

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 4/20(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 New Guinea hybrids of impatiens
Schéma de certification pour les impatiens hybrides de Nouvelle-Guinée

Specific scope

This standard describes the production of certified pathogen-tested material of New Guinea hybrids of impatiens.

Specific approval and amendment

First approved in 1997-09.

Revision approved in 2000-09.

Champ d'application spécifique

Cette norme décrit la production de matériel de cultivars hybrides de Nouvelle-Guinée d'impatiens soumis à une certification sanitaire.

Approbation et amendement spécifiques

Approbation initiale en 1997-09.

Révision approuvée en 2000-09.

The scheme is presented according to the general sequence proposed by the EPPO Panel on Certification of Pathogen-tested Ornamentals and adopted by EPPO Council (OEPP/EPPO, 1991). It gives details, for the different steps of certification, of the operations to be carried out on the crop in the nursery, including tests and visual inspections, to ensure that defined health standards required for the certification are met, and also defines those health standards. Certified material of impatiens New Guinea hybrids 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 New Guinea hybrid cultivars of impatiens. The candidate material may be new cultivars, good-quality material of existing cultivars or meristem-tip cultures of any of these (regenerated cultivars). Material imported from outside the EPPO region should be inspected and, if appropriate, tested under quarantine for all EPPO quarantine pests of impatiens 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.

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

Ce schéma est présenté selon le plan général proposé par le Groupe d'experts OEPP sur la certification sanitaire des plantes ornementales et adopté par le Conseil de l'OEPP (OEPP/EPPO, 1991). Il donne des détails, pour les différentes étapes de la certification, sur les opérations qui doivent être effectuées en pépinière, y compris les tests et les inspections visuelles, pour garantir que le matériel soit conforme aux normes sanitaires; ces normes sont également définies dans ce schéma. Le matériel certifié d'impatiens hybrides de Nouvelle-Guinée 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 hybrides de Nouvelle-Guinée d'impatiens. Le matériel candidat peut correspondre à de nouveaux cultivars, à du matériel de qualité appartenant à des cultivars déjà existants ou à des cultures de méristèmes de tous ceux-ci (cultivars régénérés). Le matériel importé de l'extérieur de la région OEPP doit être inspecté et, le cas échéant, testé en quarantaine, par des méthodes recommandées par l'OEPP, pour tous les organismes de quarantaine OEPP de l'impatiens présents naturellement dans la région d'origine, et généralement inspecté ou, le cas échéant, testé pour détecter tout autre organisme nuisible.

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

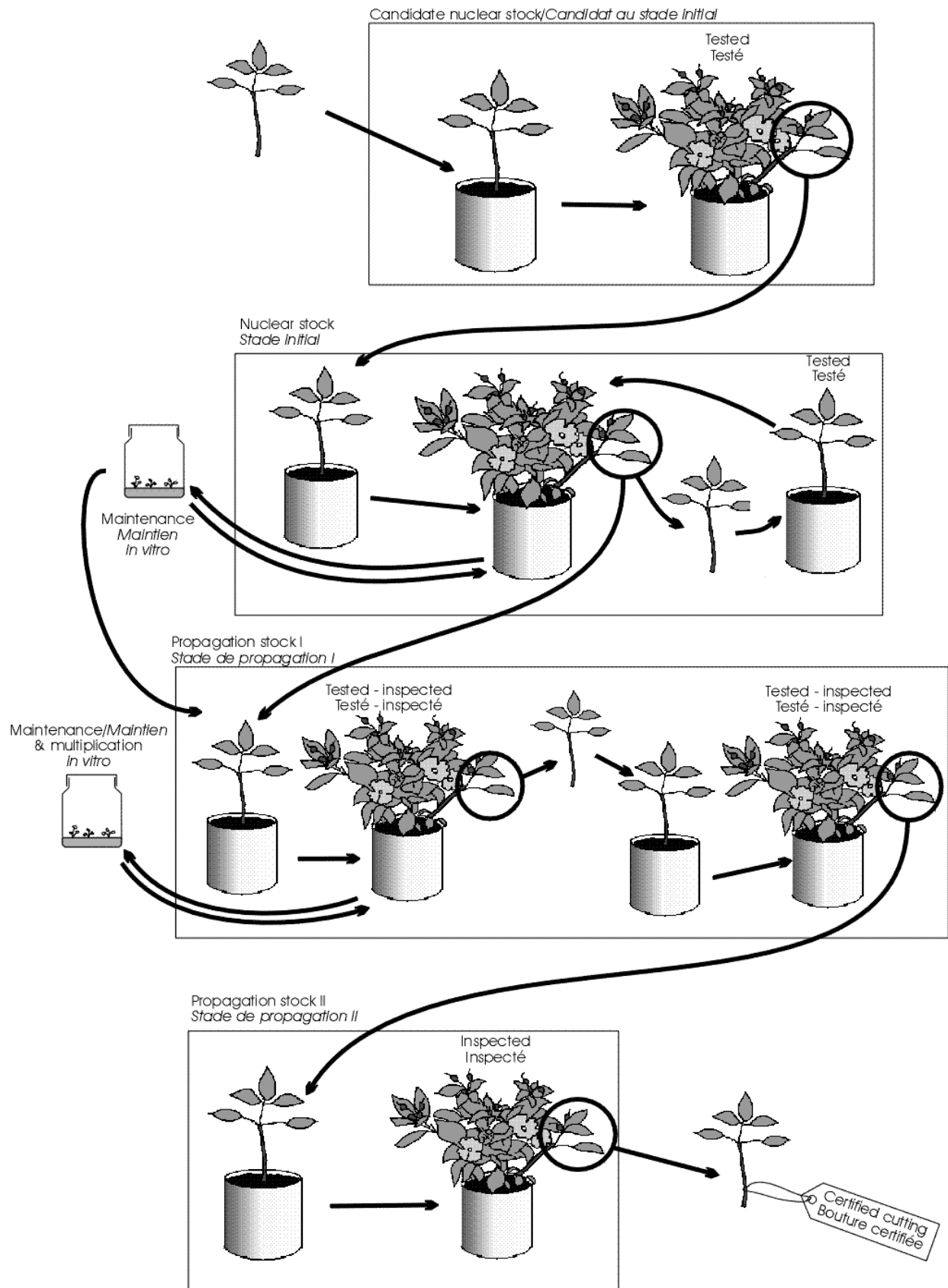


Fig. 1 Diagram of the stages in the impatiens certification scheme
 Diagramme des stades du schéma de certification de l'impatiens

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, with as far as possible precautions to exclude thrips, separately from the nuclear stock) where they can be observed and tested. All plants should be grown in individual pots in soil-free or sterilized growing medium, avoiding contact between plants and with strict precautions against infection by *Pseudomonas syringae*. Adequate control of *Botryotinia fuckeliana*, *Thanatephorus cucumeris*, *Pythium* spp., thrips (mainly *Frankliniella occidentalis*), whiteflies, aphids and mites should be ensured.

2.2 Testing requirements

All plants should be individually tested for the following pests:

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV);
Impatiens necrotic spot tospovirus (INSV);
Turnip mosaic potyvirus (TuMV), *Clover yellow vein potyvirus* (CIYVV) and other potyviruses;
Tobacco mosaic tobamovirus (TMV);
Tobacco mild green mosaic tobamovirus (TMGMV);
Ribgrass mosaic tobamovirus (RMV);
Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV).

Of these viruses, the most severe, causing the most difficulties in crops, are the thrips-transmitted viruses, TSWV and INSV. CMV and potyviruses¹, which are aphid-transmitted, occur only occasionally in New Guinea hybrids. These may also be infected by different tobamoviruses, such as TMV, TMGMV and RMV, which are mechanically transmitted and spread between plants by contact, by man and by contaminated implements during cultural operations. TSWV and INSV may cause latent infections, whereas the symptoms caused by the other viruses are always clearly visible. Recommended tests 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.

2.3 Promotion to nuclear stock

The plants that give negative results in all tests and inspections are used to produce nuclear-stock plants by cuttings. Before material from any plant may be transferred to the nuclear-stock conditions, its promotion should be authorized by the official organization, after verifying that all required tests and observations have been performed with negative results. Recommended certification standards are given in Appendix III.

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

2. Maintien et test des plantes candidates au stade initial

2.1 Conditions de culture

Les plantes candidates au stade initial doivent être mises en quarantaine (c'est-à-dire placées dans un abri aphid-proof conçu et réservé à cet usage, en prenant autant que possible des précautions pour exclure les thrips, séparément du stade initial) pour être observées et testées. Toutes les plantes doivent être cultivées dans des pots individuels contenant un substrat sans sol ou stérilisé, en évitant le contact entre les plantes et en prenant des précautions strictes afin d'éviter la contamination par *Pseudomonas syringae*. Des mesures de lutte adéquates doivent être prises contre *Botryotinia fuckeliana*, *Thanatephorus cucumeris*, *Pythium* spp., les thrips (principalement *Frankliniella occidentalis*), les aleurodes, les pucerons et les acariens.

2.2 Exigences relatives aux tests

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

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV);
Impatiens necrotic spot tospovirus (INSV);
Turnip mosaic potyvirus (TuMV), *Clover yellow vein potyvirus* (CYVV) et autres potyvirus;
Tobacco mosaic tobamovirus (TMV);
Tobacco mild green mosaic tobamovirus (TMGMV);
Ribgrass mosaic tobamovirus (RMV);
Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV).

Parmi ces virus, les virus transmis par les thrips, le TSWV et l'INSV, sont les plus sérieux et ceux qui posent le plus de problèmes dans les cultures. Le CMV et les potyvirus¹ sont transmis par les pucerons et sont présents seulement occasionnellement sur impatiens. Les hybrides de Nouvelle-Guinée peuvent être infectés par différents tobamovirus comme le TMV, le TMGMV ou le RMV. Ces virus sont transmis mécaniquement et sont disséminés entre les plantes par contact, par l'homme et par le matériel contaminé au cours des opérations culturales. Le TSWV et l'INSV peuvent provoquer des infections latentes sur impatiens, alors que les symptômes des autres virus sont toujours clairement visibles. 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.

2.3 Promotion au stade initial

Les plantes qui donnent des résultats négatifs pour tous les tests et inspections peuvent être promues au stade initial ou utilisées pour produire des plantes du stade initial par bouturage. Avant qu'une plante, ou tout matériel issu de celle-ci, ne soit transférée dans les conditions du stade initial, sa promotion doit être autorisée par l'organisation officielle, après avoir vérifié que tous les tests et inspections exigés ont été effectués et ont donné des résultats négatifs. Les normes de certification recommandées figurent à l'Annexe III.

¹Les potyvirus susceptibles de contaminer l'impatiens ne sont pas encore clairement identifiés, et ils sont donc considérés comme un groupe dans ce schéma.

If no pathogen-free plants are obtained, vigorous plants from the selected material may be 'regenerated' by heat treatment and/or meristem-tip culture. The progeny should then pass the whole above procedure before it qualifies as nuclear stock.

3. Maintenance of the nuclear stock

3.1 Growing conditions

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

3.2 Testing requirements

The plants should be individually tested for TSWV and INSV and preferably also randomly tested for CMV, potyviruses and tobamoviruses. They should be visually inspected, specifically for CMV, potyviruses, tobamoviruses and *T. cucumeris*, and generally for the presence of any pest. Any plant found to be infected, by testing or by visual examination, should be immediately eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled.

Cuttings taken from nuclear-stock plants can also be considered as nuclear stock, provided that they do not leave the nuclear-stock conditions² and are individually retested at least for TSWV and INSV, and visually inspected specifically for CMV, potyviruses, tobamoviruses and *T. cucumeris*. Plants transferred from *in vitro* culture to pots should also be tested for TSWV and INSV and visually inspected specifically for CMV; however, since testing individual plantlets *in vitro* is impractical, all *in vitro* plantlets within a clone derived from a single meristem can be tested in bulk. A careful control of trueness to type is also necessary.

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

²They 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.

Si on n'a pas obtenu de plantes indemnes de pathogènes, des plantes vigoureuses du matériel sélectionné peuvent être 'régénérées' par thermothérapie et/ou culture de méristèmes. La descendance doit ensuite subir l'ensemble de la procédure ci-dessus avant d'être qualifiée de matériel initial.

3. Maintien du stade initial

3.1 Conditions de culture

Lorsque les boutures prises sur le matériel candidat sont plantées, elles deviennent les plantes du stade initial. Le stade initial peut être maintenu *in vitro* (mais sans être multiplié), et, sous cette forme, il pourra conserver le même statut dans le schéma. Sinon, les plantes du matériel initial doivent être conservées dans un abri conçu pour cet usage (en prenant autant que possible des précautions pour exclure les thrips) et ne contenant que des plantes du stade initial. Elles doivent être placées dans les mêmes conditions de culture et avec les mêmes précautions contre l'infection que les plantes candidates au stade initial (voir point 2 ci-dessus). Un programme de lutte doit être appliqué contre les insectes. Un contrôle de l'authenticité variétale doit également être effectué en cultivant les plantes du stade initial, ou des boutures prises sur ces plantes, jusqu'à la floraison. Il peut être nécessaire que la floraison ait lieu à un endroit différent pour éviter le risque d'infection.

La durée de vie utile d'une plante d'impatiens du stade initial ne dépasse généralement pas 12 mois.

3.2 Exigences relatives aux tests

Les plantes doivent être testées individuellement pour le TSWV et l'INSV et de préférence aussi testées par sondage pour le CMV, les potyvirus et les tobamovirus. Les plantes doivent être inspectées visuellement, spécifiquement pour le CMV, les potyvirus, les tobamovirus et *T. cucumeris*, et généralement pour détecter la présence de tout autre organisme nuisible. Toute plante trouvée contaminée, à la suite de tests ou d'inspections visuelles, doit être immédiatement éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace.

Les boutures prélevées sur les plantes du stade initial peuvent aussi être considérées comme faisant partie du stade initial, à condition qu'elles ne quittent pas les conditions du stade initial² et qu'elles soient retestées individuellement au moins pour le TSWV et l'INSV, et inspectées visuellement pour le CMV, les potyvirus, les tobamovirus et *T. cucumeris*. Les plantes transférées de culture *in vitro* en pot doivent également être testées pour le TSWV et l'INSV, et inspectées visuellement pour le CMV; cependant, les jeunes vitro-plants ne peuvent pas dans la pratique être testés individuellement, donc tous les vitro-plants d'un clone issus d'un même méristème sont testés comme une entité distincte. L'authenticité variétale doit également être soigneusement vérifiée.

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

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

organization on the basis of records of the tests and observations performed during production, and of one or more certification (visual) inspections. Recommended certification standards are given in Appendix III. If propagating material from nuclear stock leaves the scheme, it may be labelled as 'pre-basic' material.

4. Propagation stock I

4.1 Growing conditions

Cuttings taken from the nuclear-stock plants when planted become propagation stock I. The plants should be kept in isolated houses, with precautions to exclude aphids and thrips, separate from any other plants that are not at an equivalent stage in the certification scheme or any similar certification scheme. They should be grown either in individual containers or in a system of small growing units ensuring adequate isolation. General precautions against pests should be maintained. A control programme against insects should be applied. Propagation stock I may also be maintained and multiplied *in vitro* and in this form will retain the same status in the scheme.

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

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

4.2 Testing requirements

The plants should be randomly tested for TSWV and INSV. Any plant giving a positive result at random testing should be eliminated and recorded. In the case of a positive test result, all plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit) should be individually tested. All plants giving a positive result should be eliminated. 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.

4.3 Certification

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

en se basant sur les documents relatifs aux tests et aux observations réalisés pendant la production, et sur une ou plusieurs inspections (visuelles) de certification. Les normes de certification recommandées figurent à l'Annexe III. Si du matériel du stade initial quitte le schéma, il peut être appelé 'matériel de pré-base'.

4. Stade de propagation I

4.1 Conditions de culture

Lorsque les boutures prélevées sur des plantes du stade initial sont plantées, elles deviennent le stade de propagation I. Les plantes doivent être placées dans des abris isolés, séparément de toute autre plante ne se trouvant pas à un stade équivalent du schéma de certification, ou de tout schéma de certification similaire, et avec des précautions pour exclure les pucerons et les thrips. Elles peuvent être cultivées soit en conteneurs individuels, soit dans un système de petites unités de culture garantissant un bon isolement. Des précautions générales contre les organismes nuisibles doivent être maintenues. Un programme de lutte doit être appliqué contre les insectes. Le stade de propagation I peut être maintenu et multiplié *in vitro* et, sous cette forme, il pourra conserver le même statut dans le schéma.

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

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

4.2 Exigences relatives aux tests

Des plantes doivent être prélevées par sondage et testées pour le TSWV et l'INSV. Toute plante présentant un résultat positif aux tests doit être éliminée et répertoriée. En cas de résultat positif, toutes les plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) doivent être testées individuellement. Toutes les plantes positives doivent être éliminées. 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.

4.3 Certification

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

5. Propagation stock II (production of certified cuttings)

5.1 Growing conditions

Cuttings taken from the propagation-stock I plants, when planted, become the propagation stock II, from which the certified cuttings are taken. They are grown in glasshouses with precautions to exclude insects, separately from nuclear and propagation stock I. General precautions against pests should be maintained.

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

5.2 Testing requirements

The plants should be visually inspected regularly specifically for the pests listed under point 2 above (i.e. CMV, potyviruses, tobamoviruses, TSWV and INSV) and, generally, for the presence of any pest. Any plant found to be infected by any pest should be eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled.

5.3 Certification

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

6. Execution and administration of the certification scheme

6.1 Execution of the scheme

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

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

5.1 Conditions de culture

Lorsque les boutures prélevées sur des plantes du stade de propagation I sont plantées, elles deviennent le stade de propagation II sur lequel les boutures certifiées sont prises. Elles sont cultivées en serre avec des précautions pour exclure les insectes, et séparément du stade initial et du stade de propagation I. Des précautions générales contre les organismes nuisibles doivent être maintenues.

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

5.2 Exigences relatives aux tests

Les plantes doivent être inspectées visuellement, spécifiquement pour les organismes nuisibles listés au point 2 ci-dessus (c'est-à-dire le CMV, les potyvirus, les tobamovirus, le TSWV et l'INSV), et généralement pour détecter la présence de tout autre organisme nuisible. Toute plante trouvée contaminée doit être éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace.

5.3 Certification

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

6. Exécution et administration du schéma de certification

6.1 Exécution du schéma

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

6.2 Control on the use and status of certified material

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

APPENDIX I

Tests and inspections for impatiens New Guinea hybrids

The tests and inspections for impatiens New Guinea hybrids are summarized in Table 1.

APPENDIX II

Guidelines for impatiens New Guinea hybrid viruses in a certification scheme

Procedures for each virus

Tomato spotted wilt virus (TSWV), Impatiens necrotic spot virus (INSV)

Visual inspection may provide some indication of symptoms (leaf distortion, malformation, blotches, chlorosis and necrosis on leaves) and this is sufficient for propagation stock II. However, nuclear stock (individual tests) and propagation stock I (random testing) should be tested either by inoculation to *Nicotiana benthamiana* or *Nicotiana occidentalis* P1, or by ELISA.

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV)

This virus causes narrowing of the leaf blade and crinkling of the leaf margin. Cultivars with light green leaves show mottling which is not visible in cultivars producing red or dark green leaves. Furthermore, internodes are shortened, thus changing the appearance of the whole plant. Flowers may show malformation and discoloration, and the duration of the flowering period is shortened. Candidate nuclear-stock plants should be tested by either inoculation to *Chenopodium quinoa* or ELISA. Because of the clear symptom expression, all other certification stages may be visually inspected, but it is advisable to perform random testing of nuclear stock.

Potyvirus

In plants infected with TuMV or CIYVV, virus symptoms are expressed only on leaves. Discoloration and blotches may be seen on the upper and lower surfaces of the leaves, which may be dark red in cultivars producing reddish leaves and dark green in cultivars with green leaves. Leaves also show malformation and puckering between the veins. Only parts of the infected plants may show symptoms. Symptoms are more clearly visible during summer. The symptoms of other potyviruses are generally similar. Candidate nuclear-stock plants should be tested

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

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

ANNEXE I

Tests et inspections pour les impatiens

Les tests et inspections pour détecter les organismes nuisibles des impatiens hybrides de Nouvelle-Guinée sont résumés au Tableau 1.

ANNEXE II

Directives pour les virus des impatiens hybrides de Nouvelle-Guinée dans le schéma de certification

Procédures pour chaque virus

Tomato spotted wilt virus (TSWV), Impatiens necrotic spot virus (INSV)

L'inspection visuelle peut permettre d'observer des symptômes (distorsion des feuilles, déformations, marbrures, chlorose et nécrose sur les feuilles) et cela est suffisant pour les contrôles effectués au stade de propagation II. Par contre, le stade initial (tests individuels) et le stade de propagation I (tests par sondage) doivent être testés soit par inoculation sur *Nicotiana benthamiana* ou *Nicotiana occidentalis* P1, soit par ELISA.

Cucumber mosaic cucumovirus (CMV)

Ce virus provoque le rétrécissement du limbe foliaire et le gaufrage du bord des feuilles. Les cultivars à feuilles vert pâle présentent des marbrures qui n'apparaissent pas chez les cultivars à feuilles rouges ou vert sombre. Par ailleurs, les entre-noeuds sont raccourcis et l'allure générale de la plante est donc modifiée. Les fleurs peuvent présenter des déformations et une coloration anormale, et la durée de la période de floraison est réduite.

Les plantes candidates au stade initial doivent être testées par inoculation sur *Chenopodium quinoa* ou par ELISA. Les symptômes s'expriment clairement et tous les autres stades de la certification peuvent donc être inspectés visuellement, mais il est toutefois conseillé d'effectuer des tests par sondage sur les plantes du stade initial.

Potyvirus

Les symptômes sur les plantes infectées par le TuMV ou le CIYVV s'expriment uniquement sur les feuilles. On peut observer une coloration anormale et des marbrures aux faces supérieure et inférieure des feuilles; ces taches peuvent être rouge sombre sur les cultivars produisant des feuilles rougeâtres, et vert sombre sur les cultivars à feuilles vertes. Les feuilles présentent également des déformations et des plissements entre les nervures. Les symptômes sont parfois visibles uniquement sur certaines parties des plantes infectées. Ils sont plus nets

Table 1 Summary of tests and inspections for impatiens New Guinea hybrid pests at different stages of the scheme
Résumé des tests et des inspections pour détecter les organismes nuisibles des impatiens hybrides de Nouvelle-Guinée aux différents stades du schéma

Pests/Organismes nuisibles	Candidate nuclear stock/ Candidat au stade initial	Nuclear stock/ Stade initial	Propagation stock I/ Stade de propagation I	Propagation stock II/ Stade de propagation II
TSWV, INSV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>Nicotiana benthamiana</i> or <i>Nicotiana occidentalis</i> PI/Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>N. benthamiana</i> ou <i>N. occidentalis</i> PI	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>N. benthamiana</i> or <i>N. occidentalis</i> PI/Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>N. benthamiana</i> ou <i>N. occidentalis</i> PI	Random testing by ELISA or biological testing on <i>N. benthamiana</i> or <i>N. occidentalis</i> PI/Test par sondage par ELISA ou test biologique sur <i>N. benthamiana</i> ou <i>N. occidentalis</i> PI	Visual inspection/ Inspection visuelle
CMV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>Chenopodium quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Visual inspection and preferably also random testing/Inspection visuelle et de préférence aussi test par sondage	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/ Inspection visuelle
TMV, TMGMV, RMV	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>N. tabacum</i> cv. Samsun/Test individuel par ELISA ou test biologique et de préférence aussi test par sondage sur <i>N. tabacum</i> cv. Samsun	Visual inspection and preferably also random testing/Inspection visuelle et de préférence aussi test par sondage	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/ Inspection visuelle
Potyvirus/ Potyvirus	Individual testing by ELISA or biological testing on <i>C. quinoa</i> /Test individuel par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i>	Visual inspection and preferably also random testing/Inspection visuelle et de préférence aussi test par sondage	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/ Inspection visuelle
Other pests/Autres organismes nuisibles	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/ Inspection visuelle

either by inoculation to *C. quinoa* or by ELISA using a broad-range antiserum against potyviruses. Because of the clear symptom expression, all other certification stages may be visually inspected, but it is advisable to perform random testing of nuclear stock.

Tobamoviruses

The symptoms of infected plants are stunting of the whole plant, reduction of flower formation and chlorosis and necrosis on leaves. Candidate nuclear stock should be tested either by inoculation to *Nicotiana tabacum* cv. Samsun or by ELISA, using a mixed antiserum against TMGMV and TMV. Because of the clear symptom expression, all other certification stages may be visually inspected, but it is advisable to perform random testing of nuclear stock.

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 following indicator plants can be used for detecting viruses of impatiens New Guinea hybrids: *C. quinoa*, CMV, potyviruses; *N. benthamiana*, *N. occidentalis* P1, INSV, TSWV; *N. tabacum* cv. Samsun, TMV, TMGMV, RMV.

Production of indicator plants

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

Mechanical inoculation

The extraction can be performed using a standard buffer (e.g. Tris or phosphate, pH 7). The leaves to be inoculated should be dusted with carborundum powder (400 mesh), then two fingers should be dipped into the inoculum and rubbed over the leaf surface. Inoculation may also be done by means of cotton wool, but this is less sensitive. At least two leaves per plant and one plant per sample should be inoculated. The leaves should be washed with tap water immediately after inoculation and the plants placed, carefully labelled, in a glasshouse at about 20 °C for at least 3 weeks, ensuring that the individual pots are placed so as to prevent any contact between plants.

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

Observation of symptoms on indicator plants

TSWV, INSV: systemic necrosis 1 week after inoculation on *N. occidentalis* P1; wilting and collapse of plants after 7–10 days on *N. benthamiana*.

CMV: orange-coloured local lesions after 5–8 days.

TMV, TMGMV, RMV: mosaic, chlorosis, necrosis 1 week after inoculation.

Potyviruses: mosaic, chlorosis, necrosis 1 week after inoculation.

pendant l'été. Les symptômes des autres potyvirus sont généralement similaires. Les plantes candidates au stade initial doivent être testées par inoculation sur *C. quinoa* ou par ELISA à l'aide d'un antiserum à large spectre contre les potyvirus. Les symptômes s'expriment clairement et tous les autres stades de la certification peuvent donc être examinés visuellement, mais il est toutefois conseillé d'effectuer des tests par sondage sur les plantes du stade initial.

Tobamovirus

Les symptômes sur les plantes infectées sont le rabougrissement de la plante, la diminution de la formation des fleurs, ainsi que la chlorose et la nécrose des feuilles. Les plantes candidates au stade initial doivent être testées par inoculation sur *Nicotiana tabacum* cv. Samsun ou par ELISA, à l'aide d'un mélange d'antisérum contre le TMGMV et le TMV. Les symptômes s'expriment clairement et tous les autres stades de la certification peuvent donc être examinés visuellement, mais il est toutefois conseillé d'effectuer des tests par sondage sur les plantes du stade initial.

Inoculation à 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 suivantes peuvent être utilisées pour détecter les virus des impatiens hybrides de Nouvelle-Guinée: *C. quinoa*, CMV, potyvirus; *N. benthamiana*, *N. occidentalis* P1, TSWV, INSV; *N. tabacum* cv. Samsun, TMV, TMGMV, RMV.

Production des plantes indicatrices

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

Inoculation mécanique

L'extraction peut être réalisée avec un tampon standard (par ex. Tris ou phosphate, pH 7). Saupoudrer les feuilles de 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

TSWV, INSV: nécrose systémique 1 semaine après inoculation sur *N. occidentalis* P1; flétrissement et affaissement des plantes après 7–10 jours sur *N. benthamiana*.

CMV: lésions locales orangées après 5–8 jours.

TMV, TMGMV, RMV: mosaïque, chlorose, nécrose 1 semaine après inoculation.

Potyvirus: mosaïque, chlorose, nécrose 1 semaine après inoculation.

ELISA testing for viruses

ELISA can be performed for TSWV, INSV, CMV, potyviruses and tobamoviruses. The testing should be done by DAS-ELISA (double-antibody sandwich). Samples should be prepared following a standard method. All stages of the ELISA test should be performed according to the published procedures or by following the instructions accompanying the proprietary reagents.

APPENDIX III**Recommended certification standards for impatiens New Guinea hybrids**

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

Candidate nuclear stock

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

Nuclear stock

Records should show that all nuclear-stock plants were tested and gave negative results for TSWV and INSV. Any plants tested for CMV, potyviruses or tobamoviruses should have given a negative result. No plant may show any symptom of fungal, bacterial or viral disease. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the plants concerned.

Propagation stock I

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

Propagation stock II

Visual inspection at certification should show that the incidence of pests in each lot does not exceed the thresholds in Table 2. If these conditions are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the lots concerned.

Test ELISA pour les virus

La méthode ELISA peut être utilisée pour détecter le TSWV, l'INSV, le CMV, les potyvirus et les tobamovirus. Le test ELISA peut être effectué par une méthode DAS-ELISA (double-antibody sandwich). Les échantillons peuvent être préparés selon une méthode standard. Les étapes du test ELISA doivent être effectuées conformément aux procédures publiées ou aux instructions accompagnant les réactifs disponibles dans le commerce.

ANNEXE III**Normes de certification recommandées pour les impatiens hybrides de Nouvelle-Guinée**

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

Candidat au stade initial

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

Stade initial

Pour toutes les plantes du matériel initial les résultats des contrôles doivent être négatifs pour le TSWV et l'INSV. Pour toutes les plantes contrôlées pour le CMV, les potyvirus et les tobamovirus, les résultats des tests doivent être négatifs. Aucune plante ne doit présenter des symptômes de maladie fongique, bactérienne, ou virale. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux plantes concernées.

Stade de propagation I

Les résultats des tests effectués par sondage pour le TSWV et l'INSV doivent être négatifs, ou, si des résultats positifs ont été obtenus, il faut démontrer que les autres plantes du groupe dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) ont été testées et que les plantes infectées ont été éliminées. L'inspection visuelle de certification doit montrer que l'incidence des organismes nuisibles dans chaque lot ne dépasse pas les seuils du Tableau 2. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux lots concernés.

Propagation stock II

L'inspection visuelle de certification doit montrer que l'incidence des organismes nuisibles dans chaque lot ne dépasse pas les seuils du Tableau 2. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux lots concernés.

Table 2 Recommended tolerance levels at visual inspection of impatiens New Guinea hybrids. 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 des impatiens hybrides de Nouvelle-Guinée. Un lot de plantes, issues d'une seule plante du stade initial, peut rester dans le schéma à condition que son niveau d'infection constaté lors de l'inspection de certification ne dépasse pas les seuils de tolérance donnés

Pests/Organismes nuisibles	% plants/plantes	
	Propagation stock I/ Stade de propagation I	Propagation stock II/ Stade de propagation II
TSWV	0	0
INSV	0	0
CMV	0	0
TMV, TMGMV, RMV	0	0
Potviruses/Potyvirus	0	0
Other fungal and bacterial pathogens/ Autres champignons et bactéries pathogènes	1	2
Other pests/Autres organismes nuisibles	Substantially free/Pratiquement indemne	Substantially free/Pratiquement indemne