

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 7/10(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 measures*, 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 chemicals 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**

## ***Cacyreus marshalli***

### **Specific scope**

This standard describes a diagnostic protocol for *Cacyreus marshalli*.

### **Specific approval and amendment**

First approved in 2001-09.

### **Champ d'application spécifique**

Cette norme décrit un protocole de diagnostic pour *Cacyreus marshalli*.

### **Approbation et amendement spécifiques**

Approbation initiale en 2001-09.

---

### **Introduction**

*Cacyreus marshalli* Butler is a small butterfly recently introduced into Europe (1989). It attacks *Pelargonium* spp. and *Geranium* spp. This pest apparently originated in South Africa (Clark & Dickson, 1971), and is spreading in Europe and the Mediterranean region (Baufeld, 1993; Germain, 1999; Sarto i Monteys, 1992).

### **Identity**

**Name:** *Cacyreus marshalli* Butler

**Taxonomic position:** Insecta: Lepidoptera: *Lycaenidae*

**Bayer computer code:** CACYMA

**Phytosanitary categorization:** EPPO A2 list no. 181

---

### **Introduction**

*Cacyreus marshalli* Butler est un petit lépidoptère d'introduction relativement récente en Europe (1989). Il s'attaque aux *Pelargonium* spp. et *Geranium* spp. Originaire d'Afrique du sud (Clark & Dickson, 1971), ce ravageur se dissémine en Europe et dans la région méditerranéenne (Baufeld, 1993; Germain, 1999; Sarto i Monteys, 1992).

### **Identité**

**Nom:** *Cacyreus marshalli* Butler

**Position taxonomique:** Insecta: Lepidoptera: *Lycaenidae*

**Code informatique Bayer:** CACYMA

**Statuts de quarantaine:** Liste A2 de l'OEPP no. 181

### **Detection**

The main hosts are *Pelargonium* spp. and *Geranium* spp. Eggs can be found at the level of flower buds, and less frequently on leaves. Caterpillars are found in flower buds or where they bore into the stem. Entrance holes in buds and stems are easy to detect. Once attacked, the stems become blackish. Others species of Lepidoptera developing on *Geraniaceae* do not mine in stems.

### **Détection**

Les hôtes principaux sont des espèces de *Pelargonium* et *Geranium*. Les œufs sont à chercher au niveau des boutons floraux, éventuellement des feuilles. Les chenilles sont localisées à l'intérieur des boutons floraux ou dans les tiges qu'elles minent. Les trous de pénétration des larves dans les boutons et les tiges sont faciles à détecter. Les tiges attaquées prennent une coloration noirâtre. Les autres espèces de lépidoptères qui attaquent les *Geraniaceae* ne minent pas les tiges.

### **Identification**

#### **Visual identification**

Egg: white to yellowish with an ornamented chorion, alveolate, 0.6 mm in diameter × 0.3 mm in height.

Larva: basically green in colour, but sometimes yellowish, with whitish tuft of setae; last two instars with pink longitudinal stripes; first instar 1–2 mm, L2 3 mm, L3 6 mm, L4 13 mm.

Pupa: pale-yellow or brown, with brown mottling, very hairy in shades of green, 8–10 mm.

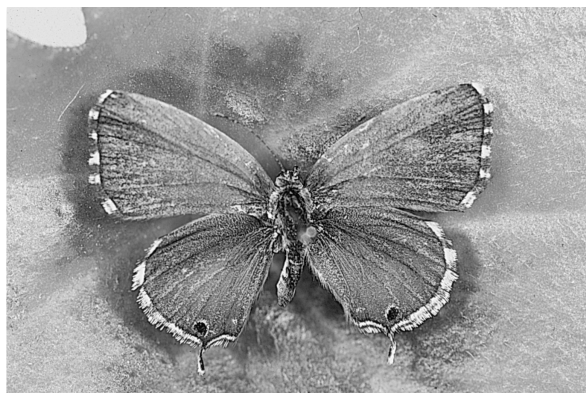
### **Identification**

#### **L'identification est visuelle**

Oeuf: blanc à jaunâtre avec un chorion ornementé à l'aspect alvéolé; 0,6 mm de diamètre sur 0,3 mm de haut.

Larve: de couleur foncièrement verte mais parfois jaunâtre, avec des touffes de soies blanchâtres et, pour les deux derniers stades, des bandes longitudinales roses; larve néonate: 1 à 2 mm, stade L2: 3 mm, stade L3: 6 mm, stade L4: 13 mm.

Nymphe: chrysalide jaune pâle à brun, avec des marbrures brunes; très velue dans des tons de vert; 8 à 10 mm.



**Fig. 1** Adult of *Cacyreus marshalli*.  
Adulte de *Cacyreus marshalli*.

Adult (Fig. 1): small butterfly, female 18–27 mm wingspan, males 15–23 mm; upper surface of wings dark brown with white spots on the fringe, underside pattern grey-brownish with white patches; hindwing with a tail and a black spot at its base and a fringe of alternate white and brown.

Positive identification depends on the examination of adults. If other stages are found, it will be necessary to obtain adults. The caterpillars are easy to rear.

The family *Lycaenidae* may be identified by the following combination of characters:

- diurnal butterfly;
- antennae claviform, tip not hooked, approximated at base;
- hindwing always without frenulum (setae inserted at the base of the wing, connecting wings);
- eyes emarginate (indented at margin) to accommodate the antennal base, or base of antennae in contact with eye margin;
- foreleg tibia without epiphysis (organ for cleaning of antennae);
- foreleg tarsi of the male fused into a single segment, generally no bifid hooks;
- forelegs normal in female.

### Comparison with similar species

For adults, there is little possible confusion with other European *Lycaenidae*. None has the combination of characters of presence of a tail and a black spot on the hindwing, with a white and brown fringe. The nearest species is possibly *Neozephyrus quercus* (Linnaeus) which has a tail, but its upper wing surface is entirely brown.

### Requirements for a positive diagnosis

The procedures for detection and identification described in this protocol should have been followed. Adults should have the seven characters noted above for the *Lycaenidae*. Adults should possess the combination of tail and the hindwing markings described above.



Adulte (Fig. 1): petit papillon, envergure de la femelle 18–27 mm, du mâle 15–23 mm; dessus des ailes brun foncé avec des taches blanches sur le pourtour, dessous présentant des dessins gris brunâtre entremêlés de blanc; filament caudal aux ailes postérieures et, à leur base, présence d'une tache de couleur noire et d'une frange entrecoupée de blanc et de brun.

L'identification positive exige l'examen d'adultes, aussi faudra-t-il les obtenir si d'autres stades sont trouvés. Les chenilles sont faciles à élever.

La famille des *Lycaenidae* peut être identifiée par la combinaison des caractères suivants:

- papillon diurne;
- antennes claviformes (élargies en massue à leur apex), rapprochées à leur base, non terminées en crochet;
- aile postérieure toujours dépourvue de frénulum (soies insérées à la base de l'aile postérieure, assurant le couplage des ailes);
- oeil arrondi, échancré au niveau de l'insertion de l'antenne, ou base de l'antenne en contact avec le bord de l'œil;
- tibia antérieur sans épiphyse (organe de nettoyage des antennes);
- tarse antérieur du mâle non articulé, griffes généralement non bifides;
- patte antérieure normalement développée chez la femelle.

### Comparaison avec des espèces similaires

Pour les adultes, il y a peu de confusion possible avec les autres espèces européennes de la famille des *Lycaenidae*. Aucune de ces espèces ne présente à la fois un filament caudal et une tache noire sur les ailes postérieures et une frange avec une alternance de blanc et de brun sur le bord des ailes postérieures. L'espèce la plus proche serait *Neozephyrus quercus* (Linnaeus) qui a un filament caudal, mais la face supérieure des ailes est totalement brune.

### Exigences pour un diagnostic positif

Les procédures de détection et d'identification décrites dans ce protocole doivent avoir été suivies. Les adultes doivent posséder les sept caractères mentionnés ci-dessus pour la famille des *Lycaenidae*. Les adultes doivent posséder à la fois le filament caudal et les caractéristiques des ailes postérieures décrites ci-dessus.

## 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 (population density, level of damage);
- description of symptoms, with photographs if necessary;
- comments on the certainty or uncertainty of the identification.

## Further information/Renseignements supplémentaires

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

J.F. Germain, LNPV, Unité d'entomologie. 2, place Viala F-34060 Montpellier cedex 1 (France)

V. Sarto i Monteys, Unitat de Sanitat Vegetal/Entomologia Servei de Laboratori de Sanitat Agrària/DARP, Via de circulació nord, tram 6 cantonada c/3 (Zona Franca), E-08040 Barcelona (Spain)

## Acknowledgements/Remerciements

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

J.F. Germain, LNPV, Unité d'entomologie. 2, place Viala F-34060 Montpellier cedex 1 (France)

## 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'attaque (densité de population, niveau des dégâts);
- la description des symptômes (inclure des photographies si nécessaire);
- une appréciation de la certitude ou non de l'identification.

## References/Références

Baufeld P (1993) [Risk assessment of *Cacyreus marshalli* from the point of view of phytosanitary inspection]. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* **45**, 257–262 (in German).

Clark GC & Dickson CGC (1971) *Life histories of the South African Lycaenid butterflies*, pp. 60–61. Purnell, Cape Town (ZA).

Germain JF (1999) *Cacyreus marshalli*, nouveau ravageur du pélagonium. *PHM Revue Horticole* **402**, 36–40.

Sarto i Monteys V (1992) Spread of the southern African Lycaenid butterfly, *Cacyreus marshalli* in the Balearic Archipelago, Spain, and considerations on its likely introduction to continental Europe. *Journal of Research on the Lepidoptera* **31**, 24–34.