

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 4/2(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 carnation
Schéma de certification pour l'oeillet

Specific scope

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

Specific approval and amendment

First approved in 1990-09.

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 carnation 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 *Dianthus caryophyllus* and its hybrids. The candidate material may be new cultivars, good-quality material of existing cultivars or meristem-tip cultures of any of these (regenerated cultivars) and also hybrid seeds. In general, existing cultivars will need to pass through meristem-tip culture to eliminate most of the common pests. Material imported from outside the EPPO region should be inspected and, if appropriate, tested under quarantine for all EPPO quarantine pests of carnation 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.

Champ d'application spécifique

Cette norme décrit la production de matériel d'oeillet soumis à une certification sanitaire.

Approbation et amendement spécifiques

Approbation initiale en 1990-09.

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 d'oeillet 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 *Dianthus caryophyllus* et ses hybrides. 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), ainsi qu'à des hybrides directement issus de semis. En général les cultivars existants seront régénérés par culture de méristème afin d'éliminer les principaux organismes nuisibles. 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'oeillet 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.

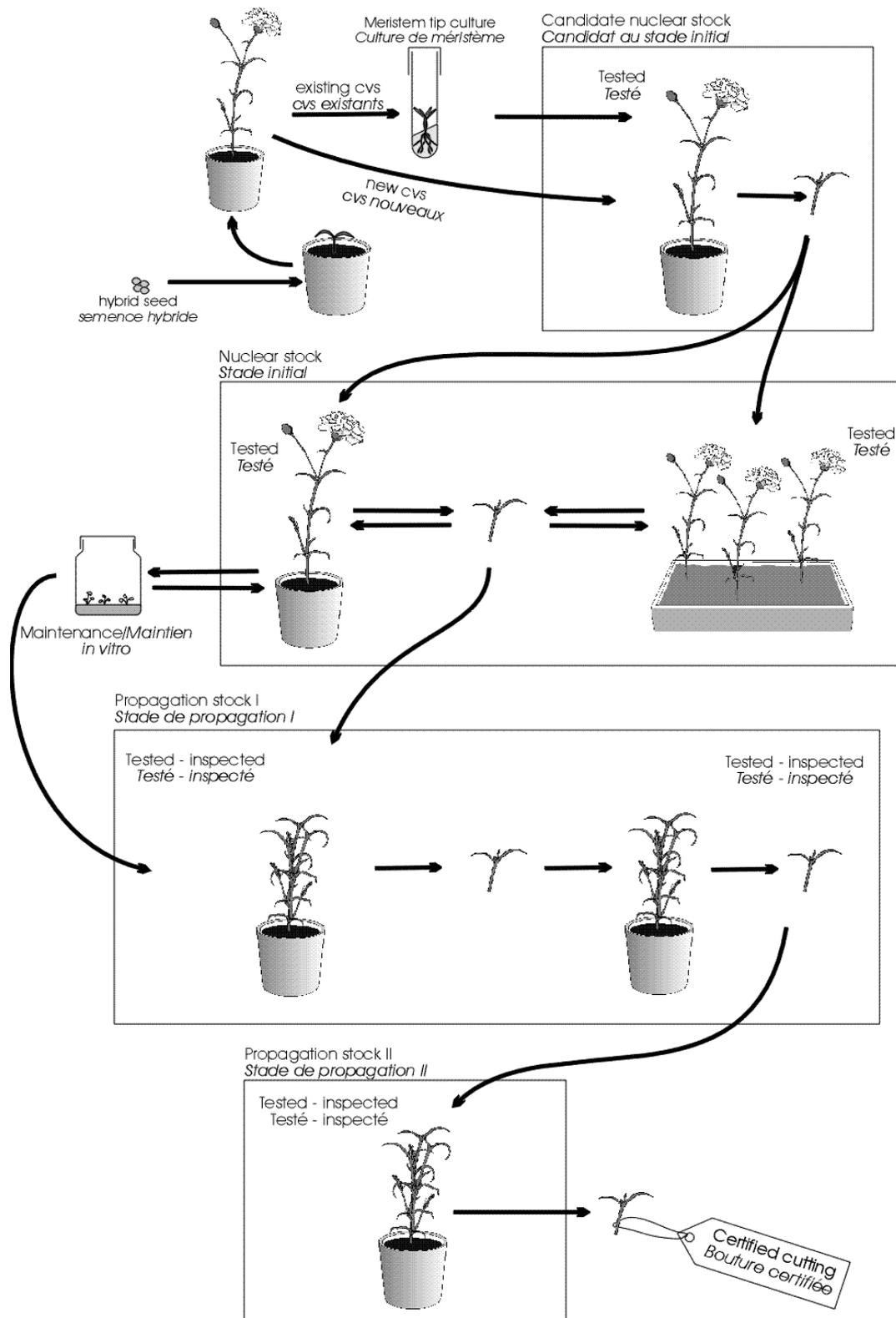


Fig. 1 Diagram of the stages in the carnation certification scheme.
 Diagramme des stades du schéma de certification de l'oeillet.

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 glasshouse, separately from the nuclear stock) where they can be observed and tested. All plants should be grown in individual pots in sterilized growing medium, avoiding contact between plants and with strict precautions against infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Phialophora cinerescens*, *Burkholderia caryophylli* and *Erwinia chrysanthemi*.

2.2 Testing requirements

All plants should be individually tested for the following pests, at the time and frequency in Appendix I:

Carnation etched ring caulimovirus (CERV);
Carnation latent carlavirus (CLV);
Carnation mottle carmovirus (CarMV);
Carnation necrotic fleck closterovirus (CNFV);
Carnation ringspot dianthovirus (CRSV);
Carnation vein mottle potyvirus (CVMV).

Of these, CRSV causes relatively conspicuous symptoms and has, in consequence, almost disappeared from well-managed production units. Similarly, CNFV produces very obvious leaf symptoms and can easily be detected by visual inspection in late spring/early summer. The other viruses are often more or less latent and present more difficulties. CarMV may persist at low concentrations and presents the greatest problems. It is found, in practice, that material from which CarMV has been entirely eliminated by meristem-tip culture is generally also free from the other viruses. Recommended test methods for viruses are given in Appendix II.

All plants should be tested for *F. o. dianthi*, *B. caryophylli*, *Erwinia chrysanthemi* and *P. cinerescens* by attempting to isolate the pathogen. The plants should be visually inspected regularly for all these pests, and generally for the presence of other pests or unknown symptoms. 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. other *Fusarium* spp., *Alternaria* spp.).

2.3 Promotion to nuclear stock

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

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, et doivent être séparées du stade initial. Toutes les plantes doivent être cultivées dans des pots individuels contenant un substrat stérilisé, en évitant le contact entre les plantes et en prenant des précautions strictes afin d'éviter la contamination par *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Phialophora cinerescens*, *Burkholderia caryophylli* et *Erwinia chrysanthemi*.

2.2 Exigences relatives aux tests

Toutes les plantes doivent être testées individuellement pour les organismes nuisibles suivants au moment ou à la fréquence spécifiés à l'Annexe I:

Carnation etched ring caulimovirus (CERV);
Carnation latent carlavirus (CLV);
Carnation mottle carmovirus (CarMV);
Carnation necrotic fleck closterovirus (CNFV);
Carnation ringspot dianthovirus (CRSV);
Carnation vein mottle potyvirus (CVMV).

Parmi ces virus, le CRSV provoque des symptômes assez apparents et il a par conséquent pratiquement disparu des unités de production bien conduites. De même, le CNFV produit des symptômes foliaires très apparents et peut être facilement détecté par inspection visuelle à la fin du printemps ou au début de l'été. Les autres virus sont souvent plus ou moins latents et présentent plus de difficultés. Le CarMV peut rester présent à de très faibles concentrations et pose les problèmes les plus importants. En pratique, il a été démontré que le matériel dans lequel le CarMV a été entièrement éliminé par la culture de méristème est aussi indemne des autres virus. Les méthodes de test recommandées pour les virus figurent à l'Annexe II.

Toutes les plantes doivent être testées pour *F. o. dianthi*, *B. caryophylli*, *Erwinia chrysanthemi* et *P. cinerescens* en tentant d'isoler le pathogène. 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. autres *Fusarium* spp., *Alternaria* spp.).

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.

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, retain the same status in the scheme. Otherwise, nuclear-stock plants should be kept in a suitably designed aphid-proof house, containing only nuclear-stock plants. They should be maintained under the same conditions, and with the same precautions against infection, as candidate nuclear-stock plants (see point 2 above). A check on trueness to type should be made¹, by bringing either the candidate 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 carnation does not generally exceed 1 year.

3.2 Testing requirements

The plants should be individually tested for CERV, CLV, CarMV, CNFV, CRSV and CVMV at the frequency and by the methods given in Appendices I and II. They should be visually inspected for *F. o. dianthi*, *B. caryophylli*, *E. chrysanthemi* and *P. cinerescens*. The checks are best performed at the end of the summer (August/September) when high temperatures favour symptom expression. Suspect plants should be checked by attempting to isolate the pathogen. The plants should also be visually inspected for the presence of any pest. Any plant found to be infected, by testing or by visual examination, should be eliminated, except in the case of pests which can be adequately controlled (e.g. other *Fusarium* spp., *Alternaria* spp.).

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 retested³ at least for CERV, CNFV and CarMV. 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.

Nuclear-stock plants may also be grown in trays containing several plants of the same clone but, in this case, all plants should be tested individually and, if any plant fails a test on pathogen freedom, all plants in the tray are disqualified as nuclear stock and should be individually retested.

¹In view of the great number of carnation cultivars, checks for absolute trueness to type may be difficult. However, the material should be checked for any serious deviation from type (mutations, etc.).

²They may be transferred to another place with similar 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.

³The possibility of infection by other pathogens for which candidate nuclear-stock plants were tested should be considered; occasional retesting is advised.

3. Maintien du stade initial

3.1 Conditions de culture

Lorsque les boutures prises sur le matériel candidat sont plantées, elles deviennent les plantes du stade initial. Le stade initial peut être maintenu *in vitro* (mais sans être multiplié), et, sous cette forme, il pourra conserver le même statut dans le schéma. Sinon, les plantes du matériel initial doivent être conservées dans une serre aphid-proof, conçue pour cet usage et ne contenant que des plantes du stade initial. Elles doivent être placées dans les mêmes conditions de culture et avec les mêmes précautions contre l'infection que les plantes candidates au stade initial (voir point 2 ci-dessus). Un contrôle de l'authenticité variétale doit également être effectué en cultivant les plantes du stade initial, ou des boutures prises sur ces plantes, jusqu'à la floraison¹. 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'oeillet du stade initial ne dépasse généralement pas 1 an.

3.2 Exigences relatives aux tests

Les plantes doivent être testées individuellement pour le CERV, le CLV, le CarMV, le CNFV, le CRSV et le CVMV à la fréquence et par les méthodes des Annexes I et II. Elles doivent être inspectées visuellement, pour *F. o. dianthi*, *B. caryophylli*, *E. chrysanthemi* et *P. cinerescens*. Les inspections ont lieu de préférence à la fin de l'été (août/septembre) lorsque les fortes températures favorisent l'expression des symptômes. Les plantes suspectes doivent faire l'objet d'une tentative d'isolement du pathogène. L'état des plantes doit être régulièrement contrôlé par inspection visuelle pour détecter la présence d'autres organismes nuisibles. 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. autres *Fusarium* spp., *Alternaria* spp.).

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 CarMV, le CERV et le CNFV³. 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.

Les plantes du stade initial peuvent aussi être cultivées en tablettes contenant plusieurs plantes du même clone. Mais, dans ce cas, toutes les plantes doivent être testées individuellement, et si une plante n'est pas indemne, toutes les plantes de la tablette ne peuvent plus être considérées comme appartenant au stade initial et doivent être individuellement retestées.

¹Comme il existe un très grand nombre de cultivars d'oeillets, la vérification complète de l'authenticité variétale peut être difficile. Cependant, il faut vérifier que le matériel ne présente aucune déviation importante par rapport au type (mutations, etc.).

²Elles peuvent être transférées à un autre lieu à conditions 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.

³Les possibilités d'infection par des pathogènes autres que ceux qui ont déjà été testés sur les plantes candidates au stade initial doivent être envisagées; des tests supplémentaires sont éventuellement conseillés.

3.3 Certification

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

4. Propagation stock I

4.1 Growing conditions

Cuttings taken from the nuclear-stock plants when planted become propagation stock I. The plants should be kept in isolated insect-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. General precautions against pests should be maintained.

The number of generations of propagation stock I is generally two and the useful life of a propagation-stock I plant does not generally exceed 1 year. 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 CarMV and CVMV, and the tests may be applied to pooled samples. Any plant giving a positive result on random testing should be eliminated, after a second individual test, if necessary, and this should be 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 tested individually. All plants giving a positive result should be eliminated. The plants should be visually inspected regularly for the presence of pests. 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. other *Fusarium* spp., *Alternaria* spp.). It is recommended to refuse certification if more than a certain percentage (e.g. 1%) of plants have to be removed because testing or visual inspection shows that they are infected.

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.

3.3 Certification

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

4. Stade de propagation I

4.1 Conditions de culture

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

Le nombre de générations pour le stade de propagation I est généralement de deux, et la durée de vie utile d'une plante de ce stade ne dépasse généralement pas 1 an. 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 mutation.

4.2 Exigences relatives aux tests

Des plantes doivent être prélevées par sondage et testées pour le CarMV et le CVMV, et on peut regrouper les échantillons. Toute plante présentant un résultat positif aux tests doit être éliminée, après un deuxième test si nécessaire, 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 présentant un résultat positif doivent être éliminées. L'état des plantes doit être régulièrement contrôlé par inspection visuelle pour détecter la présence d'organismes nuisibles. Toute plante trouvée contaminée doit être éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace (par ex. autres *Fusarium* spp., *Alternaria* spp.). Il est recommandé de refuser la certification si plus d'un certain pourcentage des plantes (par ex. 1%) doit être éliminé à cause d'infections détectées lors des tests ou des inspections visuelles.

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. The propagation-stock II plants should be grown on benches separated from the soil. General precautions against pests should be maintained.

The useful life of these plants does not generally exceed 1 year. Throughout the production of propagation stock II, checks should be made on varietal purity and on possible mutations.

5.2 Testing requirements

The plants should be randomly tested for CarMV and CVMV. Any plants found infected should be eliminated. If more than 5% of plants in the sample are infected, certification should be refused to the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit). Any plant showing symptoms of virus disease should be eliminated. The plants should be visually inspected regularly for the presence of any pest. For fungal and bacterial wilt, visual inspection is maintained throughout. 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. other *Fusarium* spp., *Alternaria* spp.).

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 (EPP 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. Les plantes du stade de propagation II doivent être cultivées sur des tablettes séparées du sol. Des précautions générales contre les organismes nuisibles doivent être maintenues.

La durée de vie utile de ces plantes ne dépasse généralement pas 1 an. Tout au long de la production du stade de propagation II, des contrôles doivent porter sur la pureté variétale et sur d'éventuelles mutations.

5.2 Exigences relatives aux tests

Des plantes doivent être prélevées par sondage et testées pour le CarMV et le CVMV. Toute plante infectée doit être éliminée. Si plus de 5% des plantes de l'échantillon sont infectées, la certification sera refusée au groupe de plantes dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité). Toute plante présentant des symptômes de virus doit être éliminée. L'état des plantes doit être régulièrement contrôlé par inspection visuelle pour détecter la présence d'organismes nuisibles. L'inspection visuelle pour les trachéomycoses et trachéobactérioses doit être maintenue. Toute plante trouvée contaminée doit être éliminée, sauf dans le cas des organismes nuisibles contre lesquels il existe une lutte efficace (par ex. autres *Fusarium* spp., *Alternaria* 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 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 carnation

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

APPENDIX II

Guidelines for carnation viruses in a certification scheme

Procedures for each virus

Carnation mottle carmovirus (CarMV)

CarMV is the most common virus that infects carnation. Symptoms on carnation are generally indistinct, consisting of a mild mottling of leaves, apparent only in soft growth (flowering plant may seem symptomless due to wax layer on its leaves). It diminishes the number, size and quality of flowers, renders plants more susceptible to fungal diseases and causes a strong synergistic effect in mixed infections with other viruses. CarMV is highly infectious and infects a moderately wide number of test plants, has no known vector and is easily transmitted by contact, by water and by cropping operations. Visual inspection provides no reliable indication of infection. CarMV can be detected by ELISA or by inoculation to *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor* or *Saponaria vaccaria*. ELISA will not reliably detect attenuated forms of CarMV. Attenuated forms of the virus give few or no local lesions on *C. quinoa*. So a second inoculation, from *C. quinoa* to *C. quinoa*, should be done. However, if *S. vaccaria* is used as the first indicator species, the attenuated forms will produce systemic symptoms.

Carnation ringspot dianthovirus (CRSV)

CRSV causes rings, line patterns and mottling on leaves, which also show lateral bending and buckling. Plants are stunted, flowers are smaller and bleaching, colour breaking and petal crinkle may also occur. CRSV is transmitted by contact. It can be detected by ELISA or by inoculation to *C. quinoa* or *C. amaranticolor*. Symptoms are generally conspicuous, and CRSV is now rare in well-managed carnation propagation systems.

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 l'œillet

Les tests et inspections pour détecter les organismes nuisibles de l'œillet sont résumés au Tableau 1.

ANNEXE II

Directives pour les virus de l'œillet dans le schéma de certification

Procédure pour chaque virus

Carnation mottle carmovirus (CarMV)

Le CarMV est le virus le plus courant sur œillet. Les symptômes sur œillet ne sont généralement pas distincts, et consistent en une marbrure modérée des feuilles qui est visible seulement sur les parties molles (les plantes en fleur peuvent paraître ne pas présenter de symptômes en raison de la couche de cire des feuilles). Ce virus entraîne une diminution du nombre, de la taille et de la qualité des fleurs, en rendant les plantes plus sensibles aux maladies fongiques, et il entraîne un fort effet de synergie dans les infections combinées avec d'autres virus. Le CarMV est très infectieux. Il infecte un nombre modéré de plantes indicatrices, n'a pas de vecteur et est facilement transmis par contact, par l'eau et par les opérations culturales.

L'inspection visuelle ne fournit pas d'indications fiables sur l'infection. Le CarMV peut être détecté par ELISA ou par inoculation sur *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor* ou *Saponaria vaccaria*. Le test ELISA ne détecte pas de façon fiable les formes atténuées du CarMV. Celles-ci ne provoquent pas toujours de lésions locales sur *C. quinoa*. Une seconde inoculation, à partir de *C. quinoa* et sur *C. quinoa*, doit donc être effectuée. Cependant, si *S. vaccaria* est utilisée comme première plante indicatrice, les formes atténuées vont provoquer des symptômes systémiques.

Carnation ringspot dianthovirus (CRSV)

Le CRSV provoque des anneaux, des lignes et des marbrures sur les feuilles, qui sont également inclinées latéralement et enroulées. Les plantes sont rabougries, les fleurs sont plus petites, et des décolorations, panachures ou flétrissements des pétales peuvent se produire. Le CRSV est transmis par contact. Il peut être détecté par ELISA ou par inoculation sur *C. quinoa* ou *C. amaranticolor*. Les symptômes sont généralement bien visibles, et le CRSV est devenu rare dans les unités de multiplication d'œillets bien conduites.

Table 1 Summary of tests and inspections for camation pests at the different stages of the scheme
Résumé des tests et des inspections pour détecter les organismes nuisibles de l'ocillet aux différents stades du schéma

Pests/Organisme nuisibles	Candidate nuclear stock/Candidat au stade initial	Nuclear stock/Stade initial	Propagation stock I/Stade de propagation I propagation II	Propagation stock II/Stade de propagation II
CarMV	Individual testing at least three times a year by ELISA or at least one biological test on <i>Chenopodium quinoa</i> , <i>Chenopodium amaranticolor</i> or <i>Saponaria vaccaria</i> in spring or autumn/Test individuel au moins trois fois par an par ELISA, ou au moins un test biologique sur <i>Chenopodium quinoa</i> , <i>Chenopodium amaranticolor</i> ou <i>Saponaria vaccaria</i> au printemps ou en automne	Individual testing at least twice a year by ELISA, at least 4 months apart/Test individuel au moins deux fois par an par ELISA, à au moins 4 mois d'intervalle	Random testing by ELISA (possibly on pooled samples)/Test par sondage par ELISA (éventuellement sur échantillons regroupés)	Random testing by ELISA/Test par sondage par ELISA
CRSV	Individual testing twice a year, by biological testing on <i>C. quinoa</i> or <i>C. amaranticolor</i> or ELISA/Test individuel deux fois par an, par test biologique sur <i>C. quinoa</i> ou <i>C. amaranticolor</i> , ou ELISA	Individual testing twice a year, by biological testing on <i>C. quinoa</i> or <i>C. amaranticolor</i> or ELISA/Test individuel deux fois par an, par test biologique sur <i>C. quinoa</i> ou <i>C. amaranticolor</i> , ou ELISA	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
CVMV	Individual testing at least twice a year, by ELISA or by biological testing on <i>C. quinoa</i> or <i>C. amaranticolor</i> . Visual inspection of material taken to flowering/Test individuel au moins deux fois par an, par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i> ou <i>C. amaranticolor</i> . Inspection visuelle du matériel prélevé pour floraison	Individual testing at least twice a year, by ELISA or by biological testing on <i>C. quinoa</i> or <i>C. amaranticolor</i> . Visual inspection of material taken to flowering/Test individuel au moins deux fois par an, par ELISA ou test biologique sur <i>C. quinoa</i> ou <i>C. amaranticolor</i> . Inspection visuelle du matériel prélevé pour floraison	Random testing by ELISA (possibly on pooled samples)/Test par sondage par ELISA (éventuellement sur échantillons regroupés)	Random testing by ELISA/Test par sondage par ELISA
CNFV	Visual inspection and individual testing twice a year by ELISA/Inspection visuelle et test individuel deux fois par an par ELISA	Visual inspection and individual testing twice a year by ELISA/Inspection visuelle et test individuel deux fois par an par ELISA	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
CERV	Visual inspection and individual testing twice a year by mechanical transmission to <i>S. vaccaria</i> , or individual testing by ELISA/Inspection visuelle et test individuel deux fois par an par test biologique sur <i>S. vaccaria</i> ; ou test individuel par ELISA	Visual inspection and individual testing twice a year by mechanical transmission to <i>S. vaccaria</i> , or individual testing by ELISA/Inspection visuelle et test individuel deux fois par an par test biologique sur <i>S. vaccaria</i> ; ou test individuel par ELISA	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
CLV	Individual testing twice a year, by biological testing on <i>C. quinoa</i> or <i>C. amaranticolor</i> or ELISA/Test individuel deux fois par an par test biologique sur <i>C. quinoa</i> ou <i>C. amaranticolor</i> , ou ELISA	Individual testing twice a year, by ELISA/Test individuel deux fois par an par ELISA	–	–
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i> , <i>Burkholderia caryophylli</i> , <i>Erwinia chrysanthemi</i> , <i>Phialophora cinereascens</i>	Tested by isolation/Test par isolement	Visual with attempted isolation of pathogen from suspect plants/Inspection visuelle avec essai d'isolement du pathogène pour les plantes suspectes	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle
Other pests/Autres organismes nuisibles	Visual/Inspection visuelle	Visual/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle	Visual inspection/Inspection visuelle

Carnation vein mottle potyvirus (CVMV)

CVMV causes chlorotic mottle or green vein mottle on leaves, flower breaking (in susceptible cultivars) and a decrease in flower yield. In mixed infections with CarMV, symptoms are stronger. CVMV is transmitted by aphids and has a restricted host range. The main vector is considered to be *Myzus persicae*. CVMV can be detected by ELISA or by inoculation to *C. quinoa* or *C. amaranticolor*. If visual inspection of samples of nuclear-stock material taken to flowering shows breaking and malformation of the flowers, the infection level is so high that probably all cultivars in the establishment are infected and the test procedures are not being performed effectively.

Carnation necrotic fleck closterovirus (CNFV)

CNFV causes whitish or necrotic streaks and reddish-purple flecks and spots on leaves and stems, and complete necrosis on older leaves. Symptoms increase with temperature. CNFV is transmitted by aphids, in particular *M. persicae*. It can be detected by ELISA.

Carnation etched ring caulimovirus (CERV)

CERV causes necrotic spots or flecks, rings and line patterns 'etched' on leaves. In many cultivars, symptoms are visible only if CarMV is also present. At high temperatures, plants may seem symptomless. Infected plants will flower later and the production of first-quality cut flowers will be reduced. CERV is transmitted by aphids (in particular *M. persicae*), in a non-persistent manner. It can be detected by visual inspection and inoculation to *S. vaccaria*, or by ELISA.

Carnation latent carlavirus (CLV)

CLV is not widespread in carnation crops and does not induce specific symptoms. It is transmitted by aphids (especially *M. persicae*). It can be detected by inoculation to *C. quinoa* or *C. amaranticolor* or by ELISA.

Inoculation to indicator plants (for CarMV, CRSV, CVMV, CERV and CLV)

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 carnation viruses: *Chenopodium quinoa* or *C. amaranticolor*: CarMV (with the restrictions mentioned above), CRSV, CVMV, CLV; *Saponaria vaccaria*: CarMV, CERV.

Chenopodium quinoa is preferred for the test (in comparison with *C. amaranticolor*) because it remains susceptible over a long growth period. *S. vaccaria* could also be used (and should be for CERV), but is more difficult to grow and has less conveniently shaped leaves for inoculation. The tests should be done during a short-day period (November–March), preferably in early spring when the virus content of carnation plants is increasing.

Carnation vein mottle potyvirus (CVMV)

Le CVMV provoque une marbrure chlorotique ou une marbrure nervaire verte sur les feuilles, la panachure des fleurs (dans les cultivars sensibles) et une diminution du rendement en fleurs. Les symptômes sont plus prononcés pour les infections combinées avec le CarMV. Le CVMV est transmis par les pucerons et a une gamme d'hôtes limitée. Son principal vecteur est *Myzus persicae*. Il peut être détecté par ELISA ou par inoculation sur *C. quinoa* ou *C. amaranticolor*. Si l'inspection visuelle des échantillons prélevés au stade initial conduits jusqu'à la floraison met en évidence des panachures et des déformations des fleurs, le niveau de contamination est tellement important que toutes les variétés de l'unité de production sont probablement contaminées et que le test du matériel n'a pas été effectué de manière efficace.

Carnation necrotic fleck closterovirus (CNFV)

Le CNFV provoque des bandes blanchâtres ou nécrotiques, des mouchetures ou des taches pourpres sur les feuilles et les tiges, et une nécrose totale des feuilles plus anciennes. Il est transmis par les pucerons, en particulier *M. persicae*. Les symptômes augmentent avec la température. Le CNFV peut être détecté par ELISA.

Carnation etched ring caulimovirus (CERV)

Le CERV provoque des taches ou mouchetures nécrotiques, des taches annulaires et des striures sur les feuilles. Dans de nombreux cultivars, les symptômes ne sont visibles que si le CarMV est également présent. Aux fortes températures, les plantes peuvent sembler ne pas présenter de symptômes. Les plantes infectées fleurissent plus tardivement et la production de fleurs coupées de bonne qualité est réduite. Le CERV est transmis par les pucerons (en particulier *M. persicae*) de manière non persistante. Il peut être détecté par inspection visuelle et inoculation à *S. vaccaria*, ou par ELISA.

Carnation latent carlavirus (CLV)

Le CLV n'est pas très courant dans les cultures d'oeillets et ne provoque pas de symptômes spécifiques. Il est transmis par les pucerons (surtout *M. persicae*). Il peut être détecté par inoculation sur *C. quinoa* ou *C. amaranticolor*, ou par ELISA.

Inoculation sur plantes indicatrices (pour le CarMV, le CRSV, le CVMV, le CERV et le CLV)

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 de l'oeillet: *C. quinoa*, *C. amaranticolor*: CarMV (avec les restrictions mentionnées plus haut), CRSV, CVMV, CLV; *S. vaccaria*: CarMV, CERV.

On utilise de préférence *C. quinoa* (plutôt que *C. amaranticolor*) qui reste sensible sur une plus longue période. *S. vaccaria* peut aussi être utilisé (et doit l'être pour le CERV), mais il est plus difficile à cultiver et la forme de ses feuilles est moins pratique pour les inoculations. Les tests doivent être effectués pendant la période de jours courts (novembre à mars), de préférence au début du printemps lorsque la concentration des virus augmente dans les plantes d'oeillet.

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 carnation test material should be triturated in a mortar in 0.03 M Na₂HPO₄ buffer containing an antioxidant (e.g. 2-mercaptoethanol or sodium sulphide), using 5 mL of solution per 0.5 g batch of leaf material. The crude extract may be clarified by filtration or centrifugation, but this may be omitted if the extract is clear.

A pinch of activated charcoal should be added just before inoculation. A glass spatula should be dipped into the inoculum and rubbed over the leaf surface. Inoculation may also be done by finger, covered with a finger-stall. 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

CarMV: for a normal infection (relatively high virus concentration), local lesions, first yellow then brown, on the leaves about 7 days after inoculation. If these are numerous, they rapidly become confluent, and the inoculated leaf wilts. A systemic reaction may then be seen in the apical leaves: mottling, or fine necrotic spotting, with deformation.

For attenuated infections (low virus concentration), large and few local lesions not before 2–3 weeks, or none at all in some cases. Accordingly, in the case of meristem-derived plants, further inoculations should be done after 3 weeks from *C. quinoa* to *C. quinoa*. If the original infection was attenuated and few or no lesions were seen on the first inoculation, numerous characteristic lesions will be seen on the second inoculation. Systemic symptoms in *S. vaccaria*.

CRSV: local necrotic lesions on *C. quinoa* 3–5 days after inoculation.

CVMV and CLV: generally systemic reaction on *C. quinoa* in the apical leaves about 10 days after the local lesions.

CERV: on *S. vaccaria*, symptom development affected by temperature, daylight and light intensity. Local lesions: concentric red rings and red lines on plants grown at 21–27 °C, 10–14 days after mechanical inoculation; concentric chlorotic rings more common on plants grown at 32 °C. Systemic symptoms: chlorotic flecks, patches and elongated rings, shortening of the internodes mainly in the lower to mid portion of the plants, 14–30 days after mechanical inoculation.

Production des plantes indicatrices

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

Inoculation mécanique

Broyer le matériel végétal dans un mortier avec un tampon 0,03 M Na₂HPO₄ contenant un antioxydant (par exemple du 2-mercaptoéthanol ou du sulfite de sodium), en utilisant 5 mL de solution pour 0,5 g de feuilles d'oeillet. L'extrait brut peut être clarifié par filtration ou centrifugation mais ceci n'est pas nécessaire si l'extrait est bien clair.

Ajouter une pincée de charbon actif juste avant l'inoculation. Tremper une spatule de verre dans l'inoculum et la frotter sur la surface de la feuille. L'inoculation peut aussi être faite avec le doigt recouvert d'un doigtier. 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 être utilisées.

Observation des symptômes sur les plantes indicatrices

CarMV: pour une infection normale (concentration en virus relativement élevée), des lésions locales jaunes puis brunes sur les feuilles environ 7 jours après l'inoculation. Si elles sont nombreuses, elles deviennent rapidement confluentes, et les feuilles inoculées flétrissent. Une réaction systémique peut alors être observée sur les feuilles apicales: marbrures ou petites taches nécrotiques, avec des déformations.

Pour une infection atténuée (faible concentration en virus), lésions locales grandes et peu nombreuses pas avant 2–3 semaines, ou aucune dans certains cas. En conséquence, pour des plantes issues de culture de méristème, des inoculations doivent être effectuées 3 semaines plus tard, de *C. quinoa* à *C. quinoa*. Si la première infection était atténuée et que peu ou aucune lésion avait été observée après la première inoculation, de nombreuses lésions caractéristiques seront observées à la deuxième inoculation. Infection systémique sur *S. vaccaria*.

CRSV: lésions locales nécrotiques sur *C. quinoa* 3–5 jours après l'inoculation.

CVMV et CLV: généralement réaction systémique sur *C. quinoa* sur les feuilles apicales environ 10 jours après les lésions locales.

CERV: sur *S. vaccaria*, développement des symptômes influencé par la température, la durée du jour et l'intensité lumineuse. Lésions locales: anneaux rouges concentriques et lignes rouges sur les plantes cultivées à 21–27 °C, 10–14 jours après l'inoculation mécanique; plus souvent anneaux chlorotiques concentriques sur les plantes cultivées à 32 °C. Symptômes systémiques: taches ou anneaux allongés chlorotiques, raccourcissement des entrenœuds principalement dans la partie inférieure à moyenne des plantes, 14–30 jours après l'inoculation mécanique.

ELISA testing for carnation viruses

The test can be done by either the DAS-ELISA procedure (double-antibody sandwich) or by other direct or indirect methods. In the case of CNFV, for example, the indirect ACP (antigen-coated plate) method can be used.

Freshly collected carnation leaves (0.5–1.0 g) are triturated in PBS–Tween buffer (4 mL of buffer per g of leaf) using, for example, a roller press or a homogenizer. For CERV, 20 g/L PVP is added to the buffer. A pestle and mortar may also be used (it may then be necessary to increase slightly the volume of buffer for CarMV to obtain a sufficiently fluid crude extract). The extract is left to stand overnight at 4 °C.

All other stages of the ELISA test (direct or indirect) should be performed according to the published procedures or by following the instructions accompanying the proprietary reagents.

APPENDIX III

Recommended certification standards for carnation

Certification should be granted on the basis of records of the tests and observations performed during production and of one or more certification (visual) inspections. In general, certification inspection should be 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 tests on the nuclear-stock plant were negative for all pests in their regular testing. Tests on suspect plants for *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Burkholderia caryophylli*, *Erwinia chrysanthemi* and *Phialophora cinerescens* should have been negative. The plant should show no 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 plant concerned.

Propagation stock I

Results should show that random tests for CarMV and CVMV were negative or that, if positive results were obtained, the other plants in the group of plants (whole lot or subunit) from which the sample was taken were individually retested. Any plant infected should have been eliminated. No plants may show any symptom of fungal, bacterial or viral disease. Visual inspection at certification should show that the incidence of pests in each lot does not exceed the thresholds in

Test ELISA pour les virus de l'oeillet

Le test ELISA peut être effectué, soit par la méthode DAS-ELISA (double-antibody sandwich), soit par d'autres méthodes directes ou indirectes. Dans le cas du CNFV, la méthode indirecte ACP (antigen-coated plate) peut être utilisée.

Broyer les feuilles d'oeillet fraîchement récoltées (0,5–1,0 g) dans un tampon PBS–Tween (4 mL de tampon par g de feuille), par ex. avec une presse à rouleaux ou dans un broyeur. Pour le CERV, ajouter au tampon 20 g/L de PVP. Un pilon et un mortier peuvent aussi être utilisés (il peut alors être nécessaire d'augmenter légèrement le volume de tampon pour le CarMV pour obtenir suffisamment d'extrait brut fluide). Laisser décanter pendant la nuit à 4 °C.

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

ANNEXE III

Normes de certification recommandées pour l'oeillet

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

Candidat au stade initial

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

Stade initial

Les résultats doivent montrer que tous les tests effectués sur la plante du stade initial ont été négatifs. Les résultats des tests des plantes suspectes pour *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Burkholderia caryophylli*, *Erwinia chrysanthemi* et *Phialophora cinerescens* doivent être négatifs. Aucune plante ne doit présenter de symptômes d'une maladie fongique, bactérienne ou virale. Si ces conditions ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux plantes concernées.

Stade de propagation I

Les résultats des contrôles doivent montrer que tous les tests de détection du CarMV et le CVMV sont négatifs ou que, si des résultats positifs ont été obtenus, les autres plantes du groupe de plantes dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité) ont été retestées, et les plantes infectées éliminées. Aucune plante ne doit présenter de symptômes d'une maladie fongique, bactérienne ou virale. L'inspection visuelle de certification doit montrer que l'incidence des

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

Pests/Organismes nuisibles	% plants/plantes	
	Propagation stock I/Stade de propagation I	Propagation stock II/Stade de propagation II
Virus symptoms/Symptômes de virus	0	0
<i>F. o. dianthi</i> , <i>P. cinerescens</i>	0	0
Bacterial diseases/Maladies bactériennes	0	0
Other pests/Autres organismes nuisibles	Substantially free/Pratiquement indemne	Substantially free/Pratiquement indemne

Table 2. If these conditions are not met at the time of the certification inspection, certification should be refused to the plants in the group of plants from which the sample was taken (whole lot or subunit).

Propagation stock II

Results of random testing for CarMV and CVMV should be presented. If more than 5% of plants in the sample were infected, certification should be refused to the group of plants (whole lot or subunit) from which the sample was taken. Visual inspection at certification should show that the incidence of pests in each lot does not exceed the thresholds in Table 2. If these thresholds are exceeded for virus symptoms, *F. o. dianthi*, *P. cinerescens* or bacterial diseases, certification should be refused to all plants in the same growing unit, not isolated from the infected plants, and in danger of being contaminated. If the conditions for other pests in Table 2 are not met at the time of certification inspection, certification should be refused to the lots concerned.

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 au groupe de plantes dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité).

Stade de propagation II

Les résultats des tests effectués par sondages pour détecter le CarMV et le CVMV doivent être présentés. Si plus de 5% des plantes de l'échantillon sont contaminées, la certification sera refusée au groupe de plantes dans lequel l'échantillon a été prélevé (lot entier ou sous-unité). 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 seuils sont dépassés pour les symptômes de virus, *F. o. dianthi*, *P. cinerescens* ou les maladies bactériennes, la certification sera refusée à toutes les plantes appartenant à la même unité de culture, non isolées des plantes infectées et risquant d'avoir été contaminées. Si ces conditions pour les autres organismes nuisibles du Tableau 2 ne sont pas respectées au moment de l'inspection de certification, la certification sera refusée aux lots concernés.