



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



Mémoire de stage de fin d'études 2017-2018

Ingénieur Agronome – Protection des cultures

Etude de la dynamique spatiale de *Scaphoideus titanus*, vecteur de la Flavescence Dorée, dans l'agrosystème viticole savoyard



Sarah Grauby

Mémoire de stage, soutenu à Nancy le 26/09/2018

Sous la direction de : Denis Bec
Responsable technique à la FREDON

Enseignant référent : Sophie Slezack Deschaumes
Maître de conférences, Université de Lorraine

Stage réalisé à : La FREDON Rhône-Alpes
Organisme à vocation sanitaire
2 Allée du Lazio, 69800 Saint-Priest



Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Denis Bec, mon maître de stage et responsable technique à la FREDON Rhône-Alpes. Merci de m'avoir fait confiance en me laissant très libre dans mes choix de travail, tout en m'apportant un appui technique solide.

Merci à Camille Bagnis, entomologiste à la FREDON, pour ses conseils dans la mise en place de mon protocole, pour sa relecture et pour sa présence bienveillante tout au long de mon stage.

Merci à Yvan Calcagni, responsable SIG à la FREDON, pour m'avoir enseigné l'utilisation du GPS, du logiciel MapInfo et pour m'avoir aidée quand l'ampleur de certaines tâches dépassait mes compétences en SIG.

Merci à ceux qui m'ont facilité l'accès à des données dont j'avais besoin, notamment Marie Trousselle de Météo France pour les données météorologiques des différents vignobles. Merci à la Régie de Gestion des Données de Savoie pour la carte SIG d'occupation du sol du territoire savoyard. Merci à Antoine Verpy du GDON du Libournais pour ses connaissances techniques sur la lutte contre la Flavescence Dorée. Merci à Sylvie Malembic de l'INRA de Bordeaux pour le temps qu'elle a consacré à mes appels et ses conseils très pertinents pour mon expérimentation.

Merci au Service Régional de l'Alimentation (SRAL) pour l'appui financier pour ce stage. Merci à Geneviève Caschetta pour sa réactivité et l'intérêt qu'elle a porté à mon travail.

Merci à Agrivalys et Biosellal, laboratoires d'analyses pour leur partenariat. Sans vous je n'aurais jamais pu analyser mes insectes. Merci pour votre professionnalisme et votre réactivité. Un merci particulier à Floriane Pez pour ses échanges et ses conseils.

Je remerciais également Fabienne Carteron et Marie-Hélène Plaveret de la FREDON Site des Savoie, pour avoir travaillé avec moi dans la mise en place du protocole de suivi biologique de *Scaphoideus titanus* en Savoie-Isère. Merci pour votre disponibilité et votre gentillesse.

Je remercie les viticulteurs qui se sont portés volontaires pour l'étude. Merci également à tous les autres viticulteurs savoyards qui façonnent le paysage et qui participent à la beauté de la Savoie.

Finalement, j'aimerais remercier tout le personnel de la FREDON Site Saint-Priest : grâce à la très bonne entente qu'il règne dans les locaux, vous avez tous participé à ce que mon stage se passe dans de très bonnes conditions. Merci pour toutes ces petites discussions à la pause sur vos différents dossiers : Sharka, frelon asiatique, ambrosie, mouche du brou et j'en passe... les ravageurs n'ont plus de secret pour moi ! Merci à Yannick, Sophie, Charly, Aude, Manuela, Sébastien, Stéphanie, Sandrine, Candice, Amaury et Anne. Merci à Magali Lamberet, directrice de la FREDON, pour avoir permis la réalisation de ce stage.

Merci à Sophie Slezack Deschaumes, enseignante chercheuse à l'ENSAIA, pour sa disponibilité et ses conseils précieux tout au long de mon stage. Plus globalement, merci pour ces 3 belles années à l'ENSAIA.

Finalement, je remercierai les trains Ouigo qui relie Lyon à Marseille en 1h30 pour 19 petits euros : vous m'avez permis de rejoindre régulièrement mon Sud natal et ma famille. Merci à eux pour leur soutien sans faille.

Liste des abréviations

FD : Flavescence Dorée

St : *Scaphoideus titanus*

PLO : Périmètre de lutte obligatoire

VS : Vigne sauvage

T1 : traitement insecticide 1 contre *Scaphoideus titanus*

T2 : traitement insecticide 2 contre *Scaphoideus titanus*

PCR : Polymerase Chain Reaction

NGS : Next Generation Sequencing

FD+ : présence de Flavescence Dorée

FREDON : Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles

DRAAF : Direction Régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt

SRAL : Service Régional de l'Alimentation (service de la DRAAF)

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

SIG : Système d'Information Géographique

GPS : Global Positioning System

Sommaire

Introduction.....1

1^{ère} partie : Etat de l'art sur le pathosystème de la Flavescence Dorée : interaction entre *Vitis vinifera*, *Candidatus phytoplasma vitis* et *Scaphoideus titanus*

I. Scaphoideus titanus : insecte vecteur de la Flavescence Dorée

1. Origine du vecteur et répartition actuelle.....2
2. Cycle de développement.....2
3. Description des différents stades de développement.....3
4. Comportement de *Scaphoideus titanus* dans l'agroécosystème.....3
5. Alimentation de *Scaphoideus titanus*.....3

II. La Flavescence dorée : maladie issue de la rencontre de *Scaphoideus titanus* et d'un phytoplasme, *Candidatus Phytoplasma Vitis*

1. Historique de l'épidémie.....4
2. Cycle de la Flavescence Dorée.....4
3. Symptomatologie.....6

III. Lutte contre la Flavescence Dorée

1. La réglementation.....7
2. Les missions de la FREDON sur le dossier Flavescence Dorée.....7

IV. Découverte de nouveaux insectes vecteurs de la Flavescence Dorée et impact de l'environnement sauvage : vers une complexification de la lutte

1. Vecteurs alternatifs de la Flavescence Dorée.....8
2. Les vignes ensauvagées.....9

V. Contexte et objectifs du stage

1. Présentation du vignoble savoyard.....10
2. La Flavescence Dorée en Savoie.....10

2^{ème} partie : Matériel et méthode : Etude de la dynamique de *Scaphoideus titanus* dans la parcelle viticole et dans l'environnement sauvage

1. Parcelles de l'étude.....12
2. Etude des populations larvaires présentes dans la parcelle et la vigne sauvage
 - a. Comptage larvaire à TO.....12
 - b. Battage larvaire après T1 et T2.....13
3. Etude de la dynamique de l'adulte dans la parcelle et la vigne sauvage.....14
4. Etude des vignes sauvages et larves comme réservoir de phytoplasme.....16
5. Etude des vecteurs alternatifs de la Flavescence Dorée.....17

3^{ème} partie : Résultats : Etude de la dynamique de *Scaphoideus titanus* dans la parcelle viticole et dans l'environnement sauvage

I. Résultats

1. Etude des populations larvaires présentes dans la parcelle et la vigne sauvage
 - a. Comptage larvaire à TO.....18
 - b. Battage larvaire après T1 et T2.....19
2. Etude de la dynamique de l'adulte dans la parcelle et la vigne sauvage.....21
3. Etude des vignes sauvages et larves comme réservoir de phytoplasme.....24
4. Etude des vecteurs alternatifs de la Flavescence Dorée.....25

II. Eléments complémentaires à l'étude et Discussion.....	27
<u>Conclusion</u>	32
<u>Références bibliographiques</u>	33
<u>Annexes</u>	
<u>Résumé</u>	

Introduction

Le vin est apparu dans le berceau fertile du Proche-Orient il y a huit mille ans et a depuis traversé le temps et les plus grandes civilisations de l'Antiquité jusqu'à nos jours. Aujourd'hui, la culture du vin est répandue partout dans le monde.

La vigne cultivée, connaît pourtant de nombreux ravageurs, son caractère pérenne accentuant son exposition à ces derniers. Au 19^{ème} siècle, l'Europe crut perdre son vignoble : un parasite provenant des Etats-Unis fut malencontreusement transporté par l'importation de matériel végétal. Ainsi, le Phylloxéra, puceron attaquant les racines de la vigne européenne, *Vitis vinifera*, fut à l'origine de l'éradication fulgurante du vignoble européen, jusque-là cultivé franc de pied. Ce puceron était pourtant inoffensif sur le territoire américain car les vignes américaines sont tolérantes à l'insecte. Ainsi, la seule solution pour sauver le vignoble fut d'assembler la vigne américaine (porte-greffe) à la vigne européenne (greffon) afin de créer un cep hybride, pouvant résister à l'insecte présent dans le sol. Cette technique, toujours utilisée aujourd'hui, permet de reconstruire le vignoble, décimé par la maladie.

Ce scénario catastrophe d'importation d'insecte exotique semble aujourd'hui se répéter pour la vigne européenne. En effet la cicadelle *Scaphoideus titanus* originaire des Etats-Unis fut introduite de manière non intentionnelle au 20^{ème} siècle en Europe. Celle-ci ne cause aucun dégât dans son aire d'origine, mais en Europe, la cicadelle a rencontré un phytoplasme européen et depuis le diffuse de manière épidémique sur le vignoble. La maladie se nomme la Flavescence Dorée et elle est incurable pour la vigne cultivée. La Flavescence Dorée est aujourd'hui une des maladies les plus graves à laquelle doit faire face la viticulture européenne.

En France, plus de la moitié de la surface viticole est soumise à la lutte obligatoire contre cette maladie (451 000 ha) (INRA, 2014). Cette lutte prévoit la prospection du vignoble pour localiser les ceps de vigne contaminés, leur arrachage, les traitements insecticides contre le vecteur de la FD et la plantation de matériel sain. Cette lutte a un fort impact économique pour la viticulture avec un coût estimé de 50 euros par hectare. Elle a aussi un impact environnemental avec des traitements insecticides lourds. Enfin, la lutte collective a un impact social important, puisque les viticulteurs sont obligés de lutter contre cette maladie.

En Savoie, le vignoble est en lutte obligatoire depuis presque 20 ans, mais la maladie ne cesse de progresser. L'objectif de ce travail est d'améliorer la connaissance du vecteur, *Scaphoideus titanus*, sur le territoire et de mieux comprendre son interaction avec l'environnement sauvage, afin que la lutte soit plus efficace.

La première partie de ce travail s'intéressera au pathosystème de la Flavescence Dorée, en détaillant les interactions entre les trois composantes de la maladie : *Scaphoideus titanus*, la vigne et le phytoplasme. Une seconde partie exposera le contexte de ce stage et plus particulièrement l'historique de l'épidémie de Flavescence Dorée en Savoie. Dans la troisième partie sera exposé le matériel et méthode de l'expérimentation réalisée en Savoie dans le cadre de ce stage. Enfin les résultats de cette expérimentation seront présentés, puis discutés.

1^{ère} partie : Etat de l'art sur le pathosystème de la Flavescence Dorée : interaction entre *Vitis vinifera*, *Candidatus phytoplasma vitis* et *Scaphoideus titanus*

I. *Scaphoideus titanus* : insecte vecteur de la Flavescence Dorée

1. Origine du vecteur et répartition actuelle

Scaphoideus titanus (St), cicadelle vectrice de la Flavescence Dorée (FD), est un insecte homoptère de la famille des *Cicadellidae*, sous famille des *Deltocephalinae*. Cette cicadelle est d'origine nord-américaine (région des grands lacs) et aurait été introduite accidentellement via le transport de bois de vigne depuis les Etats-Unis vers l'Europe qui visait à replanter des vignes américaines résistantes après la crise du phylloxera (Chuche, 2014). La date de son introduction est imprécise, puisque cette cicadelle a été identifiée comme vecteur de la FD dès 1958 dans le vignoble bordelais (Bonfils & Schvester, 1960), alors que le précédent recensement des cicadelles en France de 1927 ne la mentionnait pas. Elle aurait été introduite entre ces deux dates. La présence de St s'est alors rapidement généralisée dans les autres vignobles français et européens (Figure 4).

2. Cycle de développement

Scaphoideus titanus est une espèce univoltine et réalise son cycle de développement uniquement sur la vigne puisqu'il y est inféodé (Vidano, 1964). A la fin de l'été, la femelle insère ses œufs dans l'écorce du bois de vigne, âgé d'au minimum deux ans et ces derniers passent l'hiver en diapause avant de commencer à éclore en mai de l'année suivante (Figure 1). Les premières éclosions et l'étalement des éclosions sont très variables selon les régions et les variations de températures de l'année (Chuche, 2014). Par exemple, les éclosions en Corse débutent 15 jours avant celles en Armagnac, mais l'étalement des éclosions est deux fois plus long en Corse (3 mois) (Caudwell *et al.* 1974). Cinq stades larvaires se succèdent ensuite sur une période variable, de 35 à 55 jours (Chuche, 2014). Cette période diminue quand la température augmente et les premiers stades larvaires ont une durée de développement plus courte que les derniers stades (Falzoi *et al.* 2014). Les premiers adultes peuvent apparaître dès début juillet et ont une durée de vie d'environ un mois. L'accouplement met en jeu une communication utilisant des signaux vibratoires. Une femelle ne peut s'accoupler qu'avec un seul mâle et pond une dizaine d'œufs en moyenne. Un mâle peut s'accoupler avec plusieurs femelles.

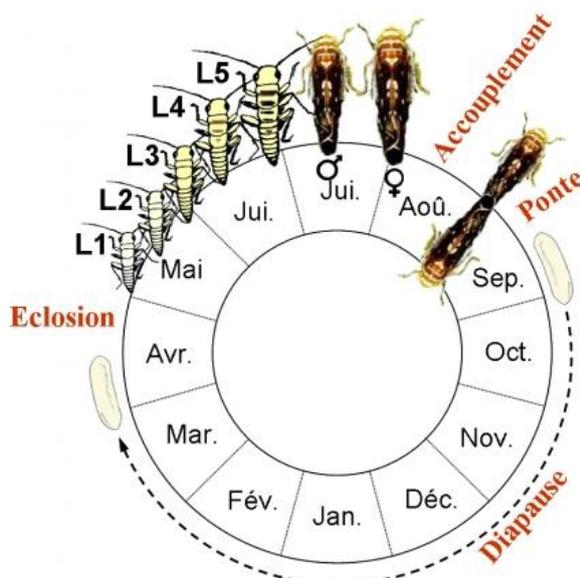


FIGURE 1 : CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE ST (CHUCHE, 2010)

3. Description des différents stades de développement

La larve de *Scaphoideus titanus* est aptère et se déplace en sautant. Elle est facilement reconnaissable par la présence de deux taches noires à l'extrémité de l'abdomen (Figure 2). Sa couleur et sa taille varient selon l'avancement des stades, qui sont au nombre de 5. En effet, au moment de l'éclosion, la larve est blanche translucide puis à mesure de son développement, elle passe à une couleur jaune ivoire, de plus en plus accentuée. La larve commence à se colorer au stade L4 avec des taches irrégulières brunes, puis est complètement colorée au dernier stade L5. La détermination des stades est difficile à l'œil nu car le critère de la taille et de la couleur ne sont pas des critères suffisants de détermination.



FIGURE 2 : STADE L4 *ST* (EPHYTIA)

La détermination fiable des stades se fait par l'observation à la loupe binoculaire des soies du groupe n°5 à l'extrémité du telson, partie terminale postérieure de l'insecte (Della Giustina *et al.* 1992). En effet le telson de l'insecte est recouvert de soies, qui peuvent être rassemblées en groupes. Les soies du groupe n°5 varient en nombre croissant avec les stades, avec 0 soies pour le stade L1, 1 x 2 pour le stade L2, 2x2 pour L3, 3x2 pour L4 et 4x2 pour le stade L5. Ces soies se distinguent des autres groupes de soies (groupe 1, 2, 3, 4) identiques pour tous les stades, par leur couleur noire et leur position basale (Annexe 1). Si les soies sont endommagées, un critère supplémentaire permet la détermination fiable des stades: les ébauches alaires qui sont de plus en plus visibles durant le développement larvaire (Annexe 1). La détermination des stades larvaires est très importante, puisque la lutte contre l'insecte se base sur ces derniers.



FIGURE 3 : ADULTE *ST* (EPHYTIA)

L'adulte est ailé et se déplace en volant et en sautant. Il est de forme fuselée, de couleur ocre avec les élytres brunes et tachées de noir (Figure 3). Il existe un dimorphisme sexuel : les femelles sont plus grandes que les mâles (respectivement 5,5mm et 5mm en moyenne) et possèdent un ovipositeur visible.

4. Comportement de *Scaphoideus titanus* dans l'agroécosystème

Les larves de *Scaphoideus titanus* sont peu mobiles et restent proches de leur lieu d'éclosion (Maixner *et al.* 1993). Ainsi, elles se situent préférentiellement au niveau des feuilles de la partie basse du cep, près du vieux bois et au niveau des pampres (rameau non fructifère qui pousse sur la souche ou sur le porte-greffe). Au fur et à mesure de leur développement, elles deviennent plus mobiles et peuvent se disperser dans la végétation du cep de vigne. Aptères, les larves sont incapables de parcourir de grandes distances.

L'adulte, ailé, se déplace selon le rang de vigne, au niveau de la canopée (Lessio & Alma 2004). En absence de vigne aux alentours, l'adulte se déplace peu en dehors de la parcelle (Lessio & Alma, 2004). Dans la parcelle, la plupart des vols de *St* sont de courte distance : 50% des déplacements sont inférieurs à 3m (Maggi *et al.* 2017). Sur des grandes distances, la dissémination passive par le vent a été démontrée (Chuche, 2010).

5. Alimentation de *Scaphoideus titanus*

Les Hémiptères sont des insectes à pièces-buccales de type « piqueur-suceur » qui ont la spécificité d'être des phloémophages. *St* s'alimente exclusivement du phloème de la vigne en atteignant la surface inférieure du limbe. L'adulte perfore l'épiderme grâce à son stylet, préférentiellement sur les grosses nervures du limbe et sur le pétiole. Les larves se nourrissent comme les adultes mais s'alimentent sur les petites nervures du limbe, ceci étant dû à la taille de stylet réduite par rapport à celle de l'adulte (Chuche, 2014).

En Europe, *St* semble inféodé à la vigne européenne, *Vitis vinifera* (Chuche, 2014) alors que dans son pays d'origine, aux Etats-Unis, *St* préfère la vigne américaine, *Vitis riparia*, à *Vitis vinifera*. Ainsi, tous les stades de l'insecte (de l'œuf à l'adulte) sont retrouvés sur ces vignes (Maixner *et al.* 1993).

En lui-même, l'insecte ne provoque aucune nuisance à la vigne, même si les populations sont importantes (Decante & Van Helden, 2005). L'insecte devient un problème pour la vigne dans le cas où il rencontre le phytoplasme de la FD.

II. La Flavescence dorée : maladie issue de la rencontre de *Scaphoideus titanus* et d'un phytoplasme, *Candidatus Phytoplasma Vitis*

1. Historique de l'épidémie

La Flavescence Dorée est apparue en France en 1955, en Gascogne. Au départ, elle fût associée à un désordre physiologique de la vigne. Mais le caractère épidémique de la maladie et l'absence d'agent pathogène visible sur les plants symptomatiques de vigne, la fit ensuite suspecter d'être une maladie vectée. Son vecteur, *Scaphoideus titanus*, fut d'abord identifié en 1961, sans que le lien avec la maladie soit établi. Après la découverte des phytoplasmes en 1967, les recherches sur la FD furent orientées vers ces organismes. Des phytoplasmes furent pour la première fois observés par microscopie électronique dans le corps d'individus de *St* et dans la vigne, dix ans après la découverte du vecteur (Caudwell *et al.* 1971).

Après la Gironde, la FD s'est rapidement répandue vers le Nord, le Sud et l'Est de l'Europe. La présence de la FD est aujourd'hui observée dans toute la partie Sud du vignoble européen, du Portugal à la Serbie. Elle n'est pour l'instant pas présente dans le Nord (vignoble de Lorraine et d'Alsace en France) (Figure 4).

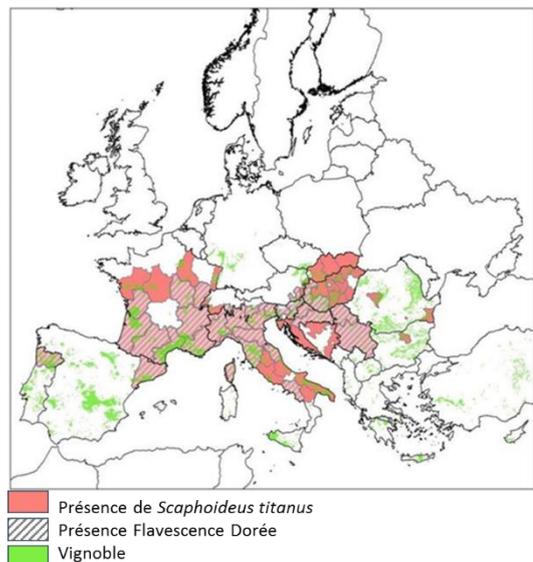


FIGURE 4 : PRESENCE DE LA FD ET ST EN EUROPE (EFSA, 2016)

2. Cycle de la Flavescence Dorée

La Flavescence Dorée résulte donc de la rencontre entre un vecteur (*Scaphoideus titanus*), un phytoplasme (*Candidatus Phytoplasma Vitis*) et la vigne (*Vitis vinifera* en Europe) (Figure 5).

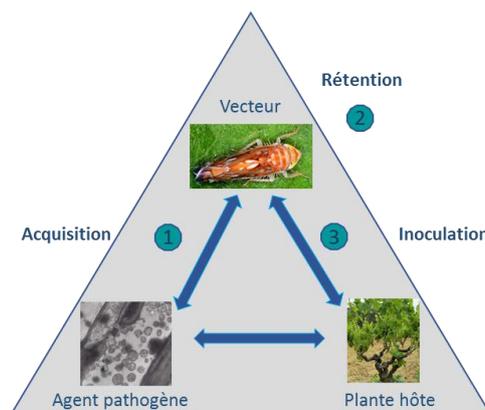


FIGURE 5 : LE PATHOSYSTEME DE LA FLAVESCENCE DOREE (SARAH GRAUBY)

Le phytoplasme

Les phytoplasmes sont des bactéries procaryotes sans paroi, appartenant à la classe des Mollicutes. Ce sont des parasites intracellulaires obligatoires qui peuvent se reproduire uniquement dans le phloème des plantes ou dans des insectes vecteurs (INRA, 2013). Une fois dans la vigne, le phytoplasme colonise les tubes criblés et ainsi perturbe le transport des différents éléments de la sève élaborée. Les tubes criblés se bouchent puis finissent par se nécroser (Christensen *et al.* 2005). A court terme, la productivité du cep de vigne est diminuée et à plus long terme, le cep fini par périr.

Le nom donné aux phytoplasmes de la FD est « *Candidatus Phytoplasma vitis* ». Ce nom regroupe trois types de souches dont la différenciation est basée sur le séquençage du gène *map* du phytoplasme : FD1, FD2 et FD3. Chaque souche possède différents génotypes. La souche FD1 est présente en France, bien qu'elle soit minoritaire (15% de cas). Elle se retrouve principalement dans le Sud-Ouest de la France et le Nord de l'Italie. Son génotype dominant est le M50. La souche FD2 est largement distribuée en Europe, elle est majoritaire en France (85% des cas). Son génotype M54 est le plus dangereux pour la vigne car très épidémique. La souche FD3 est restreinte à l'Italie et aux pays de l'Est (Arnaud *et al.* 2007).

Le vecteur et le phytoplasme

Lors de sa prise de nourriture sur un cep infectieux, *Scaphoideus titanus* peut ingérer de la sève élaborée contaminée par le phytoplasme (Etape ① « Acquisition », figure 5). Le phytoplasme va circuler depuis le stylet jusque dans l'intestin de l'insecte, puis passer dans l'hémolymphe pour aller coloniser les différents organes de l'insecte et s'y multiplier. *St* n'est pas directement infectieux après s'être nourri sur un cep contaminé : il y a un délai de 28 à 35j pour que la concentration en phytoplasmes soit suffisante dans les glandes salivaires pour être transmissible à un nouveau cep sain (Bressan *et al.* 2006) (Etape ②, « Rétention », figure 5). Une fois le délai passé, l'insecte reste infectieux toute sa vie et peut contaminer tous les ceps sur lesquels il va se nourrir (Christensen *et al.* 2005) (Etape ③ « Inoculation », figure 5). La progression de la maladie est épidémique, puisque la fréquence de ceps contaminés dans une parcelle peut être multipliée jusqu'à 40 en absence de contrôle du vecteur (Smith *et al.* 1997).

Il n'y a pas de transfert du phytoplasme à sa descendance : tout individu *St* naît sain. Le maintien du phytoplasme dans le vignoble d'une année sur l'autre se fait donc par les ceps de vigne infectieux.

Tous les stades larvaires (L1 à L5) ainsi que les adultes peuvent acquérir le phytoplasme. Cependant, la probabilité d'acquisition du phytoplasme par l'insecte augmente avec le temps. En effet, la probabilité de rencontre avec le phytoplasme est plus faible pour les jeunes stades larvaires, dû à leur comportement alimentaire moins efficient que les stades plus avancés mais également à la concentration en phytoplasme plus basse dans les feuilles en début de saison (Bressan *et al.* 2005).

Le phytoplasme et la vigne

Une fois le phytoplasme transmis à un cep sain en année *n*, une partie va rejoindre le système racinaire de la plante pour s'y multiplier pendant l'hiver et une partie va subsister dans les rameaux du cep (Caudwell *et al.* 1970). En année *n+1*, au printemps, les phytoplasmes vont atteindre les jeunes feuilles de vigne en colonisant le phloème. Les feuilles constituent alors une source d'infection pour des individus *St* sains. Il existe ainsi un décalage d'un an entre le moment où le cep est contaminé (année *n*) et le moment où les symptômes s'expriment (année *n+1*) (Schvester *et al.* 1969). Le cep est donc un réservoir à phytoplasmes avant même que les symptômes ne soient visibles. De plus, il a été remarqué que dans certains cas, le cep de vigne peut commencer à montrer des symptômes plus d'un an après l'infection (Chuche, 2014).

3. Symptomatologie

L'apparition des symptômes a lieu au cours de l'été, généralement en juillet. Trois symptômes doivent être simultanément présents sur un même rameau pour conclure à la présence d'une jaunisse à phytoplasmes : la décoloration du limbe, un non aoûtement du rameau et une mortalité des fleurs ou des baies (INRA, 2013). (Figure 6).

Décoloration du limbe : La décoloration est rouge pour les cépages rouges et jaune pour les cépages blancs. Ces décolorations du limbe peuvent être totales ou partielles. Pour certains cépages, seules les nervures se décolorent.	
Non aoûtement des rameaux : L'aoûtement est le passage de rameaux souples verts en sarment durs et bruns par lignification. L'aoûtement a lieu en août. Il y a non aoûtement total ou partiel des rameaux d'un cep infectieux.	
Mortalité des inflorescences ou des baies : Ce symptôme peut se déclarer à tout moment du stade floraison jusqu'à la formation des grappes.	

FIGURE 6 : SYNTHÈSE DES SYMPTÔMES DE LA FLAVESCENCE DORÉE (PHOTOGRAPHIES SARAH GRAUBY, SAVOIE)

Deux symptômes supplémentaires peuvent aider à l'identification de la maladie bien qu'ils ne soient pas toujours présents : l'enroulement du limbe par involution et le port retombant des rameaux.

Un cep atteint peut présenter des rameaux avec symptômes et des rameaux sans symptôme. Il est donc nécessaire d'examiner l'intégralité du cep.

De plus, les différents cépages de *Vitis vinifera* n'ont pas la même sensibilité à la FD et expriment les symptômes avec des intensités différentes (INRA, 2013). Par exemple, le Cabernet Sauvignon est un cépage très sensible, alors que le Merlot ou la Syrah sont des cépages peu sensibles (Eveillard *et al.* 2016).

Les vignes cultivées en Europe résultent de l'assemblage de porte-greffes américains (*Vitis riparia*, *Vitis labrusca*, etc.), résistants au phylloxera et de greffons européens (différents cépages de *Vitis vinifera*). Les vignes américaines sont des porteurs sains de la FD : ils peuvent porter le phytoplasme mais sont asymptomatiques.

Confusion avec le Bois Noir

La Flavescence Dorée présente les mêmes symptômes, présentés ci-dessus, qu'une autre maladie à phytoplasmes de la vigne : le Bois Noir. L'impact de cette maladie est nettement moins important pour le vignoble (propagation non épidémique) mais peut cependant masquer des foyers de FD. Seule l'analyse PCR (Polymerase Chain Reaction) permet de distinguer les deux maladies.

III. Lutte contre la Flavescence Dorée

1. La réglementation

Depuis 1993, la FD est déclarée organisme de quarantaine par l'Union Européenne. En France, la lutte contre la FD est obligatoire depuis le décret ministériel du 01/04/1994. La lutte repose sur 3 piliers : planter du matériel végétal sain, arracher les ceps contaminés (qui sont des réservoirs à phytoplasmes) et lutter contre le vecteur (qui propage le phytoplasme). Ainsi, sur tout le territoire français, la lutte contre *Scaphoideus titanus* est obligatoire pour les vignes mères de porte-greffes et de greffons. En zone viticole contaminée par la FD, la lutte insecticide contre le vecteur et l'arrachage des ceps contaminés est obligatoire. Si une parcelle est contaminée à plus de 20% il y a obligation d'arrachage de la parcelle. Ces mesures de lutte contre la FD sont décrites dans l'arrêté ministériel du 19/12/2013 modifié.

La lutte contre *St* est basée sur l'application de trois insecticides. Un premier larvicide est appliqué 30 jours après l'éclosion des larves, visant les premiers individus infectieux (latence de 30 jours en moyenne pour qu'un individu soit infectieux après alimentation sur un cep contaminé). Le deuxième larvicide est appliqué 15 jours après le premier, en fin de rémanence du produit. Le troisième traitement est un adulticide, appliqué au pic de présence de l'adulte.

Aujourd'hui 73% du vignoble français est en lutte obligatoire contre la FD.

Chaque année, La DRAAF-SRAL de chaque région définit le périmètre de lutte obligatoire (PLO) des départements et définit les modalités de lutte (nombre et dates de traitements) par arrêtés préfectoraux.

2. Les missions de la FREDON sur le dossier Flavescence Dorée

La Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles (FREDON) est un organisme technique chargé de la surveillance sanitaire des végétaux. La FREDON Rhône-Alpes a été créée en 1987 et gère 8 sites départementaux.

La FREDON est l'organisme à vocation sanitaire reconnu par l'Etat dans le domaine végétal. La DRAAF-SRAL lui confie ou lui délègue, sous convention annuelle, des missions de surveillance et de contrôle dans le cadre des luttes collectives contre les organismes nuisibles aux végétaux.

La FREDON réalise notamment la surveillance d'organismes réglementés comme la Flavescence Dorée. Elle réalise cette surveillance sur les départements de l'Ardèche, la Drôme, le Rhône et la Savoie et l'Isère, ces vignobles étant contaminés par la Flavescence Dorée. En septembre, la FREDON réalise la prospection exhaustive des parcelles de vigne en PLO en identifiant tous les ceps de vigne présentant les symptômes de la FD. Elle réalise également la collecte et l'envoi des feuilles symptomatiques pour l'analyse officielle par des laboratoires agréés. La FREDON réalise alors l'édition de rapports de prospection à la DRAAF-SRAL, qui notifie les obligations d'arrachage aux viticulteurs qui possèdent des ceps de vignes retrouvés positifs à l'analyse FD afin qu'ils les arrachent avant le 31 mars de l'année suivante. Ce délai passé, la FREDON réalise le contrôle d'arrachage des ceps contaminés sur le vignoble, puis réalise des rapports pour la DRAAF-SRAL, qui se charge de contacter les viticulteurs n'ayant toujours pas arraché les ceps contaminés.

La FREDON, conjointement avec les chambres d'agriculture, réalise également un suivi biologique du vecteur sur le territoire. Pour connaître la première date d'éclosions des larves, des parcelles en dehors du PLO sont suivies 2 fois par semaine à partir de début mai pour déterminer la date de la première éclosion. Puis, un réseau de parcelles est suivi tout au long du cycle de l'insecte. D'abord, un comptage larvaire visuel avant le premier traitement larvicide est réalisé pour estimer les populations initiales de l'insecte sur ces parcelles. 100 feuilles sont retournées par parcelle et les larves sont dénombrées. Puis, des pièges jaunes englués sont mis en place pour détecter la présence de l'adulte avec un piège par parcelle. 3 relevés de pièges sont effectués. Ces données biologiques sont transmises

à la DRAAF-SRAL, qui grâce à une analyse de risque, détermine le nombre de traitements obligatoires par commune ainsi que les dates de ces traitements.

IV. Découverte de nouveaux insectes vecteurs de la Flavescence Dorée et impact de l'environnement sauvage : vers une complexification de la lutte

1. Vecteurs alternatifs de la Flavescence Dorée

Le phytoplasme de la FD a été depuis quelques années découvert dans d'autres espèces végétales que la vigne, notamment l'aulne, la clématite, le noisetier, etc. La capacité vectrice d'autres insectes a été démontrée par différents auteurs en Italie, en France et en Suisse (Tableau 1). Ces vecteurs alternatifs sont tous de l'ordre des Hémiptères, comme *Scaphoideus titanus* et se nourrissent du phloème des plantes.

Ces vecteurs peuvent être porteurs de différentes souches de phytoplasmes de la FD (Tableau 1). Contrairement à *St*, la vigne n'est pas leur plante hôte préférentielle puisqu'ils sont polyphages. La fréquence de transmission du phytoplasme par ces vecteurs à la vigne serait donc occasionnelle, lors d'une prise de nourriture ponctuelle sur vigne. Il n'y aurait pas dissémination épidémique du phytoplasme par le vecteur alternatif dans la vigne. Cependant, après une introduction primaire du phytoplasme dans le vignoble par ces vecteurs secondaires, il peut y avoir dissémination épidémique de ceps en ceps par *St* si ce dernier est présent (Jermini *et al.* 2017).

Ainsi, ces vecteurs alternatifs pourraient participer au maintien de la FD dans les vignobles malgré la lutte obligatoire contre *St*. Ils pourraient également être responsables de l'introduction de la maladie dans des zones exemptes de phytoplasme.

TABLEAU 1 : SYNTHÈSE SUR LES VECTEURS ALTERNATIFS DE LA FLAVESCENCE DORÉE

	Photo adulte	Caractéristiques	Capacité de transmission de la FD	Souches FD
<i>Orientus ishidae</i>		-origine asiatique -Taille : 4.7-5.5mm (male) 5.5-6.5 (fem) -Famille : <u>Cicadellidae</u> -Sous-famille : <u>Deltocephalidae</u>	capable de transmettre FD à la vigne (<u>Lessio et al.</u> 2016)	FD1, FD2
<i>Oncopsis alni</i>		-origine européenne -Famille : <u>Cicadellidae</u> -Sous-famille : <u>Macropsinae</u>	Capable de transmettre FD de l'aulne à la vigne (<u>Maixner et al.</u> 2000)	PGY, FD1, FD2, FD3
<i>Allygus modestus</i>		Famille : <u>Cicadellidae</u>	Peu renseigné -transmission à la vigne reste à prouver	PGY, FD2, FD1
<i>Dictyophara europaea</i>		-origine européenne -Taille : 9-13mm Famille : <u>Dictyopharidae</u> Sous-famille : <u>Dictyopharinae</u>	-Capable de transmettre FD de la clématite à la vigne (<u>Filippin et al.</u> 2009)	FD3
<i>Japananus hyalinus</i>		-origine asiatique -Famille : <u>Cicadellidae</u> -Sous-famille : <u>Deltocephalidae</u>	Peu renseigné -transmission à la vigne reste à prouver	FD+

2. Les vignes ensauvagées

La vigne ensauvagée ou « vigne sauvage » est une vigne non cultivée, qui peut être présente dans l'environnement sauvage adjacent aux parcelles viticoles, en lisière de forêt (Figure 7). Ces vignes ensauvagées sont principalement des repousses de porte-greffe (bois de taille jeté en dehors de la parcelle) ayant proliféré dans l'environnement sauvage. En Italie et aux Etats-Unis, la présence de *St* sur ces repousses sauvages a été démontrée (Pavan *et al.* 2012, Beanland *et al.* 2006). De plus, l'analyse ADN de larves collectées sur vigne sauvage en Italie a montré que ces dernières pouvaient présenter le phytoplasme de la FD (Lessio *et al.* 2007). Ainsi la vigne sauvage pourrait représenter un réservoir à phytoplasmes et à *Scaphoideus titanus*.

En France, le projet FLADORISK porté par l'INRA de Bordeaux de 2014 à 2017, a étudié le risque que représente la présence de vignes ensauvagées sur 4 régions viticoles en évaluant la présence de *St*, la présence du phytoplasme et la distance entre les vignes ensauvagées et le vignoble. Ainsi en Aquitaine, les vignes ensauvagées présentent un risque élevé pour le vignoble, en PACA et Bourgogne ce risque est nul à quasi-nul et en Alsace, ce risque est nul (Communication personnelle, Sylvie Malembic, INRA). Les résultats de cette étude n'ont pas encore été publiés et aucune étude n'a été réalisée pour les autres vignobles français.



FIGURE 7 : VIGNE ENSAUVAGEE EN BORDURE DE VIGNOBLE (SARAH GRAUBY, SAVOIE)

V. Contexte et objectifs du stage

1. Présentation du vignoble savoyard

Le vignoble savoyard s'étend sur 4 départements (l'Ain, la Haute Savoie, la Savoie et l'Isère) sur une surface totale de 2100 ha. Ce vignoble de montagne, situé entre 250 et 500m d'altitude est morcelé, sous forme d'îlots de vigne plus ou moins importants, dispersés sur les versants les mieux exposés. Le climat est continental avec des hivers froids, des étés pouvant être très chauds et une pluviométrie importante (>1000mm/an). De nombreuses variantes climatiques existent entre les différents vignobles de Savoie, en raison de reliefs, d'altitudes et d'expositions différentes.

Le vignoble étudié lors de ce stage est le vignoble situé sur le département de la Savoie, car c'est celui-ci qui est très touché par la Flavescence Dorée. Il peut être divisé en 4 parties : l'Avant pays savoyard autour du lac du Bourget, la Cluse de Chambéry au pied du massif de la Chartreuse, la Combe de Savoie au pied du massif des Bauges et le secteur Vins de pays, au sud de l'Isère (Figure 8).

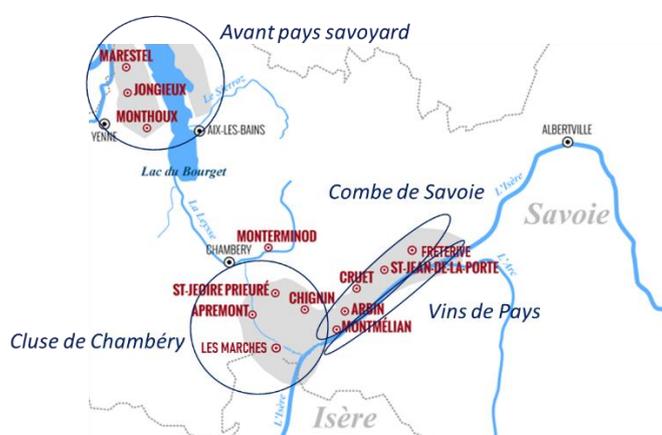


FIGURE 8 : PRESENTATION DES DIFFERENTES ZONES DU VIGNOBLE SAVOYARD

2. La Flavescence Dorée en Savoie

TABLEAU 2 : EVOLUTION DES CONTAMINATIONS FLAVESCECE DOREE EN SAVOIE DEPUIS 2012 (FREDON RHONE-ALPES)

Année	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Parcelles contaminées FD	555	927	1220	1687	1382	1176
Ceps contaminés FD	7929	8135	9636	11873	9539	15375

La Flavescence Dorée fut découverte en Savoie en 2000 sur 5 communes. Sur 192 parcelles prospectées, 100 parcelles furent déclarées contaminées, pour un total de 3900 ceps. La lutte collective fut mise en place cette année-là. Depuis la découverte de la FD, les surfaces prospectées ont augmenté jusqu'en 2012 pour atteindre environ 1600ha. Depuis les surfaces prospectées sont stables.

Malgré les traitements insecticides contre le vecteur et l'arrachage des ceps contaminés, le vignoble savoyard est de plus en plus touché par la FD. En 5 ans, le nombre de parcelles contaminées et le nombre de ceps contaminés ont doublé (Tableau 2).

Le but de ce stage est de trouver des éléments de réponse à ces échecs de lutte, en se ciblant sur le vecteur de la Flavescence Dorée. En effet, il est primordial d'améliorer les connaissances sur le comportement de *Scaphoideus titanus* sur le territoire, car c'est ce dernier qui propage la maladie de manière épidémique sur le vignoble.

La FREDON Rhône-Alpes, grâce à son réseau de suivi biologique, évalue la présence de *Scaphoideus titanus* sur le territoire savoyard. Concernant les éclosions des larves, seule la date du début des éclosions est déterminée, sur des parcelles en dehors du périmètre de lutte obligatoire. Pour le suivi des adultes, la densité de pièges du suivi est de un piège jaune englué pour 20 ha et trois relevés de pièges sont réalisés sur la saison.

Ces données, bien qu'essentielles pour déterminer les dates de traitements obligatoires et estimer la présence du vecteur à grande échelle, ne permettent pas de connaître de manière précise la dynamique de l'insecte sur le vignoble. Plusieurs questions restent sans réponse : Quel est le cycle de développement de *St* sur le territoire (durée des éclosions, étalement des éclosions, présence des adultes, etc.) ? Les traitements contre le vecteur sont-ils efficaces ? Y-a-il interaction entre *Scaphoideus titanus* et les vignes sauvages ? Les vecteurs alternatifs de la FD renseignés dans la bibliographie sont-ils présents sur le territoire ?

Pour répondre à ces questions, j'ai été chargée de mettre en place une expérimentation fine sur le vignoble savoyard. Des parcelles respectant la lutte collective mais touchées de manière chronique par la FD sont suivies, tout au long du cycle de *Scaphoideus titanus*. Ces parcelles sont situées sur différentes zones du vignoble savoyard.

2ème partie : Matériel et méthode : Etude de la dynamique de *Scaphoideus titanus* dans la parcelle viticole et dans l'environnement sauvage

1. Parcelles de l'étude

Plusieurs critères de choix ont permis de sélectionner les 4 parcelles de l'étude : les parcelles doivent être dans le PLO, respecter les mesures de lutte obligatoire contre la FD, présenter une contamination chronique à la FD et présenter des vignes ensauvagées à proximité de la parcelle (Tableau 3). De plus, ces parcelles sont situées sur différentes zones du vignoble savoyard: la parcelle de Cruet et de Fréterive sont situées sur le secteur Combe de Savoie. Les parcelles de Chignin et Les Marches sont situées sur le secteur Cluse de Chambéry. Ces parcelles sont proches de zones boisées mais ne sont pas pour autant isolées des vignobles alentours : l'environnement adjacent aux parcelles est présenté en Annexe 2.

TABLEAU 3 : CARACTERISTIQUES PRINCIPALES DES 4 PARCELLES DE L'ETUDE

Site	Commune	Coordonnées GPS (N, E)	Cépage	Surface vigne (m ²)	Evolution nombre ceps FD						Distance à la vigne sauvage
					2012	2013	2014	2015	2016	2017	
1	Cruet	45,530043 6,102755	Jacquère	3140	13	5	3	19	27	14	75m
2	Fréterive	45,580648 6,203718	Gamay	2285	1	34	95	36	36	175	30m
3	Les Marches	45,500010 5,973842	Jacquère	690	0	3	0	10	5	87	18m
4	Chignin	45,507572 6,028420	Roussane	1057	7	9	8	5	27	7	12m

2. Etude des populations larvaires présentes dans la parcelle et la vigne sauvage

a. Comptage larvaire à T0

Collecte des données

Le premier comptage larvaire a pour but d'estimer les populations larvaires initiales (T0) de *Scaphoideus titanus* dans la parcelle cultivée avant tout traitement insecticide. Il vise également à déterminer si la vigne sauvage présente une population larvaire du vecteur. Si c'est le cas, le comptage permet alors de comparer les populations larvaires dans la vigne cultivée et dans la vigne sauvage.

Avant le premier traitement larvaire (mi-juin), les larves sont à des stades précoces (L1, L2) et sont peu mobiles. Elles sont présentes sur la face inférieure des feuilles à la base du cep, près de leur lieu d'éclosion. Un comptage visuel est réalisé en retournant 10 feuilles par cep, à sa base et en dénombrant les larves sur la face inférieure. L'étude de Lessio et Alma (2006) a déterminé un nombre seuil de 50 ceps pour évaluer la population larvaire d'une parcelle de 3000m² avec un niveau de précision de 0,25. Cette valeur est utilisée pour le calcul du nombre de ceps par parcelle. Selon la configuration de chaque parcelle, cette valeur peut être dépassée pour faciliter le maillage et la mesure des distances sur le terrain. L'échantillonnage sur la parcelle est systématique (non aléatoire) : les comptages suivent un maillage régulier et homogène (Figure 9). En effet, la distribution des larves sur une parcelle est hétérogène selon la zone de ponte des adultes en n-1. Ainsi ce comptage systématique permet de déterminer la répartition spatiale des pontes.



FIGURE 9 : EXEMPLE DE COMPTAGE LARVAIRE SUR LA PARCELLE DE FRETERIVE

Sur vigne sauvage, la même méthode de comptage visuel est réalisée. La vigne sauvage ne se présente pas sous forme de pied distinct, comme la vigne cultivée. Elle est intégrée à différentes essences de végétaux (petits arbustes, ronces, jusqu'au sommet de certains arbres). Le comptage est alors réalisé sur des repousses de vigne sauvage, à hauteur d'homme, réparties de manière homogène sur la zone présentant des vignes sauvages. 10 feuilles sont retournées sur chaque repousse et le choix

des feuilles est réalisé de manière aléatoire car il n'est pas possible de situer la zone de la vigne sauvage où les larves se situent préférentiellement, contrairement à la vigne cultivée.

TABLEAU 4 : CARACTERISTIQUES DU COMPTAGE LARVAIRE A T0 SUR LES 4 PARCELLES DE L'ETUDE

Site	Commune	Nb comptage vigne	Maillage comptage vigne	Nb comptage vigne sauvage	Date comptage
1	Cruet	54	Rang : 8m Inter-rang : 8m	16	01/06
2	Fréterive	54	Rang : 7m Inter-rang : 7m	12	14/06
3	Les Marches	32	Rang : 6m Inter-rang : 6m	15	07/06
4	Chignin	26	Rang : 7m Inter-rang : 7m	5	07/06

Utilisation des Systèmes d'Information Géographique

Chaque comptage larvaire est localisé par GPS (Trimble Géo 7X) et possède un identifiant unique. Une jointure de table est réalisée sur le logiciel MapInfo, afin de relier chaque donnée de comptage à un point GPS. Grâce à une analyse thématique des données de chaque parcelle, une carte de répartition larvaire par classe est alors réalisée.

Analyse statistique des données

Les données de comptage larvaire dans la parcelle et dans la vigne sauvage sont testées statistiquement pour déterminer si une différence significative existe entre elles. Les données issues de comptage ne suivent pas une distribution normale, une comparaison de moyennes pour données non paramétriques est donc réalisée grâce à un test de Wilcoxon. La différence entre le comptage larvaire dans la parcelle et dans la vigne sauvage est significative si la p-value du test est inférieure à $\alpha=5\%$.

- b. battage larvaire après les traitements larvicides T1 et T2

Collecte des données

Après le premier traitement larvicide (Traitement 1, T1), un comptage larvaire est à nouveau réalisé pour déterminer si des populations larvaires résiduelles persistent et également afin de comparer les populations présentes dans la vigne cultivée et dans la vigne sauvage. Les larves sont à des stades plus avancés (L3 à L5) et sont devenues mobiles. Un comptage visuel n'est alors plus possible puisque les larves sautent immédiatement lorsque la feuille est retournée. De plus, les larves se sont déplacées depuis les feuilles basses vers le haut de la végétation. Elles se sont diluées dans le feuillage : la probabilité de rencontrer une larve en retournant une feuille est donc diminuée.

La technique du battage est alors utilisée. Elle permet de dénombrer toutes les larves présentes sur un même cep et également de capturer ces larves. La technique consiste à taper le cep de vigne 10 fois au-dessus d'un filet fauchoir à l'aide d'une matraque afin de faire tomber les larves présentes sur le cep de vigne. Ces dernières sont dénombrées puis collectées avec un aspirateur à bouche. Les larves sont ensuite congelées, puis leur stade est déterminé à la loupe binoculaire au laboratoire (Annexe 1).



FIGURE 10 : EXEMPLE DE BATTAGE LARVAIRE SUR LA PARCELLE DE FRETERIVE

L'échantillonnage est à nouveau systématique. La distance entre 2 points de battage (maillage) dans la vigne cultivée est doublée par rapport au comptage larvaire (Figure 10), cette technique étant plus exhaustive que la précédente mais plus laborieuse à mettre en place.

Pour la vigne sauvage, des « buissons » de vigne sont délimités pour réaliser le battage. Ces buissons représentent une zone géographique rassemblant diverses repousses de vigne sauvage (elles n'appartiennent pas forcément au même pied de vigne). Les buissons d'une même localisation présentent des surfaces foliaires totales équivalentes. 10 coups/buisson sont également réalisés (communication personnelle, S. Malembic, INRA Bordeaux).

2 séries de battages sont réalisées : le premier battage après le 1^{er} traitement larvaire (date traitement obligatoire : du 09 au 17 juin), le second battage après le 2nd traitement larvaire (date traitement obligatoire : du 23 juin au 01 juillet).

TABEAU 5 : CARACTERISTIQUES DU BATTAGE LARVAIRE SUR LES 4 PARCELLES DE L'ETUDE

Site	Commune	Nb battage vigne	Maillage battage vigne	Nb buissons vigne sauvage	Date B1	Date B2
1	Cruet	16	Rang : 16m Inter-rang : 16m	5	19/06	04/07
2	Fréterive	14	Rang : 14m Inter-rang : 14m	5	22/06	04/07
3	Les Marches	11	Rang : 12m Inter-rang : 12m	5	19/06	05/07
4	Chignin	10	Rang : 14m Inter-rang : 14m	3	22/06	05/07

Utilisation des Systèmes d'Information Géographique

Pour le premier battage larvaire, chaque point de battage est localisé par GPS (Trimble Géo 7X) et possède un identifiant unique. Une jointure de table est réalisée sur le logiciel MapInfo, afin de relier chaque donnée de battage à un point GPS. Pour le second battage, les mêmes points sont utilisés. Grâce à une analyse thématique des données de chaque parcelle, une carte de répartition larvaire par classe est réalisée.

Analyse statistique des données

Les données de battage larvaire dans la parcelle et dans la vigne sauvage sont testées statistiquement pour déterminer s'il y a une différence significative entre elles. Un test de Wilcoxon est réalisé. La différence entre le comptage larvaire dans la parcelle et dans la vigne sauvage est significative si la p-value du test est inférieure à $\alpha=5\%$. Les données du battage 1 et 2 pour chaque parcelle sont aussi comparées grâce à un test de Wilcoxon, afin de déterminer si elles sont significativement différentes.

3. Etude de la dynamique de l'adulte dans la parcelle et la vigne sauvage

Collecte des données

Afin d'étudier la dynamique de *St* dans et hors de la parcelle viticole, un suivi est réalisé grâce à des pièges jaunes englués (BUG-SCAN DRY, Biobest, 25x20cm). En effet, les adultes de *St* étant ailés, les pièges constituent le meilleur moyen de suivre leur dynamique de déplacement.

Pour suivre la dynamique de l'insecte dans la parcelle, des pièges sont disposés sur le rang de vigne au niveau de la canopée. Les pièges sont répartis de manière homogène sur la parcelle (échantillonnage systématique).

Afin de suivre la présence de l'insecte dans la vigne sauvage, un piège par buisson de vigne sauvage est mis en place à 1m de hauteur, grâce à des piquets de bois.

Pour suivre d'éventuels déplacements de l'adulte entre la vigne sauvage et la vigne cultivée, des pièges sont disposés entre ces deux compartiments, en bordure de parcelle (Figure 11). Les pièges sont installés sur des piquets de bois, à 1m de hauteur.

Les pièges dans les 3 compartiments sont mis en place avant l'émergence des adultes (le 27/06). Ils sont ensuite relevés tous les 10 jours et remplacés à chaque relevé afin qu'ils ne perdent pas leur attractivité. 5 relevés sont réalisés du 12/07 au 11/09.

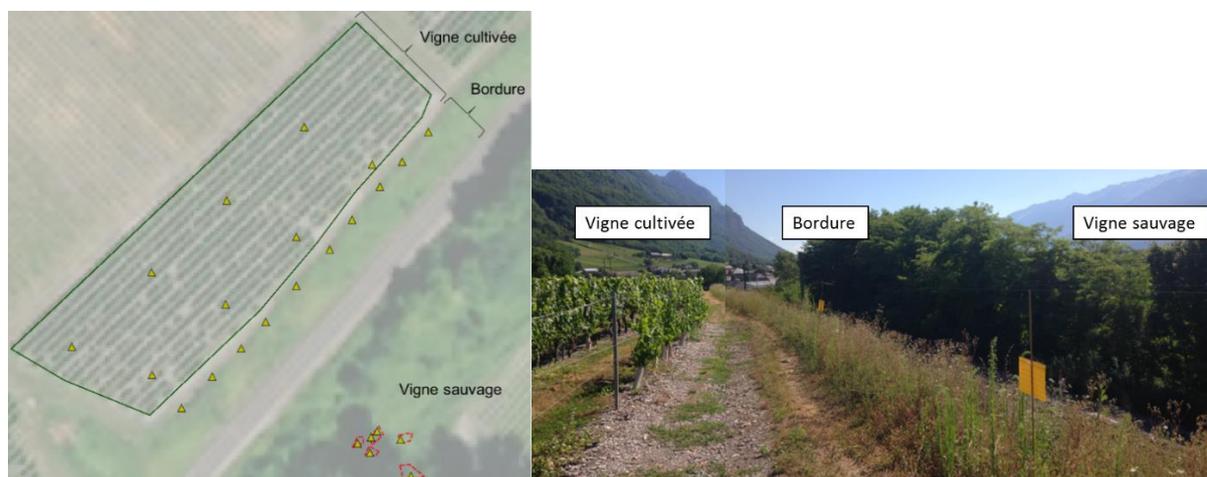


FIGURE 11 : DISPOSITION DES PIEGES SUR LA PARCELLE DE FRETERIVE (A GAUCHE), PHOTO PIEGES DISPOSES EN BORDURE ENTRE LA VIGNE CULTIVEE ET LA VIGNE SAUVAGE A FRETERIVE (A DROITE)

Pour des raisons de temps et d'organisation, le suivi de l'adulte est réalisé sur trois parcelles sur quatre: celles de Cruet, Fréterive et les Marches.

TABLEAU 6: CARACTERISTIQUES DU PIEGEAGE DE L'ADULTE SUR LES 3 PARCELLES SUIVIES

Site	Commune	Vigne cultivée		Bordure		VS	Relevés pièges				
		Nb pièges	Maillage pièges	Nb pièges	Espacement pièges	Nb pièges	R1	R2	R3	R4	R5
1	Cruet	13	Rang : 20m Inter-rang : 16m	8	10m	5	12/07	24/07	02/08	16/08	11/09
2	Fréterive	8	Rang : 20m Inter-rang : 14m	10	8m	6	12/07	24/07	02/08	16/08	11/09
3	Les Marches	7	Rang : 12m Inter-rang : 10m	5	6m	4	12/07	24/07		16/08	
4	Chignin										

Utilisation des Systèmes d'Information Géographique

Chaque piège est localisé par GPS (Trimble Géo 7X) et possède un identifiant unique. Une jointure de table est réalisée sur le logiciel MapInfo, afin de relier chaque relevé de piège à un point GPS. Grâce à une analyse thématique des données de chaque parcelle, une carte de répartition de capture de *St* par classe est réalisée.

Analyse statistique des données

Les données de piégeage dans la parcelle, en bordure de parcelle et dans la vigne sauvage sont testées pour déterminer si une différence significative existe entre les 3 compartiments. Les données ne suivent pas une loi normale (issues de comptage) et le nombre de moyennes à comparer est supérieur à deux, une comparaison de variances pour données non paramétriques est donc réalisée grâce à un test de Kruskal-Wallis. La différence de piégeage des compartiments est

significative si la p-value du test est inférieure à $\alpha=5\%$. Dans ce cas, un test de Dunn est réalisé pour comparer les compartiments deux à deux afin de déterminer quels compartiments sont significativement différents entre eux. Cette procédure est répétée pour chaque date de relevé.

4. Etude des vignes sauvages et larves comme réservoir de phytoplasmes

Collecte des données : la vigne

Afin de déterminer si la vigne sauvage est atteinte par le phytoplasme de la Flavescence Dorée, une analyse PCR de feuilles, amplifiant le gène *map* du phytoplasme, est réalisée. Tous les buissons de vigne sauvage des 4 sites sont analysés (Tableau 7) : 10 feuilles sont prélevées par buisson et représentent un échantillon. La récolte des feuilles se fait de manière aléatoire sur le buisson puisque la vigne sauvage est un porteur sain de la Flavescence Dorée et est asymptomatique (vigne américaine).

Sur la vigne cultivée des 4 parcelles étudiées, une analyse PCR est également réalisée pour s'assurer que les symptômes observés dans la parcelle sont bien ceux de la Flavescence Dorée. 5 feuilles sur 5 ceps symptomatiques par parcelle sont prélevées (protocole officiel national détection FD), ce qui représente un échantillon par parcelle.

Les feuilles sont récoltées le 04-05/07 et conservées au réfrigérateur à +3°C. Elles sont apportées dans des glacières frigorifiques le 06/07 au laboratoire afin d'être analysées.

Collecte des données : les insectes

Afin de déterminer si les larves présentes sur la vigne sauvage sont porteuses du phytoplasme, celles-ci sont analysées par PCR. Ainsi, les larves collectées lors du battage 1 et 2 sont réparties en pools pour être testées (Tableau 7). Chaque pool représente un échantillon. Un pool correspond à des larves de même stade, collectées sur le même buisson de vigne sauvage, à la même date. Le nombre de larves est compris entre 3 et 10 par pool (résultat pré-test). Les insectes sont congelés et apportés au laboratoire en glacière frigorifique en même temps que les feuilles de vigne.

TABLEAU 7 : DETAIL DES ECHANTILLONS DE VIGNE ET INSECTES COLLECTES ET TESTES PAR PCR

Echantillons		Insectes		Feuilles de vigne		
Site	Parcelle	Battage 1	Battage 2	Vigne sauvage	Vigne cultivée	Total
1	Cruet	5	7	5	1	
2	Fréterive	15	12	5	1	
3	Les Marches	1	6	5	1	
4	Chignin	0	0	3	1	
	Total	21	26	18	4	68 échantillons

Analyse moléculaire par PCR

Les services de contrôle du ministère en charge de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt s'appuient sur un réseau de laboratoires officiels, constitué principalement par les laboratoires nationaux de référence (LNR) et les laboratoires d'analyses agréés.

Dans le cadre du plan de lutte obligatoire contre la FD en Rhône-Alpes, la détection du phytoplasme de la FD sur vigne par PCR est réalisée par le laboratoire Agrivalys 71. L'analyse des feuilles de vigne sauvages et cultivées est réalisée par le laboratoire selon le protocole officiel.

Cependant, la détection du phytoplasme sur insecte n'est pas réalisée par le laboratoire. Ainsi un partenariat de recherche et développement a été mis en place au cours de ce stage entre le laboratoire d'analyse Biosellal (filiale de Agrivalys 71) et la FREDON dans le cadre de cette expérimentation.

La mise au point du protocole de détection de la FD sur insecte est réalisée sur des larves collectées en Savoie (stade L1 et L2) en juin 2018. Deux protocoles de lyse d'insecte sont testés (enzymatique et par broyage). Les résultats de broyage fournissent de meilleurs résultats que la lyse enzymatique, c'est cette méthode qui est retenue pour le pré-traitement des échantillons. L'extraction de l'ADN est effectuée grâce à un kit d'extraction en colonne de silice (BioExtract® column, Biosellal). L'amplification du gène *map* du phytoplasme est réalisée par PCR conventionnelle grâce à un kit (kit qPCR Premium® Flavescence Dorée/ Bois Noir). De plus, les nombres minimal et maximal de larves par pool ont été testés : chaque pool peut contenir entre 3 et 10 larves.

Analyse moléculaire par séquençage

La PCR permet de détecter la présence du phytoplasme de la Flavescence Dorée dans un échantillon (vigne ou insecte). Cependant, elle ne permet pas de déterminer la souche de phytoplasme en présence. Seul le séquençage de l'ADN permet d'obtenir cette information. Cette information est importante car elle permet de déterminer si la souche de FD est différente entre les 4 parcelles étudiées, si la souche de phytoplasme est la même dans la vigne cultivée et la vigne sauvage et s'il y a présence de la souche la plus grave (FD2-M54) sur le vignoble savoyard.

Le laboratoire Biosellal possède la technologie de séquençage NGS (Next Generation Sequencing). Parmi les échantillons positifs à la PCR (FD+), certains sont séquencés pour déterminer la souche de phytoplasme en présence. Le gène *map*, fragment de 800pb est fragmenté en fragments de 150 pb environ. Il y a ensuite amplification de ces fragments (plusieurs milliers de fois par fragment) puis séquençage. Les séquences obtenues sont alors comparées à 121 génotypes de phytoplasme référencés de M1 à M121 (références INRA). Des matrices d'homologie sont calculées en comparant les séquences des échantillons avec les séquences référencées.

Pour la vigne sauvage, chaque échantillon FD+ de buisson est séquencé. Pour la vigne cultivée, chaque échantillon FD+ de parcelle est séquencé. Pour les insectes, un échantillon par buisson de vigne sauvage par battage est séquencé. Au total 4 échantillons de vigne cultivée, 3 échantillons de vigne sauvage sont séquencés et 9 échantillons d'insectes sont séquencés.

5. Etude des vecteurs alternatifs de la FD

Lors des 4 relevés de pièges jaunes englués, les vecteurs alternatifs de la FD, *Orientus ishidae*, *Oncopsis alni*, *Allygus modestus*, *Dictyophara europaea*, *Japananus hyalinus* (Tableau 1) sont relevés. Ils sont dénombrés, puis congelés. Une analyse de leur répartition est aussi réalisée sur le logiciel MapInfo.

3ème partie : Résultats : Etude de la dynamique de *Scaphoideus titanus* dans la parcelle viticole et dans l'environnement sauvage

I. Résultats

1. Etude des populations larvaires présentes dans la parcelle et la vigne sauvage
 - a. Comptage larvaire à TO

Parmi les 4 sites étudiés, les sites de Cruet, Fréterive et Les Marches présentent des larves dans la vigne sauvage. Fréterive présente en moyenne $9,2 \pm 1,8$ larves pour 10 feuilles retournées, $2,9 \pm 1,1$ larves pour Cruet et $0,5 \pm 0,3$ larves pour Les Marches.

Le site de Chignin ne présente aucune larve dans la vigne sauvage.

Concernant la vigne cultivée, les populations larvaires dans les parcelles sont très basses avec en moyenne $0,07 \pm 0,04$ larves à Cruet, $0,06 \pm 0,04$ aux Marches, $0,04 \pm 0,07$ à Chignin. Pour Fréterive, aucune larve n'a été observée dans la vigne cultivée.

Le test de Wilcoxon comparant les populations larvaires de la vigne sauvage et de la vigne cultivée pour ces 3 sites, révèlent une différence significative (Cruet : $p\text{value}=9,5 \times 10^{-4}$, Fréterive : $p\text{value}=1,85 \times 10^{-3}$, Les Marches : $p\text{value}=1,85 \times 10^{-3} < \alpha = 0,05$) (Figure 12).

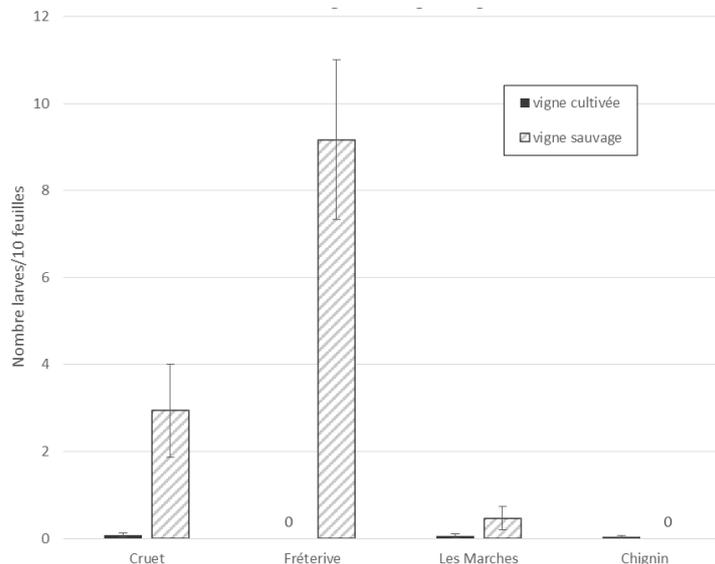


FIGURE 12 : NOMBRE DE LARVES DE *St* (MOYENNE \pm E.S.) POUR 10 FEUILLES RETOURNÉES SUR VIGNE SAUVAGE ET VIGNE CULTIVÉE

Interprétation

Les vignes sauvages constituent pour 3 des 4 sites étudiés, un site de ponte pour *Scaphoideus titanus*. Ces résultats ne permettent pas de conclure pour le moment sur l'origine des adultes ayant pondus dans la vigne sauvage en 2017 : ils peuvent avoir effectué l'ensemble de leur cycle de développement sur vigne sauvage ou peuvent avoir migré de la vigne cultivée à la vigne sauvage pour se reproduire en fin de saison 2017.

Les 4 sites présentent de très faibles populations larvaires dans la vigne cultivée : ceci atteste d'un très faible taux de ponte en 2017. Ceci peut être dû à une bonne efficacité des traitements contre le vecteur en 2017 ou d'une présence du vecteur mais avec peu de ponte (absence d'individus femelles dans la parcelle).

b. Battage larvaire après T1 et T2

Comme pour le premier comptage larvaire, les sites de Cruet, Fréterive et Les Marches présentent des larves dans la vigne sauvage pour les 2 battages larvaires. Le site de Chignin ne présente toujours pas de larves à l'issue des 2 battages.

Contrairement au premier comptage larvaire, les 2 battages ne révèlent aucune larve dans la vigne cultivée pour les 4 sites.

Le test de Wilcoxon comparant les populations larvaires du battage 1 et 2 dans les vignes sauvages de Cruet, Fréterive et Les Marches, ne révèle pas de différence significative (Cruet : $p\text{value} = 0,6905$, Fréterive : $p\text{value} = 0,9155$, Les Marches : $p\text{value} = 0,9161 > \alpha = 0.05$). En moyenne, $10,4 \pm 2,4$ larves sont dénombrées à Cruet par battage, $21,7 \pm 2,1$ larves à Fréterive et $4,5 \pm 1,8$ larves aux Marches (Figure 13).

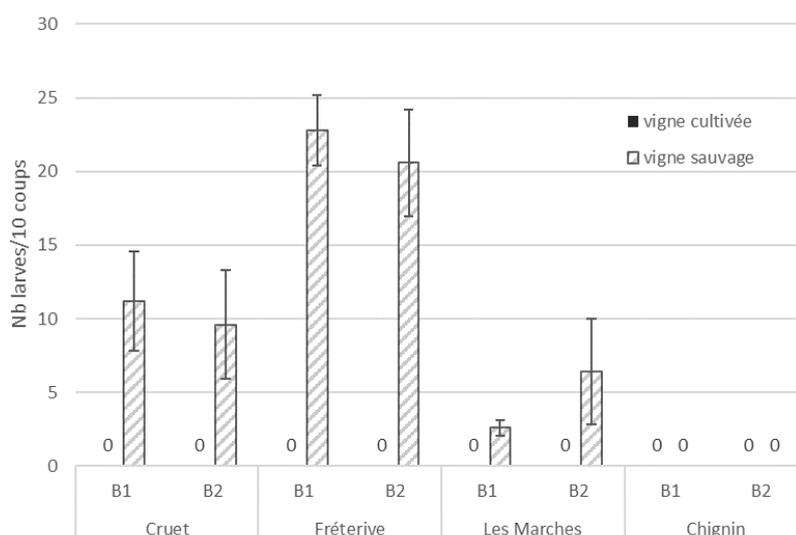


FIGURE 13 : NOMBRE DE LARVES DE *St* (MOYENNE \pm E.S) POUR 10 COUPS SUR VIGNE SAUVAGE ET VIGNE CULTIVÉE

Interprétation

Les deux battages larvaires ne révèlent pas de présence larvaire dans la vigne cultivée sur les 4 parcelles. Ceci atteste d'une bonne efficacité des traitements larvaires en 2018. Ces résultats sont à mettre en relation avec les populations larvaires initiales très basses pour les 4 sites (comptage larvaire).

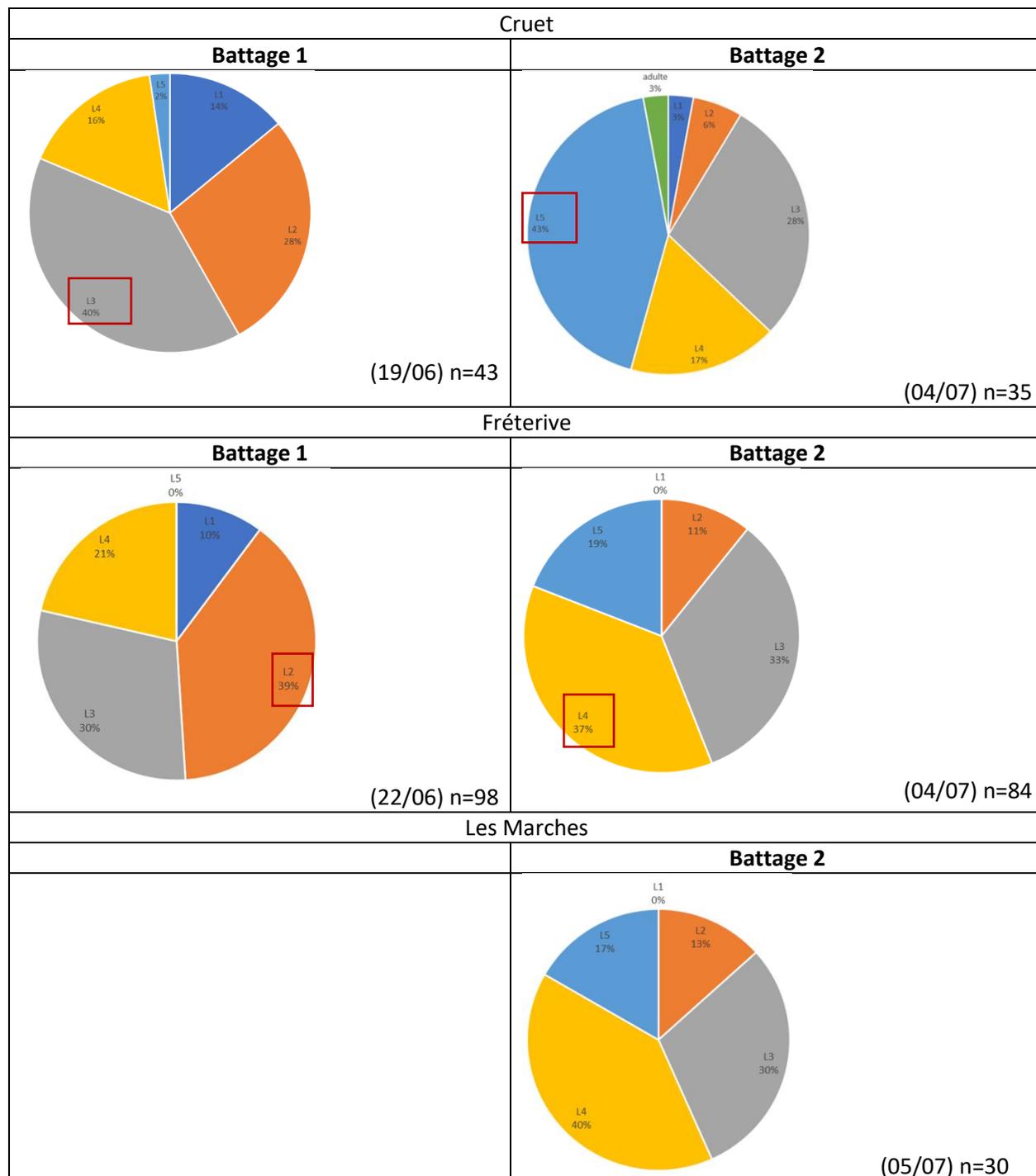
Stades larvaires

Pour le 1^{er} battage, le stade majoritaire à Cruet est le stade L3 (40%) alors que c'est le stade L2 à Fréterive (39%). De plus, 2% de L5 sont capturées à Cruet alors qu'il n'y a pas de L5 capturées à Fréterive (n=98) (Tableau 8, colonne 1).

Pour le 2^{ème} battage, le stade majoritaire à Cruet est le stade L5 (43%) alors que c'est le stade L4 pour Fréterive (37%). De plus, il y a 3% d'adultes à Cruet alors qu'il n'y a pas d'adulte capturé à Fréterive. Ceci laisse supposer que le cycle de *St* sur vigne sauvage est plus avancé à Cruet qu'à Fréterive. Cependant, 3% de L1 sont capturées à Cruet alors qu'aucune L1 n'est capturée à Fréterive. Les éclosions à Cruet pourraient être plus étalées que celles de Fréterive (Tableau 8, colonne 2).

Si l'on compare le 2^{ème} battage aux Marches et à Fréterive, la répartition des larves capturées dans les différents stades est similaire. Le cycle de *St* à ces deux localisations pourrait être semblable (Tableau 8, colonne 2).

TABLEAU 8 : STADES LARVAIRES DES BATTAGES 1 ET 2 SUR LES PARCELLES ETUDIEES



Interprétation

La technique du battage permet de capturer les larves présentes dans la vigne sauvage et de déterminer leur stade. Un décalage de cycle, dû à une exposition différente des parcelles semble être observé. Le cycle à Cruet pourrait être en avance par rapport à celui de Fréterive et des Marches, mais présente des éclosions plus étalées.

2. Etude de la dynamique de l'adulte dans la parcelle et la vigne sauvage

Comparaison du piégeage dans les 3 compartiments

Le test de Kruskal-Wallis comparant les populations adultes de *St* dans la vigne cultivée, en bordure et dans la vigne sauvage pour les sites de Cruet et de Fréterive révèle une différence significative, et ce pour les 4 relevés. (Cruet R1 : $p\text{value}=1,87 \times 10^{-3}$, R2 : $2,01 \times 10^{-3}$, R3= $2,64 \times 10^{-3}$, R4=0, Fréterive R1= $1,04 \times 10^{-4}$, R2= $1,8 \times 10^{-3}$, R3= $1,04 \times 10^{-3}$, R4=0 $\alpha=0.05$). Les tests de Dunn révèlent que la différence provient de la vigne sauvage, dont les captures sont significativement différentes de celles de la vigne cultivée et de la bordure, et ce pour les 4 relevés (Figure 14). Cependant, les relevés de la bordure et de la parcelle ne sont pas significativement différents.

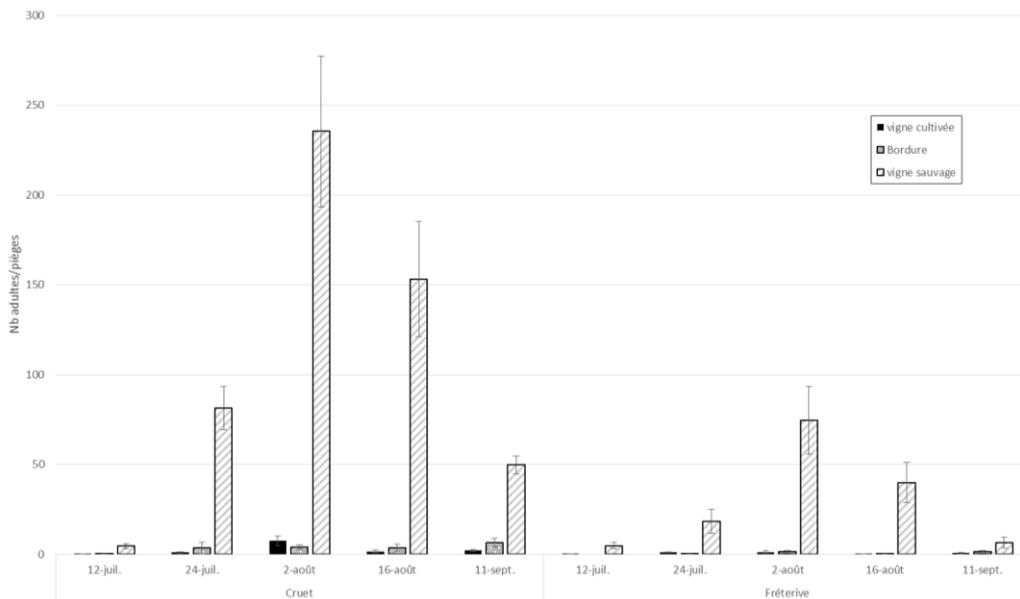


FIGURE 14 : CAPTURES DE ST ADULTE (MOYENNE \pm E.S) SUR PIEGES JAUNES, DANS LA PARCELLE, EN BORDURE ET DANS LA VIGNE SAUVAGE

Interprétation

Les parcelles étant traitées contre *Scaphoideus titanus* depuis des années, il n'est pas étonnant que les populations de l'adulte soient relativement basses dans celles-ci. *St* est inféodé à la vigne : les populations en bordure sont également basses (autres essences de végétaux).

La vigne sauvage est représentée principalement par de la vigne américaine, espèce préférée par *Scaphoideus titanus*. De plus, la vigne sauvage ne subit aucune intervention humaine (arrachage, traitements insecticides, etc.) : les populations de *St* sont très importantes dans celle-ci.

Dynamique temporelle de *Scaphoideus titanus*

A Cruet, la dynamique de vol dans les trois compartiments comporte des similarités (Figure 15). Il y a apparition des premiers adultes vers le 12 juillet, puis il y a une forte augmentation de leur présence jusqu'à fin juillet (pic de présence entre le 25 juillet et 02 août). Il y a ensuite une diminution très marquée des adultes au début du mois d'août dans les 3 compartiments. Cependant, la chute de présence d'adultes est moins brutale dans la vigne sauvage et la bordure (environ deux fois moins d'individus au 2 août) que dans la vigne cultivée (environ 8 fois moins d'individus au 2 août). Ensuite, la diminution du nombre d'adultes est continue et plus progressive jusqu'en septembre.

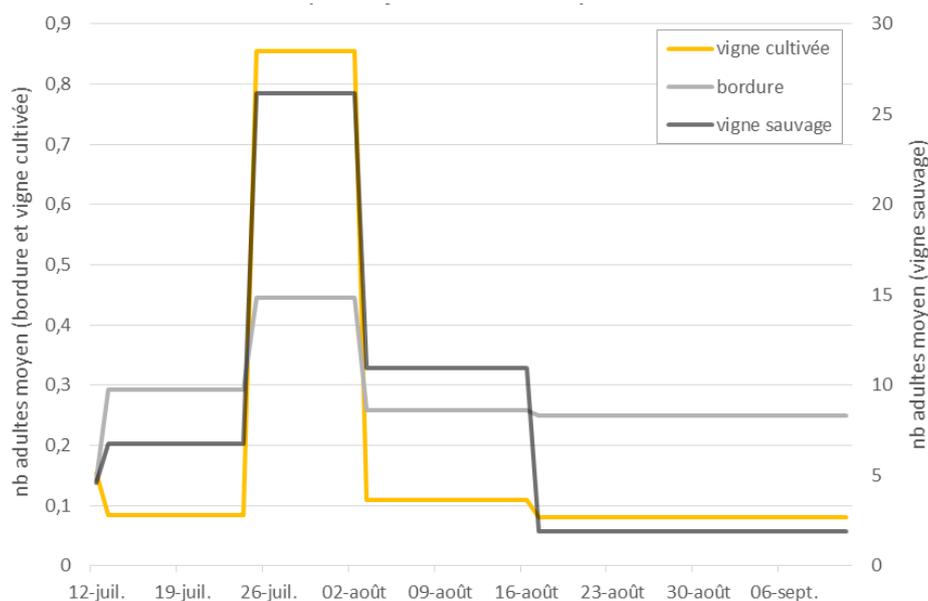


FIGURE 15 : CAPTURES JOURNALIERES DE *St* MOYENNES PAR PIEGE A CRUET

Interprétation

Le cycle de *St* semble similaire dans les 3 compartiments à Cruet. Ceci peut s'expliquer par la forte proximité géographique des 3 compartiments qui subissent les mêmes conditions climatiques. Le développement de l'insecte est donc équivalent pour les 3 emplacements. La présence de *St* adulte à Cruet s'étale donc de début juillet (aux alentours du 10), jusqu'au mois de septembre. Le 5^{ème} relevé du 11 septembre révèle la présence d'individus dans les 3 compartiments. La présence des adultes s'échelonne ainsi sur plus de 2 mois.

La forte chute des adultes dans la vigne cultivée début août est à mettre en relation avec le traitement insecticide obligatoire (T3) effectué le 1 août dans la parcelle. Cependant, cette diminution par 8 des adultes ne peut être imputée uniquement au traitement insecticide, puisque les populations diminuent également dans les deux autres compartiments qui n'ont pas subi les traitements. Le traitement permettrait donc de diminuer par 4 les populations dans la parcelle.

A Fréterive, il y a également apparition des adultes vers le 10 Juillet puis leur nombre augmente jusqu'à fin juillet (avec un pic entre le 25 juillet et 02 août), et ce pour les 3 compartiments (Figure 16). La diminution des adultes au 2 août est, comme à Cruet, plus marquée dans la vigne cultivée que dans la vigne sauvage. Contrairement à Cruet, cette chute brutale est aussi observée dans la bordure (populations divisées par 15 dans la parcelle et en bordure contre 3 dans la vigne sauvage). Une différence avec le site de Cruet est aussi à noter : il y a augmentation des adultes mi-août dans la vigne cultivée et en bordure, alors que les populations continuent à diminuer progressivement dans la vigne sauvage.

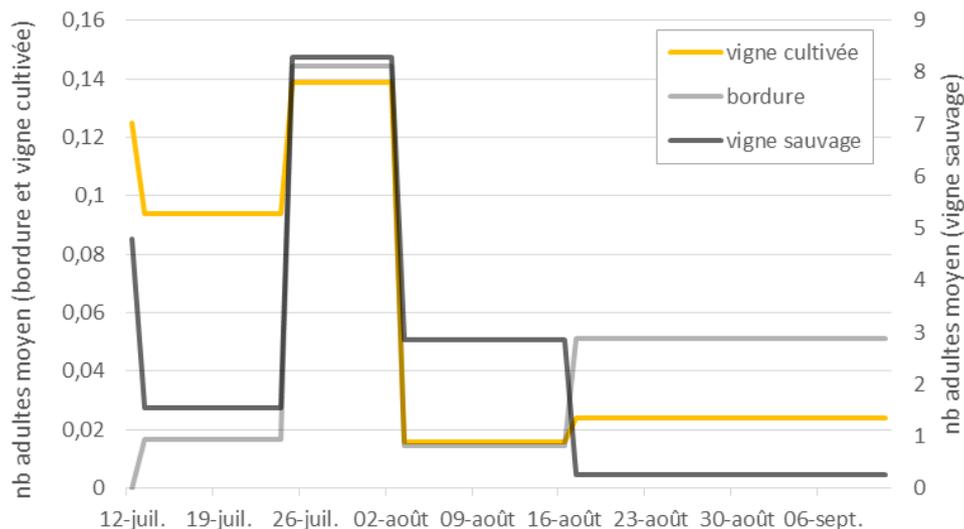


FIGURE 16 : CAPTURES JOURNALIERES DE ST MOYENNES PAR PIEGE A FRETERIVE

Interprétation

Le cycle de *St* à Fréterive est similaire dans les 3 compartiments et s'étale de début juillet à septembre. Comme à Cruet, l'effet du 3^{ème} traitement insecticide est aussi observé sur la parcelle de Fréterive. Il est également observé en bordure de parcelle. Ceci s'explique par la très forte proximité de ces deux compartiments à Fréterive.

L'augmentation des adultes dans ces compartiments mi-août peut s'expliquer par une recolonisation de *St* depuis l'environnement adjacent à la parcelle vers cette dernière.

Dynamique spatiale de Scaphoideus titanus

A Cruet, pour les 5 relevés confondus, chaque piège a capturé au moins un individu pendant la durée de l'étude (Figure 17, gauche). Dans la parcelle, 162 individus ont été capturés au total (13 pièges) et se concentrent principalement vers la bordure sud de celle-ci.

Les pièges dans la vigne sauvage ont capturé de nombreux adultes, avec un total de 2272 individus pour 5 pièges. Les captures sont assez uniformes entre les 5 buissons de vigne sauvage.

Les 8 pièges reliant la vigne sauvage et la vigne cultivée ont capturé 96 individus au total. Un gradient de captures sud-ouest/ nord-est s'observe allant de la vigne sauvage à la vigne cultivée, sur une distance de 75m.

A Fréterive, deux pièges dans la parcelle et 3 pièges en bordure n'ont jamais capturé pendant la durée du suivi (Figure 17, droite). Dans la parcelle, les individus se concentrent principalement vers la bordure sud de celle-ci. Au total 27 individus ont été capturés sur la parcelle au moyen de 8 pièges. Les pièges situés entre la vigne cultivée et la vigne sauvage (bordure) ont capturé principalement du côté nord-est. Au total 28 individus ont été capturés en bordure (10 pièges). Comme pour la parcelle de Cruet, la vigne sauvage à Fréterive présente une forte population de *Scaphoideus titanus* : au total 839 individus ont été capturés pour 6 pièges.

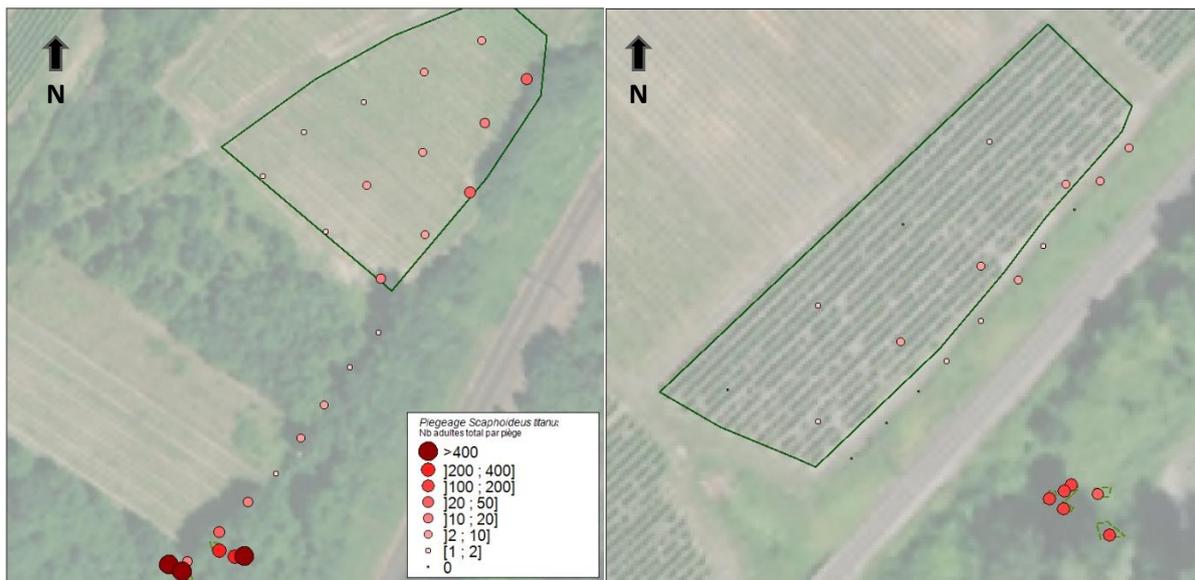


FIGURE 17 : REPARTITION SPATIALE DES CAPTURES DE *St* (TOTAL DES 5 RELEVÉS), SUR LA PARCELLE DE CRUET (A GAUCHE) ET SUR LA PARCELLE DE FRÉTERIVE (A DROITE) (LOGICIEL MAPINFO)

Interprétation

Le comptage à T0 et les 2 battages larvaires ont révélé des populations larvaires très basses voire inexistantes dans la vigne cultivée des parcelles étudiées. Cependant, le suivi de l'adulte révèle une présence de ce dernier généralisée dans les parcelles. Ceci pose la question de la capacité de vol de l'adulte, qui a pu se déplacer de l'environnement adjacent à la parcelle, jusqu'à cette dernière.

A Cruet, selon les résultats de piégeage (Figure 17), les individus pourraient provenir des parcelles de vigne situées à l'est de la parcelle étudiée (Annexe 2). Ils pourraient provenir également de la vigne sauvage, située à 75m à l'ouest de la parcelle, qui constitue un réservoir très important à *St*. Les captures sur les pièges reliant les deux compartiments suggèrent un gradient d'individus capturés, soutenant cette hypothèse.

A Fréterive, les individus pourraient provenir des parcelles de vigne situées à l'est de la parcelle étudiée (Annexe 2). Ils pourraient également provenir de la vigne sauvage, située à 30m. Cette hypothèse est appuyée par les captures observées sur les pièges situés en bordure (Figure 17).

Des fortes populations d'adultes *St* sont présentes dans la vigne sauvage à Cruet et Fréterive. Ceci valide l'hypothèse que *St* réalise tout son cycle de développement sur la vigne sauvage depuis l'éclosion, jusqu'à l'adulte et sa reproduction. Chaque femelle pouvant pondre une dizaine d'œufs, ceci laisse supposer que les populations de *St* dans la vigne sauvage pourraient continuer à augmenter en absence d'intervention sur ces vignes.

3. Etude des vignes sauvages et larves comme réservoir de phytoplasmes

Résultats PCR

Les échantillons de vigne cultivée prélevés sur les 4 sites sont positifs à la PCR (FD+).

Pour la vigne sauvage, 3 buissons sur 5 sont positifs à Fréterive et un buisson sur 5 est positif aux Marches. Aucun des 5 buissons de Cruet ne se révèle positif à la PCR et aucun des 3 buissons à Chignin (Annexe 3).

Pour les larves prélevées sur les buissons de vigne sauvage, 15 échantillons sur 27 sont FD+ à Fréterive. 3 échantillons sur 7 sont FD+ aux Marches. Aucun des 13 échantillons prélevés à Cruet ne se révèle FD+ (Annexe 4).

Interprétation

La vigne sauvage est un réservoir à phytoplasmes de la FD à Fréterive et aux Marches. Les larves présentes sur la vigne sauvage se nourrissent et acquièrent le phytoplasme, et ce, à tous les stades étudiés (L2 à L5).

En raison des délais du laboratoire, seules les larves de *St* ont été testées. Cependant, les résultats obtenus sur larves pourraient tout à fait être étendus aux adultes. En effet, les adultes possèdent une meilleure efficacité d'acquisition du phytoplasme que les larves. Une grande proportion d'individus adultes capturés à Fréterive devrait également être FD+.

Résultats séquençage

Tous les échantillons séquencés présentent une séquence unique et commune qui possède une homologie de 100% avec le génotype M54 appartenant à la souche FD2 du phytoplasme de la FD.

D'après les données publiées par l'INRA de Villenave d'Ornon, le génotype M54 est le génotype majoritairement retrouvé en France dans les foyers épidémiques de Flavescence Dorée sur vigne cultivée. C'est la souche la plus dangereuse du phytoplasme de la FD.

Interprétation

La souche M54 est présente sur les 4 parcelles de vigne savoyardes, ceci est cohérent avec la difficulté de la Savoie à lutter contre la maladie, puisque c'est la souche la plus épidémique de FD. La vigne sauvage et la vigne cultivée présentent la même souche de phytoplasme : il y a donc eu certainement transfert d'un insecte vecteur entre les deux compartiments, transportant le phytoplasme d'un compartiment à l'autre. Il est très probable que le transfert ait eu lieu de la vigne cultivée vers la vigne sauvage, puisque historiquement c'est le vignoble qui a d'abord été contaminé par la FD par plantation de ceps de vigne contaminés.

Les larves de *Scaphoideus titanus* présentent par ailleurs la même souche de phytoplasme que la vigne sauvage et que la vigne cultivée, il est donc très probable que *St* soit responsable du transfert du phytoplasme de la vigne cultivée à la vigne sauvage.

4. Etude des vecteurs alternatifs de la FD

Parmi les vecteurs alternatifs de la FD, seuls *Orientus ishidae* et *Japananus hyalinus* ont été relevés en grand nombre sur les pièges à Cruet et Fréterive.

Dynamique spatiale

La présence d' *Orientus ishidae* et de *Japananus hyalinus* est généralisée dans les trois compartiments (vigne cultivée, vigne sauvage, bordure) et ce de manière homogène, contrairement à *St* dont la présence est très marquée dans la vigne sauvage (Figure 18).

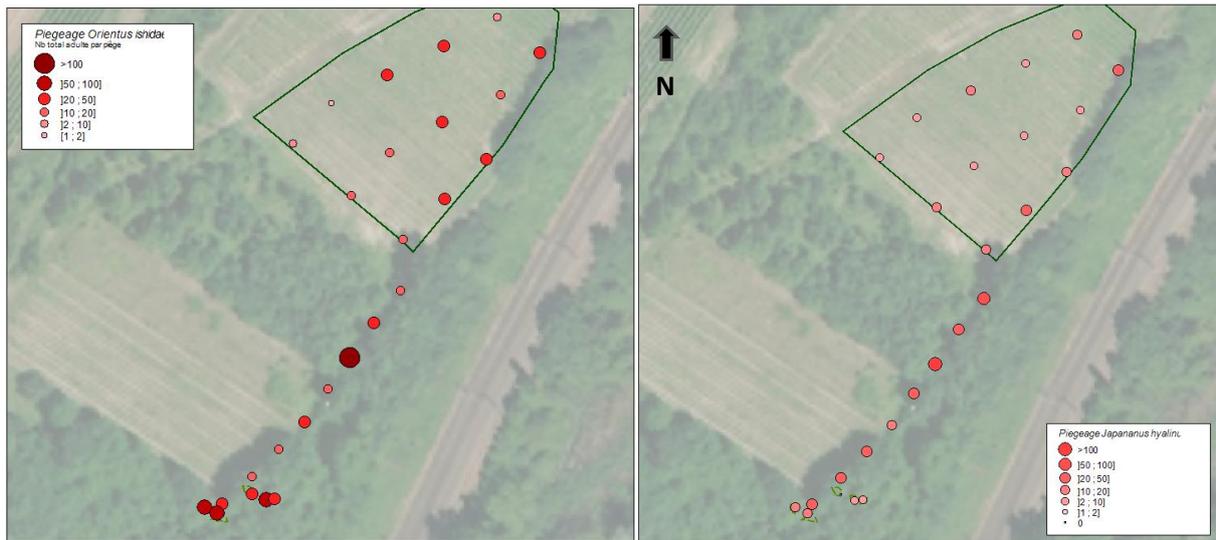


FIGURE 18 : REPARTITION SPATIALE DES CAPTURES DE *ORIENTUS ISHIDAE* (A GAUCHE) ET DES CAPTURES DE *JAPANANUS HYALINUS* (A DROITE) SUR LA PARCELLE DE CRUET (TOTAL DES 5 RELEVÉS)(LOGICIEL MAPINFO)

Interprétation

Orientus ishidae et *Japananus hyalinus* sont polyphages : ceci explique leur répartition homogène dans le paysage car ils peuvent chercher différentes sources de nourriture sur divers végétaux. Leur présence dans les parcelles, en plus grand nombre que *St*, pourrait s'expliquer par l'inefficacité des traitements insecticides contre ces derniers. Les traitements ciblent spécifiquement la cicadelle de la FD.

Dynamique temporelle d'*Orientus ishidae*

A Fréterive et Cruet, mise à part dans la vigne sauvage en début de cycle, la dynamique d'*Orientus ishidae* est similaire dans les 3 compartiments (Figure 19). L'apparition des premiers adultes d'*Orientus ishidae* semble plus précoce que ceux de *St* (vers le 4 juillet). Le cycle d'*Orientus ishidae* semble également se terminer plus précocement que celui de *St*.

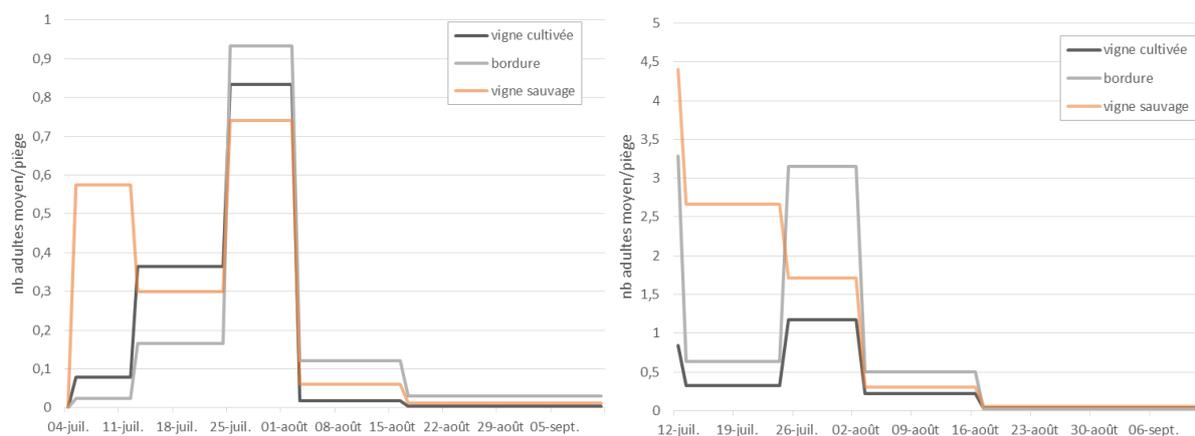


FIGURE 19 : CAPTURES JOURNALIERES MOYENNES PAR PIEGE DE *ORIENTUS ISHIDAE* A FRETERIVE (A GAUCHE) ET CRUET (A DROITE)

II. Eléments complémentaires à l'étude et Discussion

Evaluation du risque vignes sauvages en Savoie

TABLEAU 9 : BILAN SUR LE RISQUE VIGNE SAUVAGE DES 4 PARCELLES ETUDIÉES

	Cruet	Fréterive	Les Marches	Chignin
Vigne sauvage réservoir à <i>Scaphoideus titanus</i>	+	+	+	-
Vigne sauvage réservoir à phytoplasmes	-	+	+	-
Danger vigne sauvage pour vignoble	++	+++	+++	+

Plusieurs composantes sont à prendre en compte pour évaluer le risque que présente la vigne sauvage pour le vignoble : la présence de *St* dans la vigne sauvage, la présence du phytoplasme dans la vigne sauvage et le temps depuis lequel le vignoble est contaminé par la FD.

Trois cas se distinguent dans cette étude (Tableau 9):

A Fréterive et aux Marches, il y a d'abord eu migration d'individus *St* infectieux de la vigne cultivée à la vigne sauvage. Il n'est pas possible de savoir quand a eu lieu cette migration, puisque la vigne sauvage n'a jamais été étudiée en Savoie. Aujourd'hui, le vecteur est établi dans la vigne sauvage, il s'y nourrit et s'y reproduit. Il peut également devenir infectieux puisque la vigne sauvage est un réservoir à phytoplasmes. Des individus infectieux peuvent se déplacer de la vigne sauvage à la vigne cultivée et en se nourrissant, peuvent contaminer la parcelle. Si des individus sains sont présents dans la parcelle, ces derniers peuvent acquérir le phytoplasme et le propager à leur tour de manière épidémique. Ainsi, la vigne sauvage représente un fort danger pour le vignoble et permet d'expliquer pour partie les échecs de lutte sur les parcelles étudiées et leur taux de contamination très important (2017 : 175 ceps contaminés à Fréterive soit 775 ceps/ha, 87 ceps contaminés aux Marches soit 1257ceps/ha, Tableau 3).

A Cruet, il y a eu d'abord migration d'individus *St* sains de la vigne cultivée à la vigne sauvage. Aujourd'hui, le vecteur est établi dans la vigne sauvage, s'y nourrit et s'y reproduit. La vigne sauvage n'est cependant pas un réservoir à phytoplasmes : les individus présents sur la vigne sauvage restent donc sains. Des individus peuvent se déplacer de la vigne sauvage jusqu'à la vigne cultivée. Cela peut expliquer une présence généralisée de *Scaphoideus titanus* dans la parcelle, malgré les 3 traitements insecticides effectués contre le vecteur. Le taux de contamination de la parcelle pourrait s'expliquer par une faible présence du phytoplasme dans la parcelle et des individus *St* majoritairement sains qui ne disséminent pas ou peu la maladie (2017 : 14 ceps contaminés à Cruet soit 45 ceps/ha, Tableau 3). Cependant il n'est pas exclu qu'il y ait à nouveau migration d'individus infectieux depuis la vigne cultivée à la vigne sauvage, rendant la vigne sauvage un réservoir de phytoplasmes (cas de Fréterive et des Marches). Ainsi, la vigne sauvage représente, dans ce cas également, un danger pour le vignoble.

A Chignin, la vigne sauvage n'est ni un réservoir à vecteur, ni un réservoir à phytoplasme. A l'heure actuelle, elle n'est donc pas un risque pour le vignoble adjacent. Ceci explique les taux de contaminations faibles observés sur le vignoble (2017 : 7 ceps contaminés à Chignin soit 7 ceps/ha). Les contaminations constatées sont dues à d'autres facteurs. Toutefois, la vigne sauvage n'est pas sans risque pour le vignoble : des individus *St* pourraient à l'avenir coloniser la vigne sauvage (cas de Cruet) voire la contaminer (cas de Fréterive et des Marches).

Une étude italienne, ayant marqué des individus *St* (marquage albumine et caséine) dans la vigne sauvage pour suivre leur déplacement jusqu'à la vigne cultivée, a montré que 80% des individus sont

capturés dans les 30m. Cependant dans certaines conditions, des individus sont capables de se déplacer jusqu'à 330m (Lessio *et al.* 2014). La distance entre vigne sauvage et vigne cultivée pourrait donc être un facteur explicatif des taux de contamination observés sur les parcelles : à Fréterive et aux Marches, la vigne sauvage est proche des parcelles (30m et 18m respectivement) et les taux de contamination sont très élevés. A Cruet, la vigne sauvage est plus éloignée (80m) et les taux de contamination sont plus faibles.

En l'absence de marquage des individus *Scaphoideus titanus* piégés dans notre étude, nous ne pouvons pas avancer avec certitude que les adultes capturés dans les parcelles cultivées proviennent bien des vignes ensauvagées à proximité, mais plusieurs auteurs ont mis en évidence ce possible transfert d'un compartiment à l'autre (Beanland *et al.* 2006, Pavan *et al.* 2012).

Les vignes sauvages présentes sur le territoire savoyard peuvent donc expliquer dans certains cas des échecs de lutte contre la Flavescence Dorée. Une parcelle présentant des taux de contamination très élevés et proche d'une zone boisée laisse présager la présence de vigne sauvage aux alentours, pouvant être un réservoir de phytoplasmes et de vecteurs. Sur logiciel SIG, il est possible d'observer les parcelles FD+ de l'année, leur taux de contamination ainsi que l'environnement adjacent aux parcelles. Un filtre pourrait sélectionner les parcelles très contaminées (par exemple 100 ceps/ha) et un tampon pourrait sélectionner un rayon autour de la parcelle, et sélectionner celles présentant des zones boisées à proximité (Figure 20). Ceci est un exemple d'outils qui pourrait permettre de localiser les vignes sauvages à l'échelle du territoire savoyard.



■ Parcelle FD+
■ Parcelle très contaminée (> 100 ceps/ha)

FIGURE 20 : EXEMPLE DE FILTRE SUR SIG, COMMUNE DE CHIGNIN (LOGICIEL MAPINFO)

Si une campagne d'arrachage de ces vignes sauvages était à prévoir, il faudrait être attentif à la période d'arrachage. En effet il ne faudrait pas arracher ces vignes pendant la période de présence du vecteur (de mai à septembre) : cela pourrait provoquer une migration massive d'individus de la vigne sauvage jusqu'à la vigne cultivée. Il faudrait également être attentif à la méthode de destruction de ces vignes sauvages : couper la vigne à sa base ne suffit pas car celle-ci repartirait par la suite. Il faudrait arracher complètement la vigne (racines comprises) ou dévitaliser le pied.

Présence de vecteurs alternatifs de la FD

Orientus ishidae, récemment démontré comme vecteur de la FD (Lessio *et al.* 2016) est présent en grand nombre dans deux des 4 parcelles de l'étude. Cet insecte ne peut disséminer la FD de manière épidémique dans le vignoble. Néanmoins, il pourrait être à l'origine du transfert ponctuel de phytoplasmes de l'environnement sauvage à la parcelle. Ainsi, il pourrait donc participer à maintenir la FD dans le vignoble, malgré la lutte obligatoire. Des analyses PCR d'individus récoltés lors des 5 relevés vont être réalisées. Contrairement à *St*, les adultes seront testés individuellement, car *Orientus ishidae* est polyphage et peut donc être contaminé par différentes souches de phytoplasmes, selon les végétaux sur lequel il s'est alimenté (noisetier, aulne, noyer, etc.).

Japananus hyalinus est également présent dans les parcelles de l'étude. Contrairement à *Orientus ishidae*, sa capacité vectrice n'a pas encore été démontrée. Des tests de transmission de la FD sur vigne seraient donc à envisager.

D'autres vecteurs alternatifs de la FD (*Allygus modestus*, *Dictyophara europaea*, etc.) n'ont pas été piégés sur les parcelles de l'étude mais peuvent être présents sur le territoire savoyard. Il ne faut pas négliger leur existence.

La connaissance des vecteurs alternatifs de la FD sur le territoire savoyard est très importante. En effet, les parcelles de vignes sont très morcelées avec une forte présence de l'environnement sauvage en bordures de parcelles : ces vecteurs polyphages peuvent donc facilement se retrouver dans le vignoble. Une forte présence de ces vecteurs sur des parcelles pourrait expliquer un maintien constant de la FD, malgré la lutte obligatoire. Ce suivi des vecteurs alternatifs peut facilement être réalisé, sur le réseau de suivi biologique de *St*, déjà mis en place par la FREDON. Des fiches techniques pourraient permettre au personnel relevant les pièges d'identifier rapidement ces vecteurs.

*Amélioration de la connaissance du cycle de *Scaphoideus titanus**

Le suivi des 4 parcelles de l'expérimentation a permis d'améliorer la connaissance du cycle de *St* sur le territoire, avec le suivi des larves et des adultes.

Une information complémentaire est essentielle pour connaître précisément le cycle de *Scaphoideus titanus* : la dynamique d'éclosion des larves. En effet, la connaissance de la première date d'éclosion est primordiale pour déterminer la date du premier traitement insecticide (T1) et la connaissance de l'étalement des éclosions est nécessaire afin d'estimer l'efficacité des traitements. Ces informations peuvent être obtenues en utilisant des cages d'émergences, disposées sur différentes zones du vignoble savoyard.

3 cages d'émergences ont été suivies durant ce stage pour connaître la dynamique d'éclosion de *St* sur le vignoble savoyard. Une cage est sur la commune de Lucey (secteur Avant Pays savoyard), une cage est à Villard-d'Héry (secteur Vin de Pays) et une cage est à Saint-Jeoire-Prieuré (secteur Cluse de Chambéry). Le principe de la cage d'émergence est le suivant : du bois de taille d'un ou deux ans est récolté durant l'hiver sur des parcelles ayant présenté des populations importantes du vecteur pendant l'été. Les bois sont répartis en lots et déposés en bordure des parcelles où ils ont été récoltés. Début mai une cage grillagée est déposée sur le tas de bois et sur chaque face interne de la cage est suspendu un piège jaune englué. Les pièges sont relevés deux fois par semaine à partir de début mai, afin de suivre l'émergence des larves de *Scaphoideus titanus*, et ce, jusqu'aux dernières éclosions. Les larves sont retirées avec une aiguille et dénombrées.

Les courbes d'éclosion à Saint-Jeoire-Prieuré et Villard-d'Héry ont des similarités : les éclosions débutent le 15 mai puis se terminent le 5 juillet et le 9 juillet, respectivement (Figure 21). Le pic d'éclosion a lieu 3 jours plus tôt à Saint-Jeoire-Prieuré (du 2 au 4 juin) qu'à Villard d'Héry (5-7 juin). A Lucey, la première éclosion débute 3 jours plus tard, le 18 mai, mais le pic d'éclosions a lieu plus tôt (29 mai- 4 juin). Un problème technique n'a pas permis de suivre la fin des éclosions sur cette cage.

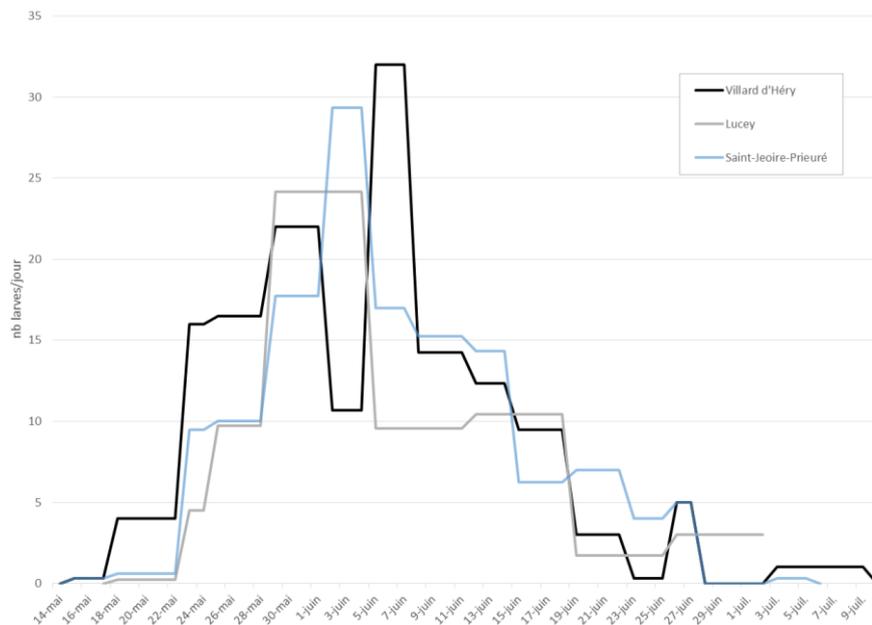


FIGURE 21 : ECLOSIONS JOURNALIERES DES L1 DE SCAPHOIDEUS TITANUS SUR DIFFERENTES ZONES DU VIGNOBLE

Ainsi, en traçant les courbes d'émergences cumulées, une réflexion sur la pertinence des dates de traitements peut être réalisée. Par exemple, le T1 obligatoire à effectuer entre le 9 juin et 17 juin, permet de tuer entre 70 et 87,4% des larves L1 à Saint-Jeoire-Prieuré (Figure 22). De plus, les premières éclosions ont lieu le 15 mai, donc les premiers individus infectieux peuvent commencer à apparaître à partir du 14 juin (délais de 30 jours pour qu'un individu soit infectieux après pique sur un cep contaminé). Plus les viticulteurs attendent pour traiter après le 14 juin, plus ils risquent que des larves infectieuses répandent le phytoplasme sur leur parcelle (jusqu'à 2,8% de larves infectieuses). Le T2 obligatoire entre le 23 juillet et le 1^{er} juillet, permet, en complément du T1, de tuer 95,8 à 99,8% des larves L1. Il reste donc des larves à l'issue du T2 : de 0,2 à 4,2%.

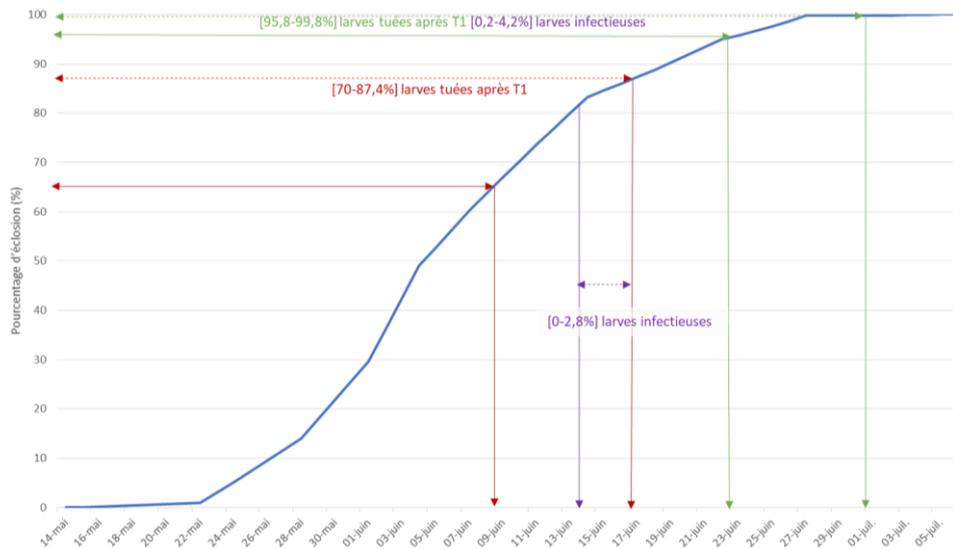


FIGURE 22 : COURBE D'ECLOSIONS CUMULEES A SAINT-JEOIRE-PRIEURE ET POSITIONNEMENT DES TRAITEMENTS

Ainsi, des cages d'émergences judicieusement placées sur le territoire (cœur de foyers) permettent de connaître précisément la dynamique d'éclosion de l'insecte et permettent d'évaluer l'efficacité des traitements obligatoires. Les courbes d'éclosion obtenues peuvent être ajoutées aux courbes de captures d'adultes, afin d'obtenir le cycle entier de développement de St (Figure 23). Il est

important de réaliser ce suivi précis tous les ans, car le cycle de développement de *St* diffère selon les années, ceci étant dû aux variations climatiques inter-annuelles.

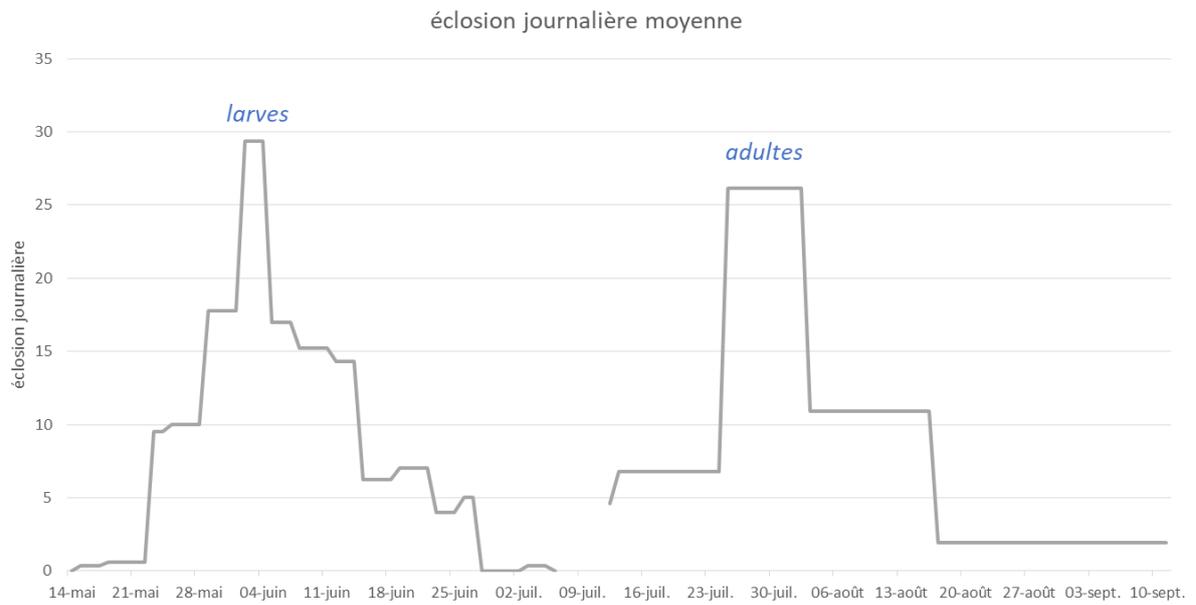


FIGURE 23 : COURBE DE PRESENCE DE SCAPHOIDEUS TITANUS A CRUET (CAGE D'EMERGENCE DE SAINT JEOIRE PRIEURE)

Conclusion

La Flavescence Dorée de la vigne est une maladie contre laquelle la lutte est très complexe : elle est incurable et la découverte des ceps contaminés se fait toujours un an après leur contamination. Le vecteur *Scaphoideus titanus* est exotique, sans prédateur européen et de nouveaux insectes vecteurs ont été récemment découverts. Ainsi, cette maladie épidémique est difficile à gérer partout en Europe et ce malgré la lutte obligatoire.

En Rhône-Alpes, la situation savoyarde est particulièrement compliquée, contrairement aux vignobles drômois, ardéchois et du Beaujolais qui parviennent à limiter la progression de la FD. En Savoie, la FD est présente sur le territoire depuis presque 20 ans et elle continue de progresser, malgré la lutte collective. Cette lutte est chronophage (prospection, arrachage, traitements), onéreuse (coûts des insecticides et de la prospection exhaustive du vignoble) et certains agriculteurs se découragent de ne pas voir la situation s'améliorer.

Un échec de la lutte obligatoire sur un territoire est forcément multifactoriel, englobant des enjeux sociaux (l'acceptation des mesures de lutte obligatoire par les viticulteurs), structurels et/ou organisationnels (collaboration entre la DRAAF-SRAL et la FREDON sur le dossier) et techniques (pertinence des dates de traitement contre *Scaphoideus titanus*, vecteurs alternatifs, contamination provenant du compartiment sauvage...).

Ce stage a permis de mettre en lumière certains facteurs explicatifs à ces échecs de lutte, sur le volet technique. Tout d'abord, la vigne sauvage présente en bordure de parcelles peut être un réservoir à phytoplasmes et à vecteurs. Les échanges entre le compartiment sauvage et cultivé ayant été démontrés par différents auteurs, ces vignes sauvages représentent un risque pour le vignoble, qu'il faudra intégrer au plan de lutte collective, pour une meilleure efficacité. Les vecteurs alternatifs de la FD peuvent également expliquer certains échecs de lutte, en faisant entrer le phytoplasme dans les parcelles de manière continue. Enfin, un manque de connaissance du cycle de *Scaphoideus titanus* sur le territoire peut expliquer des échecs de lutte. Différentes méthodes ont permis de suivre l'insecte de manière précise tout au long de son cycle de développement (cage d'émergence, comptage visuel, battage, piégeage). Une dernière information sur le cycle de *St* serait à étudier : la durée de la succession des stades larvaires (L1 à L5) jusqu'à l'apparition des adultes. Cette information est en effet très importante pour le positionnement des traitements larvicides (les larves sont infectieuses à partir du stade L3).

Finalement, il serait très intéressant de comparer ces données biologiques acquises avec des modèles théoriques existants (dynamique d'éclosion, enchaînement des stades, etc.) afin de pouvoir à terme, modéliser ces paramètres, comme cela existe déjà pour le suivi d'autres maladies (tavelure du pommier) ou ravageurs (carpocapse des pommes, des noix, tordeuse orientale du pêcher). Cependant la modélisation ne pourra se suffire à elle-même et il sera nécessaire de confronter les résultats modélisés aux données réelles du terrain (piégeage, comptage, etc.).

Références bibliographiques

- ARNAUD, G., MALEMBIC-MAHER, S., SALAR, P., BONNET, P., MAIXNER, M., MARCONE, C., BOUDON-PADIEU, E., FOISSAX, X., 2007. Multilocus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct Flavescence Dorée Phytoplasma Strain Clusters and Group 16SrV Phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 73, p. 4001-4010.
- BEANLAND, L., NOBLE, R., WOLF, T.K., 2006. Spatial and temporal distribution of North American grapevine yellows disease and of potential vectors of the causal phytoplasmas in Virginia. *Environmental Entomology*. Vol. 35, p. 332-344.
- BONFILS, J., SCHVESTER, D., 1960. Les cicadelles (Homoptera Auchenorrhyncha) dans leurs rapports avec la vigne dans le Sud-Ouest de la France. *Annales des Epiphyties*. Vol. 3, p. 325-336.
- BRESSAN, A., SPIAZZI, S., GIROLAMI, V., BOUDON-PADIEU, E., 2005. Acquisition efficiency of Flavescence Dorée phytoplasma by *Scaphoideus titanus* Ball from infected tolerant or susceptible grapevine cultivars or experimental host plants. *Vitis*. Vol. 44, p. 143-146.
- BRESSAN, A., LARRUE, J., BOUDON-PADIEU, E., 2006. Patterns of phytoplasma-infected and infective *Scaphoideus titanus* leafhoppers in vineyard with high incidence of Flavescence Dorée. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 119, p. 61-69.
- CAUDWELL, A., KUSZALA, C., BACHELIER, J.C, LARRUE, J., 1970. Transmission de la Flavescence Dorée de la vigne aux plantes herbacées par l'allongement du temps d'utilisation de la cicadelle *Scaphoideus titanus* et l'étude de sa survie sur un grand nombre d'espèces végétales. *Annales de Phytopathologie*. Vol. 2, p. 415-428.
- CAUDWELL, A., GIANNOTI, J., KUSZALA, C., LARRUE, J., 1971. Etude du rôle de particules de type « mycoplasmes » dans l'étiologie de la Flavescence Dorée de la vigne. Examen cytologique des plantes malades et des cicadelles infectieuses. *Annales de Phytopathologie*. Vol. 3, p. 109-125.
- CAUDWELL, A., MOUTOUS, G., LARRUE, J., FOS, A., BLANCON, G., SCHICK, J.P., 1974. Les épidémies de Flavescence Dorée en Armagnac et en Corse et les nouvelles perspectives de lutte contre le vecteur par des traitements ovicides d'hiver. *Bulletin technique d'information*. Vol. 294, p. 783-794.
- CHRISTENSEN, N.M., AXELSEN, K.B., NICOLAISEN, M., SCHULZ, A., 2005. Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Trends in Plant Science*. Vol. 10, p. 526-535.
- CHUCHE, Julien, 2010. Comportement de *Scaphoideus titanus*, conséquences spatiales et démographique. Thèse de doctorat. Œnologie. Université de Bordeaux 2.
- CHUCHE, J., THIERY, D., 2014. Biology and ecology of the Flavescence Dorée vector *Scaphoideus titanus* : a review. *Agronomy for Sustainable Development*. Vol. 34, p. 381-403.
- DECANTE, D., VAN HELDEN, M., 2005. Population ecology of *Empoasca vitis* and *Scaphoideus titanus* in Bordeaux wineyard : Influence of migration and landscape. *Crop protection*. Vol. 25, p. 696-704.
- DELLA GIUSTINA, W., HOGREL, R., DELLA GIUSTINA, M., 1992. Description des différents stades larvaires de *Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera, Cicadellidae). *Bulletin Société Entomologique*. Vol. 97, p. 269-276.
- EVEILLARD, S., JOLLARD, C., LABROUSSAA, F., KHALIL, D., PERRIN, M., DESQUE, D., SALAR, P., RAZAN, F., HEVIN, C., BORDENAVE, L., FOISSAC, X., MASSON, J.E., MALEMBIC-MAHER, S., 2016. Contrasting

susceptibilities to Flavescence Dorée in *Vitis vinifera*, Rootstocks and Wild *Vitis* Species. *Frontiers in Plant Science*. Vol. 7, Article 1762.

FALZOI, S., LESSIO, F., SPANNA, F., ALMA, M., 2014. Influence of temperature on the embryonic and post-embryonic development of *Schaphoideus titanus* (Hemiptera: Cicadellidae), vector of grapevine Flavescence Dorée. *International Journal of Pest Management*. DOI: 10.1080/09670874.2014.966170.

FILIPPIN, L., JOVI, J., CVRKOVI, T., FORTE, V., CLAIR, D., TOSEVSKI, I., BOUDON-PADIEU, E., BORGIO, M., ANGELINI, E., 2009. Molecular characteristics of phytoplasmas associated with Flavescence Dorée in clematis and grapevine and preliminary results on the role of *Dictyophara europaea* as a vector. *Plant Pathology*. Vol. 58, p. 826-837.

INRA, publié le 26/03/2013 et mis à jour le 20/06/2017. *La Flavescence Dorée de la vigne* [en ligne]. Disponible sur: <http://www.inra.fr/Chercheurs-etudiants/Biologie-vegetale/Tous-les-dossiers/flavescence-doree-de-la-vigne>. [Consulté le 03/08/2018].

INRA, FLADORISK : Flavescence dorée de la vigne. Influence de l'environnement sauvage et analyse comparée des systèmes régionaux de gestion de la maladie. Séminaire SMACh. 18 décembre 2014.

JERMINI, M., CONEDERA, M., SCHAEERER, S., BIANCO, P.A., RIGAMONTI, I.E., 2017. Development of a new strategy for the control of Flavescence Dorée disease based on a multiannual model of *Schaphoideus titanus* and a landscape analysis. Meeting of the IOBC-WPRS Working Group "Integrated protection in viticulture".

LESSIO, F., ALMA, A., 2004. Dispersal patterns and chromatic response of *Schaphoideus titanus* ball (Homoptera Cicadellidae), vector of the phytoplasma agent of grapevine Flavescence Dorée. *Agricultural and Forest Entomology*. Vol. 6, p. 121-127.

LESSIO, F., ALMA, A., 2006. Spatial distribution of nymphs of *Schaphoideus titanus* (Homoptera: Cicadellidae) in grapes, and evaluation of sequential sampling plans. *Journal of Economic Entomology*. Vol. 99, p. 578-582.

LESSIO, F., TEDESCHI, R., ALMA, A., 2007. Presence of *Schaphoideus titanus* on American grapevine in woodlands, and infection with "flavescence doree" phytoplasmas. *Bulletin of Insectology*. Vol. 60, p. 373-374.

LESSIO, F., TOTA, F., ALMA, A., 2014. Tracking the dispersion of *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae) from wild to cultivated grapevine: use of a novel mark-capture technique. *Bulletin of Entomological Research*. p. 1-12.

LESSIO, F., PICCIAU, L., GONELLA, E., MANDRIOLI, M., TOTA, F., ALMA, A., 2016. The mosaic leafhopper *Orientalus ishidae* : host plants, spatial distribution, infectivity, and transmission of 16SrV phytoplasmas to vines. *Bulletin of Insectology*. Vol. 2, p. 277-289.

MAGGI, F., BOSCO, D., GALETTO, L., PALMANO, S., MARZACHI, C., 2017. Space-time point pattern analysis of Flavescence Dorée epidemic in a grapevine field : disease progression and recovery. *Frontiers in Plant Science*. Vol. 7, Article 1987.

MAIXNER, M., PEARSON, R.C., BOUDON-PADIEU, E., CAUDWELL, A., 1993. *Scaphoideus titanus*, a possible vector of Grapevine Yellows in New York. *Plant disease*. Vol. 77, p. 408-413.

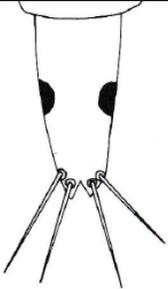
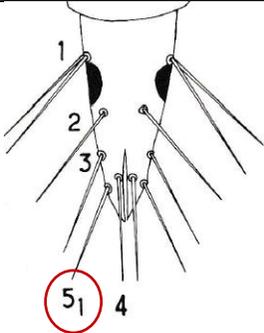
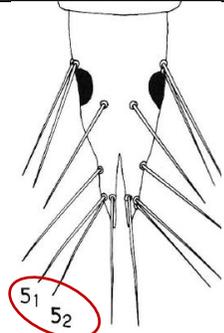
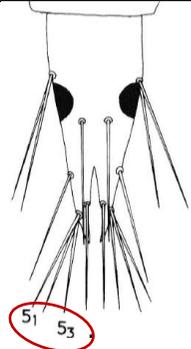
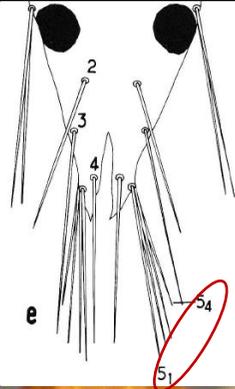
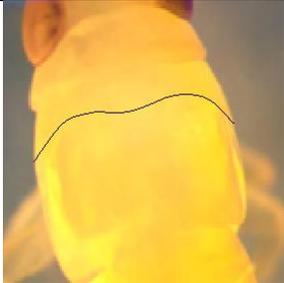
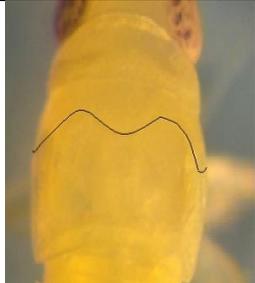
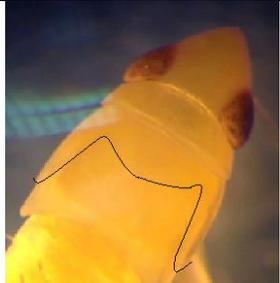
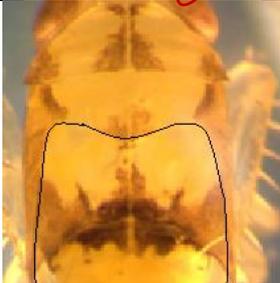
MAIXNER, M., REINERT, W., DARIMONT, H., 2000. Transmission of grapevine yellows by *Oncopsis alni* (Schrank) (Auchenorrhyncha : Macropsinae). *Vitis*. Vol. 39, p. 83-84.

PAVAN, F., MORI, N., BIGOT, G., ZANDIGIACOMO, P., 2012. Border effect in spatial distribution of Flavescence dorée affected grapevines and outside source of *Scaphoideus titanus* vectors. *Bulletin of Insectology*. Vol. 65, p. 281-290.

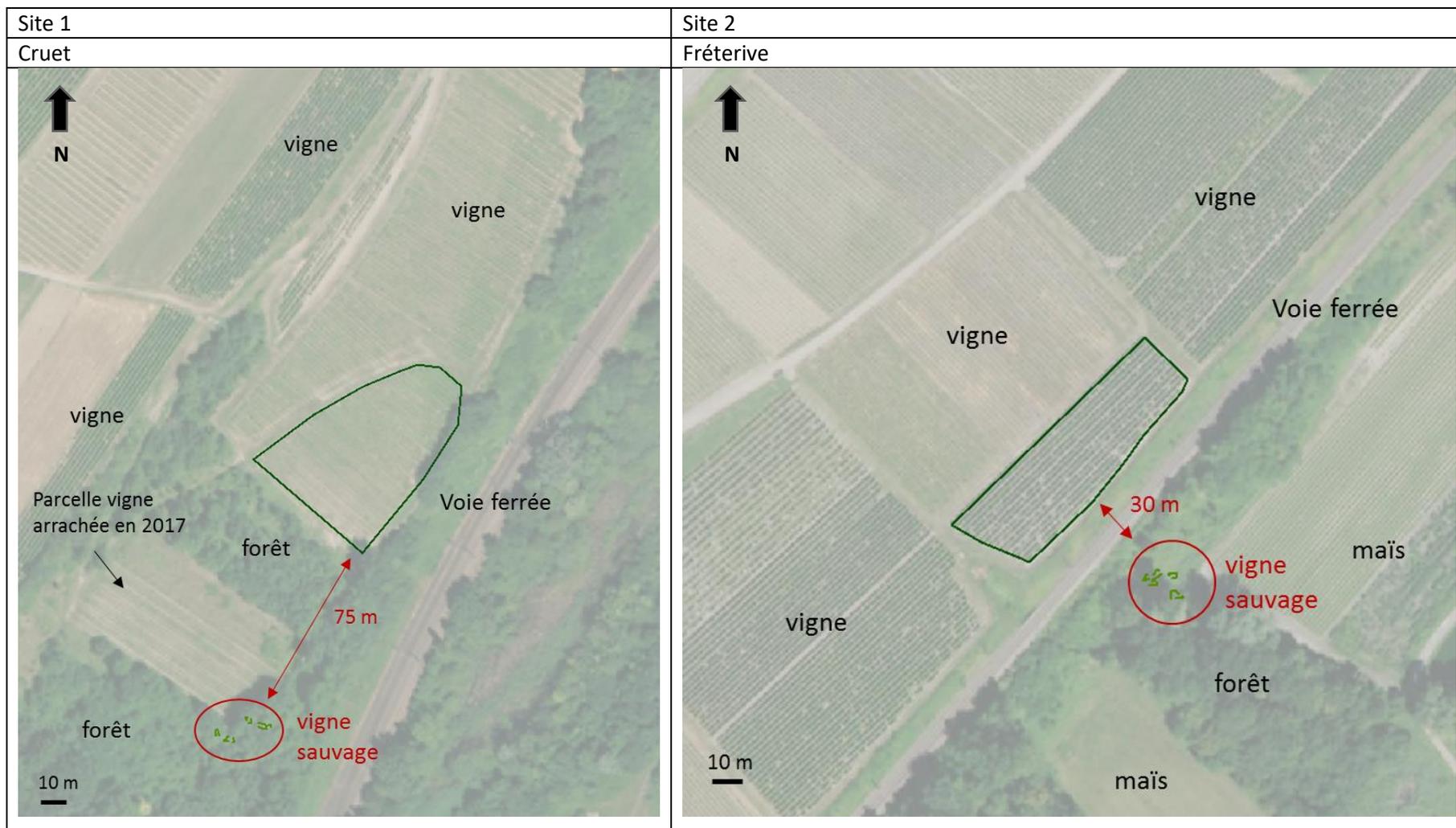
SCHVESTER, D., CARLE, P., MOUTOUS, G., 1969. Nouvelles données sur la transmission de la flavescence dorée de la vigne par *Scaphoideus littoralis* Ball. *Annales de Zoologie et Ecologie animal*. Vol. 4, p. 445-465.

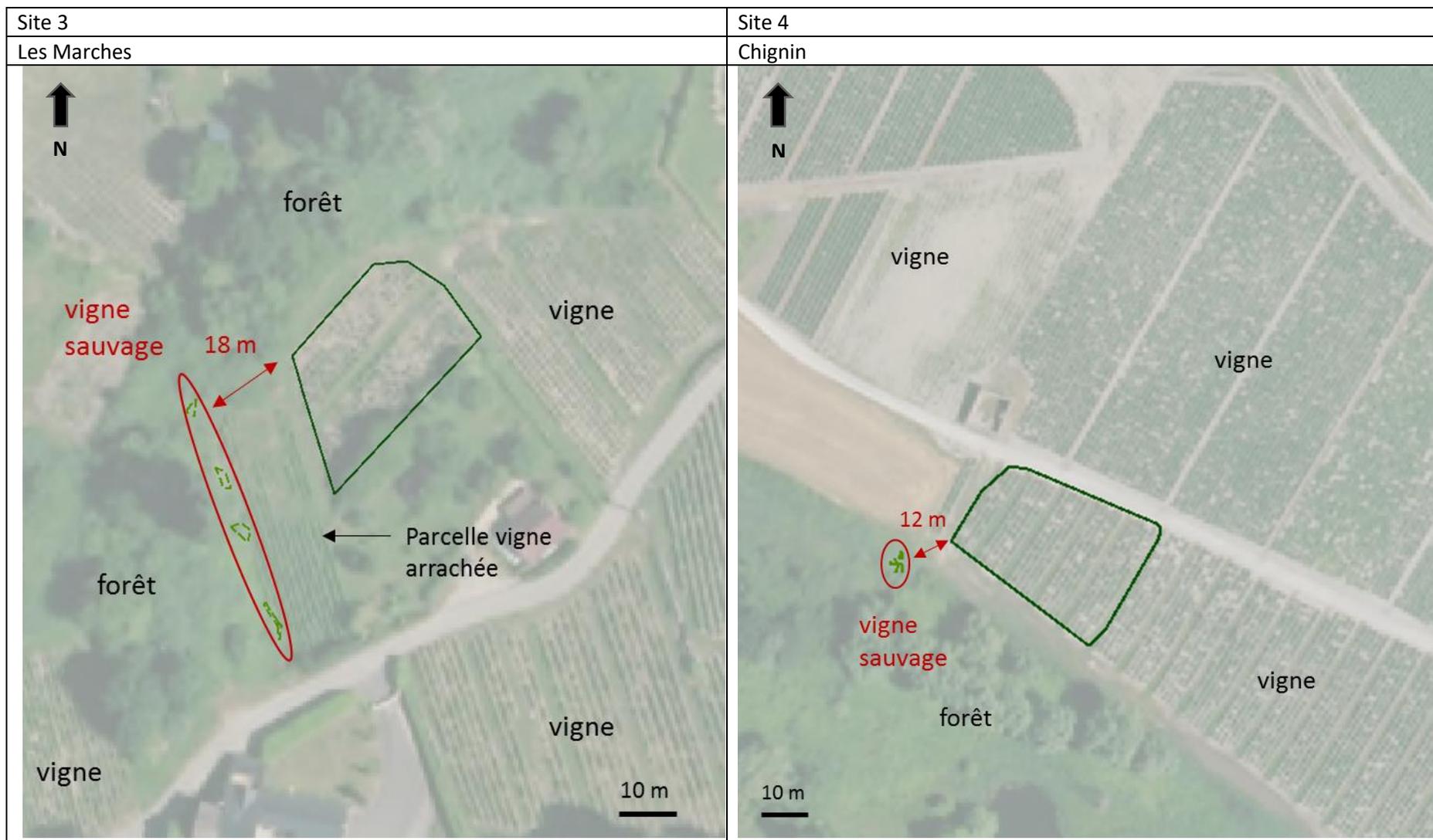
SMITH, I.M., MCNAMARA, D.G., SCOTT, P.R., HOLDERNESS, M., 1997. Quarantine Pests for Europe, 2nd edition. CAB International, Wallingford. p. 1013-1021.

VIDANO, C., 1964.- Scoperta in Italia dello *Scaphoideus littoralis* Ball, cicalina americana collegata alla "flavescence dorée" della vite. *L'Italia agricola*. Vol. 10, p. 1031-1049.

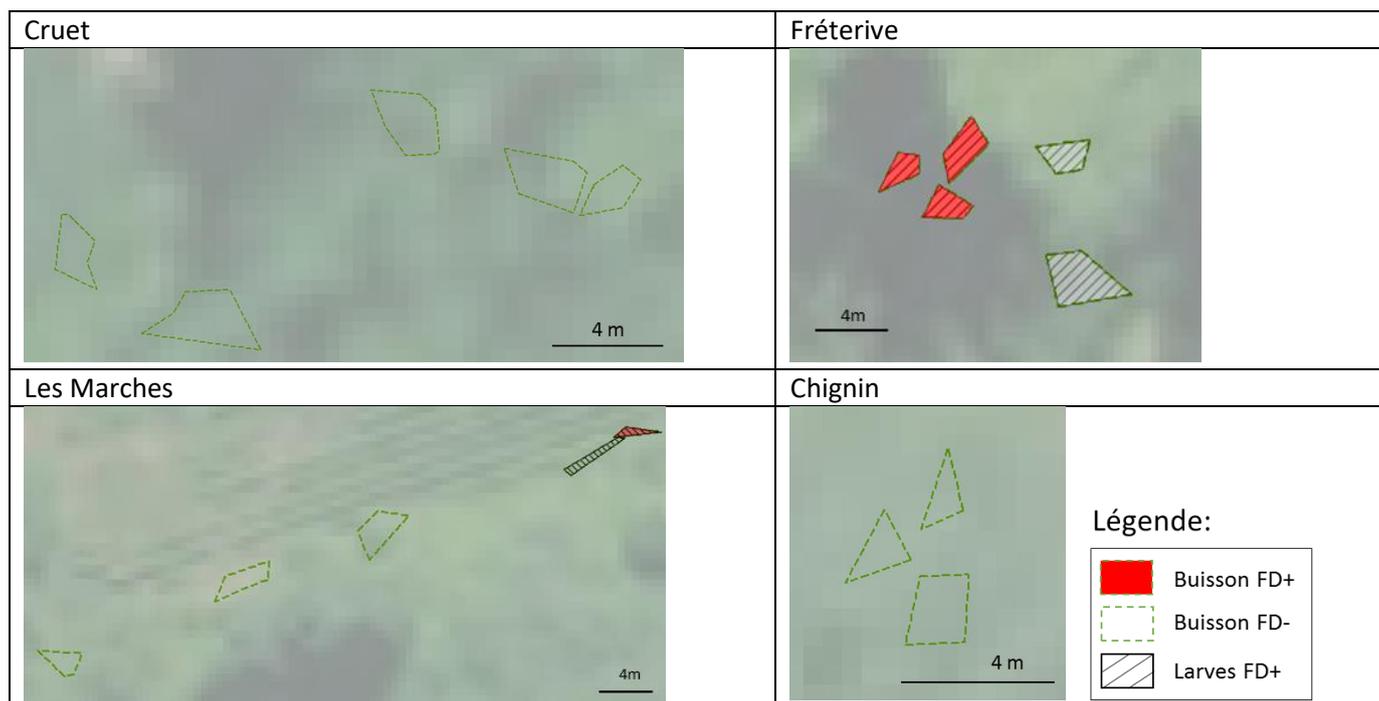
Type observation	L1	L2	L3	L4	L5
	Long totale moy : 1.8mm	2.4mm	3.3mm	4.3mm	5mm
Observation soies telson (loupe binoculaire, Sarah Grauby)					
Schéma telson et position 5 groupes de soies (Giustina et al. 1992)					
Observation ébauches alaires (loupe binoculaire Sarah Grauby)					

ANNEXE 1 : DETERMINATION DES STADES LARVAIRES DE ST GRACE A L'OBSERVATION DES SOIES DU TELSON ET L'OBSERVATION DES EBAUCHES ALAIRES (LOUPE BINOCULAIRE, SARAH GRAUBY)





ANNEXE 2 : ORTHOPHOTO DES PARCELLES ETUDIÉES ET LEUR ENVIRONNEMENT ADJACENT



ANNEXE 3: RESULTATS ANALYSES PCR DES VIGNES SAUVAGES ET LARVES DES 4 SITES DE L'ETUDE (MAPINFO)

	Stades larvaires	Nb pools testés	Nb pools FD+	Nb buissons VS testés	Nb buissons FD+
Fréterive	L4/L5	1	0		
	L2	5	2		
	L3	9	7		
	L4	9	5		
	L5	3	1		
	total		27	15	5
Les Marches	L2/L3	1	0		
	L4/L5	1	1		
	L2	0	0		
	L3	2	1		
	L4	1	1		
	L5	2	0		
total		7	3	5	1
Cruet	L3/L4	2	0		
	L3/L5	2	0		
	L2	1	0		
	L3	2	0		
	L4	2	0		
	L5	2	0		
total		11	0	5	0
Chignin		0		3	0

ANNEXE 4: DETAIL DES RESULTATS DES ANALYSES PCR DES ECHANTILLONS DE VIGNE SAUVAGE ET DE LARVES

Résumé

La Flavescence Dorée est une jaunisse à phytoplasme de la vigne, transmise par la cicadelle *Scaphoideus titanus*. Cette cicadelle provient des Etats-Unis et propage le phytoplasme dans le vignoble européen de manière épidémique, ce qui provoque de grosses pertes économique. En Europe la FD est considérée comme une maladie de quarantaine et des traitements obligatoires sont mis en place. La FD est la plus grave maladie actuelle pour le vignoble européen.

En Savoie, presque 90% du territoire est soumis à la lutte obligatoire. Cependant, les surfaces contaminées ne cessent d'augmenter. Ainsi, dans le cadre de ce stage, une étude a été réalisée sur la dynamique de *Scaphoideus titanus* sur le territoire afin de tenter d'expliquer ces échecs de lutte. Tout d'abord, les vignes sauvages présentes dans l'environnement adjacent aux parcelles représentent un risque pour le vignoble. En effet, elles peuvent représenter un habitat pour *Scaphoideus titanus*, qui y réalise tout son cycle de développement. De plus, les vignes sauvages peuvent représenter un réservoir à phytoplasmes de la FD. Des études ont d'ailleurs prouvé que des individus présents dans la vigne sauvage pouvaient se déplacer jusqu'à la vigne cultivée. De plus, des insectes vecteurs alternatifs de la FD ont été observés sur le territoire notamment *Orientus ishidae* et *Japananus hyalinus*. Ces derniers pourraient expliquer également le maintien de la FD sur le territoire savoyard.

Abstract

The Flavescence Dorée is a Grapevine phytoplasma, transmitted by the leafhopper *Scaphoideus titanus*. This leafhopper originates from the United States of America and epidemically spreads the phytoplasma on the European vineyard, causing major economic losses. In Europe, the FD is considered to be a quarantine disease and mandatory treatments are in order.

In Savoie, almost 90% of the territory is subject to the obligatory fight against it. However, the contaminated surfaces keep growing. Therefore, within the course of this internship, a study was carried out on the dynamics of *Scaphoideus titanus* on the territory. Firstly, the wild american grapevine naturally occurring in the environment surrounding the vineyards represent a major risk for the vineyard. Indeed, they can be a place of habitat for *Scaphoideus titanus*. Moreover, the wild american grapevine can act as a container for the phytoplasma of FD. Studies have demonstrated that some species occurring in the wild vineyards could move to the cultivated vine. Furthermore, alternative insects of the FD have been observed on the territory, namely *Orientus ishidae* and *Japananus hyalinus*. The previously mentioned could explain the maintenance of the FD on the territories in Savoie.