

Orientus ishidae, un nouveau vecteur de la flavescence dorée au Tessin

Mauro JERMINI¹, Santiago SCHAEERER², Paola CASATI³, Giacomo CORBANI³, Fabio QUAGLINO³, Ivo RIGAMONTI⁴ et Piero BIANCO³

¹Agroscope, 6593 Cadenazzo, Suisse – ²Agroscope, 1260 Nyon, Suisse

³Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – Produzione, Territorio, Agroenergia (DiSAA), Università degli Studi di Milano, Milan, Italie

⁴Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione, l'Ambiente (DeFENS), Università degli Studi di Milano, Milan, Italie

Renseignements: Mauro Jermini, e-mail: mauro.jermini@agroscope.admin.ch, tél. +41 58 466 00 32, www.agroscope.ch



Feuille de Chardonnay avec symptômes caractéristiques de flavescence dorée: jaunissement et enroulement angulaire et serré vers le bas.

Introduction

La flavescence dorée (FD) est une grave maladie de la vigne causée par le phytoplasme «*Candidatus Phytoplasma vitis*», du groupe ribosomal 16SrV (Elm yellows) (IRPCM 2004), transmis de vigne à vigne par la cicadelle d'origine néarctique *Scaphoideus titanus* (Ball) (Schvester et al. 1961). Du fait du caractère épidémique de la maladie, des pertes économiques importantes qu'elle engendre et du statut d'organisme de quarantaine de

son agent causal, *Ca. P. vitis* (FDp), la FD fait l'objet de mesures officielles visant à endiguer sa propagation et est soumise à la lutte obligatoire en vertu de l'ordonnance du 27 octobre 2010 sur la protection des végétaux (RS 916.20).

La FD est apparue en Suisse en 2004 au Tessin (Schaeerer et al. 2007). Le suivi de la maladie dans ce canton a montré que, dix ans après son arrivée, 13 % des parcelles de vigne étaient touchées de manière récurrente par la FD, ce qui a eu pour conséquence la mise en place

d'un régime de lutte obligatoire ininterrompu contre la maladie et son vecteur, *S. titanus*, et ce malgré des populations vectrices très faibles, voire inexistantes (Jermini *et al.* 2014).

La complexité de la FD et de sa problématique est liée à la découverte du phytoplasme causal dans d'autres plantes et insectes. En effet, *Ca. P. vitis* a été détecté dans d'autres végétaux, notamment *Ailanthus altissima* (Miller), *Alnus* sp. et *Clematis vitalba* (L.) (EFSA 2014). Ces plantes hôtes représentent sans nul doute une source d'inoculum à partir duquel la FD peut être transmise à la vigne (Chuche et Thiery 2014) par le biais d'insectes vecteurs autres que *S. titanus*. La capacité vectrice d'autres cicadelles a ainsi été démontrée, comme pour *Dictyophara europaea* (L.), capable de transmettre *Ca. P. vitis* de la clématite (*C. vitalba*) à la vigne (Filippin *et al.* 2009), ou *Oncopsis alni* (Schrank) de l'aulne (*Alnus glutinosa* (L.)) à la vigne (Maixner *et al.* 2000; Arnaud *et al.* 2007). Pour ces vecteurs alternatifs, la vigne représente non pas un hôte préférentiel, mais plutôt un hôte accidentel, ou plante hôte terminale, à partir de laquelle la FD ne pourra pas être disséminée à d'autres vignes, sauf si *S. titanus* est présent dans les parcelles. C'est pour cette raison que les insectes vecteurs alternatifs de la FD sont incapables de disséminer la maladie de façon épidémique. Récemment, des tests moléculaires ont mis en évidence le phytoplasme de la FD dans une autre cicadelle, *Orientus ishidae* (Matsumura) (Mehle *et al.* 2010; Gaffuri *et al.* 2011; Koczor *et al.* 2013, Trivellone *et al.* 2016). Lessio *et al.* (2016) ont démontré sa capacité à transmettre des phytoplasmes du groupe 16SrV à la vigne. Cette situation montre la complexité du système FD et la nécessité de mieux comprendre les relations écologiques entre plantes et insectes, ainsi que l'influence du paysage sur l'écologie de la FD. L'objectif de ce travail est de déterminer quels sont les végétaux et les insectes vecteurs susceptibles de contribuer à la propagation, voire au maintien de la FD dans le canton du Tessin, avec un accent particulier porté sur la cicadelle *O. ishidae* et ses hôtes préférentiels.

Matériel et méthodes

Le travail, mené pendant la période 2013–2015, a porté sur des parcelles qui ont été retenues sur la base d'une analyse critique de la situation au Tessin (Jermini *et al.* 2014). Ces parcelles ont pour caractéristiques d'être touchées de façon ininterrompue par la FD depuis plus de quatre ans et d'être plantées avec des cépages sensibles. Les résultats d'une année ont servi de base pour la planification des essais l'année suivante.

Résumé Cette étude, conduite au Tessin pendant la période 2013–2015, a pour but d'établir la présence de vecteurs et de plantes hôtes alternatifs de la flavescence dorée de la vigne (FD). Les résultats ont montré que la cicadelle *Orientus ishidae* constitue au Tessin un deuxième vecteur de la FD, sans toutefois diffuser la maladie de façon épidémique comme *Scaphoideus titanus*, le vecteur principal de la maladie. *O. ishidae* est présent dans toutes les parcelles de l'étude, mais à des densités de populations différentes. *Corylus avellana* et *Salix* sp. sont ses plantes hôtes de prédilection et des individus positifs à la FD y ont été identifiés. En outre, quatre autres espèces de cicadelles se sont révélées porteuses de FD, mais, contrairement à *O. ishidae*, il reste à démontrer pour ces dernières la capacité de transmettre la maladie à la vigne. L'écologie de la FD se révèle donc être un système bien plus ouvert qu'anticipé, où le paysage bordant les vignes joue un rôle important en déterminant la présence (ou l'absence) de plantes hôtes alternatives pouvant héberger la FD ainsi que la présence des espèces vectrices qui leur sont associées. La stratégie de lutte actuelle axée sur l'éradication de la FD est remise en question et doit être repensée et adaptée.

Piégeage des cicadelles et contrôle des symptômes

Campagne 2013

La parcelle choisie (2177 ceps de Chardonnay) est située dans la commune de Stabio (fig. 1) et la FD s'y exprime annuellement depuis 2005. Tous les ceps ont été inspectés visuellement de juin à fin octobre et ceux présentant des symptômes de jaunisse ont été marqués et des échantillons prélevés pour un diagnostic moléculaire au laboratoire.

Deux méthodes d'échantillonnage des cicadelles ont été utilisées.

(A) *Frappage sur vigne* – Le but étant de déterminer les cicadelles présentes sur les feuilles (y compris *S. titanus*). La parcelle, divisée en trois blocs, a reçu un total de 90 coups de frappage, soit 30 coups par bloc à raison d'un coup par cep. Le frappage a été effectué hebdomadairement entre le 5 juin et le 15 octobre.

(B) *Pièges jaunes englués* – Le but étant de déterminer les populations adultes de *S. titanus* (Jermini *et al.* 1992) et la présence d'autres cicadelles. Deux types de pièges ont été utilisés, Aeroxon (10 x 25 cm) et Rebell (8 x 16 cm). Quatorze pièges Aeroxon ont été placés horizontalement dans la haie foliaire, au niveau de la branche à fruits, du 16 juillet au 22 octobre et avec un remplacement hebdomadaire. Six pièges Rebell ont été placés verticalement dans la parcelle en les attachant sur le fil de fer à proximité de ceps symptomatiques annoncés par le producteur en 2012 et arrachés en 2013. Une autre série de huit pièges a été placée pendant la même période sur des piquets en bois, à une hauteur de 90–100 cm du sol et en bordure de la parcelle. Ces pièges ont été exposés du 11 juin au 15 octobre avec un remplacement hebdomadaire.

Campagne 2014

La campagne a porté sur la même parcelle de Chardonnay qu'en 2013 et a servi de cadre pour un travail de thèse de l'Università degli Studi de Milan. Le système de piégeage a été le même qu'en 2013, avec une exposition des pièges Aeroxon entre le 1^{er} juillet et le 4 novembre et entre le 13 mai et le 4 novembre pour les pièges Rebell. Neuf pièges Rebell supplémentaires ont été placés entre le 30 juillet et le 4 novembre, en bordure de parcelle et à l'intérieur de la forêt jouxtant la parcelle. Les méthodes détaillées sont publiées dans Casati *et al.* (2017).

En complément, une deuxième parcelle de 1652 ceps plantée en Chardonnay et Savagnin a été suivie dans la commune de Monteggio (fig. 1), avec la même méthodologie qu'en 2013, à ceci près que huit pièges Rebell ont été placés en bordure et sur des talus à l'intérieur de la parcelle. Le frappage sur vigne a été effectué entre le 13 mai et le 15 octobre. Parallèlement, un autre frappage a ciblé des plantes ligneuses en bordure de forêt. Les pièges Rebell ont été exposés entre le 15 mai et le 29 octobre et les pièges Aeroxon du 1^{er} juillet au 29 octobre.

Campagne 2015

Sur la base des résultats 2013–2014, le travail a été étendu à six autres parcelles réparties dans différentes régions viticoles tessinoises (fig. 1). Les parcelles ont été échantillonnées du 13 juillet au 28 septembre par le biais de pièges Rebell et suivant la méthode de 2013. Les parcelles échantillonnées se situent dans les communes d'Arzo (1664 ceps de Chardonnay et de Pinot noir), Avegno (1258 ceps de Chardonnay), Barbengo (2145 ceps de Chardonnay), Losone (2453 ceps de Chardonnay), Mendrisio (1471 ceps de Cabernet franc) et Origlio (7802 ceps de Chardonnay). Le nombre de pièges

varie en fonction de la taille de la parcelle: quatre pièges ont été placés en bordure de parcelle à Arzo, Mendrisio et Origlio, cinq à Losone et Barbengo et trois pièges en bordure de parcelle et deux en bordure de forêt à Avegno. Toutes les parcelles ont été inspectées en septembre pour déterminer le nombre de plantes symptomatiques.

Sur la base d'observations et de résultats de la campagne 2014, des échantillons supplémentaires ont été prélevés sur des plantes hôtes potentielles de la FD.

Diagnostic moléculaire

Le diagnostic moléculaire visant à établir la présence ou l'absence de FD dans un échantillon donné a été effectué dans le laboratoire de phytoplasmodiologie à Agroscope Changins (voir ci-après). La caractérisation génétique des souches de FD présentes dans la vigne, des cicadelles et des plantes hôtes potentielles a été faite en 2014 uniquement; elle est décrite plus en détail dans Casati *et al.* (2017).



Figure 1 | Répartition géographique des parcelles échantillonnées dans le vignoble tessinois (cercles jaunes) par rapport à la distribution géographique des vignobles tessinois (cercles gris).

Carte établie par le Dr. V. Trivellone.

Purification des ADN

Pour chaque échantillon suspect, deux fragments de pétiole (30 mg chacun) sont prélevés et transférés dans un tube Eppendorf contenant une bille de tungstène. Le tube est congelé à l'azote liquide et soniqué (2 x 1 min à 30 Hz) dans une station TissueLyser (Qiagen). Après adjonction de 1 ml de tampon d'extraction (200 mM Tris.Cl pH 8,0, 100 mM EDTA, 0,5 % Tween 20, 50 µg/ml protéinase K), le tube est soniqué une troisième fois (1 min à 30 Hz). Après deux incubations (30 min à 50 °C, puis 20 min à 85 °C), les tubes sont centrifugés (7500 rpm, 5 min). Pour chaque échantillon, 200 µl de surnageant sont transférés dans une station de purification Bio-Sprint 96 (Qiagen), où les ADN purifiés sont resuspendus dans 200 µl d'eau, puis conservés à -20 °C.

Amplification par nPCR (nested PCR ou PCR nichée ou PCR gigogne)

Le protocole utilisé reprend la méthode officielle d'analyse de l'ANSES pour la détection des phytoplasmes de la vigne du groupe 16SrV (flavescence dorée) et du groupe 16SrXII (bois noir) par PCR multiplex gigogne (MOA 006 partie A version 1b, 2010).

Les amorces FD9f/FD9r (FD) et STOL11f2/STOL11r1 (BN) sont utilisées dans la première PCR. La deuxième PCR utilise les amorces FD9r2/FD9f3b (FD) et STOL11f3/STOL11r2 (BN). Les réactions sont effectuées dans des thermocycleurs TProfessional (Biometra) et dans un volume réactionnel de 25 µl. Les paramètres réactionnels sont décrits plus en détail dans la méthode publiée par l'ANSES (MOA 006 partie A version 1b, 2010). Les amplicons (tailles attendues: 720 pb pour le BN et 1160 pb pour la FD) sont visualisés en lumière UV sur gel d'agarose en présence de bromure d'éthidium. A partir de 2015, le laboratoire utilise le kit commercialisé par Qualiplante.

Détermination des cicadelles

Les déterminations ont été effectuées par la Dr. V. Trivellone et le diagnostic moléculaire a porté prioritairement sur les espèces appartenant à la sous-famille des *Deltocephalinae*, considérées comme vecteurs potentiels de la FD (Bressan *et al.* 2006).

Résultats et discussion

Orientus ishidae et ses plantes hôtes dans le canton du Tessin

Les deux méthodes d'échantillonnage utilisées en 2013 dans le vignoble de Stabio ont permis de recenser dix-huit espèces de cicadelles. Douze de ces espèces ont été capturées sur pièges Rebell, placés verticalement en

bordure de la parcelle, pour un total de 190 individus (tabl. 1). *O. ishidae* est l'espèce la plus fréquemment capturée (tabl. 1): sur les 67 individus adultes capturés, 45 l'ont été sur pièges Rebell posés verticalement en bordure de parcelle, six sur pièges Rebell posés à l'intérieur de la parcelle, onze sur pièges Aeroxon et cinq par frappage. Le taux moyen d'infection par la FD chez ces individus est de 21,7 %; il est plus spécifiquement de 19,4 % chez les insectes pris sur pièges Rebell en bordure de parcelle et de 30 % chez les insectes capturés sur pièges Aeroxon. Les individus capturés par frappage sont tous sains. Ce résultat confirme les observations de Trivellone *et al.* (2016). De plus, il met en évidence que cette cicadelle est capable de se déplacer dans le vignoble. En effet, les pièges Aeroxon posés horizontalement ont pour but de capturer les cicadelles colonisant activement les haies foliaires. La capture d'*O. ishidae* par frappage (tabl. 1) confirme aussi que les adultes de cette cicadelle visitent les plantes, probablement pour se nourrir. La figure 2 montre que les captures (Aeroxon + Rebell) d'individus positifs à la FD

Tableau 1 | Espèces de cicadelles capturées par le biais de deux méthodes de piégeage et par frappage dans la parcelle de Stabio en 2013. Les pièges jaunes englués Rebell sont placés verticalement du 11 juin au 15 octobre, en bordure et à l'intérieur des parcelles. Les pièges jaunes englués Aeroxon sont placés horizontalement dans la haie foliaire du 16 juillet au 15 octobre. Le frappage de la végétation est effectué du 5 juin au 12 octobre

Espèce	Type de piège		Aeroxon	Frappage
	Rebell			
	Interne	En bordure		
<i>Allygus modestus</i>	1			
<i>Anaceratagallia ribauti</i>			2	
<i>Centrotus cornutus</i>		1		
<i>Cercopis vulnerata</i>		1		
<i>Cicadula</i> sp.	1			
<i>Cixius cunicularius</i>		1		
<i>Hyaletthes obsoletus</i>	2	21		
<i>Japananus hyalinus</i>	3	3		
<i>Metcalfa pruinosa</i>			1	
<i>Orientus ishidae</i>	6	45	11	5
<i>Philaenus spumarius</i>		26	4	
<i>Phlogotettix cyclops</i>			1	
<i>Psammotettix alienus</i>		3		
<i>Psammotettix confinis</i>		2		
<i>Psammotettix</i> sp.		2		
<i>Reptalus cuspidatus</i>		2		
<i>Scaphoideus titanus</i>			35	3
<i>Thamnotettix dilutior</i>		5	3	

s'étaient tout au long du vol des adultes d'*O. ishidae* (courbe rouge, considérant la totalité des captures sur l'ensemble des pièges Rebell).

En 2014, le piégeage a été étendu pour inclure l'intérieur de la forêt bordant immédiatement la parcelle de Stabio. L'accent a été mis sur la recherche de plantes hôtes alternatives pour *O. ishidae*, dans le but de déterminer si des plantes sauvages constituent un réservoir à FD et de cerner les implications d'un tel réservoir pour le vignoble. Les résultats confirment ceux de 2013. De plus, la présence d'*O. ishidae* à l'intérieur de la forêt est confirmée, avec 96 individus capturés sur les pièges Rebell disposés dans la forêt (voir Casati *et al.* 2017 et «Matériel et méthodes»). Au total, 208 individus ont été capturés sur l'ensemble des pièges Rebell (Casati *et al.* 2017).

O. ishidae a été signalé pour la première fois en Suisse par Günthart *et al.* (2004) sur *Betula* sp. et *Salix* sp. Une recherche dans la littérature met cependant en évidence sa polyphagie, puisqu'il a été en fait recensé sur de nombreuses espèces arbustives comme *Acer campestre* (L.), *Alnus* sp., *Betula pendula* (Roth), *Carpinus betulus* (L.), *Corylus avellana* (L.), *Diospyros kaki* (L.), *Fagus sylvatica* (L.), *Hedera helix* (L.), *Malus* sp., *Populus nigra italica* (L.), *Prunus spinosa* (L.), *Prunus laurocerasus* (L.), *Salix alba* (L.), *Salix babylonica* (L.), *Salix x rubens* et *Urtica dioica* (L.). Des frappages effec-

tués sur les vignes et les ligneux présents dans les deux parcelles (Stabio et Monteggio) confirment, comme en 2013, la présence de cicadelles adultes sur les vignes. Fait nouveau, des adultes d'*O. ishidae* ont également été collectés sur *Alnus glutinosa* (L.), *C. betulus*, *C. avellana*, *Fraxinus excelsior* (L.), *Populus tremula* (L.) et *Salix x rubens*. *F. excelsior* est une nouvelle espèce pouvant abriter *O. ishidae*, ce qui n'a jamais été mentionné jusqu'à présent dans la littérature. Des nymphes de *O. ishidae* ont aussi été capturées, mais contrairement aux adultes, on ne les retrouve que sur *C. avellana* et *Salix x rubens*. Ceci suggère que l'insecte accomplit son cycle reproductif sur ces deux espèces ligneuses et que ces dernières doivent donc être considérées au Tessin comme des plantes hôtes pour *O. ishidae*.

Une caractérisation génétique des ADN collectés en 2014 dans et autour de la parcelle de Stabio, sur la base du gène *FDp map* (Casati *et al.* 2017), montre que *O. ishidae* est porteur des trois types de FDp (FD1, FD2 et FD3), confirmant ainsi les résultats de Trivellone *et al.* (2016).

La FD est aussi détectée dans des ligneux pouvant héberger la cicadelle, quoique seulement sur *C. avellana* et *Salix x rubens* de Stabio. Onze échantillons de *C. avellana* sur 31 sont porteurs des trois types de FDp (35%), alors que seule la FD1 est détectée dans les échantillons de *Salix x rubens*; chez ce dernier, trois échantillons sur dix (30%) sont positifs.

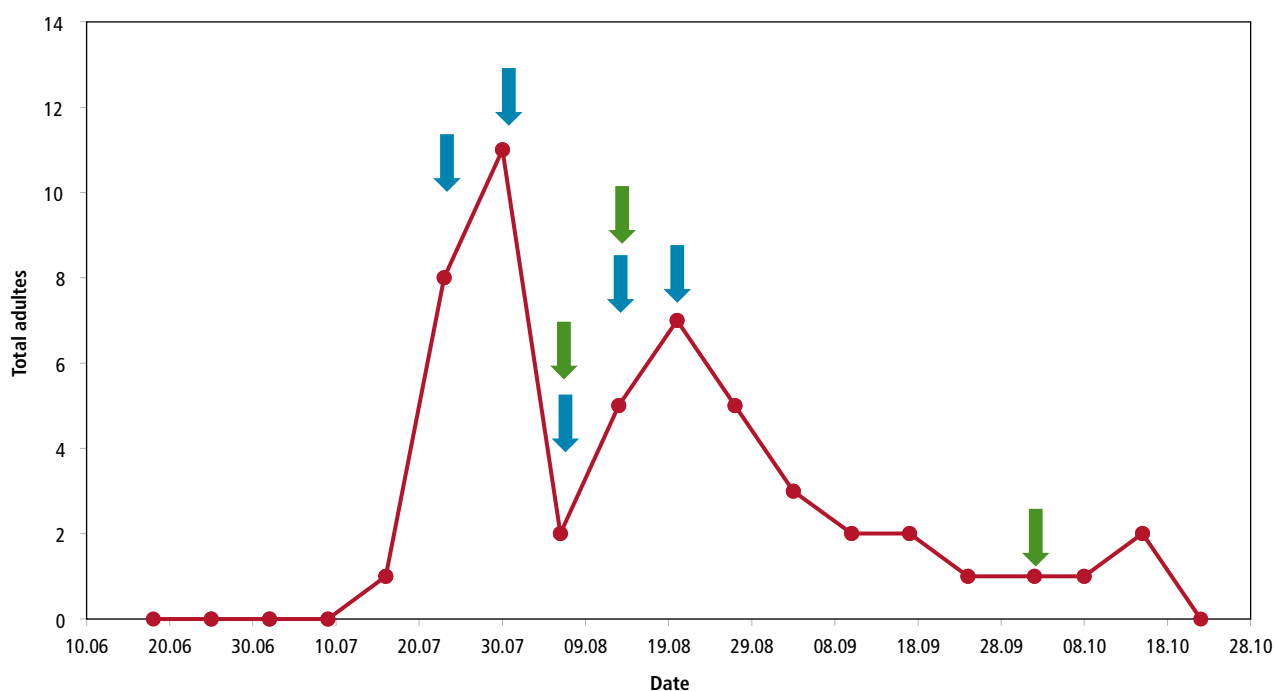


Figure 2 | Dynamique du vol des adultes d'*Orientus ishidae* en 2013 dans la parcelle de Stabio, déterminée par le total des captures avec les pièges Rebell placés en bordure et à l'intérieur de la parcelle (courbe rouge). Les flèches montrent la date à laquelle des adultes capturés par piégeage ont été trouvés FD-positifs. La flèche bleue correspond au piège Rebell, la flèche verte au piège Aeroxon.

Au niveau de la vigne et sur 74 échantillons symptomatiques caractérisés, 95 % sont FD-positifs et 97 % d'entre eux sont porteurs du type FD2; le restant, 3 %, porte le type FD1 (Casati *et al.* 2017). Aucun individu positif n'a été trouvé dans la parcelle de Monteggio.

La campagne 2015 confirme totalement les résultats et observations précédents, puisque dans les six parcelles échantillonnées (fig. 1), on retrouve des individus d'*O. ishidae* FD-positifs: trois positifs sur vingt-deux à Arzo, un sur quatre à Avegno, un sur six à Barbengo, un positif (sur un) à Losone et à Mendrisio et un positif sur quatre à Origlio. On constate autour de ces parcelles que les noisetiers (*C. avellana*) ne sont pas toujours proches des vignes et, surtout, que leur densité varie fortement. Nonobstant, quatre noisetiers sur six sont diagnostiqués FD-positifs à Arzo, deux sur trois à Avegno, deux sur cinq à Barbengo, trois sur cinq à Losone, un sur six à Mendrisio et deux sur quatre à Origlio. Des échantillons de saule (*Salix* sp.), qu'on ne retrouve qu'à Mendrisio, sont tous négatifs.

Lessio *et al.* (2016) ont démontré la capacité d'*O. ishidae* de transmettre des phytoplasmes du groupe 16SrV à la vigne, faisant désormais de cette cicadelle un vecteur reconnu de la FD. Les résultats obtenus pendant la période 2013–2015 renforcent ceux de Trivellone *et al.* (2016) et confirment la présence d'*O. ishidae* non seulement dans les alentours des vignobles, mais aussi à l'intérieur de ceux-ci. Quand bien même il ne possède pas la capacité épidémique de *S. titanus* de transmettre

la FD, *O. ishidae* doit être considéré comme un vecteur capable de maintenir la FD dans les vignobles, d'autant plus s'ils sont plantés avec des cépages sensibles.

Qu'en est-il d'autres vecteurs et plantes hôtes potentiels, de la FD?

Plusieurs espèces de cicadelles sont citées dans la littérature comme vectrices ou potentiellement vectrices de phytoplasmes, de virus et/ou de bactéries. Parmi ces espèces, plusieurs ont été capturées sur les pièges déployés durant les trois années de cette étude (tabl. 1–4). Tous les individus piégés ont été analysés par PCR nichée pour déterminer s'ils étaient porteurs du FDP. Cinq espèces FD-positives, autres qu'*O. ishidae*, ont ainsi été identifiées. En 2014, ont été piégés dans la parcelle de Stabio uniquement *Hyalesthes obsoletus* (Signoret) (FD3-positif) et *Thamnotettix dilutior* (Kirschbaum) (FD2-positif) (Casati *et al.* 2017). En 2015, les espèces suivantes ont été confirmées FD-positives (sans en avoir déterminé la souche): *Graphocephala fennahi* (Young) (à Avegno), *Thamnotettix* sp. (à Arzo et Mendrisio) et *Japananus hyalinus* (Osborn). Ce dernier a été piégé dans cinq vignobles (tabl. 4), avec un FD-positif sur deux individus piégés à Arzo, deux FD+ sur trente à Avegno, un FD+ sur quatre à Barbengo, un FD+ sur un à Losone et trois FD+ sur quatre à Origlio. Le fait que ces espèces sont FD-positives ne prouve pas leur capacité de transmettre le phytoplasme à la vigne. Par conséquent, ils doivent être considérés comme des vecteurs potentiels, >

Tableau 2 | Espèces de cicadelles capturées par piégeage dans la parcelle de Stabio en 2014. Les pièges jaunes englués Rebell sont placés verticalement du 13 mai au 4 novembre en bordure et à l'intérieur des parcelles, ainsi que dans la forêt bordant la parcelle. Les pièges jaunes englués Aeroxon sont placés horizontalement dans la haie foliaire du 1^{er} juillet au 4 novembre

Espèce	Type de piège			
	Rebell			Aeroxon
	Interne	En bordure	Dans la forêt	
<i>Anoplotettix fuscovenosus</i>			1	
<i>Fieberiella florii</i>	1			
<i>Hyalesthes obsoletus</i>	3	7		3
<i>Orientus ishidae</i>	7	111	96	22
<i>Reptalus cuspidatus</i>		6		
<i>Scaphoideus titanus</i>	1	7	21	11
<i>Thamnotettix dilutior</i>		2		

Tableau 3 | Espèces de cicadelles capturées par deux méthodes de piégeage et par frappage dans la parcelle de Monteggio en 2014. Les pièges jaunes englués Rebell sont placés verticalement du 15 mai au 29 octobre en bordure et à l'intérieur des parcelles ainsi que sur des talus. Les pièges jaunes englués Aeroxon sont placés horizontalement dans la haie foliaire du 1^{er} juillet au 29 octobre. Le frappage de la végétation est effectué du 13 mai au 30 septembre

Espèce	Type de piège			Frappage
	Rebell		Aeroxon	
	Interne	En bordure		
<i>Hephathus nanus</i>		11		
<i>Hishimonus hamatus</i>				1
<i>Hyalesthes obsoletus</i>		2		
<i>Macropsis fuscula</i>		1		
<i>Neoliturus fenestratus</i>		1		
<i>Orientus ishidae</i>	3	40	6	4
<i>Reptalus cuspidatus</i>		5		11
<i>Scaphoideus titanus</i>				7
<i>Thamnotettix dilutior</i>		1	1	

contrairement aux vecteurs confirmés *O. ishidae* et *S. titanus*. Le nombre total d'individus capturés pour ces cinq espèces est bien inférieur à la population capturée d'*O. ishidae*, ce qui relativise leur importance. La présence diffuse de *J. hyalinus* et le taux d'individus porteurs du FDP suggèrent toutefois que cette espèce pourrait jouer elle aussi un rôle dans le maintien de la FD dans les parcelles. Comme en 2015, nous n'avons pas eu recours aux pièges Aeroxon et au frappage, aussi nous ne pouvons pas établir si cette cicadelle visite la vigne pendant son vol. A relever toutefois qu'en 2013 et en 2014, des espèces comme *Anaceratagallia ribauti* (Ossiannilsson), *Philaenus spumarius* (L.), *Phlogotettix cyclops* (Mulsant & Rey) et *H. obsoletus* ont été capturées sur des pièges Aeroxon et *Hishimonus hamatus* (Kuoh) et *Reptalus cuspidatus* (Fieber) par frappage. Ceci indique que ces insectes visitent la vigne pendant leur vol et il pourrait en être de même pour *J. hyalinus*.

Deux hôtes ligneux autres que la vigne ont été diagnostiqués FD-positifs. Ce sont *C. vitalba* à Stabio, porteuse du type FD3 (Casati *et al.* 2017) et *A. altissima*, découvert à Losone en 2015. Il s'agit du premier signalement d'un ailante FD-positif en Suisse. Des ailantes et des clématites positifs ont par ailleurs déjà été signalés en Italie (EFSA, 2014).

Incidence de la flavescence dorée en relation avec les vecteurs alternatifs

Le taux de ceps symptomatiques dans la parcelle de Stabio était de 4,4 % en 2013 et de 3,4 % en 2014. En 2015, il était de 0,4 % et de 3,2 % dans celles d'Origlio et, respectivement, de Losone. Conjointement à ces

Tableau 4 | Espèces de cicadelles capturées par piégeage dans les parcelles 2015 en utilisant des pièges Rebell placés verticalement en bordure de parcelle du 13 juillet au 28 septembre, dans six vignobles échantillonnés.

Arz = Arzo, Ave = Avegno, Bar = Barbengo, Los = Losone, Men = Mendrisio et Ori = Origlio.

Espèce	Arz	Ave	Bar	Los	Men	Ori
<i>Allygidius atomarius</i>	1		2			
<i>Anoplotettix fuscovenosus</i>		1				
<i>Fieberiella florii</i>	1			2	2	
<i>Graphocephala fennahi</i>	1	2		2		
<i>Hishimonus hamatus</i>	3			1		
<i>Hyalesthes obsoletus</i>			1	2		
<i>Japananus hyalinus</i>	2	30	4	1		4
<i>Nealiturus fenestratus</i>				1		
<i>Orientus ishidae</i>	22	4	6	1	1	4
<i>Scaphoideus titanus</i>	2	2	1	7		
<i>Stictocephala bisonia</i>				1	1	
<i>Thamnotettix sp.</i>	2	1	1			

faibles taux d'infection des vignes, on observe de très faibles populations de *S. titanus* (la seule cicadelle conférant son caractère épidémique à la FD) dans les parcelles, à l'exception de celles de Mendrisio et d'Origlio (tabl. 1–4). En 2013, 8,8 % des individus capturés à Stabio (tabl. 1) étaient FD-positifs, alors qu'en 2014 (tabl. 2), seuls deux pools d'insectes sur les 29 analysés étaient FD-positifs (FD1) (Casati *et al.* 2017). En 2015 (tabl. 4), un seul individu positif a été trouvé, à Barbengo. Après des frappages intensifs, une larve de *S. titanus* a été capturée en 2013 à Sabio et trois en 2014, ainsi que sept larves à Monteggio et deux adultes à Stabio en 2013 (tabl. 1–3). Cela signifie que la lutte insecticide obligatoire contre *S. titanus* est efficace et porte ses fruits, en empêchant une propagation explosive de FD. Cette dernière parvient toutefois à se maintenir (avec de très faibles taux de contamination) de façon durable dans des parcelles en lutte insecticide obligatoire depuis des années.

Ces résultats et ces observations indiquent que malgré l'efficacité démontrée de la lutte insecticide contre *S. titanus*, la FD se maintient à de faibles niveaux épidémiques dans les vignobles. Ceci est en partie dû à *O. ishidae*, un autre vecteur de la FD, qui infecte les vignes à partir de ses plantes hôtes, elles-mêmes infectées, principalement des noisetiers. D'autres cicadelles comme *J. hyalinus* interviennent peut-être elles aussi dans le maintien de la FD, mais leur rôle exact doit encore être élucidé.

Casati *et al.* (2017) concluent avec raison, et ce travail corrobore cette conclusion, que l'écologie de la FD est un système ouvert en interaction avec le paysage environnant. La composition végétale de ce dernier détermine le type de plantes hôtes présentes pour FDP, et donc le type de vecteurs. Elle détermine aussi les densités des populations et leur impact sur l'épidémiologie de la FD. Un tel système implique de revoir l'approche actuelle de lutte contre la FD dans le canton du Tessin. Ce qui est décrit dans ce travail reste valable et applicable à plusieurs vignobles tessinois, mais ne pourra vraisemblablement pas être extrapolé à d'autres régions viticoles, romandes par exemple, où la FD vient d'apparaître. En effet, la structure et la composition botanique du paysage de ces zones sont très différentes de celles du Tessin. Au vu du caractère ouvert du système FD et de son interaction avec l'environnement immédiat, il devient impératif de développer des outils d'analyse du paysage. Ces derniers seront nécessaires pour mettre en place un modèle d'analyse de risque afin de fournir aux services phytosanitaires suisses les instruments pour une approche correcte de la problématique de la flavescence dorée.

Conclusions

Ce travail permet de mieux comprendre l'écologie de la FD et met particulièrement en évidence que:

- *O. ishidae* est un vecteur alternatif de la FD, présent de manière assez diffuse dans le vignoble tessinois; l'espèce est capable de maintenir la maladie à de faibles niveaux épidémiques dans des parcelles cultivées avec des cépages sensibles.
- D'autres vecteurs, pour l'instant potentiels, pourraient jouer un rôle similaire, mais il faudra démontrer leur capacité de transmission du phytoplasme d'un hôte sauvage à la vigne.
- L'écologie de la FD représente un système complexe et ouvert, où la structure et la composition du paysage jouent un rôle primordial dans la présence des espèces hôtes et vectrices présentes.
- La stratégie de lutte actuelle axée sur l'éradication de la maladie est remise en question au Tessin et doit être adaptée aux situations rencontrées.
- Des outils d'analyse du paysage et d'évaluation des risques doivent être développés.

Remerciements

Nos remerciements vont à Joel Quattrini et Laura Torriani pour le travail effectué dans ce projet et au Dr. Valeria Trivellone pour les déterminations des cicadelles, ainsi qu'à Hélène Johnston pour le diagnostic moléculaire en nPCR, P. Saglini, D. Huber, Cantina Kopp von der Crone Visini, P. Jelmini, Cantine Latini, Tamborini Vini, M. Bianda et la cave Terreni alla Maggia pour avoir mis à notre disposition leurs parcelles. Nous remercions aussi le Dr. A. Klay, de l'OFAG, pour la lecture critique du manuscrit.

Bibliographie

- Arnaud G., Malembic-Maher S., Salar P., Bonnet P., Maixner M., Marcone C., Boudon-Padieu E. & Foissac X., 2007. Multilocus sequence typing confirms the close genetic inter-relatedness between three distinct Flavescence dorée phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Applied and Environmental Microbiology* **73**, 4001–4010.
- Bressan A., Clair D., Séméty O. & Boudon-Padieu E., 2006. Insect injection and artificial feeding bioassays to test the vector specificity of Flavescence dorée phytoplasma. *Phytopathology* **96**, 790–796.
- Casati P., Jermini M., Quagliano F., Corbani G., Schaerer S., Passera A., Bianco P.A. & Rigamonti I. E., 2017. New insights on Flavescence dorée phytoplasma ecology in the vineyard agro-ecosystem in southern Switzerland. *Annals of Applied Biology*, 1–15, doi:10.1111/aab.12359.
- Chuche C. & Thiery D., 2014. Biology and ecology of the Flavescence dorée vector *Scaphoideus titanus*: a review. *Agronomy for Sustainable Development* **34**, 381–403.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2014. Scientific Opinion on pest categorisation of Grapevine Flavescence dorée. EFSA Panel on Plant Health (PLH). *EFSA Journal* **12**, 3851.
- Filippin L., Jovi J., Cvrković T., Forte V., Clair D., Toševski I., Boudon-Padieu E., Borgo 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* **58**, 826–837.
- Gaffuri F., Sacchi S. & Cavagna B., 2011. First detection of the mosaic leafhopper, *Orientus ishidae*, in northern Italian vineyards infected by the Flavescence dorée phytoplasma. *New Disease Reports* **24**, 22.
- Günthart H., Mühlethaler R. & Lauterer P., 2004. Für die Schweiz neue Zikadenarten und Ergänzungen zu bereits bekannten Arten (Hemiptera Auchenorrhyncha). *Mitteilungen der Entomologischen Gesellschaft Basel* **54**, 150–160.
- IRPCM, 2004. "Candidatus phytoplasma", a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insect. *Int. J. System. Evol. Microbiol.* **54**, 1243–1255.
- Jermini M., D'Adda G., Baumgärtner J., Lozzia G. C. & Baillod M., 1992. Nombre des pièges englués nécessaires pour estimer la densité relative des populations de la cicadelle *Scaphoideus titanus* Ball en vignobles. *Bollettino di Zoologia Agraria e Bachicoltura serie II* **25**, 91–102.
- Jermini M., Schaerer S., Johnston H., Colombi L. & Marazzi C., 2014. Dix ans de flavescence dorée au Tessin. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* **46** (4): 222–229.
- Koczor S., Bagarus A. K., Karap A. K., Varga Á. & Orosz A., 2013. A rapidly spreading potential pest, *Orientus ishidae* identified in Hungary. *Bulletin of Insectology* **66**, 221–224.
- Lessio F., Picciau L., Gonella E., Mandrioli M., Tota F. & Alma A., 2016. The mosaic leafhopper *Orientus ishidae*: host plants, spatial distribution, infectivity, and transmission of 16SrV phytoplasmas to vines. *Bulletin of Insectology* **69**, 277–289.
- Maixner M., Reinert W. & Darimont H., 2000. Transmission of grapevine yellows by *Oncopsis alni* (Schrank) (Auchenorrhyncha: Macropsinae). *Vitis* **39** (2), 83–84.
- Mehle N., Seljak G., Ruper M., Ravnikar M. & Dermastia M., 2010. The first detection of a phytoplasma from the 16SrV (Elm yellows) group in the mosaic leafhopper *Orientus ishidae*. *New Disease Reports* **22**, 11.
- MOA 006 partie A version 1b (2010). Détection des phytoplasmes de la vigne du groupe 16SrV (flavescence dorée) et du groupe 16SrXII (bois noir) par PCR multiplex gigogne, méthode officielle d'analyse, © ANSES.
- Schaerer S., Johnston H., Gugerli P., Linder C., Schaub L. & Colombi L., 2007. Flavescence dorée in Switzerland: spread of the disease in canton of Ticino and of its insect vector, now also in cantons of Vaud and Geneva. *Bulletin of Insectology* **60** (2), 375–376.
- Schvester D., Carle P. & Moutous G., 1961. Sur la transmission de la flavescence dorée des vignes par une cicadelle. *C. R. Acad. Agric. Fr.* **47**, 1021–1024.
- Seemüller E. & Harries H., 2010. Plant Resistance. In: *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors*. P. G. Weintraub & P. Jones (Eds), CAB International, 147–169.
- Trivellone V., Filippin L., Narduzzi-Wicht B. & Angelini E., 2016. A regional-scale survey to define the known and potential vectors of grapevine yellow phytoplasmas in vineyards South of Swiss Alps. *European Journal of Plant Pathology* **145**, 915–927.

Summary***Orientus ishidae*, a new vector of flavescence dorée in Ticino**

This study was carried out in Ticino during the 2013–2015 time period. Its objective was to establish the presence of alternative insect vectors and plant hosts for grapevine flavescence dorée (FD). The results show that while the mosaic leafhopper *Orientus ishidae* constitutes a second vector of FD, it does not help spread the disease in an epidemic way as *Scaphoideus titanus*, the main vector, does. *O. ishidae* is present in all studied vineyards, but with varying population densities. *Corylus avellana* and *Salix* sp. are its preferred plant hosts and FD-positive individuals were found among them. Moreover, four other FD-positive leafhoppers were identified, but, contrary to *O. ishidae*, their ability to transfer the disease to grapevines has still to be demonstrated. The FD ecology appears to be a much more opened system than previously thought, where the landscape surrounding the vineyards plays an important role by determining which alternative plant hosts are present, it also determines their associated insect vectors. The present control strategy, based on the eradication of FD, is challenged and must be reassessed.

Key words: grapevine, host plants, leafhopper, landscape, phytoplasma flavescence dorée.

Zusammenfassung***Orientus ishidae*, neuer Vektor der goldgelben Vergilbung im Tessin**

Die vorliegende Studie, die von 2013 bis 2015 im Tessin durchgeführt wurde, untersucht das Vorkommen von alternativen Vektoren und Wirtspflanzen der goldgelben Vergilbung (GGV). Gemäss den Ergebnissen der Studie existiert im Tessin ein zweiter Vektor der GGV, die Zikade *Orientus ishidae*, die die Krankheit jedoch nicht epidemisch verbreitet, wie dies beim Hauptvektor *Scaphoideus titanus* der Fall ist. In allen Parzellen der Studie trat *O. ishidae* auf, allerdings in unterschiedlichen Populationsstärken. *Corylus avellana* und *Salix* sp. sind seine bevorzugten Wirtspflanzen, auf denen GGV-infizierte Individuen identifiziert wurden. Zudem wurden vier weitere Arten von Zikaden gefunden, welche Träger der GGV waren. Im Unterschied zu *O. ishidae* konnte jedoch noch nicht nachgewiesen werden, dass sie die Krankheit auf Rebstöcke übertragen können. Die Ökologie der GGV erweist sich als ein viel offenes System als bisher angenommen; die Landschaft am Rande der Rebberge spielt eine entscheidende Rolle, indem sie über das Vorkommen von alternativen Wirtspflanzen der GGV bzw. der entsprechenden Vektorarten bestimmt. Aufgrund dieser Erkenntnisse wird die aktuelle Bekämpfungsstrategie zur Ausrottung der GGV in Frage gestellt und muss überdacht und angepasst werden.

Riassunto***Orientus ishidae*, un nuovo vettore della flavescenza dorata in Ticino**

Lo scopo di questo studio, condotto in Ticino dal 2013 al 2015, era di stabilire la presenza di vettori e di piante ospiti alternativi della flavescenza dorata della vite (FD). I risultati hanno mostrato che in Ticino la cicalina *Orientus ishidae* costituisce un secondo vettore della FD senza tuttavia diffondere la malattia in modo epidemico come *Scaphoideus titanus*, il vettore principale della malattia. *O. ishidae* è presente in tutte le parcelle dello studio ma a delle densità di popolazione diverse. *Corylus avellana* e *Salix* sp. sono le sue piante ospiti e degli individui sono risultati positivi alla FD. Inoltre, altre quattro cicaline si sono rivelate positive alla FD, ma, contrariamente a *O. ishidae* resta da dimostrare la loro capacità di trasmissione della malattia alla vite. L'ecologia della FD si dimostra essere un sistema ben più aperto di quanto anticipatamente supposto, dove il paesaggio circostante le vigne ricopre un ruolo importante, determinando la presenza (o l'assenza) di piante ospiti alternative che possono ospitare la FD e la presenza di specie vettrici che sono loro associati. L'attuale strategia di lotta focalizzata sull'eradicazione della FD è rimessa in questione e deve essere ripensata e adattata.