

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 4/3(3)



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) Recommendations 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) Recommendations 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) Recommendations 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> 31 , 441–444.
PM 4/8 (1)	Pathogen-tested material of grapevine varieties and rootstocks. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 24 , 347–367
PM 4/9 (1)	Pathogen-tested material of <i>Ribes</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 24 , 857–864
PM 4/10 (1)	Pathogen-tested material of <i>Rubus</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 24 , 865–873
PM 4/11 (1)	Pathogen-tested material of strawberry. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 24 , 875–889
PM 4/12 (1)	Pathogen-tested citrus trees and rootstocks. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 25 , 737–755
PM 4/16 (1)	Pathogen-tested material of hop. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 27 , 175–184
PM 4/17 (1)	Pathogen-tested olive trees and rootstocks. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 27 , 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> 31 , 441–444
PM 4/8 (1)	Certification sanitaire des variétés et porte-greffe de la vigne. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 24 , 347–367
PM 4/9 (1)	Certification sanitaire des <i>Ribes</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 24 , 857–864
PM 4/10(1)	Certification sanitaire des <i>Rubus</i> . <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 24 , 865–873
PM 4/11 (1)	Certification sanitaire du fraisier. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 24 , 875–889
PM 4/12 (1)	Certification sanitaire des arbres et porte-greffe d'agrumes. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> , 25 , 737–755
PM 4/16 (1)	Certification sanitaire du houblon. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 27 , 175–184
PM 4/17 (1)	Certification sanitaire d'arbres et de porte-greffe d'olivier. <i>Bulletin OEPP/EPPO Bulletin</i> 27 , 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 pelargonium
Schéma de certification pour le pélargonium

Specific scope

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

Specific approval and amendment

First approved in 1991-09.

Revisions approved in 1997-09 and 2000-09.

Champ d'application spécifique

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

Approbation et amendement spécifiques

Approbation initiale en 1991-09.

Révisions approuvées en 1997-09 et 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 pelargonium 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 cultivars of *Pelargonium* × *zonale*, *P.* × *peltatum*, *P.* × *peltato-zonale*¹. 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 pelargonium occurring naturally in the region of origin, according to the relevant EPPO phytosanitary procedures, and generally inspected or, if appropriate, tested for any other pests.

¹*P.* × *grandiflorum* is not at present included in the scheme because of lack of knowledge concerning its virus status. It is very susceptible to *Verticillium* spp. and great care should be taken to isolate material of *P.* × *peltatum* and *P.* × *zonale* within the certification scheme from stocks of *P.* × *grandiflorum*.

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 pélargonium 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 *Pelargonium* × *zonale*, *P.* × *peltatum*, *P.* × *peltato-zonale*¹. 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 pélargonium présents naturellement dans la région d'origine, et généralement inspecté ou, le cas échéant, testé pour détecter tout autre organisme nuisible.

¹*P.* × *grandiflorum* n'est pas inclus pour le moment dans le schéma en raison du manque d'information sur ses viroses. Il est très sensible aux *Verticillium* spp. et il faut prendre soin d'isoler le matériel de *P.* × *peltatum* et *P.* × *zonale* en cours de certification du matériel de *P.* × *grandiflorum*.

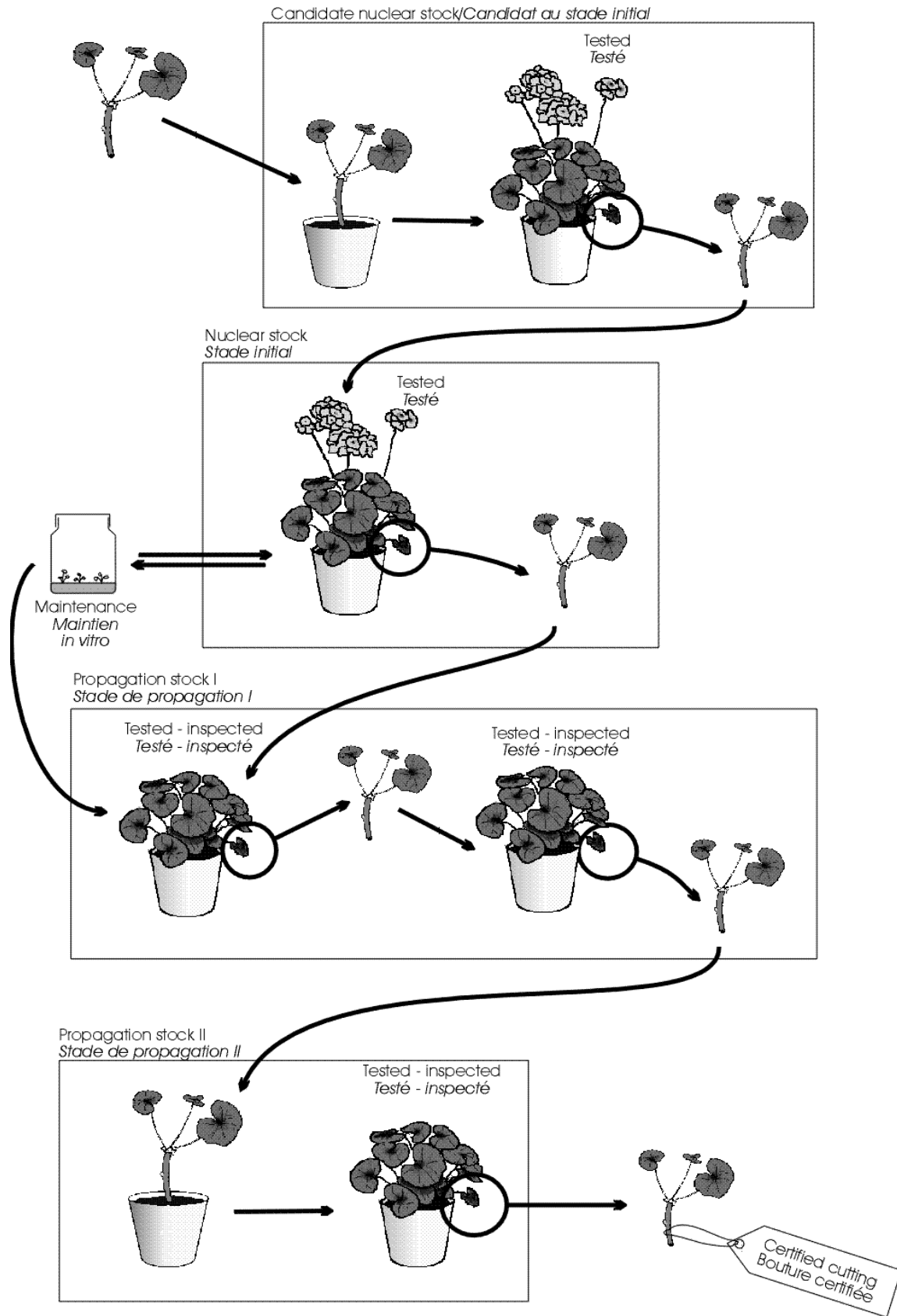


Fig. 1 Diagram of the stages in the pelargonium certification scheme
 Diagramme des stades du schéma de certification du pélargonium

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

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 infection by *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* and *Puccinia pelargonii-zonalis*. Adequate control of *Pythium* spp., *Botryotinia fuckeliana* and *Cacyreus marshalli* should be ensured.

2.2 Testing requirements

An isolation test should be performed on plants suspected to be contaminated by *Verticillium* spp. All plants should be individually tested for the following pests²:

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV);
Impatiens necrotic spot tospovirus (INSV);
Pelargonium flower break carmovirus (PFBV);
Pelargonium leaf curl tobusvirus (PLCV);
Pelargonium line pattern carmovirus (PLPV)³;
Tobacco ringspot nepovirus (TRSV);
Tomato black ring nepovirus (TBRV);
Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV);
Tomato ringspot nepovirus (ToRSV);
Xanthomonas hortorum pv. *pelargonii*.

The importance of these viruses in practice is as follows. PFBV is particularly damaging in pink cultivars, but can be latent in other *P. zonale* and *P. peltatum* cultivars and may easily be overlooked. It is transmitted by pollen which can, in turn, be carried by thrips; it is also transmitted in circulating nutrient materials but it is important particularly because of its rapid transmission by mechanical means. Levels of infection with PFBV can often be very high outdoors and the risk of infection of material in the certification scheme is particularly increased at flowering time; removal of flowers can reduce the possibility of transmission via pollen but care should be taken to avoid mechanical transmission during this operation. PLPV has a long incubation period and may therefore be overlooked. PLCV, transmitted mainly by propagation but also by irrigation water, is tending to disappear from well-managed stocks as it is slow to re-infect. CMV (aphid-borne and polyphagous) occurs only occasionally in pelargonium. The three nematode-transmitted viruses (nepoviruses), which have a wide range on other hosts, can quite easily be kept out of pelargonium stocks. ToRSV does not occur naturally in the EPPO region but is occasionally found on imported ornamentals. It is an EPPO A2 quarantine pest, the main risk being to fruit trees in which it has never been found in Europe. TSWV and INSV are transmitted by thrips and on contaminated implements. Recommended test

²Certain cultivars of pelargonium are defined by the presence of pelargonium yellow net vein pathogen. The presence of this pathogen should be declared, on selection of the clone into the certification scheme.

³Pelargonium ring pattern virus is a synonym of PLPV.

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

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 contamination par *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* et *Puccinia pelargonii-zonalis*. Des mesures de lutte adéquates doivent être prises contre *Pythium* spp., *Botryotinia fuckeliana* et *Cacyreus marshalli*.

2.2 Exigences relatives aux tests

Un test d'isolement doit être effectué sur les plantes suspectes de contamination par *Verticillium* spp. Toutes les plantes doivent être testées individuellement pour les organismes nuisibles suivants²:

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV);
Impatiens necrotic spot tospovirus (INSV);
Pelargonium flower break carmovirus (PFBV);
Pelargonium leaf curl tobusvirus (PLCV);
Pelargonium line pattern carmovirus (PLPV)³;
Tobacco ringspot nepovirus (TRSV);
Tomato black ring nepovirus (TBRV);
Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV);
Tomato ringspot nepovirus (ToRSV);
Xanthomonas hortorum pv. *pelargonii*.

Dans la pratique, l'importance de ces virus se caractérise comme suit. Le PFBV cause des dégâts plus particulièrement sur les cultivars roses mais peut être latent chez d'autres cultivars de *P. zonale* et *P. peltatum* et peut donc aisément ne pas être détecté. Il est transmis par le pollen, qui peut lui-même être transporté par les thrips, et également par la circulation des solutions nutritives. Il est surtout important en raison de sa transmission mécanique rapide. Les niveaux d'infection par le PFBV peuvent être très élevés à l'extérieur et le risque d'infection du matériel faisant partie du schéma de certification augmente à la floraison; l'élimination des fleurs permet de limiter les possibilités de transmission par le pollen, mais peut augmenter le risque de transmission mécanique. Le PLPV a une longue période d'incubation et peut donc ne pas être détecté. Le PLCV, principalement transmis au cours de la multiplication mais aussi par l'eau d'irrigation, tend à disparaître dans les cultures bien conduites en raison de la lenteur des recontaminations. Le CMV (polyphage et transmis par les pucerons) n'est qu'occasionnellement présent sur le pélagonium. Les trois virus transmis par les nématodes (népovirus), qui ont une gamme d'hôtes importante, peuvent être assez facilement exclus des cultures de pélagonium. Le ToRSV n'est pas présent naturellement dans la région OEPP mais il est occasionnellement détecté sur des plantes ornementales importées.

²Certains cultivars de pélagonium sont définis par la présence du pathogène responsable de pelargonium yellow net vein. La présence de ce pathogène doit être déclarée lors de la sélection du clone dans le schéma de certification.

³Le pelargonium ring pattern virus est un synonyme du PLPV.

methods for pelargonium viruses are given in Appendix II⁴. Recommended test methods for *X. h. pelargonii* are given in Appendix III.

The plants should be visually inspected regularly for 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. (e.g. *Botryotinia fuckeliana*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*).

2.3 Promotion to nuclear stock

The plants that give negative results in all tests and inspections can be promoted to nuclear stock or used to produce nuclear-stock plants by cuttings. Before a plant or any material 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 IV.

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, retains 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 type⁵ 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 pelargonium does not generally exceed 18 months.

3.2 Testing requirements

The plants should be subjected to a general visual inspection for the presence of any pest. If nuclear-stock plants are kept for over 12 months, they should be individually retested once a year at least⁶ for PFBV, PLPV and *X. h. pelargonii*. Any plant found to be infected, by

⁴Another virus, *Pelargonium zonate spot ourmiavirus* (PZSV), is only present in southern Italy. It is mainly transmitted by pollen. It is not considered to be of economic importance.

⁵In view of the great diversity of pelargonium cultivars, checks for absolute trueness to type may be difficult. However, the material should be checked for any serious deviation from type (mutations, etc.).

⁶The possibility of infection by the other pathogens for which the candidate nuclear stock was tested should be considered: occasional retesting is advised.

Il est organisme de quarantaine A2 de l'OEPP, et le risque principal concerne les arbres fruitiers sur lesquels il n'a jamais été trouvé en Europe. Le TSWV et l'INSV sont transmis par les thrips et par du matériel agricole contaminé. Les méthodes de test recommandées pour les virus du pélagonium figurent à l'Annexe II⁴. Les méthodes de test recommandées pour *X. h. pelargonii* figurent à l'Annexe III.

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 (par ex. *Botryotinia fuckeliana*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*).

2.3 Promotion au stade initial

Les plantes qui donnent des résultats négatifs pour tous les tests et inspections peuvent être promues au stade initial ou utilisées pour produire des plantes du stade initial par bouturage. Avant qu'une plante, ou tout matériel issu de celle-ci, ne soit transférée 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 IV.

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 un abri aphid-proof, conçu 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 variétale⁵ 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 pelargonium du stade initial ne dépasse généralement pas 18 mois.

3.2 Exigences relatives aux tests

Les plantes doivent être soumises à une inspection visuelle générale pour détecter la présence de tout organisme nuisible. Si elles sont conservées plus de 12 mois, elles doivent être retestées individuellement une fois par an au moins⁶ pour le PFBV, le PLPV et *X. h. pelargonii*.

⁴Un autre virus, le *Pelargonium zonate spot ourmiavirus* (PZSV), est présent seulement dans le sud de l'Italie. Il est principalement transmis par le pollen. Il n'est pas considéré comme important au point de vue économique.

⁵En raison de la grande diversité des cultivars de pélagonium, la vérification de l'authenticité variétale peut être difficile. Cependant, il faut vérifier que le matériel ne présente aucune déviation importante par rapport au type (mutations, etc.).

⁶Des contaminations éventuelles dues aux autres pathogènes mentionnés pour le matériel candidat doivent être envisagées; il est conseillé de refaire des tests occasionnellement.

testing or by visual examination, should be immediately eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled (e.g. *Botryotinia fuckeliana*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*).

Cuttings taken from nuclear-stock plants can also be considered as nuclear stock, provided that they do not leave the nuclear stock conditions⁷ and are individually retested at least for PFBV, PLPV and *X. h. pelargonii*. 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 IV. 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 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 18 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.

4.2 Testing requirements

The plants should be randomly tested for PFBV and *X. h. pelargonii*. It is advisable to test randomly the first generation of propagation stock I for PLPV. Any plant giving a positive result at random testing should be eliminated and recorded. In the case of a positive test result for *X. h. pelargonii* or PFBV, all plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) should be eliminated. In the case of a positive test result for PLPV, all plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) should be tested individually and any plant giving a positive result should be

⁷They 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.

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 (par ex. *Botryotinia fuckeliana*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*).

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 initial⁷ et qu'elles soient retestées individuellement au moins pour le PFBV, le PLPV et *X. h. pelargonii*. 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 IV. 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 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 18 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 le PFBV et *X. h. pelargonii*. Il est conseillé de tester par sondage la première génération du stade de propagation I pour le PLPV. Toute plante présentant un résultat positif aux tests doit être éliminée et répertoriée. En cas de résultat positif pour *X. h. pelargonii* ou PFBV, toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent être éliminées. En cas de résultat positif pour le PLPV, toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent être testées individuellement

⁷Elles 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.

eliminated. 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 (e.g. *Botryotinia fuckeliana*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*).

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 IV. 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. 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.

5.2 Testing requirements

The plants should be randomly tested for *X. h. pelargonii* and PFBV. 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 eliminated. 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 (e.g. *Botryotinia fuckeliana*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*).

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 IV. 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

et toute plante donnant un résultat positif doit être éliminée. 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 (par ex. *Botryotinia fuckeliana*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*).

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 IV. 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. 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 Exigences relatives aux tests

Des plantes doivent être prélevées par sondage et testées pour *X. h. pelargonii* et PFBV. En cas de résultat positif, toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent être éliminées. 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 (par ex. *Botryotinia fuckeliana*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*).

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 IV. 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

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 pelargonium

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

APPENDIX II

Guidelines for pelargonium viruses in a certification scheme

Procedures for each virus

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV)

While visual inspection may provide some indication of symptoms (irregular leaf distortion and mottling, severe stunting) and this is sufficient for random checks, the candidate material should be tested either by inoculation to *Chenopodium quinoa* or by ELISA.

Pelargonium flower break carmovirus (PFBV)

The symptoms are breaking of the flower, destruction of the ring on the leaf and mottling on the leaves. PFBV can be tested by inoculation to *C. quinoa* or by ELISA. PFBV, as a carmovirus, can easily spread mechanically. It is recommended to perform random tests in propagation stock I and optionally in propagation stock II, and/or to take other precautions to exclude it.

Pelargonium line pattern carmovirus (PLPV)

This virus causes line and ring patterns or yellows spots on the leaves in spring but is symptomless in many pelargonium cultivars. Since it has a long incubation period, visual examination is insufficient to detect infection, but may be used for random checking of propagation stock I. PLPV may be irregularly distributed in the plant and it is

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 pélargonium

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

ANNEXE II

Directives pour les virus du pélargonium dans le schéma de certification

Procédures pour chaque virus

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV)

Bien qu'une inspection visuelle puisse fournir des indications sur les symptômes (déformation et marbrure irrégulière des feuilles, rabougrissement sévère) et soit suffisante pour les tests effectués par sondage, le matériel candidat doit être testé par inoculation sur *Chenopodium quinoa* ou par ELISA.

Pelargonium flower break carmovirus (PFBV)

Les symptômes correspondent à une panachure des fleurs, à une rupture de l'anneau sur les feuilles et à une marbrure des feuilles. Le PFBV peut être testé par inoculation sur *C. quinoa* ou par ELISA. En tant que carmovirus, le PFBV peut être aisément transmis mécaniquement. Il est recommandé d'effectuer des tests par sondage au stade de propagation I, et facultativement au stade de propagation II, et/ou de prendre d'autres précautions pour éliminer ce virus.

Pelargonium line pattern carmovirus (PLPV)

Ce virus, qui provoque des décolorations en forme de stries ou d'anneaux, ou des taches jaunes sur les feuilles au printemps, ne présente pas de symptôme sur un grand nombre de cultivars de pélargonium. Comme il possède une longue période d'incubation, un examen visuel n'est pas suffisant pour détecter les contaminations mais peut être utilisé pour les

Table 1 Summary of tests and inspections for pelargonium pests at different stages of the scheme
 Résumé des tests et des inspections pour détecter les organismes nuisibles du pélargonium 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
PLPV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>Chenopodium quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Individual testing after 12 months, by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test individuel après 12 mois, par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Visual inspection (but possibly random testing)/ Inspection visuelle (éventuellement test par sondage)	Visual inspection/Inspection visuelle
PFBV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Individual testing after 12 months, by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test individuel après 12 mois, par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Random testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test par sondage, par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Random testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test par sondage, par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>
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>	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
ToRSV	Individual testing according to EPPO Standard PM 3/28/Test individuel selon la Norme OEPP PM 3/28	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
TBRV, TRSV, PLCV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> , <i>Nicotiana clevelandii</i> or <i>Nicotiana occidentalis</i> PI/Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i> , <i>N. clevelandii</i> ou <i>N. occidentalis</i> PI	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
TSWV, INSV	Individual testing by ELISA or mechanical inoculation on <i>Nicotiana 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
<i>Xanthomonas hortorum</i> pv. <i>pelargonii</i>	Individual testing by ELISA, IF isolation or PCR/Test individuel par ELISA, IF, isolement ou PCR	Individual testing after 12 months by ELISA, IF, isolation or PCR/Test individuel après 12 mois par ELISA, IF, isolement ou PCR	Random testing/Test par sondage	Random testing/Test par sondage
<i>Verticillium</i> spp.	Isolation test on suspected plants/Test d'isolement sur les plantes suspectes	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
Other pests/Autres organismes nuisibles	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle

therefore preferable to take samples from the petioles of lower leaves. It can be detected by ELISA or mechanical inoculation to *C. quinoa*.

Tomato ringspot nepovirus (ToRSV)

Infected plants of many pelargonium cultivars show no conspicuous symptoms, while others show chlorotic yellow rings on the older leaves in spring. Since ToRSV is an EPPO A2 quarantine pest, the testing procedures for it are given in EPPO Standard PM 3/28 (OEPP/EPPO, 1990b). Essentially, ToRSV can be mechanically inoculated to *C. quinoa*, *Nicotiana clevelandii* or *Nicotiana occidentalis* P1, and its presence in them then confirmed by ELISA, or ELISA can be used directly.

Tomato black ring nepovirus (TBRV), Tobacco ringspot nepovirus (TRSV) and Pelargonium leaf curl tobusvirus (PLCV)

Besides visual symptoms, these viruses can all be detected by transmission to *C. quinoa*, *N. clevelandii* or *N. occidentalis* P1. In addition, specific ELISA testing for these viruses is possible.

Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV) and Impatiens necrotic spot tospovirus (INSV)

Infected plants of pelargonium may show visual symptoms of infection but the symptoms are not easy to recognize in some cultivars. Large yellow ringspots, sometimes becoming necrotic, appear on older leaves. Occasionally, the plant develops further without visual symptoms on new leaves. The growth of the plant is reduced. The viruses can be detected by mechanical inoculation to *Nicotiana benthamiana* or *N. occidentalis* P1 and also by ELISA.

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 is the only satisfactory indicator plant for most pelargonium viruses (but not for the tospoviruses). *N. benthamiana* and *N. occidentalis* P1 can be used for TSWV and INSV. The tests should preferably be done in early spring when the virus content of plants is increasing; the virus content of pelargonium is lower during the summer period.

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

Test material should be triturated in a mortar in an extract such as the following: 0.05 M Na₂HPO₄-KH₂PO₄ buffer containing 4% PEG 6000

contrôles par sondage au stade de propagation I. Le PLPV peut être détecté par inoculation sur *C. quinoa*, ou par ELISA. Sa répartition dans la plante est parfois irrégulière et il est donc préférable de prélever des échantillons sur les pétioles des feuilles les plus basses. Il peut être détecté par ELISA ou par inoculation mécanique sur *C. quinoa*.

Tomato ringspot nepovirus (ToRSV)

Pour un grand nombre de cultivars de pélagonium, les plantes contaminées ne présentent aucun symptôme apparent, alors que pour d'autres cultivars les plantes présentent des taches chlorotiques jaunes en forme d'anneau sur les feuilles les plus âgées au printemps. Le ToRSV est un organisme de quarantaine A2 de l'OEPP et les procédures de test figurent dans la norme OEPP PM 3/28 (OEPP/EPPO, 1990b). Le ToRSV peut être transmis mécaniquement à *C. quinoa*, *Nicotiana clevelandii* ou *Nicotiana occidentalis* P1, et sa présence est ensuite confirmée par un test ELISA, ou ce dernier peut être utilisé directement.

Tomato black ring nepovirus (TBRV), Tobacco ringspot nepovirus (TRSV) et Pelargonium leaf curl tobusvirus (PLCV)

Outre l'observation visuelle des symptômes, ces virus peuvent tous être détectés par transmission sur *C. quinoa*, *N. clevelandii* et *N. occidentalis* P1. De plus, des tests ELISA spécifiques sont possibles pour ces virus.

Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV) et Impatiens necrotic spot tospovirus (INSV)

Les plantes de pélagonium infectées peuvent présenter des symptômes mais ceux-ci ne sont pas faciles à reconnaître sur certains cultivars. De larges anneaux jaunes, devenant parfois nécrotiques, apparaissent sur les feuilles les plus âgées. La plante se développe parfois ensuite sans présenter de symptômes sur les nouvelles feuilles. La croissance de la plante est réduite. Les virus peuvent être détectés par inoculation mécanique à *N. benthamiana* ou *N. occidentalis* P1 et également par un test ELISA.

Inoculation sur des 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.

Cheopodium quinoa est la seule plante indicatrice satisfaisante pour la plupart des virus du pélagonium (mais pas pour les tospovirus). *N. benthamiana* et *N. occidentalis* P1 peuvent être utilisés pour TSWV et INSV. Les tests doivent s'effectuer de préférence au début du printemps, lorsque la quantité de virus dans les plantes augmente; chez le pélagonium, la quantité de virus est plus basse en été.

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: tampon 0,05 M Na₂HPO₄-KH₂PO₄ avec 4% de PEG 6000

(polyethylene glycol), pH 7.6, and 100 mg/mL activated charcoal. Buffer (3 mL) should be used 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.

A glass spatula should be dipped into the inoculum and rubbed over the leaf surface of *C. quinoa*. Inoculation may also be done by finger, covered with a finger-stall. Care should be taken to avoid any damage to leaves, as this could mask reaction. At least two leaves per plant and one plant per sample should be inoculated, marking the inoculated leaves to distinguish between 'local' and 'systemic' reaction. The leaves should be washed with tap water immediately after inoculation and the plants placed, carefully labelled, in a glasshouse at about 20–28 °C for at least 3 weeks, the individual pots being placed so as to prevent any contact between plants.

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

Nicotiana spp. may be inoculated as for *C. quinoa* (see above), at the four- to five-leaf stage.

Observation of symptoms

CMV: orange-coloured local lesions after 5–8 days on *C. quinoa*.

PFBV: chlorotic lesions in inoculated leaves of *C. quinoa* 10–20 days after inoculation. Occasionally a systemic reaction.

PLCV: small necrotic white spots (pin-head size), 5 days after inoculation, on *C. quinoa*.

PLPV: chlorotic local lesions in inoculated leaves of *C. quinoa* after 7–12 days, becoming necrotic later.

ToRSV, TRSV, TBRV: necrotic local lesions on *C. quinoa* after 4–6 days, followed by systemic apical necrosis (especially for ToRSV).

TSWV, INSV: chlorotic and necrotic local lesions on *N. benthamiana* and *N. occidentalis* P1.

ELISA testing for pelargonium viruses

Testing should be done by DAS-ELISA (double-antibody sandwich). Proprietary reagent sets are available for PFBV, ToRSV, TRSV, TBRV, TSWV, INSV, CMV and PLPV.

Freshly collected young leaves should be triturated in either 0.1 M Tris buffer, pH 8.6, 2% PVP, 0.4% ovalbumin or 0.1–1.0% gelatin, 0.5% Tween (10 mL/g leaf) or a phosphate buffer, pH 7.2 [58 g/L K_2HPO_4 , 22.7 g/L KH_2PO_4 (0.5 g/L NaN_3 , for conservation), 20 g/L PVP, 5 mL/L Tween-20] (w/v = 1:10, i.e. 1 g of leaf or petiole in 10 mL of buffer), using, for example, a roller press. The extract should be filtered through glass wool. For TSWV, the phosphate buffer should be preferred. For PLPV, petioles should be tested instead of leaves; for that reason, petioles are usually used in the tests for all pelargonium viruses. All other stages of the ELISA test should be performed according to the published procedures or by following the instructions accompanying the proprietary agents.

APPENDIX III

Guidelines for testing for *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* in a certification scheme

Xanthomonas h. pelargonii can be detected reliably by indirect immunofluorescence, ELISA, isolation methods or by PCR.

(polyéthylène glycol), pH 7,6, et 100 mg/mL charbon actif. Utiliser 3 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.

Tremper une spatule en verre dans l'inoculum et la frotter à la surface des feuilles de *C. quinoa*. L'inoculation peut aussi être réalisée avec le doigt recouvert d'un doigtier. Éviter d'endommager les feuilles, ce qui pourrait masquer la réaction. Inoculer au moins deux feuilles par plante et une plante par échantillon, et marquer les feuilles inoculées pour distinguer les réactions 'locales' des réactions 'systémiques'. Rincer les feuilles à l'eau du robinet immédiatement après l'inoculation. Placer les plantes soigneusement étiquetées dans une serre à 20–28 °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.

L'inoculation sur *Nicotiana* spp. se fait comme pour *C. quinoa* (ci-dessus), au stade quatre ou cinq feuilles.

Observations des symptômes

CMV: lésions locales orangées sur *C. quinoa* au bout de 5–8 jours.

PFBV: lésions chlorotiques sur les feuilles de *C. quinoa* inoculées, 10–20 jours après l'inoculation. Occasionnellement, réaction systémique.

PLCV: petites taches nécrotiques blanches (de la taille d'une tête d'épingle) sur *C. quinoa*, 5 jours après l'inoculation.

PLPV: lésions locales chlorotiques sur les feuilles de *C. quinoa* inoculées au bout de 7–12 jours, devenant nécrotiques par la suite.

ToRSV, TRSV, TBRV: lésions locales nécrotiques sur *C. quinoa* au bout de 4–6 jours, suivies par une nécrose apicale systémique (surtout pour le ToRSV).

TSWV, INSV: lésions locales chlorotiques et nécrotiques sur *N. benthamiana* and *N. occidentalis* P1.

Test ELISA pour les virus du pélagonium

Le test est effectué en utilisant la méthode DAS-ELISA (double-antibody sandwich). Des réactifs commerciaux sont disponibles pour le PFBV, le ToRSV, le TRSV, le TBRV, le TSWV, l'INSV, le CMV et le PLPV.

Broyer de jeunes feuilles fraîchement récoltées soit dans un tampon 0,1 M Tris, pH 8,6, contenant 2% de PVP, 0,4% d'ovalbumine ou 0,1–1,0% de gélatine, 0,5% de Tween (10 mL par g de feuille), soit dans un tampon phosphate, pH 7,2 [58 g/L K_2HPO_4 , 22,7 g/L KH_2PO_4 (0,5 g/L NaN_3 , en cas de conservation), 20 g/L PVP, 5 mL/L Tween 20] (poids/volume = 1:10, c'est-à-dire 1 g de feuilles pour 10 mL de tampon), en utilisant par exemple une presse à rouleau. Filtrer sur de la laine de verre. Pour le TSWV, utiliser de préférence le tampon phosphate. Pour le PLPV, il faut tester les pétioles au lieu des feuilles; pour cette raison, les pétioles sont généralement utilisés dans les tests pour tous les virus du pélagonium.

Toutes les autres étapes du test ELISA doivent être effectuées conformément aux procédures publiées ou aux instructions accompagnant les réactifs disponibles dans le commerce.

ANNEXE III

Directives pour les tests de détection de *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* dans le schéma de certification

Xanthomonas h. pelargonii peut être détecté par immunofluorescence indirecte, ELISA, des méthodes d'isolement ou la PCR.

ELISA

DAS-ELISA (double-antibody sandwich) should be used, exactly as for pelargonium viruses (Appendix II), but on stem samples. The sample may be triturated or cut into small pieces followed by shaking in buffer for 15 s to extract the bacterium. Phosphate buffer is commonly used for extraction, but other buffers are also suitable. Proprietary reagent sets are available for *X. h. pelargonii*. If a serological method is used, it should be alternated with the isolation procedure. Though time-consuming, isolation is the most sensitive method. In case of doubt, isolates can be retested by ELISA, immunofluorescence or PCR.

Immunofluorescence

The test should be performed on triturated stems of pelargonium using the indirect method in which antibodies to the bacterium are reacted with the sample. Commercially produced anti-rabbit antibodies conjugated with fluorescein isothiocyanate are then bound to the bacterial antibodies and can be seen under a suitable fluorescence microscope. The method is also suitable for combined samples. OEPP/EPPO (1990a) gives more details on laboratory procedures for the immunofluorescence tests.

Isolation

Xanthomonas h. pelargonii can be isolated on standard liquid or agar media, or on yeast peptone glucose (YPG) medium, using fragments cut from surface-sterilized stems.

PCR

A PCR method has been developed and is described by van der Wolf *et al.* (1999).

APPENDIX IV**Recommended certification standards for pelargonium**

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, 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 was negative for all pests 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 nuclear-stock plants were tested and gave negative results for PFBV, PLPV and for *X. h. pelargonii* in

ELISA

Le test correspond à la méthode DAS-ELISA (double-antibody sandwich) et se pratique exactement de la même façon que pour les virus (comme décrit à l'Annexe II), mais sur des échantillons de tiges. L'échantillon est broyé ou coupé en petits morceaux, puis il est agité dans le tampon pendant 15 s pour extraire la bactérie. Un tampon phosphate est couramment utilisé pour l'extraction, mais d'autres tampons conviennent également. Des réactifs commerciaux sont disponibles pour *X. h. pelargonii*. Si la méthode sérologique est utilisée, on recommande de l'alterner avec la procédure d'isolement. Celle-ci demande beaucoup de temps, mais c'est la méthode la plus sensible. En cas de doute, il est possible de retester les isolats par ELISA, immunofluorescence ou PCR.

Immunofluorescence

Le test s'effectue sur les tiges broyées de pélagonium, en utilisant la méthode indirecte dans laquelle les anticorps bactériens réagissent avec l'échantillon. Des anticorps antilapin, produits dans le commerce et conjugués avec de la fluorescéine isothiocyanate sont ensuite liés aux anticorps bactériens et sont visibles au microscope à fluorescence. La méthode est aussi valable pour des échantillons mixtes. Pour plus de détails sur les procédures de laboratoire pour les tests d'immunofluorescence, voir OEPP/EPPO (1990a).

Isolement

Xanthomonas h. pelargonii peut être isolé sur des milieux liquides ou gélosés standards, ou sur milieu levure-peptone-glucose (YPG) à l'aide de fragments prélevés sur des tiges désinfectées en surface.

PCR

Une méthode de PCR a été mise au point et est décrite par van der Wolf *et al.* (1999).

ANNEXE IV**Normes de certification recommandées pour le pélagonium**

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

Pour toutes les plantes du matériel initial les résultats des contrôles doivent être négatifs pour le PFBV, le PLPV et *X. h. pelargonii*. Aucune

Table 2 Recommended tolerance levels at visual inspection of pelargonium. 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 pélargonium. 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
<i>Xanthomonas hortorum</i> pv. <i>pelargonii</i>	0	0
<i>Puccinia pelargonii-zonalis</i>	0	0
Virus symptoms/Symptômes de virus	0	0
Other pests/Autres organismes nuisibles	Substantially free/Pratiquement indemne	Substantially free/Pratiquement indemne

their regular testing. No plant should show any symptom of fungal, bacterial or viral disease. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the plants concerned.

Propagation stock I

Records should show that random tests for *X. h. pelargonii* and PFBV were negative or that the other plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) were eliminated. Records should show that optional random tests for PLPV 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. Any plants showing symptoms of *P. pelargonii-zonalis* should be 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

Records should show that random tests for *X. h. pelargonii* and PFBV were negative or that the other plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) were eliminated. Any plants showing symptoms of *P. pelargonii-zonalis* should be 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.

References/Références

OEPP/EPPO (1990a) EPPO Standards PM 3/25. *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* – inspection and test methods. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **20**, 235–254.
OEPP/EPPO (1990b) EPPO Standards PM 3/28. Tomato ringspot nepovirus in pelargonium – inspection and test methods. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **20**, 273–276.

plante ne doit présenter de symptôme d'une maladie fongique, bactérienne ou virale. 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 par sondage pour *X. h. pelargonii* et le PFBV doivent être négatifs, ou toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent avoir été éliminées. Les résultats des tests par sondage facultatifs pour le PLPV doivent être négatifs, ou 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. Toute plante présentant des symptômes de *P. pelargonii-zonalis* doit être éliminée. 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

Les résultats des tests par sondage pour *X. h. pelargonii* et le PFBV doivent être négatifs, ou toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent avoir été éliminées. Toute plante présentant des symptômes de *P. pelargonii-zonalis* doit être éliminée. 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.

van der Wolf JM, van Beckhoven JRMC, Messchendorp JWJ & Hooftman R (1999) Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* by immunofluorescence colony-staining and PCR. In: *Plant Pathogenic Bacteria* (Ed. by A Mahadevan), pp. 149–154. University of Madras, Madras (IN).