

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 4/5(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) 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 narcissus
Schéma de certification pour le narcisse

Specific scope

This standard describes the production of certified pathogen-tested material of narcissus. It should be distinguished from EPPO Standard PM 4/24 which concerns the classification of bulbs of narcissus.

Specific approval and amendment

First approved in 1992-09.

Revision approved in 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 narcissus 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 *Narcissus* spp. The candidate material may be new cultivars, good-quality material of existing cultivars or meristem-tip cultures of any of these (regenerated cultivars). Material of narcissus should be selected visually from several different stocks. The plants selected should be vigorous, free from pest symptoms, and with good quality, true-to-type flowers which open in the middle of the normal flowering period. Material imported from outside the EPPO region should be inspected and, if appropriate, tested under quarantine for all EPPO quarantine pests of narcissus 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.

Bulbs taken from the selected plants should be transferred to candidate nuclear-stock conditions.

Champ d'application spécifique

Cette norme décrit la production de matériel de narcisse soumis à une certification sanitaire. Elle est à distinguer de la Norme OEPP PM 4/24 qui concerne la classification des bulbes de narcisse.

Approbation et amendement spécifiques

Approbation initiale en 1992-09.

Révision approuvée en 2000-09.

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 narcisse 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 *Narcissus* spp. 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). Les narcisses doivent être sélectionnés visuellement à partir de plusieurs matériels différents. Les plantes sélectionnées doivent être vigoureuses, sans symptômes apparents d'organismes nuisibles, avec des fleurs de bonne qualité, conformes au type et s'épanouissant au milieu de la période normale de floraison. 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 narcisse présents naturellement dans la région d'origine, et généralement inspecté ou, le cas échéant, testé pour détecter tout autre organisme nuisible.

Les bulbes pris sur les plantes sélectionnées sont transférés dans les conditions du stade initial.

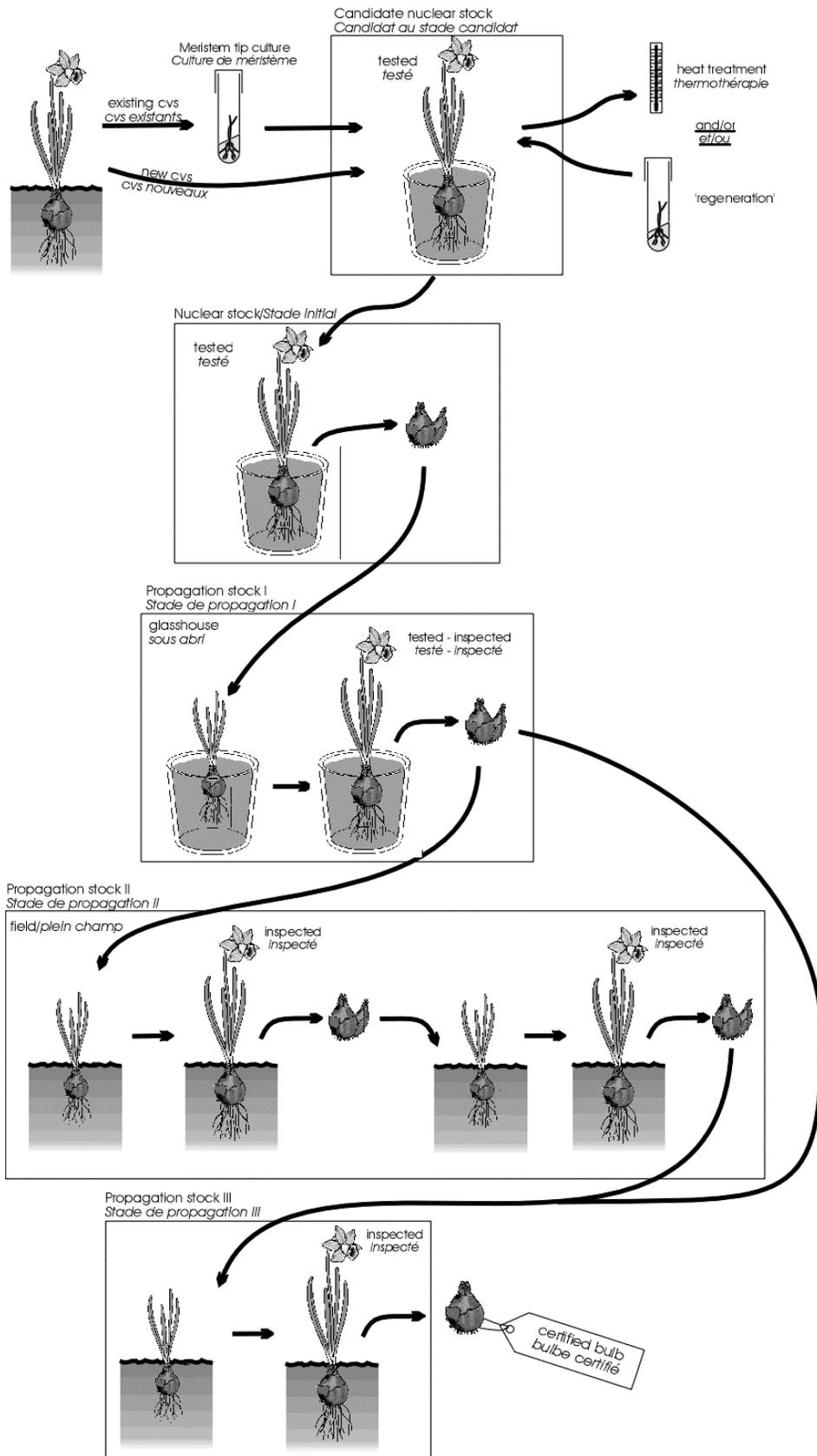


Fig. 1 Diagram of the stages in the narcissus certification scheme
 Diagramme des stades du schéma de certification du narcisse

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. The selected bulbs should be grown in individual pots in soil-less or sterilized growing medium, avoiding contact between plants. Adequate control of *Steneotarsonemus laticeps* (bulb scale mite) and aphids should be ensured.

2.2 Testing requirements

All plants of *Narcissus pseudonarcissus* should be individually tested on three occasions, during at least two growing seasons, for the following pests:

Arabis mosaic nepovirus (ArMV);
Cucumber mosaic cucumovirus (CMV);
Narcissus latent macluravirus (NLV);
Narcissus late season yellows potyvirus (NLSYV);
Narcissus mosaic potexvirus (NMV);
Narcissus tip necrosis tobusvirus (NTNV);
Narcissus white streak potyvirus (NWSV);
Narcissus yellow stripe potyvirus (NYSV);
Raspberry ringspot nepovirus (RpRSV);
Strawberry latent ringspot nepovirus (SLRSV);
Tobacco rattle tobravirus (TRV);
Tobacco ringspot nepovirus (TRSV);
Tomato black ring nepovirus (TBRV).

In the case of *Narcissus tazetta*, the pests concerned are ArMV, *Carnation latent carlavirus* (CLV), CMV, *Narcissus degeneration potyvirus* (NDV), SLRSV and TBRV.

Of these viruses, the most severe, causing most difficulties in practice, are the aphid-transmitted viruses: CMV, NLV and potyviruses. The nematode-transmitted viruses (nepoviruses, tobraviruses) have a wide host range and can be important in some areas. They can be excluded from certified stocks without too much difficulty. TRV is the most important in practice. TRSV, which is a quarantine pest, has been found on numerous occasions in the EPPO region, mostly on imported ornamental crops, but has apparently not established. NMV (mechanically transmissible) and NTV are relatively unimportant. CLV is occasionally isolated in narcissus in Israel but it is generally considered to be of only minor, if any, economic importance (Brunt, 1998). Recommended test methods for viruses are given in Appendix II.

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. *Ramularia* spp.).

2.3 Promotion to nuclear stock

Plants that give negative results in all tests and inspections, and which showed no symptoms over 2 years, can be promoted to nuclear stock. Before a plant or any material from it may be transferred to the nuclear-stock conditions, its promotion to nuclear stock should be authorized by the official organization, after verifying that all required tests and

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. Les bulbes sélectionnés doivent être cultivés dans des pots individuels contenant un substrat sans sol ou stérilisé, en évitant le contact entre les plantes. Des mesures de lutte adéquates doivent être prises contre *Steneotarsonemus laticeps* (tarsonème des bulbes) et les pucerons.

2.2 Exigences relatives aux tests

Toutes les plantes de *Narcissus pseudonarcissus* doivent être testées individuellement à trois reprises, au cours d'au moins deux périodes de végétation, pour les organismes nuisibles suivants:

Arabis mosaic nepovirus (ArMV);
Cucumber mosaic cucumovirus (CMV);
Narcissus latent macluravirus (NLV);
Narcissus late season yellows potyvirus (NLSYV);
Narcissus mosaic potexvirus (NMV);
Narcissus tip necrosis tobusvirus (NTNV);
Narcissus white streak potyvirus (NWSV);
Narcissus yellow stripe potyvirus (NYSV);
Raspberry ringspot nepovirus (RpRSV);
Strawberry latent ringspot nepovirus (SLRSV);
Tobacco rattle tobravirus (TRV);
Tobacco ringspot nepovirus (TRSV);
Tomato black ring nepovirus (TBRV).

Dans le cas de *Narcissus tazetta*, les organismes concernés sont ArMV, *Carnation latent carlavirus* (CLV), CMV, *Narcissus degeneration potyvirus* (NDV), SLRSV et TBRV.

Dans la pratique, les virus causant les principales difficultés sont le virus transmis par les pucerons: CMV, NLV et les potyvirus. Les virus transmis par les nématodes (népovirus, tobravirus) possèdent une large gamme d'hôtes et sont importants dans certaines régions. Ils peuvent être éliminés du matériel certifié sans trop de difficulté. Dans la pratique le TRV est le plus important. Le TRSV, qui est un organisme de quarantaine, a été trouvé à de nombreuses reprises dans la région OEPP, principalement sur des cultures ornementales importées, mais il ne s'est apparemment pas établi. Le NMV (mécaniquement transmissible) et le NTV sont relativement peu importants. Le CLV a été isolé occasionnellement sur narcisse en Israël, mais on considère généralement que son importance économique est tout au plus mineure (Brunt, 1998). Les méthodes de test recommandées pour les virus figurent à l'Annexe II.

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. *Ramularia* spp.).

2.3 Promotion au stade initial

Les plantes qui donnent des résultats négatifs pour tous les tests et inspections, et qui ne présentent aucun symptôme pendant 2 années, peuvent être promues au stade initial. 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,

observations have been performed with negative results. Recommended certification standards are given in Appendix V.

If no such plants were obtained, vigorous plants from the selected material may be 'regenerated' by heat treatment and/or meristem-tip culture. The progeny should then pass through the whole above procedure (i.e. 2 years of testing and observation) before it qualifies as nuclear stock. In addition, it should be checked for agronomic and floristic characteristics (quality and trueness to type), which may take up to 4 years.

3. Maintenance of the nuclear stock

3.1 Growing conditions

Tissue taken from the promoted candidate nuclear stock may be maintained *in vitro* (but not multiplied) and, in this form, retains the same status in the scheme. Otherwise, bulbs taken from the candidate nuclear stock when planted become the nuclear stock, which should be kept in a suitably designed aphid-proof house, containing only nuclear-stock plants. The plants should be grown in individual pots in which the growing medium should be soil-free or checked for absence of virus-vector nematodes prior to planting, i.e. only *Longidorus* spp. and *Xiphinema* spp. for *Narcissus tazetta*, but also *Paratrichodorus* spp. and *Trichodorus* spp. for *N. pseudonarcissus* (see Appendix III). Official requirements on the spacing between narcissus bulbs may be made. Nuclear-stock plants should be maintained under the same conditions, and with the same precautions against infection (especially by aphids and *S. laticeps*), 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 bulbs taken from them, to flower. The flowering may need to be done in a different place to avoid risk of infection.

3.2 Testing requirements

The plants should be individually tested at least every 5 years for all the aphid-transmitted viruses mentioned above. They should be visually inspected for the presence of any pest. Any plant found to be infected, by testing or by visual examination, should immediately be eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled (e.g. *Ramularia* spp.). Any plant attacked by *S. laticeps* should be hot water treated (Appendix IV) and grown again for 2 years without symptoms (as candidate material) before it can be certified.

Bulbs taken from nuclear-stock plants can also be considered as nuclear stock, provided that they do not leave the nuclear-stock conditions¹. 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.

¹They 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.

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 V.

Si de telles plantes n'ont pas pu être obtenues, des plantes vigoureuses appartenant au matériel sélectionné peuvent être régénérées par thermothérapie et/ou par culture de méristème. La descendance doit ensuite subir l'ensemble de la procédure ci-dessus (c'est-à-dire 2 années de test et d'observation) avant de pouvoir passer au stade initial. De plus, les caractéristiques agronomiques et florales (qualité, authenticité variétale) doivent être contrôlées, ce qui peut nécessiter des observations sur 4 ans.

3. Maintien du stade initial

3.1 Conditions de culture

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, des bulbes issus des plantes candidates au stade initial sont plantés et deviennent le stade initial. Celui-ci doit être conservé dans une serre aphid-proof, conçue pour cet usage et ne contenant que des plantes du stade initial. Les plantes sont cultivées dans des pots individuels dans un substrat sans sol ou contrôlé avant la plantation pour l'absence de nématodes vecteurs de virus, c'est-à-dire seulement *Longidorus* spp. et *Xiphinema* spp. pour *Narcissus tazetta*, mais aussi *Paratrichodorus* spp. et *Trichodorus* spp. pour *N. pseudonarcissus* (voir Annexe III). L'espacement entre les bulbes peut être fixé par des exigences officielles. Les plantes du stade initial doivent être placées dans les mêmes conditions de culture et avec les mêmes précautions contre l'infection que les plantes candidates au stade initial (en particulier par les pucerons et *S. laticeps*) (voir point 2 ci-dessus). Un contrôle de l'authenticité variétale doit également être effectué en cultivant les plantes du stade initial, ou des bulbes pris 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.

3.2 Exigences relatives aux tests

Les plantes doivent être testées individuellement au moins tous les 5 ans pour tous les virus transmis par les pucerons mentionnés au point 2. 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. *Ramularia* spp.). Toute plante attaquée par *S. laticeps* doit subir un traitement à l'eau chaude (Annexe IV) et être cultivée pendant 2 années supplémentaires sans présenter de symptômes (en tant que candidat au stade initial) avant d'être certifiée.

Les bulbes prélevés sur les plantes du stade initial peuvent aussi être considérés comme faisant partie du stade initial, à condition qu'ils ne quittent pas les conditions du stade initial¹. 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.

¹Ils peuvent être transférés dans des conditions de stade initial similaires et conserver leur statut de stade initial à condition qu'ils soient emballés pendant toute la durée de leur transport dans des conteneurs adéquats conçus pour éviter la contamination.

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 V. If propagating material from nuclear stock leaves the scheme, it may be labelled as 'pre-basic' material.

4. Production of propagation stock I (multiplication in aphid-proof house)

4.1 Growing conditions

Bulbs taken from the nuclear-stock plants, when planted, become propagation stock I. For narcissus, 'chipping' is the preferred method of multiplication, each bulb being divided into 16 or 32 sections, depending on bulb size, with careful attention being paid to hygiene, disinfection of equipment, incubation conditions and clone identification. The plants should be kept in isolated aphid-proof 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. The growing medium should be soil-free or checked for absence of virus-vector nematodes, as appropriate to the crop (see Section 3.1). General precautions against pests should be maintained.

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

4.2 Testing requirements

No tests are required at this stage. The plants should be visually inspected regularly for the presence of any pest or symptom. 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. *Ramularia* spp.). Plants found attacked by *S. laticeps* at certification inspection should be hot water treated (Appendix IV) and grown again for 2 years without symptoms (as candidate material) before they can be certified.

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 V. If propagating material from propagation stock I leaves the scheme, it may be labelled as 'basic' material.

5. Propagation stock II (multiplication in the field)

5.1 Growing conditions

Bulbs taken from the propagation-stock I plants may be planted directly in the field in order to produce certified bulbs or may be multiplied

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 V. Si du matériel du stade initial quitte le schéma, il peut être appelé 'matériel de pré-base'.

4. Stade de propagation I (multiplication sous abri insect-proof)

4.1 Conditions de culture

Lorsque les bulbes prélevés sur des plantes du stade initial sont plantés, ils deviennent le stade de propagation I. Pour le narcisse, la méthode de multiplication la plus utilisée est la division des bulbes, chaque bulbe étant divisé en 16 ou 32 sections en fonction de sa taille, et en prenant garde aux conditions d'hygiène et de désinfection des outils, aux conditions d'incubation et à l'identification des clones. Les plantes doivent être placées dans des abris aphid-proof 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. Le substrat doit être exempt de sol, ou contrôlé pour l'absence des nématodes vecteurs de virus (selon la culture; voir 3.1). Des précautions générales contre les organismes nuisibles doivent être maintenues.

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

Aucun test n'est exigé à ce stade. L'état des plantes doit être régulièrement contrôlé par inspection visuelle pour détecter la présence d'organismes nuisibles ou de symptômes. Toute plante trouvée contaminée doit être éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace (par ex. *Ramularia* spp.). Toute plante attaquée par *S. laticeps* lors de l'inspection de certification doit subir un traitement à l'eau chaude (Annexe IV) et être cultivée pendant 2 années supplémentaires sans présenter de symptômes (en tant que candidat au stade initial) avant d'être certifiée.

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 V. Si du matériel de propagation du stade de propagation I quitte le schéma, il peut être appelé 'matériel de base'.

5. Stade de propagation II (multiplication au champ)

5.1 Conditions de culture

Les bulbes du stade de propagation I peuvent être plantés directement au champ pour produire des bulbes certifiés, ou ils peuvent être

several times as propagation stock II, with stricter requirements. The field site for propagation stock II should: (1) be found free from virus-vector nematodes as appropriate to the crop (see Section 4.1); (2) not have been used to grow narcissus, tulip, onion, *Vicia faba*, *Phaseolus* spp. or strawberry in the previous 10 years (to reduce risk of infection by *Ditylenchus dipsaci*); and (3) be at least 50 m from any material of the same genus at a lower certification level. General precautions against pests should be maintained.

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

5.2 Testing requirements

No tests are required at this stage. 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. *Ramularia*).

5.3 Certification

Certification will be granted on the basis of records of the tests and observations performed during production and of at least three certification (visual) inspections. There should be at least two certification inspections during the growing season in the year of harvest and one on dry bulbs after harvest. Recommended certification standards are given in Appendix V. If propagating material from propagation stock II leaves the scheme, it may be labelled as 'basic' material.

6. Propagation stock III (production of certified bulbs)

6.1 Growing conditions

Bulbs from propagation stock I or from propagation stock II when planted become the propagation stock III, from which the certified bulbs are taken. They should be planted at least 2 m from plants not entered for certification, and the site should not have been used to grow bulbs in the previous 4 years. General precautions against pests should be maintained.

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

6.2 Testing requirements

No tests are required at this stage. 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. *Ramularia* spp.). Lots which have been refused certification because they exceeded the thresholds in the certification standards may be resubmitted for certification after having infected plants or bulbs removed. At certification inspection of dry bulbs, any stocks attacked by *S. laticeps* should be treated and inspected again.

multipliés plusieurs fois comme stade de propagation II, avec des exigences plus strictes. Le site utilisé pour le stade propagation II doit: (1) avoir été trouvé indemne de nématodes vecteurs de virus (selon la culture; voir 3.1); (2) ne pas avoir été utilisé pour produire des narcisses, des tulipes, des oignons, *Vicia faba*, *Phaseolus* spp. ou des fraisiers lors des 10 années précédentes (pour réduire les risques de contamination par *Ditylenchus dipsaci*); et (3) être situé à 50 m au moins de tout matériel appartenant au même genre et à un grade inférieur dans le schéma de certification. Des précautions générales contre les organismes nuisibles doivent être maintenues.

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

Aucun test n'est exigé à ce stade. 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. *Ramularia* spp.).

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 au moins trois inspections (visuelles) de certification. Il doit y avoir au moins deux inspections de certification au cours de la période de végétation et une sur les bulbes secs après la récolte. Les normes de certification recommandées figurent à l'Annexe V. Le matériel de propagation du stade de propagation II qui quitte le schéma peut être appelé 'matériel de base'.

6. Stade de propagation III (production de bulbes certifiés)

6.1 Conditions de culture

Lorsque les bulbes du stade de propagation I ou du stade de propagation II sont plantés, ils deviennent le stade de propagation III sur lequel les bulbes certifiés sont pris. Ils doivent être plantés à 2 m au moins des plantes n'entrant pas dans la certification, et le site ne doit pas avoir été utilisé pour cultiver des bulbes au cours des quatre dernières années. Des précautions générales contre les organismes nuisibles doivent être maintenues.

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

6.2 Exigences relatives aux tests

Aucun test n'est exigé à ce stade. 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. *Ramularia* spp.). Les lots pour lesquels la certification a été refusée en raison du dépassement des seuils de tolérance, peuvent être à nouveau présentés après avoir supprimé les plantes ou bulbes contaminés. Lors de l'inspection de certification des bulbes s, tout matériel trouvé attaqué par *S. laticeps* doit être traité et à nouveau inspecté.

6.3 Certification

Certification should be granted on the basis of records of the tests and observations performed during production and of at least three certification (visual) inspections. There are at least two certification inspections performed on growing plants in the field in the year of harvest and one on dry bulbs after harvest. Recommended certification standards are given in Appendix V. Propagation material from propagation stock III leaving the scheme may be labelled as 'certified' material.

7. Execution and administration of the certification scheme

7.1 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.

7.2 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 bulbs 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 narcissus

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

APPENDIX II

Guidelines for narcissus viruses in a certification scheme

Procedures for each virus

Nepoviruses (ArMV, RpRSV, SLRSV, TRSV, TBRV)

The nepoviruses, when present alone, induce symptomless infection in narcissus, so visual inspection provides no reliable indication of infection. They can readily be detected by ELISA and/or

6.3 Certification

La certification sera accordée en se basant sur les documents relatifs aux tests et aux observations réalisés pendant la production et sur au moins trois inspections (visuelles) de certification. Au moins deux inspections de certification doivent être effectuées dans la culture au champ dans l'année de récolte, et une sur les bulbes secs après la récolte. Les normes de certification recommandées figurent à l'Annexe V. Le matériel de propagation du stade de propagation III qui quitte le schéma peut être appelé 'matériel certifié'.

7. Exécution et administration du schéma de certification

7.1 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.

7.2 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 bulbes certifiés 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 narcisse

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

ANNEXE II

Directives pour les virus du narcisse dans le schéma de certification

Procédures pour chaque virus

Népovirus (ArMV, RpRSV, SLRSV, TRSV, TBRV)

Les népovirus seuls ne sont capables de provoquer que des contaminations sans symptôme apparent chez le narcisse, aussi les inspections visuelles ne permettent-elles pas de détecter efficacement

Table 1 Summary of tests and inspections for narcissus pests in different stages of the scheme
Résumé des tests et des inspections pour détecter les organismes nuisibles du narcisse aux différents stades du schéma

Pests/Organismes nuisibles	Candidate nuclear stock/ Candidat au stade initial	Nuclear stock/Stade initial	Propagation stock I, II and III/ Stades de propagation I, II et III
Aphid-transmitted viruses/ Virus transmis par les pucerons	Individual testing on three occasions during two growing seasons/Test individuel à trois reprises pendant deux périodes de végétation	Individual testing at least every 5 years/ Test individuel au moins tous les 5 ans	Visual inspection/Inspection visuelle
Other viruses/Autres virus	Individual testing on three occasions during two growing seasons/Test individuel à trois reprises pendant deux périodes de végétation	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

Table 2 Indicator plants suitable for detection of narcissus viruses
Plantes indicatrices pouvant être utilisées pour la détection des virus du narcisse

Viruses/Virus	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	<i>Chenopodium murale</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>	<i>Cucumis sativusa</i>	<i>Gomphren globosa</i>	<i>Nicotiana benthamiana</i>
<i>Arabis mosaic nepovirus</i>	+		+	+		
<i>Carnation latent carlavirus</i>			+			
<i>Cucumber mosaic cucumovirus</i>	+		+	+		+
<i>Narcissus late season yellows potyvirus</i>						
<i>Narcissus latent macluravirus</i>						+
<i>Narcissus mosaic potexvirus</i>	+				+	
<i>Narcissus tip necrosis tobusvirus</i>			+			
<i>Narcissus white streak potyvirus</i>						
<i>Narcissus yellow stripe potyvirus</i>						
<i>Raspberry ringspot nepovirus</i>	+		+			
<i>Strawberry latent ringspot nepovirus</i>	+	+	+	+		
<i>Tobacco rattle tobravirus</i>	+			+		
<i>Tobacco ringspot nepovirus</i>	+		+	+		
<i>Tomato black ring nepovirus</i>	+		+			

Viruses/Virus	<i>Nicotiana clevelandii</i>	<i>Nicotiana glutinosa</i>	<i>Nicotiana megalosiphon</i>	<i>Nicotiana rustica</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Tetragonia expansa</i>
<i>Arabis mosaic nepovirus</i>	+					+	
<i>Cucumber mosaic cucumovirus</i>	+	+			+		
<i>Narcissus late season yellows potyvirus</i>							
<i>Narcissus latent macluravirus</i>	+		+				+
<i>Narcissus mosaic potexvirus</i>	+						+
<i>Narcissus tip necrosis tobusvirus</i>							
<i>Narcissus white streak potyvirus</i>							
<i>Narcissus yellow stripe potyvirus</i>							
<i>Raspberry ringspot nepovirus</i>				+	+	+	
<i>Strawberry latent ringspot nepovirus</i>				+	+		
<i>Tobacco rattle tobravirus</i>	+					+	
<i>Tobacco ringspot nepovirus</i>	+				+	+	
<i>Tomato black ring nepovirus</i>				+	+	+	

ISEM in naturally infected hosts or in inoculated indicator plants (Table 2).

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV), *narcissus mosaic potexvirus (NMV)* and *tobacco rattle tobravirus (TRV)*
These alone induce no characteristic symptoms in narcissus. Like the nepoviruses, they are best identified by ELISA and/or

une infection. Ils peuvent être aisément détectés par ELISA et/ou par ISEM, sur des hôtes naturellement contaminés ou sur des plantes indicatrices inoculées (Tableau 2).

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV), *narcissus mosaic potexvirus (NMV)* et *tobacco rattle tobravirus (TRV)*
Seuls, ces virus ne provoquent pas de symptômes caractéristiques chez le narcisse. Comme pour les népovirus, il vaut mieux les identifier par

ISEM in naturally infected hosts or in inoculated indicator plants (Table 2).

Narcissus latent macluravirus (NLV) and narcissus tip necrosis tombusvirus (NTNV)

NLV induces leaf chlorosis, and NTV causes characteristic tip necrosis in some narcissus cultivars. Both are best identified by ELISA and/or ISEM in naturally infected narcissus or inoculated indicator plants (Table 2).

Potyvirus (NLSYV, NWSV, NYSV, NDV)

The potyviruses infecting narcissus usually induce characteristic symptoms, but those of NLSYV and NWSV appear only after flowering. It is not recommended to use indicator plants. No specific antisera are available for NWSV, which should therefore be identified by visual symptoms and by the detection of filamentous particles unrelated to the other three potyviruses in 'decoration tests' by ISEM. Serological procedures (ISEM and ELISA) can be used to detect and identify the other three potyviruses in narcissus.

Carnation latent carlavirus (CLV)

A carlavirus isolated from *Narcissus tazetta* cv. Grand Soleil d'Or was found to be serologically closely related to the type strain of CLV isolated from carnation. No symptoms have been described in narcissus so visual inspection provides no reliable indication of infection. CLV can be detected by ELISA and ISEM but, unlike the type strain of CLV, the narcissus isolate can be detected by inoculation to a single species of indicator plant only (*Chenopodium quinoa*) (Brunt, 1977).

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.

The indicator plants considered most useful are listed below with brief details on how they should be grown and inoculated. The symptoms obtained are, to a certain extent, characteristic of the different viruses, but it is recommended in general to use ELISA and/or ISEM to confirm the identification (if necessary). It should not be assumed that only the viruses mentioned give symptoms on the indicators. See Table 2 for a summary of the indicators suitable for each virus.

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

A phosphate buffer, pH 7.0, containing Na₂HPO₄–KH₂PO₄ is suitable for extraction of all viruses from narcissus material. About 3 mL of buffer per g of leaf material should be used. The leaves to be inoculated

ELISA et/ou par ISEM sur des hôtes naturellement contaminés ou sur des plantes indicatrices inoculées (Tableau 2).

Narcissus latent macluravirus (NLV) and narcissus tip necrosis tombusvirus (NTNV)

Le NLV provoque une chlorose foliaire et le NTV cause une nécrose apicale caractéristique chez certains cultivars de narcissé. Il vaut mieux identifier ces deux virus à l'aide du test ELISA et/ou par ISEM sur des hôtes naturellement contaminés ou sur des plantes indicatrices inoculées (Tableau 2).

Potyvirus (NLSYV, NWSV, NYSV, NDV)

Les potyvirus du narcissé induisent généralement des symptômes caractéristiques, mais ceux du NLSYV et du NWSV apparaissent seulement après la floraison. Il n'est pas recommandé d'utiliser des plantes indicatrices. Aucun antisérum n'est disponible pour le NWSV, qui doit donc être identifié par observation visuelle des symptômes et par la détection de particules filamenteuses non apparentées aux trois autres potyvirus lors d'un test de décoration en ISEM. Des méthodes sérologiques (ISEM et ELISA) peuvent être utilisées pour détecter et identifier les trois autres potyvirus chez le narcissé.

Carnation latent carlavirus (CLV)

Un carlavirus isolé sur *Narcissus tazetta* cv. Grand Soleil d'Or a été trouvé sérologiquement apparenté à la souche de CLV isolée sur œillet. Aucun symptôme n'a été décrit sur narcissé, et les inspections visuelles ne permettent donc pas de détecter efficacement une infection. Le CLV peut être détecté par ELISA et par ISEM mais, contrairement à la souche type de CLV, l'isolat du narcissé peut aussi être détecté par inoculation, sur une seule espèce de plante indicatrice (*Chenopodium quinoa*) (Brunt, 1977).

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.

Les plantes indicatrices jugées les plus utiles sont listées ci-dessous, avec de brèves explications sur le mode de culture et d'inoculation. Dans une certaine mesure, les symptômes obtenus sont caractéristiques des différents virus, mais il est généralement recommandé d'utiliser le test ELISA et/ou l'ISEM pour confirmer l'identification (si nécessaire). Il ne faut pas considérer que seuls les virus mentionnés sont capables de provoquer des symptômes sur les plantes indicatrices. Voir le Tableau 2 pour un résumé des plantes indicatrices appropriées à chaque virus.

Production de plantes tests

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). Mettre 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

Pour tous les virus, l'extraction peut être réalisée à l'aide d'un tampon phosphate, pH 7,0, contenant du Na₂HPO₄–KH₂PO₄. Utiliser environ 3 mL de tampon par g de matériel foliaire. Saupoudrer les feuilles de

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

ArMV: chlorotic local lesions only, then systemic, on *C. amaranticolor* and *C. quinoa*; chlorotic local lesions, systemic chlorotic spotting, on *C. sativus*; chlorotic local lesions, systemic chlorosis, on *N. clevelandii*; faint chlorotic local lesions, systemic chlorosis and necrosis, on *P. vulgaris*.

CLV: local lesions only (not systemic) on *C. quinoa*.

CMV: chlorotic or necrotic local lesions (not systemic) on *C. amaranticolor* and *C. quinoa*; severe systemic leaf chlorosis on *C. sativus*; faint chlorotic local lesions, conspicuous systemic chlorosis, on *N. benthamiana* and *N. tabacum*; chlorotic local lesions, systemic chlorosis, on *N. clevelandii* and *N. glutinosa*.

NLV: faint chlorotic local lesions, conspicuous systemic chlorosis, on *N. benthamiana* (only some isolates systemic); chlorotic local lesions, systemic chlorosis, on *N. clevelandii* (only some isolates systemic); faint chlorotic local lesions, sometimes also systemic chlorosis, on *N. megalosiphon*; chlorotic local lesions (not systemic) on *T. expansa*.

NMV: numerous faint chlorotic local lesions, becoming necrotic, sometimes partially systemic in winter, on *C. amaranticolor*; white or maroon necrotic local lesions, followed by irregularly shaped grey or maroon lesions on systemically infected leaves, on *G. globosa*; chlorotic local lesions (not systemic) on *N. clevelandii* and *T. expansa*.

NTNV: chlorotic local lesions only (not systemic), with concentrated inoculum, on *C. quinoa*.

RpRSV: chlorotic or necrotic local lesions (not systemic) on *C. amaranticolor*; necrotic local lesions only, systemic, on *C. quinoa*; chlorotic local lesions, scattered systemic chlorotic spots, rings and line patterns, on *N. rustica*; brown necrotic local lesions (in winter only) on *P. vulgaris*.

SLRSV: chlorotic or necrotic local lesions, systemic, on *C. amaranticolor* and *C. quinoa*; chlorotic or necrotic local lesions (not systemic) on *C. murale*; chlorotic local lesions (sometimes), systemic interveinal chlorosis or necrosis, on *C. sativus*; symptomless systemic infection on *N. rustica*.

TBRV: chlorotic or necrotic local lesions, systemic, on *C. amaranticolor* and *C. quinoa*; chlorotic or necrotic local spots or rings, systemic leaf spots, rings and line patterns, on *N. rustica*; systemic chlorotic mottling, necrosis and distortion on *P. vulgaris*.

TRV: necrotic local lesions only (not systemic) on *C. amaranticolor* and *P. vulgaris*; chlorotic or necrotic local lesions (not systemic) on *C. sativus*; chlorotic or necrotic local lesions, faint systemic chlorosis, necrotic flecking and distortion, on *N. clevelandii*.

carborundum (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

ArMV: lésions locales chlorotiques seulement, puis infection systémique, sur *C. amaranticolor* et *C. quinoa*; lésions locales chlorotiques, taches chlorotiques systémiques, sur *C. sativus*; lésions locales chlorotiques, chlorose systémique, sur *N. clevelandii*; légères lésions locales chlorotiques, chlorose et nécrose systémiques, sur *P. vulgaris*.

CLV: lésions locales seulement (non systémique) sur *C. quinoa*.

CMV: lésions locales chlorotiques ou nécrotiques (non systémique) sur *C. amaranticolor* et *C. quinoa*; sévère chlorose systémique des feuilles sur *C. sativus*; légères lésions locales chlorotiques, chlorose systémique nettement visible, sur *N. benthamiana* et *N. tabacum*; lésions locales chlorotiques, chlorose systémique, sur *N. clevelandii* et *N. glutinosa*.

NLV: légères lésions locales chlorotiques, chlorose systémique nettement visible, sur *N. benthamiana* (seuls quelques isolats sont systémiques); lésions locales chlorotiques, chlorose systémique, sur *N. clevelandii* (seuls quelques isolats sont systémiques); légères lésions locales chlorotiques, parfois chlorose systémique, sur *N. megalosiphon*; lésions locales chlorotiques (non systémique) sur *T. expansa*.

NMV: nombreuses lésions locales légèrement chlorotiques, devenant nécrotiques, parfois partiellement systémique en hiver, sur *C. amaranticolor*; lésions locales nécrotiques blanches ou marron, suivies par des lésions de forme irrégulière grises ou marron sur les feuilles infectées de manière systémique, sur *G. globosa*; lésions locales chlorotiques (non systémique) sur *N. clevelandii* et *T. expansa*.

NTNV: lésions locales chlorotiques seulement (non systémique), avec un inoculum concentré, sur *C. quinoa*.

RpRSV: lésions locales chlorotiques ou nécrotiques (non systémique) sur *C. amaranticolor*; lésions locales nécrotiques, infection systémique, sur *C. quinoa*; lésions locales chlorotiques, anneaux, arabesques et taches épars chlorotiques et systémiques, sur *N. rustica*; lésions locales brunes nécrotiques (en hiver seulement) sur *P. vulgaris*.

SLRSV: lésions locales chlorotiques ou nécrotiques, infection systémique, sur *C. amaranticolor* et *C. quinoa*; lésions locales chlorotiques ou nécrotiques (non systémique) sur *C. murale*; lésions locales chlorotiques (parfois), chlorose ou nécrose internervaires systémiques, sur *C. sativus*; infection systémique sans symptômes apparents sur *N. rustica*.

TBRV: lésions locales chlorotiques ou nécrotiques, infection systémique, sur *C. amaranticolor* et *C. quinoa*; taches ou anneaux locaux chlorotiques ou nécrotiques, taches, anneaux et arabesques foliaires systémiques, sur *N. rustica*; marbrure chlorotique, nécrose et déformation systémiques sur *P. vulgaris*.

TRV: lésions locales nécrotiques seulement (non systémique) sur *C. amaranticolor* et *P. vulgaris*; lésions locales chlorotiques ou nécrotiques (non systémique) sur *C. sativus*; lésions locales chlorotiques ou nécrotiques, légère chlorose, taches nécrotiques et déformations systémiques, sur *N. clevelandii*.

TRSV: necrotic local lesions only (not systemic) on *C. amaranticolor* and *C. quinoa*; chlorotic or necrotic local lesions, systemic mottling and dwarfing, with apical distortion, on *C. sativus*; necrotic lesions, rings or ringspots, chlorotic rings and lines on systemically infected leaves, on *N. clevelandii* and *N. tabacum*; necrotic local lesions; systemic spots and rings, with apical tip necrosis, on *P. vulgaris*.

ELISA testing for narcissus viruses

ELISA can be performed for all viruses mentioned in the scheme. Conventional DAS-ELISA (Clark & Adam, 1977; Hill & Blunt, 1985) is suitable for extracts from narcissus and from the indicator species. The procedure used in EPPO Standard PM 4/4 (lily) is also suitable for narcissus. All other stages of the ELISA test should be performed according to the published procedures or by following the instructions accompanying the proprietary reagents.

ISEM testing

Standard ISEM procedures (Milne & Luisoni, 1977) are applicable for detection and identification of the viruses in narcissus bulbs and test plants.

APPENDIX III

Soil test for virus-vector nematodes

Soil in which material is to be planted should be sampled and the samples found free from the following nematode vector species: *Xiphinema diversicaudatum* (the vector of ArMV and SLRSV); *Longidorus macrosoma* (RpRSV); *L. attenuatus* (TBRV); *L. elongatus* (RpRSV and TBRV); and the genera *Trichodorus* and *Paratrichodorus* (TRV).

Soil samples should be taken in the 10–30 cm depth layer, using a semi-cylindrical auger with a diameter of at least 2.5 cm. Screw augers or tools with a diameter of less than this should not be used because of the risk of damaging the nematodes during sampling. If possible, sampling should be performed when the soil is moist. Samples should be taken on a grid pattern over the site with, for example, 20 subsamples for sites up to 0.2 ha and 40 for sites between 0.2 and 4 ha. Another possible sampling pattern (more intensive but used in some countries) is to divide the site into units of 0.2 ha and take 60 subsamples in each of these sample units. Additional samples should be taken from any hedges which surround the site.

The method to be used for extraction of nematodes from soil depends on the size of the nematode genera. For the larger *Xiphinema* spp. and *Longidorus* spp., a method such as that of Flegg (1967) is suitable and requires little special equipment: mix the soil sample carefully but thoroughly and measure two subsamples of 200 mL by displacement of water. Leave each subsample to soak in water for at least 1 h, then wash it through a 4-mm-pore sieve into a 10-L bucket, which is filled to near the brim. Stir the contents of the bucket with the hand in order to put the soil into suspension. Leave for 25 s, then decant the supernatant onto a set of three sieves of 150-µm pore size. Refill the bucket and repeat the stirring and decanting (after leaving for only 15 s). Wash the debris collected on the sieves and transfer to a 110-µm-pore nylon sieve. Place the sieve on a glass funnel with just enough water to submerge the debris on the sieve surface. Leave for 24 h, then collect about

TRSV: lésions locales nécrotiques seulement (non systémique) sur *C. amaranticolor* et *C. quinoa*; lésions locales chlorotiques ou nécrotiques, marbrure et nanisme systémiques, avec une déformation apicale, sur *C. sativus*; lésions nécrotiques, anneaux ou taches en anneaux; anneaux et arabesques chlorotiques sur les feuilles infectées de manière systémique, sur *N. clevelandii* et *N. tabacum*; lésions locales nécrotiques, taches et anneaux systémiques, avec une nécrose apicale, sur *P. vulgaris*.

Test ELISA pour les virus du narciss

Le test ELISA peut être utilisé pour tous les virus mentionnés dans le schéma. La méthode conventionnelle DAS-ELISA (Clark & Adams, 1977; Hill & Blunt, 1985) convient pour l'analyse des extraits de narciss et de plantes indicatrices. La méthode de la Norme OEPP PM 4/4 (lis) convient aussi pour le narciss. Toutes les autres étapes du test ELISA doivent être effectuées conformément aux procédures publiées ou aux instructions accompagnant les réactifs disponibles dans le commerce.

Test ISEM

Les procédures standards pour l'ISEM (Milne & Luisoni, 1977) peuvent être utilisées pour détecter et identifier les virus dans les bulbes de narciss et les plantes indicatrices.

ANNEXE III

Test du sol pour les nématodes vecteurs de virus

Le sol dans lequel le matériel sera planté doit être échantillonné et les échantillons doivent être indemnes des espèces de nématodes vecteurs de virus suivantes: *Xiphinema diversicaudatum* (vecteur de l'ArMV et du SLRSV), *Longidorus macrosoma* (RpRSV), *L. attenuatus* (TBRV), *L. elongatus* (RpRSV et TBRV) et les genres *Trichodorus* et *Paratrichodorus* (TRV).

Les échantillons de sol sont prélevés entre 10 et 30 cm de profondeur, à l'aide d'une tarière semi-cylindrique d'au moins 2,5 cm de diamètre. Les tarières à vis ou les outils d'un diamètre inférieur à celui-ci ne doivent pas être utilisés car ils pourraient endommager les nématodes au cours du prélèvement. L'échantillonnage doit être effectué si possible sur un sol humide. Les échantillons sont prélevés sur le site en suivant une grille, par exemple 20 sous-échantillons pour les surfaces jusqu'à 0,2 ha, et 40 pour les surfaces entre 0,2 et 4 ha. Un autre schéma d'échantillonnage (plus intensif, mais utilisé dans certains pays) consiste à diviser le site en unités de 0,2 ha et à prélever 60 sous-échantillons dans chacune de ces unités. Des échantillons supplémentaires doivent être prélevés dans les bordures qui entourent le site.

La méthode à utiliser pour extraire les nématodes du sol dépend de la taille du genre des nématodes concernés. Pour les gros *Xiphinema* spp. et *Longidorus* spp., une méthode telle que celle de Flegg (1967) convient et demande peu de matériel spécialisé: mélanger soigneusement l'échantillon de sol et mesurer un sous-échantillon de 200 mL, par déplacement du même volume d'eau. Laisser le sous-échantillon tremper dans l'eau pendant au moins 1 h, puis le laver dans un tamis de maille de 4 mm, placé au-dessus d'un seau de 10 L, qui sera rempli jusqu'au bord. Agiter à la main le contenu du seau afin de mettre le sol en suspension. Laisser reposer 25 s avant de décanter le surnageant sur une série de trois tamis de maille de 150 µm. Remplir le seau et, à nouveau, agiter la suspension, puis laisser reposer 15 s avant de décanter. Rincer les débris collectés sur les tamis et les transférer sur un tamis en nylon de maille de 110 µm. Placer le tamis sur un entonnoir en verre et

25 mL from the stem of the funnel (this can be achieved by having the funnel stem terminating in a rubber tube closed with a clamp) for examination at 25× magnification.

For extraction of the smaller *Trichodorus* spp. and *Paratrichodorus* spp., numerous methods are described (Hooper, 1986). The following two-flask technique of Seinhorst (1955) is simple but efficient: prepare a subsample of 200 mL, by displacement of water, together with 800 mL of water. Leave the subsample to soak in water for about 1 h, then mix gently. Wash the soil/water mixture through a 4-mm-pore sieve into a large wide-stem funnel fitted with a plug. When all the soil has passed through the sieve, pull out the plug allowing the slurry to run into a wide-neck, 2-L Erlenmeyer (conical) flask. Wash the funnel clean with a little water and top up the flask with water, removing any froth that accumulates. If a flask with standard ground-glass joint, 35-mm diameter, is available the appropriate funnel is used; otherwise a short plastic funnel may be attached with a rubber sleeve. The funnel aperture should be about 12 mm in diameter to obtain a suitable rate of sedimentation/elutriation. With a finger-tip closing the funnel orifice, shake the flask to mix the contents thoroughly and invert it over a similar flask filled with water. The funnel orifice should be just immersed and the finger-tip quickly removed; the soil particles and nematodes then sediment out differentially. After 10 min, the two flasks are separated and the lower one is inverted over a beaker of water for another 10 min. The contents of both flasks are then poured through a set of three sieves of 50-µm pore size. The second stage of the method described above for *Xiphinema* and *Longidorus* is then followed, but using a nylon sieve of 50-µm pore size instead of 110 µm.

Counting of nematodes can be done at 25× magnification for *Xiphinema* and *Longidorus* or 50× for *Trichodorus* and *Paratrichodorus*, but identification of species can only be done by a trained taxonomist at considerably higher magnification.

APPENDIX IV

Hot water treatment to control *Stenotarsonemus laticeps*

The bulbs should be immersed for 2 h in a water bath at 43.5 °C. The water may contain registered plant protection products.

APPENDIX V

Recommended certification standards for narcissus

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. The assessor should verify that the standards mentioned below are fulfilled.

Candidate nuclear stock

Records should show that the candidate nuclear-stock plant gave negative results for all pests in tests performed three times during two growing seasons and that no virus symptoms were seen for more than 2 years. The plant should show no symptom of pest attack. If these

verser la quantité d'eau nécessaire pour recouvrir les débris situés à la surface du tamis. Laisser reposer 24 h puis récupérer 25 mL à la base de l'entonnoir (ceci peut s'effectuer à l'aide d'un entonnoir se terminant par un tube de caoutchouc fermé par une pince) et examiner au grossissement ×25.

De nombreuses méthodes ont été décrites pour extraire les *Trichodorus* spp. et *Paratrichodorus* spp., plus petits (Hooper, 1986). La technique suivante de Seinhorst (1955) est simple mais efficace: préparer un sous-échantillon de 200 mL, par déplacement d'eau, avec 800 mL d'eau. Laisser le sous-échantillon tremper dans l'eau pendant environ 1 h, puis mélanger doucement. Laver le mélange sol/eau dans un tamis de maille 4 mm dans un entonnoir à large bec fermé par un bouchon. Lorsque tout le sol est passé par le tamis, enlever le bouchon en laissant le mélange passer dans un Erlenmeyer (conique) de 2 L à col large. Laver l'entonnoir avec un peu d'eau et remplir le flacon d'eau en éliminant la mousse qui s'accumule. Si on dispose d'un flacon ayant une ouverture de 35 mm de diamètre, l'entonnoir adéquat est utilisé; sinon, un petit entonnoir en plastique peut être attaché avec un manchon en caoutchouc. L'ouverture de l'entonnoir doit mesurer environ 12 mm pour permettre un taux adéquat de sédimentation/élutriation. En fermant l'orifice de l'entonnoir avec un doigt, secouer le flacon pour bien mélanger le contenu et le renverser sur un flacon identique rempli d'eau. L'orifice de l'entonnoir doit être juste immergé et le doigt immédiatement enlevé; les particules de sol et les nématodes sédimentent différemment. Après 10 min, les deux flacons sont séparés et celui du dessous est renversé au-dessus d'un béccher rempli d'eau pendant 10 min de plus. Les contenus des deux flacons sont alors passés par une série de trois tamis de maille 50 µm. Le deuxième stade de la méthode décrite ci-dessus pour *Xiphinema* et *Longidorus* est ensuite suivi, mais en utilisant un tamis en nylon de maille 50 µm au lieu d'un tamis de maille 110 µm.

Le comptage des nématodes peut se faire au grossissement ×25 pour *Xiphinema* et *Longidorus*, ou ×50 pour *Trichodorus* et *Paratrichodorus*, mais l'identification des espèces ne peut être réalisée que par un taxonomiste expérimenté à un grossissement bien supérieur.

ANNEXE IV

Traitement à l'eau chaude pour éliminer *Stenotarsonemus laticeps*

Les bulbes sont immergés pendant 2 h dans un bain à 43,5 °C. L'eau peut contenir des produits phytosanitaires choisis en fonction des homologations du pays.

ANNEXE V

Normes de certification recommandées pour le narcissé

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. 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 à trois reprises au cours de deux périodes de végétation et qu'aucun symptôme de virose n'a été observé pendant

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 all pests. The plant should show no symptom of pest attack. In particular, any stocks attacked by *S. laticeps* should be hot water treated (Appendix IV) and grown again for 2 years without symptoms (as candidate material) before they can be certified. 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 all propagation stock I plants gave negative results for all pests in their regular testing. No plant should show any symptom of pest attack. In particular, any stocks attacked by *S. laticeps* should be hot water treated (Appendix IV) and grown again for 2 years without symptoms (as candidate material) before they can be certified. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the lots concerned.

Propagation stock II

Plants should be inspected during the growing season at least twice in the year of harvest and, if the ownership of the bulbs is to change, after lifting the dry bulbs. If the incidence of pests exceeds the thresholds in Table 3, certification should be refused to the whole lot. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the lots concerned.

plus de 2 ans. 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 les tests effectués sur la plante candidate ont été négatifs pour tous les organismes nuisibles concernés. La plante ne doit présenter de symptômes d'organismes nuisibles. En particulier, tout matériel infesté par *S. laticeps* doit être traité à l'eau chaude (Annexe IV) et cultivé pendant 2 années supplémentaires sans présenter de symptômes (en tant que candidat) avant de pouvoir être certifié. 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 doivent montrer que les tests sont négatifs pour tous les organismes nuisibles concernés. Aucune plante ne doit présenter de symptômes d'organismes nuisibles. En particulier, tout matériel infesté par *S. laticeps* doit être traité à l'eau chaude (Annexe IV) et cultivé pendant 2 années supplémentaires sans présenter de symptômes (en tant que candidat) avant de pouvoir être certifié. Si ces conditions ne sont pas respectées lors de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux lots concernées.

Propagation stock II

Les plantes seront inspectées au cours de la période de végétation au moins deux fois au cours de l'année de la récolte, et, si la propriété des bulbes vient à changer, ils seront inspectés après l'arrachage des bulbes s. Si la présence d'organismes nuisibles dépasse les seuils définis dans le Tableau 3, la certification sera refusée à l'ensemble du lot. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux lots concernées.

Table 3 Recommended tolerance levels at visual inspection of narcissus for propagation stock II. 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 narcisse pour le stade de propagation II. 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	
	Growing season inspection/Inspection pendant la période de végétation	Dry bulb inspection/Inspection des bulbes secs
Severe virus symptoms/Symptômes sévères de virus	0.05	N.a.
Mild virus symptoms/Symptômes légers de virus	0.5	N.a.
Rots/Pourritures (<i>Sclerotinia</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i>)	N.a.	0.5
<i>Botryotinia narcissicola</i>	0.5	N.a.
Sclerotia on bulbs/Scléroties sur les bulbes	N.a.	Not more than 4.5% with three or more/Pas plus de 4,5% avec trois ou plus
<i>Ditylenchus dipsaci</i> , <i>Dysaphis tulipae</i> , <i>Stenotarsonemus laticeps</i>	0	0
<i>Eumerus</i> spp.	N.a.	0.5
<i>Merodon equestris</i>	N.a.	0
Visible off-types/Non conformes au type	1	1
Other pests/Autres organismes nuisibles	Substantially free/Pratiquement indemne	Substantially free/Pratiquement indemne

N.a., not applicable/Ne s'applique pas.

Table 4 Recommended tolerance levels at visual inspection of narcissus for propagation stock III
Tolérances recommandées lors des inspections visuelles du narcisse pour le stade de propagation III

Pests/Organisme nuisibles	% plants/plantes	
	Growing season inspection/Inspection pendant la période de végétation	Dry bulb inspection/Inspection des bulbes secs
Severe virus symptoms/Symptômes sévères de virus	2	N.a.
Bulb rots/Pourriture des bulbes	N.a.	2
<i>Botryotinia narcissicola</i>	2	N.a.
Sclerotia on bulbs/Sclérotés sur bulbes	N.a.	Not more than 4.5% with three or more/Pas plus de 4,5% avec trois ou plus
<i>Ditylenchus dipsaci</i>	0	0
<i>Eumerus</i> spp.	N.a.	2
<i>Merodon equestris</i>	N.a.	0
<i>Stenotarsonemus laticeps</i>	N.a.	5
Visible off-types/Non conformes au type	1	1

N.a., not applicable/Ne s'applique pas.

Propagation stock III

Plants should be inspected during the growing season at least twice in the year of harvest and after lifting the dry bulbs. If the incidence of the pest and diseases exceeds the thresholds in Table 4, certification should be refused to the whole lot. Lots which have been refused certification because these thresholds are exceeded may be resubmitted for certification after having infected plants or bulbs removed. At dry bulb inspection, any stocks attacked by *S. laticeps* should be treated and inspected again. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the lots concerned.

References/Références

- Brunt A (1977) Bulb crops; narcissus. *Report of Glasshouse Crops Research Institute* **1976**, 12–13.
- Brunt A (1998) Chapter 29, bulbs and corm crops; narcissus. In: *Virus and Virus-Like Diseases of Bulb and Flower Crops* (Ed. by G Loebenstein, RH Lawson & A Brunt), pp. 322–324. Wiley, Chichester (GB).
- Clark MF & Adams AN (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* **34**, 475–483.
- Flegg JJM (1967) Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting and sieving technique. *Annals of Applied Biology* **60**, 429–437.
- Hill SA & Blunt S (1985) Detection of two viruses infecting narcissus by enzyme-linked immunosorbent assay. *Plant Pathology* **34**, 472–476.

Propagation stock III

Les plantes seront inspectées au cours de la période de végétation au moins deux fois au cours de l'année de la récolte, et, si la propriété des bulbes vient à changer, ils seront inspectés après l'arrachage des bulbes secs. Si la présence d'organismes nuisibles dépasse les seuils définis dans le Tableau 4, la certification sera refusée à l'ensemble du lot. Les lots pour lesquels la certification a été refusée en raison du dépassement des seuils de tolérance peuvent être soumis à nouveau à la certification après élimination des plantes ou des bulbes contaminés. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux lots concernés.

- Hooper DJ (1986) Extraction of free-living stages from soil. In: *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes* (Ed. by JF Southey). HMSO, London (GB).
- Milne RG & Luisoni E (1977) Rapid immune electron microscopy of virus preparations. In: *Methods in Virology* (Ed. by K Maramorosch & H Koprowski), Vol. VI, pp. 265–281. Academic Press, New York (US).
- OEPP/EPPO (1991) Recommendations made by EPPO Council. General scheme for the production of certified pathogen-tested vegetatively propagated ornamental plants. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **21**, 757.
- Seinhorst JW (1955) [A method for the extraction of nematodes from soil.]. *Tijdschrift voor Plantenziekten* **61**, 188–190 (in Dutch).