

Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes  
European and Mediterranean Plant Protection Organization

# **Normes OEPP EPPO Standards**

Production of healthy plants for planting  
Production de végétaux sains destinés à la  
plantation

PM 4/26(2)



Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes,  
1, rue Le Nôtre, 75016 Paris, France

## Approval

EPPO Standards are approved by EPPO Council. The date of approval appears in each individual standard.

## Review

EPPO Standards are subject to periodic review and amendment. The next review date for this set of EPPO Standards is decided by the EPPO Working Party on Phytosanitary Regulations.

## Amendment record

Amendments will be issued as necessary, numbered and dated. The dates of amendment appear in each individual standard (as appropriate).

## Distribution

EPPO Standards are distributed by the EPPO Secretariat to all EPPO member governments. Copies are available to any interested person under particular conditions upon request to the EPPO Secretariat.

## Scope

EPPO Schemes for the Production of Healthy Plants for Planting are intended to be used by NPPOs or equivalent authorities, in their capacity as bodies responsible for the design of systems for production of healthy plants for planting, for the inspection of such plants proposed for phytosanitary certification, and for the issue of appropriate certificates.

## References

- OEPP/EPPO (1991) Recommendations made by EPPO Council in 1990: general scheme for the production of certified pathogen-tested vegetatively propagated ornamental plants. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **21**, 757.
- OEPP/EPPO (1992) Recommendations made by EPPO Council in 1981: certification of virus-tested fruit trees, scions and rootstocks. *EPPO Technical Documents* **1013**, 42–43.
- OEPP/EPPO (1993) Recommendations made by EPPO Council in 1992: scheme for the production of classified vegetatively propagated ornamental plants to satisfy health standards. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **23**, 735–736.

## Definitions

*Basic material*: propagation stock material from all but the last stage of propagation stock, satisfying the recommended certification standards and certified for sale. According to the number of stages of propagation stock, there may be several grades of basic material.

*Candidate nuclear stock*: any plant that may become or may be propagated to produce nuclear stock. Testing for specified pests is required before the plant can be accepted as nuclear stock. Until testing is complete and negative, the plant remains candidate nuclear stock.

*Certification scheme*: system for the production of vegetatively propagated plants for planting, intended for further propagation or for sale,

## Approbation

Les Normes OEPP sont approuvées par le Conseil de l'OEPP. La date d'approbation figure dans chaque norme.

## Révision

Les Normes OEPP sont sujettes à des révisions et des amendements périodiques. La prochaine date de révision de cette série de Normes OEPP est décidée par le Groupe de travail pour l'étude de la réglementation phytosanitaire.

## Enregistrement des amendements

Des amendements seront préparés si nécessaire, numérotés et datés. Les dates de révision figurent (si nécessaire) dans chaque norme individuelle.

## Distribution

Les Normes OEPP sont distribuées par le Secrétariat de l'OEPP à tous les Etats membres de l'OEPP. Des copies sont disponibles, sous certaines conditions, auprès du Secrétariat de l'OEPP pour toute personne intéressée.

## Champ d'application

Les Schémas de l'OEPP pour la production de végétaux sains destinés à la plantation sont destinés aux ONPV ou aux organismes équivalents, en leur qualité d'autorités responsables de la mise en place de systèmes de production de végétaux sains destinés à la plantation, de l'inspection des végétaux proposés pour la certification phytosanitaire, et de la délivrance des certificats appropriés.

## Références

- OEPP/EPPO (1991) Recommandations du Conseil de l'OEPP en 1990: schéma pour la production de plantes ornementales, à multiplication végétative, certifiées 'pathogen-tested'. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **21**, 740.
- OEPP/EPPO (1992) Recommandations du Conseil de l'OEPP en 1981: certification virologique des arbres fruitiers, greffons et porte-greffe. *Documents techniques de l'OEPP* **1013**, 10–11.
- OEPP/EPPO (1993) Recommandations du Conseil de l'OEPP en 1992: schéma pour la production de matériel classifié de plantes ornementales multipliées par voie végétative et répondant aux normes sanitaires. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **23**, 729–730.

## Définitions

*Candidat au stade initial*: toute plante qui peut devenir stade initial ou peut être multipliée pour produire le stade initial. Des tests de détection sont exigés pour des organismes nuisibles précisés avant que la plante ne soit acceptée dans le stade initial. Elle reste candidate au stade initial jusqu'à ce que tous les tests aient été effectués et aient donné un résultat négatif.

*Filiation*: la lignée d'une plante par multiplication végétative à partir d'un parent identifié.

*Matériel certifié*: matériel de multiplication issu du dernier stade de propagation. Le matériel certifié respecte les normes de certification

obtained from nuclear stock after several propagation stages under conditions ensuring that stated health standards are met. The filiation of the material is recorded throughout the scheme.

*Certified material:* propagating material from the last stage of propagation stock, satisfying the recommended certification standards and certified for sale. In the case of plants which are sold grafted onto rootstocks, the rootstocks must also be at least of the last stage of propagation stock, and the plants must be held under approved conditions between grafting and sale. Certified material may, according to the plant concerned, be referred to more specifically as, for example, certified plants, certified cuttings, certified bulbs, etc.

*Classification scheme:* system for the production of vegetatively propagated plants for planting, intended for further propagation or for sale, obtained from selected candidate material after one or several propagation stages under conditions ensuring that stated health standards are met. Different classes may be defined according to the inspections and tests used, the tolerance levels applied and the precautions taken. The filiation of classified material is not considered.

*Filiation:* the line of descent by vegetative propagation from a defined parent plant.

*Nuclear stock:* plants individually tested by the most rigorous procedure in a certification scheme and found free from specified pests. All such plants must be maintained at all times under strict conditions ensuring freedom from infection. According to the crop concerned, plants propagated from nuclear stock material may remain nuclear stock provided that they do not leave the nuclear stock conditions. In the case of plants which are maintained by grafting onto rootstocks, the rootstocks must also be nuclear stock.

*Nuclear stock material:* propagating material derived from nuclear stock, which may be further propagated without change of ownership, or certified for sale as pre-basic material.

*Pre-basic material:* nuclear stock material, satisfying the recommended certification standards and certified for sale.

*Propagation stock:* plants derived from nuclear stock, propagated and maintained under conditions ensuring freedom from infection. Pathogen freedom is checked by appropriate procedures. Propagation may be done in a number of successive stages under different approved conditions. The plants are then known as propagation stock I, propagation stock II, etc. There may be several generations within each of these stages, provided that the plants do not leave the approved conditions. The number of stages and/or generations allowed within propagation stock is generally limited and will depend on the crop concerned. In the case of propagating material which is maintained by grafting on a rootstock, the rootstock should be at least of the corresponding stage of propagation stock.

*Propagation stock material:* propagating material derived from propagation stock, which may be further propagated without change of ownership, or certified for sale as basic or certified material, according to the stage of propagation stock concerned.

recommandées et est certifié pour être commercialisé. Si des plantes sont commercialisées greffées sur des porte-greffe, ceux-ci doivent également provenir du dernier stade de propagation et les plantes doivent être maintenues dans des conditions approuvées entre le greffage et la commercialisation. Le matériel certifié peut, selon l'espèce végétale concernée, avoir un nom plus spécifique, comme par exemple plantes certifiées, boutures certifiées, bulbes certifiés, etc.

*Matériel de base:* matériel issu d'un stade de propagation à l'exception du dernier. Le matériel de base respecte les normes de certification recommandées et est certifié pour être commercialisé. Il peut y avoir plusieurs grades de matériel de base selon le nombre de stades de propagation.

*Matériel de pré-base:* matériel issu du stade initial. Le matériel de pré-base respecte les normes de certification recommandées et est certifié pour être commercialisé.

*Matériel issu du stade initial:* matériel de multiplication issu du stade initial, qui peut être multiplié sans changement de propriétaire ou être certifié pour être commercialisé comme matériel de pré-base.

*Matériel issu du stade de propagation:* matériel de multiplication issu d'un stade de propagation, qui peut être multiplié sans changement de propriétaire ou être certifié pour être commercialisé comme matériel de base ou certifié, selon le stade de propagation concerné.

*Schéma de certification:* système pour la production par voie végétative de végétaux destinés à la plantation (pour la multiplication ou la commercialisation) obtenus à partir du stade initial après plusieurs étapes de multiplication dans des conditions garantissant le respect de normes sanitaires définies. La filiation du matériel est suivie pendant tout le schéma.

*Schéma de classification:* système pour la production par voie végétative de végétaux destinés à la plantation (pour la multiplication ou la commercialisation) obtenus à partir de matériel candidat après une ou plusieurs étapes de multiplication dans des conditions garantissant le respect de normes sanitaires définies. Des classes différentes peuvent être définies en fonction des inspections et des tests utilisés, des tolérances appliquées et des précautions prises. La classification ne tient pas compte de la filiation du matériel.

*Stade de propagation:* plantes issues du stade initial, multipliées et maintenues dans des conditions garantissant l'absence de contamination. L'absence de pathogènes est contrôlée par des procédures appropriées. La multiplication peut être réalisée en plusieurs stades successifs dans des conditions différentes approuvées. Les plantes sont alors identifiées comme du stade de propagation I, stade de propagation II, etc. Chaque stade de propagation peut comprendre plusieurs générations si les plantes ne quittent pas les conditions précisées. Le nombre de stades et/ou de générations autorisés est généralement limité et dépend de la culture concernée. Si les plantes du stade de propagation sont greffées sur des porte-greffe, ceux-ci doivent provenir au moins du stade de propagation correspondant.

*Stade initial:* plantes testées individuellement selon la procédure la plus rigoureuse du schéma de certification et trouvées indemnes d'organismes nuisibles précisés. Toutes ces plantes sont maintenues en permanence dans des conditions strictes garantissant l'absence de contamination. Selon les cultures concernées, les plantes multipliées à partir du stade initial peuvent rester stade initial si elles ne quittent pas les conditions du stade initial. Si des plantes du stade initial sont greffées sur des porte-greffe, ceux-ci doivent également provenir du stade initial.

## Outline of requirements

EPPO Schemes for the Production of Healthy Plants for Planting describe the steps to be followed for the production of vegetatively propagated planting material of a particular cultivated plant, whose

## Vue d'ensemble

Un Schéma de l'OEPP pour la production de végétaux sains destinés à la plantation décrit, pour une plante cultivée donnée, les étapes de la production par voie végétative de matériel destiné à la plantation, dont

health status is attested by an official certificate. Certification and classification represent distinct alternative approaches to the production of healthy planting material. In a typical certification scheme, the certified material is descended by not more than a fixed number of steps from individual plants, each of which is tested and found free from pests, and is then maintained and propagated under rigorous conditions excluding recontamination. In a classification scheme, the classified material is descended by one or more steps from material which, as a population, meets certain health standards and is maintained and propagated under conditions minimizing recontamination. In both cases, however, health status is attested by an official certificate. Which of the approaches is appropriate for a given cultivated plant depends on considerations of cost and resources, health status required, practical possibilities for testing, rate of recontamination, value of the final material.

EPPO Schemes for the Production of Healthy Plants for Planting give details on the selection, growth and maintenance of the candidate material, and on the propagation of this material in several stages under conditions ensuring that stated health standards are met. Appropriate checks on specified pests are specified throughout the scheme. Information is provided, as necessary, on relevant pests, cultural practices, inspection and testing methods, recommended certification standards.

### Existing EPPO Standards in this series

Thirty EPPO Standards have already been approved and published, under the title *Certification Schemes*. This set of revised standards introduces a new title for the series. Each standard is numbered in the style PM 4/2 (1), meaning an EPPO Standard on Phytosanitary Measures (PM), in series no. 4 (EPPO Schemes for the Production of Healthy Plants for Planting), in this case standard no. 2, first version.

This set constitutes a revision of all the existing standards concerning ornamental plants. The EPPO Panel on certification of pathogen-tested ornamentals developed a new basic text for its certification schemes. This has now been applied to all 10 Standards on certification schemes. The Panel also reviewed the technical content of all the Standards for which it was responsible, including the six Standards on classification schemes. All 16 Standards for ornamentals have thus been updated with the latest technical information. The other standards in the series are:

PM 4/7 (2)	Nursery requirements. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>31</b> , 441–444.
PM 4/8 (1)	Pathogen-tested material of grapevine varieties and rootstocks. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>24</b> , 347–367
PM 4/9 (1)	Pathogen-tested material of <i>Ribes</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>24</b> , 857–864
PM 4/10 (1)	Pathogen-tested material of <i>Rubus</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>24</b> , 865–873
PM 4/11 (1)	Pathogen-tested material of strawberry. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>24</b> , 875–889
PM 4/12 (1)	Pathogen-tested citrus trees and rootstocks. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>25</b> , 737–755
PM 4/16 (1)	Pathogen-tested material of hop. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>27</b> , 175–184
PM 4/17 (1)	Pathogen-tested olive trees and rootstocks. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>27</b> , 185–194

l'état sanitaire est attesté par un certificat officiel. La certification et la classification sont des approches alternatives pour la production de matériel sain destiné à la plantation. Dans un schéma de certification, le matériel certifié descend, par un nombre maximum d'étapes, de plantes individuelles, chacune testée et trouvée indemne d'organismes nuisibles, puis maintenue et multipliée dans des conditions strictes empêchant toute recontamination. Dans un schéma de classification, le matériel classifié descend par une ou plusieurs étapes de matériel répondant, en tant que population, à certaines normes sanitaires; ce matériel est maintenu et multiplié dans des conditions minimisant la recontamination. Dans les deux cas, le statut phytosanitaire est attesté par un certificat officiel. L'approche appropriée pour une plante donnée dépend de la prise en compte du coût et des ressources nécessaires, du statut phytosanitaire recherché, des possibilités pratiques de test, du taux de recontamination, de la valeur du matériel final.

Les Schémas de l'OEPP pour la production de végétaux sains destinés à la plantation donnent des détails sur la sélection et le maintien du matériel initial, et sur la multiplication de ce matériel en plusieurs étapes dans des conditions assurant le respect de normes sanitaires définies. Les contrôles nécessaires pour les organismes nuisibles concernés sont spécifiées dans le schéma. Des informations sont fournies, au besoin, sur les organismes nuisibles concernés, les pratiques culturales, les méthodes de test et d'inspection, les normes de certification recommandées.

### Normes OEPP déjà existantes dans cette série

Trente normes OEPP ont déjà été approuvées et publiées, sous le titre de *Schémas de certification* actuellement remplacé par la nouvelle dénomination de la série. Chaque norme est individuellement numérotée: par exemple la norme PM 4/2 (1) est une Norme OEPP sur les mesures phytosanitaires (PM), appartenant à la série 4 (Schémas pour la production de végétaux sains destinés à la plantation); il s'agit dans ce cas de la Norme 2, 1ère version.

Les textes présentés ici correspondent à la révision de toutes les normes concernant les plantes ornementales. Le Groupe d'experts de l'OEPP sur la certification sanitaire des plantes ornementales a développé un nouveau texte de base pour les schémas de certification qui le concernent. Il l'a appliqué à chacune des dix Normes de certification. Le Groupe a aussi passé en revue le contenu technique de toutes les Normes qui sont de son ressort, y compris les six Normes de classification. Ainsi, l'ensemble des 16 Normes sur les plantes ornementales a été mis à jour par rapport aux dernières informations techniques. Les autres normes de la série sont:

PM 4/7 (2)	Exigences pour les établissements de certification. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>31</b> , 441–444
PM 4/8 (1)	Certification sanitaire des variétés et porte-greffe de la vigne. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>24</b> , 347–367
PM 4/9 (1)	Certification sanitaire des <i>Ribes</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>24</b> , 857–864
PM 4/10 (1)	Certification sanitaire des <i>Rubus</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>24</b> , 865–873
PM 4/11 (1)	Certification sanitaire du fraisier. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>24</b> , 875–889
PM 4/12 (1)	Certification sanitaire des arbres et porte-greffe d'agrumes. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> , <b>25</b> , 737–755
PM 4/16 (1)	Certification sanitaire du houblon. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>27</b> , 175–184
PM 4/17 (1)	Certification sanitaire d'arbres et de porte-greffe d'olivier. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> <b>27</b> , 185–194

PM 4/18 (1)	Pathogen-tested material of <i>Vaccinium</i> spp. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 27</i> , 195–204	PM 4/18 (1)	Certification sanitaire de matériel de <i>Vaccinium</i> spp. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 27</i> , 195–204
PM 4/27 (1)	Pathogen-tested material of <i>Malus</i> , <i>Pyrus</i> and <i>Cydonia</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 29</i> , 239–252	PM 4/27 (1)	Certification sanitaire de <i>Malus</i> , <i>Pyrus</i> and <i>Cydonia</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 29</i> , 239–252
PM 4/28 (1)	Seed potatoes <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 29</i> , 253–267	PM 4/28 (1)	Pommes de terre de semence. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 29</i> , 253–267
PM 4/29 (1)	Certification scheme for cherry. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 31</i> , 447–461	PM 4/29 (1)	Schéma de certification pour le cerisier. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 31</i> , 447–461
PM 4/30 (1)	Certification scheme for almond, apricot, peach and plum. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 31</i> , 463–478	PM 4/30 (1)	Schéma de certification pour l'abricotier, l'amandier, le pêcher et les pruniers. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 31</i> , 463–478

**Production of healthy plants for planting**  
**Production de végétaux sains destinés à la plantation**

**Certification scheme for petunia**  
**Schéma de certification pour le pétunia**

**Specific scope**

This standard describes the production of certified pathogen-tested material of petunia.

**Specific approval and amendment**

First approved in 1998-09.  
Revision approved in 2000-09.

**Champ d'application spécifique**

Cette norme décrit la production de matériel de pétunia soumis à une certification sanitaire.

**Approbation et amendement spécifiques**

Approbation initiale en 1998-09.  
Révision approuvée en 2000-09.

---

The scheme is presented according to the general sequence proposed by the EPPO Panel on Certification of Pathogen-tested Ornamentals and adopted by EPPO Council (OEPP/EPPO, 1991). It gives details, for the different steps of certification, of the operations to be carried out on the crop in the nursery, including tests and visual inspections, to ensure that defined health standards required for the certification are met, and also defines those health standards. Certified petunia material for export should in any case satisfy the phytosanitary regulations of importing countries, especially with respect to any of the pathogens covered by the scheme which are also quarantine pests. The stages of the certification scheme are illustrated in Fig. 1. The tests and inspections to be carried out at different stages of the scheme are summarized in Appendix I.

**1. Selection of candidate nuclear stock**

The scheme applies to vegetatively propagated cultivars of petunia and does not cover *Petunia* spp. propagated by seed. The candidate material may be new cultivars, good-quality material of existing cultivars or meristem-tip cultures of any of these (regenerated cultivars). Material imported from outside the EPPO region should be inspected and, if appropriate, tested under quarantine for all EPPO quarantine pests of petunia occurring naturally in the region of origin, e.g. *Andean potato latent tymovirus* (APLV), according to the relevant EPPO phytosanitary procedures and generally inspected or, if appropriate, tested for any other pests.

Cuttings taken from the selected plants are rooted and transferred to candidate nuclear-stock conditions.

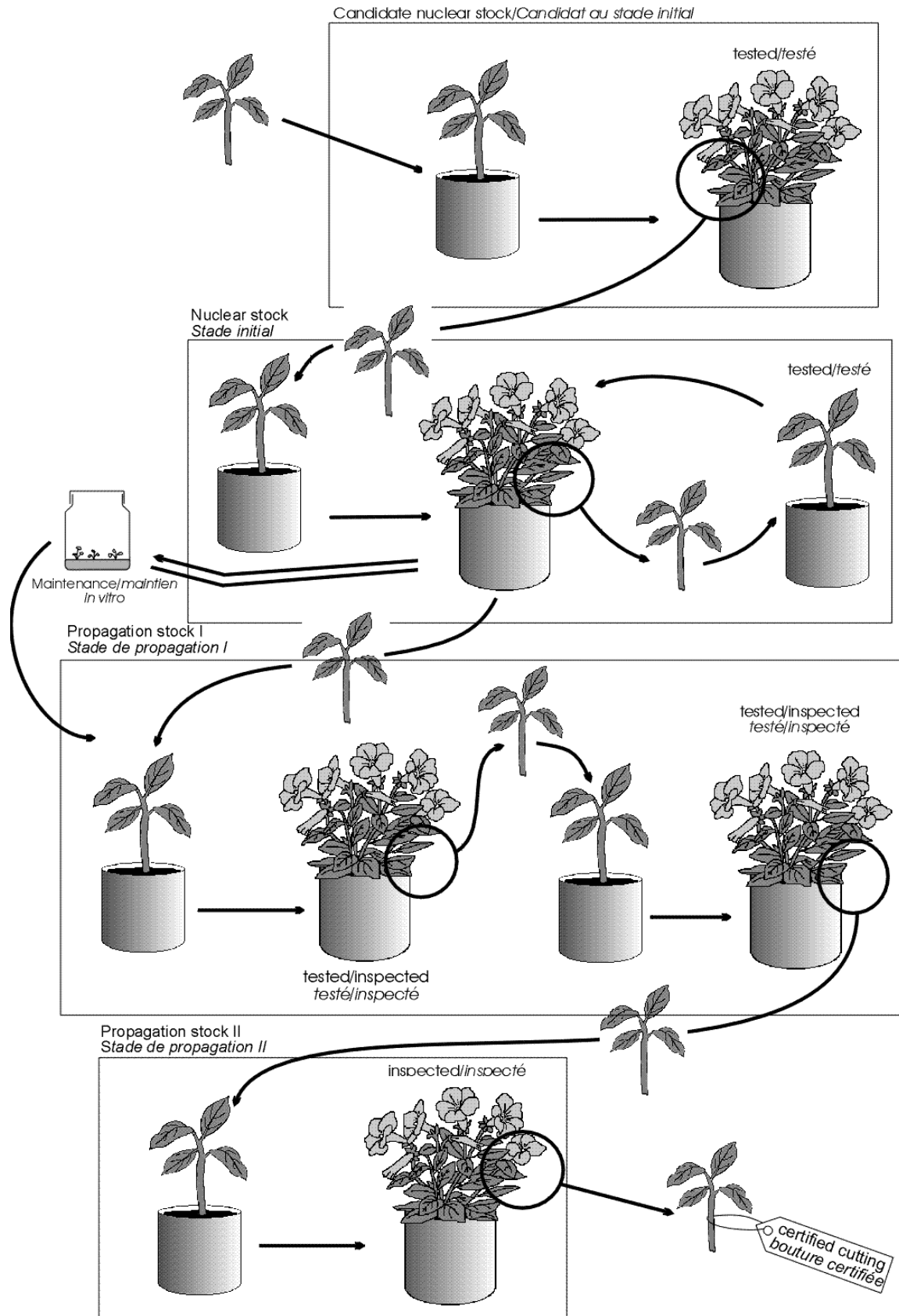
---

Ce schéma est présenté selon le plan général proposé par le Groupe d'experts OEPP sur la certification sanitaire des plantes ornementales et adopté par le Conseil de l'OEPP (OEPP/EPPO, 1991). Il donne des détails, pour les différentes étapes de la certification, sur les opérations qui doivent être effectuées en pépinière, y compris les tests et les inspections visuelles, pour garantir que le matériel soit conforme aux normes sanitaires; ces normes sont également définies dans ce schéma. Le matériel certifié de pétunia destiné à l'exportation doit dans tous les cas satisfaire à la réglementation phytosanitaire des pays importateurs, notamment en ce qui concerne les pathogènes figurant dans le schéma et classés aussi comme organismes de quarantaine. Les stades du schéma de certification sont illustrés à la Fig. 1. Les tests et les inspections devant être effectués aux différents stades du schéma sont résumés à l'Annexe I.

**1. Sélection de plantes candidates au stade initial**

Le schéma s'applique aux cultivars de pétunia multipliés par voie végétative; il ne concerne pas les espèces de pétunia multipliées par semences. Le matériel candidat peut correspondre à de nouveaux cultivars, à du matériel de qualité appartenant à des cultivars déjà existants ou à des cultures de méristèmes de tous ceux-ci (cultivars régénérés). Le matériel importé de l'extérieur de la région OEPP doit être inspecté et, le cas échéant, testé en quarantaine, par des méthodes recommandées par l'OEPP, pour tous les organismes de quarantaine OEPP du pétunia présents naturellement dans la région d'origine, par ex. l'*Andean potato latent tymovirus* (APLV), et généralement inspecté ou, le cas échéant, testé pour détecter tout autre organisme nuisible.

Les boutures prises sur les plantes sélectionnées sont enracinées et transférées dans les conditions du stade initial.



**Fig. 1** Diagram of the stages in the petunia certification scheme  
 Diagramme des stades du schéma de certification du pétunia

## 2. Maintenance and testing of candidate nuclear stock

### 2.1 Growing conditions

The candidate plants for nuclear stock should be kept 'in quarantine' (that is in an isolated, suitably designed, aphid-proof house, separately from the nuclear stock) where they can be observed and tested.

All plants should be grown in individual pots in sterilized growing medium, avoiding contact between plants and with strict precautions against virus transmission by aphids and thrips (mainly *Frankliniella occidentalis*), and against infection by *Erwinia chrysanthemi* and *Ralstonia solanacearum*.

### 2.2 Testing requirements

All plants should be individually tested for the following pests:

*Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV);  
*Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV);  
*Tomato aspermy cucumovirus* (TAV);  
*Tomato mosaic tobamovirus* (ToMV);  
*Tobacco mosaic tobamovirus* (TMV);  
 Potyviruses;  
*Impatiens necrotic spot tospovirus* (INSV);  
*Tomato spotted wilt tospovirus* (TSWV);  
*Broad bean wilt fabavirus* (BBWV);  
*Tobacco ringspot nepovirus* (TRSV);  
*Tomato black ring nepovirus* (TBRV);  
*Tomato ringspot nepovirus* (ToRSV);  
*Potato X potexvirus* (PVX).

Petunia has a well-known susceptibility to virus infection and can host many other viruses. However, those listed above are the ones that are known to infect commercial production of petunia. The most frequently occurring of these viruses in practice are: AMV, CMV, potyviruses<sup>1</sup> (particularly *Potato Y potyvirus*), ToMV and TMV. Transmission is mechanical and by aphids for the first three, and mechanical only for ToMV and TMV. Recommended test methods for petunia viruses are given in Appendix II.

*Potato spindle tuber pospiviroid* (PSTVd) and potato stolbur phytoplasma, which are A2 quarantine pests for EPPO and have a limited distribution in the region, have been reported in petunia. Candidate nuclear stock should be tested for them in countries where they occur.

All plants should be visually inspected for *Petunia vein-clearing caulimovirus* (PVCV). The plants should be visually inspected regularly for all these pests and, generally, for others. Any plant found to be infected, by testing or by visual examination, should be immediately eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled.

### 2.3 Promotion to nuclear stock

Plants that give negative results in all tests and inspections are used to produce nuclear-stock plants by cuttings. Before a plant or any material

<sup>1</sup>It is not yet clear which potyviruses are likely to infect petunia, and they are therefore considered as a group in this scheme.

## 2. Maintien et test des plantes candidates au stade initial

### 2.1 Conditions de culture

Les plantes candidates au stade initial doivent être mises en quarantaine (c'est-à-dire placées dans un abri aphid-proof conçu et réservé à cet usage, séparément du stade initial) pour être observées et testées. Toutes les plantes doivent être cultivées dans des pots individuels contenant un substrat stérilisé, en évitant le contact entre les plantes et en prenant des précautions strictes afin d'éviter la transmission des virus par les pucerons et les thrips (surtout *Frankliniella occidentalis*), et les contaminations par *Erwinia chrysanthemi* et *Ralstonia solanacearum*.

### 2.2 Exigences relatives aux tests

Toutes les plantes doivent être testées individuellement pour les organismes nuisibles suivants:

*Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV);  
*Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV);  
*Tomato aspermy cucumovirus* (TAV);  
*Tomato mosaic tobamovirus* (ToMV);  
*Tobacco mosaic tobamovirus* (TMV);  
 Potyvirus;  
*Impatiens necrotic spot tospovirus* (INSV);  
*Tomato spotted wilt tospovirus* (TSWV);  
*Broad bean wilt fabavirus* (BBWV);  
*Tobacco ringspot nepovirus* (TRSV);  
*Tomato black ring nepovirus* (TBRV);  
*Tomato ringspot nepovirus* (ToRSV);  
*Potato X potexvirus* (PVX).

Le pétunia est très sensible aux infections virales et est un hôte potentiel de nombreux virus, mais les virus listés ci-dessus sont ceux qui infectent le pétunia dans les cultures commerciales. Les plus fréquents en pratique sont l'AMV, le CMV, les potyvirus<sup>1</sup> (surtout le *Potato Y potyvirus*), le ToMV et le TMV. Les trois premiers sont transmis mécaniquement et par les pucerons, tandis que le ToMV et le TMV sont seulement transmis mécaniquement. Les méthodes de test recommandées pour les virus du pétunia figurent à l'Annexe II.

Le *Potato spindle tuber pospiviroid* (PSTVd) et le potato stolbur phytoplasma, organismes de quarantaine A2 de l'OEPP avec une répartition restreinte dans la région, ont été détectés chez le pétunia. Le matériel candidat au stade initial doit être testé dans les pays où ces organismes sont présents.

Toutes les plantes doivent être inspectées visuellement pour rechercher les symptômes du *Petunia vein-clearing caulimovirus* (PVCV). L'état général des plantes relatif à ces organismes nuisibles, et d'une façon générale, à tous les autres, doit être régulièrement contrôlé par des inspections visuelles. Toute plante trouvée contaminée, à la suite de tests ou d'inspections visuelles, doit être immédiatement éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace.

### 2.3 Promotion au stade initial

Les plantes qui donnent des résultats négatifs pour tous les tests et inspections sont utilisées pour produire des plantes du stade initial par

<sup>1</sup>Les potyvirus susceptibles de contaminer le pétunia ne sont pas encore clairement identifiés, et ils sont donc considérés comme un groupe dans ce schéma.



from it may be transferred to the nuclear-stock conditions, its promotion should be authorized by the official organization, after verifying that all required tests and observations have been performed with negative results. Recommended certification standards are given in Appendix III.

### 3. Maintenance of the nuclear stock

#### 3.1 Growing conditions

Cuttings taken from the candidate nuclear stock when planted become the nuclear stock. The nuclear stock can be maintained *in vitro* (but not multiplied) and, in this form, will retain the same status in the scheme. Otherwise, nuclear-stock plants should be kept in a suitably designed aphid-proof house, containing only nuclear-stock plants. They should be maintained under the same conditions, and with the same precautions against infection, as candidate nuclear-stock plants (see point 2 above). A check on trueness to type should be made, by bringing either the nuclear-stock plants, or cuttings taken from them, to flower. The flowering may need to be done in a different place to avoid risk of infection. The useful life of a nuclear-stock plant of petunia does not generally exceed 12 months.

#### 3.2 Testing requirements

The plants should be individually tested for AMV, CMV, potyviruses, ToMV and TMV. They should be visually inspected for the presence of any pest. Any plant found to be infected, by testing or by visual examination, should be immediately eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled. Cuttings taken from nuclear-stock plants can also be considered as nuclear stock, provided that they do not leave the nuclear-stock conditions<sup>2</sup> and are individually retested at least for AMV, CMV, potyviruses, ToMV and TMV. The same applies to plants transferred from *in vitro* culture to pots; in this case, a careful control of trueness to type is also necessary for each plant/clone.

#### 3.3 Certification

Before a plant may be propagated further in the certification scheme, the passage to the next stage should be authorized by the official organization on the basis of records of the tests and observations performed during production, and of one or more certification (visual) inspections. Recommended certification standards are given in Appendix III. If propagating material from nuclear stock leaves the scheme, it may be labelled as 'pre-basic' material.

### 4. Propagation stock I

#### 4.1 Growing conditions

Cuttings taken from the nuclear-stock plants when planted become propagation stock I. The plants should be kept in isolated aphid-proof

<sup>2</sup>They may be transferred to other, similar, nuclear-stock conditions and still retain nuclear-stock status, provided that they are packed at all times during their transport in suitable containers designed to avoid contamination.

bouturage. Avant que le matériel issu d'une plante ne soit transféré dans les conditions du stade initial, sa promotion doit être autorisée par l'organisation officielle, après avoir vérifié que tous les tests et inspections exigés ont été effectués et ont donné des résultats négatifs. Les normes de certification recommandées figurent à l'Annexe III.

### 3. Maintien du stade initial

#### 3.1 Conditions de culture

Lorsque les boutures prises sur le matériel candidat sont plantées, elles deviennent les plantes du stade initial. Le stade initial peut être maintenu *in vitro* (mais sans être multiplié), et, sous cette forme, il pourra conserver le même statut dans le schéma. Sinon, les plantes du matériel initial doivent être conservées dans une serre aphid-proof, conçue pour cet usage et ne contenant que des plantes du stade initial. Elles doivent être placées dans les mêmes conditions de culture et avec les mêmes précautions contre l'infection que les plantes candidates au stade initial (voir point 2 ci-dessus). Un contrôle de l'authenticité variétale doit également être effectué en cultivant les plantes du stade initial, ou des boutures prises sur ces plantes, jusqu'à la floraison. Il peut être nécessaire que la floraison ait lieu à un endroit différent pour éviter le risque d'infection. La durée de vie utile d'une plante de pétunia du stade initial ne dépasse généralement pas 12 mois.

#### 3.2 Exigences relatives aux tests

Les plantes doivent être testées individuellement pour l'AMV, le CMV, les potyvirus, le ToMV et le TMV. Elles doivent être inspectées visuellement pour détecter la présence de tout autre organisme nuisible. Toute plante trouvée contaminée, à la suite de tests ou d'inspections visuelles, doit être immédiatement éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace. Les boutures prélevées sur les plantes du stade initial peuvent aussi être considérées comme faisant partie du stade initial, à condition qu'elles ne quittent pas les conditions du stade initial<sup>2</sup> et qu'elles soient retestées individuellement au moins pour l'AMV, le CMV, les potyvirus, le ToMV et le TMV. Le même principe s'applique aux plantes issues de culture *in vitro* et transférées en pot; dans ce cas, l'authenticité variétale de chaque plante/clone doit être soigneusement contrôlée.

#### 3.3 Certification

Avant qu'une plante ne soit multipliée dans le schéma de certification, le passage au stade suivant doit être autorisé par l'organisation officielle en se basant sur les documents relatifs aux tests et aux observations réalisés pendant la production, et sur une ou plusieurs inspections (visuelles) de certification. Les normes de certification recommandées figurent à l'Annexe III. Si du matériel du stade initial quitte le schéma, il peut être appelé 'matériel de pré-base'.

### 4. Stade de propagation I

#### 4.1 Conditions de culture

Lorsque les boutures prélevées sur des plantes du stade initial sont plantées, elles deviennent le stade de propagation I. Les plantes doivent

<sup>2</sup>Elles peuvent être transférées dans des conditions de stade initial similaires et conserver leur statut de stade initial à condition qu'elles soient emballées pendant toute la durée de leur transport dans des conteneurs adéquats conçus pour éviter la contamination.

houses, separate from any other plants that are not at an equivalent stage of the certification scheme or any similar certification scheme. They should be grown either in individual containers or in a system of small growing units ensuring adequate isolation. General precautions against pests should be maintained.

The number of generations of propagation stock I should not exceed two and the useful life of a propagation-stock I plant does not generally exceed 12 months. After this period, all the propagation-stock I plants should be discarded and replaced by new plants. The filiation of the plants should be recorded, so that each lot is known to be derived from nuclear stock by not more than the fixed number of generations of propagation under the required conditions.

Throughout the production of propagation stock I, checks should be made on varietal purity and on possible mutations or back mutations.

#### 4.2 Testing requirements

The plants should be randomly tested for AMV, CMV, potyviruses, ToMV and TMV (Appendix I). Any plant giving a positive test result, or showing symptoms of virus, should be eliminated and recorded. In the case of a positive test result, all plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) should be individually tested. All plants giving a positive result should be eliminated. Moreover, retesting for viruses is recommended if aphids are found. The plants should be visually inspected regularly, specifically for TSWV and INSV and generally for the presence of any pest. Any plant found to be infected by any pest should be eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled.

#### 4.3 Certification

Certification should be granted on the basis of records of the tests and observations performed during production and of one or more certification (visual) inspections. Recommended certification standards are given in Appendix III. If propagating material from propagation stock I leaves the scheme, it may be labelled as 'basic' material. The certification inspection should be done on the plants from which the basic material will be taken.

### 5. Propagation stock II (production of certified cuttings)

#### 5.1 Growing conditions

Cuttings taken from the propagation-stock I plants, when planted, become the propagation stock II, from which the certified cuttings are taken. The plants should be kept separate from any other plants that are not at an equivalent stage of the certification scheme or any similar certification scheme. Plants should be grown either in individual containers or in a system of small growing units ensuring adequate isolation. General precautions against pests should be maintained.

The useful life of these plants does not generally exceed 12 months. Throughout the production of propagation stock II, checks should be made on varietal purity and on possible mutations or back mutations.

être placées dans des abris isolés, séparément de toute autre plante ne se trouvant pas à un stade équivalent du schéma de certification ou de tout schéma de certification similaire. Elles peuvent être cultivées soit en conteneurs individuels, soit dans un système de petites unités de culture garantissant un bon isolement. Des précautions générales contre les organismes nuisibles doivent être maintenues.

Le nombre de générations pour le stade de propagation I ne doit pas être supérieur à deux, et la durée de vie utile d'une plante de ce stade n'excède généralement pas 12 mois. Après cette période, toutes les plantes du stade de propagation I doivent être éliminées et remplacées. La filiation des plantes doit être répertoriée pour permettre de vérifier que chaque lot provient du stade initial après, au plus, le nombre fixé de générations de propagation dans les conditions requises.

Tout au long de la production du stade de propagation I, des contrôles doivent porter sur la pureté variétale et sur d'éventuelles mutations.

#### 4.2 Exigences relatives aux tests

Des plantes doivent être prélevées par sondage et testées pour l'AMV, le CMV, les potyvirus, le ToMV et le TMV. Toute plante présentant un résultat positif aux tests ou présentant des symptômes de virus doit être éliminée et répertoriée. En cas de résultat positif, toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent être testées individuellement. Toutes les plantes positives doivent être éliminées. En outre, il est conseillé de retester pour les virus si des pucerons sont trouvés dans la culture. Les plantes doivent être inspectées visuellement, spécifiquement pour le TSWV et l'INSV, et généralement pour détecter la présence de tout autre organisme nuisible. Toute plante trouvée contaminée doit être éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace.

#### 4.3 Certification

La certification sera accordée en se basant sur les documents relatifs aux tests et aux observations réalisés pendant la production et sur une ou plusieurs inspections (visuelles) de certification. Les normes de certification recommandées figurent à l'Annexe III. Si du matériel de propagation du stade de propagation I quitte le schéma, il peut être appelé 'matériel de base'. L'inspection de certification doit porter sur les plantes sur lesquelles le matériel de base sera pris.

### 5. Stade de propagation II (production de boutures certifiées)

#### 5.1 Conditions de culture

Lorsque les boutures prélevées sur des plantes du stade de propagation I sont plantées, elles deviennent le stade de propagation II sur lequel les boutures certifiées sont prises. Les plantes doivent être séparées de toute autre plante ne se trouvant pas à un stade équivalent du schéma de certification ou de tout schéma de certification similaire. Les plantes peuvent être cultivées soit en conteneurs individuels, soit dans un système de petites unités de culture garantissant un bon isolement. Des précautions générales contre les organismes nuisibles doivent être maintenues.

La durée de vie utile des plantes du stade de propagation II ne dépasse généralement pas 12 mois. Tout au long de la production du stade de propagation II, des contrôles doivent porter sur la pureté variétale et sur d'éventuelles mutations.

## 5.2 Testing requirements

The presence of AMV, CMV, potyviruses, ToMV and TMV should preferably be checked by random testing. Any plant giving a positive result at random testing should be eliminated and recorded. In the case of a positive test result, all plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) should be individually tested. All plants giving a positive result should be eliminated. Moreover, retesting for viruses is recommended if aphids are found. The plants should be visually inspected regularly for the presence of any pest. Any plant found to be infected by any pest should be eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled.

## 5.3 Certification

Certification should be granted on the basis of records of the tests and observations performed during production and of one or more certification (visual) inspections. Recommended certification standards are given in Appendix III. Propagation material from propagation stock II leaving the scheme may be labelled as 'certified' material. The certification inspection should be done on the plants from which the certified material will be taken.

## 6. Execution and administration of the certification scheme

### 6.1 Execution of the scheme

The stages of the certification scheme may only be carried out by registered specialized establishments, satisfying defined criteria (EPPO Standard PM 4/7 Nursery requirements for certification schemes). The grower should ensure that all tests specified in the scheme (Appendix I) are performed and that records are kept of the results of the tests and inspections, and on the elimination of plants. Any plants removed during production should be recorded and the reasons for removal given. The official organization is responsible for the administration and monitoring of the scheme. It should confirm that all necessary tests and inspections have been performed during production, and that any tests have been conducted by approved methods and/or approved laboratories. It should also verify the general health status of the plants in the scheme by visual inspections; if the certification standards are not met, certification should not be granted and/or the plants concerned should not be permitted to continue in the certification scheme.

### 6.2 Control on the use and status of certified material

Throughout the certification scheme, the origin of each plant should be known so that any problems of health or trueness to type may be traced. Certified cuttings leaving the scheme should carry a certificate (which may be a label) indicating the certifying authority, the plant producer and the certification status.

## APPENDIX I

### Tests and inspections for petunia

The tests and inspections for petunia are summarized in Table 1.

## 5.2 Exigences relatives aux tests

Il est conseillé de soumettre les plantes à des tests par sondage visant à vérifier l'absence de l'AMV, du CMV, des potyvirus, du ToMV et du TMV. Toute plante présentant un résultat positif aux tests doit être éliminée et répertoriée. En cas de résultat positif, toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent être testées individuellement. Toutes les plantes positives doivent être éliminées. En outre, il est conseillé de retester pour les virus si des pucerons sont trouvés dans la culture. L'état des plantes doit être régulièrement contrôlé par inspection visuelle pour détecter la présence d'organismes nuisibles. Toute plante trouvée contaminée doit être éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace.

## 5.3 Certification

La certification sera accordée en se basant sur les documents relatifs aux tests et aux observations réalisés pendant la production et sur une ou plusieurs inspections (visuelles) de certification. Les normes de certification recommandées figurent à l'Annexe III. Le matériel de propagation du stade de propagation II qui quitte le schéma peut être appelé 'matériel certifié'. L'inspection de certification doit porter sur les plantes sur lesquelles le matériel certifié sera pris.

## 6. Exécution et administration du schéma de certification

### 6.1 Exécution du schéma

Les stades du schéma de certification ne peuvent être réalisés que par des établissements spécialisés et enregistrés satisfaisant des critères précis (Norme OEPP PM 4/7 Exigences pour les pépinières). Le producteur doit garantir que tous les tests mentionnés dans le schéma (Annexe I) sont effectués et que des documents sont conservés sur les résultats des tests et des inspections, ainsi que sur l'élimination éventuelle de plantes. Toute plante éliminée pendant la production doit être répertoriée, et les raisons de l'élimination doivent être données. L'organisation officielle est responsable de l'administration et de la surveillance du schéma. Elle doit confirmer que tous les tests et les inspections nécessaires ont été effectués pendant la production, et que tous les tests ont été effectués selon des méthodes approuvées et/ou par des laboratoires approuvés. Elle doit également vérifier l'état général des plantes du schéma par des inspections visuelles. Si les normes de certification ne sont pas respectées, la certification ne sera pas accordée et/ou les plantes concernées ne pourront pas passer au stade suivant du schéma de certification.

### 6.2 Contrôle de l'utilisation et de l'état du matériel certifié

Tout au long du schéma de certification, l'origine de chaque plante doit être connue afin de pouvoir retrouver l'origine de tout problème phytosanitaire ou de conformité au type. Les boutures certifiées quittant le schéma doivent porter un certificat officiel (qui peut être une étiquette) indiquant l'autorité responsable de la certification, le producteur et le statut de certification.

## ANNEXE I

### Tests et inspections pour le pétunia

Les tests et inspections pour détecter les organismes nuisibles du pétunia sont résumés au Tableau 1.

**Table 1** Summary of tests and inspections for petunia pests at different stages of the scheme  
 Résumé des tests et des inspections pour détecter les organismes nuisibles du pétunia aux différents stades du schéma

Pests/Organismes nuisibles	Candidate nuclear stock/ Candidat au stade initial	Nuclear stock/ Stade initial	Propagation stock I/ Stade de propagation I	Propagation stock II/ Stade de propagation II
AMV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>Chenopodium quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>Chenopodium quinoa</i>	Random testing by ELISA or biological testing/Test par sondage par ELISA ou test biologique	Visual inspection and preferably random testing by ELISA)/Inspection visuelle et de préférence test par sondage par ELISA)	
CMV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Random testing by ELISA or biological testing/Test par sondage, par ELISA ou test biologique	Visual inspection and preferably random testing by ELISA)/Inspection visuelle et de préférence test par sondage par ELISA)	
Potviruses/Potyvirus	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> or <i>Nicotiana benthamiana</i> /Test individuel, par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i> ou <i>N. benthamiana</i>	Random testing by ELISA or biological testing/Test par sondage par ELISA ou test biologique	Visual inspection and preferably random testing by ELISA)/Inspection visuelle et de préférence test par sondage par ELISA)	
ToMV, TMV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>C. amaranticolor</i> or <i>N. tabacum</i> cv. Samsun or White Burley/Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. amaranticolor</i> ou <i>N. tabacum</i> cv. Samsun ou White Burley	Random testing by ELISA or biological testing/Test par sondage par ELISA ou test biologique	Visual inspection and preferably random testing by ELISA)/Inspection visuelle et de préférence test par sondage par ELISA)	
TSWV, INSV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>N. benthamiana</i> or <i>N. occidentalis</i> PI/Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>N. benthamiana</i> ou <i>N. occidentalis</i> PI	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
TRSV, TBRV, ToRSV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
TAV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
PVX	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>Nicotiana</i> spp./Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>Nicotiana</i> spp.	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
BBWV	Individual testing by biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
PVCV	Specific visual inspection/Inspection visuelle spécifique	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
PSTVd, potato stolbur phytoplasma	Individual testing only in countries where they occur/ Test individuel seulement dans les pays où présents	–	–	–
Other pests/Autres organismes nuisibles	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle

## APPENDIX II

### Guidelines for petunia viruses and virus-like organisms in a certification scheme

#### Procedures for each organism

##### *Alfalfa mosaic alfamovirus (AMV)*

AMV often occurs together with other viruses in petunia; it is then not clear which virus is the cause of observed symptoms. Furthermore, AMV is known to occur naturally and occasionally symptomlessly in many herbaceous hosts. AMV can be detected by inoculation to *Chenopodium quinoa* or ELISA.

##### *Cucumber mosaic cucumovirus (CMV)*

The strain of CMV that infects petunia is the alstroemeria strain (CMV-A). It causes mosaic and flower colour breaking in red, purple and pink petunias. CMV can be detected by inoculation to *C. quinoa* or ELISA.

##### *Potyvirus*

The most important of these viruses, PVY, often occurs together with other viruses in petunia; it is then not clear which virus is the cause of observed symptoms. Potyviruses can be detected by inoculation to *C. quinoa* or *Nicotiana benthamiana* or ELISA using a broad-range antiserum against potyviruses.

##### *Tomato mosaic tobamovirus (ToMV), Tobacco mosaic tobamovirus (TMV)*

The symptoms of infected plants can be stunting of the whole plant, reduction of flower formation and chlorosis and necrosis on the leaves. However, these viruses often occur together with other viruses in petunia; it is then not clear which virus is the cause of observed symptoms. ToMV and TMV can be detected by inoculation to *Chenopodium amaranticolor* or *Nicotiana tabacum* cv. Samsun or White Burley, or ELISA. As petunia can be infected by different strains of ToMV and TMV, the antiserum used in ELISA should be suitable to detect all strains present.

##### *Other viruses*

These viruses often occur together with other viruses in petunia; it is then not clear which virus is the cause of observed symptoms. BBWV has various strains, including the petunia ringspot strain (previously called 'petunia ringspot virus'). Because of the presence of these strains, BBWV may be missed by ELISA, so testing by inoculation to *C. quinoa* is preferred. Visual inspection is another possibility, as the ringspot symptoms on petunia are quite clear. INSV and TSWV can be tested by inoculation to *N. benthamiana* or *N. occidentalis* P1 or by ELISA. INSV and TSWV show symptoms on petunia quickly and reliably, so testing is only required for candidate material. TRSV, TBRV and ToRSV can be tested by inoculation to *C. quinoa* or by ELISA. PVX can be tested by inoculation to *Nicotiana* spp. or by ELISA. TAV can be tested by inoculation to *C. quinoa* or by ELISA. PVCV cannot be mechanically transmitted and antiserum against it is not commercially available. The vein clearing symptoms are, however, very pronounced, so visual inspection is adequate.

## ANNEXE II

### Directives pour les virus et analogues du pétunia dans le schéma de certification

#### Procédures pour chaque organisme

##### *Alfalfa mosaic alfamovirus (AMV)*

Ce virus est souvent présent sur pétunia en même temps que d'autres; il est donc difficile d'attribuer les symptômes observés à un virus précis. Par ailleurs, l'AMV est présent naturellement, et parfois sans symptôme, sur de nombreux hôtes herbacés. L'AMV peut être détecté par inoculation sur *Chenopodium quinoa* ou par ELISA.

##### *Cucumber mosaic cucumovirus (CMV)*

La souche de CMV qui infecte le pétunia est la souche alstroemeria (CMV-A). Elle provoque une mosaïque et une panachure florale sur les pétunias rouges, violets ou roses. Le CMV peut être détecté par inoculation sur *C. quinoa* ou par ELISA.

##### *Potyvirus*

Le plus important de ces virus, le PVY, est souvent présent sur pétunia en même temps que d'autres; il est donc difficile d'attribuer les symptômes observés à un virus précis. Les potyvirus peuvent être détectés par inoculation sur *Chenopodium quinoa* ou *Nicotiana benthamiana*, ou par ELISA avec un antiserum permettant de détecter tous les potyvirus.

##### *Tomato mosaic tobamovirus (ToMV), Tobacco mosaic tobamovirus (TMV)*

Les symptômes de ces virus sur les plantes infectées peuvent être un rabougrissement des plantes, une réduction de la formation de fleurs, et une chlorose ou nécrose des feuilles, mais ces virus sont souvent présents sur pétunia en même temps que d'autres; il est donc difficile d'attribuer les symptômes observés à un virus précis. Ils peuvent être détectés par inoculation sur *Chenopodium amaranticolor* ou *Nicotiana tabacum* cv. Samsun ou White Burley, ou par ELISA. Le pétunia peut être infecté par différentes souches du ToMV et du TMV, et l'antiserum utilisé dans les tests ELISA doit pouvoir détecter toutes les souches présentes.

##### *Autres virus*

Plusieurs virus sont souvent présents simultanément sur pétunia; il est donc difficile d'attribuer les symptômes observés à un virus précis. Le BBWV existe sous la forme de diverses souches, parmi lesquelles la souche responsable du petunia ringspot, autrefois nommée 'petunia ringspot virus'. En raison de la présence de diverses souches, le test ELISA peut ne pas détecter le BBWV et il est donc préférable de tester par inoculation sur *C. quinoa*. L'inspection visuelle est une autre possibilité, car les symptômes de ringspot sur pétunia sont clairs. L'INSV et le TSWV peuvent être testés par inoculation sur *N. benthamiana* ou *N. occidentalis* P1 ou par ELISA. Les symptômes de l'INSV et du TSWV sur pétunia apparaissent rapidement et clairement, et les tests sont exigés seulement pour le matériel candidat. Le TRSV, le TBRV et le ToRSV peuvent être testés par inoculation sur *C. quinoa* ou par ELISA. Le PVX peut être testé par inoculation sur *Nicotiana* spp. ou par ELISA. Le TAV peut être testé par inoculation sur *C. quinoa* ou par ELISA. Le PVCV ne peut pas être transmis mécaniquement et aucun antiserum n'est commercialisé. En revanche, les symptômes d'éclaircissement des nervures sont très prononcés et l'inspection visuelle est donc appropriée.

*PSTVd and potato stolbur phytoplasma*

PSTVd and potato stolbur phytoplasma have a limited distribution in the EPPO region, and their status in different EPPO countries is well established because they are A2 quarantine pests and because of their importance for potato. In most countries, it will not be necessary to test for these pathogens in petunia. Detection methods have been recommended in EPPO/CABI (1996).

**Inoculation to indicator plants**

Care should be taken when using mechanical inoculation as a test method because it necessarily multiplies viruses, which could act as a source of infection to other plants in the nursery. Indicator plants should therefore be kept in insect-proof houses separate from any other plants.

*Chenopodium quinoa*, *Nicotiana benthamiana* or *Nicotiana occidentalis* P1 are satisfactory indicator plants for most petunia viruses. The tests should preferably be done in early spring when the virus content of plants is increasing.

*Production of indicator plants*

Indicator plants should be sown in pots in a humus-rich soil. The seedlings should be pricked out into trays about 6 days after sowing and grown on at 20–25 °C, with supplementary lighting (minimum 12 h). They should be planted out into individual pots 3 weeks later. The usual stage for inoculation is when four to six leaves have fully developed (5 weeks after sowing).

*Mechanical inoculation*

The test material should be triturated in a mortar in a 0.05-M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ – $\text{KH}_2\text{PO}_4$  buffer, pH 7.6. Use 4 mL of buffer per g of leaf material. The crude extract may be clarified by filtration or centrifugation, but this may be omitted if the extract is clear. The leaves to be inoculated should be dusted with carborundum powder (400 mesh), then two fingers should be dipped into the inoculum and rubbed over the leaf surface. Inoculation may also be done by means of cotton wool, but this is less sensitive. At least two leaves per plant and one plant per sample should be inoculated. The leaves should be washed with tap water immediately after inoculation and the plants placed, carefully labelled, in a glasshouse at about 20 °C for at least 3 weeks, ensuring that the individual pots are placed so as to prevent any contact between plants.

Other standard methods of trituration and inoculation may also be used.

*Observation of symptoms on indicator plants*

Symptoms on inoculated test plants are usually chlorotic or necrotic local lesions.

**ELISA testing for petunia viruses**

The testing is performed by DAS-ELISA. Monoclonal potyvirus group-specific antibodies may be used to detect all potyviruses involved. Samples can be prepared following a standard method (e.g. EPPO Standard PM 4/25 Certification scheme for kalanchoë). All stages of the ELISA test should be performed according to the published procedures or by following the instructions accompanying the proprietary reagents.

*PSTVd et potato stolbur phytoplasma*

Le PSTVd et le potato stolbur phytoplasma ont une répartition restreinte dans la région OEPP, et leur situation dans les pays OEPP est bien connue car ce sont des organismes de quarantaine A2, importants pour la pomme de terre. Dans la majorité des pays, les tests de détection de ces organismes sur pétunia ne seront pas nécessaires. Des méthodes de détection ont été proposées par EPPO/CABI (1996).

**Inoculation sur plantes indicatrices**

Des précautions doivent être prises si l'inoculation mécanique est utilisée comme méthode de test, car elle multiplie les virus ce qui peut entretenir une source d'infection pour les autres végétaux de la pépinière. Les plantes indicatrices doivent donc être conservées dans des abris insect-proof séparément de toute autre plante.

*Chenopodium quinoa*, *Nicotiana benthamiana* ou *N. occidentalis* P1 conviennent pour la plupart des virus du pétunia. Les tests doivent de préférence être effectués au début du printemps, lorsque la quantité de virus dans les plantes augmente.

*Production des plantes indicatrices*

Effectuer les semis dans des pots contenant un sol riche en humus. Repiquer les jeunes plants dans des plateaux, environ 6 jours après le semis et les placer à 20–25 °C avec un éclairage supplémentaire (minimum 12 h). Placer les plantes dans des pots individuels 3 semaines plus tard. Le stade d'inoculation habituel comporte 4–6 feuilles bien développées (5 semaines après le semis).

*Inoculation mécanique*

Broyer le matériel à étudier dans un mortier contenant la solution suivante: un tampon 0,05 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ – $\text{KH}_2\text{PO}_4$  à pH 7,6. Utiliser 4 mL de tampon par g de matériel foliaire. L'extrait brut peut être clarifié par filtration ou par centrifugation, mais ceci n'est pas nécessaire si l'extrait est bien clair. Saupoudrer les feuilles de carborandum (calibre 400). Tremper deux doigts dans l'inoculum et les frotter à la surface des feuilles. L'inoculation peut également être réalisée en utilisant de la ouate, mais cette méthode est moins sensible. Inoculer au moins deux feuilles par plante et une plante par échantillon. Rincer les feuilles à l'eau du robinet immédiatement après l'inoculation. Placer les plantes soigneusement étiquetées dans une serre à 20 °C pendant au moins 3 semaines, en s'assurant que les pots individuels sont disposés de manière à éviter tout contact entre les plantes.

D'autres méthodes standards de broyage et d'inoculation peuvent aussi être utilisées.

*Observation des symptômes sur les plantes indicatrices*

Les symptômes sur les plantes indicatrices sont généralement des lésions foliaires locales chlorotiques ou nécrotiques.

**Test ELISA pour les virus du pétunia**

Le test est effectué en utilisant la méthode DAS-ELISA. Des anticorps monoclonaux spécifiques au groupe des potyvirus peuvent être utilisés pour détecter tous les potyvirus. Les échantillons peuvent être préparés selon une méthode standard. (par ex. Norme OEPP PM 4/25 Schéma de certification pour le kalanchoë). Toutes les autres étapes du test ELISA doivent être effectuées conformément aux procédures publiées ou aux instructions accompagnant les réactifs disponibles dans le commerce.

## APPENDIX III

### Recommended certification standards for petunia

Certification should be granted on the basis of records of the tests and observations performed during production and of one or more certification (visual) inspections. In general, the certification inspection is done on the plants from which the corresponding category of material will be taken. The assessor should verify that the standards mentioned below are fulfilled.

#### Candidate nuclear stock

Records should show that the candidate nuclear-stock plant gave a negative result for all pests concerned in the tests performed. The plant should show no symptom of pest attack. If these conditions are not met at the time of the certification inspection, certification should be refused to the plant concerned.

#### Nuclear stock

Records should show that all tests on the nuclear-stock plant gave negative results for AMV, CMV, potyviruses and ToMV/TMV. The plant should show no symptoms of any disease (fungal, bacterial or viral) during visual inspection at certification. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the plant concerned.

#### Propagation stock I

Results should show that random tests for AMV, CMV, potyviruses and ToMV/TMV gave negative results or that all plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) were tested, and infected plants were removed. Visual inspection at certification should show that the incidence of pests in each lot does not exceed the thresholds in Table 2. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the lots concerned.

#### Propagation stock II

Visual inspection for certification should show that the incidence of pests in each lot does not exceed the thresholds in Table 2. Moreover,

**Table 2** Recommended tolerance levels at visual inspection of petunia. A lot of plants, derived from a single nuclear-stock plant, can remain in the scheme provided that the level of infection at certification inspection does not exceed the tolerance levels given

Tolérances recommandées lors des inspections visuelles du pétunia. Un lot de plantes, issues d'une seule plante du stade initial, peut rester dans le schéma à condition que son niveau d'infection constaté lors de l'inspection de certification ne dépasse pas les seuils de tolérance donnés

Pests/Organismes nuisibles	% plants/plantes	
	Propagation stock I/ Stade de propagation I	Propagation stock II/ Stade de propagation II
Virus symptoms/Symptômes de virus	0	0
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	0	0
<i>Ralstonia solanacearum</i>	0	0
Other pests/Autres organismes nuisibles	Substantially free/Pratiquement indemne	Substantially free/Pratiquement indemne

## ANNEXE III

### Normes de certification recommandées pour le pétunia

La certification sera accordée en se basant sur les documents relatifs aux tests et aux observations réalisés pendant la production et sur une ou plusieurs inspections (visuelles) de certification. En général, une inspection de certification est réalisée sur les plantes sur lesquelles la catégorie correspondante de matériel sera prise. Le respect des normes mentionnées ci-dessous doit être vérifié.

#### Candidat au stade initial

Les résultats doivent montrer que la plante candidate au stade initial a donné des résultats négatifs pour tous les organismes nuisibles dans tous les tests effectués. La plante ne doit pas montrer de symptôme d'attaque par des organismes nuisibles. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux plantes concernées.

#### Stade initial

Les résultats doivent montrer que tous les tests effectués sur la plante du stade initial ont donné des résultats négatifs pour l'AMV, le CMV, les potyvirus et le ToMV/TMV. La plante ne doit pas présenter de symptômes de maladie (fongique, bactérienne ou virale) au cours de l'inspection visuelle de certification. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux plantes concernées.

#### Stade de propagation I

Les résultats des tests effectués par sondage pour l'AMV, le CMV, les potyvirus, le ToMV/TMV doivent être négatifs, ou toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent avoir été testées et les plantes infectées éliminées. L'inspection visuelle de certification doit montrer que l'incidence des organismes nuisibles dans chaque lot ne dépasse pas les seuils du Tableau 2. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux lots concernés.

#### Stade de propagation II

L'inspection visuelle de certification doit montrer que l'incidence des organismes nuisibles dans chaque lot ne dépasse pas les seuils du

results should show that random tests for AMV, CMV, potyviruses and ToMV/TMV were negative or that all plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) were tested, and infected plants were removed. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the lots concerned.

### References/Références

EPPO/CABI (1996) Potato spindle tuber viroid. Potato stolbur phytoplasma. In: *Quarantine Pests for Europe*, 2nd edn. CAB International, Wallingford (GB).

Tableau 2. Les résultats des tests facultatifs par sondage pour l'AMV, le CMV, les potyvirus et le ToMV/TMV doivent être négatifs, ou toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent avoir été testées et les plantes infectées éliminées. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux lots concernés.