



TC/49/40

ORIGINAL : anglais

DATE : 7 février 2013

UNION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DES OBTENTIONS VÉGÉTALES

Genève

COMITE TECHNIQUE

Quarante-neuvième session Genève, 18-20 mars 2013

REVISION PARTIELLE DES PRINCIPES DIRECTEURS D'EXAMEN DE LA TOMATE (DOCUMENT TG/44/11)

Document établi par le Bureau de l'Union

1. À sa quarante-cinquième session, tenue à Monterey (États-Unis d'Amérique) du 25 au 29 juillet 2011, le Groupe de travail technique sur les plantes potagères (TWV) est convenu de proposer au Comité technique (TC) d'adopter une révision partielle des principes directeurs d'examen de la tomate (document TG/44/11) afin d'inclure :

- (a) un format révisé pour les caractères de résistance aux maladies conformément aux explications relatives à ces caractères figurant dans les principes directeurs d'examen; comme énoncé au paragraphe 2.4 du document TGP/12/2 Draft 2 "Conseils en ce qui concerne certains caractères physiologiques"; et
- (b) une méthode d'examen de la résistance au virus de la tache bronzée de la tomate basée sur un marqueur génospécifique (TSWV) - Race 0.

2. À sa quarante-huitième session, tenue à Genève du 26 au 28 mars 2012, le TC a noté que, en réponse à plusieurs questions techniques concernant la résistance aux maladies soulevées par des experts intéressés après la session du TWV, il avait été convenu par le président et l'ancien président du TWV et l'expert principal d'examiner un nouveau projet de révision partielle des principes directeurs d'examen de la tomate à la quarante-sixième session du TWV (voir le paragraphe 147 du document TC/48/22 "Compte rendu des conclusions").

3. À sa quarante-sixième session, tenue à proximité de la ville de Venlo (Pays-Bas) du 11 au 15 juin 2012, le TWV a examiné le document TWV/46/19 et a convenu de proposer la révision partielle des principes directeurs d'examen de la tomate (document TG/44/11) qui figure aux annexes du présent document :

ANNEXE I Proposition de correction des noms de maladies dans les chapitres : 5.3, 7, 8 et 10

ANNEXE II Inclusion d'un format révisé pour les caractères de résistance aux maladies conformément aux explications relatives à ces caractères figurant dans principes directeurs d'examen; comme énoncé au paragraphe 2.4 du document TGP/12/2 Draft 2 "Conseils en ce qui concerne certains caractères physiologiques" (les libellés actuels et proposés figurent sur des pages opposées)

ANNEXE III Ajout d'ouvrages de référence au chapitre 9 : littérature;

4. La révision partielle du document TG/44/11 serait adoptée et publiée sous la cote TG/44/11 Rev..

[Les annexes suivent]

Proposition de correction des noms de maladies dans les chapitres : 5.3, 7, 8 et 10. TQ

Libellé actuel :

	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)		

Nouveau libellé proposé :

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)		
------------	---	---	---	---	--	--

Libellé actuel :

	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)		

Nouveau libellé proposé :

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)		
------------	---	--	---	--	--	--

Libellé actuel :

	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		

Nouveau libellé proposé :

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

Libellé actuel :

	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)		

Nouveau libellé proposé :

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)		
------------	--	--	--	---	--	--

Libellé actuel :

	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		

Nouveau libellé proposé :

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		
------------	---	--	---	--	--	--

Libellé actuel :

	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)		

Nouveau libellé proposé :

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)		
------------	--	---	---	--	--	--

Proposition d'inclusion d'un format révisé pour les caractères de résistance aux maladies
(les libellés actuel et proposé figurent sur des pages opposées)

Libellé actuel :

Ad. 46 : Résistance à *Meloidogyne incognita* (Mi)

Méthode

Maintien de la souche

Nature du milieu : sur des racines de variétés sensibles

Conditions particulières : éviter la pourriture des racines

Réalisation du test

Température : ne pas dépasser 28 °C

Méthode de culture : de préférence en serre

Méthode d'inoculation : semis sur une terre infestée

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : inoculation préalable au semis
- de l'inoculation à la lecture : 30 à 45 jours

Nombre de plantes étudiées : 10 à 20 plantes

Observations : éviter la pourriture des racines;
éviter des températures élevées

Notation : nombre de racines noueuses contaminées par des œufs et déformation des racines

Variétés contrôle :
sensible : Clairvil, Casaque Rouge
modérément résistantes : Madyta, Vinchy
très résistantes : Anabel, Anahu, F1 Anahu x Monalbo

Nouveau libellé proposé :

Ad 46 : Résistance à *Meloidogyne incognita* (Mi)

1. Agent pathogène *Meloidogyne incognita*
3. Espèces hôtes *Solanum lycopersicum*
4. Source de l'inoculum Naktuinbouw¹ (NL) ou GEVES² (FR)
5. Isolat rupture de non-résistance
6. Identification de l'isolat utiliser un porte-greffe ou des tomates types
7. Détermination du pouvoir pathogène. utiliser un porte-greffe ou une tomate type sensible
8. Multiplication de l'inoculum
 - 8.1 Milieu de multiplication plante vivante
 - 8.2 Variété multipliée de préférence résistante à l'Oïdium
 - 8.3 Stade de la plante lors de l'inoculation voir 10.3
 - 8.5 Méthode d'inoculation voir 10.4
 - 8.6 Récolte de l'inoculum les systèmes racinaires sont coupés avec des ciseaux en morceaux d'environ 1 cm de longueur
 - 8.7 Vérification de l'inoculum récolté ... vérification visuelle pour la présence de racines noduleuses
 - 8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum 1 jour
9. Format de l'essai
 - 9.1 Nombre de plantes par génotype .. 20 plantes
 - 9.2 Nombre de répétitions 1 répétition
 - 9.3 Variétés témoins
Sensibles : Clairvil, Casaque Rouge
Moyennement résistantes : Campeon, Madyta, Vinchy
Hautement résistantes : Anabel, Anahu, Anahu x Casaque Rouge
 - 9.4 Protocole d'essai inclure des variétés témoins
 - 9.5 Installation d'essai serre ou chambre climatisée
 - 9.6 Température pas plus de 28°C
 - 9.7 Lumière au moins 12 heures par jour
10. Inoculation
 - 10.1 Préparation de l'inoculum petits morceaux de racine infectée mélangés au sol mélanger du sol et des morceaux de racine infestés
 - 10.2 Quantification de l'inoculum ratio sol-racines = 8/1 ou selon l'expérience
 - 10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation semence ou cotylédons
 - 10.4 Méthode d'inoculation des plantes sont semées dans du sol infesté ou contamination du sol après les semis lorsque les plantules se trouvent au stade du cotylédon
 - 10.7 Observations finales 28 à 45 jours après l'inoculation
11. Observations
 - 11.1 Méthode inspection des racines
 - 11.2 Échelle d'observation symptômes :
intumescence, malformation des racines,
réduction de la croissance, mort de la plante
 - 11.3 Validation de l'essai l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des variétés témoins résistantes et sensibles
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins:
Prendre en compte que les variétés résistantes peuvent avoir un petit nombre de plantes avec des galles. Elles ne sont pas considérées comme des hors-types.
 - absente (sensible) [1] forte réduction de la croissance, nombre élevé de galles
 - intermédiaire (moyennement résistante) [2] réduction moyenne de la croissance, décompte des galles
 - présente (hautement résistante) [3] aucune réduction de la croissance, aucune galle
13. Points critiques de contrôle :
Éviter le pourrissement des racines; une température élevée cause une rupture de la résistance

¹ Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl

² GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Libellé actuel :

Ad. 47 : Résistance à *Verticillium* sp. (Va et Vd)

Méthode

Maintien des souches

On utilise le pathotype 0 représenté par la souche Toreilles 4-1-4-1. Le pathotype 0 est le pathotype visuel défini par son aptitude à infecter les plantes avec le gène Ve.
Stockage à long terme des souches : conidies en suspension dans une solution de glycérol à -80 °C.

La souche peut faire l'objet d'une sous-culture sur milieu de gélose dextrosée à la pomme de terre.

Réalisation du test

Stade des plantes

Les plantes sont cultivées en serre ou en chambre de culture. L'inoculation peut être effectuée entre le stade du cotylédon (premières feuilles émergentes) et le stade de deux feuilles étalées.

Les variétés indiquées ci-après peuvent être utilisées comme témoins. Il devrait y avoir au minimum une variété résistante et une variété sensible servant de témoin pour le test. La variété hétérozygote faciliterait l'interprétation des résultats en cas de test agressif. Il pourrait être intéressant d'ajouter la variété Clarion aux variétés témoins sensibles car elle est moins sensible et pourrait faciliter la vérification de la pression d'inoculum de l'essai. Ces deux variétés sont facultatives.

Variété contrôle	Vd:0
Marmande verte, Flix	S
Clarion	s
Monalbo x Marmande verte	RH
Monalbo, Elias	R

R résistance présente; aucun symptôme
RH résistance présente; parfois de très faibles symptômes
s résistance absente; faibles symptômes
S résistance absente; symptômes clairs

Température :

Examen réalisé à 20-22 °C dans des conditions contrôlées.

Inoculum :

Le *Verticillium* sp. est cultivé dans un liquide Czapek Dox Broth ou sur un milieu S de Messiaen pendant trois à sept jours dans l'obscurité à 20-25° C avec aération. Les spores sont récoltées et ajustées à 10⁶sp/ml.

Méthode d'inoculation

Les plantules sont récoltées, les racines sont coupées et trempées pendant 5 à 15 minutes dans la suspension d'inoculum. Les plantules sont ensuite repiquées en pleine terre.

Durée de l'examen

Au moins 33 jours du semis à la notation.

Nombre de plantes étudiées :

Au moins 20 plantes.

Notation :

25 à 30 jours après l'inoculation.

Échelle de notation et interprétation des résultats :

R : aucun symptôme

S : chlorose des feuilles inférieures, croissance réduite et vaisseaux bruns ou croissance non réduite et vaisseaux bruns.

L'analyse des résultats doit être effectuée selon les résultats des variétés témoins R et S.

Nouveau libellé proposé :

Ad 47 : Résistance à *Verticillium* sp. (Va et Vd)

1. Agent pathogène	<i>Verticillium dahliae</i> ou <i>Verticillium albo-atrum</i>
3. Espèces hôtes	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum	Naktuinbouw ³ (NL) et GEVES ⁴ (FR)
5. Isolât	pathotype 0 (p.ex. souche Toreilles 4-1-4-1)
8. Inoculum de multiplication	
8.1 Milieu de multiplication	gélose dextrosée à la pomme de terre, milieu "S" de Messiaen
8.4 Milieu d'inoculation	eau (pour racler les plaques de gélose) ou liquide Czapek Dox, (culture aérée âgée de 3 à 7 jours 20 à 25°C, dans l'obscurité)
8.6 Récolte de l'inoculum	filtrer au travers d'une double mousseline
8.7 Vérification de l'inoculum récolté	compter les spores; ajuster à 10 ⁶ par ml
8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum ...	1 jour à 4°C
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype	35 graines pour 24 plantes
9.2 Nombre de répétitions.....	1 répétition
9.3 Variétés témoins	
Sensibles	Flix, Marmande verte, Clarion, Santonio, Anabel
Résistantes	Monalbo, Elias, Monalbo x Marmande verte, Daniela, Marmande VR
9.4 Protocole d'essai	20 plantes inoculées au moins, 2 plantes témoins non inoculées
9.5 Installation d'essai	serre ou chambre climatisée
9.6 Température	20 à 25°C optimale, 20-22°C après l'inoculation
9.7 Lumière.....	12 heures ou plus
10. Inoculation	
10.1 Préparation de l'inoculum	culture liquide aérée (8.4)
10.2 Quantification de l'inoculum.....	compter les spores, ajuster à 10 ⁶ par ml
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation.....	cotylédon jusqu'à la 3 ^e feuille
10.4 Méthode d'inoculation.....	les racines sont immergées de 4 à 15 minutes dans une suspension de spores
10.7 Observations finales	14 à 33 jours après l'inoculation
11. Observations	
11.1 Méthode.....	visuelle
11.2 Échelle d'observation	retard de croissance, flétrissement, chlorose et brunissement des vaisseaux
11.3 Validation de l'essai.....	l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des variétés témoins résistantes et sensibles.
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente	[1] symptômes sévères
présente	[9] aucun symptôme ou symptômes légers
13. Points critiques de contrôle	

Les symptômes peuvent être présents dans les variétés résistantes mais leur sévérité sera nettement moins prononcée que dans les variétés sensibles. En général, les variétés résistantes accuseront un retard de croissance nettement moins prononcé que les variétés sensibles. L'observation du brunissement des vaisseaux est importante pour le diagnostic. En temps normal, ce brunissement ne s'étendra pas à la première feuille dans les variétés résistantes. Les variétés hybrides peuvent être hétérozygotes pour la résistance et exprimer avoir une résistance relativement plus faible dans le biotest.

³ Naktuinbouw; resistentie@naktuinbouw.nl

⁴ GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Libellé actuel :

Ad. 48.1 + 48.2 + 48.3 : Résistance à *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) – Pathotype 0 (ex 1), Pathotype 1 (ex 2) et Pathotype 2 (ex 3)

Méthode

Maintien des souches

Stockage des souches à long terme : à -80 °C dans du glycérol 20%.

On utilise le pathotype 0 (ex 1), représenté par des souches Orange 71, PRI 20698 ou Fol 071, et le pathotype 1, représenté par des souches 4152 (plus agressives), PRI 40698 ou RAF 70 (moins agressives).

Les souches peuvent être multipliées sur gélose dextrosée à la pomme de terre ou milieu S de Messiaen.

Réalisation du test

Stade des plantes

Les plantes sont cultivées en serre ou en chambre de culture pendant 10 à 18 jours (du stade des cotylédons au stade des premières feuilles).

Les variétés ci-après sont utilisées comme variétés témoins. Chaque catégorie sera représentée par au moins une variété qui peut être choisie parmi les variétés indiquées; le phénotype de résistance aux deux pathotypes de Fol est indiqué. La variété hétérozygote a un phénotype de résistance généralement plus faible que celui des lignées homozygotes résistantes. Cette résistance plus faible peut être utilisée pour établir la limite entre résistance et sensibilité. La variété témoin hétérozygote pour Fol:1 est facultative.

<u>Variétés témoins pour le test de résistance à Fol:0</u>	Fol:0	Fol:1*
Marmande, Marmande verte, Resal	S	S
Marporum x Marmande verte (hétérozygote)	R	S
Marporum, Larissa	R	S
Motelle, Gourmet, Mohawk	R	R

* Pour information

<u>Variétés témoins pour le test de résistance à Fol:1</u>	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

* Pour information

** Pour Ranco : faible résistance à Fol:0, de nombreuses échappées de contamination

R = résistance présente
S = résistance absente

Température :

L'examen est effectué dans des chambres de culture ou en serre à 24-28 °C. En cas de test agressif, la température peut être abaissée à 20-24 °C.

Inoculum :

Le *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* est cultivé sur gélose dextrosée à la pomme de terre, sur milieu S de Messiaen ou dans des cultures liquides Czapek-Dox aérées pendant 7 à 10 jours. Les spores sont récoltées et ajustées à 10⁶sp/ml pour les souches cultivées sur milieu. En cas d'isolat très agressif, la concentration de l'inoculum peut être diminuée.

Méthode d'inoculation

Trempage des racines (la coupure des racines est facultative) et de l'axe hypocotylé pendant 5 à 15 minutes dans la suspension d'inoculum et repiquage des plantules inoculées dans le sol.

Durée de l'examen

Au moins 28 jours entre le semis et la notation.

Nombre de plantes étudiées :

Au moins 20 plantes.

Notation :

Au moins 21 jours après l'inoculation.

Échelle de notation :

4 catégories :

- 0 : aucun symptôme
- 1 : aspect extérieur de la plante sain (sans réduction de la croissance) avec des vaisseaux bruns (s'étendant parfois au-dessus des cotylédons mais demeurant généralement en dessous),
- 2 : réduction de la croissance et des vaisseaux bruns au-dessus des cotylédons,
- 3 : plante morte.

Interprétation de l'échelle :

D'une manière générale, 0 et 1 sont équivalents à résistant et 2 et 3 sont sensibles mais l'analyse des résultats doit être effectuée selon les résultats des variétés témoins R et S.

Nouveau libellé proposé :

Ad 48 : Résistance à *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)

1. Agent pathogène.....	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>
3. Espèces hôtes	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum.....	Naktuinbouw ⁵ (NL) et GEVES ⁶ (FR)
5. Isolât	pathotype 0 (ex 1) (p.ex. souches Orange 71 ou PRI 20698 ou Fol 071 1 (ex 2) (p.ex. souches 4152 ou PR 140698 ou RAF 70 et 2 (ex 3)) le pouvoir pathogène des souches peut varier de l'une à l'autre.
6. Identification de l'isolât.....	utiliser des variétés témoins (voir 9.3)
7. Détermination du pouvoir pathogène.....	sur des variétés de tomate sensibles
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication.....	gélose dextrosée à la pomme de terre, milieu "S" de Messiaen
8.4 Milieu d'inoculation.....	eau pour racler les plaques de gélose ou culture Czapek-Dox (culture aérée vieille de 7 jours)
8.6 Récolte de l'inoculum.....	filtrer au travers d'une double mousseline
8.7 Vérification de l'inoculum récolté	compter les spores, ajuster à 10 ⁶ par ml
8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum	4 à 8 heures, conserver frais pour empêcher la germination des spores
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plante par génotype	au moins 20 plantes
9.2 Nombre de répétitions.....	1 répétition
9.3 Variétés témoins pour l'essai <u>avec pathotype 0 (ex 1)</u>	
Sensibles	Marmande, Marmande verte, Resal
Résistantes au pathotype 0 seulement.....	Marporum, Larissa, "Marporum x Marmande verte", Marsol, Anabel
Résistantes au pathotype 0 et 1	Motelle, Gourmet, Mohawk
Variétés témoins pour l'essai avec le pathotype 1 (ex 2)	
Sensibles	Marmande verte, Cherry Belle, Roma
Résistantes au pathotype 0 uniquement	Marporum, Ranco
Résistantes aux pathotypes 0 et 1.....	Tradiro, Odisea
Remarque	Ranco est un peu moins résistante que Tradiro Variétés témoins pour l'essai avec le pathotype 2 (ex 3)
Sensibles aux pathotypes 0, 1 et 2.....	Marmande verte, Motelle, Marporum
Résistantes aux pathotypes 0, 1 et 2.....	Tributes, Murdoch, Marmande verte x Florida
9.4 Protocole d'essai.....	plus de 20 plantes, p.ex. 35 graines pour 24 plantes, y compris 2 plantes témoins
9.5 Installation d'essai.....	serre ou chambre climatisée
9.6 Température	24-28°C (essai agressif, avec isolât peu agressif) 20-24°C (essai peu agressif, avec isolât agressif)
9.7 Lumière	12 heures par jour ou plus
9.8 Saison	toutes saisons
9.9 Mesures spéciales	un sol tourbeux légèrement acide est optimal; conserver le sol humide mais éviter le stress hydrique
10. Inoculation	
10.1 Préparation de l'inoculum	culture aérée de Messiaen ou PDA ou milieu S de Messiaen ou culture Czapek Box
10.2 Quantification de l'inoculum.....	compter les spores, ajuster à 10 ⁶ spores par ml, concentration plus basse pour un isolât très agressif
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation	10 à 18 jours, cotylédon jusqu'à la première feuille
10.4 Méthode d'inoculation	les racines et les hypocotyles sont immergés dans une suspension de spores pendant 5 à 15 minutes; la réduction des racines est une option
10.7 Observations finales	14 à 21 jours après l'inoculation
11. Observations	
11.1 Méthode	visuelle
11.2 Échelle d'observation.....	symptômes : retard de croissance, flétrissement, jaunissement, brunissement des vaisseaux s'étendant au-dessus du cotylédon
11.3 Validation de l'essai	l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité. Des variétés témoins proches du cas limite R/S sont essentielles pour faire une comparaison entre laboratoires.
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
Absente.....	[1] symptômes sévères
Présente	[9] symptômes légers ou aucun symptôme
13. Points critiques de contrôle	
Les résultats de l'essai peuvent légèrement varier dans la pression de l'inoculum en raison des différences qui caractérisent l'isolât, la concentration des spores, l'humidité du sol et la température.	

⁵ Naktuinbouw: resistentie@naktuinbouw.nl

⁶ GEVES; Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Libellé actuel :

Ad. 49 : Résistance à *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (Forl)

Méthode

Maintien du pathotype

Nature du milieu : sur gélose dextrosée à la pomme de terre ou milieu synthétique
(de Messiaen)

Conditions particulières : au réfrigérateur à 4 °C

Réalisation du test

Stade des plantes : apparition de la troisième feuille

Température : diurne : 22 °C; nocturne : 16 °C

Lumière : 14 heures

Méthode de culture : chambre climatisée ou serre

Méthode d'inoculation : trempage des racines et de l'hypocotyle pendant cinq minutes dans l'inoculum

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : 18 à 20 jours
- de l'inoculation à la lecture : 10 jours

Nombre de plantes étudiées : 10 à 20 plantes

Observations : changement fréquent des pathotypes en raison de la perte de pathogénicité

Variétés contrôle :

- sensible : Motelle
- résistantes :
 - Momor (homozygote)
 - F1 Momor x Motelle (hétérozygote)
 - le gène Frl à l'état hétérozygote ne contrôle pas totalement la maladie.

Nouveau libellé proposé :

Ad 49 : Résistance à *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl)

1. Agent pathogène.....	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>
3. Espèces hôtes.....	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum.....	Naktuinbouw ⁷ (NL) et GEVES ⁸ (FR)
5. Isolats.....	-
7. Détermination du pouvoir pathogène.....	symptômes sur la tomate sensible
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication.....	gélose dextrosée à la pomme de terre ou milieu "S" de Messiaen
8.4 Milieu d'inoculation.....	eau pour racler les plaques de gélose ou culture Czapek-Dox (culture aérée vieille de 7 jours)
8.6 Récolte de l'inoculum.....	filtrer au travers d'une double mousseline
8.7 Vérification de l'inoculum récolté.....	compter les spores; ajuster à 10 ⁶ par ml
8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum.....	4 à 8 heures, maintenir au frais pour empêcher la germination des spores
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype.....	au moins 20 plantes
9.2 Nombre de répétitions.....	1 répétition
9.3 Variétés témoins	
Sensibles :	Motelle, Moneymaker
Résistantes :	Momor, "Momor x Motelle"
Observation :	la variété "Momor x Motelle" a une résistance légèrement plus faible que la variété Momor
9.4 Protocole d'essai.....	plus de 20 plantes; p.ex. 35 graines pour 24 plantes, y compris 2 plantes témoins non inoculées
9.5 Installation d'essai.....	serre ou chambre climatisée
9.6 Température.....	24-28°C (essai sévère, avec isolat peu agressif) 17-24°C (essai doux, avec isolat agressif)
9.7 Lumière.....	au moins 12 heures par jour
9.8 Saison.....	toutes saisons
9.9 Mesures spéciales.....	un sol tourbeux légèrement acide est optimal; conserver le sol humide mais éviter le stress hydrique
10. Inoculation	
10.1 Préparation de l'inoculum.....	culture aérée ou en raclant les plaques
10.2 Quantification de l'inoculum.....	compter les spores, ajuster à 10 ⁶ spores par ml
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation "troisième feuille"	12 à 18 jours, du stade "cotylédon étalé" jusqu'à la
10.4 Méthode d'inoculation.....	les racines et les hypocotyles sont immergés dans une suspension de spores pendant 5 à 15 minutes
10.7 Observations finales.....	10 à 21 jours après l'inoculation
11. Observations	
11.1 Méthode.....	visuelle; quelques plantes sont levées à la fin de l'essai
11.2 Échelle d'observation.....	symptômes : mort de la plante retard de la croissance causé par la dégradation des racines dégradation des racines, taches de nécrose et lésions nécrotiques sur les tiges
11.3 Validation de l'essai.....	l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente.....	[1] symptômes
présente.....	[9] aucun symptôme
13. Points critiques de contrôle	
La température ne doit jamais dépasser 27°C pendant la période d'essai; une remise en culture fréquente des isolats peut s'avérer nécessaire du fait de la perte de leur pouvoir pathogène	

⁷ Naktuinbouw: resistentie@naktuinbouw.nl

⁸ GEVES: Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Libellé actuel :

Ad. 50.1 – 50.6 Résistance à *Fulvia fulva* (Ff) (ex *Cladosporium fulvum*)

Méthode

Maintien des pathotypes

Nature du milieu : sur gélose dextrosée à la pomme de terre ou milieu synthétique

Conditions particulières : sous-culture des isolats

Réalisation du test

Stade des plantes : 3 feuilles étalées

Température : diurne : 24 °C; nocturne : 16 °C

Lumière : 12 heures

Méthode de culture : en chambre climatisée, en conditions d'hygrométrie la plus élevée possible, plantes stoppées quelques jours avant l'inoculation par irrigation des racines avec ALAR 85 (daminozide), ou en serre avec une humidité élevée, par exemple sous un film de polyéthylène.

Méthode d'inoculation : pulvérisation sur le feuillage d'une solution contenant le champignon.

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : 22 à 25 jours
- de l'inoculation à la lecture : 20 à 25 jours

Nombre de plantes étudiées : 30 plantes

Observations : le niveau d'expression des symptômes peut varier d'une plante à l'autre en raison de facteurs génétiques de résistance complexes

Variétés contrôle :

- sensible : Monalbo
- résistantes : à choisir avec les allèles concernés
 - 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

Pathotype 0 : Angela, Estrella, Sonatine, Sonato, Vemone
Groupe A : Angela, Estrella, Sonatine, Sonato
Groupe B : Angela, Estrella, Sonatine, Sonato, Vemone
Groupe C : Angela, Estrella, Sonatine
Groupe D : Estrella, Sonatine, Vemone
Groupe E : Sonatine

Nouveau libellé proposé :

Ad 50 : Résistance à *Fulvia fulva* (Ff) (ex *Cladosporium fulvum*)

1. Agent pathogène	<i>Fulvia fulva</i> (ex <i>Cladosporium fulvum</i>)
3. Espèces hôtes.....	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum	Naktuinbouw ⁹ (NL) ou GEVES ¹⁰ (FR)
5. Isolats.....	groupe de pathotypes 0, A, B, C, D et E
6. Identification de l'isolat	avec des isolats génétiquement définis du GEVES (FR) A Cf-2, B Cf-4, C Cf-2&4, D Cf-5, E Cf-2&4&5
7. Détermination du pouvoir pathogène	symptômes sur une tomate sensible
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication	gélose dextrosée à la pomme de terre ou gélose maltée ou un milieu synthétique
8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum	4 heures, conserver frais
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype	plus de 20 plantes
9.2 Nombre de répétitions.....	1 répétition
9.3 Variétés témoins	
Sensibles :	Monalbo, Moneymaker
Résistantes au pathotype 0 :	Angela, Estrella, Sonatine, Sonato, Vemone, Vagabond, IVT 1149, Vagabond x IVT 1149, IVT 1154
Résistantes au groupe de pathotypes A :	Angela, Estrella, Sonatine, Sonato
Résistantes au groupe de pathotypes B :	Angela, Estrella, Sonatine, Sonato, Vemone
Résistantes au groupe de pathotypes C :	Angela, Estrella, Sonatine
Résistantes au groupe de pathotypes D :	Estrella, Sonatine, Vemone
Résistantes au groupe de pathotypes E :	Sonatine, Jadviga, Rhianna, IVT 1154
9.5 Installation d'essai.....	serre ou chambre climatisée
9.6 Température.....	jour : 22°C, nuit : 20° ou jour : 25°C, nuit : 20°C
9.7 Lumière	12 heures ou plus
9.9 Mesures spéciales	en fonction de l'installation et du temps, il peut s'avérer nécessaire de relever le degré d'humidité; p.ex. tente d'humidité fermée 3 ou 4 jours après l'inoculation ensuite, fermée de 66% à 80% pendant la journée jusqu'à la fin
10. Inoculation	
10.1 Préparation de l'inoculum.....	préparer des plaques uniformément colonisées, p.ex. 1 pour 36 plantes; enlever les spores de la plaque en raclant avec de l'eau avec Tween20; filtrer au travers d'une double mousseline
10.2 Quantification de l'inoculum	compter les spores; ajuster à 10 ⁵ spores par ml
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation	19 à 20 jours (y compris 12 jours à 24°), 2 à 3 feuilles
10.4 Méthode d'inoculation	pulvériser sur des feuilles sèches
10.7 Observations finales.....	14 jours après l'inoculation
11. Observations	
11.1 Méthode	inspection visuelle de la face dorsale des feuilles inoculées
11.2 Échelle d'observation	symptôme : taches blanches velouteuses
11.3 Validation de l'essai.....	l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité.
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente	[1] symptômes
présente.....	[9] aucun symptôme

Une humidité excessivement élevée peut causer des taches brunâtres rugueuses sur toutes les feuilles. Celles-ci ne doivent pas être considérées comme hors-type.

13. Points critiques de contrôle :

Les spores Ff ont une taille et une morphologie variables. De petites spores sont également viables. Les plaques fongiques deviendront progressivement stériles après 6 à 10 semaines. Stocker les bonnes cultures à -80°C. À toutes fins pratiques, il n'est pas possible de conserver des plantes plus de 14 jours à l'intérieur d'une enceinte.

⁹ Naktuinbouw: resistentie@naktuinbouw.nl

¹⁰ GEVES: Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Libellé actuel :

Ad. 51.1 – 51.3 : Résistance au virus de la mosaïque de la tomate (ToMV) – Souches 0, 1 et 2

Méthode

Maintenance des souches

Les souches sont stockées à long terme sous la forme de feuilles sèches à une température inférieure à 10°C. On utilise le pathotype 0 représenté par l'isolat INRA Avignon 6-5-1-1 (souche de mosaïque aucuba). Le virus est multiplié sur la variété témoin sensible avant d'être utilisé pour inoculation dans le cadre de l'examen.

Réalisation du test

Stade des plantes

Les plantes sont cultivées en serre ou en chambre de culture jusqu'au stade situé entre l'apparition des cotylédons (premières feuilles émergentes) et deux feuilles étalées.

Chaque essai porte sur au moins une variété témoin résistante et une variété témoin sensible.

Les variétés ci-après sont utilisées comme variétés témoins. Chaque catégorie sera représentée par au moins un phénotype de résistance qui peut être choisi parmi les variétés indiquées; le phénotype de résistance aux trois pathotypes du virus de la mosaïque de la tomate est indiqué. Mobaci et Moperou permettront de vérifier l'identité du pathotype du virus. Monalbo x Momor facilitera l'interprétation du phénotype « résistant avec nécrose ».

Variétés	Phénotype de résistance		
	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 = résistance présente; aucun symptôme

RN = résistance présente; une proportion variable des plantes fait apparaître une nécrose modérée ou importante; toutes les autres plantes ne présentent aucun symptôme

S = résistance absente; symptômes de la mosaïque

Température :

L'essai est effectué dans des chambres de culture ou en serre à 24-26 °C. À des températures plus élevées, la résistance peut ne pas exprimer.

Inoculum et méthode d'inoculation

Inoculation mécanique en frottant les cotylédons (premières feuilles émergentes) ou deux feuilles étalées avec une solution d'inoculum composée de feuilles broyées avec du carborundum. On peut rincer les feuilles après l'inoculation. La lumière est importante pour l'expression des symptômes.

Durée de l'examen

24 à 42 jours du semis à la notation.

Nombre de plantes étudiées :

Au moins 20 plantes.

Notation :

12 à 21 jours après l'inoculation lorsque les symptômes apparaissent clairement sur le témoin sensible.

Échelle de notation et interprétation des résultats :

R : sans symptômes ou avec nécrose (la nécrose peut être observée sur les plantes hétérozygotes pour le gène de résistance, ces plantes sont notées comme des plantes résistantes)

S : symptômes de la mosaïque.

Nouveau libellé proposé :

Ad 51 : Résistance au virus de la mosaïque de la tomate (ToMV)

1. Agent pathogène.....	Virus de la mosaïque de la tomate
3. Espèces hôtes.....	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum.....	Naktuinbouw ¹¹ (NL) ou GEVES ¹² (FR)
5. Isolats.....	souches 0 (p.ex. isolat INRA Avignon 6-5-1-1), 1 et 2
6. Identification de l'isolat.....	variétés de tomate génétiquement définies ainsi : Mobaci (Tm1), Moperou (Tm2), Momor (Tm2 ²)
7. Détermination du pouvoir pathogène.....	sur une plante sensible
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication.....	plante vivante
8.2 Variété multipliée.....	p.ex. Moneymaker, Marmande
8.7 Vérification de l'inoculum récolté.....	option : sur <i>Nicotiana tabacum</i> "Xanthi", vérifier les lésions après 2 jours
8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum.....	frais > 1 jour, séché > 1 an
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype.....	au moins 20 plantes
9.2 Nombre de répétitions.....	1 répétition
9.3 Variétés témoins	
Sensibles.....	Marmande, Monalbo
Résistantes au ToMV: 0 et 2.....	Mobaci
Résistantes au ToMV: 0 et 1.....	Moperou
Résistantes avec nécrose.....	"Monalbo x Momor"
Résistantes.....	Gourmet
9.4 Protocole d'essai.....	traitement blanc avec PBS et carborundum ou PBS similaire
9.5 Installation d'essai.....	serre ou chambre climatisée
9.6 Température.....	24 à 26°C
9.7 Lumière.....	12 heures ou plus
9.8 Saison.....	les symptômes sont plus prononcés en été.
10. Inoculation	
10.1 Préparation de l'inoculum.....	1 g de feuille avec symptômes avec 10 ml PBS Homogénéiser, ajouter du carborundum au PBS (1 g/30ml)
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation.....	"cotylédons étalés" ou "deux feuilles développées"
10.4 Méthode d'inoculation.....	frotter légèrement
10.7 Observations finales.....	11 à 21 jours après l'inoculation
11. Observations	
11.1 Méthode.....	visuelle
11.2 Échelle d'observation.....	symptômes de sensibilité : mosaïque au sommet, malformation des feuilles symptômes de résistance (fondés sur l'hypersensibilité) : nécrose locale, nécrose apicale, nécrose systémique
11.3 Validation de l'essai.....	l'évaluation de la variété résistante doit être calibrée avec les résultats des témoins sensibles et résistants

Remarque : pour certaines variétés hétérozygotes, un nombre variable de plantes peut souffrir d'une sévère nécrose systémique ou de quelques taches de nécrose alors que les autres plantes ne connaissent aucun symptôme. Ce nombre peut varier d'un essai à l'autre.

12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente.....	[1] symptômes de sensibilité
présente.....	[9] aucun symptôme ou symptômes de résistance par hypersensibilité

13. Points critiques de contrôle :

La température et la lumière peuvent influencer le développement de la nécrose : plus de lumière entraîne une plus grande nécrose. À des températures supérieures à 26°C, la résistance peut rompre.

Les variétés hétérozygotes résistantes peuvent avoir des plantes sans symptôme et des plantes avec nécrose prononcée; malgré cette fluctuation d'expression, l'échantillon peut être évalué comme étant homogène en matière de résistance.

Remarque : la souche INRA Avignon 6-5-1-1 est recommandée pour ToMV : 0. Elle provoque une mosaïque aucuba jaune significative.

¹¹ Naktuinbouw : resistentie@naktuinbouw.nl

¹² GEVES : Valerie.GRIMAUULT@geves.fr

Libellé actuel :

Ad. 52 : Résistance à *Phytophthora infestans* (Pi)

Méthode

Maintien du pathotype

Nature du milieu : sur milieu gélosé

Conditions particulières : 18 °C

Réalisation du test

Stade des plantes : 10 feuilles étalées

Température : 18 °C

Lumière : après inoculation, obscurité pendant 24 heures, puis 10 heures d'obscurité par jour

Méthode de culture : chambre de culture ou serre

Méthode d'inoculation : pulvérisation d'une suspension de spores, isolat récolté frais sur les feuilles

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : 6 à 7 semaines
- de l'inoculation à la lecture : 7 à 8 jours

Hygrométrie : très élevée pendant les quatre premiers jours après l'inoculation (recouvrir les plantes d'un film de polyéthylène)

Observations : les variétés hétérozygotes peuvent présenter des symptômes d'un niveau d'expression légèrement plus faible

Variétés contrôle :

- sensibles : Saint Pierre, Heinz 1706
- résistantes : Pieraline, Heline, Pyros, F1 "Pieraline x Pieralbo"

Nouveau libellé proposé :

Ad 52 : Résistance à *Phytophthora infestans* (Pi)

1. Agent pathogène	<i>Phytophthora infestans</i>
3. Espèce hôte	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum	
5. Isolât	hautement pathogène pour la tomate
6. Identification de l'isolât	bioessai
7. Détermination du pouvoir pathogène	bioessai
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication	milieu V8 Agar ou PDA ou Malt Agar
8.2 Variété de multiplication	variété de tomate sensible
8.3 Stade de la plante lors de l'inoculation	4 semaines
8.4 Milieu d'inoculation	eau
8.5 Méthode d'inoculation	pulvérisation
8.6 Récolte de l'inoculum	enlever par lavage les spores des plaques mouillées
8.7 Vérification de l'inoculum récolté ...	compter les sporangiospores
8.8 Durée de conservation/viabilité	4 heures après refroidissement à 8-10°C
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype ..	20 plantes
9.2 Nombre de répétitions	1 répétition
9.3 Variétés témoins	
Sensibles	Saint Pierre, Heinz 1706
Résistantes	Pieraline, Heline, Pyros, "Pieraline x Pieralbo", Flina
Remarque : Les variétés hétérozygotes	peuvent dans les essais présenter un niveau d'expression légèrement plus faible.
9.5 Installation d'essai	serre
9.6 Température	18°C
9.7 Lumière	après l'inoculation, obscurité pendant 24 heures, puis 10 heures d'obscurité par jour
9.9 Mesures spéciales	tente d'humidité pendant quatre jours après l'inoculation
10. Inoculation	
10.1 Préparation de l'inoculum	enlever par lavage les spores des feuilles présentant des spores, refroidir à 8-10°C
Remarque	le refroidissement induit la libération de zoospores
10.2 Quantification de l'inoculum	utiliser des spores fraîches issues de cycles d'infection répétés sur les plants de tomate pendant 3 semaines avant l'inoculation
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation	compter les sporangiospores; ajuster à 104 spores par ml
10.4 Méthode d'inoculation	10 feuilles développées (de 6 à 7 semaines)
10.7 Observations finales	pulvérisation
11. Observations	5-7 jours après l'inoculation
11.1 Méthode	visuelle
11.2 Échelle d'observation	symptômes : lésions trempées dans l'eau, jaunissement et mort
11.3 Validation de l'essai	l'évaluation de la résistance de la variété doit être calibrée avec les résultats des variétés témoins résistantes et sensibles
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente	[1] symptômes sévères
présente	[9] aucun symptôme ou symptômes légers
13. Points critiques de contrôle :	
La résistance ne s'exprime bien que chez la plante adulte	

Libellé actuel :

Ad. 53 : Résistance à *Pyrenochaeta lycopersici* (PI)

Méthode

Maintien du pathotype : méthode 1 : sur des racines provenant de plantes cultivées en serre sur un sol naturellement contaminé (ou à contamination naturelle renforcée);
méthode 2 : inoculum cultivé sur du sable ou du terreau, mélangé à des flocons d'avoine et stérilisé en autoclave (infection artificielle)

Réalisation du test :

Stade des plantes : méthode 1 : sur des plantes adultes, vers la période de maturité des fruits
méthode 2 : 4 à 6 semaines après le semis (première inflorescence)

Température : diurne : 24 °C; nocturne : 14 °C

Lumière : 12 heures au minimum

Méthodes de culture et d'inoculation :

méthode 1 : repiquage dans un sol contaminé dans lequel sont mélangés des fragments de racines infectées
méthode 2 : semis sur du terreau sablonneux désinfecté à la vapeur, auquel est mélangé de l'inoculum

Durée de l'examen

– du semis à l'inoculation : méthode 1 : 6 semaines
méthode 2 : inoculation au moment du semis
– de l'inoculation à la lecture : méthode 1 : 3 à 4 mois
méthode 2 : 4 à 6 semaines

Nombre de plantes étudiées : 10 au minimum

Observations : méthode 1 : plus efficace pour séparer clairement les plantes sensibles des plantes résistantes
méthode 2 : la pathogénicité des souches doit être vérifiée avant l'inoculation sur des racines de jeunes plantes

Variétés contrôle : sensible : Montfavet H 63.5
résistantes : Kyndia, Moboglan, Pyrella

Nouveau libellé proposé :

Ad 53 : Résistance au *Pyrenochaeta lycopersici* (PI)

- | | |
|---|---|
| 1. Agent pathogène | <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> |
| 3. Espèces hôtes | <i>Solanum lycopersicum</i> |
| 4. Source de l'inoculum | - |
| 5. Isolat | - |
| 7. Détermination du pouvoir pathogène | bioessai |
| 8. Multiplication de l'inoculum | |
| 8.1 Milieu de multiplication | V8 Agar |
| 8.2 Variété multipliée | variété de tomate sensible |
| 8.3 Stade de la plante lors de l'inoculation | semence |
| 8.4 Milieu d'inoculation | mélange de sol (70%), de sable (20%) et d'inoculum (10.1) (10%)
ou sol mélangé avec des racines infectées coupées en petits morceaux |
| 8.5 Méthode d'inoculation..... | semis ou transplantation à la maturité du fruit |
| 8.6 Récolte de l'inoculum | les racines infectées sont récoltées 2 à 4 mois plus tard |
| 8.7 Vérification de l'inoculum récolté | inspection visuelle des lésions sur les racines |
| 8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum..... | le champignon ne meurt pas rapidement mais il risque de perdre son pouvoir pathogène dans la semaine qui suit sa mise en culture sur un milieu gélosé |
| 9. Format de l'essai | |
| 9.1 Nombre de plantes par génotype | 20 plantes |
| 9.2 Nombre de répétitions..... | 1 répétition |
| 9.3 Variétés témoins | |
| Sensibles : | Montfavet H 63.5 |
| Résistantes : | Kyndia, Moboglan, Pyrella |
| 9.5 Installation d'essai | serre ou chambre climatisée |
| 9.6 Température | 24°C le jour et 14°C la nuit |
| 9.7 Lumière | 12 heures minimum |
| 10. Inoculation | |
| 10.1 Préparation de l'inoculum | p. ex. mélanger deux fois en autoclave le sol avec 10% d'avoine. Incuber pendant 10 à 14 jours à 20°C un retournement répété occasionnel |
| 10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation..... | 6 semaines |
| 10.4 Méthode d'inoculation..... | transplanter dans un mélange de sol, de sable et d'inoculum (8.4) ou sol mélangé avec des racines infectées qui ont été coupées en petits morceaux ou sol naturellement infecté |
| 10.7 Observations finales | 6 à 8 semaines après la transplantation (plante en floraison) |
| 11. Observations | |
| 11.1 Méthode | visuelle |
| 11.2 Échelle d'observation | symptômes : lésions brunâtres sur les racines |
| 11.3 Validation de l'essai..... | l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité. |
| 12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins | |
| absente | [1] symptômes |
| présente..... | [9] aucun symptôme |
| 13. Points critiques de contrôle : | |
| Le champignon perd rapidement son pouvoir pathogène après avoir été isolé sur un milieu gélosé. Il est souhaitable de conserver l'isolat en vie sur des plantes vivantes. | |

Libellé actuel :

Ad. 54 : Résistance à *Stemphylium*

Méthode

Maintien de l'isolat

Nature du milieu : sur gélose dextrosée à la pomme de terre ou milieu synthétique

Conditions particulières : au réfrigérateur à 4 °C sans lumière

Réalisation du test

Stade des plantes : trois feuilles développées

Température : constante, diurne : 24 °C, nocturne : 24 °C

Lumière : 12 heures

Méthode de culture : serre ou chambre climatisée

Méthode d'inoculation : pulvérisation sur feuillage

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : 20 à 22 jours
- de l'inoculation à la lecture : 10 jours

Nombre de plantes étudiées : 30 plantes

Observations : production de l'inoculum sur milieu V8 à la lumière

Variétés contrôle :
sensible : Monalbo
résistantes : Motelle, F1 Motelle x Monalbo

Nouveau libellé proposé :

Ad 54 : Résistance à *Stemphylium* spp. (Ss)

1. Agent pathogène	<i>Stemphylium solani</i> spp. p. ex. <i>Stemphylium solani</i>
3. Espèces hôtes	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum	GEVES ¹³ (FR)
5. Isolât	-
7. Détermination du pouvoir pathogène	Bioessai
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication	PDA (12 heures par journée sous lumière quasi-ultraviolette pour produire la sporulation) ou V8
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype	au moins 20 plantes
9.2 Nombre de répétitions.....	1 répétition
9.3 Variétés témoins	
Sensibles :	Monalbo
Résistantes :	Motelle, F1 Motelle x Monalbo
9.5 Installation d'essai	serre ou chambre climatisée
9.6 Température	24°C
9.7 Lumière.....	12 heures minimum
9.9 Mesures spéciales.....	incubation en tunnel avec 100 % d'humidité relative ou tente d'humidité fermée 5 jours après l'inoculation. Ensuite, 80% jusqu'à la fin.
10. Inoculation	
10.1 Préparation de l'inoculum.....	des plaques de sporulation (8.1) sont raclées et séchées à l'air durant la nuit. Le jour suivant, elles sont trempées et remuées pendant 30 minutes dans un vase à bec avec de l'eau avec Tween. La suspension de spores est tamisée au travers d'une double couche de mousseline.
10.2 Quantification de l'inoculum.....	$5 \cdot 10^3 - 10^5$ spores par ml
10.3 Stade la plante lors de l'inoculation.....	20 à 22 jours (trois feuilles développées)
10.4 Méthode d'inoculation.....	pulvérisation
10.7 Observations finales	4 à 10 jours après l'inoculation
11. Observations	
11.1 Méthode.....	visuelle
11.2 Échelle d'observation	symptômes : lésions nécrotiques sur les cotylédons et les feuilles; jaunissement des feuilles
11.3 Validation de l'essai.....	l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente	[1] symptômes (11.2)
présente.....	[9] aucun symptôme ou variété de résistante intermédiaire
13. Points critiques de contrôle :	8.1 et 10.1

Note : il n'est pas facile de caractériser les isolats de *Stemphylium* soit comme *Stemphylium solani* soit comme appartenant à une espèce apparentée. Cependant, ces isolats de *Stemphylium* peuvent être utilisés pour identifier la résistance à *Stemphylium solani*

¹³ GEVES : Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Libellé actuel :

Ad. 55 : Résistance à *Pseudomonas syringae* pv. tomato (Pst)

Méthode

Maintien du pathotype

Nature du milieu : sur milieu King B
Conditions particulières : 20 à 22 °C dans l'obscurité, repiquage tous les 10 jours

Réalisation du test

Stade des plantes : trois feuilles étalées
Température : diurne : 22° C; nocturne : 16° C
Lumière : 12 heures
Méthode de culture : l'été en chambre climatisée, l'hiver en serre
Méthode d'inoculation : pulvérisation sur feuillage

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : 20 à 22 jours
- de l'inoculation à la lecture : 8 jours

Nombre de plantes étudiées : 30 plantes
Observations : pathotypes à renouveler chaque année
Variétés contrôle : sensible : Monalbo
résistantes : Ontario 7710, F1 Monalbo x Ontario 7710

Nouveau libellé proposé :

Ad 55 : Résistance à *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst)

1. Agent pathogène	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
3. Espèce hôte	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum	GEVES ¹⁴ (FR) ou Naktuinbouw ¹⁵ (NL)
5. Isolât	
6. Identification de l'isolât	
7. Détermination du pouvoir pathogène	bioessai
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication	milieu King B agar, obscurité
8.2 Variété de multiplication	variété sensible
8.4 Milieu d'inoculation	eau
8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum	les plaques vieillissent après 10 jours
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype ..	au moins 20 plantes
9.2 Nombre de répétitions	1 répétition
9.3 Variétés témoins	
Sensibles :	Monalbo
Résistantes :	Ontario 7710, "Monalbo x Ontario 7710", Tradiro, Hypeel 45
9.5 Installation d'essai	serre ou chambre de culture
9.6 Température	diurne : 22° C, nocturne : 16° C ou 20°C
9.7 Lumière	12 heures
9.9 Mesures spéciales	tente d'humidité nécessaire pendant 3 jours ou plus
10. Inoculation	
10.1 Préparation de l'inoculum	enlever par lavage les spores de la plaque. La plaque doit avoir moins de 2-4 jours d'ancienneté.
10.2 Quantification de l'inoculum	plaque de dilution, densité 10 ⁶ unités formant colonie par ml
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation	trois feuilles étalées (20-22 jours)
10.4 Méthode d'inoculation	pulvériser une suspension bactérienne sur les feuilles
10.7 Observations finales	8 jours ou plus après l'inoculation
11. Observations	
11.1 Méthode	visuelle
11.2 Échelle d'observation	tacheture bactérienne, d'aspect gras avec chlorose marginale microlésion < 1,0 mm
11.3 Validation de l'essai	l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente	[1] tacheture bactérienne
présente	[9] pas de symptômes ou de microlésion
13. Points critiques de contrôle :	les souches peuvent perdre leur virulence lors du stockage

¹⁴ GEVES; Valerie.GRIMAUULT@geves.fr

¹⁵ Naktuinbouw; resistantie@naktuinbouw.nl

Libellé actuel :

Ad. 56 : Résistance à *Ralstonia solanacearum* (Rs) – Pathotype 1

Méthode

Maintien du pathotype : deux pathotypes peuvent affecter la tomate : le pathotype 1 (actif entre 25 et 30 °C) et le pathotype 3 (actif entre 20 et 23 °C)

Nature du milieu : congélation à -80 °C; culture en PYDAC sous huile; suspension en eau distillée stérile

Conditions particulières : conservation à 15 °C en eau distillée stérile

Réalisation du test

Stade des plantes : trois à quatre feuilles bien développées

Temp. (en chambre climatisée) : diurne : 26 à 30 °C; nocturne : 25 °C

Lumière : 10 à 12 heures

Méthode de culture : 2 possibilités :
– en chambre climatisée : test rapide
– en plein champ : test long (utilisable uniquement dans des conditions de type tropical)

Méthode d'inoculation : dépôt d'au moins 2 ml d'inoculum, ajusté à 10^7 colonies/ml, au pied de chaque plantule avant repiquage ou plantation

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : 3 à 4 semaines
- de l'inoculation à la lecture :
 - 3 semaines pour le test rapide
 - 2 mois pour le test long

Nombre de plantes étudiées : 30 au minimum

Observations : maintenir un taux d'hygrométrie élevé

Variétés contrôle :
– sensible : Floradel
– résistante : Caraïbo

Nouveau libellé proposé :

Ad 56 : Résistance à *Ralstonia solanacearum*, pathotype 1 (Rs)

1. Agent pathogène	<i>Ralstonia solanacearum</i> (ex <i>Pseudomonas solanacearum</i>)
2. État de quarantaine	oui
3. Espèce hôte	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum	
5. Isolât	le pathotype 1 présente un spectre d'hôtes important, y compris la tomate. le pathotype 3 présente un faible spectre d'hôtes, y compris également la tomate
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication	levure-peptone-glucose (YPG) Agar ou PYDAC
Conditions particulières :	25-30°C (le pathotype 3 nécessite généralement une température de 20-23°C)
8.5 Méthode d'inoculation.....	2 ml de l'inoculum placé au pied de chaque plantule avant la transplantation
8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum	suspension en eau distillée stérile à 15°C (<1 année)
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype ..	20 plantes
9.2 Nombre de répétitions.....	1 répétition
9.3 Variétés témoins	
Sensibles :	Floradel
Résistantes :	Caraibo
9.5 Installation d'essai	chambre climatisée
9.6 Température	diurne : 26-30° C; nocturne : 25° C
9.7 Lumière.....	10 - 12 heures
9.9 Mesures spéciales.....	humidité élevée
10. Inoculation	
10.2 Quantification de l'inoculum.....	densité 10^7 unités formant colonie par ml
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation	de 3 à 4 feuilles bien développées (3 semaines)
10.4 Méthode d'inoculation.....	
10.7 Observations finales	3 semaines après l'inoculation
11. Observations.....	chez les variétés à résistance intermédiaire, les bactéries peuvent être présentes dans la partie inférieure de la plante
11.3 Validation de l'essai.....	l'évaluation de la résistance de la variété doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente	[1] symptômes
présente.....	[9] aucun symptôme ou variété moins que résistante
13. Points critiques de contrôle:	
<i>Ralstonia solanacearum</i> est un organisme qui a le statut de quarantaine dans quelques pays et figure sur la liste d'alerte EPPO.	

Libellé actuel :

Ad. 57 : Résistance au bégomovirus des feuilles jaunes en cuillère de la tomate (TYLCV)

Méthode

Réalisation du test : Les plantes sont examinées en culture de plein champ, à une période de culture et en un lieu où l'existence de la maladie a été constatée. On cultivera des plantes contaminées à 100% de variétés locales sensibles, pour assurer une transmission naturelle par le *Bemisia*, ainsi que la reproductibilité des résultats

Stade des plantes : sur des plantes adultes en culture de plein champ

Méthode d'inoculation : inoculation naturelle par *Bemisia*

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : 6 semaines au minimum
- de l'inoculation à la lecture : 2,5 mois au maximum

Nombre de plantes étudiées : 20 plantes au minimum

Observations :

Variétés contrôle :

- sensibles : variétés locales
- résistantes : TY 20 ou échantillons résistants de *L. pimpinellifolium* et de *L. peruvianum*

Nouveau libellé proposé :

Ad 57: Résistance au virus des feuilles jaunes en cuillère de la tomate (TYLCV)

- | | |
|---|--|
| 1. Agent pathogène | virus des feuilles jaunes en cuillère de la tomate |
| 2. État de quarantaine | oui |
| 3. Espèces hôtes | <i>Solanum lycopersicum</i> |
| 4. Source de l'inoculum | - |
| 5. Isolât | - |
| 8. Multiplication de l'inoculum | |
| 8.6 Récolte de l'inoculum | les feuilles symptomatiques peuvent être stockées à -70°C |
| 9. Format de l'essai | |
| 9.1 Nombre de plantes par géotype | 20 plantes |
| 9.2 Nombre de répétitions..... | 1 répétition |
| 9.3 Variétés témoins | |
| Sensibles : | Montfavet H 63.5 |
| Résistantes : | TY 20, Anastasia, Mohawk |
| 9.5 Installation d'essai | parcelle de plein champ soumise à des pressions de maladies naturelles |
| 9.9 Mesures spéciales | empêcher la propagation de mouches blanches |
| 10. Inoculation | |
| 10.3 Stade la plante lors de l'inoculation..... | 6 à 12 semaines (plantes adultes) |
| 10.4 Méthode d'inoculation..... | Vecteur (mouches blanches Bemisia porteuses du virus) |
| 10.7 Fin de l'essai..... | 1 à 2 mois après l'inoculation |
| 11. Observations | |
| 11.1 Méthode..... | visuelle |
| 11.2 Échelle d'observation | symptômes : jaunissement et frisure des feuilles |
| 11.3 Validation de l'essai..... | l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité |
| 12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins | |
| absente | [1] symptômes sévères |
| présente..... | [9] aucun symptôme ou symptômes légers |

13. Points critiques de contrôle :

Ce virus est endémique dans de nombreuses zones tropicales et sub-tropicales et est classé comme bioagresseur de quarantaine dans de nombreux pays à climat tempéré. Il figure sur la liste d'alerte EPPO. Quelques variétés résistantes au virus peuvent être sensibles au virus étroitement apparenté *Sardinia* des feuilles jaunes en cuillère de la tomate (TYLCSV).

Libellé actuel :

Ad. 58 : Résistance au virus de la tache bronzée de la tomate (TSWV) – Pathotype 0

Méthode

Maintien du pathotype

Nature du milieu : sur des plants de tomate ou par congélation à -70 °C

Conditions particulières :

Réalisation du test

Stade des plantes : une ou deux feuilles étalées

Température : diurne : 20 °C; nocturne : 20 °C

Lumière : luminosité supplémentaire en hiver

Méthode de culture : sous serre

Méthode d'inoculation : mécanique, frottement des cotylédons au carborundum, suspension d'inoculum < 10 °C

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : 20 jours
- de l'inoculation à la lecture : 14 à 20 jours

Nombre de plantes étudiées : 15 à 30 plantes

Observations : attention aux thysanoptères

Variétés contrôle :

- sensible : Monalbo
- résistantes : Tsunami, Bodar, Lisboa

Nouveau libellé proposé :

Ad 58 : Résistance au virus de la tache bronzée de la tomate (TSWV)

1. Agent pathogène virus de la tache bronzée de la tomate
2. État de quarantaine oui
3. Espèces hôtes *Solanum lycopersicum*
4. Source de l'inoculum Naktuinbouw¹⁶ (NL), GEVES¹⁷ (FR)
5. Isolât pathotype 0, de préférence une souche non transmise par les thysanoptères
7. Détermination du pouvoir pathogène bioessai
8. Multiplication de l'inoculum
- 8.6 Récolte de l'inoculum les feuilles symptomatiques peuvent être stockées à -70°C
9. Format de l'essai
- 9.1 Nombre de plantes par génotype 20 plantes
- 9.2 Nombre de répétitions 1 répétition
- 9.3 Variétés témoins
- Sensibles : Monalbo, Momor, Montfavet H 63.5
- Résistantes : Tsunami, Bodar, Mospomor, Lisboa
- 9.5 Installation d'essai serre ou chambre climatisée
- 9.6 Température 20°C
- 9.7 Lumière 12 heures ou plus
- 9.9 Mesures spéciales empêcher ou combattre les thysanoptères
10. Inoculation
- 10.1 Préparation de l'inoculum presser les feuilles symptomatiques dans un endroit glacé 0,01 M PBS, pH 7,4, avec 0,01 M de sulfite de sodium
option : tamiser le suc de la feuille au travers d'une double mousseline
- 10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation une ou deux feuilles développées
- 10.4 Méthode d'inoculation mécanique, frotter avec du carborundum sur des cotylédons, suspension d'inoculum < 10°C
- 10.7 Observations finales 7 à 21 jours après l'inoculation
11. Observations
- 11.1 Méthode visuelle
- 11.2 Échelle d'observation symptômes : mosaïque au sommet, bronzage, diverses malformations, nécrose
- 11.3 Validation de l'essai l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins
- absente [1] symptômes
- présente [9] aucun symptôme

13. Points critiques de contrôle :

Le virus de la tache bronzée de la tomate (TSWV) a un statut de bioagresseur de quarantaine dans quelques pays. Il est transmis par *Thrips tabaci* et le thysanoptère occidental des fleurs (*Frankliniella occidentalis*). Le pathotype 0 est défini par son incapacité à surpasser la résistance dans les variétés de tomate porteuses du gène de résistance Sw-5.

¹⁶ Naktuinbouw: resistantie@naktuinbouw.nl

¹⁷ GEVES : Valerie.GRIMAULT@geves.fr

Libellé actuel :

Ad. 59 : Résistance à *Leveillula taurica* (Lt)

Méthode

Maintien du pathotype

Nature du milieu : plants de tomate

Conditions particulières :

Réalisation du test

Stade des plantes : sur des plantes adultes en plein champ

Méthode d'inoculation : infection naturelle

Durée de l'examen

- du semis à l'inoculation : infection possible de la plantation au plein développement
- de l'inoculation à la lecture : avant récolte

Nombre de plantes étudiées :

20 plantes

Observations :

taches de chlorose jaune sur la face supérieure des feuilles,
mycélium sur la face inférieure
contrôler cleistothecia au microscope pour vérifier s'il concerne
réellement *Leveillula* et aucun autre mildiou

Variétés contrôle :

- sensible : Monalbo
- résistante : Atlanta

Nouveau libellé proposé :

Ad 59 : Résistance à *Leveillula taurica* (Lt)

- | | |
|---|---|
| 1. Agent pathogène | <i>Leveillula taurica</i> |
| 3. Espèce hôte | <i>Solanum lycopersicum</i> |
| 4. Source de l'inoculum | aucune méthode de stockage à long terme n'est disponible |
| 5. Isolât | |
| 8.1 Milieu de multiplication | feuilles détachées d'une plante hôte sensible |
| 9. Format de l'essai | |
| 9.1 Nombre de plantes par génotype .. | 20 plantes |
| 9.2 Nombre de répétitions | 1 répétition |
| 9.3 Variétés témoins | |
| Sensibles : | .. Monalbo , Montfavet H 63.5 |
| Résistantes : | .. Atlanta |
| 10. Inoculation | |
| 10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation | plantes adultes |
| 10.4 Méthode d'inoculation..... | infection naturelle, essentiellement due à la dispersion des spores par le vent avant la récolte |
| 10.7 Observations finales | |
| 11. Observations..... | |
| 11.1 Méthode..... | visuelle |
| 11.2 Échelle d'observation | symptômes : taches de chlorose jaune sur la face supérieure des feuilles, mycélium sur la face dorsale des feuilles |
| 11.3 Validation de l'essai..... | l'évaluation de la résistance de la variété doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité |
| 12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins | |
| absente | [1] symptômes |
| présente..... | [9] aucun symptôme ou expression de niveau inférieur nettement au standard résistant. |
| 13. Points critiques de contrôle : | |
| Vérifier la présence de cleistothecia au microscope pour confirmer la présence de <i>Leveillula</i> et l'absence d'un autre Oïdium. | |

Libellé actuel :

Ad. 60 : Résistance à *Oidium neolycopersici* (On) (ex *Oidium lycopersicum* (Ol))

Méthode

Maintien des pathotypes

Nature du milieu : sur plants de tomate
Conditions particulières : en chambre climatisée

Réalisation du test

Stade des plantes : 3 semaines
Température : diurne : 24 °C; nocturne : 18 °C
Lumière : 12 heures
Méthode d'inoculation :
– par pulvérisation (10^4 conidies/ml) sur le feuillage
– par saupoudrage (inoculum non contrôlé) sur le feuillage

Durée du test

– du semis à l'inoculation : 18 à 20 jours
– de l'inoculation à la lecture : 15 à 18 jours

Nombre de plantes étudiées : 30 plantes/lot

Observations :

Échelle de notation :
– absence de sporulation }
– sporulation ponctuelle } Résistant
(points de nécrose) }
– sporulation modérée }
– sporulation abondante } Sensible

Variétés contrôle :
– sensible : Momor (*L. esculentum*)
– résistantes : *L. hirsutum* PI-247087 (obtention), Romiror

Nouveau libellé proposé :

Ad 60 : Résistance à *Oidium neolycopersici* (On)

- | | |
|---|---|
| 1. Agent pathogène | <i>Oidium neolycopersici</i> (Oïdium) |
| 3. Espèces hôtes | <i>Solanum lycopersicum</i> |
| 4. Source de l'inoculum | - |
| 5. Isolât | voir la remarque sous 13 |
| 7. Détermination du pouvoir pathogène | bioessai |
| 8. Multiplication de l'inoculum | |
| 8.1 Milieu de multiplication | plante |
| 8.3 Stade de la plante lors de l'inoculation | 3 semaines |
| 8.4 Milieu d'inoculation | eau |
| 8.5 Méthode d'inoculation..... | voir 10.4 |
| 8.6 Récolte de l'inoculum | en rinçant |
| 8.7 Vérification de l'inoculum récolté | vérifier la présence de contaminants au microscope |
| 8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum..... | 1 à 2 heures |
| 9. Format de l'essai | |
| 9.1 Nombre de plantes par génotype | 20 plantes |
| 9.2 Nombre de répétitions..... | 1 répétition |
| 9.3 Variétés témoins | |
| Sensibles : | Momor, Montfavet H 63.5 |
| Tomates résistantes : | Atlanta, Romiro, PI-247087 |
| 9.5 Installation d'essai | serre |
| 9.6 Température | 20°C ou 18/24°C |
| 9.7 Lumière..... | 12 heures |
| 10. Inoculation | |
| 10.1 Préparation de l'inoculum | recueillir des spores dans l'eau |
| 10.2 Quantification de l'inoculum..... | 10 ⁴ conidia/ml |
| 10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation | 3 semaines |
| 10.4 Méthode d'inoculation..... | par pulvérisation sur les feuilles ou
par saupoudrage des feuilles |
| 10.7 Observations finales | 7 à 18 jours après l'inoculation |
| 11. Observations | |
| 11.1 Méthode..... | visuelle |
| 11.2 Échelle d'observation | 0. aucune sporulation
1. points de nécrose et, parfois, sporulation limitée localement
2. Sporulation modérée
3. Sporulation abondante |
| 11.3 Validation de l'essai..... | l'évaluation de la résistance des variétés doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité |
| 12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins | |
| absente | [1] Sporulation modérée ou abondante |
| présente..... | [9] Aucune sporulation ou sporulation restreinte |

13. Points critiques de contrôle :

Il faut éviter les isolats qui surpassent la résistance. La résistance à *O. neolycopersici* est en général spécifique au pathotype. Toutefois, aussi longtemps qu'une série différentielle de génotypes de tomate avec des résistances définies fait défaut, il demeurera difficile de conclure qu'il existe différents pathotypes d'*O. neolycopersici*.

Libellé actuel :

Ad. 61 : Résistance au virus Tomato Torrado (ToTV)

Méthode

Maintien des pathotypes

Nature du milieu :	matériel végétal présentant des symptômes, conservé à -80 °C
Multiplication :	sur <i>N. tabacum</i> "Xanthi" trois semaines après le début de l'expérience
Conditions particulières :	appliquer les procédures relatives à la quarantaine
Observations :	la mouche blanche peut être un vecteur du ToTV

Réalisation du test

Stade des plantes :	inoculation lorsque les cotylédons sont complètement développés, renouveler l'opération sept jours plus tard sur les premières vraies feuilles (une ou deux feuilles)
Température :	diurne : 23 °C; nocturne : 21 °C; éviter les températures supérieures à 25 °C
Lumière :	luminosité supplémentaire en hiver, 16 heures par jour, 8 heures par nuit
Méthode de culture :	locaux de quarantaine; serre
Méthode d'inoculation :	avec 0,01 M PBS pH 7 froid gelée et carborundum
<u>Durée de l'examen</u>	
– du semis à l'inoculation :	14 jours
– de l'inoculation à la lecture :	14 à 21 jours
Nombre de plantes étudiées :	20 à 30 plantes
Observations :	points de nécrose sur les feuilles supérieures des plantes sensibles
<u>Variétés contrôle :</u>	variété contrôle résistante : Matias

Note : Brevets en instance pour une partie de la méthode : WO2006/085749 et WO2008/150158 et équivalents. À utiliser uniquement aux fins de l'examen DHS et pour l'élaboration de descriptions variétales par l'UPOV et les services des membres de l'UPOV, avec l'aimable autorisation de De Ruiter Seeds R&D B.V./Monsanto Invest N.V.

Nouveau libellé proposé :

Ad 61 : Résistance au virus Tomato Torrado (ToTV)

1. Agent pathogène	virus Tomato Torrado
2. État de quarantaine	dans les régions à climat tempéré
3. Espèce hôte	<i>Solanum lycopersicum</i>
4. Source de l'inoculum	-
5. Isolât	-
7. Détermination du pouvoir pathogène	bioessai
8. Multiplication de l'inoculum	
8.1 Milieu de multiplication	Nicotiana tabacum 'Xanthi'
8.3 Stade de la plante lors de l'inoculation	cotylédon jusqu'à la première feuille
8.5 Méthode d'inoculation.....	voir 10.4
8.6 Récolte de l'inoculum	après 3 semaines
8.7 Vérification de l'inoculum récolté ...	plantes jaunies, infection systémique
8.8 Durée de conservation/viabilité de l'inoculum.....	instable à température ambiante
9. Format de l'essai	
9.1 Nombre de plantes par génotype ..	20 plantes
9.2 Nombre de répétitions.....	1 répétition
9.3 Variétés témoins.....	
Sensibles :	Daniela
Tomate résistante :	Matias
9.5 Installation d'essai	serre
9.6 Température	23°C le jour; 21°C la nuit
9.7 Lumière.....	16 heures
10. Inoculation	
10.3 Stade de la plante lors de l'inoculation	14 jours
10.4 Méthode d'inoculation.....	dans un endroit glacé 0,01 M PBS pH 7 et du carborundum
10.5 Première observation	7 jours après l'inoculation
10.6 Deuxième observation.....	14 jours après l'inoculation
10.7 Observations finales	18 jours après l'inoculation
11. Observations.....	
11.1 Méthode.....	visuelle
11.2 Échelle d'observation	points de nécrose sur les feuilles supérieures
11.3 Validation de l'essai.....	l'évaluation de la résistance de la variété doit être calibrée avec les résultats des contrôles de résistance et de sensibilité
12. Interprétation des résultats du test en comparaison avec les variétés témoins	
absente	[1] présence de points de nécrose
présente.....	[9] aucun symptôme
13. Points critiques de contrôle :	

Le ToTV est transmis par la mouche blanche (*Bemisia tabaci*). Produire l'inoculum avec un mortier glacé et un pilon.
Pendant l'inoculation, la température doit être inférieure à 25°C

Note : Brevets en instance pour une partie de la méthode : WO2006/085749 et WO2008/150158 et équivalents. À utiliser uniquement aux fins de l'examen DHS et pour l'élaboration de descriptions variétales par l'UPOV et les services des membres de l'UPOV, avec l'aimable autorisation de De Ruiters Seeds R&D B.V./Monsanto Invest N.V.

[L'annexe III suit]

Proposition d'ajout des ouvrages de référence au chapitre 9 : littérature

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 Pays-Bas.

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 de l'annexe III et du document]