

European and Mediterranean Plant Protection Organization
Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes

Normes OEPP EPPO Standards

Diagnostic protocols for regulated pests
Protocoles de diagnostic pour les organismes
réglementés

PM 7/7(1)



European and Mediterranean Plant Protection Organization
1, rue Le Nôtre, 75016 Paris, France

Approval

EPPO Standards are approved by EPPO Council. The date of approval appears in each individual standard. In the terms of Article II of the IPPC, EPPO Standards are Regional Standards for the members of EPPO.

Review

EPPO Standards are subject to periodic review and amendment. The next review date for this EPPO Standard 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 Diagnostic Protocols for Regulated Pests are intended to be used by National Plant Protection Organizations, in their capacity as bodies responsible for the application of phytosanitary measures to detect and identify the regulated pests of the EPPO and/or European Union lists.

In 1998, EPPO started a new programme to prepare diagnostic protocols for the regulated pests of the EPPO region (including the EU). The work is conducted by the EPPO Panel on Diagnostics and other specialist Panels. The objective of the programme is to develop an internationally agreed diagnostic protocol for each regulated pest. The protocols are based on the many years of experience of EPPO experts. The first drafts are prepared by an assigned expert author(s). They are written according to a 'common format and content of a diagnostic protocol' agreed by the Panel on Diagnostics, modified as necessary to fit individual pests. As a general rule, the protocol recommends a particular means of detection or identification which is considered to have advantages (of reliability, ease of use, etc.) over other methods. Other methods may also be mentioned, giving their advantages/disadvantages. If a method not mentioned in the protocol is used, it should be justified.

References

- EPPO/CABI (1996) *Quarantine Pests for Europe*, 2nd edn. CAB International, Wallingford (GB).
- EU (2000) Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products and against their spread within the Community. *Official Journal of the European Communities* L169, 1–112.

Approbation

Les Normes OEPP sont approuvées par le Conseil de l'OEPP. La date d'approbation figure dans chaque norme. Selon les termes de l'Article II de la CIPV, il s'agit de Normes régionales pour les membres de l'OEPP.

Révision

Les Normes OEPP sont sujettes à des révisions et des amendements périodiques. La prochaine date de révision de cette Norme 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 protocoles de diagnostic de l'OEPP pour les organismes réglementés sont destinés aux Organisations Nationales de Protection des Végétaux, en leur qualité d'autorités responsables de l'application de mesures phytosanitaires pour la détection et l'identification des organismes nuisibles réglementés des listes de l'OEPP et/ou de l'Union européenne.

L'OEPP a initié en 1998 un nouveau programme de préparation de protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés de la région OEPP (y compris l'UE). Le travail est réalisé par le Groupe d'experts OEPP sur le diagnostic et d'autres Groupes d'experts spécialisés. L'objectif du programme est de développer, pour chaque organisme nuisible réglementé, un protocole de diagnostic approuvé internationalement. Les protocoles reposent sur les nombreuses années d'expérience des experts de l'OEPP. La première version d'un protocole est préparée par un expert. Elle est rédigée suivant le 'format et contenu communs d'un protocole de diagnostic' approuvé par le Groupe d'experts sur le diagnostic, modifié, le cas échéant, dans les cas individuels. En règle générale, un protocole recommande un moyen de détection ou d'identification particulier considéré avoir des avantages sur les autres (du point de vue de la fiabilité, la facilité d'utilisation, etc.). D'autres méthodes sont parfois mentionnées, en précisant leurs avantages/inconvénients. Des justifications doivent être fournies si on utilise une méthode qui n'est pas mentionnée dans le protocole.

Références

- EPPO/CABI (1996) *Organismes de quarantaine pour l'Europe*, 2ème edn. CAB International, Wallingford (GB).
- FAO (1997) *Convention internationale pour la protection des végétaux* (nouveau texte révisé). FAO, Rome (IT).
- OEPP/EPPO (1999) Normes OEPP PM 1/2(8) Listes A1 et A2 d'organismes de quarantaine de l'OEPP. In: *Normes OEPP PMI Mesures phytosanitaires générales*, pp. 5–17. OEPP/EPPO, Paris (FR).

FAO (1997) *International Plant Protection Convention* (new revised text).
FAO, Rome (IT).
OEPP/EPPO (1999) EPPO Standards PM 1/2 (8): EPPO A1 and A2 lists of
quarantine pests. In *EPPO Standards PM1 General phytosanitary meas-
ures*, 5–17. OEPP/EPPO, Paris (FR).

Definitions

Regulated pest: a quarantine pest or regulated non-quarantine pest.

Quarantine pest: a pest of potential economic importance to the area
endangered thereby and not yet present there, or present but not widely
distributed and being officially controlled.

Outline of requirements

EPPO Diagnostic Protocols for Regulated Pests provide all the
information necessary for a named pest to be detected and positively
identified by a general expert (i.e. an entomologist, mycologist,
virologist, bacteriologist, etc.) but not necessarily a specialist on the
organism or its taxonomic group. Each protocol begins with some short
general information on the pest (its appearance, relationship with other
organisms, host range, effects on host, geographical distribution and
its identity) and then gives details on the detection, identification,
comparison with similar species, requirements for a positive diagnosis,
list of institutes or individuals where further information on that
organism can be obtained, references (on the diagnosis, detection/
extraction method, test methods).

Many protocols include laboratory tests involving the use of chem-
icals or apparatus which may present a certain hazard. In all cases, local
safety procedures should be strictly followed.

Named trade products have been shown to work in these protocols.
Other similar products may be equally effective.

Existing EPPO Standards in this series

Five EPPO diagnostic protocols have already been approved and
published. Each standard is numbered in the style PM 7/4 (1), meaning
an EPPO Standard on Phytosanitary Measures (PM), in series no. 7
(Diagnostic Protocols), in this case standard no. 4, first version. The
existing standards are:

- PP 7/1 (1) *Ceratocystis fagacearum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 41–44.
- PP 7/2 (1) *Tobacco ringspot nepovirus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 45–51.
- PP 7/3 (1) *Thrips palmi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 53–60.
- PP 7/4 (1) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 61–69.
- PP 7/5 (1) *Nacobbus aberrans*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 71–77.

UE (2000) Directive du Conseil 2000/29/EC du 8 mai 2000 concernant les
mesures de protection contre l'introduction dans la Communauté
d'organismes nuisibles aux végétaux ou aux produits végétaux et contre
leur propagation à l'intérieur de la Communauté. *Journal Officiel des
Communautés Européennes* L169, 1–112.

Définitions

Organisme nuisible réglementé: organisme de quarantaine ou organisme
réglementé non de quarantaine.

Organisme de quarantaine: organisme nuisible qui a une importance
potentielle pour l'économie de la zone menacée et qui n'est pas encore
présent dans cette zone ou bien qui y est présent mais n'y est pas
largement disséminé et fait l'objet d'une lutte officielle.

Vue d'ensemble

Les protocoles de diagnostic de l'OEPP pour les organismes
réglementés donnent toutes les informations nécessaires à la détection
et l'identification d'un organisme nuisible donné par un expert
généraliste (c'est à dire un entomologiste, mycologue, virologue,
bactériologiste, etc.), et pas nécessairement par un spécialiste de
l'organisme ou du groupe taxonomique. Chaque protocole débute avec
de brèves informations générales sur l'organisme nuisible (aspect,
relations avec d'autres organismes, gamme d'hôte, effets sur l'hôte,
répartition géographique et identité), puis donne des détails sur la
détection, l'identification la comparaison avec des espèces similaires,
les exigences pour un diagnostic positif, une liste d'instituts ou
d'individus susceptibles de fournir des informations supplémentaires
sur cet organisme, des références (sur le diagnostic, la méthode de
détection/extraction, les méthodes de test).

Ces protocoles font souvent appel à des analyses de laboratoire
basées sur l'utilisation de produits chimiques ou d'appareils qui peuvent
présenter un certain danger. Il est important, dans tous les cas, de suivre
rigoureusement les procédures locales de sécurité.

L'efficacité des produits commerciaux qui sont mentionnés dans les
protocoles est reconnue. D'autres produits similaires peuvent aussi être
efficaces.

Normes OEPP déjà existantes dans cette série

Cinq protocoles de diagnostic OEPP ont déjà été approuvés et publiés.
Chaque norme est individuellement numérotée: par exemple la norme
PM 7/4(1) est une Norme OEPP sur les mesures phytosanitaires (PM),
appartenant à la série 7 (protocoles de diagnostic); il s'agit dans ce cas
de la Norme 4, 1ère version. Les normes existantes sont:

- PP 7/1 (1) *Ceratocystis fagacearum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 41–44.
- PP 7/2 (1) *Tobacco ringspot nepovirus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 45–51.
- PP 7/3 (1) *Thrips palmi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 53–60.
- PP 7/4 (1) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 61–69.
- PP 7/5 (1) *Nacobbus aberrans*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 71–77.

Diagnostic protocols for regulated pests
Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés

Aleurocanthus spiniferus

Specific scope

This standard describes a diagnostic protocol for *Aleurocanthus spiniferus*.

Specific approval and amendment

First approved in 2001-09.

Introduction

Adult *Aleyrodidae* or whiteflies are minute insects, rarely more than 2 or 3 mm in length, that resemble tiny moths. The adults of both sexes are winged and the wings are covered with waxy powder. The adults are usually active whitish insects that feed on leaves. Worldwide, more than 1200 species have been described but whiteflies are most abundant in the tropics and subtropics. Several pest species have already been introduced into Europe. The damage is done directly by sucking sap from the leaves and indirectly by excreting copious amounts of honeydew, which coats leaf and fruit surfaces. Some species are important vectors of plant viruses or can induce physiological disorders.

Aleurocanthus spiniferus occurs throughout Asia and the Pacific, and has spread to parts of central and southern Africa. It is absent from Europe and the Mediterranean region. It is a rather polyphagous insect and its host plants include *Citrus*, *Pyrus* and *Vitis*. Heavy infestations of *A. spiniferus* may lead to tree mortality. For more general information about *A. spiniferus*, see EPPO/CABI (1997).

Identity

Name: *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903)

Synonyms: *Aleurodes citricola* Newstead, 1911

Aleurocanthus rosae Singh, 1931

Taxonomic position: Insecta, Hemiptera: Homoptera: *Aleyrodidae*, *Aleyrodinae*

Bayer computer code: ALECSN

Phytosanitary categorization: EPPO A1 list no. 186; EU Annex designation II/A1 (*Aleurocanthus* spp.)

Detection

Citrus spp. are the main hosts of economic importance but *A. spiniferus* has been recorded on other crops, for example grapevine (*Vitis*

Champ d'application spécifique

Cette norme décrit un protocole de diagnostic pour *Aleurocanthus spiniferus*.

Approbation et amendement spécifiques

Approbation initiale en 2001-09.

Introduction

Les *Aleyrodidae* adultes (aleurodes ou mouches blanches) sont de petits insectes mesurant rarement plus de 2 ou 3 mm de longueur et qui ressemblent à de petits papillons. Les adultes des deux sexes ont des ailes couvertes de poudre cireuse. Ils sont des insectes généralement actifs et blanchâtres qui s'alimentent sur les feuilles. Plus de 1200 espèces ont été décrites dans le monde, mais les aleurodes sont plus abondants dans les régions tropicales et subtropicales. Plusieurs aleurodes ravageurs ont déjà été introduits en Europe. Les dégâts directs sont dus au prélèvement de sève et les dégâts indirects sont dus à l'excrétion d'une grande quantité de miellat qui recouvre la surface des feuilles et des fruits. Certaines espèces sont des vecteurs importants de virus phytopathogènes ou peuvent induire des troubles physiologiques chez les plantes.

Aleurocanthus spiniferus est présent dans l'ensemble de la zone Asie et Pacifique et s'est disséminé à toutes les régions d'Afrique du centre et du sud. Il n'est pas présent en Europe et dans la région méditerranéenne. *A. spiniferus* est relativement polyphage. *Citrus*, *Pyrus* et *Vitis* figurent parmi ses plantes-hôtes. Les fortes infestations d'*A. spiniferus* entraînent parfois la mort des arbres. Pour plus d'informations générales sur *A. spiniferus*, voir EPPO/CABI (1997).

Identité

Nom: *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903)

Synonymes: *Aleurodes citricola* Newstead, 1911, *Aleurocanthus rosae* Singh, 1931

Classement taxonomique: Insecta, Hemiptera: Homoptera: *Aleyrodidae*, *Aleyrodinae*

Code informatique Bayer: ALECSN

Catégorisation phytosanitaire: Liste A1 de l'OEPP no. 186; Désignation Annexe UE II/A1 (*Aleurocanthus* spp.)

Détection

Les *Citrus* spp. sont les principales plantes-hôtes d'importance économique mais *A. spiniferus* a été signalé sur d'autres cultures, par

vinifera), guava (*Psidium guajava*), pear (*Pyrus* spp.), persimmon (*Diospyros kaki*) and rose (*Rosa* spp.). The pest is most likely to be found on the leaves of planting material or cut branches, but could also be found on fresh fruits.

Infested leaves are mainly found on the lower parts of trees. Egg spirals tend to be clumped on individual leaves and infested leaves tend to be aggregated on the tree. Highly infested leaves and fruits show spots of sticky, transparent honeydew, which become covered by sooty mould. Dense colonies of immature stages develop on the undersides of the leaves. The adults fly actively when disturbed.

Identification

A. spiniferus has six developmental stages: the egg stage, four nymphal instars and the adult. All stages are found on the leaves. The first instar is active, but subsequent immature instars are sessile and look like scales. The scale-like covering is a waxy secretion of the insect and has a rather characteristic appearance. The last nymphal instar is usually called a puparium, or pupal case when empty, and can be distinguished from other stages by the characteristic white wax fringe. Female pupae are about 1.23 mm long by 0.88 mm wide, male pupae are smaller.

Adult males of *A. spiniferus* are smaller than females and are up to 1.35 mm long, females are about 1.7 mm in length. In contrast to most other species of *Aleurocanthus*, the wings of adults of *A. spiniferus* are metallic grey-blue in appearance and light markings on the wings appear to form a band across the middle of the red abdomen. The eyes are reddish-brown and the antennae and legs are white with variable pale yellow markings. Corbett (1935) showed that specimens from *Rosa* sp. possess six pairs of submarginal spines posterior to transverse suture, whereas specimens from *Citrus* sp. show seven pairs, the fourth and fifth pairs being close together.

The genus *Aleurocanthus* comprises 68 species worldwide (Mound & Halsey, 1978; Martin, 1987). Although adult *Aleyrodidae* may have some identification characters to distinguish them from related species, taxonomy is based on the empty pupal cases and their derm (external surface) morphology. These characters can be adequately seen by microscope study at $\times 25$ of carefully processed slide-mounted specimens prepared according to the preparation procedure described by Martin (1999) (see Appendix I).

Bink-Moenen (1983) gives the following characters to distinguish pupal cases of *Aleurocanthus* from other genera:

- dorsal surface with strongly elongate disc pores which are shaped as elongate spines with pointed tips or slightly siphon-like with coronate tips;
- operculum and lingula tip filling more than half of vasiform orifice;
- antennae mesal to legs and at least partly overlapping legs;
- submargin or subdorsum without papillae or glands, or each papilla or gland correlated with a marginal tooth;
- margin apparently double-toothed;
- pair of abdominal tracheal folds absent;
- submargin not separated, or separated by a sclerotized line or by a fold; in the latter case, the fold is the same as the apparent margin;
- legs with two segments.

exemple vigne (*Vitis vinifera*), goyavier (*Psidium guajava*), poirier (*Pyrus* spp.), kaki (*Diospyros kaki*) et rosier (*Rosa* spp.). Ce ravageur est plus susceptible d'être trouvé sur les feuilles de matériel de plantation ou les rameaux, mais on le trouve également sur des fruits frais.

Les feuilles infestées sont situées principalement dans la partie inférieure des arbres. Les spirales d'oeufs sont en principe agglomérées sur des feuilles individuelles et les feuilles infestées sont en général regroupées dans l'arbre. Les feuilles et fruits fortement infestés présentent des taches de miellat collant et transparent qui se couvre de fumagines. Des colonies denses de stades immatures se développent à la face inférieure des feuilles. Les adultes s'envolent lorsqu'ils sont dérangés.

Identification

A. spiniferus a six stades de développement: l'oeuf, quatre stades larvaires et l'adulte. Tous les stades se trouvent sur les feuilles. Le premier stade larvaire est actif, mais les stades immatures suivants sont sessiles et ressemblent à des cochenilles. Ils sont recouverts d'une sécrétion cireuse produite par l'insecte, qui leur donne une apparence assez caractéristique. Le dernier stade larvaire est généralement appelé puparium, et devient l'exuvie nymphale lorsqu'il est vide. Il se distingue des autres stades par une frange cireuse blanche caractéristique. Les nymphes femelles mesurent environ 1,23 mm de longueur et 0,88 mm de largeur. Les nymphes mâles sont plus petites.

Les mâles adultes d'*A. spiniferus* sont plus petits que les femelles; ils mesurent jusqu'à 1,35 mm de longueur, contre environ 1,7 mm pour les femelles. Contrairement à la plupart des espèces d'*Aleurocanthus*, les ailes des adultes d'*A. spiniferus* sont de couleur gris-bleu métallique avec des marques claires donnant l'impression d'une bande en travers de l'abdomen rouge. Les yeux sont brun rougeâtre, et les antennes et les pattes sont blanches avec des marques jaune pâle variables. Corbett (1935) a montré que les spécimens prélevés sur rosier ont six paires d'épines submarginales postérieures à la suture transversale, tandis que les spécimens prélevés sur *Citrus* spp. en ont sept (avec la quatrième et la cinquième rapprochées).

Le genre *Aleurocanthus* comprend 68 espèces dans le monde (Mound & Halsey, 1978; Martin, 1987). Les critères d'identification des *Aleyrodidae* adultes permettent parfois de les distinguer des autres espèces, mais la taxonomie repose sur les exuvies nymphales vides et la morphologie de leur derme (surface externe). Ces caractères peuvent être observés au grossissement $\times 25$ sur des spécimens montés sur lame et préparés avec précaution selon la procédure décrite par Martin (1999) (voir Annexe I).

Bink-Moenen (1983) donne les caractères suivants pour distinguer les exuvies nymphales d'*Aleurocanthus* de celles des autres genres:

- surface dorsale portant de longues épines glandulaires, acérées ou légèrement en siphon avec des extrémités couronnées;
- operculum et extrémité de la lingule recouvrant plus de la moitié de l'orifice vasiforme;
- antennes mésales par rapport aux pattes, et chevauchant au moins partiellement les pattes;
- zone submarginale ou subdorsales sans papille ou glande, ou chaque papille ou glande correspondant à une dent marginale;
- bordure apparemment à deux rangées de dents;
- paire de plis trachéens abdominaux absente;
- zone submarginale non séparée ou séparée par une ligne sclérotisée ou un pli; dans ce cas, le pli est le même que la marge apparente;
- pattes à deux articles.

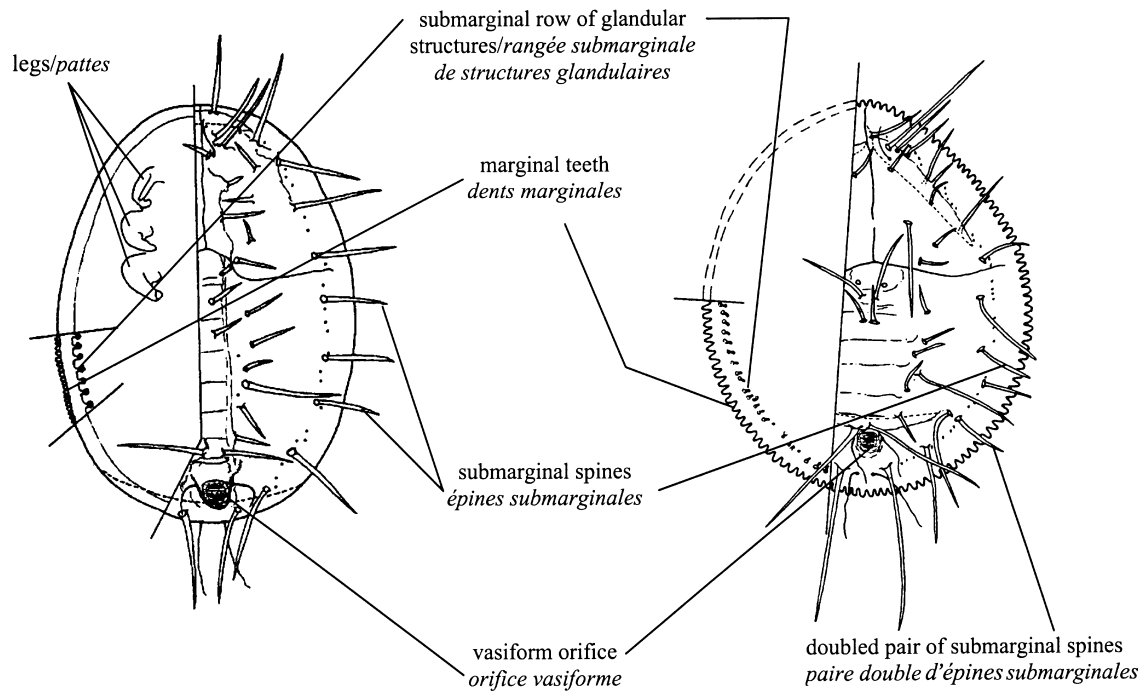


Fig. 1 Pupal cases of *Aleurocanthus spiniferus* (left) and *A. woglumi* (right) (with the permission of J.H. Martin).
Exuvies nymphales d'*Aleurocanthus spiniferus* (gauche) et d'*A. woglumi* (droite) (avec la permission de J.H. Martin).

Aleurocanthus spiniferus (Fig. 1) can be recognized by the combination of the following characters of the pupal case (Bink-Moenen, 1983; Martin, 1987):

- cuticle brown to black;
- venter smooth, with at most a single submarginal row of elliptical structures;
- 11 or 12 marginal teeth per 0.1 mm of margin;
- tips of elongate spines pointed;
- submarginal row of stout spines normally of 11 pairs which are all similar in length;
- elongate spines (almost) smooth;
- cuticle of outer submargin concolorous with, or darker than, remainder of pupal case.

Comparison with similar species

Pupae are very similar in appearance to those of the related *A. woglumi*, which differ in having coarser marginal teeth (less than 7 per 0.1 mm) and in the spines of the submarginal row, which have some pairs much longer than others, the third hindmost pair usually being doubled.

Requirements for a positive diagnosis

The procedures for detection and identification described in this protocol should have been followed. The characters of the pupal case should conform with those described above for *Aleurocanthus* species and for *A. spiniferus*; in particular, 11-12 marginal teeth per 0.1 mm of margin should be present to distinguish this species from *A. woglumi*.

Aleurocanthus spiniferus (Fig. 1) peut être distingué des autres espèces d'*Aleurocanthus* par la combinaison des caractères suivants de l'exuvie nymphale (Bink-Moenen, 1983; Martin, 1987):

- cuticule brune à noire;
- face ventrale lisse avec au plus une rangée submarginale de structures elliptiques;
- 11 ou 12 dents marginales par 0,1 mm de marge;
- extrémité des longues épines pointue;
- rangée submarginale comprenant normalement 11 paires de fortes épines de même longueur;
- longues épines (presque) lisses;
- cuticule submarginale externe de la même couleur ou plus sombre que le reste de l'exuvie nymphale.

Comparaison avec des espèces similaires

Les nymphes sont en apparence très similaires à celles de l'espèce apparentée *A. woglumi*, qui diffère par ses dents marginales plus grosses (moins de 7 par 0,1 mm), par certaines paires d'épines de la rangée submarginale plus longues que d'autres, et par la troisième paire postérieure généralement doublée.

Exigences pour un diagnostic positif

Les procédures de détection et d'identification décrites dans ce protocole doivent avoir été suivies. Les caractères de l'exuvie nymphale doivent être conformes à ceux décrits ci-dessus pour les espèces d'*Aleurocanthus* et pour *A. woglumi*; en particulier, il doit y avoir 11-12 dents marginales par 0,1 mm de marge pour distinguer cette espèce d'*A. woglumi*.

Report on the diagnosis

A report on the execution of the protocol should include:

- information on the origin of the infested material;
- an indication of the magnitude of the infestation (how many individual pests found; how much damaged tissue);
- measurements and drawings or photographs of the pupal case;
- comments on the certainty or uncertainty of the identification.

Preserved specimens of the pest should be retained.

Appendix I

Preparation for microscopic examination (changed after Martin, 1999)

- 1 The body contents are macerated by warming to around 80 °C in a 10% potassium hydroxide solution for 5–10 min, until visible contents have become translucent. Excess macerant is decanted.
- 2 The cuticle is de-waxed by gently warming specimens in a medium such as carbol-xylol (xylene with 10% dissolved phenol), carboclear (clear with dissolved phenol) or chloral-phenol (equal weights of phenol and chloral hydrate warmed to liquefy and remaining liquid when cooled). The de-waxing fluid is decanted.
- 3 If the puparia are black, they should be rinsed in strong alcohol and the cuticle then partially bleached by immersing in a freshly prepared mixture of cold strong ammonia and 30-volume hydrogen peroxide solutions. Bleaching should be monitored as it can be very rapid, and may be stopped quickly by adding a few drops of a water-soluble acid.
If the puparia are pale, they should be stained by adding an excess of glacial acetic acid or acid alcohol and a few drops of acid fuchsin stain solution, and leaving in the cold for a few minutes. Staining may fail if de-waxing has been inadequate.
- 4 The bleach or stain is decanted and the specimens are twice rinsed in glacial acetic acid or 95% ethanol.
- 5 The specimens are finally dehydrated by soaking in glacial acetic acid or absolute alcohol for a few minutes, and the dehydration fluid is decanted.
- 6 The specimens are cleared by adding a few drops of clove oil or histoclear (for Canada balsam), euparal essence (for euparal) or an appropriate product for any alternative mountant, and then mounted in a drop of Canada balsam or chosen alternative mountant, with some specimens dorsum upwards and some venter upwards.
- 7 Slides should be adequately dried and permanently stored in a vertical position. With Canada balsam, slides may require up to two months at 35–45 °C.

Rapport sur le diagnostic

Le rapport sur la mise en oeuvre du protocole doit comporter:

- des informations sur l'origine du matériel infesté;
- une indication de l'importance de l'infestation (nombre d'individus trouvés, quantité de tissus endommagés);
- des mesures et des dessins ou photographies des exuvies nymphales;
- une appréciation de la certitude ou non de l'identification.

Des spécimens préservés de l'organisme nuisible doivent être conservés.

Annexe I

Préparation pour l'examen au microscope (modifié d'après Martin, 1999)

- 1 Faire macérer le contenu du corps en chauffant autour de 80 °C dans une solution d'hydroxyde de potassium 10% pendant 5–10 min, jusqu'à ce que le contenu visible soit devenu transparent. Décanter l'excès de liquide.
- 2 Éliminer la cire de la cuticule en chauffant doucement les spécimens dans un milieu tel que du xylène phéniqué (xylène contenant 10% de phénol dissout), de l'Histoclear phéniqué (Histoclear contenant du phénol dissout) ou du chloral phénol (poids égaux de phénol et d'hydrate de chloral chauffés pour les liquéfier et restant liquide après refroidissement). Décanter le liquide d'élimination de la cire.
- 3 Si les pupariums sont noirs, les rincer dans de l'alcool concentré puis blanchir partiellement la cuticule en l'immergeant dans un mélange fraîchement préparé d'une solution ammoniacale concentrée froide et d'eau oxygénée 30 volumes. La décoloration doit être surveillée car elle est parfois très rapide. Elle peut être stoppée rapidement en ajoutant quelques gouttes d'un acide soluble dans l'eau.
Si les pupariums sont clairs, les colorer en ajoutant un excès d'acide acétique glacial ou d'alcool acide et quelques gouttes de colorant (fuchsin acide). La coloration a lieu à froid et ne prend normalement que quelques minutes. Elle peut échouer si la cire n'a pas été correctement éliminée.
- 4 Décanter le liquide de (dé)coloration, et rincer les spécimens deux fois dans de l'acide acétique glacial ou de l'éthanol à 95%.
- 5 Déshydrater les spécimens en les trempant dans de l'acide acétique glacial ou de l'alcool absolu pendant quelques minutes. Décanter le liquide de déshydratation.
- 6 Éclaircir les spécimens en ajoutant quelques gouttes d'essence de girofle ou d'Histoclear (pour le baume du Canada), d'essence d'Euparal (pour l'Euparal) ou d'un produit adéquat pour toute autre substance de montage utilisée, et les monter dans une goutte de baume du Canada (ou autre produit), certains avec la face ventrale vers le haut et d'autres avec la face dorsale vers le haut.
- 7 Sécher les lames de manière appropriée et les stocker verticalement de façon permanente. Dans le cas du baume du Canada, il peut être nécessaire de les sécher jusqu'à deux mois à 35–45 °C.

Further information/Renseignements supplémentaires

Further information on this organism can be obtained from:/Des renseignements supplémentaires sur cet organisme peuvent être obtenus auprès de:

Invertebrate Identification Team, Central Science Laboratory, MAFF, Sand Hutton, York YO41 1LZ (UK)

Plant Protection Service, Section of Entomology, P.O.Box 9102, 6700HC, Wageningen (Netherlands)

British Museum of Natural History, Entomology Department, London (UK)

Acknowledgements/Remerciements

This protocol was originally drafted by:/Ce protocole a été initialement préparé par:

M.G.M. Jansen, Plant Protection Service, Section of Entomology, Wageningen (Netherlands)

References/Références

Bink-Moenen RM (1983) Revision of the African Whiteflies (Aleyrodidae), mainly based on a collection from Tchad. *Monografieën van de Nederlandse Entomologische Vereniging* **10**, 1–210.

Corbett GH (1935) Malayan Aleurodidae. *Journal of the Federated Malay States Museums* **17**, 722–852.

EPPO/CABI (1997) *Aleurocanthus spiniferus*. In *Quarantine Pests for Europe*, 2nd edn, pp. 21–24. CAB International, Wallingford (GB).

Martin JH (1987) An identification guide to common whitefly pest species of the world (Homoptera, Aleyrodidae). *Tropical Pest Management* **33**, 298–322.

Martin JH (1999) The whitefly fauna of Australia (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). A taxonomic account and identification guide. *CSIR Entomology Technical Paper* **38**, 1–197.

Mound LA & Halsey SH (1978) *Whitefly of the World*. British Museum (Natural History), London & Wiley, Chichester (GB).