

Certification schemes
Schémas de certification

Pathogen-tested material of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*
Certification sanitaire de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia*

Specific scope

This standard describes the production of pathogen-tested material of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*.

Specific approval and amendment

First approved in 1990-09 as part of EPPO Standard PM 4/1. Approved as a separate standard in 1999-09.

The certification scheme for pathogen-tested material of varieties and rootstocks of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia* provides detailed guidance on the production of grafted fruit trees (varieties), vegetatively propagated rootstocks and seedling rootstocks. The scheme is also suitable for the certification of ornamental plants of these genera.

Plant material produced according to this certification scheme is derived from nuclear stock plants that have been tested and found free from specified pathogens, and produced under conditions minimizing infection by other major pathogens of the genera concerned. Certified fruit-tree 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 that are also quarantine pests. The scheme is presented according to the general sequence proposed by the EPPO Panel on Certification of Fruit Crops and adopted by EPPO Council (OEPP/EPPO, 1992a).

Outline of the scheme

For the production of certified varieties and rootstocks of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*, the following successive steps should be taken. **1** Selection for pomological quality: individual plants of each species, rootstock type or variety¹ to be taken into the scheme are selected. Alternatively, virus-free starting material is imported from other countries.

¹ In this scheme, the terms variety and rootstocks are used in the traditional fruit-growing sense: the variety is the scion cultivar, while the rootstock may be a cultivar or a species.

Champ d'application spécifique

Cette norme décrit la certification sanitaire de matériel de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia*.

Approbation et amendement spécifiques

Première approbation en 1990-09, en tant que partie constituante de la Norme OEPP PM 4/1. Norme séparée approuvée en 1999-09.

Le schéma de certification sanitaire des variétés et porte-greffe de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia* donne des détails sur la production d'arbres fruitiers greffés (variétés), de porte-greffe multipliés par voie végétative et de porte-greffe issus de semence. Le schéma s'applique également aux plantes ornementales appartenant à ces genres.

Le matériel végétal produit selon ce schéma de certification est issu de plantes du stade initial qui ont été testées et trouvées indemnes de certains pathogènes précisés; ces plantes ont également été produites dans des conditions minimisant les infections par les autres pathogènes majeurs du genre concerné. Le matériel certifié d'arbres fruitiers destiné à l'exportation doit, dans tous les cas, répondre aux exigences phytosanitaires des pays importateurs, en particulier pour ce qui concerne les pathogènes couverts par le schéma qui sont également des organismes de quarantaine. Le schéma est présenté selon le plan général accepté par le Groupe d'experts OEPP sur la certification sanitaire des cultures fruitières et adopté par le Conseil de l'OEPP (OEPP/EPPO, 1992a).

Vue d'ensemble

Pour produire des arbres fruitiers et des porte-greffe certifiés de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia*, les étapes suivantes doivent être suivies. **1** Sélection pour qualité pomologique: des plantes individuelles sont sélectionnées pour chaque espèce, type de porte-greffe ou variété¹ à introduire dans le schéma ou, éventuellement, du matériel de départ indemne de virus est importé d'autres pays.

¹ Dans ce schéma, les termes 'variété' et 'porte-greffe' sont utilisés dans le sens couramment employé en arboriculture: la variété correspond au cultivar du scion, alors que le porte-greffe peut être un cultivar ou une espèce.

2 Production of nuclear stock: candidate nuclear stock plants are established by budding or grafting this material onto rootstocks of nuclear stock status. The plants are kept under conditions ensuring freedom from infection. The candidate nuclear stock is tested by the most rigorous procedures in the scheme. Alternatively, virus-free plants (candidate nuclear stock) are produced by heat treatment followed by testing. Only candidate nuclear stock plants that have met all requirements are promoted to nuclear stock plants.

3 Maintenance of nuclear stock: nuclear stock plants are maintained under conditions ensuring freedom from infection by root contact, pollen or aerial vectors, with retesting as appropriate.

4 Production of propagation stock: propagation stock is produced from nuclear stock material in as few steps as possible under conditions ensuring freedom from infection, with retesting as appropriate.

5 Production of certified plants: certified plants are produced by grafting propagation stock material onto rootstocks of at least propagation stock standard.

Throughout the whole procedure, care should be taken to maintain the pomological characters of the originally selected plants. Checks should be built in for possible mutations or back mutations, especially for varieties. The scheme is represented diagrammatically in Figs 1 and 2.

The certification scheme should be carried out by an official organization or by an officially registered, specialized establishment satisfying defined criteria (OEPP/EPPO, 1993). The admission criteria for establishments performing the last phase of production (5) are less stringent than for stages 1–4.

All tests and inspections during production should be recorded. If the stages of the certification scheme are conducted by a registered nursery, certification will be granted by the official organization on the basis of the records of the tests and inspections performed during production, and of visual inspections to verify the apparent health of the stock.

1. Selection of candidates for nuclear stock

Varieties

One or more fruiting trees, with typical agronomic characters, of each variety to be taken into the scheme should be selected in orchards and/or from pomological field trials. Alternatively, virus-free starting material may be imported from other countries. Material imported from outside the EPPO region should also be tested by methods recommended by the International Society for Horticultural Science (ISHS) (see Appendix II) for all other viruses occurring naturally in the genus concerned in the region of origin.

Vegetatively propagated rootstocks

Healthy-looking, vigorous and well-rooted individual plants of known agronomic characters of each rootstock type to be taken into the scheme should be selected in different stoolbeds or stoolbushes. Alternatively, virus-free starting material may be imported from

2 Production du stade initial: les plantes candidates au stade initial sont formées par écussonnage ou greffage sur des porte-greffe ayant le statut du stade initial. Ces plantes sont maintenues dans des conditions garantissant l'absence d'infection. Les plantes candidates sont testées à l'aide des procédures les plus rigoureuses du schéma. Alternativement, les plantes indemnes de virus (candidates) sont produites par thérapie thermique, suivie de tests. Seules les plantes candidates au stade initial qui respectent toutes les exigences peuvent être considérées comme du stade initial.

3 Maintien du stade initial: les plantes du stade initial sont maintenues dans des conditions garantissant l'absence de contamination par les contacts racinaires, le pollen ou les vecteurs aériens, avec des tests supplémentaires si nécessaire.

4 Production du stade de propagation: les plantes du stade de propagation sont produites à partir du stade initial avec le moins d'étapes possibles dans des conditions garantissant l'absence d'infection, avec des tests supplémentaires si nécessaire.

5 Production des plantes certifiées: les plantes certifiées sont produites en greffant du matériel issu du stade de propagation sur des porte-greffe ayant au moins le statut de stade de propagation.

Tout au long de la procédure, des précautions doivent être prises pour conserver les caractéristiques pomologiques des plantes sélectionnées à l'origine. Des contrôles doivent porter sur d'éventuelles mutations ou réversions, surtout pour les variétés. Le schéma est représenté à la Fig. 1 et 2.

Le schéma de certification doit être réalisé par une organisation officielle, ou par un établissement spécialisé agréé, répondant à un certain nombre de critères donnés (OEPP/EPPO, 1993). Les critères d'admission sont moins stricts pour les établissements réalisant la dernière phase de production (5) que pour les stades 1–4.

Tous les tests et inspections réalisés au cours de la production doivent être notés. Si les stades du schéma de certification sont conduits par une pépinière agréée, la certification sera accordée par l'organisation officielle en se basant sur les documents relatifs aux tests et aux observations réalisés pendant la production, et sur des inspections (visuelles) de certification visant à vérifier l'état sanitaire du matériel.

1. Sélection de plantes candidates au stade initial

Variétés

Un certain nombre d'arbres en production (1 ou plus) présentant les caractères agronomiques typiques de chaque variété à prendre en compte dans le schéma est sélectionné dans différents vergers et/ou dans des parcelles d'essais pomologiques. Alternativement, du matériel indemne de virus est importé d'autres pays. Le matériel importé de l'extérieur de la région OEPP doit être testé par des méthodes recommandées par l'ISHS (International Society for Horticultural Science) (voir annexe II) pour tous les autres virus présents naturellement dans le genre de l'arbre fruitier concerné dans la région d'origine.

Porte-greffe multipliés par voie végétative

Des plantes d'apparence saine, vigoureuses et bien racinées présentant les caractères agronomiques typiques de chaque type de porte-greffe à prendre en compte dans le schéma sont sélectionnées dans différentes parcelles de multiplication de porte-greffe. Alternative-

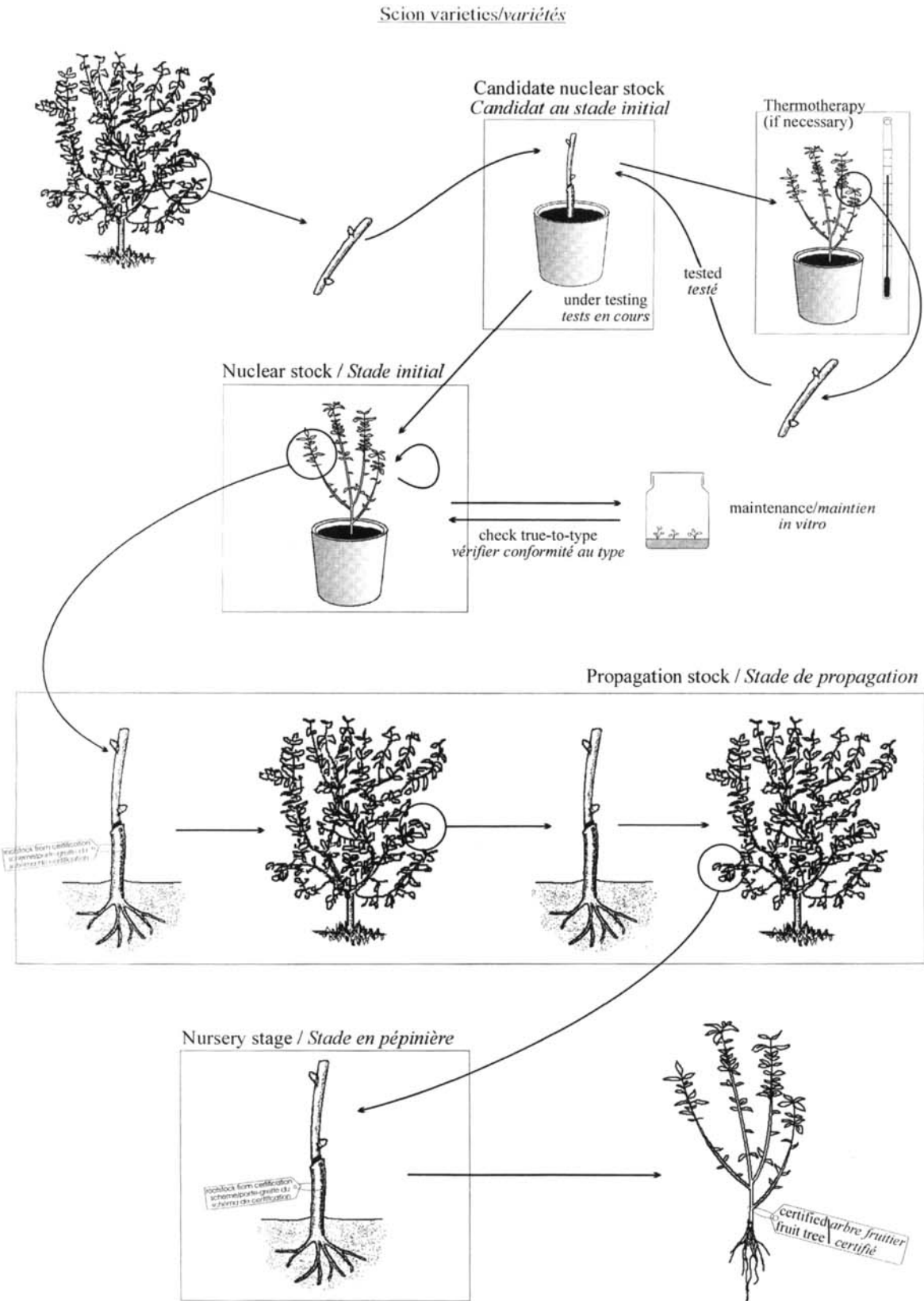


Fig. 1 Diagram of the stages in the certification scheme for *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*: scion material
Diagramme des stades du schéma de certification de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia*: variétés

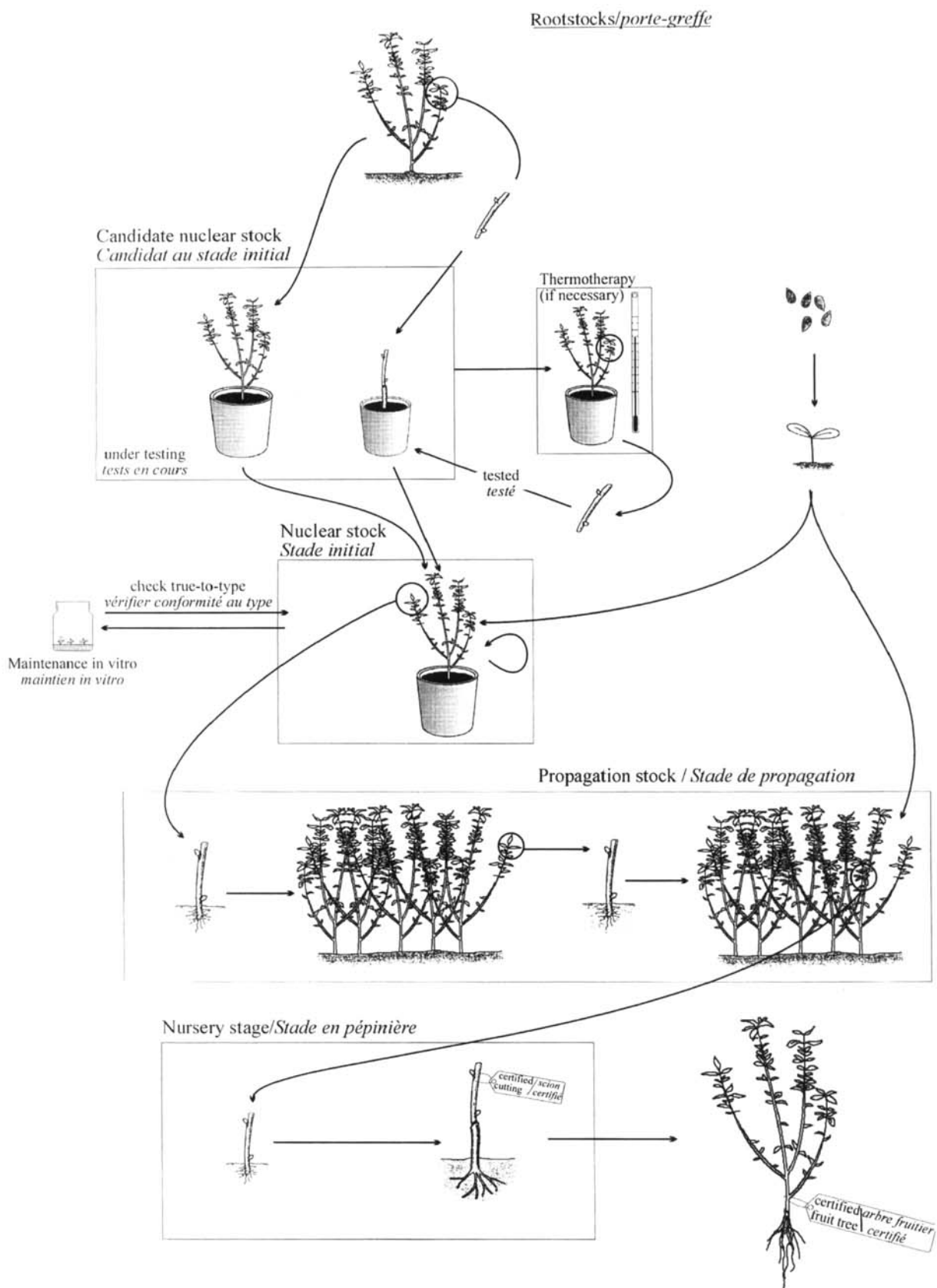


Fig. 2 Diagram of the stages in the certification scheme for *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*: rootstocks
 Diagramme des stades du schéma de certification de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia*: porte-greffe

other countries. Material from outside the EPPO region should be tested as for varieties (above).

Seedling rootstocks

Seeds of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia* are considered to be virus-free. However, selected trees for the production of seeds should be free from virus symptoms and should preferably be chosen in areas known to be free from fruit tree viroids. They should be known to produce uniform progeny, or else this should be investigated. When germinated, the seedlings should be grown to suitable size under conditions similar to those for varieties and vegetatively propagated rootstocks of either nuclear stock (see point 3) or propagation stock (see point 4).

2. Production of nuclear stock

Varieties

General procedure

Propagation material of the pomologically selected trees is collected and budded or grafted onto nuclear stock rootstocks. These plants (potted candidate nuclear stock plants) should, during the period of testing, be kept under conditions ensuring freedom from infection by root contact, pollen or aerial vectors. They should be grown in sterilized growing medium. The individual candidate nuclear stock plants should be tested for the viruses, phytoplasmas and virus-like diseases specified in Table 1 by the methods mentioned in Appendices I and II. Only if the candidate nuclear stock plant gives a negative test result for all the pathogens listed in Table 1 can it be promoted to nuclear stock and transferred to the nuclear stock collection.

Sanitation procedure

For varieties for which none of the selected trees gave a negative test result, material should be prepared for heat treatment by budding or grafting propagation material onto a number of potted rootstocks. These plants should then be heat-treated (Appendix III) and the newly produced plants (in general, shoot tip grafts) tested after one growing season, which allows time for any possible virus present to develop. For eliminating viroids, heat treatment alone is not always effective, and it may therefore be necessary to use alternative methods (Appendix III). Only plants giving a negative test result can be promoted to nuclear stock and transferred to the nuclear stock collection.

If, for a given variety, it is likely that all candidate nuclear stock plants are infected with viruses, time can be saved by omitting the first testing and proceeding directly to heat treatment.

Vegetatively propagated rootstocks

General procedure

Individual plants or cuttings should be selected and grown either on their own roots or budded or grafted onto an easily distinguishable rootstock type. These potted candidate nuclear stock plants should be

ment, du matériel indemne de virus est importé d'autres pays. Le matériel importé de l'extérieur de la région OEPP doit être testé comme pour les variétés (ci-dessus).

Porte-greffe issus de semence

Les semences de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia* sont considérées comme étant indemnes de virus. Cependant, les arbres sélectionnés pour la production de semence doivent être exempts de symptômes de virus et doivent de préférence se trouver dans des régions indemnes de viroïdes des arbres fruitiers. La production d'une descendance uniforme doit être connue, ou cela doit être vérifié. Après germination, les plantes sont amenées à la taille adéquate dans les mêmes conditions que les variétés ou les porte-greffe multipliés par voie végétative et sont destinées au stade initial (voir point 3) ou au stade de propagation (voir point 4).

2. Production du stade initial

Variétés

Procédure générale

Le matériel de propagation est prélevé sur les arbres sélectionnés pour leurs qualités pomologiques, et écussonné ou greffé sur des porte-greffe de stade initial. Ces plantes (plantes en pot candidates au stade initial) sont maintenues pendant la période de test dans des conditions garantissant l'absence de contaminations par les contacts racinaires, le pollen ou les vecteurs aériens. Elles doivent être cultivées dans un milieu de culture stérilisé. Les plantes candidates au stade initial doivent être testées pour les virus, phytoplasmes et maladies analogues aux virus indiqués au tableau 1, par les méthodes mentionnées aux annexes I et II. Une plante candidate peut être considérée comme du stade initial et transférée dans la collection de stade initial seulement si elle donne des résultats négatifs pour tous les pathogènes du tableau 1.

Procédure d'amélioration sanitaire

Lorsqu'aucun des arbres sélectionnés pour une variété donnée ne donne des résultats négatifs aux tests, préparer le matériel pour thérapie en écussonnant ou greffant du matériel de multiplication sur des porte-greffe en pots. Ces plantes sont alors traitées à la chaleur (annexe III) et les plantes obtenues sont testées (en général par greffe d'apex) après une période de végétation, ce qui permet aux virus présents de se développer. La thérapie seule n'est pas totalement efficace pour éliminer les viroïdes, et il peut être nécessaire d'utiliser des méthodes alternatives (annexe III). Seules les plantes qui donnent un résultat négatif aux tests pourront être considérées comme du stade initial et transplantées dans la collection de stade initial.

Si pour une variété donnée on s'attend à ce que toutes les plantes candidates soient infectées par un virus, on peut gagner du temps en n'effectuant pas le premier test et en passant directement à la thérapie.

Porte-greffe multipliés par voie végétative

Procédure générale

Les plantes ou boutures individuelles sont sélectionnées et cultivées, soit autoracinées, soit greffées sur un type de porte-greffe facilement reconnaissable. Ces plantes (plantes en pot candidates au stade initial)

Table 1. Pathogens in the EPPO region requiring tests in the certification scheme*
Pathogènes présents dans la région OEPP et devant être testés dans le schéma de certification*

Host/Plante-hôte	Type of pathogen/ Type de pathogène	Name/Nom	Acronym
<i>Malus</i> spp.	Viruses/Virus	Apple chlorotic leaf spot trichovirus	ACLSV
		Apple mosaic ilarvirus	ApMV
		Apple stem-grooving capillovirus	ASGV
		Apple stem-pitting foveavirus	ASPV
		Apple proliferation phytoplasma	AP
	Phytoplasmas/Phytoplasmes	Apple proliferation phytoplasma	AP
		Virus-like diseases/Analogues aux virus	Rubbery wood, flat limb Horseshoe wound Fruit disorders/Sur fruits: chat fruit, green crinkle, bumpy fruit of Ben Davis, rough skin, star crack, russet ring, russet wart
	Viroids/Viroïdes	Apple scar skin viroid†	ASSVd
	<i>Pyrus</i> and/et <i>Cydonia</i> spp.	Viruses/Virus	Apple chlorotic leafspot trichovirus
Apple stem-grooving capillovirus			ASGV
Apple stem-pitting foveavirus			ASPV
Pear decline phytoplasma			PD
Virus-like diseases/Analogues aux virus			Bark split, bark necrosis Rough bark Quince sooty ringspot (probably caused by ASPV) Pear stony pit (probably caused by ASPV) Rubbery wood, quince yellow blotch
Phytoplasmas/Phytoplasmes		Pear decline phytoplasma	PD
		Virus-like diseases/Analogues aux virus	Bark split, bark necrosis Rough bark Quince sooty ringspot (probably caused by ASPV) Pear stony pit (probably caused by ASPV) Rubbery wood, quince yellow blotch
Viroids/Viroïdes		Pear blister canker viroid	PBCVd

* The virus-like diseases listed are distinct symptoms whose causal agent is not known or, at most, only suspected. For other distinct symptoms that are now known to be caused by some of the pathogens listed, see Appendix II.

Les maladies dites analogues aux virus listées sont des symptômes distincts dont l'agent causal n'est pas connu ou est, au plus, soupçonné. Voir l'annexe II pour les autres symptômes distincts dont on sait désormais qu'ils sont provoqués par certains pathogènes listés.

† Apple dimple fruit viroid (ADFVd) belongs to the same genus as ASSVd. It has been found only once near Naples (IT), and insufficient information is available on testing to include it in this scheme.

Apple dimple fruit viroid (ADFVd) appartient au même genre qu'ASSVd. Il a été trouvé une seule fois près de Napoli (IT) et les informations sur les tests sont insuffisantes pour l'inclure dans le schéma.

kept throughout the period of testing under conditions ensuring freedom from infection by root contact or aerial vectors. They should be grown in sterilized growing medium. Individual candidate nuclear stock plants should be tested for the viruses, phytoplasmas and virus-like diseases specified in Table I by the methods mentioned in Appendices I and II. Only candidate nuclear stock plants giving a negative test result can be promoted to nuclear stock and transferred to the nuclear stock collection.

Sanitation procedure

For rootstock types for which none of the selected plants gave a negative test result, a number of the plants or descendants from them should be placed in pots for heat-treatment after a certain time (Appendix III). They should then be tested (as above) after one growing season, which allows time for any viruses present to multiply. For elimination of viroids, heat treatment alone is not always effective, and it may therefore be necessary to use alternative methods (Appendix III). Only plants giving a negative test result can be promoted to nuclear stock plants and transferred to the nuclear stock collection.

Inspection for other pests

All candidate nuclear stock (varieties and vegetatively produced

sont maintenues pendant la période de test dans des conditions garantissant l'absence d'infection par les contacts racinaires ou les vecteurs aériens. Les plantes doivent être cultivées dans un milieu de culture stérilisé. Chaque plante candidate au stade de stade initial doit être testée pour les virus, les phytoplasmes et les maladies analogues indiquées au tableau I par les méthodes mentionnées aux annexes I et II. Une plante candidate peut être considérée comme du stade initial et transférée dans la collection de stade initial seulement si elle donne des résultats négatifs aux tests.

Procédure d'amélioration sanitaire

Lorsqu'aucune des plantes sélectionnées pour un type de porte-greffe ne donne des résultats négatifs aux tests, le matériel est préparé pour thermothérapie en plaçant certaines plantes ou leur descendance en pots avant le début du traitement. Après traitement à la chaleur (annexe III), les plantes doivent être testées à nouveau (comme ci-dessus) après une période de végétation, ce qui permet aux virus présents de se développer. La thermothérapie seule n'est pas toujours efficace pour éliminer les viroïdes, et il peut donc être nécessaire d'utiliser des méthodes alternatives (annexe III). Seules les plantes qui donnent un résultat négatif aux tests peuvent être considérées comme du stade initial et transplantées dans la parcelle du stade initial.

Inspections portant sur d'autres organismes nuisibles

En dehors des maladies et des pathogènes mentionnés au Table I,

rootstocks) should, besides the diseases and pathogens mentioned in Table 1, be inspected for the presence of other pests that can be transmitted on propagating material. In particular, this should be done to ensure freedom from *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora* (OEPP/EPPPO, 1992), *Pseudomonas* spp., *Armillariella mellea*, *Chondrostereum purpureum*, *Glomerella cingulata*, *Pezizula malicorticis* and *P. alba*, *Nectria galligena*, *Phytophthora* spp., *Roestleria pallida*, *Verticillium* spp., *Quadraspidiotus perniciosus* and *Eriosoma lanigerum*.

3. Maintenance of the nuclear stock

The nuclear stock plants should be maintained under conditions ensuring freedom from (re)infection by root contact, pollen or aerial vectors, preferably in pots of sterilized growing medium in a suitably designed aphid-proof house. Some material of each source of each species, variety or rootstock type may be stored *in vitro* as a reserve stock, but any such material will need to be checked for agronomic characters, especially trueness to type, after leaving the *in vitro* conditions.

Flowering of the nuclear stock plants should be prevented to minimize infection, especially with *E. amylovora*. Trueness to type can be verified by observing fruiting on plants propagated from the nuclear stock but kept in a different place from the nuclear stock.

The plants should be inspected visually several times each year for symptoms of virus and virus-like diseases, and for the other pests mentioned in section 2. The plants should also be visually inspected each year for possible mutations. It is considered advisable to retest the individual nuclear stock plants at least once during the useful life of the plants for the pathogens in Table 1. Any plant giving a positive test result or showing symptoms of viruses, virus-like diseases or other pests mentioned in section 2 should be removed immediately from the nuclear stock collection.

4. Production of propagation stock

The nuclear stock should be multiplied in as few steps as possible to obtain the required quantity of propagation stock. Nuclear stock material should be budded or grafted onto rootstocks of equivalent certification status or onto seedling rootstocks produced under nuclear stock conditions. Propagation stock should be kept in fields isolated from potential sources of infection, particularly host plants of phytoplasmas or *E. amylovora*.

The propagation stock should be visually inspected each year for virus symptoms and for the other pests mentioned in section 2. It is advisable to retest randomly the propagation stock of *Malus* regularly for apple proliferation phytoplasma, especially in areas where the disease is prevalent. For *Pyrus*, in areas where pear decline phytoplasma is prevalent, it is advisable to retest the propagation stock randomly and then to test any plant suspected of being infected. Any infected plant should be removed and, if there is an indication that infection may have derived from the previous generation, it is advisable to remove all the plants in the lot and to retest the possible source plant.

Flowering of the trees may be needed to check pomological characteristics, but it should be noted that flowering can lead to

toutes les plantes candidates (variétés et porte-greffe multipliés par voie végétative) doivent aussi être inspectées pour détecter la présence d'autres organismes nuisibles pouvant être transmis sur du matériel de multiplication. Ces contrôles doivent porter en particulier sur l'absence d'*Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora* (OEPP/EPPPO 1992), *Pseudomonas* spp., *Armillariella mellea*, *Chondrostereum purpureum*, *Glomerella cingulata*, *Pezizula malicorticis* et *P. alba*, *Nectria galligena*, *Phytophthora* spp., *Roestleria pallida*, *Verticillium* spp., *Quadraspidiotus perniciosus* et *Eriosoma lanigerum*

3. Maintien du stade initial

Les plantes du stade initial doivent être maintenues dans des conditions garantissant l'absence de (re)contamination par les contacts racinaires, le pollen ou les vecteurs aériens, de préférence dans des pots contenant un milieu de culture stérilisé dans une serre 'aphid-proof'. Du matériel de chaque source de chaque espèce, variété ou type de porte-greffe peut être conservé *in vitro*, mais les caractéristiques agronomiques de ce matériel, en particulier la conformité au type, devront être vérifiées lorsqu'il quittera les conditions *in vitro*.

La floraison des plantes du stade initial doit être évitée pour minimiser les contaminations (en particulier par *E. amylovora*). La pureté variétale peut être vérifiée sur les fruits de plantes multipliées à partir du stade initial mais conservées séparément de celui-ci.

Les plantes doivent être inspectées plusieurs fois par an pour détecter les symptômes de virus et analogues, ainsi que les autres organismes nuisibles mentionnés à la section 2. Les plantes doivent aussi être inspectées visuellement tous les ans pour détecter d'éventuelles mutations. Il est conseillé de retester chaque plante du stade initial au moins une fois pendant la durée de vie utile des plantes pour détecter les pathogènes du Table 1. Toute plante donnant des résultats positifs aux tests ou présentant des symptômes de virus ou analogues aux virus, ou d'autres organismes nuisibles mentionnés à la section 2, doit être éliminée immédiatement du stade initial.

4. Production du stade de propagation

Les plantes du stade initial sont multipliées, avec le moins d'étapes possibles, pour obtenir une quantité suffisante de plantes du stade de propagation. Le matériel issu du stade initial est écussonné ou greffé sur des porte-greffe de statut équivalent dans la certification ou sur des plantules issues de semences produites dans les conditions du stade initial. Les plantes du stade de propagation doivent être conservées dans des parcelles isolées des sources potentielles de contamination, en particulier des plantes-hôtes de phytoplasmes ou d'*E. amylovora*.

Les plantes doivent être inspectées plusieurs fois par an pour détecter les symptômes de virus et analogues, ainsi que les autres organismes nuisibles mentionnés à la section 2. Il est conseillé de retester régulièrement, par sondage, les plantes de *Malus* du stade de propagation pour l'apple proliferation phytoplasma, principalement dans les zones où la maladie est répandue. Pour *Pyrus*, dans les zones où le pear decline phytoplasma est présent, il est conseillé de retester le stade de propagation par sondage, puis de tester toute plante soupçonnée d'être infectée. Toute plante infectée doit être éliminée et, s'il existe des indications que l'infection peut être issue de la génération précédente, il est conseillé de supprimer toutes les plantes du lot et de retester la plante source.

Il peut être nécessaire de laisser fleurir les arbres pour vérifier les caractéristiques pomologiques, mais il faut noter que la floraison

risk of infection by *E. amylovora*, especially in areas where this pathogen is prevalent. The plants should be inspected visually for possible mutations, especially the varieties for fruit colour, spur type and genetic disorders (chimeras, etc.). This is the first time that an assessment on fruits can be made, but it should be noted that the type of rootstock can affect fruit characteristics.

5. Production of certified plants

For the production of certified fruit trees, the scion material should be grafted or budded onto rootstocks of equivalent or higher certification status only. These plants should be kept in fields isolated from potential sources of infection, particularly host plants of phytoplasmas or *E. amylovora*. To be certified, the plants should be inspected by the official organization for symptoms of viruses, virus-like diseases or any of the pests mentioned in section 2. Any plants showing symptoms should be removed, and certification may be granted to the remainder.

Administration of the certification scheme

Monitoring of the scheme

An official organization should be responsible for the administration and monitoring of the scheme. If officially registered nurseries carry out the different stages of the scheme, the official organization should confirm that all necessary tests and inspections have been performed during production, and should verify the general health status of the plants in the scheme by visual inspections. Otherwise, certification will not be granted and/or the plants concerned will not be permitted to continue in the certification scheme.

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. The use of propagation material in nurseries to produce certified plants should be checked by an official or officially authorized organization that controls the health, origin and amount of such material on the basis of field inspections and of the records and documents presented by the nursery. The nursery plant protection programme and the check inspections should also take account of other important pests that can affect quality, so that the certified plants delivered to the fruit grower are substantially free from these pests. Certified fruit-tree material for export should in any case satisfy the phytosanitary regulations of importing countries.

Certified plants leaving the scheme should carry an official certificate (which may be a label) indicating the certifying authority, the plant producer and the certification status of the plants.

APPENDIX I Guidelines on testing procedures

1. Testing on woody indicators (field and glasshouse)

The use of woody indicators is still a compulsory step in any

augmente le risque d'infection par *E. amylovora*, surtout dans les zones où ce pathogène est répandu. Les plantes doivent être inspectées visuellement pour détecter les mutations éventuelles, surtout les variétés pour la couleur des fruits, le nanisme et les troubles génétiques (chimères, etc.). Noter que c'est la première fois dans le schéma qu'une évaluation des fruits peut être réalisée, et que le type de porte-greffe peut influencer les caractéristiques des fruits.

5. Production de plantes certifiées

Pour la production d'arbres fruitiers certifiés, les scions doivent être greffés ou écussonnés sur des porte-greffe de statut équivalent ou plus élevé dans la certification. Ces plantes doivent être maintenues dans des parcelles isolées des sources potentielles d'infection, en particulier les plantes-hôtes de phytoplasmes et d'*E. amylovora*. Pour être certifiées, les plantes doivent être inspectées par l'organisation officielle pour détecter les symptômes de virus et analogues, ainsi que les autres organismes nuisibles mentionnés à la section 2. Toute plante présentant des symptômes doit être éliminée et la certification peut être accordée au restant.

Administration du schéma de certification

Supervision du schéma

L'organisation officielle est responsable de l'administration et de la supervision du schéma. Si les différents stades du schéma sont réalisés par des pépinières agréées, l'organisation officielle doit confirmer que tous les tests et inspections nécessaires ont été effectués pendant la production, et doit vérifier l'état sanitaire général des plantes du schéma par des inspections visuelles. Sinon, la certification ne sera pas accordée et/ou les plantes concernées ne pourront pas rester dans le schéma de certification.

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

Tout au long de la procédure, l'origine de chaque plante doit être connue afin de pouvoir retrouver l'origine de tout problème phytosanitaire ou de conformité au type. L'utilisation dans les pépinières de plantes du stade de propagation destinées à produire des plantes certifiées doit être supervisée par une organisation officielle ou officiellement reconnue qui contrôle l'état sanitaire, l'origine et la quantité de ce matériel, en se basant sur les inspections au champ, les rapports et les documents présentés par les pépiniéristes. Le programme de protection phytosanitaire des pépinières et les inspections doivent prendre en compte les autres organismes nuisibles importants qui affectent la qualité, de façon à ce que les plantes certifiées vendues au producteur en soient pratiquement indemnes. Le matériel certifié d'arbres fruitiers destiné à l'exportation doit, dans tous les cas, répondre aux exigences phytosanitaires des pays importateurs.

Les plantes certifiées quittant le schéma doivent porter un certificat officiel (pouvant être une étiquette) pour indiquer l'autorité responsable de la certification, le producteur et le statut de certification des plantes.

ANNEXE I Directives sur les procédures de test

1. Tests sur indicateurs ligneux (en plein champ ou sous serre)

L'utilisation d'indicateurs ligneux reste une étape obligatoire dans

Table 2. Methods for detection of viruses of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*
Méthodes de détection des virus de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia*

Apple chlorotic leaf spot trichovirus (ACLSV)	
Woody tests (field) for <i>Malus</i> /Tests ligneux (plein champ) pour <i>Malus</i>	<i>Malus platycarpa</i> (3/-2 y) (chlorotic rings and line pattern on leaves/anneaux et arabesques chlorotiques sur les feuilles) and/et <i>Malus sylvestris</i> R 12740 7A (3/-2 y) (terminal dieback, leaf distortion/dépérissement terminal, déformation des feuilles)
Woody tests (field) for <i>Pyrus</i> / <i>Cydonia</i> /Tests ligneux (plein champ) pour <i>Pyrus</i> / <i>Cydonia</i>	<i>Pyronia veitchii</i> (3/-2 y) (ring and line pattern mosaic) <i>Cydonia oblonga</i> C7/1 (3/-2 y) (ring and line pattern mosaic/mosaïque en anneaux et arabesques) A20 (3/-2 y) (ring and line pattern mosaic/mosaïque en anneaux et arabesques) Beurré Hardy (3/-2 y) (ring and line pattern mosaic/mosaïque en anneaux et arabesques) <i>Pyronia veitchii</i> (3/-2 y) (ring and line pattern mosaic/mosaïque en anneaux et arabesques)
Woody tests (glasshouse) for <i>Malus</i> /Tests ligneux (serre) pour <i>Malus</i>	<i>Malus platycarpa</i> (3/20/8 w) (chlorotic rings and line pattern on leaves/anneaux et arabesques chlorotiques sur les feuilles) and/et <i>Malus sylvestris</i> R 12740 7A (3/22/4 w) (terminal dieback, leaf distortion/dépérissement terminal, déformation foliaire)
Woody tests (glasshouse) for <i>Pyrus</i> / <i>Cydonia</i> /Tests ligneux (serre) pour <i>Pyrus</i> / <i>Cydonia</i>	Nouveau Poiteau (3/22/10 w) (ring and line pattern mosaic/mosaïque en anneaux et arabesques)
Herbaceous tests/Tests herbacés	<i>Chenopodium quinoa</i> , <i>C. amaranticolor</i> , <i>Nicotiana occidentalis</i> '37B'
Serological or molecular tests/Tests sérologiques ou moléculaires	ELISA, RT-PCR, IC-RT-PCR.
Natural transmission/Transmission naturelle	Unknown/Inconnue
Apple mosaic ilarvirus (ApMV)	
Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious(3/-2 y) (chlorotic mosaic on leaves/mosaïque chlorotique sur les feuilles)
Woody tests (glasshouse)/Tests ligneux (serre)	Lord Lambourne (3/-2 y) (chlorotic mosaic on leaves/mosaïque chlorotique sur les feuilles)
Herbaceous tests/Tests herbacés	No indicator recommended/pas d'indicateur recommandé
	Over 65 herbaceous plant species in 19 families are susceptible to mechanical inoculation. Among these are <i>Chenopodium quinoa</i> , <i>C. amaranticolor</i> , <i>Cucumis sativus</i> , <i>Cucurbita maxima</i> , <i>Nicotiana clevelandii</i> , <i>Petunia hybrida</i> . However, transmission to herbaceous indicators can be difficult/Plus de 65 espèces végétales herbacées appartenant à 19 familles sont sensibles à l'inoculation mécanique, parmi lesquelles <i>Chenopodium quinoa</i> , <i>C. amaranticolor</i> , <i>Cucumis sativus</i> , <i>Cucurbita maxima</i> , <i>Nicotiana clevelandii</i> , <i>Petunia hybrida</i> . Cependant, la transmission à des indicateurs herbacés peut être difficile
	ELISA
	Unknown/Inconnue
Serological or molecular tests/Tests sérologiques ou moléculaires	
Natural transmission/Transmission naturelle	
Apple stem-grooving capillovirus (ASGV)	
Woody tests(field) for <i>Malus</i> /Tests ligneux (plein champ) pour <i>Malus</i>	Virginia Crab (3/-3 y) (necrotic grooves on woody cylinder/sillons nécrotiques sur le cylindre du bois)
Woody tests (field) for <i>Pyrus</i> / <i>Cydonia</i> /Tests ligneux (plein champ) pour <i>Pyrus</i> / <i>Cydonia</i>	Virginia Crab (3/-3 y) (necrotic grooves on woody cylinder/sillons nécrotiques sur le cylindre du bois) <i>Pyronia veitchii</i> (3/-3 y) (necrotic grooves on woody cylinder/sillons nécrotiques sur le cylindre du bois)
Woody tests (glasshouse) for <i>Malus</i> /Tests ligneux (serre) pour <i>Malus</i>	Virginia Crab (3/26/4 w) (necrotic grooves on woody cylinder/sillons nécrotiques sur le cylindre du bois) <i>Malus micromalus</i> GMAL273 (4/26-32/4 w) (chlorotic/necrotic spots, epinasty, stem necrosis/taches chlorotiques/nécrotiques, épinastie, nécrose des tiges)
Woody tests (glasshouse) for <i>Pyrus</i> / <i>Cydonia</i> /Tests ligneux (serre) pour <i>Pyrus</i> / <i>Cydonia</i>	Virginia Crab (3/26/8w) (necrotic grooves on woody cylinder/sillons nécrotiques sur le cylindre du bois)
Herbaceous tests/Tests herbacés	<i>Chenopodium quinoa</i>
Serological or molecular tests/Tests sérologiques ou moléculaires	ELISA, RT-PCR
Natural transmission/Transmission naturelle	Unknown/Inconnue

Table 2 (continued)

Apple stem-pitting foveavirus (ASPV)	<i>Pyronia veitchii</i> (3/-2 y) (pits in the xylem)
Woody tests (field) for <i>Malus</i> /Tests ligneux (plein champ) pour <i>Malus</i>	Spy 227 (3/-2 y) (epinasty and decline/épinastie et dépérissement) and/et Virginia Crab (3/-3 y) (pits in the xylem/xylème piqué)
Woody tests (field) for <i>Pyrus/Cydonia</i> /Tests ligneux (plein champ) pour <i>Pyrus/Cydonia</i>	Jules d'Arolles (3/-2 y) (vein yellows/red mottling along the veins/jaunisse des nervures/marbrures rouges le long des nervures) <i>Pyronia veitchii</i> (3/-2 y) (pits in the xylem) Virginia Crab (3/-3 y) (pits in the xylem)
Woody tests (glasshouse) for <i>Malus</i> /Tests ligneux (serre) pour <i>Malus</i>	<i>Pyronia veitchii</i> (3/22/8 w) (pits in the xylem/xylème piqué) Spy 227 (3/24/12 w) (epinasty and decline/épinastie et dépérissement) Virginia Crab (3/26/4 w) (pits in the xylem/xylème piqué)
Woody tests (glasshouse) for <i>Pyrus/Cydonia</i> /Tests ligneux (serre) pour <i>Pyrus/Cydonia</i>	<i>Pyronia veitchii</i> (3/22/8 w) (pits in the xylem/xylème piqué)
Herbaceous tests/Tests herbacés	Virginia Crab (3/26/8 w) (pits in the xylem/xylème piqué) <i>Nicotiana occidentalis</i> ssp. <i>obliqua</i> <i>Nicotiana occidentalis</i> '37B'
Serological or molecular tests/Tests sérologiques ou moléculaires	RT-PCR, IC-RT-PCR
Natural transmission/Transmission naturelle	Unknown

certification programme. This is because there are diseases, some of major importance, which can only be identified on woody differential hosts. The method consists of graft-inoculating indicator plants with budwood from candidate nuclear stock plants or plants suspected to be infected and observing the new growth and/or fruits on the indicator plants for symptoms; such symptoms are normally specific and highly diagnostic for many diseases.

If testing is conducted in a glasshouse, heating and cooling facilities (temperature range 18–25 °C) should be available in order to ensure correct temperatures for symptom expression (Appendix II). At least three plants from each indicator should be used in the glasshouse. Indicators maintained in the field (3–5 plants for each) should be observed for at least 2 years or, for some diseases, for at least two fruiting periods (4–5 years).

2. Testing on herbaceous hosts (glasshouse)

The use of herbaceous indicators allows detection of mechanically transmissible viruses, including those of minor importance. The method should be regarded as a complement to, but not as a substitute for, other diagnostic procedures. It may be useful, for example, for preliminary screening or for random testing. Herbaceous tests should be conducted in a glasshouse, with heat and cooling facilities (temperature range 18–25 °C). At least five plants for each indicator should be used.

3. ELISA testing

The ELISA method allows large-scale testing for fruit-tree viruses for which polyclonal and/or monoclonal antisera are available. However, there are certain limitations in any antibody technique, such as the fact that some viruses may exist in very low concentrations in the tree, may be irregularly distributed or be seasonally undetectable.

4. PCR

The polymerase chain reaction (PCR) can be used for the detection of

tous les programmes de certification car certaines maladies d'importance majeure ne peuvent être identifiées que sur des hôtes différentiels ligneux. La méthode consiste à inoculer par greffage les plantes indicatrices, en utilisant un greffon ou chip (lambeau d'écorce) prélevé sur les plantes candidates ou suspectes, puis à observer l'apparition de symptômes sur les nouvelles pousses et/ou les fruits des plantes indicatrices; ces symptômes sont généralement spécifiques et très caractéristiques pour la plupart des maladies.

Si le test a lieu sous serre, la température doit être modulable (gamme de température 18–25 °C), afin de pouvoir placer les plantes à une température qui permet l'expression des symptômes (Annexe II). Il faut utiliser dans la serre au moins trois plantes de chaque indicateur. Les indicateurs maintenus en plein champ (3–5 plantes pour chacun) doivent être observés pendant au moins deux ans ou, pour certaines maladies, pendant au moins deux périodes de fructification (4–5 ans).

2. Inoculation à des hôtes herbacés (sous serre)

L'utilisation d'indicateurs herbacés permet de détecter les virus transmissibles mécaniquement, y compris ceux d'importance mineure. Cette méthode doit toutefois être considérée comme un complément aux autres méthodes de diagnostic, et elle ne les remplace pas. Elle peut être utile, par exemple, pour un premier criblage ou pour des tests par sondage. Les tests sur des plantes herbacées doivent être effectués dans une serre où la température est modulable (gamme de température 18–25 °C). Il faut utiliser au moins cinq plantes de chaque indicateur.

3. Tests ELISA

La méthode ELISA permet d'effectuer à grande échelle des tests sur les virus des arbres fruitiers pour lesquels des antisérums polyclonaux et/ou monoclonaux sont disponibles. Il doit toutefois faire face aux limites inhérentes à toute technique sérologique, comme le fait que certains virus peuvent être présents dans l'arbre à très faible concentration, qu'ils peuvent avoir une distribution inégale ou ne pas être détectés à certaines périodes de l'année.

4. PCR

La PCR (polymerase chain reaction) peut être utilisée pour

some viruses, viroids and apple proliferation and pear decline phytoplasmas; it can also detect the virus-like diseases spy epinasty and decline and platycarpa scaly bark. Serological and molecular tests can be combined to increase the sensitivity of each method on its own, e.g. immunocapture PCR (IC-RT-PCR).

5. Molecular hybridization

Molecular hybridization can be used for the detection of viroids and some viruses.

6. DAPI

The DAPI method (using fluorescent microscopy after staining with the nucleic acid dye 4,6-diamino-2-phenylindole) allows rapid small-scale testing for phytoplasma diseases but is not as sensitive as PCR.

APPENDIX II Guidelines on virus or disease detection

Introduction

The methods for detection are specified in Tables 2–5 for each virus or disease under the headings:

- woody tests (field) = tests on woody indicators in the field;
- woody tests (glasshouse) = tests on woody indicators in the glasshouse;
- herbaceous tests = glasshouse testing on herbaceous indicators;
- serological or molecular tests = the use of ELISA, reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), immunocapture PCR (IC-RT-PCR), molecular hybridization;
- microscopy = DAPI test or electron microscopy.

For the woody tests, the indicators are listed, followed by figures between brackets representing number of replicates, the temperature in

détecter certain virus et viroïdes, l'apple proliferation phytoplasma et le pear decline phytoplasma; elle peut également détecter certains analogues aux virus (spy epinasty and decline, platycarpa scaly bark). Des tests sérologiques et moléculaires peuvent être combinés pour augmenter la sensibilité de chaque méthode prise séparément, par ex. immunocapture PCR (IC-RT-PCR).

5. Hybridation moléculaire

L'hybridation moléculaire peut être utilisée pour détecter les viroïdes et certains virus.

6. DAPI

La méthode DAPI (utilisant la microscopie à fluorescence après coloration au 4,6-diamino-2-phenylindole) permet des tests rapides à petite échelle pour les phytoplasmes mais n'est pas aussi sensible que la PCR.

ANNEXE II Directives sur la détection des virus et maladies

Introduction

Les méthodes de détection sont spécifiées aux Tableaux 2–5 pour chaque virus ou maladie sous les titres suivants:

- tests sur ligneux (plein champ) = tests sur indicateurs ligneux en plein champ;
- tests sur ligneux (serre) = tests sur indicateurs ligneux sous serre;
- tests sur herbacés = tests sous serre sur des indicateurs herbacés;
- tests sérologiques ou moléculaires = utilisation d'ELISA, RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction), IC-RT-PCR (immunocapture PCR), hybridation moléculaire;
- microscopie = DAPI ou microscopie électronique.

Pour les tests sur ligneux, les indicateurs sont listés, suivis de chiffres entre parenthèses indiquant le nombre de répétitions, la

Table 3. Methods for detection of phytoplasmas
Méthodes pour la détection des phytoplasmes

Apple proliferation phytoplasma Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious*, use three buds (5/-2 y) (witches' brooms, enlarged stipules/balais de sorcière, stipules agrandis)
Serological or molecular tests/Tests sérologiques ou moléculaires	PCR
Microscopy/Microscopie	DAPI
Natural transmission/Transmission naturelle	Possibly by leafhoppers/peut-être par des cicadelles
Pear decline phytoplasma Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Doyenné du Comice or/ou <i>Pyronia veitchii</i> (3/-2 y) (leaf curl, early autumn coloration of leaves/enroulement foliaire, coloration des feuilles tôt en automne) (on pear seedling rootstock; three buds/sur porte-greffe de poirier issu de semence; trois bourgeons)
Serological or molecular tests/Tests sérologiques ou moléculaires	PCR
Microscopy/Microscopie	DAPI
Natural transmission/Transmission naturelle	Pear psyllids/psylles du poirier

*There are doubts about the reliability of Golden Delicious to detect apple proliferation phytoplasma and, therefore, PCR is recommended as the most sensitive test./Des doutes ont été exprimés sur la fiabilité de Golden Delicious pour la détection de l'apple proliferation phytoplasma; par conséquent, la PCR est le test le plus sensible et est donc recommandée.

Table 4. Methods for detection of viroids

Apple dapple apple (ADAVd)	
Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious (3/-/3 c) (pale circular spots, that stand out against the colour of the fruits/ taches circulaires pâles qui contrastent avec la couleur des fruits)
Apple scar skin viroid (ASSVd)	
Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious (3/-/3 c) (scar patches on fruit or pale green circular spots on fruits/marques ou taches circulaires vert pâle sur les fruits)
Pear blister canker viroid (PBCVd)	
Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	<i>Pyrus</i> A20 (3/-/3 y) (blister canker/cloques)

The diseases apple dapple apple and apple scar skin may be caused by molecular variants of the same agent (ASSVd). Hybridization and, in some cases, RT-PCR are ISHS-recommended laboratory tests for viroids. Les maladies apple dapple apple et apple scar skin sont peut-être causées par des variants moléculaires du même agent (ASSVd). L'hybridation et, dans certains cas, la RT-PCR, sont des tests de laboratoire recommandés par l'ISHS pour la détection des viroïdes.

°C (for glasshouse testing) and the duration of the test (d = days, w = weeks, y = years, c = fruit cropping years); then a short description of the symptoms is given. In general, testing on woody indicators in the field is always needed to establish virus freedom for nuclear stock, and a test on woody indicators is thus always specified. Tests on herbaceous indicators, serological tests, RT-PCR or DAPI are mainly used in screening candidate material rapidly and economically to eliminate infected plants or in the retesting of propagation stock.

The information on tests is mainly taken from the publications of the ISHS Working Group on Fruit Tree Viruses, which appear in *Acta Horticulturae* after every three-yearly meeting (Anon, 1998). Readers are advised to consult the most recent ISHS recommendations, where key references to techniques are also given, in particular for the PCR technique in which rapid technological development is taking place at present. The ISHS recommendations also include comments on the advantages and limitations of the methods. The EPPO Panel on Certification of Pathogen-tested Fruit Crops, reviewing the ISHS recommendations, has identified those woody indicators that, on the basis of its experience, it particularly recommends for effectiveness and ease of use. Nevertheless, this does not exclude the use of others that may be listed by the ISHS or found satisfactory by individuals under their own conditions.

APPENDIX III Guidelines on sanitation procedures

Thermotherapy

Because of the wide range of methods available for heat treatment of fruit crops depending on the type of material to be treated, details of methods are not provided here but can be obtained by reference to Anon (1970), Németh (1986) or Fridlund (1989).

In vitro methods for the elimination of virus and viroid infections

In general, *in vitro* methods should be applied with care for apple and pear varieties, as these methods may introduce genetic and/or phenotypic aberrations to a greater extent than traditional horticultural

température en °C (pour les tests sous serre) et la durée des tests (selon les mots anglais, d = jours, w = semaines, y = ans, c = années de culture) puis une brève description des symptômes est donnée. En général, les tests sur indicateurs ligneux en plein champ sont toujours nécessaires pour vérifier que le stade initial est indemne de virus, et un test sur indicateurs ligneux est donc toujours spécifié. Les tests sur indicateurs herbacés, tests sérologiques, RT-PCR et DAPI sont surtout utilisés pour réaliser un criblage rapide et économique du matériel candidat afin d'éliminer les plantes infectées, ou pour retester le stade de propagation.

Les informations sur les tests proviennent principalement des publications du Groupe d'étude de l'ISHS sur les virus des arbres fruitiers, qui sont publiées dans *Acta Horticulturae* après les réunions triennales (Anon, 1998). Les lecteurs sont invités à consulter les recommandations de l'ISHS les plus récentes, qui donnent également des références pour les techniques, en particulier pour la PCR qui se développe rapidement à l'heure actuelle. Les recommandations de l'ISHS comportent également des commentaires sur les avantages et les limitations des méthodes. Le Groupe d'experts OEPP sur la certification des cultures fruitières, en étudiant les recommandations de l'ISHS, a identifié les indicateurs ligneux qu'il recommande plus particulièrement, selon son expérience, pour leur efficacité et leur facilité d'utilisation. Néanmoins cela n'exclut pas l'utilisation d'autres indicateurs, recommandés par l'ISHS ou bénéficiant d'une expérience favorable dans les conditions locales.

ANNEXE III Méthodes d'amélioration sanitaire

Thermothérapie

De nombreuses méthodes peuvent être utilisées pour le traitement à la chaleur des cultures fruitières selon le type de matériel. Les détails des méthodes ne sont donc pas donnés ici, mais peuvent être trouvés dans les publications suivantes: Anon (1970), Németh (1986) ou Fridlund (1989).

Méthodes *in vitro* pour l'élimination des virus et des viroïdes

En général, les méthodes *in vitro* doivent être utilisées avec précaution pour les variétés de pommier et de poirier, car elles sont beaucoup plus susceptibles d'induire des aberrations génétiques ou

Table 5. Methods for detection of virus-like diseases
Méthodes pour la détection des analogues aux virus

*Apple bumpy fruit of Ben-Davis disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Lord Lambourne (5/-/3 c) (yellow leafspots, deformation of leaf blade/taches foliaires jaunes, déformation du limbe)
Apple chat fruit Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Lord Lambourne (5/-/3 c) (small, brownish-red fruit with dark green spots/fruits petits, brunâtres à rouges avec des taches vert sombre)
†Apple flat limb disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Gravensteiner (3/-/3 y) (flattening on shoots, causing deep furrows/aplatissement des pousses entraînant la formation de sillons profonds)
Apple green crinkle disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious (3/-/3 c) (dwarfed, malformed fruits/fruits petits et déformés)
*Apple horseshoe wound disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious (3/-/3 y) (horseshoe-shaped wounds on bark below or around buds/lésions en forme de fer à cheval sur l'écorce sous ou autour des bourgeons)
Apple rough skin disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Schone van Boskoop (3/-/3 c) (rough, corky spots on fruit skin, which often crack open/taches rugueuses et liégeuses sur la peau des fruits, qui souvent se crevasse) Golden Delicious [†] (3/-/3 c) (rough, corky spots on fruit skin/taches rugueuses et liégeuses sur la peau des fruits, qui souvent se crevasse)
Apple rubbery wood disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Lord Lambourne (5/-/3 y) (abnormal flexibility of stem and branches/flexibilité anormale de la tige et des branches)
Apple russet ring Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious (3/-/3 c) (brown, circular rings on fruits/anneaux bruns circulaires sur les fruits)
Apple russet wart disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious (3/-/3 c) (russet warts with necrotic spots on fruits/excroissances rugueuses et taches nécrotiques sur les fruits)
*Apple star crack disease Woody tests (field) Tests ligneux (plein champ)	Golden Delicious (3/-/3 c) (cracks on the fruit skin, reduction in size/crevasses sur la peau des fruits, réduction de leur taille)
Pear ring (pattern) mosaic	See/voir apple chlorotic leafspot trichovirus
Pear bark necrosis disease	See/voir pear bark split disease
Pear bark split disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Beurré Hardy (3/-/3 y) (bark scabby with cracks/écorce croûteuse et fendillée) <i>Pyrus</i> A20 (3/-/3 y) (bark scabby with cracks/écorce croûteuse et fendillée)
Pear blister canker disease	See/voir pear rough bark disease)
Pear rough bark disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Williams (3/-/3 y) (bark rough with blisters/écorce rugueuse et cloquée) Doyenné du Comice (3/-/2 y) (bark rough with blisters/écorce rugueuse et cloquée) <i>Pyrus</i> A20 (3/-/3 y) (bark rough with blisters/écorce rugueuse et cloquée)
Pear stony pit disease (apple stem-pitting virus?) Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	Beurré Hardy (3/-/3 c) (stony pits on fruits/marques pierreuses sur les fruits) Durondeau (3/-/3 c) (stony pits on fruits/marques pierreuses sur les fruits)
Pear vein yellows/red mottle	See/voir apple stem-pitting foveavirus
§ <i>Platycarpa</i> scaly bark disease Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	<i>Malus platycarpa</i> (3/-/2 y) (bark roughened and scaly, trees often dwarfed/écorce plus rugueuse et écaillée, arbres souvent rabougris) Other tests as for apple stem-pitting foveavirus/Autres tests comme pour l'apple stem pitting foveavirus

Table 5 (continued)

Quince sooty ringspot (apple stem-pitting?) Woody tests (field)/Tests ligneux (plein champ)	C 7/1 (3/-/2 y) (severe leaf epinasty, sooty ringspots on leaf, often die-back of shoots/épinastie sérieuse des feuilles, taches annulaires noires sur les feuilles, souvent dépérissement des pousses)
Quince yellow blotch (see apple rubbery wood disease) Woody tests (field) Tests ligneux (plein champ)	C 7/1 (3/-/2 y) (diffuse yellow blotches on leaf, longitudinal flat depression on stem/taches jaunes diffuses sur les feuilles, dépressions plates et longitudinales sur la tige)
[§] Spy epinasty and decline	Testing as for apple stem-pitting foveavirus/Mêmes tests que pour l'apple stem pitting foveavirus

* May be caused by the same agent as apple green crinkle disease/Peut être causé par le même agent qu'apple green crinkle disease.

† May be caused by the same agent as apple rubbery wood disease/Peut être causé par le même agent qu'apple rubbery wood disease.

‡ There is some evidence to indicate that Golden Delicious may not detect all strains/Des données suggèrent que Golden Delicious ne peut pas détecter toutes les souches.

[§] May be caused by apple stem-pitting foveavirus/Peut être causé par apple stem-pitting virus.

methods. Normally, heat treatment is the preferred method for the removal of viruses. Where viroid infections are involved, *in vitro* methods should be applied, as viroids in general are not susceptible to heat treatment. A general method is described by Zimmerman (1989). The normal procedure typically includes the following steps:

- 1 dissection of a meristem from lateral buds, preferably 0.3–0.5 mm;
- 2 shoot development for 6–12 weeks;
- 3 root development with a 3- to 4-week interval on fresh medium;
- 4 acclimatization of the explants in the glasshouse for several weeks;
- 5 retesting for virus and viroid infections after at least 1 year of growth, allowing the viruses and viroids present to develop;
- 6 retesting of pomological and dendrological characters.

Cultures can be stored at 4 °C for several months without subculturing. Apices can be freeze dried in liquid N₂ at –176 °C after dimethyl sulphoxide (DMSO) treatment or included in alginate pellets.

References/Références

- Anon (1970) *La Thermo-thérapie des Espèces Ligneuses*. Station des cultures fruitières et maraichères à Grand-Manil, Gembloux (BE).
- Anon (1998) Recommendations for pathogen detection. *Acta Horticulturae* **472**, 757–783.
- Fridlund P (1989) Thermo-therapy. In *Virus and Virus-like Diseases of Pome Fruits and Simulating Noninfectious Disorders* (ed. Fridlund P), pp. 284–295. Cooperative Extension, Washington State University, Pullman (US).
- Németh M (1986) *Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees*, pp. 135–139. Martinus Nijhoff, Dordrecht (NL).
- OEPP/EPPO (1992) EPPO Standards PM 3/40 *Erwinia amylovora* – sampling and test methods. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **22**, 225–231.
- OEPP/EPPO (1993) EPPO Standards 4/7(1) Certification schemes. Nursery requirements – recommended requirements for establishments participating in certification of fruit or ornamental crops. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **23**, 249–252.
- Zimmerman RH (1989) In *Virus and Virus-like Diseases of Pome Fruits and Simulating Noninfectious Disorders* (ed. Fridlund P), pp. 278–283. Cooperative Extension, Washington State University, Pullman (US).

phénotypiques que les méthodes traditionnelles. La thermo-thérapie doit en général être préférée pour éliminer les virus. En cas d'infection par des viroïdes, des méthodes *in vitro* doivent être appliquées car les viroïdes ne sont normalement pas sensibles aux traitements à la chaleur.

Une méthode générale est décrite par Zimmerman (1989). La procédure habituelle comprend généralement les étapes suivantes:

- 1 dissection d'un méristème à partir de bourgeons latéraux, de préférence 0.3–0.5 mm;
- 2 développement des pousses pendant 6–12 semaines;
- 3 développement des racines avec 3 ou 4 semaines d'intervalle sur milieu neuf;
- 4 acclimatation des explants sous serre pendant plusieurs semaines;
- 5 nouveau test de détection des virus et viroïdes après au moins une année de croissance, pour permettre aux virus et viroïdes présents de se développer;
- 6 nouveau test pour vérifier les caractères pomologiques et dendrologiques.

Les cultures peuvent être conservées à 4 °C pendant plusieurs mois sans qu'il soit nécessaire de faire des sous cultures. Les apex peuvent être congelés à l'azote liquide à –176 °C après traitement au diméthyl sulfoxyde (DMSO) ou inclus dans des billes d'alginate.

Schemes for the production of healthy plants for planting
Schémas pour la production de végétaux sains destinés à la plantation

Certification scheme for *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*
Certification sanitaire de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia*

Specific scope

This supplement to EPPO Standard PM 4/27 corrects and replaces Fig. 2.

Specific approval and amendment

Figure 2 corrected by the EPPO Panel on Certification Pathogen-tested Fruit crops in 2000.

Champ d'application spécifique

Ce supplément à la norme OEPP PM 4/27 corrigé et remplace sa Fig. 2.

Approbation et amendement spécifiques

Figure 2 corrigée par le Groupe d'experts de l'OEPP sur la certification sanitaire des cultures fruitières en 2000.

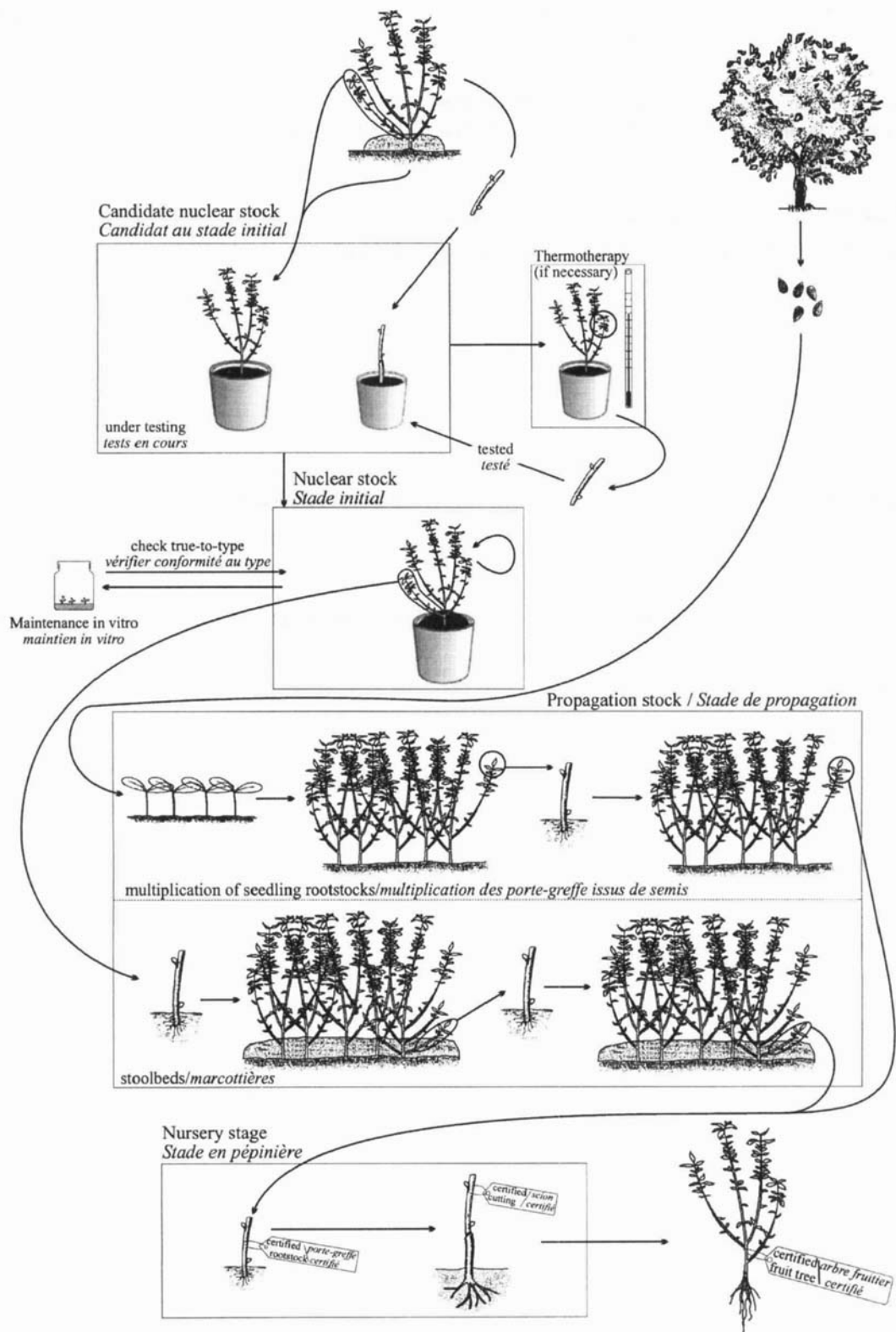


Fig. 2 Diagram of the stages in the certification scheme for *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*: rootstocks.
Fig. 2 Diagramme des stades du schéma de certification de *Malus*, *Pyrus* et *Cydonia*: porte-greffe.