



TC-EDC/Jan17/5

ORIGINAL: Inglés

FECHA: 29 de noviembre de 2016

UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES

Ginebra

COMITÉ DE REDACCIÓN AMPLIADO**Ginebra, 11 y 12 de enero de 2017****REVISIÓN PARCIAL DE LAS DIRECTRICES DE EXAMEN DEL TOMATE
(DOCUMENTO TG/44/11 REV.)***Documento preparado por un experto de la Unión Europea**Descargo de responsabilidad: el presente documento
no constituye un documento de política u orientación de la UPOV*

1. En su quincuagésima segunda sesión, celebrada en Ginebra del 14 al 16 de marzo de 2016, el TC convino en incluir en la quincuagésima reunión del Grupo de Trabajo Técnico sobre Hortalizas (TWV), que se celebraría en Brno (República Checa) del 14 de junio al 16 de julio de 2016, debates sobre la revisión parcial de las directrices de examen del tomate (documento TG/44/11 Rev.), carácter 57 "Resistencia al virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)", sobre la base de un documento que elaboraría un experto de la Unión Europea (véase el párrafo 197 del documento TC/52/29 Rev. "Informe revisado").
2. En su quincuagésima reunión, el TWV examinó una propuesta de revisión parcial de las directrices de examen del tomate conforme a los documentos TG/44/11 Rev. y TWV/50/20 "*Partial Revision of the Test Guidelines for Tomato (Document TG/44/11 Rev.)*" y propuso efectuar una revisión de dichas directrices según se expone a continuación (véase el párrafo 90 del documento TWV/50/25 "*Report*"):
 - a) Revisión del carácter 57 "Resistencia al virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)":
 - i) Revisión de las variedades ejemplo correspondientes al nivel 1 "ausente".
 - ii) Revisión del método actual para el TYLCV, tal como se indica en la adición 57 i), e incorporación del método alternativo de inoculación por moscas blancas que se describe en la adición 57 ii).
3. Los cambios propuestos se indican a continuación como texto resaltado y subrayado (inserción) o ~~tachado~~ (eliminación).

Propuesta de revisión de la variedad ejemplo correspondiente al nivel 1 “ausente”

Texto actual:

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
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 Tomatenblatt-rollvirus (TYLCV)	Resistencia al virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)		
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Montfavet H 63.5	1
	present	présente	vorhanden	presente	Anastasia, Mohawk, TY 20	9

Nuevo texto propuesto:

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
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 Tomatenblatt-rollvirus (TYLCV)	Resistencia al virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)		
QL	absent	absente	fehlend	ausente	Montfavet H 63.5 Marmande, Moneymaker	1
	present	présente	vorhanden	presente	Anastasia, Mohawk, TY 20	9

Propuesta de revisión del método actual para el TYLCV, tal como se indica en la adición 57 i), e incorporación del método alternativo de inoculación por moscas blancas que se describe en la adición 57 ii)

Texto actual:

Ad. 57: Resistencia al virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)

1. Agentes patógenos Virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)
2. Estado de cuarentena..... sí
3. Especies huéspedes..... *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo -
5. Aislado -
8. Multiplicación del inóculo
- 8.6 Cosecha del inóculo las hojas con síntomas pueden conservarse a -70°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 Montfavet H 63.5
- Resistentes TY 20, Anastasia, Mohawk
- 9.5 Instalación del ensayo campo con presión natural de la enfermedad
- 9.9 Medidas especiales evitar la propagación de moscas blancas
10. Inoculación
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación 6-12 semanas (plantas adultas)
- 10.4 Método de inoculación..... vector (moscas blancas *Bemisia* portadoras del TYLCV)
- 10.7 Observaciones finales de 1 a 2 meses después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método visual
- 11.2 Escala de observación síntomas: 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:
ausente [1] síntomas intensos
presente [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).

Nuevo texto propuesto:

Ad. 57: Resistencia al virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)

i) Método de agroinoculación

1. Agentes patógenos..... cepa IL del virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)
(véase la nota que figura más adelante)
2. Estado de cuarentena..... sí
3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
4. Fuente del inóculo Dr. Eduardo R. Bejarano, Laboratorio de Fitogenética del IHSM-UMA-CSIC¹
5. Aislado Alm:Pep:99 (cepa IL)
6. Establecimiento de la identidad del aislado
7. Establecimiento de la capacidad patógena

¹ Fuente del inóculo: IHSM-UMA-CSIC (edu_rodri@uma.es); INIA (cardaba@inia.es).

8. Multiplicación del inóculo
- 8.1 Medio de multiplicación extracto de levadura-peptona (YEP)/kanamicina
- 8.2 Variedad para la multiplicación.....
- 8.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación 3-4 hojas
- 8.4 Medio de inoculación YEP
- 8.5 Método de inoculación..... Agroinfiltración por punción del tallo. Para la agroinoculación de las plantas se emplea la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, transformada con plásmidos que contienen los clones infecciosos (Morilla et al. 2005. *Phytopathology* 95: 1089-1097).
- 8.6 Cosecha del inóculo
- 8.7 Comprobación del inóculo cosechado
- 8.8 Período de conservación/viabilidad del inóculo..... Para su almacenamiento a largo plazo, la solución madre de *A. tumefaciens* ha de mantenerse congelada a -80°C en glicerol al 15-20%. Los cultivos destinados al almacenamiento se inician generalmente a partir de una única colonia y se dejan crecer en 5 ml de YEP + 2,5 µl de kanamicina (100 mg/ml) durante 48 horas a 28°C.
9. Formato del examen
- 9.1 Número de plantas por genotipo 20
- 9.2 Número de réplicas..... 2
- 9.3 Variedades de control
- Susceptibles: Moneymaker, Marmande
- Resistentes: Delyca, Montenegro, Anastasia, TY20, Mohawk
- 9.4 Diseño del ensayo
- 9.5 Instalación del ensayo invernadero o cámara climatizada con autorización para la utilización confinada de organismos modificados genéticamente (OMG), nivel de confinamiento 1 (N-1)
- 9.6 Temperatura 23-25°C
- 9.7 Luz 16 horas
- 9.8 Estación
- 9.9 Medidas especiales autorización para la utilización confinada de OMG (N-1 como mínimo)
10. Inoculación.....
- 10.1 Preparación del inóculo Raspar la superficie del tubo que contiene la solución madre de *A. tumefaciens* congelada y sumergir en 5 ml de YEP + 2,5 µl de kanamicina (100 mg/ml) durante 48 horas a 28°C, con agitación. Tomar 100 µl y añadirlos a 100 ml de YEP con 50 µl de kanamicina (100 mg/ml). Agitar durante 48 horas a 28°C. Centrifugar el cultivo saturado a 3500 rpm durante 20 minutos y desechar el sobrenadante.
- 10.2 Cuantificación del inóculo disolver en agua desionizada esterilizada hasta alcanzar una densidad óptica (DO₆₀₀) de 1
- 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación 3-4 hojas
- 10.4 Método de inoculación..... Con una jeringa de 1 ml provista de una aguja de calibre 27G, depositar unas gotas del inóculo (aproximadamente 20 µl del cultivo) en 10-15 punciones efectuadas con la aguja en el tallo de las plantas de tomate objeto del ensayo. Mantener en hielo durante la inoculación de las plantas.
- 10.5 Primera observación..... 20 días después de la inoculación
- 10.6 Segunda observación..... 30 días después de la inoculación
- *10.7 Fin del ensayo (observación final) 45 días después de la inoculación
11. Observaciones
- 11.1 Método visual
- 11.2 Escala de observación síntomas: 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 datos en función de los niveles de los caracteres de la UPOV
- ausente [1] síntomas intensos
- presente [9] sin síntomas

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.

La cepa TYLCV-IL es la más extendida en todo el mundo. Las variedades con Ty-1 o Ty-2 infectadas por esta cepa no presentan síntomas.

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).

Ad. 57: Resistencia al virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)

ii) Método de inoculación por moscas blancas

1. Agentes patógenos cepa IL del virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)
 2. Estado de cuarentena sí
 3. Especies huéspedes *Solanum lycopersicum*
 4. Fuente del inóculo España
 5. Aislado TYLCV-IL "La Mayora"
 8. Multiplicación del inóculo moscas blancas
 - 8.6 Cosecha del inóculo
 9. Formato del examen
 - 9.1 Número de plantas por genotipo ...20
 - 9.2 Número de réplicas dos réplicas
 - 9.3 Variedades de control
 - Susceptibles: Moneymaker, Marmande
 - Resistentes: Delyca, Montenegro, Anastasia, TY20, Mohawk
 - 9.5 Instalación del ensayo invernadero o túnel de plástico
 - 9.9 Medidas especiales evitar la propagación de moscas blancas
 10. Inoculación
 - 10.3 Estado de desarrollo en el momento de la inoculación 2-4 semanas
 - 10.4 Método de inoculación vector (moscas blancas Bemisia portadoras del TYLCV-IL)
 - 10.7 Observaciones finales de 1 a 2 meses después de la inoculación
 11. Observaciones
 - 11.1 Método visual
 - 11.2 Escala de observación síntomas: 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 datos en función de los niveles de los caracteres de la UPOV
 - ausente [1] síntomas intensos
 - presente [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.
- La cepa TYLCV-IL es la más extendida en todo el mundo. Las variedades con Ty-1 o Ty-2 infectadas por esta cepa no presentan síntomas.
- Algunas variedades resistentes al TYLCV pueden ser susceptibles a otro virus estrechamente relacionado, el de la hoja en cuchara de Cerdeña (TYLCSV).
- Fuente del inóculo: IHSM-UMA-CSIC (guillamon@eelm.csic.es) o INIA (cardaba@inia.es).

[Fin del documento]