensayo
8. Multiplicación del inóculo	
8.1 Medio de multiplicación	Nicotiana tabacum 'Xanthi'
8.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación.....	cotiledón de primera hoja
8.5 Método de inoculación.....	véase 10.4
8.6 Cosecha del inóculo	después de 3 semanas
8.7 Comprobación del inóculo cosechado	plantas amarillas, infección sistémica
8.8 Periodo de conservación o Viabilidad del inóculo	inestable a temperatura ambiente
9. Formato del examen.....	
9.1 Número de plantas por genotipo ...	20 plantas
9.2 Número de réplicas.....	1 réplica
9.3 Variedades de control.....	
Susceptible:	Daniela
Resistente al tomate:	Matias
9.5 Instalación del ensayo	invernadero
9.6 Temperatura	23°C de día; 21°C de noche
9.7 Luz	16 horas
10. Inoculación.....	
10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación.....	14 días
10.4 Método de inoculación.....	refrigeración con hielo 0,01 M PBS pH 7 y carborundo
10.5 Primera observación.....	7 días después de la inoculación
10.6 Segunda observación.....	14 días después de la inoculación
10.7 Observaciones finales	18 días después de la inoculación
11. Observaciones.....	
11.1 Método.....	visual
11.2 Escala de observación	manchas necróticas en las hojas superiores
11.3 Validación del ensayo.....	la evaluación de la resistencia de las variedades debe calibrarse a partir de los resultados de los controles de resistencia y susceptibilidad
12. Interpretación de los resultados del ensayo en comparación con las variedades de control	
ausente	[1] presencia de puntos necróticos
presente.....	[9] ausencia de síntomas
13. Puntos esenciales de control:	
El ToTV lo transmite el mosquito blanco (<i>Bemisia tabaci</i>). Produce inóculo con un mortero a 0 °C. Durante la inoculación la temperatura debe ser inferior a 25°C	

Nota: Patentes pendientes de concesión con respecto a parte del método: WO2006/085749 y WO2008/150158 y equivalentes. Utilizar exclusivamente a los fines del examen DHE y de elaboración de descripciones de variedades por parte de la UPOV y autoridades de miembros de la UPOV. Cortesía de De Ruiter Seeds R&D B.V./Monsanto Invest N.V.

[Sigue el Anexo III]

Propuesta de adición de las siguientes referencias bibliográficas al capítulo 9: Bibliografía

Arens P., Mansilla C., Deinum D., Cavellini L., Moretti A., Rolland S., van der Schoot H., Calvache D., Ponz F., Collonnier C., Mathis R., Smilde D., Caranta C., Vosman B., 2010. Development and evaluation of robust molecular markers linked to disease resistance in tomato for distinctness, uniformity and stability testing. *Theoretical and applied genetics*. 120(3): 655-64

Bai, Y. 2004. The genetics and mechanisms of resistance to tomato powdery mildew (*Oidium neolycopersici*) in *Lycopersicon* species. Thesis Wageningen University, The Netherlands.

Barbieri, M., et al., 2010. Introgressions of resistance to two Mediterranean virus species causing tomato yellow leaf curl into a valuable traditional tomato variety. *Journal of Plant Pathology* 92(2):485-493

Garcia, S., et al., 2009. Resistance driven selection of begomoviruses associated with the TYLCV. *Virus research* 146: 66-72

Garland, S., Sharman, M., Persley, D. and McGrath, D. (2005) The development of an improved PCR-based marker system for Sw-5, an important TSWV resistance gene of tomato. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56 (3): 285-289.

Gordillo, L.F. and M. R. Stevens (2008) Screening two *Lycopersicon peruvianum* collections for resistance to Tomato spotted wilt virus. *Plant Disease* 92(5): 694-704

Hubbeling, N., 1978. Breakdown of resistance to the Cf-5 gene in tomato by another new race of *Fulvia fulva*. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Universiteit Gent* 42/2

Martin, G. B., A. Frary, T. Wu, S. Brommonschenkel, J. Chunwongse, E. D. Earle, S. D. Tanksley (1994) A member of the tomato Pto family confers sensitivity to fenthion resulting in rapid cell death. *The Plant Cell* 6: 1543-1552

http://www.worldseed.org/isf/pathogen_coding_3.html (International Seed Federation (ISF), Trade Issues, Phytosanitary Matters, Pathogen coding, Strain Denomination, Differential sets)

[Fin del Anexo III y del documento]