CLAEYS

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'INSTITUT AGRO MONTPELLIER

En Écologie et Biodiversité

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau

Portée par

Unité Mixte de Recherche Centre de Biologie pour la Gestion des Populations

De la production de connaissances scientifiques à leur mobilisation dans un processus d'épidémio-surveillance : le cas des réseaux d'interactions écologiques impliquant la bactérie *Xylella fastidiosa* en France.

Présentée par Pauline Farigoule
Le 16 décembre 2022

Sous la direction de Jean-Pierre Rossi, Astrid Cruaud et Marc Barbier

Devant le jury composé de

Madame Cindy MORRIS, Directrice de Recherche, INRAE Unité de Recherche de Pathologie Végétale	Rapportrice
Monsieur Yvan SACHE, Professeur, AgroParisTech UFR Écologie, Adaptation, Interactions	Rapporteur
Madame Cécilia CLAEYS, Professeure, Université de Perpignan Via Domitia	Examinatrice
Madame Marie-Stéphane TIXIER, Professeure, Montpellier SupAgro UMR CBGP	Présidente du jury
Monsieur Christian LANNOU, Directeur de Recherche, Direction générale INRAE	Examinateur
Jean-Pierre ROSSI, Directeur de Recherche, INRAE UMR CBGP	Directeur de thèse
Astrid CRUAUD, Chargée de Recherche, INRAE UMR CBGP	Co-encadrante
Marc BARBIER, Directeur de Recherche, Laboratoire Interdisciplinaire Sciences Innovations Sociétés	Co-encadrant

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

L'INSTITUT agro Montpellier

Remerciements

L'écriture de ces premières pages de thèse représente la fin d'une aventure exceptionnelle tant sur le plan professionnel que personnel et qui n'aurait pas été la même sans les nombreuses personnes qui y ont contribué de quelque manière que ce soit, par leur accompagnement, leur soutien, leur bonne humeur, alors pour tout ça :

MERCI !

Je remercie les membres de mon jury de thèse Cindy Morris et Yvan Sache qui ont accepté d'évaluer ce travail en qualité de rapportrice et rapporteur et Cécilia Claeys, Marie-Stéphane Tixier et Christian Lannou en qualité d'examinatrices et d'examinateur. Je suis honorée de pouvoir présenter mes résultats devant les membres de ce jury dont l'expertise apportée à ce travail transdisciplinaire sera une plus-value indéniable.

Mes remerciements vont également aux membres de mon comité de thèse Sylvie Dallot, René Sforza, Renaud Vitalis, Gaël Thébaud, Sylvain Santoni et Vincent Steinmetz, qui ont porté un regard extérieur et bienveillant sur mon travail et qui ont également su me conseiller pour le rendre meilleur (et réalisable en trois ans).

Je remercie les membres de la Commission FCPR qui ont évalué mon projet et m'ont donné l'opportunité qu'il devienne une thèse et plus particulièrement Vincent Steinmetz qui a suivi ce projet dans sa réalisation.

Je remercie également Flavie Vanlerberghe, Laurent Granjon, Renaud Vitalis et Carine Brouat pour leur accueil au CBGP et David Demortain pour son accueil au LISIS.

Je remercie évidemment mes encadrants de thèse Jean-Pierre Rossi, Astrid Cruaud et Marc Barbier pour la confiance qu'ils m'ont témoignée, l'accompagnement qu'ils m'ont apporté pour faire grandir et mûrir ce projet et la liberté dont j'ai bénéficié pour le faire évoluer ainsi que pour leur réactivité pour la relecture finale du manuscrit.

Jean-Pierre, tu as pris le temps d'étudier ma demande de thèse peu commune et également de la partager pour rassembler les personnes qui constituent aujourd'hui « mon

encadrement de thèse transdisciplinaire ». Merci également pour tous ces éclairages sur les statistiques et sur la vie en thèse en général, surtout quand j'avais trop la tête dans le guidon pour évaluer clairement le chemin parcouru (et celui à parcourir).

Astrid, merci de m'avoir permis d'apprendre « la BM au labo » et donné l'opportunité de saisir les contraintes, les enjeux et les limites des expérimentations qui font également prendre conscience du temps de la recherche. Merci de m'avoir fait confiance et accompagnée lors des innombrables réunions BM pour améliorer les protocoles et pour ton soutien dans les analyses bio-infos, le traitement des résultats et leur publication puisque la BM ne s'arrête pas au labo !

Marc, merci d'avoir pris le risque d'encadrer une novice en socio, depuis mon oral pour défendre ce projet de thèse « bi-disciplinaire » qui me tenait à cœur jusqu'à ton soutien pour apprivoiser les concepts et l'écriture en socio malgré la distance Montpellier-Paris.

J'aimerais également remercier Jean-Yves Rasplus pour son implication dans la mise en place des expérimentations BM dans le cadre du projet Corse, sa disponibilité pour répondre à mes questions entomos et le partage de ses connaissances et anecdotes passionnantes de terrain à travers le monde.

Ce travail de thèse aurait été beaucoup moins riche sans les nombreuses personnes qui ont accepté de participer à cette recherche. En premier lieu, je remercie l'ensemble des viticulteurs partenaires du projet Hennessy pour leur accueil sur leurs parcelles et leur intérêt pour les recherches menées en écologie. Je remercie également toutes les personnes qui ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions, toutes ces « personnes enquêtées », pour le temps qu'elles m'ont accordé dans le cadre de mon terrain en sociologie et pour tout ce qu'elles m'ont permis de découvrir bien au-delà de mes questions de recherche, laboratoires et serres confinées S3, caves viticoles et explications du processus de distillation du Cognac.

Le travail de recherche (dans mon cas) c'est du terrain et du labo et rarement seule, je remercie donc sincèrement l'ensemble des personnes qui ont pris part à ces recherches.

Tout commence sur le terrain avec Jean-Marc Thuillier, Jean-Claude Streito (merci pour toutes ces découvertes entomologiques !), Éric Pierre mais également les collègues de Biogecco Christian Burban (merci pour toutes les découvertes néo-aquitaines et ta bonne humeur malgré la rudesse du dernier terrain), Alice Bedani, Inge Van Halder, Olivier Bonnard, Jennifer Dudit et de SAVE, Etienne Ramadier et Anna Dessaudes. Merci à toutes et à tous pour votre bonne humeur, votre implication et votre maîtrise du coup de filet et/ou du pinceau (selon la session adultes ou larves).

Je remercie évidemment Marguerite Chartois et Xavier Mesmin pour leur investissement tout au long de ce projet de recherche (bien au-delà du terrain !) : de l'organisation pour la collecte des insectes à leur identification et pour leur soutien essentiel en stats.

Au labo, je remercie l'ensemble des BMistes, pour leur bienveillance et leur disponibilité. Je remercie Anne Alicia Gonzales qui a été la première à me montrer les rudiments de la BM, grâce à toi je sais extraire de l'ADN à grand renfort de grenat et de billes céramiques. Sabine, merci pour ta patience (dans mon apprentissage du maniement des pipettes et autres instruments de labo), ta disponibilité, ta bonne humeur et toutes les réponses à mes innombrables questions « naïves » sur les protos BM. Je remercie également Maxime, merci pour ton courage face à toutes ces plaques de PCR et ces gels d'agarose et ton soutien quand les gels étaient « vides ». Je remercie Gwen, pour la formation accélérée en design d'amorces PCR et Philippe pour la formation à l'utilisation du robot de pipetage.

Le labo c'est aussi les allers-retours à AGAP et la disponibilité et la bienveillance de Christine Tollon Cordet, Audrey Weber et Morgane Ardisson, merci pour votre aide pour dompter le KingFisher et autre Fragment Analyzer. Je remercie également Sylvain Santoni pour son accueil à AGAP, ses conseils et son enthousiasme lorsqu'il parle de BM.

Plus largement je remercie toutes les personnes que j'ai pu croiser aux cours de ces trois années au CBGP et au LISIS et qui n'ont pas conscience qu'un sourire ou un bonjour peut grandement améliorer la journée d'une thésarde, qui a parfois mal commencé.

Au-delà des murs du labo, je remercie Christine, merci pour ton soutien, ton écoute et ta bienveillance, tes conseils m'ont souvent permis de prendre un peu de recul.

La thèse c'est beaucoup de moments de galère mais aussi beaucoup de très bon moments, je remercie celles et ceux qui ont fait de cette thèse une aventure humaine exceptionnelle et notamment les docteur.e.s et doctorant.e.s !

Les « docteur.e.s », Mélo, Sarah, Laure, Robin, Orianne, merci pour tous vos conseils (oui oui je ne les ai pas tous écoutés en temps et en heure mais je n'en ai oublié aucun et ils ont été précieux) merci pour votre soutien infaillible malgré les centaines voire milliers de kilomètres qui nous séparent (vive Skype !) ! Je remercie également Julie Collet sans oublier Joris (dans ce manuscrit tu seras docteur en plus de cycliste confirmé).

Place aux doctorant.e.s, Tim, Jules et Camille (merci pour tout !), qui ont constitué le bureau de « geeks » dont j'étais l'exception mais surtout qui sont à l'origine d'une bonne dose de soutien et d'innombrables discussions et les occupant.e.s du « bureau d'en face » Jeff, Marie (Bouilloud Bouilloud Bouilloud !) et Isis, avec qui cette aventure a commencé au CBGP et également Émeline, Teddy, Fanny, Cécile, Louise, et celles et ceux qui ont pris part au « groupe des doctorants », Marjolaine, Lou, Bérénice, Anaïs, Charline et les stagiaires dont Juliette, Margaux et Mathilde pour les pauses café, nombreux gâteaux et autres soirées plage.

Je remercie les docteur.e.s et doctorant.e.s du LISIS pour les ADDs et les repas partagés au labo autour de la socio, plus largement des SHS, et pas uniquement, Fiona (merci pour ton accueil dès mes premiers pas au labo !), Baptiste, Sébastien, Jeanne, Valeria, Émile, Lidia, Theo, Claire, Renée, Gaëlle, Déborah, Mirabelle, Maxime, Simon, Rémi, Robin.

Je remercie également celles et ceux qui sont impliqués dans cette thèse malgré eux, par leur soutien avant même que je sois « thésarde », David Rozen-Rechels, pour m'avoir permis de découvrir la recherche, Jérôme Frouté, à l'origine de ma découverte de *Xylella* (et de bien d'autres sujets lors de mon passage à l'Ambassade de France à Madrid), et Alvaro pour tes encouragements lorsque l'idée d'une thèse a effleuré mon esprit.

Enfin, une thèse n'est pas un « projet professionnel comme les autres » et elle « s'exporte » souvent au-delà des murs du laboratoire. Je remercie donc également mes proches et ma famille d'avoir contribué à ce projet et au maintien de ma vie en dehors du labo.

Alexandra et Pierre, mon parcours en écologie a commencé avec vous dans un master BEE et un projet C comme canöe, merci pour votre soutien pendant ces trois années malgré la distance. Elisabeth, merci pour les repas partagés durant mes premiers mois de thèse et pour ton soutien au-delà de cette aventure (sans oublier Camille et Obi !). Les « CodinGamers », Gaby, Kady, Jack, Val, Pierre, Nico, Thibaud, merci pour les moments hors du temps - et de la thèse - (malgré mes résultats « sous l'océan »). Sophie (et Joris) merci pour les soirées sushis (très appréciées après une looongue journée parisienne) et ton soutien sans faille depuis maintenant plusieurs années !

Pour terminer, je remercie infiniment mes parents et ma petite sœur pour leur soutien infaillible et de tous les instants. Merci de m'avoir soutenue dans tous mes projets, même ceux qui vous ont le plus surpris voir un peu angoissés, et d'avoir toujours cru en moi. Merci d'avoir repoussé sans cesse l'année où « la relecture de rapport ne serait qu'un lointain souvenir », merci mes deux relectrices aux yeux de lynx pour avoir relu chaque page de ce manuscrit avec attention et rajouté ou supprimé des « s » et des virgules mais aussi pointé les phrases « pas claires » ou vraiment beaucoup beaucoup trop longues que même l'écriture sociologique ne justifiait pas. Merci aussi pour tous ces moments de bonheur, entourés de compagnons à quatre pattes qui ont également été source d'apaisement et de soutien (souvent par de longues siestes pendant que j'écrivais ce manuscrit).

Loïc, merci pour le « generator LateX » et ton soutien dans la mise en page de ce manuscrit mais surtout merci d'être là, qu'il s'agisse de « petits riens » pour me faire sourire après une dure journée ou de faire le grand saut pour traverser les nuages ! $++\infty^2$

Contributions majeures et financements

Ce travail de recherche doctorale est inclus dans plusieurs projets de recherche et a reçu des financements multiples. Il me semble important ici, au-delà des remerciements, de préciser les principales contributions notamment pour l'obtention et la production de données.

Cette thèse est financée par le Ministère en charge de l'Agriculture et de l'Alimentation dans le contexte d'une FCPR. Les recherches ont été menées principalement dans le cadre du projet financé par la Maison Hennessy. Elles ont également été soutenues par des financements européens (XFACTORS ; H2020) et de la Collectivité Territoriale de Corse.

Cette thèse a évidemment largement mobilisé Jean-Pierre Rossi, Astrid Cruaud et Marc Barbier, qui ont encadré les travaux de façon pointue dans leur discipline et avec une implication dans la structure de la recherche globale et la relecture de ce manuscrit.

La collecte des insectes sur le terrain a été organisée par Marguerite Chartois (terrain Corse) et Xavier Mesmin (France continentale) et a impliqué de nombreuses personnes (du laboratoire et d'unités de recherche associées au projet Hennessy). Marguerite Chartois et Xavier Mesmin ont réalisé une part importante des identifications des insectes et Xavier Mesmin a réalisé les identifications botaniques, appuyé par l'expertise de Guillaume Fried. Jean-Pierre Rossi a supervisé et participé à l'analyse statistique des résultats qui a été menée en collaboration avec Marguerite Chartois et Xavier Mesmin.

La production des données en biologie moléculaire a été réalisée en collaboration avec Astrid Cruaud et soutenue par Sabine Nidelet (formation aux techniques de biologie moléculaire), qui ont toutes deux pris part aux réunions BM pour l'optimisation des protocoles ainsi que Jean-Yves Rasplus. Une importante partie des extractions et des PCRs en deux étapes a été réalisée par Maxime Lambert. L'analyse bio-informatique des résultats a été largement soutenue par Astrid Cruaud.

Domenico Bosco et Rodrigo Krugner ont également contribué à la mise au point des méthodes par l'envoi de spécimens.

Ce soutien indéniable m'a permis de m'investir dans l'intégralité des étapes de la recherche et d'être à la frontière entre le travail de terrain et la vision globale du projet doctoral inclus dans le projet de recherche financé par Hennessy. Ainsi, j'ai contribué à la définition et la mise en place du plan d'échantillonnage des insectes, aux sessions de collectes sur le terrain, au tri des données (mise en herbier des plantes) et à l'analyse statistique des assemblages d'insectes. Je me suis fortement impliquée dans la mise au point de méthodes de biologie moléculaire (PCR en deux étapes et capture de gènes) et dans la mise en place des PCRs en deux étapes réalisées en routine par Maxime Lambert. Le soutien reçu en écologie m'a permis de réaliser les travaux de sociologie (travail d'enquête de terrain et analyse des données) sous la supervision de Marc Barbier. Évidemment, ces travaux se sont accompagnés de tâches « classiques » dans le cadre d'une recherche doctorale avec la lecture d'articles scientifiques et la participation à deux conférences internationales sur *Xylella fastidiosa.* Pour terminer, faire de la recherche c'est également partager des travaux et des résultats et cet aspect a été mis en péril par une période de pandémie et de confinements mais pour ma part « sauvé par les *Xylella Files* », séminaires en visio-conférence organisés par Rodrigo Almeida et collaborateurs chaque semaine.

Table des matières

Remerciements iii
Contributions majeures et financements viii
Table des figures xx
Liste des tableaux xxi
Liste des encadrés xxiii
Acronymes xxviii

Introduction **1**

1 Quels impacts de l'introduction d'organismes phytopathogènes sur un territoire indemne tel que l'Europe ? 2
1.1 De l'introduction d'un organisme à son établissement et son expansion sur un territoire indemne 2
1.2 Les conséquences de l'introduction d'agents phytopathogènes en Europe 4
1.3 De l'installation d'un agent phytopathogène à sa détection 5
1.4 Le cas de l'introduction et de l'expansion de *Xylella fastidiosa* . . 6
2 Comment étudier acteurs biologiques et sociaux et leurs interactions autour d'un unique objet de recherche ? La mise en œuvre d'une démarche interdisciplinaire 8
3 Comment concrètement conduire une recherche transdisciplinaire ? 13
3.1 Mobiliser plusieurs domaines de recherche distincts 13
3.2 Définir un terrain d'étude 15
3.3 Comment veiller au maintien de l'objectivité méthodologique ? . . 16
4 Mise en place de la problématique de recherche 18
4.1 La bactérie *Xylella fastidiosa* au sein de réseaux complexes 18

4.2 L'importance de la production de connaissances en écologie pour des stratégies d'épidémio-surveillance et de lutte efficientes . . . 20
4.3 L'émergence de la bactérie en France : de la question de la détection de la bactérie comme objet de recherche à sa surveillance et sa gestion . . . 21
4.4 Problématique de la thèse : construire un objet de « réseaux d'interactions en société » . . . 22
5 Plan de thèse . . . 23

I État des lieux sur les connaissances concernant *Xylella fastidiosa* 27
1 La recherche sur *Xylella fastidiosa* dans le monde . . . 27
1.1 De la découverte de la maladie à la mise en évidence du pathogène responsable . . . 27
1.2 De l'expansion du nombre de publications à l'étude de la production scientifique : la mobilisation de la scientométrie . . . 29
1.3 « Dynamique et composition » de la recherche depuis 1987 . . . 33
1.3.1 Approche de la connaissance scientifique produite par l'analyse des publications sur la bactérie *Xylella fastidiosa* depuis 1987 . . . 33
1.3.2 L'évolution de la recherche sur *Xylella fastidiosa* dans le monde . . . 35
1.3.3 Les domaines de recherche mobilisés dans le cadre de l'étude de *Xylella fastidiosa* . . . 36
1.3.4 Étude des collaborations : de l'affiliation des auteurs aux auteurs eux-mêmes . . . 41
1.3.5 Analyse de la collaboration entre les auteurs . . . 47
1.3.6 Analyse de l'univers de co-citations : vers une analyse socio-épistémique . . . 49
2 Une bactérie phytopathogène . . . 52
2.1 *Xylella fastidiosa*, une bactérie xylémique d'importance mondiale 52
2.2 La situation épidémiologique dans le monde . . . 54
2.3 Des dégâts considérables sur les plantes cultivées . . . 56
2.3.1 Le cas de la maladie de Pierce . . . 57

2.3.2 Le cas de la CVC 57
2.3.3 Le cas de l'OQDS 58
2.4 Un mode de vie particulier : une forme de vie libre et une forme de vie en biofilm 60
2.4.1 Une forme de vie libre : colonisation de la plante hôte . 60
2.4.2 Une forme de vie en biofilm : régulation des populations de bactéries 63
2.5 Une bactérie transmise par des insectes vecteurs piqueurs suceurs de sève brute 67
2.5.1 *Xylella fastidiosa* : acquisition et transmission par les insectes vecteurs 68
2.5.2 Les insectes vecteurs de *Xylella fastidiosa* 70
2.6 Une bactérie au cœur de réseaux d'interactions complexes 75
2.6.1 Une large gamme de plantes hôtes et des insectes vecteurs polyphages : des milieux cultivés aux milieux adjacents semi-naturels ou urbanisés 75
2.6.2 L'impact des facteurs abiotiques sur les interactions : le rôle du climat 77
3 Les objectifs de la thèse 81

II Comprendre la dynamique de l'épidémie de *Xylella fastidiosa* au travers de ses insectes vecteurs : le cas de la Corse 85

1 La distribution de la bactérie en Corse : un suivi de la prévalence grâce à l'étude de *Philaenus spumarius* 87
1.1 La situation en Corse 87
1.2 La prévalence de la bactérie dans les insectes en Corse 88
1.2.1 Méthodes 89
1.2.2 Résultats 102
1.2.3 Discussion 105
2 Le processus de production de connaissances sur les insectes vecteurs dans un contexte de recherche 110
2.1 Introduction 112

2.1.1 Moi, *Philaenus spumarius* – Présentation du contexte et de la mise en œuvre des recherches en entomologie en France 115
2.1.2 Méthodes 123
2.1.3 Mise en récit des opérations de traduction et de leurs instances 125
2.1.4 Analyse 150
2.1.5 Conclusion et perspectives 156

III Anticipation du risque de l'arrivée et de la propagation de *Xylella fastidiosa* en France 157

1 Introduction : passer de la menace au risque en zone indemne 158
1.1 Aborder les zones indemnes 158
1.2 Cadrage du problème de la *preparedness* 160
1.3 Objectifs et logique d'une recherche transdisciplinaire 163
2 État des lieux des réseaux d'interactions impliquant *Xylella fastidiosa* en vigne et dans les milieux adjacents 164
2.1 Étude des communautés d'insectes vecteurs 165
2.1.1 Pourquoi et comment étudier les assemblages d'insectes vecteurs potentiels et avérés de *Xylella fastidiosa* ? . . . 165
2.1.2 Méthodes 166
2.1.3 Résultats 178
2.1.4 Synthèse des résultats 205
2.2 La biologie moléculaire en complément des observations de terrain : mise au point de la capture de gènes 208
2.2.1 Biologie moléculaire et capture de gènes : vers une connaissance précise du régime alimentaire des insectes adultes ? 208
2.2.2 Choix du gène ciblé et dessin des sondes de capture . . 209
2.2.3 Description du protocole 210
2.2.4 Optimisations de la méthode et résultats 215
2.2.5 Synthèse des résultats 220

3 Les interactions plantes hôtes – bactérie, objet de recherche et intégration dans la réglementation européenne 222
3.1 La recherche française sur *Xylella fastidiosa* et ses plantes hôtes avant sa mise en évidence en Europe en 2013 224
3.2 Les conditions matérielles pour des recherches sur *Xylella fastidiosa*, organisme de quarantaine 226
3.3 La découverte de *Xylella fastidiosa* en Italie fin 2013 et l'accélération des recherches françaises 228
3.4 Travailler sur la détection de la bactérie *Xylella fastidiosa*, organisme de quarantaine à lutte obligatoire, quel(s) impact(s) sur les recherches menées ? 233
3.4.1 Un point sur les obligations vis-à-vis de *Xylella fastidiosa* selon la législation française et européenne 233
3.4.2 Une recherche entre le poids de la législation et le poids de la médiatisation de la bactérie 236
4 L'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France 241
4.1 Les acteurs privés face au traitement de la menace 242
4.1.1 Projet Hennessy : savoir et mobiliser 242
4.1.2 Résultats de l'enquête exploratoire auprès de viticulteurs 244
4.1.3 Bilan des entretiens exploratoires avec les acteurs de la filière vigne 249
4.2 La Plateforme ESV : contexte et fonctionnement 250
4.2.1 Un complexe de trois plateformes d'épidémio-surveillance fruit d'une restructuration de la politique sanitaire française – Mise en contexte 251
4.2.2 Le fonctionnement de la Plateforme ESV 254
4.3 Construction et devenir d'une infrastructure de connaissances . . 256
4.3.1 Approche en termes d'infrastructure 257
4.3.2 La Plateforme ESV en tant qu'infrastructure de connaissances 259
4.4 *Xylella fastidiosa* à l'origine d'une (potentielle) crise sanitaire en France ? 274

4.4.1 Qu'est-ce qu'une crise sanitaire ? 275
4.4.2 La bactérie *Xylella fastidiosa* est-elle à l'origine d'une crise phytosanitaire ? 277
4.4.3 La Plateforme ESV vue par les membres du GT *Xylella fastidiosa* 278
4.4.4 Le GT : objet frontière de mise en visibilité de la plateforme face aux « crises » ? 282

Discussion **287**

1 Les apports de la thèse 287
1.1 La mise en évidence de la bactérie dans les insectes vecteurs et l'étude des interactions trophiques plantes - insectes 287
1.1.1 Mise en évidence de la bactérie dans les insectes vecteurs 287
1.1.2 L'étude des interactions trophiques plantes - insectes . . 289
1.2 Les connaissances produites : mobilisations et enjeux hors du laboratoire 291
2 Mise en pratique de la transdisciplinarité 294
2.1 Originalité et limites – caractère spécifique de la thèse 294
2.2 Articulation des disciplines 295
3 Apports de la thèse dans le cadre de la *preparedness* face à une épidémie végétale 299
3.1 Les enjeux de la détection d'un agent phytopathogène réglementé 300
3.2 D'un pathosystème intégré à sa dissociation scientifique et réglementaire 302
3.3 Une infrastructure de connaissances à la croisée des mondes sociaux et l'implication d'un objet frontière 305
3.4 Au-delà des acteurs institutionnels, l'appropriation de l'émergence d'un pathogène par la société 306
3.5 Perspectives de la recherche 308
4 Vers une approche en termes de socio-pathosystème 310

Conclusion **312**

Bibliographie **313**

Annexes **369**

A Analyses complémentaires de scientométrie **A1**

B Documents complémentaires concernant les analyses de biologie moléculaire pour la détection de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs **B1**

C Documents complémentaires pour l'étude des réseaux d'interactions impliquant *Xylella fastidiosa* **C1**

D Biologie moléculaire : mise au point de la capture-recapture **D1**

E Entretiens sociologiques **E1**

Table des figures

1 Représentation du concept One Health 12
2 Organisation de la thèse 24

3 Helmut Abt, astrophysicien, devant la croissance exponentielle du nombre de publications dans l'Astrophysical Journal de 1895 à 1994 30
4 Évolution entre 1987 et 2021 du nombre de publications selon l'affiliation des autrices et auteurs ayant publié sur *Xylella fastidiosa* regroupées par continents 35
5 Matrice de contingence avec les 6 principaux clusters de termes et sur les 10 pays qui comportent le plus grand nombre de chercheurs affiliés dans ces pays et publiant sur le sujet de *Xylella fastidiosa* 39
6 Carte des réseaux des auteurs et des 458 termes les plus utilisés dans les résumés et titres des publications du corpus de texte 42
7 Carte de réseaux des références citées 50
8 La situation épidémiologique dans le monde 55
9 La situation épidémiologique en Europe 55
10 Réseaux d'interactions impliquant potentiellement *Xylella fastidiosa* . . . 75

11 Schéma du pipeline d'analyse bio-informatique des résultats de séquençage 98
12 Prévalence de la bactérie dans les populations de *Philaenus spumarius* en Corse entre 2016 et 2019 102
13 Zones climatiques favorables pour *Philaenus spumarius* et *Xylella fastidiosa* selon les conditions climatiques de référence 104
14 Portrait de *Philaenus spumarius* adulte 116
15 *Xylella fastidiosa* au-delà des oliveraies : modes d'existence socio-culturels de la bactérie 117

16 Représentation du processus de traduction dans l'article de Bruno Latour 124
17 Description du plan d'échantillonnage en « poupées russes » 128
18 Cahier de terrain regroupant l'ensemble des cartes de situation 129
19 Photo du prélèvement des insectes à l'aide d'un filet fauchoir en milieu semi-naturel 130
20 Feuille de terrain regroupant les informations attachées aux insectes prélevés sur le terrain 130
21 Photographies des boites de stockage des tubes d'insectes associés à un code tube suite à l'identification des insectes 133
22 Travail au laboratoire d'entomologie. Conditionnement des larves d'insectes dans des tubes de stockage avec les étiquettes et photographie des plantes associées avant leur mise en herbier 134
23 La mise en base des informations associées aux codes tubes 135
24 Chaîne de traduction du prélèvement des insectes à la mise en tube de stockage au laboratoire 137
25 Chaîne de traduction des étapes d'analyse des insectes et de leurs métadonnées jusqu'à la production d'articles scientifiques 138
26 La mise en base : extrait de la base de données qui permet de regrouper l'ensemble des informations des collectes d'insectes 140
27 La biologie moléculaire : analyse de centaines d'échantillons en plaque et visualisation des résultats sur ordinateur 143
28 Automatisation des expérimentations avec le robot KingFisher 146

29 Évolution de la production scientifique concernant la *preparedness* 161
30 Illustration du plan d'échantillonnage des insectes 168
31 Extrait du tableau de données avant et après agrégation 175
32 Distribution des buffers visités pour les trois campagnes d'échantillonnage des insectes vecteurs potentiels ou avérés de *Xylella fastidiosa* 179
33 Diagramme de VENN représentant la distribution des espèces d'insectes au sein des régions 183
34 Graphique des valeurs propres de l'ACP et cercle des corrélations pour les deux premiers axes. 185

35 Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'ACP selon les habitats 186
36 Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'ACP selon les écosystèmes 187
37 Graphique des valeurs propres de l'ACP effectuée sur les données agrégées et cercle des corrélations pour les deux premiers axes 188
38 Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'ACP réalisée avec les données agrégées selon les écosystèmes 189
39 Abondance de *Philaenus spumarius* selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM 193
40 Abondance de *Philaenus spumarius* selon les habitats d'après les résultats du GLMM 194
41 Abondance de *Philaenus spumarius* selon les régions d'après les résultats du GLMM 194
42 Abondance de *Neophilaenus campestris* adulte selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM 196
43 Abondance de *Neophilaenus lineatus* (adulte) selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM 197
44 Abondance de *Neophilaenus sp.* (stade larvaire) selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM 198
45 Abondance de *Cicadella viridis* selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM 200
46 Diagramme de VENN réalisé avec la liste des genres de plantes sur lesquelles une ou plusieurs larves ont été collectées lors de la campagne d'échantillonnage du printemps 2021 202
47 Diagramme en barres de la richesse pour les plantes selon les écosystèmes et les régions 203
48 Proportion de hit de BLAST correspond à l'ADN de *Philaenus spumarius* et à ses endosymbiontes par échantillon pour l'expérimentation XYL01 . 217
49 Proportion de hit de BLAST correspond à l'ADN de *Philaenus spumarius* et à ses endosymbiontes par échantillon pour l'expérimentation XYL02 . 218

50 Schéma récapitulatif des résultats, avec la composition moyenne d'un échantillon d'ADN de *Philaenus spumarius* suite aux différents BLASTs pour l'expérimentation XYL01 219
51 Fonctionnement de la Plateforme ESV, adaptée du rapport annuel de la plateforme ESV 256

Liste des tableaux

1 Tableau de caractérisation des clusters de co-auteurs 48

2 Amorces de PCR 1 *LeuA* 93

3 Paramètres utilisés pour le filtrage qualité de l'expérimentation de PCR en deux étapes 99

4 Relations entre les systèmes de pratiques et les différentes étapes de traduction 154

5 Tableau récapitulatif des écosystèmes et habitats prospectés selon les régions 169

6 Nombre d'insectes prélevés par espèce et par stade 180

7 Nombre moyen d'insectes prélevés par espèce et par stade pour chaque habitat 181

8 Nombre moyen d'insectes prélevés par espèce et par stade pour chaque écosystème 182

9 Résultats du GLMM pour *Philaenus spumarius* 192

10 Tableau de l'abondance des larves d'insectes vecteurs pour chaque réseau 204

11 Calcul du PDI pour *Philaenus spumarius* et *Neophilaenus sp* 205

12 Calcul du NODF pour les trois principaux réseaux d'interactions. 205

13 Paramètres utilisés pour le filtrage qualité des résultats des séquençages issus des expérimentations de capture 212

Liste des encadrés

1 Inscription du projet de thèse dans un parcours professionnel particulier . 8
2 Le concept « One Health », une seule santé 12
3 L'observation participante 14
4 La recherche française sur *Xylella fastidiosa* et ses insectes vecteurs . . . 46
5 Les points essentiels – Origines et conséquences de *Xylella fastidiosa* . . . 60
6 Les points essentiels – *Xylella fastidiosa* et ses interactions avec les plantes hôtes 66
7 Les points essentiels – *Xylella fastidiosa* transmise par des insectes vecteurs 74
8 Les points essentiels – *Xylella fastidiosa* au cœur de réseaux d'interactions complexes 81
9 L'analyse bio-informatique des résultats du séquençage : le filtrage qualité 96
10 Définition de l'entretien semi-directif 111
11 Définition d'une zone indemne 159
12 La preparedness 160
13 Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation 164
14 Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation 164
15 Définition des termes de l'échantillonnage utilisés 169
16 Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation 222

17 Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation 233
18 Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation 241
19 La Maison Hennessy 243
20 Le concept d'objet-frontière 282

Acronymes

ACP Analyse en Composantes Principales xix, 103, 105, 175–177, 186–192

ACTA Association de Coordination Technique Agricole 256

ADD Atelier des Doctorants et post-Doctorants vi, 19

Adilva Association française des directeurs et cadres des laboratoires vétérinaires publics d'analyses 254

ADN Acide DésoxyriboNucléique v, 27, 91–97, 110, 133, 144, 146–151, 154, 155, 157, 210–214, 216, 217, 219–224, 232, 238, 292, B43

AFC Analyse Factorielle des Correspondances 175, 176, 186, 187

AGAP Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes méditerranéennes et tropicales (UMR) v, 91

Anses Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail 8, 17, 48, 89, 120, 121, 124, 135, 157, 172, 225–228, 230–235, 240, 252, 254–257, 262–265, 267, 268, 275, 277, 281, 294, 295, 306, 307, 311, E2

APCA Assemblée Permanente des Chambres d'Agriculture (aujourd'hui Chambres d'agriculture France) 256

ARN Acide RiboNucléique 144

BioSP Biostatistique et processus Spatiaux (UR INRAE) 49, 257, 267

BLAST Basic Local Alignment Search Tool (Alignment de sequences d'acides nucléiques) 214–221

BM Biologie Moléculaire iv, v, viii, 155

CBGP Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (UMR INRAE) iii, vi, 14, 17–19, 49, 91, 125, 127

CBNC Conservatoire Botanique National de Corse 120, 121

CE Commission Européenne 233, 242

CHELSA Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas (Climatologies à haute résolution pour les surfaces terrestres) 103

CIRAD Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement 256, 257, 268

CNIV Comité National des Interprofessions des Vins 245

CNOPSAV Conseil National d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale 244, 253, 263, 265

COPIL Comité de Pilotage 256, 257, 266, 269, 275, 283

CR Chargé de Recherche 14

CROPSAV Conseil Régional d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale 244, 253, 263, 265

CVC Citrus Variegated Chlorosis (chlorose panachée des agrumes) 39, 42, 46, 49–51, 58–60, 294, A13

DGAl Direction Générale de l'Alimentation 89, 120, 124, 227, 234, 242, 252, 254–257, 262–266, 268, 269, 271, 275, 280–282, 284, E5

DR Directeur de Recherche 15

DRAAF Direction Régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt 264, 270, 271, 281, 286

EAS Épidémiologie et Appui à la Surveillance (unité Anses) 257, 268

ECOSOCIO Département INRAE 15

EFSA European Food Safety Authority (Autorité européenne de sécurité des aliments) 44, 45, 48, 49, 51, 246

EGS États Généraux du Sanitaire 253

ESA Epidémio-surveillance en Santé Animale (Plateforme) 254, 261

ESB Encéphalopathie Spongiforme Bovine ou maladie de la vache folle 254

ESV Epidémio-surveillance en Santé Végétale (Plateforme) 8, 15, 17, 158, 165, 166, 242–244, 252, 255–258, 261–276, 280–285, 296, 307, 310, E2

FCPR Formation Complémentaire Par la Recherche iii, viii, 8

FREDON Fédération Régionale de lutte et de Défense contre les Organismes Nuisibles 120, 252, 256, 270–272, 275, 277, 281, 286, 307, 308, 314, E2

GDS Groupement de Défense Sanitaire 254

GLMM Generalized Linear Mixed Model (modèle linéaire généralisé mixte) xix, 102, 103, 105, 178, 192, 194–196, 198–202

GNIS Groupement national interprofessionnel des semences et plants (aujourd'hui SEMAE interprofession des semences et plants) 263

GT Groupe de Travail 8, 17, 165, 252, 253, 256–258, 263–267, 269, 272–276, 280–286, 295, 296, 298, 307, 308, 310, 311, E2

IAE Ingénieur de l'Agriculture et de l'Environnement 8

IFRIS Institut Francilien Recherche Innovation et Société 35

INRAE Institut national de recherche pour l'agriculture l'alimentation et l'environnement 8, 14, 15, 17, 35, 48, 49, 89, 118–124, 130, 131, 134, 160, 225, 227, 228, 230–233, 235, 239, 240, 242, 252, 255–257, 262, 264, 265, 267, 268, 273–275, 277, 281, 294, 295, 306, 307, 309, 311, E2

IRHS Institut de Recherche en Horticulture et Semences (UMR INRAE) 17, 48, 225, 226

LISIS Laboratoire Interdisciplinaire Sciences Innovations Sociétés iii, vi, 15, 19, 35

LNR Laboratoire National de Référence 227, 231, 233, 234, 238, 306, E6

MAA Ministère en charge de l'Agriculture et de l'Alimentation (aujourd'hui MASA : Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire) 8, 17, 120, 253, 262, 272, 275, 279, 280, 308, E2

MLST MultiLocus Sequence Typing (Typage par séquençage multilocus) 47, 55, 93, 94, 231

NAQ Nouvelle-Aquitaine 177, 194, 204–206, 292

NGS Next Generation Sequencing (Séquençage nouvelle génération) 91

OEPP Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes 5

OQDS Olive Quick Decline Syndrome (Complexe du dessèchement rapide de l'olivier) 19, 39, 42, 47, 49–51, 53, 58, 60, 68, 75, 294, A29

PACA Provence-Alpes-Côte d'Azur 16, 22, 26, 56, 58, 123, 127, 160, 169, 174, 179, 185, 186, 193, 194, 197–201, 205, 206, 276, 291, 292, B43, E10

PAMP Pathogen Associated Molecular Pattern (mécanismes de défense déclenchés par la plantes lors d'une interaction avec un pathogène) 64

pb paire de base (unité de longueur de l'ADN) 93, 98, 110, 211, 212

PCR Polymerase Chain Reaction (Amplification en Chaîne par Polymérase) v, viii, ix, 91–97, 101, 102, 109–112, 148–150, 155, 173, 174, 211, 215, 224, 233, 240, 290, 292, 293, 303, A11, B44

PDI Paired Difference Index 180, 207

PLSR Régression par les moindres carrés partiels (Partial Least Squares Regression) 103, 105

qPCR PCR quantitative 97, 109, 110, B42

SAFRAN Système d'Analyse Fournissant des Renseignements Adaptés à la Nivologie 102, 103

SBT Surveillance Biologique du Territoire 254

SCA Surveillance de la Chaîne Alimentaire (Plateforme) 261

SDM Species Distribution Model (modèles de distribution d'espèces) 82, 102, 103, 107

SenS Sciences en Société (UR INRA) 35

SHS Sciences Humaines et Sociales vi, 6, 11

SITES Sciences Innovation et Techniques en Sociétés (LabEx) 35

SMACH Sustainable Management of Crop Health (Métaprogramme INARE, Gestion durable de la santé des cultures) 274

SNGTV Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires 254

SPE Santé des Plantes et Environnement (département INRAE) 14, 15, 274

SRAL Service Régional de l'Alimentation 120, 252, 253, 264, 270–272, 277, 281, 286, 307, 308, 314, E1

SRAS Syndrome Respiratoire Aigu Sévère 13

ssp subspecies (sous-espèce) 22, 54, 55, 58, 59, 103, 146, 289

ssp shared socioeconomic pathways (trajectoires socio-économiques partagées) 104

ST Sequence Type 55, 95, 149, 227, 232, 240

STS Science and technology studies (domaine des sciences sociales concernant l'étude des sciences et des techniques) 18, 26, 88, 112, 114, 226, 259, 284, 297

UC University of California (Université de Californie) 30

UE Union Européenne 242

UK United Kingdom (Royaume-Uni) 49, 50

UMR Unité Mixte de Recherche 10, 17, 35, 48, 49, 91, 160, 306

UR Unité de Recherche 35, 49

USA United States of America (États-Unis) 49, 235

USDA United States Department of Agriculture (Département de l'Agriculture des États-Unis) 47

VIH Virus de l'Immunodéficience Humaine (virus du sida) 110

VIP Variable Importance for the Projection (Importance de la variable dans la projection) 103

WoS Web of Science 32, 34–36

Introduction

« Vous vous souvenez de la première fois où vous avez entendu parlé de *Xylella fastidiosa* ? »

J'ai posé cette question lors de chaque entretien que j'ai mené durant ces trois années de recherche. Pour introduire cette thèse, c'est aujourd'hui à mon tour d'y répondre, afin d'éclairer lectrices et lecteurs sur le pourquoi et le comment de cette recherche doctorale.

La première fois que j'ai entendu parlé de la bactérie *Xylella fastidiosa*, c'était en mars 2018, à l'Ambassade de France à Madrid, en Espagne. Lors d'une discussion dans le cadre de la préparation de mon stage de master 1, Jérôme Frouté, Conseiller Agricole à l'Ambassade de France, m'indiquait que ce sujet était d'importance pour le Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation et qu'il pourrait être mon sujet de stage. C'est ainsi que je me suis intéressée à *Xylella fastidiosa*. L'objectif de ce stage était de caractériser la situation sanitaire espagnole pour informer les agents du Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation en France. J'ai donc acquis quelques connaissances générales sur la bactérie et ses insectes vecteurs et je me suis intéressée aux modes de surveillance et de gestion qui prévalaient en Espagne, et donc à la progression du nombre de foyers découverts et aux réactions que ces découvertes suscitaient. En juin 2018, la colère des arboricultrices et arboriculteurs espagnols monte, avec la découverte d'un septième foyer de *Xylella* par la Communauté autonome de Valence. Une zone d'éradication est alors définie et elle concerne 1 178 ha (regroupant 1 803 parcelles d'amandiers) alors que plus de 10 000 amandiers ont déjà été détruits. De nombreux recours ont alors été déposés par les professionnels. Au-delà de la colère, j'ai vu de la détresse chez les professionnels confrontés à l'arrachage de leurs parcelles. Je me suis alors demandée quelle était la situation épidémiologique en France, mais aussi comment participer à la prévention de la

dissémination de la bactérie sur le territoire français et ne pas devoir assister à la situation qui se déroulait en Espagne - ou en Italie dans les Pouilles - avec des dizaines d'hectares de parcelles cultivées arrachées menaçant ainsi des filières agricoles.

Ce sujet de stage posait des enjeux d'acquisition de connaissances sur cette bactérie phytopathogène - qui m'était alors inconnue - au service de la compréhension du système de surveillance et de gestion de la bactérie en Espagne. Les connaissances scientifiques acquises sur la bactérie étaient donc mises au service de l'analyse des directives européennes et de la compréhension de leur déclinaison en Espagne jusqu'à l'impact de ces injonctions sur les amandicultrices et amandiculteurs espagnols.

Avant de poursuivre, j'aimerais apporter une précision quant à l'utilisation de l'écriture inclusive. Ce style d'écriture permet de souligner la place des femmes et des hommes de façon égalitaire dans la société. Dans le cadre de cette thèse il me semble fondamental de rappeler l'importance des femmes au même titre que celle des hommes dans le milieu de la recherche ou encore dans celui de l'agriculture. Cependant, le point médian nécessaire à la mise en œuvre de ce style d'écriture peut compliquer considérablement la lecture et il ne sera donc pas mis en œuvre dans ce manuscrit ; ce qui n'empêchera pas la mobilisation d'autres stratégies pour ne pas oublier la présence et le rôle des femmes.

1 Quels impacts de l'introduction d'organismes phytopathogènes sur un territoire indemne tel que l'Europe ?

1.1 De l'introduction d'un organisme à son établissement et son expansion sur un territoire indemne

L'introduction par l'Homme d'un nouvel organisme au sein d'un territoire qui en est indemne peut être : volontaire pour satisfaire ses besoins alimentaires, énergétiques ou pour lutter contre des agents pathogènes présents sur le territoire [Urvois, 2022] ou être un acte malveillant associé à l'agro et au bioterrorisme [Chomel and Sun, 2010, Meyerson and Reaser, 2003, Suffert et al., 2008]. A l'inverse, les échanges de matières premières et de matériel végétal vivant impliquent parfois l'introduction involontaire

d'organismes phytopathogènes (ravageurs des cultures, espèces végétales exotiques envahissantes, bactéries et virus phytopathogènes, etc.) [Hulme et al., 2008]. Néanmoins, l'introduction d'un nouvel organisme n'aboutit pas forcément à son installation sur ce nouveau territoire et donc à une invasion biologique. En effet, si l'organisme pathogène introduit ne parvient pas à se maintenir dans son nouvel environnement, la population va s'éteindre sans conséquence majeure. Dans le cas des populations d'individus qui vont se maintenir dans l'environnement et étendre leur aire de distribution [Williamson and Fitter, 1996a, Williamson and Fitter, 1996b], leur présence va devenir visible. Ce phénomène se traduit notamment par l'apparition d'une nouvelle maladie ou la colonisation d'un territoire par une plante exotique envahissante et peut parfois impliquer des conséquences majeures pour une filière agricole, la biodiversité locale [Levine et al., 2003], voire la santé humaine [Chauvel and Martinez, 2013]. Les invasions biologiques existaient déjà pendant la préhistoire [Anderson, 2009] ; de nos jours, la mondialisation, avec l'augmentation des échanges et une homogénéisation des milieux, favorise et accélère ces invasions biologiques [Hulme et al., 2008]. Même si la majorité des échanges mondiaux de plantes sont commerciaux, chacune et chacun d'entre nous joue également un rôle par des dissémination involontaires - et par méconnaissance - qui accompagnent l'intensification de la mobilité et la « démocratisation » des vols internationaux. Dans ce contexte, le déplacement d'espèces, qu'elles soient végétales ou animales, peut avoir de lourdes conséquences sur les écosystèmes dans lesquels elles sont introduites.

Le changement climatique est un second facteur clé pour induire ou favoriser l'installation d'espèces exotiques sur un territoire indemne, du fait de modifications des conditions environnementales ; par exemple, des températures hivernales plus douces favorisent la remontée des espèces vers le nord [Rochlin et al., 2013]. Le changement climatique est également à l'origine de la modification des échanges eux-mêmes, avec une augmentation du nombre de voies navigables (suite à la fonte de la banquise [Khon et al., 2010]) et donc d'une modification des risques d'introduction et d'établissement de nouvelles espèces dans des territoires indemnes.

1.2 Les conséquences de l'introduction d'agents phytopathogènes en Europe

L'Europe a connu de nombreuses introductions involontaires d'agents phytopathogènes qui ont parfois donné lieu à des crises majeures. Citons pour exemple l'introduction et l'émergence du mildiou de la pomme de terre au XIX^{e} siècle qui a eu des conséquences socio-économiques et politiques sans précédent. Cette culture a été importée en Europe sans son pathogène 200 ans plus tôt et le progrès technique serait à l'origine de la flambée épidémique du mildiou. En effet, alors que les tubercules infectés pourrissaient pendant le voyage, avec l'augmentation de la vitesse des navires (développement de la machine à vapeur), des tubercules infectés sans symptôme ont été plantés. De plus, les progrès techniques liés aux transports ont aussi conduit à une intensification des échanges entre l'Amérique et l'Europe [Semal, 1995]. Ces échanges sont également à l'origine de l'importation du phylloxera de l'Amérique en Europe. Ce pathogène menaçant le vignoble français d'une destruction rapide, a entraîné une collaboration importante entre les scientifiques de l'ancien et du nouveau Monde afin de comprendre l'origine de son introduction, son écologie et de développer des moyens de lutte. Cette collaboration a permis la mise en place de la greffe de la vigne française sur des vignes américaines résistantes pour « sauver » le vignoble français [Carton et al., 2007, Cornu, 1880]. Les défis étaient d'autant plus importants à relever que la vigne est une culture pérenne. Ainsi, une rotation des cultures ou une destruction de la production de l'année en cours n'était pas envisageable, ni viable pour les viticulteurs français. Plus récemment, la flavescence dorée, maladie causée par un phytoplasme transmis par *Scaphoideus titanus*, cicadelle originaire d'Amérique du nord, a été mise en évidence en 1953, sur vigne, dans la région de l'Armagnac [Caudwell, 1957, Chuche and Thiéry, 2014]. Cette maladie aujourd'hui présente à l'échelle européenne et pour laquelle il n'existe pas de moyen de lutte direct est contrôlée par des mesures de prospection, d'arrachage des ceps contaminés et de lutte obligatoire contre son insecte vecteur avec l'application de traitements insecticides [Malembic-Maher et al., 2022].

Néanmoins, l'introduction de nouveaux pathogènes n'induit pas forcément des conséquences socio-économiques aussi fortes que dans le cadre du mildiou et du phylloxera au XIX^{e} siècle ou de la flavescence dorée aujourd'hui. Par exemple, la réémergence de la gra-

phiose de l'orme dans les années 1970, avec l'importation de souches agressives du pathogène, a détruit la majorité de cette essence, sans conséquences socio-économiques fortes et dont les conséquences écologiques n'ont pas toutes été évaluées [Pinon and Feugey, 1994]. Certains pathogènes peuvent cependant avoir des conséquences économiques indirectes avec la destruction d'un patrimoine. Cet élément difficilement monétisable est de plus en plus pris en compte dans les études publiées. C'est le cas pour le chancre coloré du platane qui menace les célèbres abords du canal du midi [Ballester, 2015].

Ainsi, l'introduction et l'établissement d'un agent phytopathogène a des conséquences économiques et sociales variables selon l'espèce végétale touchée, les dégâts causés et/ou les pertes économiques indirectes constatées et considérées. La reconnaissance de cette pression biotique et de ses effets conduisent à la mise en place d'une expertise permanente au niveau internationale avec le rôle de l'OEPP (Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes) et, sur le plan européen, avec un cadre commun d'évaluation des risques liés aux prédateurs, aux invasifs et à leur contrôle [EFSA Panel on Plant Health (PLH) et al., 2018]. Ces instances d'expertise sont autant de dispositifs qui s'appuient sur le travail des chercheurs concernés dans leurs travaux par la détermination des ravageurs et organismes pathogènes, leur étude biologique et leur épidémiologie.

1.3 De l'installation d'un agent phytopathogène à sa détection

La détection d'un agent phytopathogène sur un territoire indemne, via l'observation de symptômes par exemple, peut prendre plusieurs années voire plusieurs décennies [Saponari et al., 2013, Saponari et al., 2019, Soubeyrand et al., 2018]. Suite à l'observation des symptômes, des investigations peuvent être menées par les scientifiques, d'une part pour découvrir l'origine de l'introduction de la maladie [Soubeyrand et al., 2018] et d'autre part pour produire des connaissances sur le métabolisme et l'écologie du pathogène [Denancé et al., 2017]. Ce dernier est également étudié dans son environnement avec des recherches concernant sa propagation, et dans le cadre de maladies transmises par des insectes vecteurs, leur écologie et leur comportement alimentaire sont également observés et analysés [Cornara et al., 2020a, Cruaud et al., 2018].

La production de ces connaissances issues de disciplines de la biologie au sens large et leur mobilisation sont également étudiées dans le cadre de recherches menées en SHS (Sciences Humaines et Sociales) avec par exemple, l'analyse de la mobilisation de résultats de recherche dans le cadre réglementaire [Demortain, 2017]. Enfin, les conséquences de l'arrivée d'une nouvelle maladie végétale sont parfois évaluées en terme d'impacts socio-économiques [Schneider et al., 2020].

Ainsi, l'émergence d'un pathogène est à l'origine de problématiques et de travaux divers selon la discipline considérée ou encore l'institution où sont menées ces travaux. Ces derniers sont néanmoins tous à l'origine d'une production de connaissances et donc d'une avancée vis-à-vis de la compréhension de la maladie et plus largement du patho-système qui peut se révéler complexe. En effet, il peut impliquer de nombreux acteurs biologiques (l'agent pathogène, ses plantes hôtes mais également ses insectes vecteurs) et sociaux (les institutions à l'origine de la réglementation visant le contrôle du pathogène, les institutions impliquées dans ces contrôles, les professionnels, etc.) qui sont pris dans un environnement particulier. L'enjeu d'une approche globale d'une invasion particulière est souvent de parvenir à réunir les connaissances de plusieurs disciplines dans une perspective de gestion des risques ou de lutte, et de rendre compatible une connaissance de la complexité avec la perspective d'une action raisonnée. C'est à cet enjeu que s'est confronté ce travail de recherche doctorale sur l'introduction et l'expansion potentielle de *Xylella fastidiosa* en France.

1.4 Le cas de l'introduction et de l'expansion de *Xylella fastidiosa*

Xylella fastidiosa est transmise de plante en plante par des insectes vecteurs, piqueurs suceurs. S'ils se nourrissent sur une plante infectée et acquièrent la bactérie, les vecteurs peuvent alors la transmettre immédiatement en se nourrissant sur une autre plante [Chatterjee et al., 2008a]. Leur rôle probablement majeur dans la dissémination de *Xylella fastidiosa*, notamment dans les parcelles d'amandiers en Espagne, m'a conduit à les placer au centre de mon projet de thèse, afin de produire des connaissances sur la compréhension de ces insectes, de leur écologie et sur le fait de les appréhender en tant que « moteur » de l'épidémie. Cette approche compréhensive vise à être mobilisée dans des travaux de recherche ultérieurs et pour la mise en place de mesures de prophylaxie et/ou de lutte contre

la propagation de *Xylella fastidiosa*, pour laquelle il n'existe aucun traitement ciblant directement la bactérie. Néanmoins, cette approche me parait incomplète sans prendre en compte les hommes et les femmes impactés par la présence, la détection et la propagation de cette bactérie, organisme de quarantaine à lutte obligatoire sur le continent européen et qui sont confrontés aux mesures de gestion, de prophylaxie et de lutte contre *Xylella fastidiosa*.

Ainsi, je suis entrée en thèse avec l'objectif de produire des connaissances scientifiques finalisées, qui pourraient être mises à disposition des acteurs de la gestion publique des risques et incertitudes d'une maladie émergente, et plus particulièrement en pensant aux agricultrices et agriculteurs français directement exposés. L'ambition de ce projet était donc de produire des connaissances sur l'écologie des insectes vecteurs de la bactérie et de traiter des enjeux autour de la mobilisation de ces connaissances pour l'anticipation et/ou la préparation à une éventuelle crise. Ainsi, cette thèse restitue à la fois un travail de recherche concernant l'écologie des insectes et leur statut d'infection par la bactérie avec la mobilisation de disciplines « biologiques » et un travail empirique d'analyse de cette production de connaissance et de son devenir grâce à la mobilisation du domaine de recherche en sciences humaines et sociale qui est consacré à l'étude des sciences et des techniques.

Le développement de méthodes de pointe de détection de la bactérie n'implique pas leur utilisation directe dans la mise en place de mesures de surveillance, de gestion et/ou de lutte. Ainsi, il est nécessaire de prendre en compte le processus de fabrication de ces méthodes. La compréhension de ce processus peut permettre de mettre en lumière les étapes charnières qui sont à l'origine ou non du transfert et/ou de la réutilisation des connaissances pour l'organisation de la lutte obligatoire contre la propagation de *Xylella fastidiosa* en Europe. En effet, les connaissances produites, au-delà de leur publication scientifique pour faire avancer la recherche, peuvent être utilisées dans le cadre de la mise en place de réglementations, de mesures de surveillance ou encore de gestion de la maladie et contribuer à une certaine préparation face à l'arrivée potentielle d'un nouveau pathogène sur un territoire indemne (voir encadré 1 page suivante).

Encadré 1 : Inscription du projet de thèse dans un parcours professionnel particulier

Ce travail de recherche (en FCPR (Formation Complémentaire Par la Recherche)) complète ma formation d'IAE (Ingénieur de l'Agriculture et de l'Environnement) débutée en école d'ingénieur. Ce parcours ne sera pas poursuivi par un parcours postdoctoral « classique » mais par une prise de poste au sein du MAA (Ministère en charge de l'Agriculture et de l'Alimentation). Cette perspective professionnelle, claire depuis le montage du projet de thèse, a forcément impacté l'élaboration de son contenu et aussi, en partie, les choix qui ont été réalisés tout au long de cette recherche en liant la formation d'un point de vue scientifique à sa remobilisation d'un point de vue professionnel. La production des recherches scientifiques a été accompagnée par une participation au GT (Groupe de Travail) sur la bactérie *Xylella fastidiosa* de la plateforme ESV (Epidémio-surveillance en Santé Végétale), pilotée par le MAA, l'Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail) et INRAE (Institut national de recherche pour l'agriculture l'alimentation et l'environnement). Cette participation au GT a enrichi mes travaux de recherche et m'a également permis d'approfondir mes connaissances en santé des végétaux et concernant sa gestion en tant que problème d'action publique pour le MAA. Enfin, réaliser une thèse de ce type c'est également entretenir et créer des liens entre différentes institutions, et notamment renforcer les relations nécessaires à l'établissement de dispositifs d'épidémio-surveillance dans le cadre d'une réforme globale de la gouvernance sanitaire qui se doit d'appréhender l'idée de santé unique « One Health ».

2 Comment étudier acteurs biologiques et sociaux et leurs interactions autour d'un unique objet de recherche ? La mise en œuvre d'une démarche interdisciplinaire

Les questions autour de l'interdisciplinarité et notamment de sa définition sont vastes et assez anciennes [Boisot, 1971] et ne font pas l'objet d'un approfondissement dans le présent travail de thèse même si elles ne sont pas ignorées. A l'interdisciplinarité, s'ajoute

la pluridisciplinarité au milieu du XX^{e} siècle ou encore plus récemment, en 1970, la transdisciplinarité [Nicolescu, 2011, Piaget, 1972]. Bien que la définition de ces termes soit débattue, les définitions décrites dans la publication de Nicolescu [Nicolescu, 2011] et présentées ci-dessous, forment le point de départ de la réflexion menée sur la place de mon travail de recherche au sein d'un ensemble de disciplines, avec cet objectif de recherche finalisée qui caractérise mon projet doctoral.

> " *La pluridisciplinarité concerne l'étude d'un objet d'une seule et même discipline par plusieurs disciplines à la fois. La recherche pluridisciplinaire apporte un plus à la discipline en question, mais ce « plus » est au service exclusif de cette même discipline.*
>
> *L'interdisciplinarité concerne le transfert des méthodes d'une discipline à l'autre. Par exemple, le transfert des méthodes de la mathématique aux phénomènes météorologiques ou ceux de la bourse a engendré la théorie du chaos. L'interdisciplinarité déborde les disciplines, mais sa finalité reste aussi inscrite dans la recherche disciplinaire.*
>
> *La transdisciplinarité concerne, comme le préfixe latin trans l'indique, ce qui est à la fois entre les disciplines, à travers les différentes disciplines et au-delà de toute discipline. Sa finalité est la compréhension du monde présent, dont un des impératifs est l'unité de la connaissance.* "

Mon travail de thèse a consisté en premier lieu et de façon approfondie à étudier les insectes vecteurs d'une bactérie phytopathogène au sein de leur environnement ainsi que leurs interactions avec leurs plantes hôtes et *Xylella fastidiosa*. Pour ce faire, différentes « sous-disciplines » de l'écologie ont été mises en pratique avec la biologie moléculaire et l'écologie des communautés, mobilisées de façon complémentaire dans une problématique globale de compréhension des réseaux d'interactions autour de la bactérie. Concomitamment, un travail complémentaire a été mené en sociologie pour comprendre le processus au cours duquel ces connaissances ont été construites et mobilisées pour, ensuite, analyser leur utilisation potentielle dans des stratégies d'épidémio-surveillance et de gestion de la bactérie. A la lumière des trois définitions précédentes, ce travail de thèse s'inscrit préférentiellement dans la transdisciplinarité et la définition qu'en donne Edgar Morin [Foyer, 2011] le confirme.

> "*[La transdisciplinarité] consiste à déplacer constamment son regard, à rendre son point de vue le plus mobile possible pour faire varier les éclairages autour d'un même objet. Il ne s'agit pas d'une simple succession de perspectives, puisque ces variations de regards contribuent à redessiner de manière dynamique les contours d'un objet dont la géométrie devient variable.*" [Foyer, 2011]

En effet, les travaux présentés dans cette thèse se sont focalisés sur l'arrivée d'une bactérie phytopathogène sur le territoire français qui est prise au sein de réseaux d'interactions. Cet objet d'étude, est « observé » depuis différents « points de vue » avec la mobilisation de différentes disciplines en écologie et en sociologie. Les résultats intermédiaires issus des travaux dans ces disciplines nourrissent les avancées du projet global afin de répondre à une problématique impliquant l'ensemble des enjeux soulevés quelle que soit la discipline considérée.

Cet apport théorique succinct sur la mobilisation de plusieurs disciplines autour d'un même objet de recherche pose la question de l'opérationnalité de tels projets. Il y a plusieurs échelles de mise en place de projets inter/pluri/trans-disciplinaires. Des travaux pluridisciplinaires et/ou interdisciplinaires peuvent être menés au sein d'un consortium de chercheurs, au sein d'interactions dans une UMR (Unité Mixte de Recherche), entre des chercheurs issus de plusieurs disciplines, ou encore au sein d'un projet de recherche conduit par un seul chercheur. En effet, la mise en pratique de la pluridisciplinarité ou de l'interdisciplinarité, permet l'interaction de plusieurs chercheurs inscrits dans diverses disciplines, avec des rencontres et des débats concernant un objet commun, mais avec des travaux de recherche menés par chaque chercheur en parallèle [Broin et al., 2019]. En revanche, la transdisciplinarité nécessite la mobilisation d'un groupe de chercheurs certainement plus restreint ou même d'un seul chercheur afin que les disciplines mobilisées le soient dans le cadre d'une recherche commune et intégrative.

Concevoir de tels projets de recherche pose la question de leur mise en place et concrètement de leur orchestration. L'illustration de cette question est appuyée par une discussion informelle avec un chercheur du laboratoire dont l'objet de recherche concerne un agent

pathogène présent en Afrique, transmis par des vecteurs et qui peut toucher l'Homme. Cet objet de recherche est à la croisée de nombreuses disciplines, en SHS, en biologie, écologie et en santé humaine. Dans le cadre de son projet, « tout s'est passé sur le terrain ». Ce sont les conditions de terrain qui ont favorisé les rencontres et les collaborations étroites entre les chercheurs de disciplines variées. Ainsi, des collaborations se sont installées entre des épidémiologistes et des médecins mais également avec des géographes et des anthropologues pour comprendre la vie des populations locales africaines.

En revanche, lors de la mise en place de ces collaborations, il ne s'est pas posé de questions autour de sa pratique de la recherche : inter/pluri/ et/ou trans-disciplinaire. Il se concentre sur les aspects pratiques de la collaboration avec des chercheurs et d'autres parties prenantes, en favorisant leur rencontre par l'organisation de réunions par exemple. Il évalue aujourd'hui très positivement ces collaborations sur son travail de recherche et par exemple comment des travaux d'anthropologie ou de géographie ont éclairé ses recherches en épidémiologie. Cet exemple permet de montrer la pluralité de recherches interdisciplinaires qui peuvent être initiées par la création de projets de recherche et de consortium ou par les rencontres de terrain.

Ce processus de collaboration me semble facilité en santé humaine ou animale avec des interactions entre médecins/vétérinaires, épidémiologistes et anthropologues pour disposer d'une compréhension globale d'un système complexe (homme – pathogène – réservoir de l'agent pathogène – environnement). Ces collaborations sont notamment renforcées par le développement du concept « One Health » apparu ces dernières années ([Zinsstag et al., 2020] et encadré 2 page suivante). En revanche, en santé des plantes, il n'existe pas formellement de profession de « médecin des plantes ». De plus, les maladies végétales touchent souvent l'Homme de façon indirecte avec des pertes de rendement de certaines cultures ou la mise en place de mesures de gestion contraignantes. Ainsi, la prise en compte des acteurs sociaux ne parait pas forcément immédiatement importante dans des travaux de phytopathologie végétale par rapport à des travaux d'épidémiologie sur des réservoirs de maladies humaines par exemple, bien que des travaux aient combiné épidémiologie animale, végétale et humaine [Sache and Barnouin, 2010].

Encadré 2 : Le concept « One Health », une seule santé

Le concept d'une seule santé « One Health » (figure 1) est né dans les années 2000, suite à l'émergence du SRAS (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère), maladie respiratoire apparue en 2003 et à la propagation de la grippe aviaire (H5N1) [Jeggo and Mackenzie, 2014]. Ce concept est lié aux 12 principes de Manhattan, énoncés en 2004 lors d'un séminaire de la Wildlife Conservation Society en 2004 et qui reconnaissent l'importance cruciale des approches interdisciplinaires qui portent un intérêt à la santé humaine et à la santé animale, prises dans leur environnement (`http://www.oneworldonehealth.org/sept2004/owoh_sept04.html`).

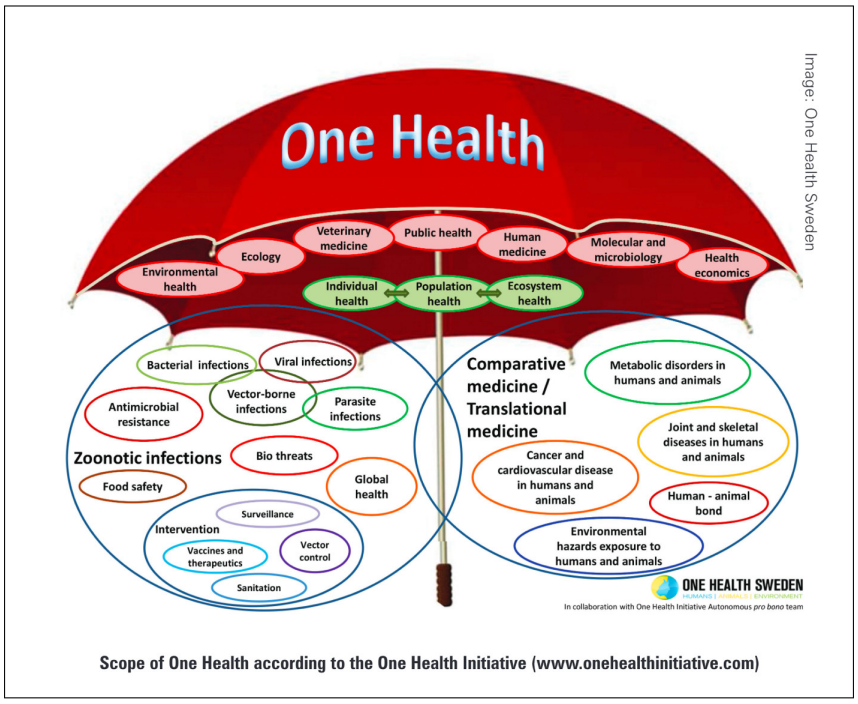


FIGURE 1: Représentation du concept One Health [Gibbs, 2014]

Ces approches doivent permettre de répondre aux problématiques liées à l'émergence ou la ré-émergence de maladies, notamment avec la prise en compte de la santé de la faune sauvage en tant que composante essentielle de la prévention, de la surveillance, du contrôle et de l'atténuation des maladies au niveau mondial [Mackenzie and Jeggo, 2019]. Ainsi, ce concept qui fait suite au concept « d'une seule médecine » [Zinsstag et al., 2011], a été développé dans le cadre des recherches et de la lutte contre les maladies zoonotiques et donc sur les interactions entre vétérinaires, médecins et biologistes [Dantas-Torres et al., 2012, Plumb et al., 2013].

Malgré la démonstration de l'importance de la prise en compte de la santé animale, humaine et de l'environnement, ce concept est difficile à mettre en œuvre et à décliner tant dans les institutions que dans les organismes de recherche [Lee and Brumme, 2013]. De plus, bien que ce concept prenne en compte l'environnement, la santé des plantes n'est pas spécifiquement explicitée dans sa définition. Or, la santé des plantes est intimement liée à la santé humaine via l'alimentation des animaux d'élevage et également la consommation humaine de plantes cultivées. La gestion des maladies végétales est donc un facteur important pour l'alimentation humaine, notamment via les aspects de sécurité alimentaire [Flood, 2010]. Cependant, depuis quelques années, la santé des plantes mais aussi les microorganismes des sols notamment commencent à être pris en compte en tant que tels dans le concept global d'une seule santé [van Bruggen et al., 2019, Zinsstag et al., 2018].

Ces éléments succincts permettent de replacer mon travail de recherche, en l'inscrivant dans la transdisciplinarité bien qu'elle ait été pratiquée de façon asymétrique puisque les recherches en écologie sont majoritaires par rapport à celles menées en sociologie. Cette asymétrie est due notamment à mon parcours de formation d'ingénieure agronome et d'écologue. Cette démarche me parait n'être complète qu'à la lumière des résultats et de leurs implications et cette question de transdisciplinarité sera donc discutée à la fin de ce manuscrit en lien avec la question d'une épidémiologie intégrative des maladies végétales émergentes impliquant des insectes vecteurs.

3 Comment concrètement conduire une recherche transdisciplinaire ?

3.1 Mobiliser plusieurs domaines de recherche distincts

Un travail de recherche appuyé par une démarche transdisciplinaire nécessite un encadrement pluridisciplinaire. Dans le cas de cette thèse, cet encadrement est composé de deux chercheurs en écologie au CBGP (Centre de Biologie pour la Gestion des Populations), Astrid Cruaud - CR (Chargé de Recherche) INRAE, SPE (Santé des Plantes et

Environnement) - et Jean-Pierre Rossi - DR (Directeur de Recherche) INRAE, SPE - et d'un chercheur en sociologie des sciences et des techniques au LISIS (Laboratoire Interdisciplinaire Sciences Innovations Sociétés), Marc Barbier - DR INRAE, ECOSOCIO (Département INRAE) -. Cet encadrement reflète les deux domaines de recherche au sein desquels s'inscrit ce travail.

Pour les recherches en écologie, la biologie moléculaire est largement mobilisée avec le développement et la mise en place de protocoles en laboratoire notamment pour détecter la bactérie dans ses insectes vecteurs. Des indicateurs et méthodes issus de l'écologie des communautés sont également utilisés pour comprendre l'écologie des insectes dans différentes régions françaises. Pour compléter cette étude, des méthodes qualitatives classiques de sociologie sont mobilisées, avec une part importante d'observation participante au sein du laboratoire où sont menées les expérimentations en écologie et la conduite d'entretiens semi-directifs auprès des acteurs de la recherche et de l'épidémio-surveillance en France (des gestionnaires et des acteurs impliqués dans la mise en place des mesures réglementaires jusqu'aux viticultrices et viticulteurs). Les méthodes d'observation participante (voir encadré 3) et d'entretiens semi-directifs ont également été mobilisées dans le cadre de ma participation au groupe de travail sur *Xylella fastidiosa* de la Plateforme ESV. Cette participation m'a permis de partager les connaissances acquises en écologie et de comprendre les interactions entre la recherche, les institutions et les professionnels.

Encadré 3 : L'observation participante

La notion d'observation participante est assez ancienne, probablement inventée au début du XX^{e} siècle par un sociologue [Kirk et al., 1986]. Cette notion, bien que contestée, est relativement claire ; elle exprime la présence d'un sociologue ou d'un anthropologue, en immersion quotidienne et plus ou moins prolongée au sein de la réalité qu'il souhaite étudier. Ainsi, le scientifique peut observer celles et ceux qui la vivent mais également être en interaction permanente avec eux [Olivier de Sardan, 2008]. La forme d'immersion dans le milieu est varié : de l'observateur, à l'observateur participant et jusqu'au « participant intégral » [Aktinson and Hammersley, 1998]. Enfin, la position de dédoublement statutaire [Olivier de Sardan, 2008], implique que le sociologue occupe un des rôles dans l'arène étudiée. Quel que soit la méthode employée, le scientifique sera en

contact avec les personnes et les processus étudiés, selon des modalités variables [Olivier de Sardan, 2008].

Le type d'étude socio-anthropologique s'approchant le plus de celui mis en place dans ce projet est celui du dédoublement statutaire. Il a été mis en œuvre par Thierry Berche, médecin en santé publique, chef d'un projet de développement au Mali et anthropologue. Dans ce contexte, l'enjeu pour le sociologue ou l'anthropologue n'est pas de s'intégrer au milieu étudié mais de trouver des « procédures de mise à distance ». Par exemple, dans le cadre de l'ouvrage de T. Berche, il a fait le choix d'utiliser la troisième personne pour évoquer son rôle en tant que chef de projet [Berche, 1998].

3.2 Définir un terrain d'étude

L'ensemble des travaux, pour la collecte des données nécessaires aux analyses, a été mené en France, sur plusieurs terrains d'étude. Parler de terrain est déjà une vaste question lorsqu'on travaille en même temps en écologie et en sociologie. En effet, en écologie le terrain représente les zones géographiques au sein desquelles sont réalisés les observations et les relevés faunistiques et/ou floristiques. Le terrain sociologique est défini par le chercheur autour de son objet d'étude, il peut être délimité géographiquement mais pas forcément et il est constitué d'objets matériels et de personnes ainsi que de leurs interactions.

Dans le cadre de mon étude, terrains en écologie et en sociologie se recoupent parfois et s'entremêlent souvent. Ces terrains d'étude sont liés à la problématique de la thèse qui concerne l'arrivée et la propagation de *Xylella fastidiosa* en France, ainsi qu'aux financements multiples de cette recherche issus de la Collectivité Territoriale de Corse, de l'Union Européenne et de la Maison Hennessy.

En écologie, les relevés d'insectes vecteurs de *Xylella fastidiosa* ont donc principalement été menés au sein de trois régions de France métropolitaine : la Nouvelle-Aquitaine, PACA (Provence-Alpes-Côte d'Azur) et l'Occitanie. De plus, des insectes ont été prélevés en zone infectée par la bactérie, sur le territoire Corse, pour la mise au point des protocoles de biologie moléculaire et leur application.

Pour ce qui est du terrain sociologique, il s'est construit en cohérence avec les travaux d'écologie autour des acteurs impactés par l'arrivée de la bactérie, avec la rencontre de viticulteurs et viticultrices en Occitanie et en Nouvelle-Aquitaine mais aussi des gestionnaires, des interprofessions, etc. Ma participation au groupe de travail sur *Xylella fastidiosa* au sein de la Plateforme (ESV) constitue une part importante de mon terrain sociologique avec la rencontre de l'ensemble des acteurs qui composent ce GT (issus de l'Anses, INRAE, du MAA, des interprofessions, etc.) et l'observation de quelques réunions. Néanmoins, l'essentiel de mon terrain sociologique a été sous mes yeux et entre mes mains durant mes premières années de thèse, avec la production de connaissances scientifiques au CBGP, le prélèvement d'insectes sur le terrain et le développement de protocoles de biologie moléculaire auxquels j'ai activement contribué, au sein du collectif « *Xylella* » de l'UMR. Bien que ce terrain fut le premier « exploré », je ne l'ai exploité que tardivement, une fois en capacité de prendre du recul sur ce que je faisais et comment je le faisais. Ce travail de terrain sociologique au CBGP a ensuite été étendu plus succinctement à un autre laboratoire - l'IRHS (Institut de Recherche en Horticulture et Semences) qui étudie, non pas l'insecte vecteur mais, la bactérie elle-même - avec la conduite d'entretiens semi-directifs auprès de chercheures et ingénieures et la visite du laboratoire et des serres.

3.3 Comment veiller au maintien de l'objectivité méthodologique ?

Ces travaux imbriqués peuvent poser la question de leur objectivité et de la présence de biais. En effet, en écologie et en biologie moléculaire, des protocoles précis sont appliqués de façon scrupuleuse et codifiée, ce qui est une force pour établir des preuves. De plus, l'analyse des résultats prend en compte les éventuels biais associés à la collecte des insectes étudiés par différents scientifiques et à l'expérimentation en laboratoire. En revanche, en sociologie, j'étais à la fois partie prenante des recherches sur *Xylella fastidiosa* tout en les analysant avec la rencontre d'autres parties prenantes et la mise en place d'observation participante et d'entretiens semi-directifs.

Ce « double regard » n'est pas forcément source de biais au sens strict du terme car les activités de recherche ont été conduites suivant des méthodes et des protocoles, encadrés et surtout débattus, dans des configurations disjointes. Moins qu'un fardeau épistémologique, ce double regard a été une source de richesse pour les entretiens menés, avec une meilleure compréhension du milieu dans lequel évoluent les enquêtés par exemple. Ainsi, mon propre

regard et mes connaissances sur *Xylella fastidiosa* ont forcément façonné ces travaux mais ils n'en relèvent pas moins de méthodes précises, qui seront détaillées dans la thèse et qui permettront à chacune et chacun d'apprécier la construction des analyses sociologiques et de leurs limites. Ce double regard est la principale force de la transdisciplinarité, qui n'est pas opposée à des connaissances disciplinaires qu'elles soient en sciences exactes ou en sciences sociales (bien que les sciences exactes ne soient pas inhumaines et les sciences sociales pas inexactes), mais ces approches sont bien complémentaires [Nicolescu, 2011].

Au-delà de la possible question de l'objectivité des travaux qui peut entraîner des discussions épistémologiques pertinentes mais complexes, il est également nécessaire de bien décrire le ou les milieux scientifiques dans lesquels le sociologue s'investit. Pour cela, l'apprentissage du regard de la discipline des STS (Science and technology studies) m'a aidée. En effet, il n'est pas simple d'analyser le « milieu » auquel nous appartenons, et de prendre les interactions avec des collègues que nous côtoyons comme de possibles objets de connaissances.

Ce travail de recherche transdisciplinaire, qui inclut une position déclarée de « sociologie embarquée », a été pour moi un véritable défi, car j'étais à la fois partie prenante des discussions en tant que doctorante en écologie et je devais également pouvoir adopter une posture de doctorante en sociologie pour analyser les moments « vécus » [Horvat, 2013].

> "*On ne peut pas nier la contradiction pratique : chacun sait combien il est difficile d'être à la fois pris dans le jeu et de l'observer.*" [Bourdieu, 1978]

Par exemple, dans le cadre de l'étude de la production de connaissances sur l'insecte vecteur de la bactérie, j'ai à la fois conduit des expérimentations de biologie moléculaire auprès de l'équipe du CBGP et j'ai analysé ce processus de production de connaissance dans le cadre des travaux en sociologie. Cependant, mes apprentissages en écologie et ma participation aux projets du CBGP ont été une force pour la conduite des entretiens semi-directifs avec les différents acteurs rencontrés. Ces rencontres ont enrichi mes travaux en sociologie ainsi que ceux d'écologie en me permettant de prendre du recul sur mes recherches. Le travail d'écologie m'a aussi permis de rencontrer les viticulteurs sur le terrain et de lier un contact avec eux pour mener des entretiens sociologiques par la suite. A l'inverse, les viticulteurs contactés en Occitanie pour un entretien ont été recontactés par la suite pour leur proposer de participer aux expérimentations menées sur les insectes

avec une collecte réalisée sur leurs parcelles. Mes travaux en écologie ont donc nourri ceux de sociologie et inversement.

Ainsi, la méthode pour mener de front les analyses en écologie et en sociologie a été de mettre en œuvre une méthodologie de description agnostique des réseaux de production et de circulation des connaissances qui ne consistait donc pas à établir une distance évaluative vis à vis des régimes de preuve mais à comprendre les dispositifs de recherche de l'intérieur. Pour cela, il a été déterminant de « m'extraire » physiquement du CBGP et de privilégier les moments de télétravail et de déplacement à Paris au LISIS, notamment pour l'écriture de la production de connaissances menée au CBGP qui sera présentée ultérieurement. En effet, j'ai passé la majeure partie de mon temps au CBGP, avec des déplacements ponctuels au LISIS rythmés par la crise sanitaire de la covid-19 qui a également impliqué de nombreuses journées de télétravail. Mon intégration au groupe des doctorants au LISIS, notamment par le biais des ADDs (Atelier des Doctorants et post-Doctorantss) et des discussions informelles, a aussi été très formatrice et enrichissante dans ce processus de changement de regard vis-à-vis des travaux menés en écologie.

4 Mise en place de la problématique de recherche

Après avoir rendu visible les conditions dans lesquelles j'ai construit cette thèse, il est nécessaire maintenant de s'intéresser plus précisément à *Xylella fastidiosa* et ses insectes vecteurs ainsi qu'aux défis et enjeux que leur arrivée et/ou leur présence posent sur le territoire européen et français. C'est en effet le cœur scientifique sur lequel s'appuie mon travail de recherche.

4.1 La bactérie *Xylella fastidiosa* au sein de réseaux complexes

La bactérie *Xylella fastidiosa* [Wells et al., 1987], a été détectée officiellement pour la première fois sur le continent européen en Italie, en 2013 [Saponari et al., 2013]. C'est la sous-espèce *pauca*, qui a été mise en évidence dans un premier temps avec un dépérissement des oliviers - OQDS (Olive Quick Decline Syndrome) - très important dans la région des Pouilles. Aujourd'hui, les trois principales sous-espèces de la bactérie (*pauca*, *multiplex* et *fastidiosa*) ont été découvertes en Europe et elles sont à l'origine de mala-

dies du dépérissement qui touchent des plantes d'intérêt économique et/ou patrimonial comme la vigne, les agrumes, les amandiers ou encore les oliviers. Bien qu'elle n'ait été détectée officiellement qu'en 2013, selon de récentes avancées scientifiques, la bactérie, importée du continent américain, est probablement présente sur le territoire européen depuis plusieurs décennies [Soubeyrand et al., 2018]. De plus, les conditions climatiques d'une partie plus ou moins vaste du territoire de l'ouest européen sont favorables à la survie d'une ou plusieurs sous-espèces de *Xylella fastidiosa* [Godefroid et al., 2019]. Ces découvertes posent la question de la présence de la bactérie et de sa prévalence au sein des territoires infectés mais également des territoires considérés indemnes et favorables à son établissement.

Xylella fastidiosa est transmise de plante en plante par des insectes piqueurs suceurs polyphages [Redak et al., 2004] pouvant être présents en milieu semi-naturel et dans les parcelles cultivées. Lorsqu'ils s'alimentent en sève brute, ils peuvent acquérir la bactérie puis la transmettent aux plantes sur lesquelles ils se nourrissent ultérieurement [Chatterjee et al., 2008a]. En Europe, le principal insecte vecteur de la bactérie est *Philaenus spumarius*, le cercope des prés [Cornara et al., 2016, Saponari et al., 2014]. Ces pathosystèmes, comprenant un agent phytopathogène, un ou plusieurs insecte(s) vecteur(s) et une ou plusieurs espèce(s) de plante(s) hôte(s) (e.g. la flavescence dorée [Chuche, 2010]) sont difficiles à appréhender [Almeida et al., 2019]. En effet, tant dans un objectif de prophylaxie que de lutte, les mesures peuvent porter sur la gestion du milieu pour limiter les plantes hôtes réservoirs de l'agent pathogène et/ou la prolifération de l'insecte vecteur. Par exemple, dans le cadre de la lutte contre la flavescence dorée, l'insecte vecteur est directement ciblé pour limiter la propagation du pathogène avec la mise en œuvre de trois traitements insecticides obligatoires et des campagnes de prospection sont menées afin de détecter les ceps de vigne malades et de les détruire. Ainsi, ces pathosystèmes complexes renferment des enjeux en terme de connaissances en écologie mais ils impliquent également des enjeux sociaux liés à des mesures de surveillance et/ou de gestion avec la mise en place d'actions phytosanitaires.

4.2 L'importance de la production de connaissances en écologie pour des stratégies d'épidémio-surveillance et de lutte efficientes

Dans le cadre de la lutte contre la propagation de *Xylella fastidiosa*, la compréhension des interactions plantes hôtes – insectes vecteurs – bactérie représente un enjeu majeur pour le développement de mesures de prophylaxie et/ou de lutte efficace. Or, les études portent le plus souvent sur les interactions bactérie – plantes hôtes ou bactérie - insectes vecteurs mais rarement sur l'ensemble du réseau d'interactions [Almeida et al., 2019]. En effet, la compréhension des interactions plantes hôtes – *Xylella fastidiosa* – insectes vecteurs est complexe. La bactérie peut être abritée par des centaines d'espèces de plantes hôtes différentes [EFSA et al., 2022]. La présence de *Xylella* a des conséquences variables selon les espèces de plantes hôtes et le milieu considéré. La bactérie peut tuer les plantes à grande échelle ; c'est le cas des oliveraies des Pouilles en Italie. Elle peut provoquer des symptômes similaires à des dessèchements, ce qui les rend difficilement discernables de ceux dus à des facteurs abiotiques tels que la sécheresse, et complique donc l'épidémio-surveillance. Enfin, d'autres espèces de plantes hôtes sont asymptomatiques, ce qui rend encore plus difficile la détection de *Xylella fastidiosa*, notamment en milieu semi-naturel où la bactérie est indétectable à l'œil nu si les plantes ne présentent pas de symptômes marqués.

A grande échelle, il est important de noter que les insectes vecteurs de la bactérie, dont *Philaenus spumarius*, sont ubiquistes en Europe et largement polyphages [Yurtsever, 2000, Weaver and King, 1954]. Ainsi, ils rendent possible la transmission de la bactérie, depuis les milieux semi-naturels (avec des plantes asymptomatiques par exemple) vers les milieux cultivés, à travers l'Europe (sur de courtes distances via leur déplacement et sur des distances plus importantes s'ils sont transportés par l'homme dans le cadre d'échanges commerciaux ou touristiques).

La large gamme de plantes hôtes, les réservoirs asymptomatiques potentiels de *Xylella fastidiosa* mais également la polyphagie de l'insecte vecteur et sa présence sur une vaste partie du territoire européen rendent extrêmement difficile et complexe la mise en place de

méthodes de prophylaxie et de lutte mais aussi la constitution d'une épidémio-surveillance robuste de la bactérie en Europe.

4.3 L'émergence de la bactérie en France : de la question de la détection de la bactérie comme objet de recherche à sa surveillance et sa gestion

En France, *Xylella fastidiosa* ssp (subspecies) *multiplex* a été détectée en Corse en 2015 [Chauvel et al., 2015] et est aujourd'hui largement présente au sein des milieux semi-naturels de l'ensemble de l'île [Farigoule et al., 2022]. Cette même sous-espèce a également été détectée en région PACA en 2015 et plus récemment, en 2020, en Occitanie toujours en zone non cultivée [Cunty et al., 2022]. L'arrivée de la bactérie en France, et notamment sur le continent, pose de nombreuses questions, avec un enjeu fort pour de nombreuses filières de plantes cultivées telles que l'oléiculture, la viticulture ou encore la culture des amandiers.

En premier lieu, la question de la mise en évidence de *Xylella fastidiosa* à grande échelle se pose avec de nombreux obstacles à sa détection dans les plantes (plantes asymptomatiques, présence de la bactérie de façon hétérogène dans la plante, etc.) et il est possible de se demander comment et pourquoi appréhender la présence de la bactérie et sa dynamique grâce à ses insectes vecteurs ?

De plus, une fois la bactérie détectée, il est important de tenir compte de l'environnement dans lequel elle peut se propager. Pour cela, il est nécessaire de mener des études autour des différentes espèces d'insectes vecteurs de la bactérie, notamment pour connaître leur écologie et les plantes hôtes dont ils se nourrissent. Ces connaissances permettront de percevoir le risque sur les plantes cultivées (par exemple, est-ce que l'insecte vecteur de la bactérie se trouve ou non dans les parcelles cultivées ?) et ainsi de mettre en place des mesures de prophylaxie et de lutte efficientes vis-à-vis de l'espèce d'insecte considérée pour limiter la propagation de *Xylella fastidiosa*.

Ces enjeux relèvent de recherches en écologie. Néanmoins, nous pouvons nous questionner quant au devenir de ces recherches et à leur mobilisation par différents acteurs, dont les gestionnaires du risque notamment dans la stratégie d'épidémio-surveillance. En

effet, la production de connaissances concernant la mise en place de méthodes de lutte contre la propagation de la bactérie pose la question d'une préparation face à cette menace ou comment se prémunir de l'arrivée de cet organisme de quarantaine à lutte obligatoire en zone considérée indemne en France ?

4.4 Problématique de la thèse : construire un objet de « réseaux d'interactions en société »

Les questionnements et enjeux précédents reposent plus largement sur l'étude des réseaux d'interactions autour d'un agent phytopathogène, ici *Xylella fastidiosa* en France et sur la nécessité de les étudier pour prévenir et lutter contre cet organisme phytopathogène. La compréhension de ces réseaux d'interactions (au sens large) regroupe à la fois une compréhension des systèmes biologiques avec l'étude des interactions plantes hôtes – insectes vecteurs – bactérie et une compréhension des systèmes sociaux avec l'étude de la mobilisation des connaissances produites par la recherche dans d'autres cadres tels que la gestion de la maladie ou encore la surveillance de l'agent phytopathogène.

La réponse à cette problématique nécessite la mobilisation de différents domaines de recherche, néanmoins, les résultats issus des différentes disciplines seront articulés au sein de trois parties et non dissociés par champs disciplinaire. Cependant, l'emploi de la transdisciplinarité n'implique pas un affranchissement des méthodes et des codes des différentes disciplines mobilisées. Ainsi, méthodes et résultats seront successivement présentés dans des sections distinctes, selon les codes d'écriture propres à chacune des disciplines. C'est bien la démarche globale de modification de la focale d'analyse de la bactérie et de ses réseaux d'interactions qui constitue le travail transdisciplinaire et ce sont donc les différentes méthodes et résultats apportés par chacune des disciplines mobilisées qui permettront d'établir les résultats finalisés discutés à la fin de ce manuscrit.

5 Plan de thèse

Le manuscrit de thèse s'organise en trois parties rendant compte de la démarche de recherche mise en œuvre et détaillée dans la figure 2.

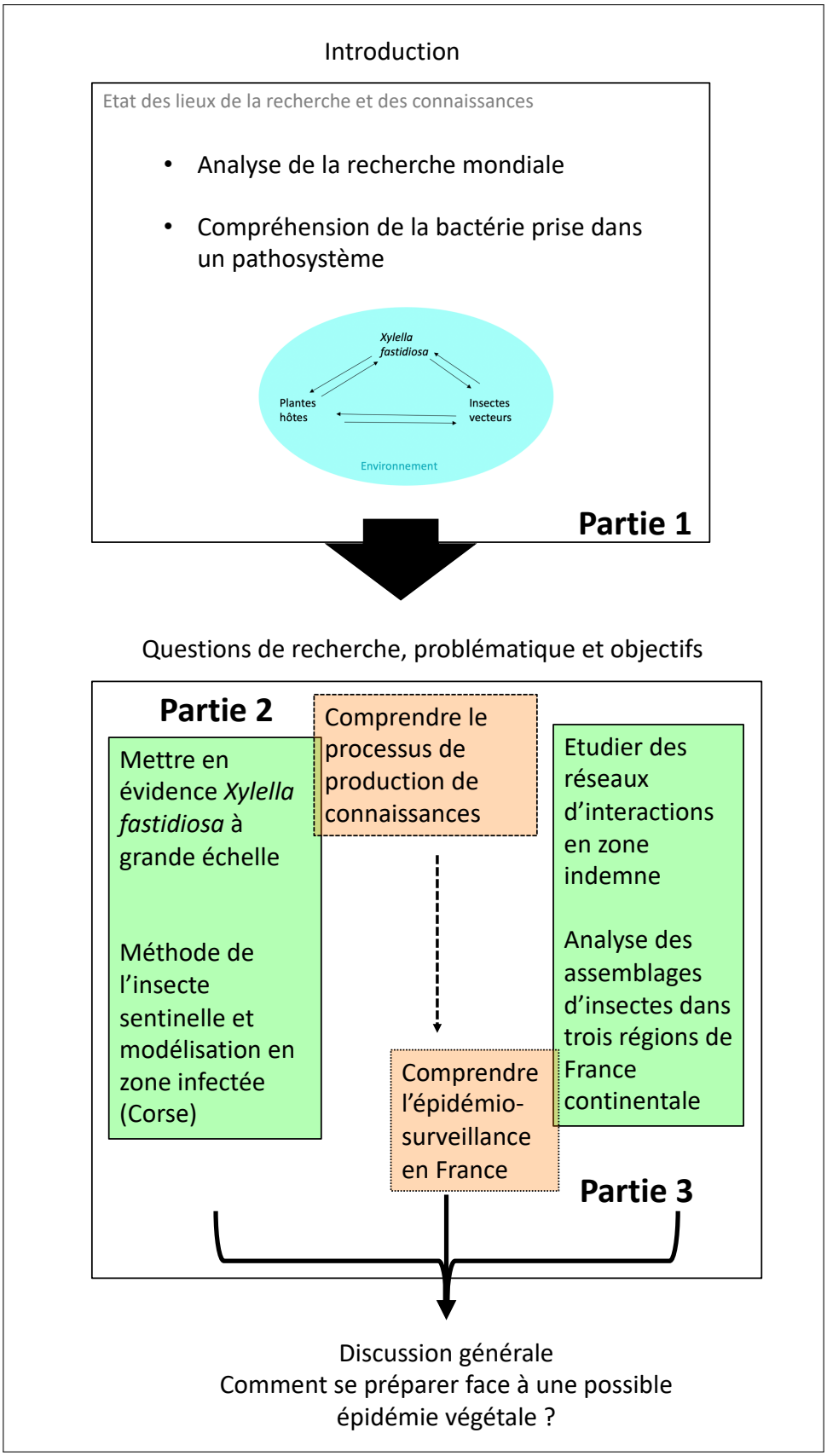


FIGURE 2: Organisation de la thèse, avec en vert les travaux menés en écologie et en orange les travaux menés en sociologie

La première partie fait état des connaissances concernant la bactérie *Xylella fastidiosa* avec en premier lieu, une étude de la recherche sur la bactérie et ses insectes vecteurs dans le monde, basée sur une analyse scientométrique. En effet, la bactérie est à l'origine de plusieurs maladies sur plantes cultivées aux États-Unis mais également en Amérique du sud ou encore en Europe et elle est donc largement étudiée, notamment sur ces deux continents. Suite à cette analyse, les connaissances acquises sur *Xylella fastidiosa* sont détaillées avec une synthèse bibliographique des études portant sur la bactérie, ses interactions avec les plantes et avec les insectes vecteurs et les principales maladies qu'elle provoque. Les connaissances en écologie des insectes vecteurs sont également exposées car les interactions plantes – insectes vecteurs ou le comportement alimentaire des différentes espèces vectrices impactent la propagation de la bactérie, notamment en milieux cultivés. Cette revue de la littérature viendra éclairer les résultats des caractérisations de réseaux d'interactions plantes - insectes conduite lors de cette thèse (partie III). Enfin, une synthèse des connaissances sur l'impact de facteurs abiotiques, tels que la température ou la disponibilité en eau pour les plantes, sur la survie et/ou la transmission de la bactérie est proposée. La compréhension de l'impact des facteurs abiotiques sur ce pathosystème est d'autant plus importante du fait du changement climatique actuel. Celui-ci pourrait en effet modifier les aires géographiques favorables à la survie de la bactérie et/ou à celle(s) d'une ou plusieurs espèces vectrices ou impacter l'épidémiologie de *Xylella fastidiosa* (question étudiée dans la partie II de cette thèse).

Après l'explicitation des objectifs et enjeux de la thèse, les parties II et III présentent les travaux de cette recherche doctorale menés en zone infectée (partie II) et en zone indemne (partie III).

La partie II présente le développement et la mise en œuvre d'une méthode de détection de la bactérie à large échelle, dans son principal insecte vecteur, en Corse afin de mieux comprendre l'impact du climat sur la prévalence de la bactérie dans les vecteurs. Cette partie sera l'occasion de revenir sur la production de connaissances scientifiques, avec l'étude de la mise au point et de l'application de cette méthode d'un point de vue des STS.

Après l'étude d'un territoire où la bactérie est largement présente, une troisième partie sera consacrée à trois régions de France métropolitaine, considérées pour tout ou partie indemnes (PACA, Occitanie et Nouvelle-Aquitaine). Les interactions plantes – insectes

vecteurs ont été caractérisées dans ces trois régions par des observations de terrain, des analyses statistiques et le développement d'une méthode de biologie moléculaire de capture d'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) des sèves ingérées par les insectes. Cette dernière partie permettra de comprendre les enjeux autour de l'arrivée de la bactérie sur un territoire indemne et comment se prémunir face à sa diffusion, notamment au sein de milieux cultivés.

Enfin, les résultats de ces recherches seront discutés de façon transversale, afin de les mettre au service du déploiement de la préparation (*preparedness*) face à l'introduction d'un organisme phytopathogène à l'origine d'une invasion biologique voire d'une potentielle épidémie.

Partie I

État des lieux sur les connaissances concernant *Xylella fastidiosa*

1 La recherche sur *Xylella fastidiosa* dans le monde

La première sous-section, introductive, s'attachera à retracer brièvement l'histoire de la description de la malade de Pierce sur vigne aux États-Unis, jusqu'à la mise en évidence de la bactérie *Xylella fastidiosa* qui provoque cette maladie [Purcell, 2013] afin d'établir un état des lieux des connaissances scientifiques et de leur évolution dans le temps et dans l'espace. Puis la dynamique de recherche autour de *Xylella fastidiosa* depuis sa description en 1987 [Wells et al., 1987] sera analysée dans une seconde sous-section. Cette analyse permettra de replacer les travaux de recherche dans un contexte à l'échelle mondiale, selon l'émergence de maladies végétales sur plusieurs espèces cultivées d'intérêt.

1.1 De la découverte de la maladie à la mise en évidence du pathogène responsable

La maladie de Pierce a été observée en Californie pour la première fois dans les années 1880 [Winkler, 1949]. Elle provoque le dépérissement de la vigne avec des symptômes similaires à des dessèchements des jeunes feuilles, voire la mort du cep [Pierce, 1892]. Des épidémies ont été observées jusqu'en 1940. La maladie n'a pas été éradiquée entre les phases épidémiques mais elle s'est maintenue et propagée dans l'environnement de façon « discrète et inobservable » apparaissant de façon sporadique dans les vignobles.

Dans les années 1940, les pertes de ceps de vigne dues à cette maladie se sont accrues en Californie et elle est donc devenue un objet de lutte prioritaire avec, en conséquence, un renforcement des recherches scientifiques.

Ces recherches ont progressé rapidement et de façon significative avec l'identification des insectes vecteurs de la maladie (dont des Cicadellidae - *Homalodisca vitripennis* et *Graphocephala atropunctata* - et des Aphrophoridae - *Philaenus spumarius* -). Outre leur identification, l'acquisition de connaissances sur leur écologie s'est également développée [Severin, 1950]. De plus, les scientifiques montrent que l'agent causant la maladie est restreint aux vaisseaux du xylème des plantes. Cette découverte majeure a été à l'origine des premières études des mécanismes de transmission de la bactérie [Houston et al., 1947]. Néanmoins, d'après les observations des chercheurs et de leur cohérence avec le concept des virus des plantes développé dans les années 1930, l'agent causal de la maladie de Pierce, sans avoir été identifié, était considéré comme viral. Il faut attendre les années 1970, et des expérimentations avec des antibiotiques [Hopkins et al., 1971] pour voir apparaître un changement de paradigme. C'est avec la culture de la bactérie puis sa première description [Wells et al., 1987] que le paradigme viral est complètement abandonné. A partir de cette période, les principaux agents et facteurs du système biologique étaient donc connus pour cette maladie sur vigne provoquée par la bactérie *Xylella fastidiosa* qui se développe dans les vaisseaux du xylème de la plante et induit son dépérissement et qui peut être transmise par des insectes vecteurs piqueurs suceurs de sève brute plus ou moins inféodés à la plante hôte.

La publication du Professeur émérite Alexander Purcell - UC (University of California) Berkeley - [Purcell, 2013] pose la question de l'influence des paradigmes en science, en se basant sur le cas de *Xylella fastidiosa,* et notamment le rôle qu'a pu jouer le paradigme viral, à l'instar de ce qui a pu être également décrit pour les encéphalopathies spongiformes transmissibles [Granjou and Barbier, 2010]. Aussi nous allons, dans la suite de cette partie, appréhender l'évolution de la production de connaissances sur cette bactérie et ses effets, depuis la mise en évidence de *Xylella fastidiosa* en 1987 jusqu'à aujourd'hui. Pour cela, une revue commentée de la littérature et des outils de scientométrie seront mobilisés afin de caractériser la structure et la dynamique des recherches autour de la bactérie.

1.2 De l'expansion du nombre de publications à l'étude de la production scientifique : la mobilisation de la scientométrie

Considérer l'évolution de la production des connaissances scientifiques à partir d'une approche scientométrique fondée sur l'analyse de mots associés [Courtial et al., 1993] peut permettre de mieux comprendre la dynamique de recherche actuelle pour l'aborder dans un contexte d'action publique de protection des végétaux. Ainsi, cette approche permettra de préparer la réflexion menée dans ce travail sur les relations entre production de connaissances et expertise pour l'action publique et qui sont l'objet de tensions, de luttes et de controverses, nécessitant un point de vue adapté à leur compréhension de type pragmatique [Barbier et al., 2013].

Les premiers articles scientifiques ont été publiés et regroupés dans des livres, au XVII^{e} siècle surtout à Paris puis à Londres. Ces publications, en lien avec les sociétés royales et les sociétés savantes, avaient pour objectif de partager les grandes découvertes scientifiques mondiales. Au XIX^{e} siècle, environ 8 500 articles étaient publiés chaque année, toutes disciplines confondues. Ceci rendait encore possible pour chaque scientifique de lire l'ensemble des publications dans son domaine d'intérêt, s'il en maîtrisait la langue utilisée [Egret, 2021]. Mais avant même l'arrivée du numérique, le nombre de publications scientifiques s'est envolé au XX^{e} siècle avec une croissance exponentielle comme le montre la figure 3 page suivante.

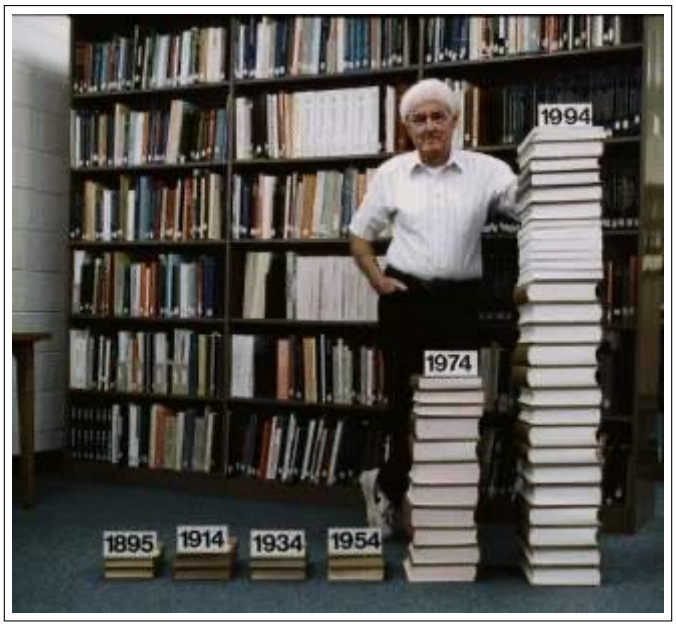


FIGURE 3: Helmut Abt, astrophysicien, devant la croissance exponentielle du nombre de publications dans l'*Astrophysical Journal* de 1895 à 1994 (photo issue de [Egret, 2021])

Cette croissance fulgurante des publications scientifiques a conduit au développement d'outils pour les indexer avec le « Science Citation Index », devenu un outil fondamental pour les librairies et bibliothèques universitaires [Garfield, 1964]. Cet index est l'ancêtre du WoS (Web of Science) [Birkle et al., 2020], devenu disponible en ligne à partir de 1997.

C'est dans les années 1960 que le concept de scientométrie apparaît avec les travaux de Derek John de Solla Price [Price, 1965] qui analyse la structure et la dynamique d'un domaine de recherche grâce à l'étude des publications scientifiques et de leurs citations en mobilisant le « Science Citation Index » qui répertorie pour chaque publication la liste des références scientifiques. En 1978, le premier journal dédié à la scientométrie est créé : *Scientometrics*.

L'évaluation de la recherche est aujourd'hui largement basée sur la mobilisation de ces index, même si elle est de plus en plus critiquée, notamment au bénéfice du H-index [Hirsch, 2005]. Ce type d'index fondé sur la mesure normalisée des citations permet, outre de quantifier le nombre de publications d'un auteur, d'une autrice, d'une revue ou d'un domaine, d'utiliser la référence scientifique pour établir des facteurs d'impact ou de déployer

des études statistiques de citations. Le développement de la mesure de la production scientifique pour l'évaluation provient donc de travaux de sociologie des sciences, initialement établis pour l'étude des normes scientifiques et des phénomènes de déviance et de rétribution de notoriété [Dubois, 1999]. Parallèlement, avec la généralisation de l'évaluation, des normes professionnelles se sont développées au sein de la recherche, comme le concept de « publish or perish » qui en traduit la dureté [van Dalen and Henkens, 2012]. Le champ de la scientométrie reste très actif pour appréhender de façon critique les biais et les effets de cette quantification, aujourd'hui rattrapée par l'arrivée de métriques alternatives (« almetrics ») [Bornmann, 2014] qui font face aux mesures d'évaluation traditionnelles telles que le H-index [Hirsch, 2005]. Les controverses sont aussi nombreuses sur l'utilisation entrepreneuriale des pratiques de publications scientifiques, et sur le développement d'un business porté par des revues dites prédatrices [Saint-Martin, 2018, Vakil, 2019].

Ce fonctionnement et cette « économie de la publication » ont des répercussions sur la production scientifique elle-même, avec notamment le fait de scinder la publication de résultats dans plusieurs papiers scientifiques - ce qui augmente le nombre de publications pour chaque projet scientifique - [Neill, 2008]. Aussi, d'autres limites sont à prendre en compte dans les analyses bibliométriques des co-citations avec des biais de citations, tels que la citation plus fréquente d'auteurs très cités ou reconnus comme les prix Nobel par exemple [Wouters, 2006], qui conduit à l'effet Matthieu (plus un auteur est cité, plus les chances qu'il le soit augmentent). Enfin, les études bibliométriques de co-citations sont fondées sur la quantité de publications/citations, pas sur les contenus et encore moins sur la qualité des preuves ou des propositions scientifiques [Wouters, 2006].

Pour remédier en partie à ces biais, le travail d'analyse de la production scientifique du domaine formé par les articles concernant *Xylella fastidiosa* est réalisé à partir des méthodes tirées de l'analyse des mots associés développée en France dans les années 1990 pour l'étude des domaines de recherche et de leur transformation [Courtial and Kerneur, 1997, Sigogneau, 1995]. La base de données qui a été constituée rassemble les métadonnées standards des articles scientifiques, incluant les citations, le résumé et les mots-clés, ce qui permet d'aborder le contenu des publications à partir de l'extraction terminologique des groupes de mots fréquents à l'échelle des phrases. Évidemment, chaque article n'est pas lu individuellement mais les groupes de mots les plus

fréquemment retrouvés dans ces articles sont utilisés dans l'analyse afin d'approcher une description de leur contenu à travers l'identification de clusters de termes « interprétables ».

La base de donnée à été établie à partir du WoS, largement disponible dans les institutions de recherche. Le WoS regroupe aujourd'hui près de 21 000 journaux majoritairement internationaux, avec plus de 75 millions de publications scientifiques datant de 1900 à aujourd'hui [Birkle et al., 2020], avec des métadonnées et toutes rédigées en langue anglaise. L'absence de très nombreuses revues scientifiques dans cette base de données représente un biais pour toute analyse bibliométrique. En effet, elle incarne l'excellence des revues scientifiques internationales, minorant donc les revues nationales et surtout celles non publiées en anglais. Dans le domaine des sciences sociales, par exemple, de nombreuses publications sont regroupées dans des journaux nationaux et des ouvrages qui ne sont pas répertoriés et indexés dans le WoS [Maddi, 2018].

Dans le cadre de ce travail, cela représente probablement un biais puisque le corpus de texte analysé décrit dans les paragraphes suivants ne regroupe pas (ou très peu) de publications de sciences sociales et seulement des articles de sciences exactes, biologie au sens large. Néanmoins, ceci permet de contrer un autre biais, qui est lié au fait que les scientifiques peuvent citer un article pour des raisons très différentes et surtout lorsque qu'ils sont issus de disciplines différentes. Par exemple les mathématiciens citent très peu d'articles alors que les chercheurs en biomédecine peuvent renvoyer à plusieurs centaines de références [Wouters, 2006]. Ainsi, les analyses de co-citations sont appuyées par l'hypothèse que les scientifiques, tous issus des sciences exactes de disciplines de la biologie, citent de façon similaire les publications de leurs pairs.

Dans le travail présenté, le WoS a été utilisé pour extraire un corpus de notices bibliographiques qui est étudié à l'aide d'un outil développé pour réaliser des analyses scientométriques dans le registre de l'analyse des mots-associés : la plateforme Cor-

TexT [1]. Cette plateforme regroupe des outils spécifiquement développés pour la réalisation d'études de corpus textuels et donc de corpus calibrés extraits des bases de données accessibles (WoS, Scopus, PubMed, ISTEX) pour permettre leur étude [Barbier and Cointet, 2012, Cointet, 2009, Tancoigne et al., 2014]. Les méthodes et outils réunis dans CorTexT sont issus de la scientométrie, et de l'application des sciences informatiques et de l'intelligence artificielle pour proposer des « scripts » d'analyse paramétrables visant à appuyer les recherches en sciences sociales dont la complexité augmente avec la profusion de nouvelles données.

1.3 « Dynamique et composition » de la recherche depuis 1987

1.3.1 Approche de la connaissance scientifique produite par l'analyse des publications sur la bactérie *Xylella fastidiosa* depuis 1987

L'analyse scientométrique concernant *Xylella fastidiosa* présentée ci-dessous permettra d'avoir une vision d'ensemble de la production de connaissances et de déterminer quels sont les pays ayant des laboratoires dont les scientifiques sont impliqués dans la recherche sur la bactérie. Quelles sont les « spécialités scientifiques » et disciplines concernées par les études autour de cette dernière ? Existe-t-il des spécificités de recherche selon les laboratoires des différents pays auxquels sont affiliés les chercheurs ? Quelle est la collaboration mondiale autour de ce sujet ? Qu'en est-il de la mobilisation des connaissances scientifiques produites ? Une partie des travaux de cette section ont été présentés en conférence internationale [Barbier et al., 2021].

1. La plateforme CorTexT (`www.CorTexT.net`) a été créée en 2009 par Marc Barbier, Jean-Philippe Cointet et Philippe Breucker, dans le cadre de l'UR (Unité de Recherche) SenS (Sciences en Société) INRAE. Elle a été soutenue par l'IFRIS (Institut Francilien Recherche Innovation et Société) et le Labex SITES (Sciences Innovation et Techniques en Sociétés) depuis sa création et elle est devenue une plateforme de l'UMR LISIS en 2014. CorTexT est accessible en ligne et propose une interface pour l'utilisation d'outils d'analyse de corpus dans l'application CorTexT-managerV2 (`https://www.CorTexT.net/projects/CorTexT-manager/`). L'usage de l'application CorTexT-managerV2 a donné lieu à de nombreuses publications avec un nombre important de publications concerne les sciences agronomiques et les sciences de la vie (voir la bibliothèque en ligne des productions sur le site `https://www.CorTexT.net/publications/`).

Afin de répondre à ces questions, l'analyse est basée sur un corpus d'articles scientifiques, extraits du WoS, qui ont été publiés entre 1987 et aujourd'hui. L'ensemble des publications comportant le terme « *Xylella fastidiosa* » dans le titre et/ou le résumé et/ou les mots clés est sélectionné, avec une stratégie simple : maximiser la couverture des publications à retenir sans introduire de biais de sélection dans la requête. Ceci implique d'accepter un « bruit de fond » correspondant aux auteurs et autrices qui citent la bactérie dans leur résumé par exemple mais dont les recherches publiées dans l'article portent un intérêt à un autre organisme. Néanmoins, ce bruit de fond est traité, lors de l'analyse, par des méthodes robustes et validées de partitionnement. Pour toutes ces publications, l'ensemble des informations contenues dans les métadonnées est parsé (analyse syntaxique) et consigné dans une base de données calibrée, contenant donc pour chaque publication : le titre, les auteurs et leur affiliation (ville, pays, laboratoire), la date de publication, l'éditeur, le résumé, les mots clés et les références citées au format WoS (premier auteur, journal, date de publication). C'est cette base de données qui est analysée à l'aide de CorTexTmanagerV2. Ce corpus de notices autour de *Xylella* comporte 1 973 publications, ce qui représente un corpus de petite taille en comparaison à des analyses de sujets plus généraux qui peuvent en compter plus de 10 000 articles [Bordignon, 2021, Tancoigne et al., 2014].

L'analyse de ce corpus suit une démarche de caractérisation pas à pas de la recherche sur *Xylella fastidiosa* dans le monde de façon générale et sur quelle(s) thématique(s) porte cette recherche afin de comprendre s'il y a des sujets particuliers qui sont plus ou moins traités par certains pays (bactériologie, entomologie, etc.). Les analyses réalisées sont exposées sous forme de figures issues des analyses scientométriques qui seront également présentées. Par la suite, une description plus fine sera réalisée en portant un intérêt particulier aux autrices et auteurs qui publient le plus sur la bactérie afin de comprendre les collaborations qui existent et si elles concernent un/des domaine(s) particulier(s) ou si elles sont réalisées au sein de plusieurs domaines d'étude.

1.3.2 L'évolution de la recherche sur *Xylella fastidiosa* dans le monde

Les publications de résultats scientifiques concernant *Xylella fastidiosa* n'ont cessé de croître depuis 1987 [Wells et al., 1987], avec un nombre de chercheurs travaillant sur la bactérie en augmentation au fil des années. Cette forte progression des recherches s'explique par plusieurs facteurs combinés : la progression de l'aire de distribution géographique de la bactérie mais également l'évolution des méthodes d'analyse, avec l'essor de la biologie moléculaire. Pour débuter cette analyse, plusieurs périodes ont été établies sur la base de la volumétrie des publications en lien avec les connaissances produites majeures et reconnues par la communauté scientifique. Trois périodes distinctes se succèdent (figure 4 et annexe A.1 page A1).

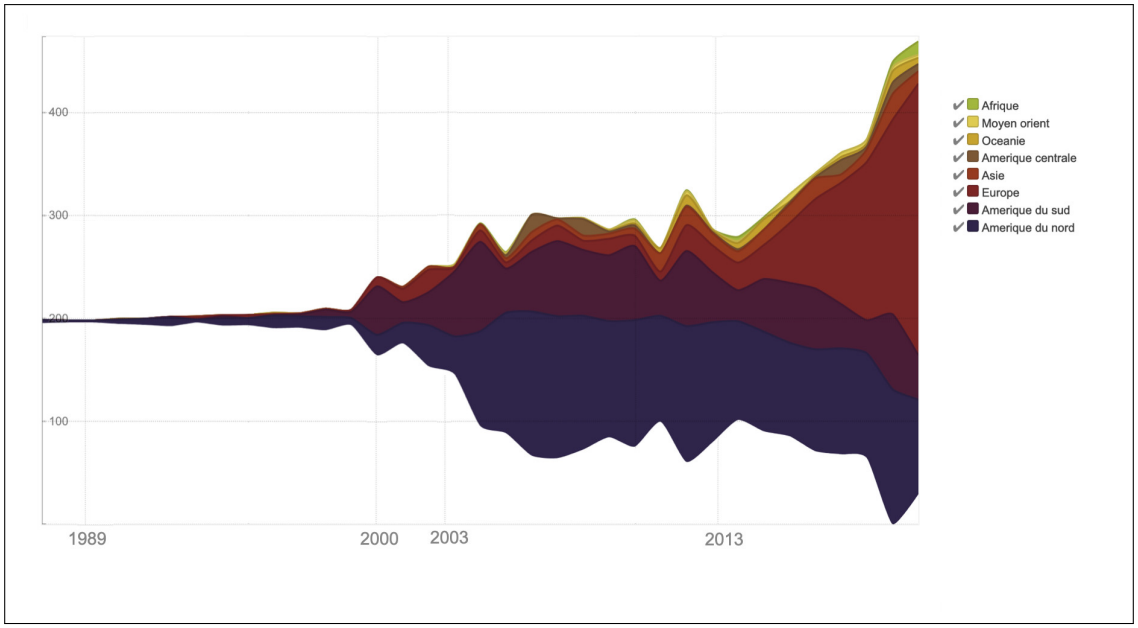


FIGURE 4: Évolution entre 1987 et 2021 du nombre de publications selon l'affiliation des autrices et auteurs ayant publié sur *Xylella fastidiosa* regroupées par continents (voir annexe A.2 page A2). Seules les années complètes ont été prises en compte, ainsi le début de l'année 2022 n'a pas été inclus pour la construction de cette figure. Figure construite avec l'outil Demography de CorTexT.

1. La première période, qui regroupe une dizaine d'auteurs par an publiant des résultats de recherche, correspond à la découverte de la bactérie et du pathosystème associé dans les années 1990. Ces recherches sont majoritairement mises en œuvre aux États-Unis, bien que la bactérie ait également été mise en évidence en Amérique du Sud, sur agrumes [Rossetti et al., 1990].

2. Une seconde période de 2000 à 2014 est marquée par l'essor de la biologie moléculaire et l'amélioration des méthodes en terme d'équipements, de coûts et de rapidité [Milanovic, 2011].

   Concernant *Xylella fastidiosa*, la sous-période de 2000 – 2003 est marquée par le séquençage complet du génome de la bactérie [Simpson et al., 2000] ce qui représente une avancée scientifique majeure puisque c'est le premier organisme phytopathogène dont le génome complet a été séquencé. Ce travail est le fruit d'une collaboration internationale mais il a été mis en œuvre sur la sous-espèce *pauca*, présente sur agrumes au Brésil. Ainsi, de nombreux chercheurs affiliés à des laboratoires sud-américains ont produit des résultats scientifiques concernant la bactérie sur cette période. Le génome de la sous-espèce présente sur vigne aux États-Unis (souche Temecula) est séquencé quelques années après [Van Sluys et al., 2003].

   De 2004 à 2014, un changement d'épidémiologie de la maladie de Pierce aux États-Unis avec l'introduction d'un « super insecte vecteur » dans les vignes californiennes entraîne une forte recrudescence de la maladie et donc stimule les recherches au sein des laboratoires nord-américains [Almeida and Purcell, 2003b]. Il faut également noter l'importance des recherches sur agrumes au Brésil, avec un déploiement très important des capacités d'analyse biomoléculaire dans de nombreuses universités lors de cette période [Coletta-Filho et al., 2020].

3. La dernière période (2015 – aujourd'hui) est marquée par la mise en évidence de *Xylella fastidiosa* sur le territoire européen et notamment en Italie avec la destruction des oliveraies des Pouilles [Saponari et al., 2019, Saponari et al., 2013]. En 2021, plus de 400 autrices et auteurs ont publié sur le sujet partout dans le monde.

1.3.3 Les domaines de recherche mobilisés dans le cadre de l'étude de *Xylella fastidiosa*

Étudier *Xylella fastidiosa* implique la mobilisation de plusieurs disciplines, dont la bactériologie (étude de *Xylella*, de ses plantes hôtes et de la sensibilité des plantes cultivées), mais également l'entomologie (étude des insectes vecteurs).

Pour comprendre la mobilisation de ces disciplines et appréhender les différents sujets/domaines de recherche, une analyse des « multi-termes » (groupes nominaux de 2 ou 3 mots) présents dans le titre et le résumé des publications du corpus est mise en œuvre

avec un script d'extraction terminologique (term_extractor dans CorTexT). Les 458 termes les plus représentés (annexe A.3 page A5) sont mobilisés dans un script d'indexation au niveau de la phrase pour réaliser une analyse de co-occurrence (qui « pénalise » les termes les plus fréquents et reliés pour favoriser la découverte d'associations plus locales). La construction des clusters est optimisée par une partition basée sur l'algorithme de Louvain [Aynaud, 2020, Blondel et al., 2008] et les résultats sont présentés sous forme d'une carte du réseau des multi-termes ouverte à l'interprétation (annexe A.4 page A28). Dans le cas de cette étude, la carte produite permet de mettre en évidence plusieurs clusters de termes correspondant à des termes reliés à des études de bactériologie ou d'entomologie ou à une maladie d'une plante cultivée particulière (dont la maladie de Pierce, la chlorose panachée des agrumes et le dépérissement rapide des oliviers).

Les clusters concernant la bactériologie et l'étude des maladies liées à la présence de *Xylella fastidiosa* (trois clusters) sont les plus importants en taille (ce qui indique qu'ils regroupent le nombre le plus important de publications) et ils sont liés par de nombreux termes qu'ils partagent donc. Le cluster principal regroupe les termes mécanistes liés à l'étude de la bactérie et aux mécanismes moléculaires impliqués dans la colonisation des plantes, sa régulation, etc. Ces études sont principalement menées sur vigne (présence du terme « *Vitis vinifera* ») et donc liées à la maladie de Pierce aux États-Unis. Un cluster concernant la CVC (Citrus Variegated Chlorosis) et un second concernant les maladies sur *Prunus* et caféiers, sont proches du cluster le plus important, ce qui montre une dominance des recherches sur vigne néanmoins liées aux recherches sur d'autres plantes cultivées.

Deux clusters de taille plus modeste comportent des termes liés à l'étude des insectes vecteurs de la bactérie. Un cluster regroupe les termes liés aux insectes vecteurs américains et un second regroupe les termes liés aux comportements des insectes, avec l'étude de leur comportement alimentaire notamment. Ces deux clusters sont proches et très liés.

Enfin, un dernier cluster regroupe des termes en lien à la fois avec des expérimentations sur la bactérie et sur ses insectes vecteurs. Ce cluster regroupe probablement l'ensemble des recherches récentes mises en œuvre en Europe suite au développement de l'OQDS en Italie. La différence de temporalité liée à la détection de la bactérie, - un siècle d'écart

entre le continent américain et l'Europe – et le fait que la bactérie soit présente sur des cultures différentes, expliquent probablement que les clusters associés à ces zones géographiques soient distincts. Néanmoins, tous les clusters sont liés entre eux ce qui montre que les recherches ne sont pas strictement cloisonnées ni par discipline (bactériologie et entomologie), ni par zone géographique (Amérique et Europe).

Pour approfondir l'étude des particularités de ces clusters selon des variables qui ne sont pas prises en compte dans la figure précédente, l'analyse suivante repose sur l'établissement d'une matrice de contingence entre ces clusters de termes et les pays d'affiliation des auteurs. Elle permet de mettre en évidence des thèmes privilégiés par des chercheurs selon les pays des laboratoires auxquels ils sont affiliés. C'est une indication possible de la spécialisation géographique au croisement des maladies détectées et des capacités de recherche.

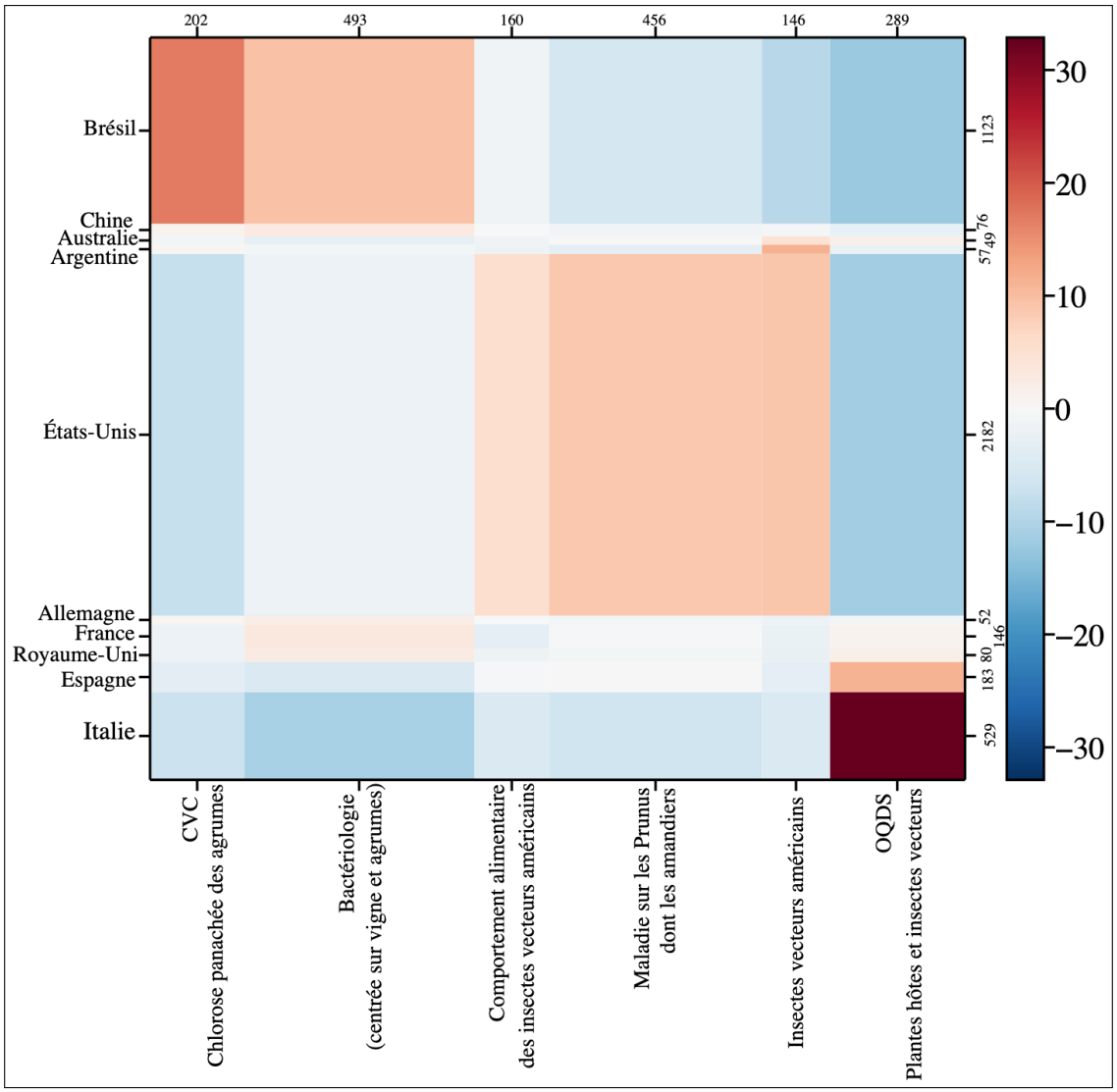


FIGURE 5: Matrice de contingence avec les 6 principaux clusters de termes (figure en annexe A.4 page A28) et sur les 10 pays qui comportent le plus grand nombre de chercheurs affiliés dans ces pays et publiant sur le sujet de *Xylella fastidiosa*. La colorisation reflète l'intensité du Chi2 (positif en rouge, négatif en bleu) qui mesure le degré de spécificité de l'affiliation par cluster. Le nombre des notices contenant l'affiliation est en ligne, respectivement pour les clusters en colonne

La figure 5 présente les résultats du « croisement » entre thèmes de recherche et pays des affiliations des chercheurs. La construction de la matrice de contingence est basée sur les 6 principaux clusters de termes mis en évidence précédemment (annexe A.4 page A28) et sur les 10 pays qui comportent le plus grand nombre de chercheurs affiliés à leurs laboratoires et publiant sur le sujet de *Xylella fastidiosa* (soit 89% des chercheurs mondiaux - annexe A.2 page A2). La matrice de contingence (figure 5) fait état d'un investissement majeur des

chercheurs travaillant dans les laboratoires des États-Unis et du Brésil. Les recherches des scientifiques affiliés aux laboratoires américains portent principalement sur les insectes vecteurs américains et leur comportement alimentaire mais également sur les maladies touchant les *Prunus* (cases orangées au milieu de la figure 5 page précédente).

Ces résultats confirment les précédentes observations, avec un effort de recherche important concernant les insectes vecteurs et leur comportement lié à l'introduction d'*Homalodisca vitripennis*, « super insecte vecteur » en Californie à la fin du XX^{e} siècle. L'objectif de ces recherches est notamment de limiter son introduction dans des aires géographiques indemnes [Lowe, 2022]. En revanche, les recherches des scientifiques affiliés aux laboratoires brésiliens portent plus spécifiquement sur la bactérie avec l'étude de la formation des biofilms (bactériologie) et de la CVC (cases rouges en haut à gauche de la figure 5 page précédente). Ces recherches s'expliquent probablement par le fait que le Brésil est le premier producteur d'oranges au monde [Bové and Ayres, 2007] et qu'il doit sécuriser cette production malgré l'introduction de la bactérie sur son territoire.

Concernant l'Union Européenne, la figure 5 page précédente montre un très fort investissement des chercheurs affiliés à des laboratoires italiens et espagnols dans la recherche sur l'OQDS (case rouge foncée en bas à droite de la figure 5 page précédente). Ceci s'explique par le fait que l'OQDS touche principalement l'Italie depuis 2013 [Saponari et al., 2013] et que l'Espagne abrite une forte production oléicole. Les oliviers italiens représentaient une source de revenus économiques directs pour les populations mais également un patrimoine remarquable. Trois autres pays européens sont présents dans cette matrice : la France, l'Allemagne et le Royaume-Uni mais avec une importance moindre par rapport à l'Italie et à l'Espagne et surtout sans thème de recherche majoritaire. En France, le thème majoritaire semblerait être préférentiellement la bactériologie et non la recherche sur l'OQDS.

1.3.4 Étude des collaborations : de l'affiliation des auteurs aux auteurs eux-mêmes

Pour comprendre les associations entre les auteurs et les thématiques, un graphique hétérogène (avec l'utilisation d'un couple de variables) est construit sous la forme d'une carte de réseaux entre les auteurs du corpus et la liste des 458 mots les plus utilisés dans les résumés et titres des publications du corpus de texte. La construction de cette carte mobilise la mesure du Chi2, mesure de similarité permettant de tenir compte de l'hétérogénéité des nœuds mis en relation (les auteurs et les termes ont des distributions spécifiques) [2]. Cette carte permet de mettre en évidence les champs thématiques spécifiques à un groupe de chercheurs et les relations entre différentes thématiques autour de *Xylella fastidiosa*. C'est une carte riche avec trois niveaux d'information (taille des nœuds, relations entre les nœuds hétérogènes et clusterisation) et pour cela difficile à lire.

2. voir `https://docs.cortext.net/`

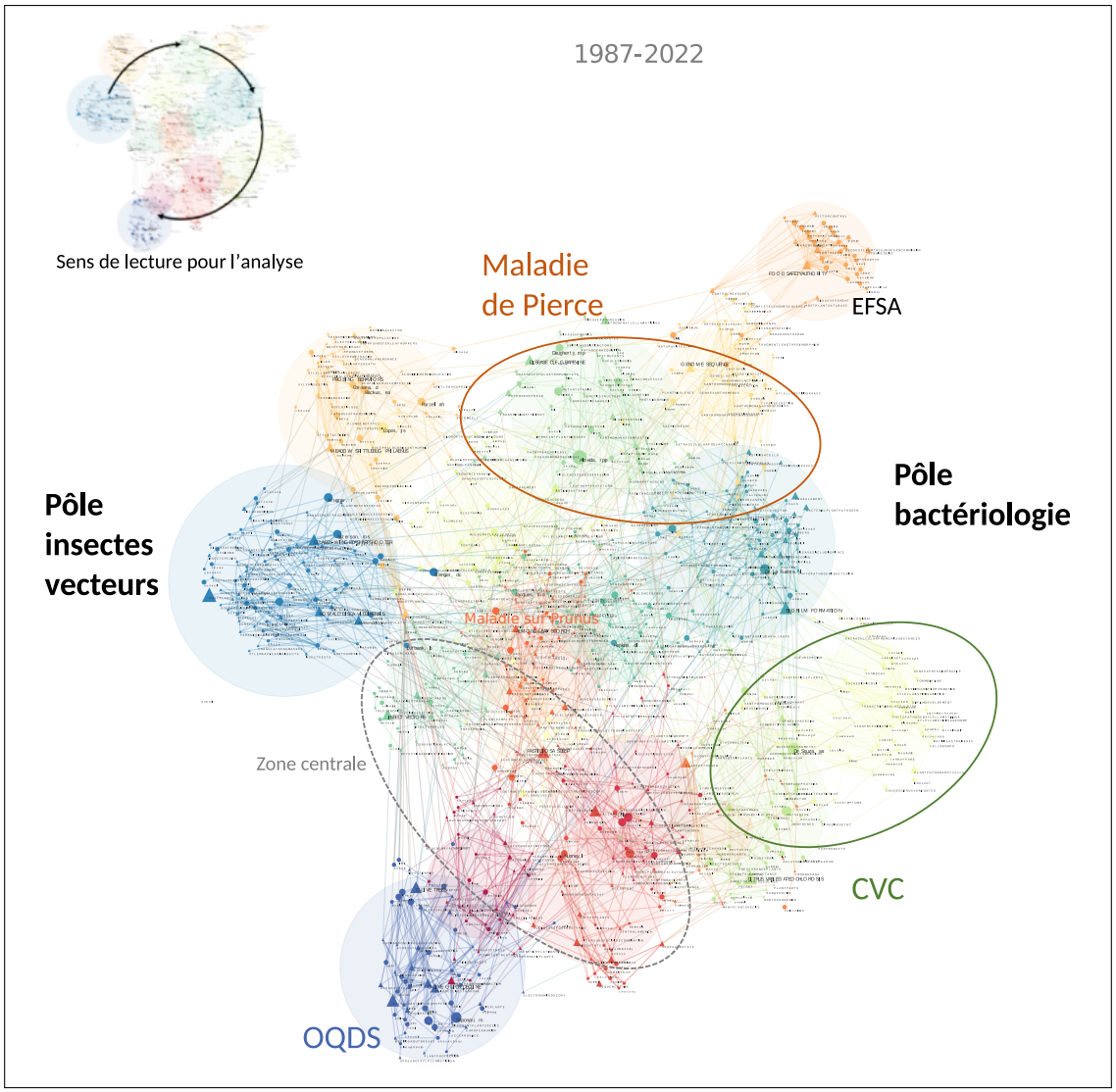


FIGURE 6: Carte des réseaux des auteurs et des 458 termes les plus utilisés dans les résumés et titres des publications du corpus de texte. Pour la construire, l'outil Network Mapping de CorTexT est utilisé avec la liste des auteurs et la liste des 458 termes (paramètres : mesure du Chi2 et résolution de Louvain [Aynaud, 2020, Blondel et al., 2008])

En premier lieu, la figure 6 fait état de fortes relations entre les différentes thématiques associées à la bactérie *Xylella fastidiosa* avec la majorité des clusters qui sont proches et reliés à leurs voisins de façon multiple. Néanmoins, le cluster en orange en haut à droite semble se détacher. Il correspond aux auteurs participant à la rédaction des publications de l'EFSA (European Food Safety Authority). En effet, les documents publiés par cette agence, dans l'*EFSA Journal*, sont le plus souvent écrits par les collaborateurs de cette instance d'expertise qui s'appuient sur les publications scientifiques et parfois sur un « panel » de chercheurs travaillant sur le sujet. Ainsi, les scientifiques et experts du sujet

considéré sont occultés dans le cadre de cette analyse basée sur les auteurs des publications. Ce positionnement du cluster ne reflète donc pas une absence de lien entre l'EFSA et la production scientifique mais un mode de fonctionnement particulier de l'agence dont les collaborateurs produisent des documents concernant plusieurs problématiques avec l'appui d'experts et de résultats scientifiques publiés.

La carte de réseaux est polarisée selon l'axe horizontal avec, à gauche, des mots-clés qui recouvrent le champ de l'entomologie (Glassy wind sharpshooter, probing behavior, *Philaenus spumarius*) et à droite, les mots-clés recouvrent le champ de la bactériologie avec la compréhension des mécanismes mis en place par *Xylella fastidiosa* lors de son développement dans la plante par exemple (biofilm formation, genome sequence). A droite, les termes relatifs à la bactériologie sont dispersés dans différents clusters composés aussi de termes évoquant les différentes grandes maladies provoquées par la bactérie. Ainsi, ces deux pôles mettent en évidence une spécialisation des chercheurs dans leurs publications soit en entomologie soit en bactériologie. Néanmoins, ces deux pôles sont « connectés » et il n'y a donc pas de rupture entre ces recherches mais plutôt une sorte de continuum. Ce continuum met également en évidence des recherches interdisciplinaires avec des nœuds à la frontière entre plusieurs clusters.

Nous allons examiner plus en détails la figure en analysant les clusters en partant de la gauche et dans le sens horaire (figure 6 page précédente). Il est important de prendre en compte la méthode de construction de la figure 6 page ci-contre dans cette analyse. Cette carte inclue l'ensemble des co-signataires des publications scientifiques et dans le cadre de cette analyse le terme de chercheur est donc « synonyme de co-auteur » de production scientifique mais ne relève pas d'un statut au sein du laboratoire. En effet, les co-auteurs des publications peuvent être professeurs, chercheurs, ingénieurs, doctorants ou techniciens. De plus, bien que cette carte soit construite avec la liste complète des auteurs du corpus (quelque soit leur place dans la liste des co-auteurs), les principaux auteurs, publiant beaucoup de travaux concernant *Xylella fastidiosa*, sont mis en exergue (taille des nœuds plus importante). Cette carte permet ainsi de comprendre si ces auteurs publient beaucoup au sein d'un domaine de recherche (selon les termes associés et les clusters dessinés) ou si ils sont à la frontière entre plusieurs domaines de recherche. Il est

important de souligner ici que la suite de cette analyse, par soucis de clarté, sera basée sur les nœuds les plus importants et citera donc les auteurs les plus important (en termes de nombre de publications). Néanmoins, ces auteurs sont associés à de nombreux co-auteurs dans le cadre des publications scientifiques qui sont majoritairement collectives dans les domaines de la biologie.

Pour ce qui est du pôle entomologie, à gauche, le cluster bleu regroupant des termes liés aux insectes vecteurs américains, inclus des chercheurs affiliés à des laboratoires des États-Unis dont R. Krugner et M. Sisterson. Ce cluster bleu est lié au cluster orange au-dessus qui est plus spécifique au comportement des insectes vecteurs. Ce cluster regroupe à la fois des chercheurs affiliés à des laboratoires américains (E. Backus) et européens (D. Cornara). Ces deux clusters sont reliés au cluster vert qui concerne la maladie de Pierce par les publications du professeur émérite Alexander Purcell, à l'origine de nombreuses découvertes concernant la bactérie dans les années 1980-1990 aux États-Unis et travaillant encore sur la maladie de Pierce aujourd'hui. Le cluster vert, regroupe d'autres chercheurs affiliés à des laboratoires américains dont R. Almeida et M. Daugherty, travaillant également sur les insectes vecteurs de la bactérie. A droite de ce cluster, les termes sont plutôt liés à la bactériologie (« genome sequence », « *Xylella fastiosa* 9a5c » qui correspond au génome d'une souche sur vigne séquencée). Le cluster vert plutôt lié à l'entomologie et le cluster jaune sont connectés via un chercheur affilié à un laboratoire américain (S. Chatterjee) qui a notamment publié une revue des connaissances sur la bactérie qui regroupe des données sur les insectes vecteurs et sur la bactérie ainsi que son génome.

Le cluster jaune, concernant le séquençage du génome de la bactérie est fortement lié à un second cluster bleu-vert situé en dessous et regroupant des termes de bactériologie « générale ». Ce dernier concerne la formation des biofilms, qui est régulée par l'expression de gènes spécifiques - mis en évidence par séquençage - avec une fois encore la forte représentation de chercheurs affiliés à des laboratoires américains dont L. De La Fuente.

Ce cluster de « bactériologie générale » est lié à un cluster vert en-dessous dont les termes sont spécifiques à la CVC. Ainsi, ce cluster regroupe des chercheurs sud-américains dont A. De Souza et M. Machado.

Pour terminer, en bas à gauche de la figure, un cluster bleu foncé regroupe les termes liés à l'OQDS et des chercheurs européens, notamment italiens dont M. Saponari, D. Boscia, G. Loconsole.

Les clusters décrits précédemment font globalement le tour de la figure mais ils sont liés par des clusters centraux dont la thématique des termes regroupés est moins évidente. En premier lieu, en haut de la zone centrale, des chercheurs du service de recherche de l'agriculture américaine [3] , laboratoire de recherche californien, font le lien entre les clusters du pôle entomologie et ceux du pôle bactériologie et notamment D.C. Stenger et L.P. Burbank. En effet, le laboratoire auquel ces scientifiques appartiennent regroupe à la fois des chercheurs travaillant sur les insectes et d'autres en bactériologie/santé des plantes. Ce laboratoire interdisciplinaire favorise probablement les échanges de connaissances entre des collaborateurs et collaboratrices travaillant préférentiellement sur les insectes vecteurs ou en santé des plantes. De plus, les clusters orange et rouge en bas de la zone centrale regroupent des termes liés à la distinction des souches de la bactérie grâce à la méthode des MLST (MultiLocus Sequence Typing) et à des connaissances liées à la discipline de l'évolution, avec notamment les travaux de L. Nunney. Or, ces travaux ne sont pas liés à une maladie particulière et ils éclairent à la fois les travaux de bactériologie et d'entomologie qui nécessitent d'identifier la souche de la bactérie isolée. Ils permettent donc probablement de créer également un lien entre les connaissances produites en entomologie et en bactériologie.

Pour terminer, concernant la recherche française, les recherches en bactériologie conduite notamment par Marie-Agnès Jacques, sont principalement représentées dans le cluster vert, en haut de la zone centrale, et non pas liées au cluster bleu foncé qui regroupe les recherches européennes sur l'OQDS. En effet, les recherches menées sont antérieures à la découverte de l'OQDS et ne concernent pas seulement les oliviers. De plus, des recherches sont menées sur les insectes vecteurs, notamment par Astrid Cruaud,

3. USDA (United States Department of Agriculture) : `https://www.ars.usda.gov/pacific-west-area/parlier/sjvasc/cdpg/`

et elles sont représentées dans le cluster orange avec des termes liés aux insectes en haut à gauche, au niveau du « pôle entomologie ». Les recherches françaises concernant la bactérie et ses plantes hôtes et les insectes vecteurs ne sont donc pas directement liées d'après cette carte. Enfin, le délégué de la directrice générale sciences et innovation, chargé de la sécurité biologique INRAE et qui était auparavant membre du panel santé des végétaux de l'EFSA, David Caffier est représenté au niveau du cluster de l'EFSA. La compréhension de la place de la recherche française sur cette carte passe par l'analyse des laboratoires impliqués en France (encadré 4).

Encadré 4 : La recherche française sur *Xylella fastidiosa* et ses insectes vecteurs

La bactérie est identifiée, en France, depuis une vingtaine d'années comme étant un agent pathogène à risque pour le territoire. Cette prévision du risque a permis au laboratoire de l'Anses d'Angers, au sein de l'unité de bactériologie, de mener des travaux dès 2002. Ces travaux se sont amplifiés avec la découverte de la bactérie en 2013 en Italie [Saponari et al., 2013] puis en 2015 en Corse [Chauvel et al., 2015]. La mise en place de ces recherches s'explique par le fait que ce laboratoire est aussi le laboratoire national de référence de la bactérie. Ainsi, lors de la découverte de *Xylella fastidiosa* en Corse, l'ensemble des échantillons de plantes prélevés par les services officiels avec le support d'unité de recherche INRAE et l'implication du Conservatoire botanique national de Corse de l'Office de l'Environnement de la Corse, étaient envoyés à l'Anses d'Angers pour analyse. En parallèle de ce travail de routine, des travaux de recherche pour améliorer les méthodes de détection officielles ont été menés depuis 2015. Plus récemment, divers travaux concernant la surveillance des insectes vecteurs de la bactérie sont menés ce qui rend le laboratoire de l'Anses de Montpellier très sollicité en entomologie dans le cadre de la surveillance de *Xylella fastidiosa* avec l'identification de ses insectes vecteurs potentiels et avérés.

Concernant la recherche académique, plusieurs laboratoires INRAE s'investissent dans la recherche sur *Xylella fastidiosa*. En premier lieu, l'UMR IRHS à Angers est impliquée dans les travaux en bactériologie dès 2012, avec la mise en évidence de

la bactérie sur des caféiers importés, avant même la première détection officielle de la bactérie en Europe [Saponari et al., 2013]. Néanmoins, les recherches se sont amplifiées au sein d'INRAE depuis la détection de la bactérie en Corse et des projets de recherche en entomologie basés dans l'UMR CBGP à Montpellier et des travaux de modélisation basés dans l'UR BioSP (Biostatistique et processus Spatiaux) à Avignon sont venus compléter les travaux menés en bactériologie à Angers.

1.3.5 Analyse de la collaboration entre les auteurs

Pour cette analyse, une carte des co-auteurs (annexe A.5 page A30) a été réalisée pour estimer leur proximité. Cette carte a été éditée à plusieurs reprises en ajoutant un paramètre supplémentaire permettant de mettre en évidence le continent d'affiliation des auteurs ou les clusters de termes (qui informent sur les sujets de publication des auteurs) ou les principaux journaux de publication. Les informations de ces trois cartes sont synthétisées dans le tableau ci-dessous (tableau 1 page suivante).

Numéro du cluster	**Continents d'affiliation des auteurs**	**Clusters de termes principaux associés à la majorité des auteurs**	**Abréviations des journaux de publication de la majorité des auteurs**
1	Amérique du Nord Océanie Asie	Comportement alimentaire des vecteurs américains Vecteurs américains	Biological control Biol invasions Appl environ microb P natl acad sci USA Annual Rev phytopathol
2	Europe Afrique Moyen-Orient	OQDS	Insects Entomol gen Journal of Pest Science J plant pathol Sci rep UK
3	Europe Océanie	OQDS Comportement alimentaire des vecteurs américains CVC	EFSA Journal Neotrop entomol Fla entomol Phytopathol mediterr BMC Genomics

Numéro du cluster	**Continents d'affiliation des auteurs**	**Clusters de termes principaux associés à la majorité des auteurs**	**Abréviations des journaux de publication de la majorité des auteurs**
4	Europe	OQDS	Sustainability Basel Front plant sci Pathogens Plant basel Sci rep UK
5	Amérique du Nord Océanie Asie	Bactériologie	Phytopathology Fems microbial lett Peerj Sci rep UK Front plant sci
6	Amérique du Sud	CVC Bactériologie	Protein expression and purification FEBS J ACTA crystallogr F
7	Amérique du Sud	CVC Bactériologie	Front microbiol J biol chem Sci hort amsterdam Genet mol biol Jj bacteriol
8	Amérique centrale Amérique du Sud	CVC Vecteurs américains	Journal of microbiology Southwest entomol Curr microbiol J basic microb World j microb biot
9	Amérique du Nord Asie Moyen-Orient	Vecteurs américains	Phytopathology AM J ENOL VITICULT Theor Apply Genet J Econ Entomol Ann Entomol Soc Am

TABLE 1: Tableau de caractérisation des clusters de co-auteurs (annexe A.5 page A30)

Le tableau 1 page ci-contre permet en premier lieu de montrer une coopération entre les auteurs affiliés à des laboratoires de différents continents (clusters 1,2,3,5,8,9). Bien que le cluster 3 regroupe des co-auteurs publiant dans le Journal de l'EFSA, agence européenne, certains sont affiliés à des laboratoires en Europe et d'autres en Océanie ce qui démontre une coopération inter-continentale. Néanmoins, le cluster 4 regroupe des auteurs uniquement affiliés à un laboratoire italien de la Province du Lecce. La composition de ce cluster peut s'expliquer par une histoire divergente et conflictuelle entre la Province du Lecce et l'Université de Bari [Panziera, 2016]. De plus, les clusters 6 et 7 montrent une importante coopération entre les chercheurs sud-américains, travaillant principalement sur la CVC, et plus largement en bactériologie (annexe A.5 page A30 et voir annexe A.6 page A34). Les clusters regroupant des chercheurs affiliés à des laboratoires européens, sont souvent associés aux clusters de termes faisant référence à l'OQDS. Enfin, les clusters de termes faisant référence aux insectes vecteurs de la bactérie, principalement les vecteurs américains, sont souvent liés à des chercheurs affiliés à des laboratoires nord-américains bien que des collaborations existent avec des chercheurs affiliés à des laboratoires en Amérique du Sud voire des chercheurs affiliés à d'autres continents. Ainsi, ces résultats appuient ceux précédemment exposés en mettant en lumière les collaborations entre chercheurs et en montrant donc que les activités de recherche autour de *Xylella fastidiosa* ne sont pas cloisonnées.

1.3.6 Analyse de l'univers de co-citations : vers une analyse socio-épistémique

Pour terminer, nous allons analyser la mobilisation des connaissances produites et publiées dans des revues scientifiques. Pour cela, il est utile d'analyser les références citées dans les articles composant le corpus de textes analysé afin de comprendre la clusterisation de l'univers de citations et ce qu'il en est de sa structure.

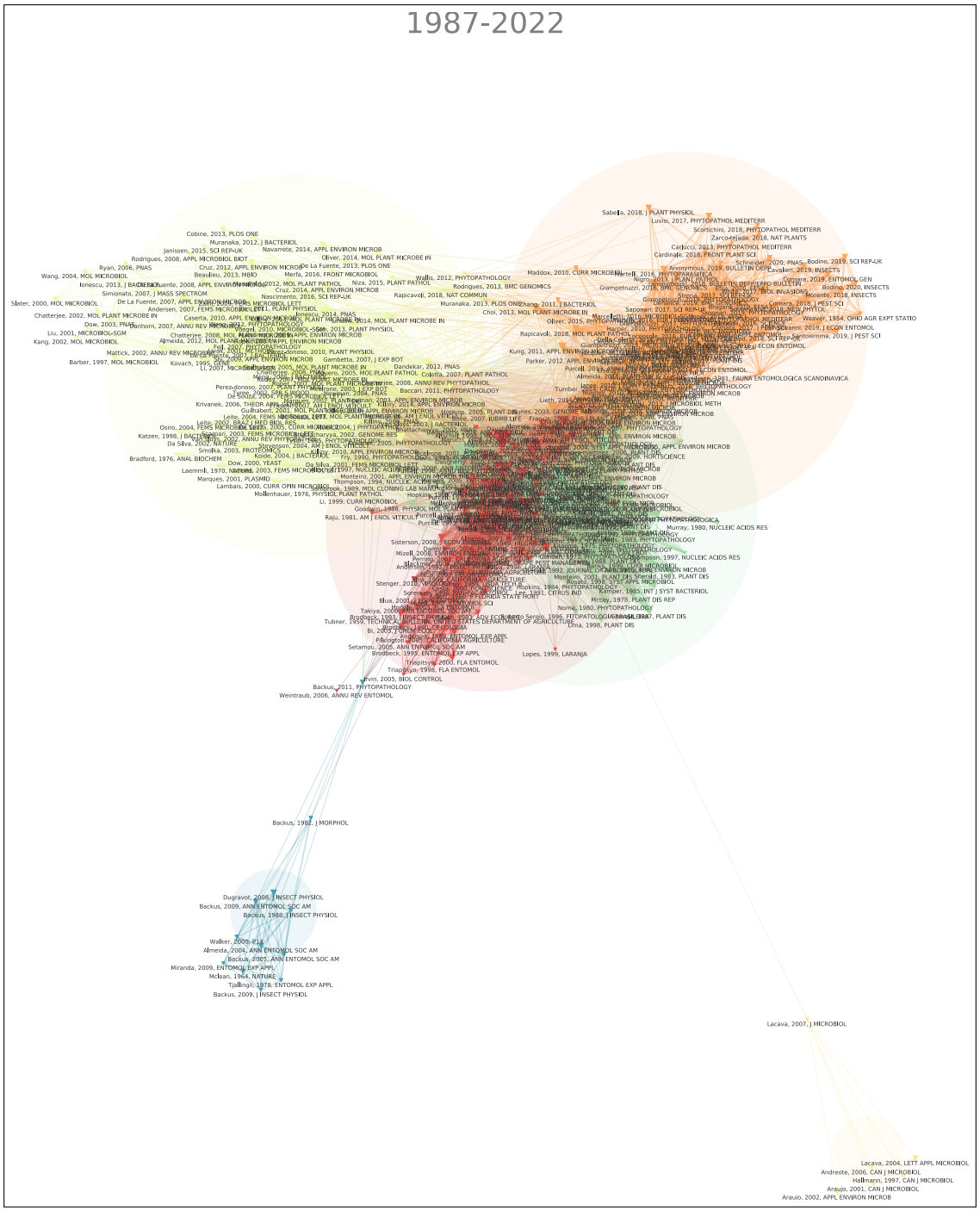


FIGURE 7: Carte de réseaux des références citées (403 nœuds). Pour la construire, l'outil Network Mapping de CorTexT est utilisé avec la liste des références citées (cited ref), une mesure cosine [Eck and Waltman, 2009, Hamers et al., 1989, Salton et al., 1975] et la clusterisation de Louvain [Aynaud, 2020, Blondel et al., 2008]

L'univers de citations autour de la bactérie *Xylella fastidiosa* semble de façon générale plutôt groupé avec de nombreux liens entre les principaux clusters qui demeurent très proches comme le montre la figure 7 ci-dessus. Ce constat indique que la recherche sur

Xylella fastidiosa est intégrée. Il n'y a pas plusieurs courants de pensées ou des recherches menées en parallèle (donc des clusters disjoints) ; il n'y a pas non plus une absence de large diffusion des connaissances auprès de l'ensemble de la communauté scientifique concernée par ce sujet. Pour autant, on note la formation de 6 clusters de références citées qui indiquent des polarisations avec 4 clusters principaux et très rapprochés et deux clusters plus petits en périphérie. Les deux clusters plus petits sont formés de quelques références de chercheurs travaillant sur les insectes vecteurs (cluster bleu) et de chercheurs travaillant en bactériologie (cluster orange). Au centre, les clusters rouge et vert regroupent les publications les plus anciennes concernant la bactérie et ses insectes vecteurs publiées majoritairement dans les années 1980-1990 dans le cadre de recherches menées sur le continent américain notamment par le professeur émérite A. Purcell, D.L. Hopkins, R. Almeida et M. Daugherty. Les clusters jaune et orange rassemblent des publications plus récentes des années 2010 écrites par des auteurs européens et notamment italiens pour le cluster orange et des auteurs américains pour le jaune.

Ainsi, bien que des grands thèmes se dessinent notamment selon les disciplines et les maladies étudiées, les productions scientifiques s'appuient sur des corpus de citations « mixtes », de toutes disciplines confondues. Enfin, les clusters jaune et orange semblent « s'éloigner » à la fois l'une de l'autre et des recherches pionnières de la bactérie. Cet éloignement s'explique probablement par la découverte de la bactérie en Europe, sur oliviers, qui implique une multiplication des travaux sur cet objet de recherche (OQDS) et dont les objectifs sont différents du continent américain où la bactérie a été détectée depuis près d'un siècle, principalement sur vignes et agrumes. Cependant, ces clusters restent liés à la fois aux corpus de citations plus anciens et entre eux ce qui montre que les productions scientifiques sont toujours appuyées par des corpus de citations provenant de l'ensemble des travaux internationaux et qu'elles ne sont donc pas strictement dissociées selon le contiennent et la maladie concernés par les recherches.

Pour conclure, cette sous-section introduit la revue de littérature « au sens stricte » avec une description du paysage des recherches autour de *Xylella fastidiosa*. Cette analyse scientométrique permet de mettre en évidence que l'ensemble des recherches sont liées, malgré la mobilisation de disciplines différentes et la découverte de la bactérie à différentes échelles de temps selon le continent considéré. Bien que certaines recherches soient

« purement disciplinaire » en entomologie ou en bactériologie, de nombreuses recherches sont liées par la maladie étudiée sur agrumes, sur vigne ou sur oliviers. Ainsi, la revue de littérature présentée dans la prochaine sous-section fera état des connaissances scientifiques acquises en Amérique et en Europe et bien qu'une attention particulière soit portée sur les résultats concernant les insectes vecteurs, les recherches en bactériologie seront également discutées.

2 Une bactérie phytopathogène

Cette seconde section s'attachera à décrire les connaissances acquises sur la bactérie et ses insectes vecteurs depuis 1987, dans le monde, afin d'éclairer les défis autour de *Xylella fastidiosa* ou comment être en mesure de bâtir une stratégie globale de lutte contre cette bactérie phytopathogène.

2.1 *Xylella fastidiosa*, une bactérie xylémique d'importance mondiale

La bactérie *Xylella fastidiosa* peut se développer dans plus de 600 espèces de plantes hôtes appartenant à près de 80 familles [EFSA et al., 2022], dont des plantes cultivées mais également des plantes de milieux semi-naturels (e.g. le ciste de Montpellier, largement présent dans le maquis corse) ou encore des espèces ligneuses (e.g. le chêne). La capacité de colonisation d'espèces de plantes diverses est probablement due à la spécialisation de la bactérie qui est limitée aux vaisseaux du xylème des plantes [Purcell and Hopkins, 1996]. La sève brute des plantes est largement composée d'eau et de sels minéraux ainsi que de sucres et d'acides aminés avec une composition similaire pour la majorité des espèces végétales [Buhtz et al., 2004].

Seules deux sous-espèces de la bactérie ont été formellement décrites [Bull et al., 2012] : *Xylella fastidiosa* ssp *fastidiosa* et *Xylella fastidiosa* ssp *multiplex*, mais *Xylella fastidiosa* ssp *pauca* est également reconnue par la communauté scientifique sans être néanmoins formellement décrite [Schaad et al., 2004]. Il existe d'autres sous-espèces, telles que *Xylella fastidiosa* ssp *sandyi, tashke* ou *morus* dont l'existence formelle est l'objet de débats taxinomiques [Denancé et al., 2019, Kahn and Almeida, 2022].

Pour chaque sous-espèce, il existe différentes souches dont les STs (Sequence Types) sont définis selon les allèles portés par sept gènes dits de ménage [Scally et al., 2005, Yuan et al., 2010]. Les gènes de ménage codent pour des protéines qui assurent des fonctions indispensables à la vie de la bactérie. Ils sont conservés par l'ensemble des souches mais ils présentent néanmoins des différences qui permettent de discriminer différents STs. Cette méthode appelée MLST [Maiden et al., 1998] est couramment utilisée pour l'identification de souches bactériennes au-delà de *Xylella fastidiosa* (e.g. [Jolley and Maiden, 2014, Smith et al., 2000]). Aujourd'hui, des études ont démontré que les différentes souches de la bactérie sont plus ou moins spécifiques à certaines espèces de plantes hôtes, avec notamment une prédominance des souches de *Xylella fastidiosa* ssp *fastidiosa* sur vigne et des souches de la sous-espèce *pauca* sur oliviers et sur agrumes [Hopkins, 1989, Kahn and Almeida, 2022].

Au-delà de la présence de *Xylella fastidiosa* sur vigne [Hopkins and Purcell, 2002], agrumes [Härtung et al., 1994] et oliviers [Saponari et al., 2013], la bactérie a aussi été détectée sur les espèces du genre *Prunus* (dont les amandiers) [Chen et al., 2005, Davis, 1980], sur caféiers [Jacques et al., 2016, Rodríguez et al., 2001], poiriers [Leu et al., 1993] ou encore avocatiers [Montero-Astúa et al., 2008]. Or, ces plantes sont cultivées dans plusieurs régions du monde, avec un poids économique (très) fort. Par exemple, la production mondiale d'amandes se partage entre l'Espagne et les États-Unis. Pour la production d'agrumes, bien qu'elle soit majeure au Brésil, elle est également présente sur la péninsule ibérique en Europe ou encore à Taïwan ou en Israël. La production viticole est remarquable en France avec une forte inscription dans son patrimoine mais elle est également importante dans d'autres régions du monde notamment en Californie. La production de café est importante au Brésil [Li et al., 2002, Prato, 2000] et les parcelles sont souvent à proximité des agrumeraies [Qin et al., 2001] ce qui augmente le risque de pertes économiques à la fois pour la filière agrumes et la filière café de ce pays avec un risque du passage de la bactérie d'une culture à l'autre. Enfin, les caféiers d'Amérique centrale et du Sud sont prisés en tant que plantes ornementales en Italie par exemple [Martelli et al., 2016]. Ainsi, ces productions agricoles majeures, cultivées sur plusieurs continents, sont menacées par l'introduction de la bactérie ou de ses insectes vecteurs en zone indemne, mais également par l'introduction d'une nouvelle sous-espèce en zone

contaminée dans le cadre d'échanges commerciaux de plantes ornementales ou destinées à la production fruitière. L'augmentation des échanges internationaux induit de façon directe ou indirecte une pression des bioinvasions à l'échelle globale suivant des patrons qu'il convient de mieux caractériser [Meyerson and Mooney, 2007]. Cette pression qui inclut des problématiques biologiques associées à des activités humaines, fait l'objet d'une approche en termes de gestion des risques mais avec des moyens spécifiques encore limités et des capacités de connaissances encore insuffisamment constituées ainsi qu'avec un déficit de cadrage épistémique [Hulme, 2021].

2.2 La situation épidémiologique dans le monde

La bactérie, originaire du continent américain [Vanhove et al., 2019] où elle est largement présente aux États-Unis [Wells et al., 1987], a également été détectée sur ormes au Canada [Goodwin and Zhang, 1997], localisation la plus au nord où elle a pu être identifiée à ce jour. En Amérique du Sud, elle est largement présente sur agrumes au Brésil [Chang et al., 1993], en Argentine [Brlansky et al., 1991] [Sattary et al., 2015], mais aussi en Amérique centrale [4]. *Xylella fastidiosa* a également été détectée hors du continent américain (figure 8 page ci-contre), où elle a probablement été importée lors d'échanges de matériel végétal. Elle a été mise en évidence à Taïwan [Su et al., 2013], en Iran [Amanifar et al., 2014] et plus récemment en Israël [EPPO, 2019]. Elle est aussi largement présente en Europe avec des suspicions de sa présence avant la détection officielle de 2013 [Saponari et al., 2013] en Yougoslavie en 1998 [Berisha et al., 1998] et également un signalement sur vigne en France en 2013 [Martins et al., 2013]. Depuis, elle a été formellement identifiée en France en 2015 en Corse [Chauvel et al., 2015] puis en PACA [Denancé et al., 2017] ainsi qu'en Espagne en 2016, dans les îles Baléares [Olmo et al., 2017] et sur la péninsule ibérique (figure 9 page suivante). Ces découvertes ont largement accéléré les recherches menées sur la bactérie et ses plantes hôtes en Europe [Denancé et al., 2017, Elbeaino et al., 2014, Giampetruzzi et al., 2019, Landa et al., 2020, Rapicavoli et al., 2018a].

4. `https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/distribution` consulté le 01/04/2022

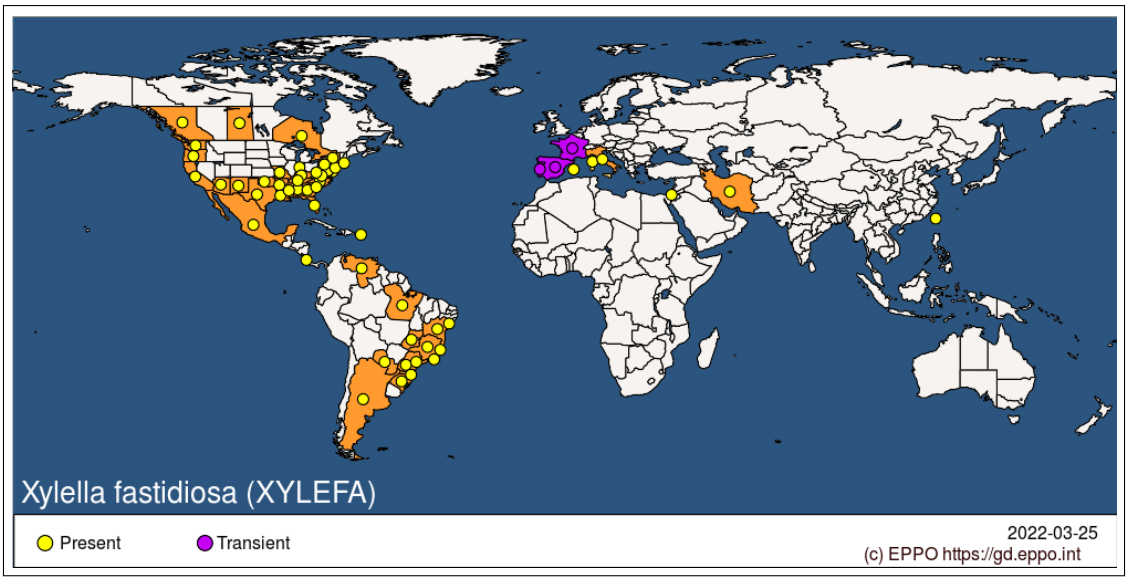


FIGURE 8: La situation épidémiologique dans le monde

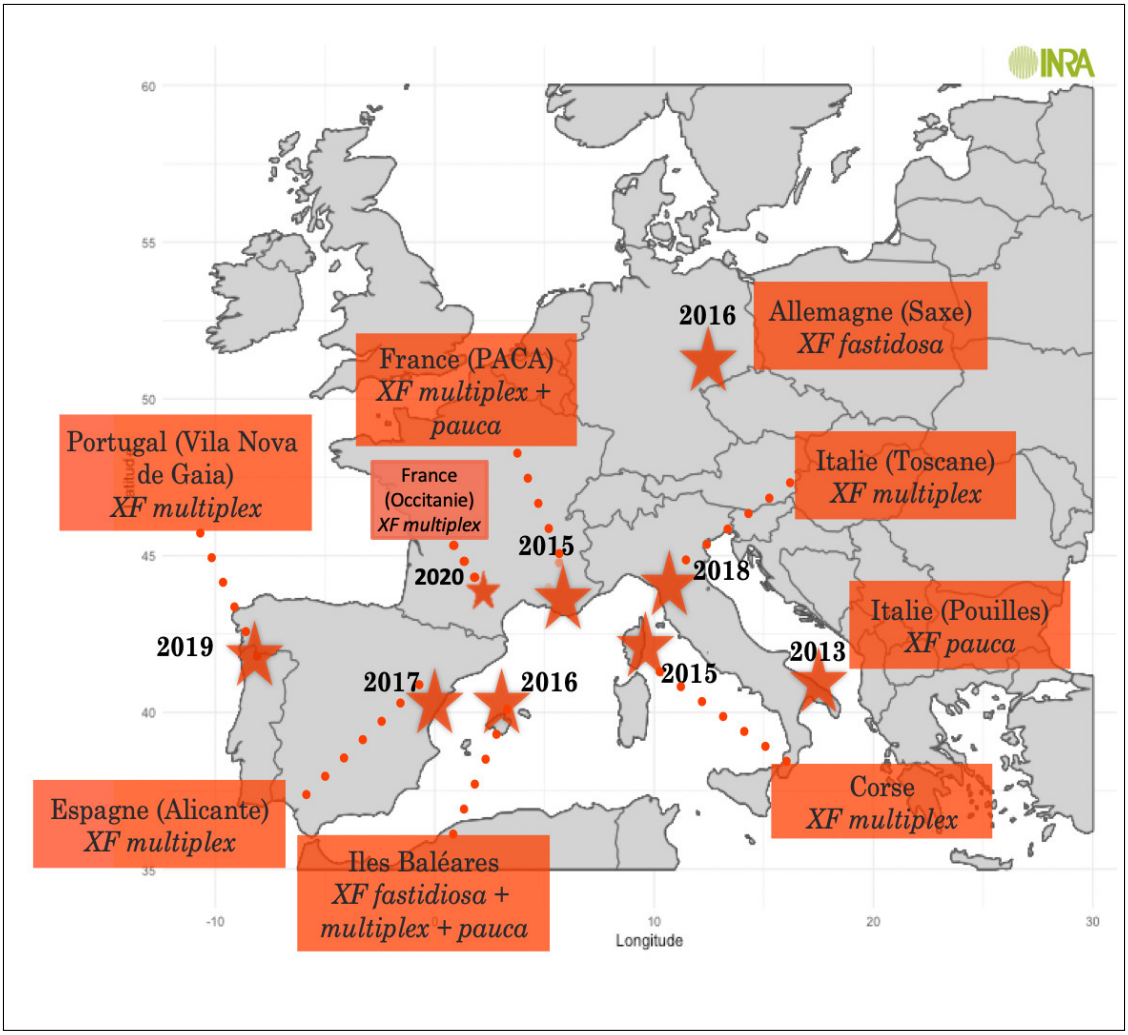


FIGURE 9: La situation épidémiologique en Europe

En France, la bactérie est largement présente en milieu semi-naturel, en Corse, où la sous-espèce *multiplex* (ST6 et ST7) a été identifiée [Barthod et al., 2018]. En 2022, une détection a été effectuée sur un olivier en production en Balagne [Giannechini, 2022]. Sur le continent, la bactérie a été détectée en zone urbaine dans la région PACA [5] où la zone de présence de la bactérie est stable depuis les premières détections en 2015. Seule la sous-espèce *multiplex* est présente dans cette région (ST6, ST7, ST88 et ST89 [Cunty et al., 2022]). *Xylella fastidiosa multiplex* (ST6) a été détectée en 2020 dans la région Occitanie, aux abords de l'autoroute A61 sur des végétaux présents en milieux semi-naturels, dont des amandiers sauvages [SRAL, 2022]. Cette détection a accentué la surveillance dans la région et de nouveaux foyers sont régulièrement découverts. Ainsi, la zone de présence de la bactérie en Occitanie est encore mal connue.

2.3 Des dégâts considérables sur les plantes cultivées

Bien que *Xylella fastidiosa* soit présente dans plusieurs régions du monde, elle n'a pas le même impact phytosanitaire selon les pays et les systèmes de culture. Aux États-Unis, la sous espèce *fastidiosa* touchant le vignoble Californien [Galvez et al., 2010] est à l'origine de dégâts considérables. Au Brésil, *Xylella fastidiosa* ssp *pauca* est présente sur agrumes [Coletta-Filho et al., 2020]. Quant à l'Europe, la sous-espèce *pauca* largement détectée sur oliviers en Italie [Saponari et al., 2013] a causé en quelques années la destruction de centaines de milliers d'hectares d'oliveraies dans les Pouilles [Saponari et al., 2019]. En Espagne, les trois sous-espèces de la bactérie ont été détectées dans les îles Baléares [Landa, 2017] cependant, la majeure partie des dégâts est liée à la présence de la sous-espèce *multiplex,* mise en évidence dans la région d'Alicante sur des amandiers en production [Marco-Noales et al., 2021]. En France, la bactérie présente en milieu semi-naturel n'a, pour le moment, pas causé de dégâts considérables directs. Afin d'illustrer la menace que représente la bactérie pour de nombreuses plantes cultivées, il convient de s'intéresser aux conséquences des trois principales maladies engendrées par la bactérie : la maladie de Pierce aux États-Unis, la CVC au Brésil et l'OQDS en Italie.

5. `https://shiny-public.anses.fr/Xylella_fastidiosa/` consulté le 01/04/2022

2.3.1 Le cas de la maladie de Pierce

La maladie de Pierce est la première maladie provoquée par *Xylella fastidiosa* à avoir été observée dans le monde [Pierce, 1892, Winkler, 1949]. Les premières descriptions des symptômes de la maladie datent de 1892 [Pierce, 1892]. Au-delà de la mort des ceps de vigne [Fry and Milholland, 1990], des altérations des vignes malades [Goodwin et al., 1988] sont observées avec des différences selon les cépages. Par exemple, le dessèchement localisé des feuilles est préférentiellement observé sur du raisin blanc (Muscat) et ces anomalies sont souvent observées sur les jeunes feuilles de vigne. Les descriptions des symptômes de dessèchement diffèrent également d'une variété à l'autre mais, lorsque la bactérie entraîne une mort rapide du végétal, il est noté que les symptômes sont moins importants [Pierce, 1892].

Aux États-Unis et plus précisément en Californie, l'épidémiologie de la maladie et sa propagation au sein des vignobles a évolué avec l'introduction d'*Homalodisca vitripennis* dans les années 1990 [Blua et al., 2000, Sorensen and Gill, 1996] depuis le sud-est des États-Unis. Bien qu'il y ait plusieurs espèces d'insectes vecteurs en Californie, *Homalodisca vitripennis* est à l'origine d'une propagation plus rapide et efficace de la bactérie dans les vignobles californiens [Hopkins and Purcell, 2002, Purcell and Feil, 2001].

L'évaluation du coût de la propagation de la bactérie dans ces vignobles est de 104 millions de dollars par an, supporté par les organismes gouvernementaux, les industriels mais également les producteurs [Tumber et al., 2014]. En effet, ces coûts englobent les pertes de ceps de vigne, les coûts de mise en conformité pour les pépinières et les coûts liés aux mesures mises en place par l'État (détection de la bactérie, sensibilisation).

2.3.2 Le cas de la CVC

Pour rappel, les maladies sur agrumes sont largement étudiés en Amérique du Sud et plus particulièrement au Brésil où *Xylella fastidiosa* ssp *pauca* a été détectée pour la première fois en 1987 comme agent responsable de la CVC [De Negri, 1990, Rossetti et al., 1990]. Cette sous-espèce provoque des symptômes légèrement différents sur agrumes par rapport à *Xylella fastidiosa* ssp *fastidiosa* sur vigne. Dans le cadre de la production agrumicole, la bactérie induit la mortalité de certains arbres et une perte de rendement avec des fruits plus petits. En 2007, les pertes liées à la mort des arbres étaient

estimées à 120 millions de dollars par an et les pertes liées aux baisses de rendements à 121 millions de dollars par an [Bové and Ayres, 2007]. Néanmoins, la mise en place de mesures telles que la taille des arbres malades, la replantation de jeunes arbres et surtout la production des jeunes plants sous serre (et non plus en plein champ) ont permis un contrôle de la maladie et une baisse très forte de son incidence de 43% en 2005 à 2% en 2019, dans l'État de Sao Paulo, où est principalement située la production d'agrumes du pays [Coletta-Filho et al., 2020].

2.3.3 Le cas de l'OQDS

L'observation de la maladie des oliviers provoquée par *Xylella fastidiosa* est plus récente que celle de la maladie de Pierce et la CVC. Les oléiculteurs italiens ont constaté les premiers symptômes entre 2008 et 2010 [Saponari et al., 2019]. Suite à ces premières observations, les autorités sanitaires italiennes et les chercheurs ont investigué et identifié *Xylella fastidiosa* ssp *pauca* [Saponari et al., 2013]. Le ST53, proche de celui de la souche identifiée sur caféiers au Costa Rica [Giampetruzzi et al., 2017, Loconsole et al., 2016], a été majoritairement détecté. Ainsi, l'origine de l'infection pourrait être due à l'importation de caféiers d'ornement du Costa Rica, avec l'introduction de la bactérie entre 1950 et 2008 [Sicard et al., 2021, Vanhove et al., 2019], soit potentiellement plusieurs décennies avant sa détection et l'apparition massive de symptômes en Italie. Avant cette date, la bactérie était sur les listes de quarantaine du règlement européen, car la zone était considérée indemne mais à risque. L'apparition des premiers symptômes et leur multiplication ont été très rapides et cette mise en visibilité de la maladie a conduit au développement de recherches à l'échelle européenne [Saponari et al., 2016]. Les symptômes de la maladie apparaissent successivement sur chaque rameau jusqu'à la mort de l'arbre [Loconsole et al., 2014]. Au-delà des pertes économiques induites par la mort des oliviers, la propagation de l'OQDS dans les Pouilles induit une modification des paysages et représente une perte de patrimoine considérable dans une région avec des oliveraies centenaires.

Des modèles de simulations bio-économiques estiment des coûts de pertes économiques pour l'Italie en milliards d'euros dans les 50 ans à venir [Schneider et al., 2020]. Concernant les exportations et l'approvisionnement en huile d'olive européenne, les coûts

engendrés par la bactérie en Italie varient si les productions espagnoles et/ou grecques sont touchées. En effet, si la bactérie est à l'origine de la destruction massive d'oliveraies dans ces deux pays producteurs, le prix de l'huile d'olive pourrait augmenter et le marché serait modifié. Ainsi, les pertes pour les oléiculteurs italiens pourraient être moins importantes. De plus, l'avancée des recherches et la mise en évidence de variétés résistantes à la bactérie impacteraient aussi la replantation des oliveraies et donc les coûts liés à la présence de la bactérie. Par exemple, si les oléiculteurs italiens abandonnent la culture d'olives, le coût dans les 50 ans à venir est estimé entre 2 et 5 milliards d'euros contre environ 1 milliard d'euros si des variétés résistantes sont replantées [Schneider et al., 2020].

La situation italienne dans les Pouilles est exceptionnelle. Seuls deux cultivars d'oliviers sont plantés dans la région et ils sont sensibles à la bactérie [Saponari et al., 2019] alors qu'il existe plusieurs centaines de variétés d'oliviers dans les régions méditerranéennes [Muzzalupo and Perri, 2009]. De plus, la majorité du paysage est constitué d'un continuum d'oliveraies. La végétation herbacée au pied des oliviers abrite de fortes populations d'insectes vecteurs [Strona et al., 2017] dont la densité décroît en été alors que celle des populations d'insectes dans la canopée des arbres se maintient ou décroît plus lentement [Bodino et al., 2019]. Ces résultats pourraient indiquer une estivation des insectes dans la canopée des oliviers et également en dehors des parcelles cultivées mais d'autres études sont nécessaires pour le confirmer. Ainsi, ce phénomène pourrait favoriser la propagation de la bactérie aux oliviers cultivés (passage de la strate herbacée au printemps à la canopée des arbres l'été). De plus, il pourrait être accentué par le changement climatique qui induit des épisodes de sécheresse plus réguliers et/ou plus intenses. En 2013, 8 000 ha étaient en zone infectées en Italie contre 715 000 ha en 2018 soit environ 21 millions d'oliviers menacés par la bactérie [Saponari et al., 2019]. En revanche, en Grèce, de nombreuses barrières naturelles limiteraient la propagation de la bactérie si elle y était importée. Les deux grandes régions productrices de ce pays (zone continentale et Crète) sont séparées par la mer qui limite potentiellement la propagation de *Xylella fastidiosa* [Schneider et al., 2020]. Ainsi, la situation géographique et les paysages agricoles impactent la propagation et les dégâts causés par la bactérie.

Encadré 5 : Les points essentiels – Origines et conséquences de *Xylella fastidiosa*
1. *Xylella fastidiosa* est originaire du continent américain et elle a été importée en Europe. En France elle est présente dans le sud du pays et en Corse. 2. La bactérie a un très large spectre de plantes hôtes, herbacées et ligneuses, de milieux cultivés et semi-naturels. 3. Les dégâts sur plantes cultivées les plus importants s'observent sur vigne aux États-Unis, sur agrumes au Brésil et sur oliviers en Italie.

2.4 Un mode de vie particulier : une forme de vie libre et une forme de vie en biofilm

Dès sa description, deux formes de vie de *Xylella fastidiosa* ont été mises en évidence : une forme de vie libre et une forme de vie agrégée avec des implications différentes en termes de virulence et de transmission.

2.4.1 Une forme de vie libre : colonisation de la plante hôte

2.4.1.1 Une forme de vie libre dans les vaisseaux du xylème

Xylella fastidiosa a la forme d'un bâtonnet et une taille de 0,25 à 0,50 µm de diamètre pour 1 à 4 µm de longueur [Mollenhauer and Hopkins, 1974]. Les pores de la paroi des cellules végétales qui constituent les vaisseaux du xylème ont un diamètre d'une dizaine de nanomètres et peuvent s'élargir jusqu'à quelques centaines de nanomètre de diamètre au maximum, avec une fréquence d'élargissement variable selon les espèces de plantes. Ils permettent la circulation de la sève brute des racines jusqu'à l'apex des feuilles [Kaack et al., 2021, Sano, 2005]. Chez les angiospermes, la taille de ces pores est souvent de 5 à 20 nM [Choat et al., 2004]. La faible taille des pores permet de limiter le risque de formation de bulles gazeuses qui induisent le phénomène de cavitation qui peut conduire à une embolie, c'est-à-dire à une obstruction totale des vaisseaux du xylème [Brodersen et al., 2019, Sperry and Hacke, 2004]. La taille limitée des pores de la paroi du xylème limite également le passage des pathogènes [Pouzoulet et al., 2020]. La circulation de la bactérie *Xylella fastidiosa* devrait ainsi être entravée puisqu'elle a

une taille au moins 10 fois supérieure à celle des pores de la majorité des angiospermes. C'est par un phénomène d'élargissement des pores de la paroi des vaisseaux du xylème [Pérez-Donoso et al., 2010] que *Xylella fastidiosa* parvient à « circuler » dans les végétaux. La bactérie sécrète des enzymes induisant la dégradation de différents composants des pores de la paroi et l'élargissement de leur diamètre.

Les composés dégradés constituent également une source de carbone pour la bactérie [Ingel et al., 2019, Roper et al., 2007]. La variation des symptômes selon les cultivars de vigne est notamment due à une différence de composition de la paroi des cellules végétales. Par exemple, les cellules végétales du Chardonnay présentent une paroi plus riche en macro-molécules identifiées comme étant des sources de carbone, ce qui permet un meilleur développement de la bactérie, et entraîne des symptômes plus importants par rapport au Cabernet Sauvignon [Ingel et al., 2019].

Cependant, l'élargissement des pores de la paroi n'est pas suffisant pour expliquer les déplacements de la bactérie, qui, bien qu'elle soit non flagellée, se déplace du point d'inoculation jusqu'à l'apex des feuilles d'un autre rameau et donc à contre-courant du flux de sève. Cette capacité de déplacement à contre-courant est permise par un processus répété d'extension-rétractation des pili de type IV [De La Fuente et al., 2007], appendices de longueur variable à la surface de la paroi bactérienne [Li et al., 2007, Meng et al., 2005]. En plus de cette circulation active, de possibles mécanismes de circulation passive ont été mis en évidence dans certains vaisseaux du xylème des vignes [Thorne et al., 2006].

2.4.1.2 Quelles conséquences et quelles réponses de la plante ?

Les symptômes développés par les plantes cultivées sont similaires à des symptômes de dessèchement et indiquent donc une modification du flux hydrique. Ces modifications sont dues à plusieurs facteurs. En premier lieu, l'élargissement des pores de la paroi des vaisseaux du xylème par *Xylella fastidiosa* implique une diminution de la résistance du flux d'eau [Pérez-Donoso et al., 2010]. De plus, l'élargissement des pores augmente le risque d'embolie [Fanton and Brodersen, 2021]. Ainsi, en cas de diminution du flux hydrique et/ou de formation d'embolie, des symptômes de dessèchement peuvent apparaître et ce d'autant plus que le stress hydrique auquel la plante est confrontée est important.

Au-delà de ces conséquences « mécaniques directes », des mécanismes de défense de la plante sont à l'origine d'une modification du flux hydrique face à la présence de pathogènes. Les mécanismes de défense classiques déclenchés lors d'une interaction plante – pathogène - appelés PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern) - [Kaur et al., 2022] ne sont pas activés dans le cadre de la présence de *Xylella fastidiosa*. En effet, les tissus du xylème sont majoritairement composés de cellules végétales mortes [Castro et al., 2021]. Ainsi, la bactérie n'est pas en interaction directe avec la plante via une altération/destruction de ses cellules vivantes. De plus, aucune émission de molécules pathogènes par la bactérie n'a été mise en évidence [Newman et al., 2003, Rapicavoli et al., 2018b]. Néanmoins, il existe des mécanismes de défense liés à l'immunité innée de la plante déclenchés lorsque celle-ci est blessée par exemple. Un antigène impliqué dans le contournement de ces défenses a été mis en évidence chez la bactérie *Xylella fastidiosa* [Rapicavoli et al., 2018b] ce qui indique qu'il existe des interactions plante hôte – bactérie et que la plante met en place des mécanismes de défenses alternatifs aux mécanismes PAMP.

Une production de tylose [Schmitt and Liese, 1994, Wallis and Truter, 1978], excroissance des cellules du parenchyme qui entraîne une obstruction des vaisseaux du xylème, a été mise en évidence chez des ceps de vigne infectés par *Xylella fastidiosa* [Sun et al., 2013, Fanton et al., 2022]. La présence de tylose impacte négativement la conductivité hydraulique et donc l'approvisionnement en eau et en sels minéraux des rameaux de la plante. Malgré cette production de tylose, la colonisation de la bactérie dans la plante n'est pas strictement interrompue [Fanton et al., 2022]. Ces résultats concernant la production de tylose par les ceps de vigne infectés par la bactérie sont variables selon les différents cultivars. En effet, de nombreuses expérimentations ont été menées afin de comparer des cultivars sensibles à *Xylella fastidiosa* tels que le Chardonnay ou le Syrah présentant des symptômes plus importants que les cultivars résistants. Chez les cultivars résistants, la production de tylose est réduite notamment à proximité de la zone d'inoculation de la bactérie [Sun et al., 2013]. De plus, la conductivité hydraulique des vaisseaux de xylème chez les cultivars sensibles est fortement diminuée par rapport aux cultivars résistants où elle est maintenue voire parfois augmentée [Fanton et al., 2022, Sun et al., 2013]. Des résultats similaires ont été obtenus sur différents cultivars d'oliviers [Sabella et al., 2018]

et chez les agrumes [Coletta-Filho et al., 2020] avec une production de lignine accrue chez les cultivars sensibles qui obstrue les vaisseaux du xylème.

Enfin, des travaux récents montrent que la bactérie impacte également le microbiome de son hôte et que plus les symptômes dus à la présence de *Xylella fastidiosa* sont importants chez la plante, plus la diversité microbienne est réduite [Deyett and Rolshausen, 2019]. Or, lorsque la plante n'exprime pas de symptôme, la bactérie représente une faible proportion du microbiome. Ces travaux doivent être confirmés afin de démontrer les liens et les interactions entre *Xylella fastidiosa* et les autres micro-organismes du microbiome des plantes et les implications de ces interactions.

2.4.2 Une forme de vie en biofilm : régulation des populations de bactéries

La colonisation des vaisseaux du xylème par *Xylella fastidiosa* peut être visualisée à l'aide de la microscopie à fluorescence avec la création d'une souche fluorescente de la bactérie [Newman et al., 2003]. Cette visualisation de la colonisation du système vasculaire xylémique chez la vigne a permis de mettre en évidence plusieurs différences notables entre des feuilles symptomatiques et asymptomatiques. En effet, il y a dix fois plus de vaisseaux du xylème colonisés par la bactérie et obstrués dans les feuilles symptomatiques par rapport aux feuilles asymptomatiques. Malgré cette forte augmentation des vaisseaux obstrués, 83 % des vaisseaux du xylème des feuilles symptomatiques sont fonctionnels. De plus, seuls 2 % des vaisseaux des feuilles symptomatiques sont totalement obstrués et 0,053 % pour les feuilles asymptomatiques [Newman et al., 2003].

Afin de comprendre l'obstruction des vaisseaux du xylème, les colonies de bactéries ont été étudiées. Un nombre trois fois plus important de petites colonies (1 à 10 bactéries par section) a été observé dans les feuilles symptomatiques par rapport aux feuilles asymptomatiques. Cette augmentation est plus importante pour les grandes colonies de bactéries (plus de 1 000 bactéries par section) avec 20 fois plus de grandes colonies dans les feuilles symptomatiques que dans celles qui ne le sont pas [Newman et al., 2003]. Ces données indiquent que la présence de grandes colonies de bactéries est à l'origine des symptômes développés par la plante [Newman et al., 2003].

L'organisation des colonies est modifiée dans les feuilles symptomatiques avec le passage d'une forme de vie libre à une forme de vie en biofilm [Wells et al., 1987]. Un biofilm est une communauté de microorganismes fixée à une surface et entourée d'une matrice de polymères extracellulaires produite par les microorganismes eux-mêmes. Cette conformation en biofilm peut permettre au pathogène de se prémunir face aux agressions extérieures [Souza et al., 2004], par exemple face aux défenses déployées par son hôte ou à tout autre facteur environnemental tel que des antibiotiques [Hoyle and Costerton, 1991]. Les polymères extracellulaires de la matrice peuvent également jouer un rôle dans l'adhésion des cellules au sein du biofilm [Janissen et al., 2015].

Les biofilms produits par *Xylella fastidiosa* ont été étudiés et notamment observés à l'aide d'outils de spectrométrie combinés à la microscopie [Janissen et al., 2015]. Leur observation confirme la présence de polysaccharides autour du biofilm [Janissen et al., 2015]. Précédemment, nous avons vu que les pili de type IV avaient un rôle fondamental pour la motilité et donc la colonisation de la plante par la bactérie [Li et al., 2007, Meng et al., 2005]. *Xylella fastidiosa* possède également des pili de type I qui sont impliqués dans la capacité de formation de biofilms de la bactérie [Li et al., 2007]. Ces deux types de pili confèrent à la bactérie à la fois une capacité à se déplacer et coloniser la plante et une capacité à former des biofilms [De La Fuente et al., 2007].

Les expérimentations menées sur les biofilms sont le plus souvent mises en œuvre sur une seule souche de bactérie. Marques et collaborateurs (2002) ont montré que quelle que soit la souche étudiée, la bactérie développe des biofilms. L'expérimentation a été menée sur des souches provenant d'agrumes, de caféiers, d'amandiers, de vigne, d'ormes et de *Prunus*. Néanmoins, la structure des biofilms varie selon les souches testées. Par exemple, les bactéries issues des ceps de vigne ont formé des biofilms larges et épais composés de cellules allongées, étroitement liées les unes aux autres et immergées dans une abondante matrice d'exopolymères. Au contraire, dans les biofilms formés par les souches prélevées sur caféiers et agrumes, les cellules sont plus dispersées et entourées d'une matrice d'exoploymères sécrétée par des cellules individuelles ou un petit groupe de cellules dès les premiers stades de développement du biofilm [Marques et al., 2002].

Le passage d'un mode de vie libre à un mode de vie sous forme de biofilm est très contrôlé, et il est lié à la densité de bactéries : plus elle est élevée et plus la formation de biofilm est importante et plus fort est l'attachement entre les bactéries [Chatterjee et al., 2008a, Ionescu et al., 2014]. La formation de pili est induite par « quorum sensing densité dépendant » [Scala et al., 2020] et elle est également liée à la capacité des bactéries à établir des liens entre elles et donc à la distance entre les cellules [Anbumani et al., 2021].

Le processus de déclenchement de la formation de biofilm limite la virulence de *Xylella fastidiosa* dans la plante [Guilhabert and Kirkpatrick, 2005, Newman et al., 2004]. Cette régulation de la colonisation expliquerait le fait que la bactérie semble « moins pathogène » que d'autres bactéries avec une colonisation de seulement 10 à 15 % des vaisseaux de la plante [Newman et al., 2003]. De plus, alors que les petites colonies sont composées de bactéries vivantes, les biofilms sont majoritairement composés de cellules mortes [Chatterjee et al., 2008a].

2.4.2.1 Biofilm VS vie libre : des signes de commensalisme ?

Nous venons de voir que des mécanismes dépendant de la densité de bactéries (formation de biofilms) limitent la colonisation de la plante par *Xylella fastidiosa*. [Anbumani et al., 2021, Chatterjee et al., 2008a, Newman et al., 2004, Scala et al., 2020]. De plus, la présence d'excrétion de molécules pathogènes par *Xylella fastidiosa* n'a jamais été montrée et est peu probable [Newman et al., 2003].

Ainsi, ce « mode de vie » de la bactérie laisse penser à du commensalisme plus qu'à du parasitisme [Castro et al., 2021, Roper et al., 2019]. Contrairement au parasitisme où un partenaire est impacté négativement par la présence du second, dans une relation commensale l'un des deux partenaires retire un avantage de la relation sans nuire au second. En effet, bien que la bactérie colonise de nombreuses plantes cultivées, avec pour conséquence de forts enjeux socio-économiques et patrimoniaux (selon la souche de bactérie), elle est également en capacité de coloniser de nombreuses autres plantes de milieux semi-naturels qui sont pour la plupart asymptomatiques ce qui indique qu'elles sont peu affectées par la présence de la bactérie.

Il reste donc à accomplir un important travail de recherche pour connaître et comprendre l'ensemble des phénomènes qui impactent les relations plantes hôtes – bactérie et

leur variabilité selon les espèces de plantes hôtes et les souches bactériennes considérées [Almeida et al., 2019]. La majorité des connaissances disponibles sur les mécanismes moléculaires ont été mises en évidence sur vigne et sur agrumes en Amérique. Par exemple, le séquençage des génomes de certaines souches de *Xylella fastidiosa* a permis de démontrer que chez la sous-espèce *pauca* sur agrumes (souche 9a5c) une protéine polygalacturonase est non fonctionnelle contrairement au cas de la sous-espèce *fastidiosa* sur vigne (souche Temecula). Or cette protéine serait liée à la virulence de la bactérie, ceci expliquerait que la souche 9a5c soit moins virulente sur les agrumes que la souche Temecula sur vigne [Van Sluys et al., 2003]. Avec l'arrivée de la bactérie en Europe, des expérimentations sont mises en place sur la sous-espèce *multiplex*, avec l'étude de souches italiennes à l'origine de l'OQDS [Giampetruzzi et al., 2015] et avec l'isolement de souches sur oliviers et le séquençage de leur génome [O'Leary et al., 2020].

Enfin, bien que certaines connaissances acquises sur la bactérie soient transférables d'une souche à l'autre [Esteves et al., 2019], il serait intéressant d'étudier en détail les interactions entre la bactérie et ses espèces hôtes asymptomatiques (le plus souvent dans les zones semi-naturelles et qui ne sont donc pas d'intérêt agronomique) afin de comprendre la différence entre les situations où la bactérie est commensale et celles où elle « devient » parasite avec le développement de symptômes et parfois la mort du végétal [Castro et al., 2021].

Encadré 6 : Les points essentiels – *Xylella fastidiosa* et ses interactions avec les plantes hôtes

1. *Xylella fastidiosa* est à l'origine de symptômes typiques de déssechement de la plante difficilement discernables de symptômes liés au stress hydrique ; cependant certaines espèces de plantes sont asymptomatiques.
2. La bactérie est présente sous deux formes de vie dans la plante : une forme de vie libre liée à la colonisation de la plante et une forme de vie en biofilm induite par des mécanismes de régulation densité-dépendants.
3. *Xylella fastidiosa* présente des signes de commensalisme et n'apparaît pas comme un pathogène au sens strict (absence de mise en évidence d'excrétion de molécules pathogènes).

Pour terminer, cette sous-section montre que les différents modes de vie de la bactérie ont des implications pour les interactions plantes - *Xylella fastidiosa* mais ils ont également des implications pour les interactions insectes vecteurs - bactérie. En effet, *Xylella fastidiosa* est acquise et transmise par les insectes, seulement lorsqu'elle est sous forme de biofilm [Chatterjee et al., 2010]. Ces interactions insectes-bactérie seront donc présentées dans la prochaine sous-section.

2.5 Une bactérie transmise par des insectes vecteurs piqueurs suceurs de sève brute

Xylella fastidiosa peut être potentiellement transmise par l'ensemble des insectes piqueurs suceurs de sève brute (insectes de la super-famille des Cercopoideae et des Cicadoidae et de la sous-famille des Cicadellidae Cicadellinae) [Backus et al., 2015, Cornara et al., 2019, Krugner et al., 2019, Raven, 1983, Redak et al., 2004]. Sur le continent américain, deux vecteurs principaux de la sous-famille des Cicadellidae sont identifiés : *Graphocephala atropunctata* [Severin, 1949b] et *Homalodisca vitripennis* (*H. coagulata* avant 2006 [Takiya et al., 2006]) [Purcell, 1975]. Sur le continent européen, c'est un insecte vecteur de la famille des Aphrophoridae qui est principalement impliqué dans la propagation de la bactérie : *Philaenus spumarius* [Cornara et al., 2016, Cornara et al., 2017a, Severin, 1950], celui-ci étant également présent sur le continent américain mais avec une implication moindre dans la propagation de la bactérie [Redak et al., 2004]. Néanmoins, il existe sur le continent américain de nombreuses autres espèces vectrices de la bactérie dont *Draeculacephala minerva* [Daane et al., 2011, Purcell, 1980]. Cette espèce est relativement abondante dans les zones herbacées, notamment à proximité des cultures d'amandiers américaines [Purcell and Frazier, 1985], et une espèce proche, *Draeculacephala robinsoni*, a été détectée en Europe récemment [Rösch et al., 2022].

De façon analogue aux recherches en bactériologie qui sont plus importantes sur le continent américain et focalisées sur quelques souches de la bactérie, les recherches en entomologie sont plus importantes aux États-Unis notamment sur les insectes vecteurs *Homalodisca vitripennis* et *Graphocephala atropunctata* [Redak et al., 2004]. Or, ces insectes présents aux États-Unis et majoritairement impliqués dans sa transmission sont

absents en Europe [Almeida et al., 2019]. Néanmoins, tous les insectes vecteurs de la bactérie étant des insectes xylémiques piqueurs suceurs [Redak et al., 2004], certaines connaissances sont transférables d'une espèce à l'autre. Par exemple, la morphologie buccale des insectes vecteurs européens et américains est similaire [Ranieri et al., 2020] ; en revanche, leur écologie est spécifique [Severin, 1949a, Weaver and King, 1954].

2.5.1 *Xylella fastidiosa* : acquisition et transmission par les insectes vecteurs

Le rôle des insectes vecteurs dans la transmission de la bactérie a été mis en évidence dès les années 1940 [Hewitt et al., 1949, Houston et al., 1947]. Dans les années 1980-1990, de nombreuses études aux États-Unis ont décrit le mode de vie de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs. Les colonies de bactéries sont limitées aux pièces buccales de l'insecte (cibarium et pré-cibarium) [Almeida and Purcell, 2006, Purcell et al., 1979] où elles sont « attachées » à sa cuticule. Cette localisation est identique chez de nombreuses espèces d'insectes vecteurs (*Oncometopia nigricans* et *Homalodisca vitripennis* insectes vecteurs américains [Brlansky et al., 1983, Brlansky et al., 1982], *Philaenus spumarius* insecte vecteur européen [Cornara et al., 2017b]). La bactérie est donc non-circulante dans les insectes. Le fait qu'elle soit accrochée à la cuticule implique qu'elle est perdue lors de la mue entre chaque stade immature et lors du passage à l'état adulte [Purcell, 1979]. Elle n'est pas non plus transmissible de l'adulte aux œufs de la génération suivante [Purcell, 1979]. Enfin, bien que la bactérie soit confinée aux pièces buccales de l'insecte et qu'elle s'y multiplie [Chatterjee et al., 2008a, Hill and Purcell, 1995], sa transmission ne nécessite pas de temps de latence [Killiny et al., 2012].

Pour comprendre les mécanismes impliqués dans la persistance de la bactérie dans l'insecte vecteur, des études ont été menées sur le rôle de différents gènes via la suppression ou l'amplification de leur expression. Le gène *rpfF* est impliqué dans l'émission d'un signal à l'origine de la mise en place des biofilms pour limiter la virulence de la bactérie dans la plante [Newman et al., 2004]. L'absence de ce gène implique une hypervirulence de la bactérie dans les plantes. Newman et collaborateurs (2003) ont également montré que l'absence du gène *rpfF* inhibe la transmission de la bactérie par les insectes vecteurs. A l'aide de la microscopie électronique, les auteurs ont noté une absence de la bactérie dans le cibarium des insectes en cas de mutation du gène *rpf*F [Newman et al., 2003].

Cette expérimentation montre la nécessité de la formation de biofilms par la bactérie pour constituer des colonies dans le cibarium de l'insecte. Mais l'équilibre entre l'adhésion des bactéries et leur mode de vie libre est ténu puisque, si elles adhèrent trop à la paroi du xylème des végétaux, elles ne sont pas acquises par les insectes vecteurs. En effet, des « morceaux de biofilms » sont probablement arrachés par le flux de sève dans la plante et ce sont ces bactéries « adhésives » qui sont prélevées par l'insecte et qui colonisent le pré-cibarium [Chatterjee et al., 2008b]. Bien que les colonies bactériennes puissent être composées de milliers de cellules, seules 200 bactéries viables sont suffisantes pour que la colonie puisse s'installer dans le pré-cibarium de l'insecte vecteur [Redak et al., 2004].

Plus largement, les mêmes mécanismes moléculaires régissent à la fois la vie de la bactérie dans la plante et dans les insectes avec des implications parfois « antagonistes », dues à un compromis évolutif entre les forces en présence. Les mécanismes de limitation de la colonisation de la plante sont aussi à l'origine de la capacité d'acquisition et de transmission de la bactérie par l'insecte vecteur. La formation de biofilms et l'adhésion de la bactérie doivent être conséquentes pour résister au flux de sève lié au nourrissage de l'insecte, afin qu'elle puisse coloniser le pré-cibarium et y persister [Killiny and Almeida, 2014]. Le flux de sève dans la bouche des insectes vecteurs de la bactérie est estimé à plusieurs cm/s (environ 8cm/s chez *Graphocephala atropunctata* [Purcell et al., 1979] et *Philaenus spumarius* [Ranieri et al., 2020], 30-50cm/s chez *Homalodisca vitripennis* [Andersen et al., 1992]). *Philaenus spumarius* peut ingérer 150 à 280 fois son poids en 24h [Horsfield, 1978] quand *Homalodisca vitripennis* a une capacité d'ingestion équivalente à 100 à 300 fois son poids par jour [Brodbeck et al., 1993] et cette capacité d'ingestion peut aller jusqu'à 1 000 fois pour certaines espèces d'insectes xylémiques [Horsfield, 1978].

La propagation de la bactérie par les insectes vecteurs est réalisée en trois étapes : l'acquisition de la bactérie, sa multiplication dans l'insecte et enfin son inoculation dans une autre plante [Killiny and Almeida, 2014].

Deux mécanismes de transmission potentiels ont été mis en évidence chez *Homalodisca vitripennis*. La bactérie peut être retransmise à une autre plante quelques minutes après son acquisition sur une plante infectée. Dans ce premier cas, la bactérie n'est pas installée dans le cibarium de l'insecte. Une fois la bactérie installée, elle se multiplie et après

quelques heures à quelques jours, elle peut être retransmise avec un mécanisme de salivation et d'éjection par l'insecte vecteur [Backus et al., 2015, Chatterjee et al., 2008a]. La capacité de transmission d'un insecte vecteur ne dépend pas de la souche de la bactérie [Redak et al., 2004], comme cela a été démontré chez *Homalodisca vitripennis* [Almeida and Purcell, 2003b, Almeida and Purcell, 2003a, Costa et al., 2000, Damsteegt et al., 2006] ou encore chez *Philaenus spumarius* [Cornara et al., 2016, Cornara et al., 2017a].

Bien que la capacité d'ingestion chez les espèces d'insectes vecteurs américains et européens soit globalement similaire, il existe des différences notables entre ces espèces. Alors que l'insecte vecteur américain *Graphocephala atropunctata* abrite des populations d'un millier de bactéries dans son cibarium [Labroussaa et al., 2017, Retchless et al., 2014], la taille de population dans le cibarium de *Philaenus spumarius* n'est que d'une centaine de bactéries [Cornara et al., 2016, Saponari et al., 2014]. Des différences dans l'écologie des vecteurs telles que la phénologie ou la dynamique des populations peuvent également avoir un fort impact sur la propagation de la bactérie [Purcell and Feil, 2001].

2.5.2 Les insectes vecteurs de *Xylella fastidiosa*

Les prochaines sous-sections vont porter un intérêt à l'écologie et à la phénologie des insectes vecteurs en lien avec l'épidémiologie des maladies dues à *Xylella fastidiosa*. En premier lieu, les recherches concernant les insectes vecteurs américains seront présentées puis celles menées sur *Philaenus spumarius*, principal vecteur en Europe.

2.5.2.1 Sur le continent américain, en Californie : un insecte vecteur endémique et un insecte vecteur invasif

***Graphocephala atropunctata* : vecteur endémique en Californie**

Graphocephala atropunctata est l'insecte vecteur endémique impliqué dans la propagation de *Xylella fastidiosa* en Californie [Purcell, 1975]. Il est majoritairement présent dans les zones humides, telles que les ripisylves ou encore dans les habitats côtiers [Winkler, 1949]. Cet insecte est également présent dans les vignes à proximité de zones humides [Purcell, 1974, Purcell, 1975]. *Graphocephala atropunctata* est une espèce univoltine [Severin, 1949a]. Elle est largement polyphage [Severin, 1949a, Winkler, 1949] et

se nourrit sur les nouvelles pousses des plantes au niveau des pétioles ou des nervures [Purcell, 1975]. Quelques plantes clés ont été identifiées comme étant des hôtes privilégiés de *Graphocephala atropunctata* en zones humides : le mûrier (*Rubus* spp.), le sureau (*Sambucus* spp.), le raisin sauvage (*Vitis californica* Bentham), l'armoise (*Artemesia douglasiana* Besser) et l'ortie (*Urtica* spp.) [Purcell, 1976]. Toutes ces caractéristiques concernant son régime alimentaire et sa phénologie ont été mises en évidence en Californie du Nord et ce n'est qu'à partir de 2006 que ces informations biologiques ont été confirmées en Californie du Sud où les conditions climatiques sont différentes [Boyd and Hoddle, 2006]. Or ces connaissances sont importantes puisque *Graphocephala atropunctata* est largement impliquée dans les premiers épisodes épidémiques dus à *Xylella fastidiosa* dans les vignes au sud de la Californie dans les années 1800 [Pierce, 1892]. C'est également en 2006 que des parasitoïdes d'œufs naturellement présents en Californie et associés à *Graphocephala atropunctata* sont signalés [Boyd and Hoddle, 2006]. Néanmoins, dès 1999, des solutions de lutte contre cet insecte ont été mises en œuvre avec l'aménagement des habitats en zones humides et le remplacement des plantes privilégiées par l'insecte pour l'oviposition par des plantes non favorables [Purcell and McBride, 1999]. Aujourd'hui des travaux de gestion de cet insecte sont toujours menés [Daugherty, 2021]. Ils sont rarement publiés dans des revues scientifiques mais plus souvent au sein d'ouvrages de littérature grise telle que l'étude menée en 1999 [Purcell and McBride, 1999] (Matt Daugherty, pers. com.).

Le manque de recherches sur cet insecte vecteur de la bactérie s'explique probablement par l'arrivée et la mise en évidence d'une autre espèce en Californie du Sud : *Homalodisca vitripennis*, à la fin des années 1990 [Blua et al., 2000, Phillips, 1998].

L'introduction d'*Homalodisca vitripennis* en Californie

Une attention particulière a été portée sur *Homalodisca vitripennis* en tant qu'insecte vecteur de la bactérie mais également en tant qu'espèce invasive en Californie [Krugner et al., 2019]. *Homalodisca vitripennis* est endémique du sud-est des États-Unis et du nord du Mexique [Turner and Pollard, 1959]. Cette cicadelle a été mise en évidence à la fin des années 1990 sur les côtes californiennes sur des agrumes [Phillips, 1998, Sorensen and Gill, 1996] puis sur des lauriers roses [Purcell et al., 1999] largement utilisés comme plantes ornementales dans les parcs et jardins. *Homalodisca vitripennis* se nourrit largement sur cette espèce de plante ornementale qui est éga-

lement hôte de *Xylella fastidiosa* [Hendson et al., 2001, Purcell and Feil, 2001]. Tout comme *Graphocephala atropunctata*, *Homalodisca vitripennis* a une large gamme de plantes hôtes [Hoddle et al., 2003, Turner and Pollard, 1959] incluant des plantes ornementales et des espèces cultivées dont les agrumes, les amandiers et la vigne [Almeida and Purcell, 2003b, Purcell and Saunders, 1999].

Néanmoins, contrairement à *Graphocephala atropunctata*, *Homalodisca vitripennis* a la capacité de se nourrir sur les tiges des plantes [Turner and Pollard, 1959] et n'est donc pas limité aux pétioles et aux nervures. Ce mode d'alimentation permet une meilleure survie de la bactérie lors de la période hivernale. Les tiges des plantes sont moins affectées par la taille hivernale des vignes et constituent donc un habitat favorable à la bactérie [Purcell and Saunders, 1999]. De plus, deux à trois générations d'insectes se succèdent au cours d'une année [Gutierrez et al., 2011, Hummel et al., 2006, Pilkington et al., 2014] ce qui induit une transmission de la bactérie même en hiver. En effet, *Homalodisca vitripennis* a la capacité de se nourrir sur des vignes dormantes [Blua et al., 2000, Turner and Pollard, 1959] mais également de transmettre *Xylella fastidiosa* à ces végétaux [Redak et al., 2004]. Cet insecte est capable de produire des œufs tout au long de sa vie [Krugner, 2010, Sétamou and Jones, 2005] mais il ne se reproduit pas en hiver, période durant laquelle les populations d'insectes sont donc constantes voire réduites [Hummel et al., 2006, Sisterson, 2008b]. Concernant la régulation des populations d'insectes, il existe des parasitoïdes d'œufs associés à *Homalodisca vitripennis* [Phillips, 1998, Triapitsyn et al., 1998, Triapitsyn and Phillips, 2000].

Ainsi, plusieurs différences phénologiques et comportementales entre *Homalodisca vitripennis* et *Graphocephala atropunctata* sont à l'origine d'une variabilité dans la transmission de *Xylella fastidiosa*. Le fait qu'*Homalodisca vitripennis* ne soit pas restreinte aux zones humides ou à leur voisinage et qu'elle puisse vivre en milieu urbain et en parcelle d'agrumes [Blua et al., 2000, Park et al., 2006] favorise une propagation de la bactérie sur un territoire plus vaste [Chatterjee et al., 2008a]. Ainsi, les vignes à proximité de cultures d'agrumes représentent des zones à risques d'infection [Perring et al., 2001, Sisterson et al., 2008]. Par ailleurs, sa phénologie multivoltine implique une potentielle transmission de la bactérie même l'hiver [Hopkins and Purcell, 2002]. L'ensemble de ces caractéristiques font d'*Homalodisca vitripennis* un insecte vecteur de *Xylella fastidiosa* particulièrement efficace [Hopkins and Purcell, 2002].

2.5.2.2 En Europe : la mise en lumière de *Philaenus spumarius* avec l'arrivée de *Xylella fastidiosa*

En Europe, l'insecte vecteur principal de la bactérie est le cercope des prés, *Philaenus spumarius* [Saponari et al., 2014]. Néanmoins, avant d'attirer l'attention sur ce continent sur lequel il est endémique, il a été étudié aux États-Unis où il est considéré comme un insecte ravageur des cultures et notamment des luzernières [Weaver and King, 1954, Wiegert, 1964b]. Ainsi, les premières études sur la phénologie et l'écologie de cet insecte ont été conduites aux États-Unis au milieu du XX^{e} siècle [Weaver and King, 1954].

En Europe, *Philaenus spumarius* est ubiquiste [Maryańska-Nadachowska et al., 2012, Rodrigues et al., 2014] et largement polyphage [Yurtsever, 2000, Weaver and King, 1954]. L'espèce est univoltine sur la majorité du continent [Cornara et al., 2018a] mais bivoltine en Grèce où le climat est plus doux [Drosopoulos and Asche, 1991]. *Philaenus spumarius* n'était pas considéré comme un ravageur des cultures avant l'arrivée de *Xylella fastidiosa* sur le territoire [Saponari et al., 2014]. Aujourd'hui, cet insecte devient un objet de recherche [Cornara et al., 2017b, Cruaud et al., 2018] en tant qu'insecte vecteur de la bactérie de quarantaine prioritaire numéro 1 en Europe [EFSA, 2015]. Des tests de vection ont été menés en laboratoire afin de confirmer sa capacité d'acquisition mais aussi de transmission de la bactérie, sur vigne en premier lieu [Cornara et al., 2016] et sur oliviers, amandiers et orangers [Cornara et al., 2017a].

En Italie, pays fortement touché par l'OQDS, cet insecte est largement présent dans les oliveraies à des densités très importantes [Bodino et al., 2019]. *Philaenus spumarius* se déplace lors de vols sur de courtes distances de quelques dizaines de mètres [Weaver and King, 1954]. Une étude de capture – marquage – recapture en oliveraies en Italie a montré que *Philaenus spumarius* se déplaçait de moins d'une centaine de mètres en 15 jours [Plazio et al., 2017]. Néanmoins, d'autres données indiquent qu'il pourrait se déplacer en un seul vol de 100 m à 1 km [Cornara et al., 2019]. Or les capacités migratoires des insectes ont un impact important dans l'expansion des maladies vectées [Chapman et al., 2015]. En effet, la propagation de la bactérie dans l'environnement est fortement liée à la capacité de mouvement de l'insecte vecteur et à ses déplacements [Finke, 2012]. Les larves de cet insecte sont beaucoup moins mobiles que les adultes.

Elles se déplacent de quelques dizaines de centimètres, ce qui est néanmoins suffisant pour passer d'une plante à l'autre [Bodino et al., 2017] et donc potentiellement propager la bactérie.

En Europe, *Philaenus spumarius* n'est pas le seul insecte vecteur de *Xylella fastidiosa*. *Neophilaenus campestris* et *Philaenus italosignus* ont aussi été identifiés comme des vecteurs de la bactérie [Cavalieri et al., 2019] et de nombreuses espèces d'insectes xylémiques en sont également de potentiels vecteurs [Cornara et al., 2019]. Cependant, la mise en place de tests de vection est longue et complexe et nécessite des infrastructures spécialisées et coûteuses ce qui explique que seul un petit nombre d'espèces aient été testées. Enfin, bien que les cigales (Cicadidae) aient été identifiées comme potentiellement vectrices de la bactérie [Stancanelli et al., 2015], leur rôle dans la transmission de *Xylella fastidiosa* serait très limité et il est aujourd'hui encore discuté [Cornara et al., 2020b].

Encadré 7 : Les points essentiels – *Xylella fastidiosa* transmise par des insectes vecteurs

1. *Xylella fastidiosa* est potentiellement transmise par l'ensemble des insectes piqueurs suceurs de sève brute.
2. En Europe, la bactérie est largement transmise par *Philaenus spumarius*, polyphage et ubiquiste.
3. Sur le continent américain, elle est largement transmise par *Graphocephala atropunctata* et *Homalodisca vitripennis.* L'introduction de ce dernier en Californie a modifié l'épidémiologie de la maladie de Pierce avec une augmentation de la transmission de la bactérie et des symptômes associés.
4. La transmission de la bactérie par les insectes peut être immédiate suite à son acquisition ou différée après sa multiplication dans le cibarium de l'insecte.

2.6 Une bactérie au cœur de réseaux d'interactions complexes

Les précédentes sous-sections se sont attachées à décrire successivement les relations plantes hôtes – bactérie et insectes vecteurs – bactérie mais aussi insectes – plantes hôtes. Ces interactions sont interdépendantes et interviennent au sein de réseaux d'interactions (figure 10) [Farigoule et al., 2020]. Dans les prochaines sous-sections, nous allons examiner les réseaux d'interactions qui impliquent *Xylella fastidiosa* afin de proposer une vision plus « globale » des interactions entre les acteurs biologiques et leurs implications dans la propagation de la bactérie. Pour cela, il est important de prendre en compte à la fois les zones cultivées et les milieux adjacents mais également les facteurs abiotiques avec l'impact du climat.

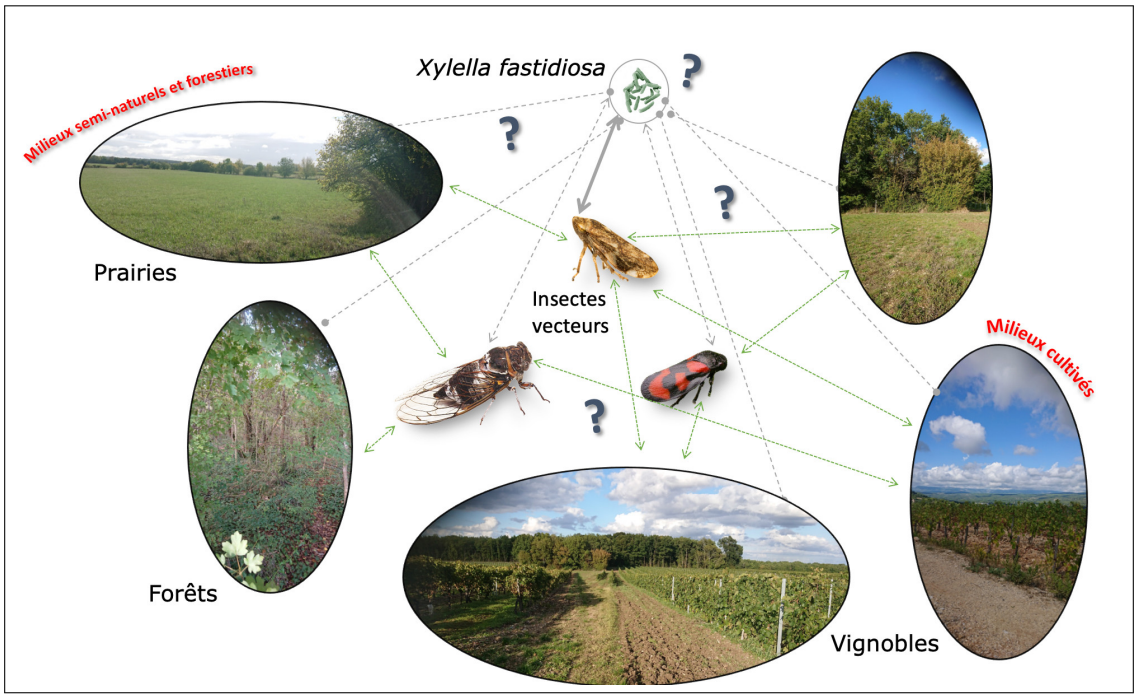


FIGURE 10: Réseaux d'interactions impliquant potentiellement *Xylella fastidiosa*

2.6.1 Une large gamme de plantes hôtes et des insectes vecteurs polyphages : des milieux cultivés aux milieux adjacents semi-naturels ou urbanisés

La capacité de colonisation de centaines de plantes hôtes [EFSA et al., 2022] associée à des insectes vecteurs ubiquistes et largement polyphages [Hoddle et al., 2003, Severin, 1949a, Turner and Pollard, 1959, Winkler, 1949, Yurtsever, 2000] implique une transmission de *Xylella fastidiosa* au sein des milieux cultivés, semi-naturels et urbains mais également d'un milieu à un autre lorsqu'ils sont adjacents.

Il est important de différencier les milieux cultivés des milieux réservoirs de la bactérie. Ces derniers sont des milieux semi-naturels ou urbanisés qui permettent son maintien voire son développement malgré des mesures de lutte dans les parcelles cultivées [Blua et al., 2000, Park et al., 2006]. Contrairement à des maladies majoritairement présentes en zones cultivées telles que la flavescence dorée [Chuche and Thiéry, 2014], la surveillance et l'étude de *Xylella fastidiosa* doivent également être effectuées hors des zones agricoles ; elle implique alors de nombreuses professions (agriculteurs, gestionnaires d'espaces verts, etc.) ainsi que les particuliers.

La compréhension des réseaux d'interactions impliquant *Xylella fastidiosa* est également rendue compliquée par le fait que les symptômes qu'elle provoque sont similaires à des dessèchements des plantes [Chauvel et al., 2015]. Sans analyse de laboratoire, il est impossible de confirmer la présence de la bactérie. De plus, l'identification à l'œil nu de la présence de celle-ci n'est pas possible pour les espèces de plantes hôtes asymptomatiques, ou avant l'expression de symptômes qui peut prendre plusieurs mois après l'inoculation [Baldi and La Porta, 2017, Schaad et al., 2002]. Ces espèces de plantes sont le plus souvent présentes dans des milieux semi-naturels ce qui rend difficile l'identification de ces « réservoirs » [Castro et al., 2021]. Or, ces informations sont nécessaires à la compréhension de l'épidémiologie de la bactérie et de sa propagation. Ainsi, la ressemblance des symptômes avec des dessèchements mais également leur absence chez certaines espèces de plantes hôtes compliquent largement la compréhension des réseaux d'interactions et l'épidémiosurveillance.

Il est intéressant de noter que la spécificité des souches de *Xylella fastidiosa* vis-à-vis de certaines plantes hôtes, probablement contrôlée génétiquement, peut varier et évoluer [Killiny and Almeida, 2011, Li et al., 2002]. Par ailleurs, les bactéries ont la capacité d'échanger du matériel génétique par recombinaison [Jacques et al., 2016]. De tels évènements de recombinaison pourraient conduire à modifier les spécificités d'hôtes et compliquer la mise en place de mesure de gestion. Ces mécanismes sont encore mal connus et un important travail de recherche est nécessaire afin de mieux évaluer le risque de recombinaison entre les souches de *Xylella fastidiosa* [Vanhove et al., 2019].

2.6.2 L'impact des facteurs abiotiques sur les interactions : le rôle du climat

Les interactions entre les plantes hôtes, les insectes vecteurs et la bactérie se déroulent dans un contexte abiotique, et notamment climatique, qui peut avoir un effet notable sur la dynamique et l'évolution du pathosystème [Martinetti and Soubeyrand, 2019]. En effet, la température impacte le développement et la survie de la bactérie et des insectes vecteurs. Les apports hydriques de la plante influent à la fois sur les interactions plantes – bactérie et sur les interactions plantes – insectes vecteurs. Ainsi, les facteurs climatiques jouent un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie [Coletta-Filho et al., 2020].

2.6.2.1 L'impact de la température sur la bactérie et ses insectes vecteurs

En premier lieu, les faibles températures impactent la survie de la bactérie. Des expérimentations ont été menées *in vitro* et démontrent que la taille des colonies de bactéries diminue lorsque la température est en dessous de 10°C et cette diminution est plus forte avec des températures à 5°C [Feil and Purcell, 2001]. Ces expérimentations démontrent également que la croissance de la bactérie est optimale à 27-28°C avec un temps de doublement de la taille de la colonie d'environ 5 heures contre 10 heures à 21°C et 17 heures à 18°C. Ces résultats ont été confirmés par des expérimentations d'inoculation de la bactérie à des vignes en pot, en conditions contrôlées : lorsque la température est inférieure à 10°C, les populations de bactéries diminuent et cette diminution est plus forte lorsque les plantes sont maintenues à 5°C [Feil and Purcell, 2001, Wistrom and Purcell, 2005]. Ces résultats de curage hivernal (« cold-curing ») ont été confirmés, aux champs, sur vigne aux États-Unis [Anas et al., 2008, Lieth et al., 2011] et sur sycomores [Henneberger et al., 2004]. De plus, de façon empirique, une forte diminution des symptômes a été observée sur les vignes infectées et symptomatiques à l'automne et qui ont par la suite subi des conditions de températures négatives en hiver [Purcell, 2013]. Cependant, ces résultats sont variables d'une souche de bactérie à l'autre bien que les tendances soient conservées [Feil and Purcell, 2001, Román Ecija et al., 2019]. De plus, la période d'inoculation du cep de vigne impacte la diminution des symptômes suite au curage hivernal : un cep de vigne inoculé tardivement dans la saison de croissance de la plante est susceptible de mieux se rétablir suite au curage hivernal. Néanmoins, les mécanismes moléculaires à l'origine de ce phénomène de curage hivernal ne sont pas complètement compris [Purcell, 2013].

Enfin, la survie de la bactérie est également affectée en cas de fortes températures qui peuvent également être létales pour les plantes colonisées [Feil and Purcell, 2001].

Les températures impactent aussi le développement et la survie des insectes vecteurs. Au stade larvaire, *Philaenus spumarius* est très sensible à la chaleur et au manque d'humidité : les amas spumeux formés (aussi appelés crachats de coucou) permettent aux larves de maintenir un environnement humide propice à leur développement [Weaver and King, 1954].

De plus, pour les espèces univoltines - dont *Philaenus spumarius* -, les températures hivernales froides impliquent la mort de l'ensemble des adultes. La génération suivante passe l'hiver sous forme d'œuf et émergera au printemps suivant [Yurtsever, 2000]. Lors de la période estivale, les adultes de *Philaenus spumarius* changent d'habitat avec un passage des plantes sèches, notamment au pied des oliviers en Italie vers des plantes turgescentes et des milieux plus frais - dont la canopée des oliviers - [Bodino et al., 2019, Gargani et al., 2021, Morente et al., 2018, Weaver and King, 1954]. Les études concernant le comportement et la phénologie de *Philaenus spumarius* sont peu nombreuses et certains résultats doivent être confirmés [Cornara et al., 2018a, Weaver and King, 1954]. Certaines observations de terrain restent aujourd'hui sans explication ; c'est le cas de la « disparition » de *Philaenus spumarius* en Corse durant la période estivale, sans que le lieu d'estivation des individus (et les plantes hôtes associées) n'aient été mis en évidence lors des prospections effectuées à cette période [Albre et al., 2021, Chauvel et al., 2015]. Pour ce qui est des espèces ayant plusieurs générations par an, telles qu'*Homalodisca vitripennis* ou *Philaenus spumarius* dans certaines régions, les insectes peuvent transmettre la bactérie en revanche, ils ne se reproduisent pas en hiver [Hummel et al., 2006, Sisterson et al., 2008]. Avec le changement climatique et l'augmentation des températures hivernales, la survie de *Philaenus spumarius* pourrait être plus importante l'hiver et/ou le nombre de générations annuelles pourrait augmenter [Drosopoulos and Asche, 1991] ce qui impacterait l'épidémiologie de la maladie [Daugherty and Almeida, 2019].

2.6.2.2 L'impact du stress hydrique chez les plantes

Les plantes soumises à la fois à un stress hydrique et à une infection par *Xylella fastidiosa* développent des symptômes de dessèchement plus importants [Choi et al., 2013]. Néanmoins, la symptomatologie diffère selon les variétés et notamment selon la résistance de la variété vis-à-vis du stress hydrique. De Pascali et collaborateurs (2022, 2019) ont montré qu'une variété d'oliviers sensible au stress hydrique était plus résistante face à une infection de la bactérie. Cette étude montre que la réponse de la plante face à la bactérie et à un stress hydrique mobilise des voies métaboliques similaires et/ou en interactions. Ainsi, la faible résistance au stress hydrique conduit à l'activation de voies de défense alternatives de la plante face à la présence de *Xylella fastidiosa* [De Pascali et al., 2022, De Pascali et al., 2019].

De plus, les plantes présentant des dessèchements dus à un stress hydrique et/ou à la présence de la bactérie sont moins appétentes pour les insectes vecteurs ce qui impacte la propagation de la bactérie [Daugherty et al., 2011, Sisterson, 2008a]. Cependant, il a aussi été démontré que lorsque *Homalodisca vitripennis* se nourrit sur un cep de vigne en stress hydrique modéré, l'efficacité d'acquisition de la bactérie peut être augmentée [Del Cid et al., 2018]. En revanche, en cas de stress hydrique intense, l'efficacité de transmission diminue [Krugner and Backus, 2014] ainsi, l'irrigation des plantes cultivées impacte l'épidémiologie de la maladie et sa transmission.

2.6.2.3 L'impact des conditions climatiques sur la transmission de la bactérie et les interactions plantes – insectes vecteurs

Les effets de la température sur le comportement alimentaire de *Philaenus spumarius* sont inconnus et seules des études sur les insectes vecteurs américains ont été menées. Avec les hausses des températures, la population de bactéries pourrait croître plus rapidement dans les plantes infectées qui deviendraient alors plus rapidement une source d'infection et favoriserait *in fine* la propagation de la bactérie [Daugherty et al., 2017]. Par ailleurs, chez les insectes vecteurs américains, des températures plus élevées favorisent leur activité de vol, leur alimentation ainsi que leurs chances de survie l'hiver [Gruber and Daugherty, 2013, Son et al., 2012, Son et al., 2010, Son et al., 2009]. Il a également été démontré que plus une plante est piquée par des insectes vecteurs infectés, plus elle développe des symptômes importants rapidement [Costa et al., 2000].

Tous ces résultats impliqueraient une forte augmentation de la propagation de la bactérie avec une hausse des températures cependant, elle serait contrebalancée par le fait que le développement de symptômes rendrait la plante moins appétente pour l'insecte [Daugherty et al., 2017, Krugner and Backus, 2014]. Ainsi, les insectes se nourriraient préférentiellement sur des plantes saines ce qui réduirait la transmission de la bactérie. Mais de nombreuses plantes sont asymptomatiques, ce qui complique la compréhension du système [Sicard et al., 2018] et la prédiction ou l'anticipation des effets du changement climatique sur l'épidémiologie de la bactérie.

2.6.2.4 L'utilisation des données de terrain pour la modélisation

Les données acquises en laboratoire (tests de vection, de préférences alimentaires des vecteurs) et sur le terrain (occurrence de la bactérie et ses insectes vecteurs) permettent d'enrichir directement les connaissances concernant la bactérie, ses plantes hôtes, ses insectes vecteurs et d'alimenter des modèles [Daugherty et al., 2017]. Ces modèles permettent de produire de nouvelles connaissances et notamment réaliser de la prédiction par exemple, des zones favorables à la présence d'une espèce [Godefroid et al., 2021, Godefroid et al., 2019].

Les occurrences de la bactérie d'une part et de *Philaenus spumarius* d'autre part alimentent des SDMs (Species Distribution Models) qui mettent en évidence des aires géographiques climatiquement favorables à la présence et au développement de la bactérie ou de son insecte vecteur [Godefroid et al., 2021, Godefroid et al., 2019, Godefroid et al., 2022].

Ainsi, la superposition des cartes des zones favorables à la bactérie et à ses insectes vecteurs permet de mettre en lumière les zones les plus à risque concernant la propagation de *Xylella fastidiosa* en cas d'introduction dans le milieu. Les SDMs permettent également de prendre en compte les scénarios climatiques futurs et ainsi d'évaluer l'évolution des aires géographiques favorables à la bactérie et/ou à ses insectes vecteurs [Godefroid et al., 2021, Godefroid et al., 2022]. Certaines zones propices au développement de *Xylella fastidiosa*, au sud de la zone méditerranéenne, ne sont pas favorables à *Philaenus spumarius*, ce qui expliquerait que ces régions n'aient pas connues de flambée épidémique. De plus, le changement climatique en cours devrait modifier la répartition de ces aires géographiques favorables à la bactérie et à ses insectes vecteurs [Cruaud et al., 2018, Godefroid et al., 2021, Godefroid et al., 2022,

Karban and Strauss, 2004, Pilkington et al., 2014] et donc les zones à risques et l'épidémiologie de la maladie.

Encadré 8 : Les points essentiels – *Xylella fastidiosa* au cœur de réseaux d'interactions complexes

1. *Xylella fastidiosa* est au cœur de réseaux d'interactions multiples et complexes en milieux cultivés et semi-naturels avec des insectes vecteurs polyphages et ubiquistes en Europe.
2. Ces réseaux d'interactions sont impactés par des facteurs abiotiques tels que les températures (dont un curage hivernal de la bactérie l'hiver).
3. Les aires climatiquement favorables à la bactérie et son principal vecteur en France se recoupent largement et concernent une importante partie du territoire (dont le littoral méditerranéen et la façade Atlantique – variable selon la sous-espèce considérée).

3 Les objectifs de la thèse

Xylella fastidiosa est à l'origine de pertes agricoles considérables sur le continent américain depuis plus d'un siècle et plus récemment en Europe, depuis les années 2010 où elle a notamment décimé les oliveraies italiennes des Pouilles. De nombreuses études portent sur les plantes cultivées d'intérêt économique majeur. Cependant, il est également essentiel de comprendre la propagation de la bactérie dans les milieux semi-naturels et aux frontières des milieux semi-naturels et cultivés si l'on veut comprendre la dynamique globale de la propagation de la bactérie afin d'être en mesure de bâtir une stratégie efficiente de lutte contre *Xylella fastidiosa.* Aujourd'hui, il n'existe aucun moyen de lutte directe contre la bactérie [Sicard et al., 2021] et les réseaux d'interactions complexes rendent toutes mesures de surveillance ou de lutte difficiles à mettre en œuvre si les connaissances concernant la bactérie, ses plantes hôtes ou ses insectes vecteurs manquent. Par exemple, la lutte contre la bactérie par l'arrachage de végétaux contaminés en parcelles agricoles n'est pas suffisante si *Xylella fastidiosa* est présente à proximité des zones cultivées dans des milieux semi-naturels où les végétaux asymptomatiques mais infectés ne sont pas identifiés et éliminés. Les connaissances concernant la bactérie et ses insectes vecteurs

ont majoritairement été acquises sur le continent américain mais elles ne sont pas toujours transférables en Europe. Ainsi, il est nécessaire de travailler à la compréhension des réseaux d'interactions, en zones infectées par la bactérie et en zones indemnes, en Europe et en France afin de pouvoir mettre au point des méthodes de surveillance et de lutte efficientes contre la propagation de la maladie.

En France, la surveillance et la lutte contre la bactérie *Xylella fastidiosa* sont régies par un ensemble de textes de loi qui sont adaptés de la législation européenne. Aujourd'hui la surveillance de la bactérie est majoritairement effectuée sur les végétaux hôtes de la bactérie. Or, la législation s'appuie sur les productions scientifiques et il est donc important de comprendre comment ces connaissances sont construites et produites pour pouvoir appréhender leur intégration ou non en dehors du monde académique et notamment leur appropriation par le monde institutionnel et législatif.

Cette thèse se propose donc à la fois de présenter une production de connaissances scientifiques sur les insectes vecteurs de la bactérie en écologie avec une étude en zones infectées et une étude en zones indemnes ainsi qu'une analyse sociologique de cette production de connaissances et de leur appropriation en dehors du monde académique. Pour cela, des outils et méthodes issus de l'écologie et de la sociologie sont mobilisés et bien que ces deux disciplines soient à première vue très différentes, leur mobilisation ne sera pas scindée dans différentes parties de la thèse mais agencée en différentes sections. L'objectif est ici d'utiliser la complémentarité des deux disciplines afin d'éclairer une problématique complexe autour de l'arrivée et de la propagation d'un agent phytopathogène, de sa surveillance et de sa gestion.

Le premier objectif de la thèse (partie II) est double avec la mise en place d'une méthode de biologie moléculaire de détection de la bactérie à grande échelle dans ses insectes vecteurs et la compréhension fine de ce processus de production scientifique. La détection de l'agent phytopathogène est cruciale dans la compréhension de l'épidémiologie de la maladie et les travaux présentés répondront aux questions de recherche suivantes :

- Quelle est la prévalence (proportion d'individus infectés par un agent pathogène dans une population donnée) de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs en Corse ?
- Comment expliquer la prévalence de la bactérie dans les insectes au regard des conditions environnementales et évaluer l'impact du changement climatique sur l'évolution de cette prévalence et donc sur l'épidémiologie du pathosystème ?

De plus, la compréhension de « la science en train de se faire » permettra de montrer les enjeux autour de la recherche scientifique mais également comment les résultats sont mobilisés dans la législation (ou quels sont les freins au déploiement de nouvelles méthodes).

Le second objectif de la thèse (partie III) est de prendre en compte les territoires indemnes et donc de comprendre comment *Xylella fastidiosa* pourrait s'y propager avec l'étude des réseaux d'interactions plantes-vecteurs et de répondre aux questions de recherche suivantes :

- Dans quels écosystèmes (cultivés ou semi-naturels) se trouvent les insectes vecteurs de la bactérie ?
- Quels insectes sont présents ? Dans quelles régions ?
- Existe-t-il des différences d'assemblages d'insectes selon les régions, les écosystèmes ?
- Plus précisément quelles sont les interactions plantes – insectes vecteurs ? Comment les mettre en évidence ?

Cette étude « d'anticipation » de la menace représentée par la bactérie notamment pour les régions viticoles françaises sera complétée par une analyse globale du système d'épidémio-surveillance français. En effet, à l'analyse de la production de connaissances sur les insectes vecteurs (partie II) sera ajoutée une analyse plus succinte de la production de connaissance concernant les végétaux et ces analyses seront mises en regard de la législation et aux enjeux portés dans le cadre de l'épidémiosurveillance (par le gestionnaire du risque, les interprofessions, les laboratoires agréés et le laboratoire national de référence).

Partie II

Comprendre la dynamique de l'épidémie de *Xylella fastidiosa* au travers de ses insectes vecteurs : le cas de la Corse

La partie I montre le rôle central de l'insecte vecteur dans la progression des épidémies dues à *Xylella fastidiosa*. En 2015, la bactérie a été détectée en Corse [Chauvel et al., 2015], qui fut donc la première région française touchée. L'émergence de la bactérie a mis en lumière des enjeux autour de sa détection pour la mise en œuvre de mesures d'éradication obligatoires. Cette seconde partie porte un intérêt à *Philaenus spumarius*, pour étudier la situation épidémiologique de l'île avec notamment la mise au point d'une méthode de biologie moléculaire pour détecter la bactérie dans les insectes. Ces recherches académiques sur la détection d'un organisme de quarantaine à lutte obligatoire posent la question de leur mobilisation dans d'autres instances institutionnelles ou réglementaires. La compréhension de leur appropriation passe par une compréhension fine de la construction de ces connaissances, et des contraintes et opportunités qui leurs sont propres. Cette section s'attachera donc à répondre aux questions de recherche suivantes :

1. Quelle est la prévalence (proportion d'individus infectés par un agent pathogène dans une population donnée) de *Xylella fastidiosa* dans son principal insecte vecteur en Corse ?

2. Comment expliquer la prévalence de la bactérie dans les insectes au regard des conditions environnementales et évaluer l'impact du changement climatique sur l'évolution de cette prévalence et donc sur l'épidémiologie du pathosystème ?
3. Comment sont produites les connaissances scientifiques ? Appuyées par quelles ressources matérielles ? Au sein de quelles instances ?

Pour répondre à ces questions, plusieurs années de suivi de la prévalence de la bactérie dans son principal insecte vecteur ont été réalisées en Corse (avant et pendant la période de thèse). Les résultats de ce suivi et de l'impact du climat sur la prévalence seront explicités dans la première section de cette partie et appuyés par une publication scientifique [Farigoule et al., 2022] (annexe B.1 page B1). Sur le plan d'une approche sociologique de la mise en place d'une action publique pour la surveillance et la gestion de la bactérie, la « boîte noire » de la production de connaissances doit être ouverte. Cette description fine permettra de « préparer » l'analyse de l'ensemble du dispositif d'épidémio-surveillance et de la mobilisation des recherches académiques dans d'autres instances. L'ouverture de cette « boîte noire » suppose d'établir une description des faits à l'origine de la production de connaissances ce qui pourrait paraître parfois redondant avec la présentation des résultats d'écologie ou au contraire apporter plus de détails que cette dernière. Cependant, cette « mise en fait » relève de méthodes des STS alors que la présentation des travaux en écologie relève des codes d'écriture de cette discipline (et qui permettent donc de ne pas préciser certains détails techniques par exemple, connus des scientifiques de ce domaine de recherche). Ainsi, les travaux de sociologie reposent sur la contribution affirmée et déclarée d'observations participantes et d'enquêtes sociologiques au plus près des activités scientifiques et dont leur mise en œuvre est « facilitée » par ma positon de recherche transdisciplinaire. Les travaux d'écologie seront présentés dans la première section de cette partie et ceux de sociologie dans une seconde section.

1 La distribution de la bactérie en Corse : un suivi de la prévalence grâce à l'étude de *Philaenus spumarius*

Les travaux présentés dans cette section ont débuté en 2016 [Cruaud et al., 2018] et se sont poursuivis au cours de cette thèse jusqu'en 2020. Les prochaines sous-sections permettront dans un premier temps de décrire la situation épidémiologique en Corse. Ensuite, les travaux de recherche menés sur la détection à grande échelle de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs seront exposés. Enfin, nous verrons en quoi ces résultats éclairent la compréhension actuelle et future de l'épidémiologie de la maladie.

1.1 La situation en Corse

La Corse est la première région française où la bactérie a été détectée le 22 juillet 2015 [Chauvel et al., 2015]. La découverte régulière de nouveaux foyers suite à la première détection, a conduit très rapidement les services de la protection des végétaux de l'État – la DGAl (Direction Générale de l'Alimentation) – à mettre en place des mesures de surveillance et de gestion mais également de production de connaissances en mobilisant des instituts de recherche dont l'Anses et INRAE. C'est ainsi que les recherches concernant les insectes vecteurs de la bactérie en Corse ont débuté avec une lettre de mission et l'envoi d'agent du Ministère, de l'Anses et d'INRAE en Corse. L'objectif de cette mission était d'initier les premières recherches sur le terrain afin d'appuyer les services de l'État pour la compréhension épidémiologique de l'origine des foyers et plus largement pour acquérir des connaissances sur les insectes vecteurs de la bactérie. De plus, le fait de mettre en place une expertise multiple, avec des agents d'instituts différents, devait permettre des collaborations futures et la mise en place de nouveaux projets de recherche. En parallèle de cette mission, des recherches ont été initiées en Corse avec notamment l'encadrement d'un stage de Master [Pouchet, 2017]. Suite à cette mission dont le rapport a été rendu fin août 2015 [Chauvel et al., 2015], les recherches se sont poursuivies concernant les insectes vecteurs avec des campagnes de collecte de *Philaenus spumarius* en milieu semi-naturel et principalement sur ciste de 2016 à 2020. Ces recherches ont été financées par INRAE, le Ministère en charge des affaires agricoles et alimentaires, la Collectivité Territoriale de Corse et l'Union Européenne.

En parallèle de ces recherches et suite à un effort de surveillance accru par les services de l'État, les détections de la bactérie sur végétaux en milieu semi-naturel en Corse se sont succédées, ce qui a conduit à un changement de stratégie en passant de l'éradication à l'enrayement de *Xylella fastidiosa* sur l'île [Barthod et al., 2018]. Ce changement de vision de la gestion épidémique implique que les végétaux hôtes ne sont plus systématiquement arrachés mais la surveillance de la région reste importante et notamment en zones cultivées [Barthod et al., 2018]. En effet, à la différence de l'Italie où des milliers d'hectares de parcelles d'oliveraies adjacentes ont été infectées et détruites par la bactérie (et/ou par la politique d'éradication, avec l'arrachage des arbres à proximité des foyers d'infection) [Saponari et al., 2019], en Corse la bactérie se propage largement dans les milieux semi-naturels et il faut attendre 2022 pour la détecter dans une oliveraie cultivée [Giannechini, 2022]. Ainsi, l'épidémiologie de la maladie est très différente entre les deux régions. Ces différences impliquent que les connaissances acquises en Italie depuis 2013 ne sont pas forcément directement transférables en Corse, bien que ce soit vraisemblablement *Philaenus spumarius* l'insecte vecteur principal dans les deux régions [Colella et al., 2019b].

Les recherches menées en Corse concernant *Philaenus spumarius* ont pour objectif d'acquérir des connaissances sur l'insecte, son milieu de vie, sa phénologie [Chartois et al., 2019] mais également sur la prévalence de la bactérie dans les milieux semi-naturels et l'épidémiologie de la maladie [Farigoule et al., 2022].

1.2 La prévalence de la bactérie dans les insectes en Corse

La détection de *Xylella fastidiosa* est cruciale pour la compréhension de l'épidémiologie de la maladie. Elle doit être à la fois suffisamment sensible pour limiter la proportion de faux négatifs et adaptée en termes de coût humain et financier pour faire du « haut débit » et analyser des milliers d'échantillons. Le développement d'une telle méthode sur les insectes vecteurs, qui représente une part importante de ce travail de recherche doctorale, est présenté dans la suite de cette section.

La détection de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs comporte plusieurs défis techniques. Seules quelques dizaines de bactéries sont accrochées à la cuticule de l'insecte au niveau du cibarium [Cornara et al., 2016, Saponari et al., 2014] et c'est cette faible quantité d'ADN qui doit être mise en évidence parmi l'ADN de l'hôte. En effet, l'ensemble de l'ADN de l'insecte est extrait pour mener à bien cette expérimentation car l'ambition est de pouvoir analyser des centaines d'insectes et caractériser l'épidémiologie de la maladie dans différentes régions sur plusieurs années. Ainsi, en plus d'une méthode sensible, il faut également une méthode rapide et peu coûteuse pour faire du « haut-débit », ce qui rend la dissection des insectes inenvisageable.

Le choix de la méthode à utiliser pour ces analyses est basé sur des travaux menés au sein de l'UMR AGAP (Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes méditerranéennes et tropicales) en collaboration avec l'UMR CBGP [Cruaud et al., 2018]. Lors de ces travaux, une méthode d'extraction de l'ADN de *Philaenus spumarius* a été spécifiquement développée afin de limiter au maximum la présence d'inhibiteurs de PCR (Polymerase Chain Reaction) à l'origine d'une mauvaise amplification de l'ADN de la bactérie, ce qui permet d'améliorer la sensibilité globale de l'expérimentation. De plus, la bactérie a été détectée grâce à la méthode de PCR nichée qui consiste en une double amplification du gène d'intérêt. Une méthode similaire mais plus rapide à mettre en œuvre sur un grand nombre d'insectes a été développée au cours de cette thèse au CBGP : la PCR en 2 étapes [Cruaud et al., 2017], avec notamment le passage d'un séquençage Sanger à un séquençage Illumina® NGS (Next Generation Sequencing). C'est cette méthode qui sera présentée et décrite. Elle a été mise en œuvre sur près d'un millier d'insectes, collectés entre 2017 et 2019 à travers la Corse. Les résultats de prévalence issus des travaux de biologie moléculaire seront mobilisés dans le cadre de modélisations afin d'appréhender l'épidémiologie actuelle et future de la maladie [Farigoule et al., 2022].

1.2.1 Méthodes

1.2.1.1 L'échantillonnage des insectes vecteurs

Les insectes sont collectés à l'aide d'un filet fauchoir dans le milieu semi-naturel Corse. Ils sont tués avec de l'acétate d'éthyle et placés dans de l'alcool à 75° puis transférés après une dizaine de jours dans de l'alcool 96°. L'utilisation de l'alcool à 75° puis à 96° permet de limiter la déformation des insectes (due au déficit en eau) ainsi qu'une meilleure

imprégnation de l'alcool dans les tissus et donc une meilleure conservation de l'ADN. Cette méthode a été développée empiriquement au laboratoire sur des observations de chalcidiens notamment par Jean-Yves Rasplus. Les insectes dès leur prélèvement et jusqu'à l'extraction de l'ADN sont conservés à 4°C.

Les populations d'insectes vecteurs analysées en biologie moléculaire, pour la détection de la bactérie *Xylella fastidiosa*, font partie d'un vaste échantillonnage d'insectes à travers la Corse réalisé entre 2016 et 2020 [Chartois et al., 2019]. Néanmoins, l'objectif n'étant pas d'étudier de longues séries temporelles et pour des contraintes de coûts humain et financier, les populations de toutes les localités de chaque année n'ont pas été analysées. Une population est définie par 30 individus collectés dans une localité et pour une année donnée. Pour les analyses de biologie moléculaire, seules des populations collectées en automne (39 au total, soit près de 1 200 spécimens) ont été analysées. En effet, durant l'été et le début de l'automne les adultes sont susceptibles d'acquérir la bactérie, qui se multiplie dans leur cibarium (voir I.2.5.1 page 68). Ainsi, la probabilité de détection de *Xylella fastidiosa* est plus importante à l'automne qu'au printemps. De plus, les populations d'insectes ont été sélectionnées afin d'explorer une zone géographique maximale avec des conditions climatiques variées [Farigoule et al., 2022]. Pour quelques sites, un suivi temporel a été réalisé, avec l'analyse d'une population par an sur plusieurs années de prélèvement (annexe B.1 page B1).

La méthode mise en œuvre pour la détection de *Xylella fastidiosa* dans les populations d'insectes vecteurs, comporte une étape d'extraction de l'ADN puis deux étapes de PCR et enfin un séquençage. La PCR en 2 étapes est une méthode qui consiste en deux amplifications successives du fragment d'ADN d'intérêt et donc, qui est plus sensible qu'une PCR en point final [Cesbron et al., 2020]. Dans les sous-sections suivantes, la conception des amorces de la première PCR sera présentée, puis les différentes étapes du protocole mis en œuvre avec l'extraction d'ADN, la PCR en 2 étapes, le séquençage et le traitement bio-informatique des données.

1.2.1.2 La détection de la bactérie dans les insectes vecteurs

La détection de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs avec la méthode de PCR en deux étapes permettra de répondre à plusieurs questions :

1. Où est présente la bactérie sur le territoire Corse ?
2. Quelle est la prévalence de bactérie selon les localités Corse ?

De plus, le suivi temporel pour quelques sites pourra donner des indications quant à l'évolution de la prévalence de la bactérie mais ces résultats seront probablement à confirmer par des études plus longues.

La conception des amorces de la première PCR

Avant la mise en œuvre des expérimentations de biologie moléculaire pour détecter la bactérie, il est nécessaire de choisir quel(s) fragment(s) d'ADN discriminants sera/seront amplifié(s) pour différencier les sous-espèces [Marcelletti and Scortichini, 2016]. En effet, la détermination de la sous-espèce permet de connaître les plantes cultivées à risque et de mettre en œuvre des mesures de gestion en conséquence. Les amorces pour la première PCR ont été définies en ciblant les sept gènes du MLST de *Xylella fastidiosa* : *LeuA, MalF, GltT, CysG, HolC, NuoL, PetC* [Yuan et al., 2010] (voir également I.2.1 page 52).

Une contrainte technique forte, liée au séquençage, implique que les amplicons (produits de PCR) séquencés soient inférieurs à 500 pb (paire de base) pour conserver un chevauchement entre le read 1 - séquence forward - et le read 2 - séquence reverse - (séquençage Illumina® en 2*250 pb). Or, la taille des gènes du MLST est supérieure à 500 pb [Elbeaino et al., 2014]. Ainsi, pour ne pas démultiplier le nombre d'amorces utilisées et simplifier la mise au point, pour chaque gène une portion d'environ 430 pb, qui permet de discriminer les différentes sous-espèces, a été mise en évidence en utilisant le logiciel Geneious Prime®, Version 2020.0.4 [1] et des amorces de PCR ont été définies (20 pb). Les amorces ont été vérifiées avec le logiciel PerlPrimer version 1.1.21 [Marshall, 2004] et seules les amorces remplissant les conditions ci-après ont été conservées pour être testées au laboratoire. Les amorces avec une proportion de bases G et C supérieure à 50% ont été

1. https://www.geneious.com

sélectionnées pour améliorer la stabilité de l'association entre l'amorce et le gène ciblé et favoriser une meilleure hybridation [Erlich, 1989, Yu and Pauls, 1992]. Seules les amorces avec une température d'hybridation de structures en épingle à cheveux intra-amorce (hair-pin Tm) inférieure à 50°C ou absente et avec un risque faible d'hybridation inter-amorce (paramètre delta compris entre -2 et 2 kcal/mol) ont été sélectionnées. Enfin, les amorces reverse et forward avec des températures d'hybridation similaires vis-à-vis du fragment ciblé ont été conservées. En effet, la réaction se produisant à une température donnée, il est important d'optimiser l'hybridation des deux amorces.

Les tests en laboratoire des amorces PCR (température d'hybridation et nombre de cycles d'amplification optimaux [Roux, 2009]) ont été effectués sur cible synthétique. Les cibles synthétiques ont été définies sur la base des séquences de chaque gène du MLST avec 3 mutations en début de séquence et 3 mutations en fin de séquence (respectivement après et avant la zone d'hybridation des amorces). L'utilisation de ces cibles synthétiques permet de les détecter en cas de contamination du laboratoire contrairement aux souches désactivées de la bactérie. Ainsi, cela permet de se prémunir contre d'éventuelles contaminations qui pourraient fausser les résultats de la détection de la bactérie dans les insectes, avec des faux-positifs.

Cible synthétique (allèle *LeuA*_2) avec en rouge les bases nucléotidiques modifiées :

```
  1 AGGTCGACAT CGGTGACCAA ACGCTGTTTC TCACATAGGT GATTGAATTC
 51 TTCAAATACC AGTTTTAGAT CTTCTTCCTC CAGCAAGTAG CCCAGTGCGC
101 GTAGACGCTG TTCGACCGCA GCACGGCCGC TATGGCGGCC GAGTACCATG
151 TGCGAACATA CCCAACCGAC TTCTTGTGGA CGCATGATTT CGTAGGTGCC
201 GCGATGGCGC AGCATACCGT GCTGATGGAT ACCCGATTCA TGTGCAAAGG
251 CATTGGCACC TACTACTGCC TTGTTACGTT GCACGGGCAT GCCAACCAAT
301 CGTTGCAGTA ACTGGGAGGT GGAGACGATA CGTGATGTGT GGATCGAAGT
351 ATCAATGTTG TAAAACGCGT TGCGTACTTT CAACACCATA GTGAGTTCTT
401 CCAGCGCGCA GTTACCAGCG CGCTCACCAA TGCCATAGAA AGAACATTCG
451 ATTTGGCGTG CACC
```

Des tests supplémentaires ont été effectués en mélangeant les cibles synthétiques à l'ADN de *Philaenus spumarius*. Les cibles ont été diluées pour obtenir 10, 100 et 1000

cibles en mélange dans un échantillon d'ADN d'insecte. Ces tests permettent de reproduire la situation réelle [Cornara et al., 2016, Ranieri et al., 2020, Saponari et al., 2014] bien qu'ils fassent l'hypothèse forte que l'extraction de l'ADN de la bactérie soit complète et que l'ADN ne soit pas dégradé.

Suite à ces travaux préliminaires, un couple d'amorces (une amorce forward et une amorce reverse) ciblant le gène *LeuA* a été conservé (Tableau 2). Ces amorces, lors des tests préliminaires, permettent de détecter 1 000 et 100 cibles en mélange et la détection de 10 cibles n'a pas été possible quel que soit le couple d'amorces considéré. Les amorces ont été déphasées, c'est-à-dire que 5 nucléotides ont été ajoutés au début de chacune des deux amorces. Ce déphasage permet d'augmenter la diversité des nucléotides lus en début de séquençage et donc de mieux identifier les clusters de séquences [2]. L'amplicon du gène *LeuA* permet de discriminer les trois principales sous-espèces de la bactérie (*fastidiosa*, *pauca* et *multiplex*). En cas de détection d'une nouvelle sous-espèce des analyses complémentaires pourront être effectuées pour déterminer le ST. Enfin, les amorces complètes comportent également une séquence de nucléotides permettant la mise en place de la seconde PCR.

*LeuA*_F_v0	1 TCGTCGGCAG CGTCAGATGT GTATAAGAGA CAGGTGCACG CCAAATCGAA 51 TGT
*LeuA*_F_v1	1 TCGTCGGCAG CGTCAGATGT GTATAAGAGA CAGACAGTGT GCACGCCAAA 51 TCGAATGT
*LeuA*_R_v0	1 GTCTCGTGGG CTCGGAGATG TGTATAAGAG ACAGGGTCGA CATCGGTGAC 51 CAAA
*LeuA*_R_v1	1 GTCTCGTGGG CTCGGAGATG TGTATAAGAG ACAGCAAGAG GTCGACATCG 51 GTGACCAAA

TABLE 2: Amorces de PCR 1 *LeuA* : en rouge la séquence complémentaire aux amorces de PCR 2 nécessaire à la seconde étape de PCR, en bleu le déphasage et en vert la partie de l'amorce ciblant le gène *LeuA*

2. https://emea.support.illumina.com/bulletins/2016/07/what-is-nucleotide-diversity-and-why-is-it-important.html

Les amorces de PCR 2

Les amorces de PCR 2 n'ont pas nécessité de recherche comme pour celles de la première PCR. En effet, la technique de PCR en 2 étapes est couramment utilisée au laboratoire. Les amorces de PCR 2 n'étant pas spécifique au gène amplifié, les amorces déjà utilisées ont été testées et validées [Cruaud et al., 2017]. Cette seconde PCR permet à la fois de ré-amplifier le gène d'intérêt mais également de marquer les échantillons afin qu'ils puissent être mélangés lors du séquençage et discriminés dans les analyses bio-informatiques suite à celui-ci [Galan et al., 2018, Kozich et al., 2013]. Chacune des amorces contient un index permettant de différencier les amplicons issus des différents insectes et dans le cadre de cette expérimentation, un indexage unique (dual indexing) a été privilégié c'est-à-dire avec deux index différents pour chaque échantillon séquencé [Martin, 2019].

L'extraction de l'ADN

Pour l'extraction de l'ADN des insectes, le protocole développé sur *Philaenus spumarius* dès 2016 [Cruaud et al., 2018] a été mis en œuvre sur la totalité des insectes analysés. Ce protocole permet une extraction de l'ADN de l'insecte entier avec la neutralisation des inhibiteurs de PCR notamment contenus dans les yeux des insectes [Boncristiani et al., 2011, Shamim et al., 2014]. Ainsi, il améliore la sensibilité de la détection de *Xylella fastidiosa* sans nécessiter la dissection des insectes. Brièvement, le protocole d'extraction consiste en une étape de broyage de l'insecte à l'aide d'une bille en céramique et de grenat. Cette action mécanique est couplée à une lyse chimique des cellules. Chaque extraction d'ADN est réalisée en tube individuel. Enfin, l'ADN extrait est purifié en plaque, à l'aide du robot KingFisher dans une succession de tampons doux (annexe B.2 page B17).

La PCR en 2 étapes

La PCR en 2 étapes est réalisée en plaque de 96 échantillons (plan de plaque type en annexe B.2 page B17). Pour chaque échantillon d'ADN extrait, 4 réplicats sont effectués. Une partie de l'expérimentation est automatisée avec le transfert de l'ADN de la plaque d'extraction vers les quatre plaques de PCR 1 (utilisation d'un robot pipeteur).

Brièvement, un mix de PCR contenant les amorces de PCR 1 et la Taq polymérase (QIAGEN® Multiplex PCR Kit) [Altinok et al., 2008] est ajouté à 3µL d'ADN dans quatre plaques de PCR correspondant aux quatre réplicats. Le témoin positif (une dilution de cibles synthétiques correspondant à 1 000 cibles par puits) est ajouté ainsi que l'eau du témoin négatif. Suite à la première PCR, les produits de PCR 1 sont transférés dans de nouvelles plaques avec un mix de PCR (amorces de PCR 2 et la même Taq polymérase qu'utilisée en PCR 1) et le second cycle de PCR est effectué. L'ensemble des indications concernant les mix PCR et les paramètres des cycles de PCR sont disponibles dans le protocole en annexe (B.2 page B17). Les résultats de la PCR en 2 étapes sont révélés par une électrophorèse sur gel d'agarose 1%.

Le séquençage

Un séquençage de l'ensemble des échantillons, positifs et négatifs, n'a pas été possible car la quantité d'ADN était trop faible en raison d'un grand nombre d'échantillons négatifs. Ainsi, seuls les échantillons positifs sur gels ou « douteux », c'est-à-dire avec une très faible bande sur gel, ont été séquencés. Pour cela, lorsqu'au moins un réplicat d'un échantillon était positif sur gel, les produits de PCR1 des quatres réplicats de cet échantillon ont été réutiliser pour effectuer une PCR 2 permettant de leur assigner un indexage unique pour le séquençage [Kircher et al., 2012]. Le bon déroulement de la PCR 2 a été revérifié sur gel. Les produits de PCR 2 sont purifiés sur gel (1,25% gel agarose low-melting et kit de purification sur colonne Macherey-Nagel®) puis dosés (sur puce agilent avec l'utilisation du bioanalyzer et en qPCR (PCR quantitative)) avant d'être séquencés (annexe B.2 page B17). Le séquençage est effectué sur un séquenceur Illumina® avec un kit nano V2. L'analyse des images et de la qualité des données sont réalisées sur le séquenceur MiSeq. Pour mettre en évidence la permutation d'index [3] [Kircher et al., 2012], des combinaisons artificielles d'index ont été introduites dans la feuille de route du séquenceur.

3. https://emea.illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/index-hopping.html

Le traitement bio-informatique des résultats de séquençage

Encadré 9 : L'analyse bio-informatique des résultats du séquençage : le filtrage qualité

A l'issue du séquençage sur le kit nano V2 (Illumina®), des reads - séquences lues par le séquenceur - sont obtenus dans deux fichiers : un fichier comportant les reads 1 et un fichier comportant les reads 2. En effet, le séquençage s'effectue en deux temps avec l'obtention d'un read 1 de 250 pb (première moitié de la séquence) et d'un read 2 de 250 pb (seconde moitié de la séquence) et les deux reads comportent une dizaine de nucléotides communs qui doivent faciliter leur appariement afin d'obtenir une séquence complète (480 pb). Pour chacun des reads, chaque fichier fastq comporte également des informations de qualité concernant la lecture de chaque base nucléotidique.

Suite au séquençage, des indicateurs permettent d'évaluer le bon déroulement et la qualité de cette étape : la densité de clusters (`https://emea.support.illumina.com/bulletins/2020/05/recommandation-des-densites-de-cluster-selon-les-types-de-platef.html`) et le nombre de reads ayant passé le filtre qualité d'Illumina® (passing filter reads) [Illumina, 2016]. De plus, la qualité du séquençage est évaluée avec le logiciel FastQC [Andrews, 2010].

Ensuite, avec le logiciel trimmomatic [Bolger et al., 2014], la séquence correspondant à l'adaptateur et permettant le séquençage est supprimée pour chaque read 1 et chaque read 2 grâce à une comparaison entre les fichiers issus du séquençage et un fichier de référence contenant la séquence des adaptateurs à supprimer (figure 11 page 98) . Les séquences sont ensuite filtrées selon leur qualité. Les premiers et derniers nucléotides dont la qualité est inférieure à 20 - soit 99 % de chances que la base ait été lue correctement par le séquenceur - sont supprimés (paramètre LEADING et TRAILING). Pour le reste du read, dès que la moyenne de la qualité de quatre nucléotides successifs est inférieure à 20, le morceau du read est considéré comme de mauvaise qualité et il est coupé à ce niveau (paramètre SLINDINGWIN-

DOW). Une fois le filtrage terminé, tous les reads inférieurs à une taille donnée sont supprimés (paramètre MINLEN).

Les reads 1 et les reads 2 recouvrants sont fusionnés avec le logiciel FLASH [Magoc and Salzberg, 2011] si la taille du recouvrement est d'au moins « m » nucléotides (paramètre -m pour le recouvrement minimum et -M pour le recouvrement maximum) et que l'ensemble des bases du recouvrement sont identiques (paramètre -x, ici égal à 0).

Suite à la mise en œuvre de ce pipeline bio-informatique, un fichier de reads (reads 1 + reads 2) de bonne qualité est obtenu et ils peuvent être analysés.

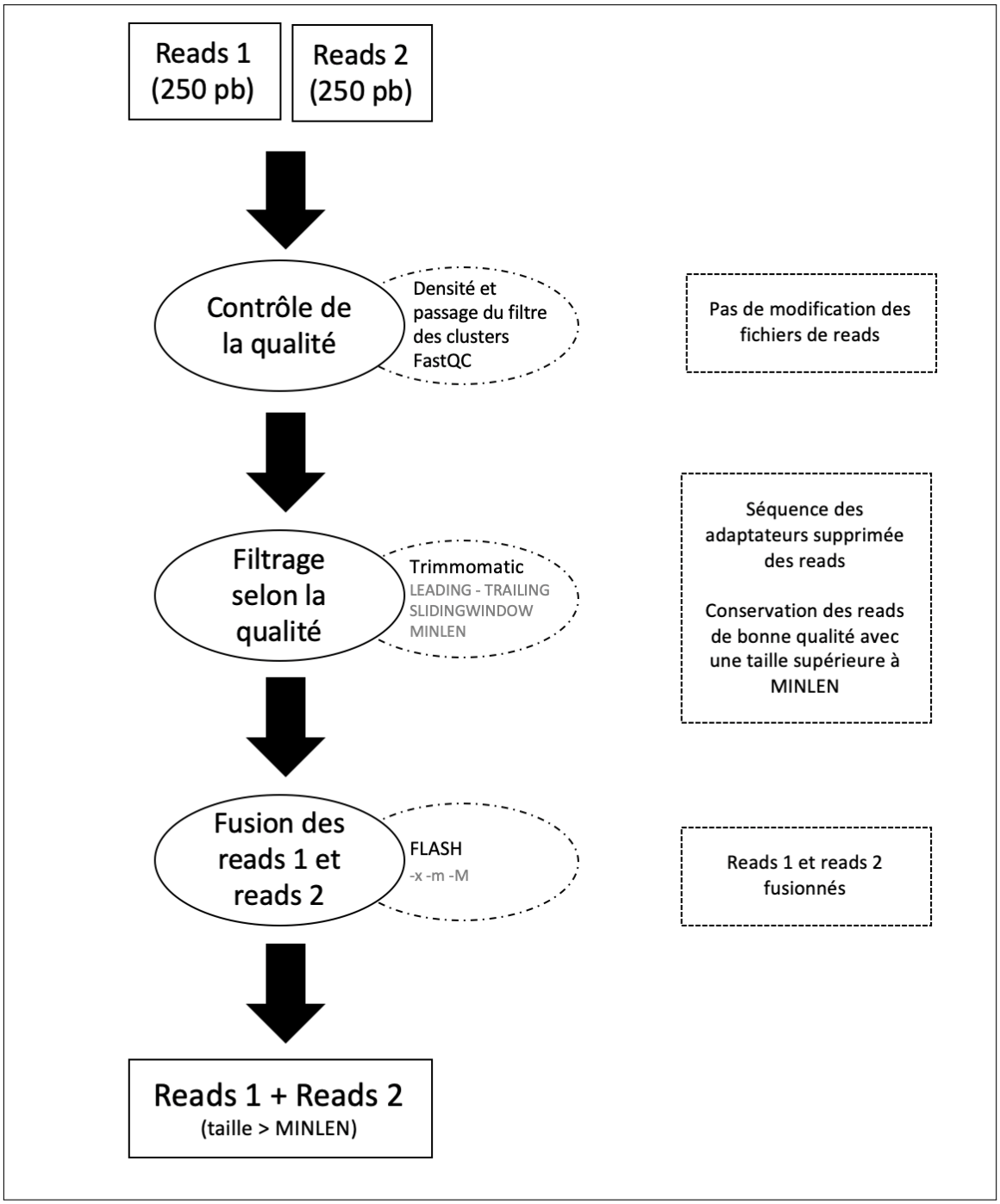


FIGURE 11: Schéma du pipeline d'analyse bio-informatique des résultats de séquençage

Suite au séquençage, les reads de chaque échantillon sont dans des fichiers séparés et ils sont traités selon le pipeline décrit dans l'encadré ci-dessus avec les paramètres de chaque logiciel figurant dans le tableau 3 page suivante.

Logiciel	Paramètre	Valeur
Trimmomatic	LEADING	20
	TRAILING	20
	SLIDINGWINDOW	20
	MINLEN	200
FLASH	-x (nombre de bases du recouvrement différentes)	0
	-m (minimum de la taille de recouvrement)	10
	-M (maximum de la taille de recouvrement)	300

TABLE 3: Paramètres utilisés pour le filtrage qualité de l'expérimentation de PCR en deux étapes (voir encadré 9 page 96)

Suite au filtrage qualité, seuls les reads entiers ont été conservés, c'est-à-dire les amplicons composés des séquences de l'amorce forward, du gène cible et de l'amorce reverse. Les séquences des amorces sont supprimées puis les doublons exacts des amplicons sont fusionnés avec le logiciel VSEARCH [Rognes et al., 2016] pour avoir seulement une copie de chaque amplicon et faciliter les analyses suivantes. Les amplicons similaires sont regroupés avec le logiciel SWARM (résolution, d = 1 ; une mutation acceptée par paire de séquences) [Mahé et al., 2014]. Enfin, les regroupements de 10 amplicons ou plus ont été sélectionnés et les chimères potentielles ont été éliminées avec le logiciel VSEARCH et les séquences restantes ont été alignées sur la séquence de référence du gène *LeuA* [4] avec le logiciel MAFFT [Katoh and Standley, 2013, Katoh and Toh, 2010]. L'alignement des amplicons avec la séquence de référence a été visualisé sur Geneious Prime®.

4. `http://pubmlst.org/xfastidiosa/` dernière consultation en mai 2022

1.2.1.3 Utilisation des données de prévalence pour comprendre la dynamique de propagation de la bactérie et son évolution dans le futur

Les résultats des analyses biomoléculaires de détection de la bactérie dans les insectes sont mobilisés dans des analyses statistiques et de modélisation pour expliquer la prévalence par des variables environnementales et plus particulièrement climatiques. Les analyses présentées dans cette sous-section visent à compléter les questionnements auxquels répondent les analyses biomoléculaires avec les questions de recherche suivantes :

1. Comment expliquer la prévalence dans les insectes vecteurs par des variables environnementales ?
2. Sous l'influence des changements globaux, comment évoluera la prévalence de la bactérie en Corse selon les conditions climatiques favorables à *Xylella fastidiosa* et à son insecte vecteur ?

Pour répondre à la première question, des modèles statistiques sont construits - les GLMMs (Generalized Linear Mixed Models) - et la réponse à la seconde question est appuyée par des SDMs.

Les données de prévalence acquises sur les insectes vecteurs sont mobilisées et incluses dans des GLMMs [Bolker et al., 2009, Kraus and Vonesh, 2010] sous R [R Core Team, 2021] afin d'expliquer la prévalence de la bactérie en fonction de variables climatiques [Farigoule et al., 2022]. La prévalence obtenue pour chacune des 33 populations collectées entre 2017 et 2019 et testées en PCR en 2 étapes lors de cette thèse et celle des 6 populations testées en 2016 en PCR nichée ont été intégrées aux analyses.

En premier lieu, trente variables liées à la température et aux précipitations ont été calculées à partir des données MétéoFrance - modèle SAFRAN (Système d'Analyse Fournissant des Renseignements Adaptés à la Nivologie) [Durand et al., 1993] - pour décrire les conditions climatiques des différents sites d'échantillonnage. Les variables ont été sélectionnées pour prendre en compte à la fois l'insecte vecteur et sa phénologie [Albre et al., 2021] et également l'impact du climat sur la bactérie et sa multiplication dans les plantes [Anas et al., 2008, Feil and Purcell, 2001, Lieth et al., 2011] et dans les

insectes vecteurs [Daugherty et al., 2019, Daugherty et al., 2017]. La variable Bio11 - la température du trimestre le plus froid - [Xu and Hutchinson, 2011] a été ajoutée à partir de la base de données CHELSA (Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas) v2.1 [5] afin d'explorer le profil climatique passé et futur des sites d'échantillonnage car les données quotidiennes SAFRAN pour les périodes futures ne sont pas disponibles.

Deux GLMMs ont ensuite été construits pour analyser l'effet des variables climatiques sur la prévalence de *Xylella fastidiosa* dans les vecteurs. Le premier GLMM intègre l'ensemble des variables bioclimatiques avec la mise en place d'une ACP (Analyse en Composantes Principales) pour synthétiser ces variables. Les coordonnées des sites d'échantillonnage des différentes populations sur les axes 1 et 2 sont utilisées comme variables du GLMM. Pour le second modèle, les variables climatiques ont été classées selon leur importance décroissante vis-à-vis de la prévalence de la bactérie avec une PLSR (Régression par les moindres carrés partiels) [Wold et al., 2001] et seules les variables les plus importantes - VIP (Variable Importance for the Projection) - et les moins corrélées ont été conservées (VIP > 1 [Mehmood et al., 2012] ; coefficient de Spearman < 0,7 [Dormann et al., 2013]) [Farigoule et al., 2022].

Pour l'exploration de l'évolution des aires climatiquement favorables à la bactérie (*Xylella fastidiosa* ssp *multiplex)* et *Philaenus spumarius* dans le futur, des modèles de distribution d'espèces (SDMs) ont été développés à l'aide de l'algorithme de Maxent [Phillips et al., 2006]. L'ensemble des données d'occurrence de *Xylella fastidiosa* ssp *multiplex* (421 occurrences) et de *Philaenus spumarius* (10 325) ont été mobilisées ainsi que les données climatiques (bioclim) disponibles dans la base de données CHELSA [Karger et al., 2017]. Plusieurs modèles climatiques (appelés modèles de circulation générale) ont été utilisés pour prévoir les conditions climatiques futures [Boucher et al., 2018, Dunne et al., 2020, Good et al., 2019, von Storch et al., 2017, Yukimoto et al., 2019]. Les SDMs (de la bactérie et de l'insecte) ont été projetés dans ces différents modèles climatiques et ces projections ont été synthétisées dans un modèle consensus qui regroupe l'ensemble des résultats selon les différents modèles climatiques [Godefroid et al., 2019].

5. https://chelsa-climate.org

Ce travail a été réalisé pour les projections climatiques futures associées à différents modèles de circulation générale et différents scénarios d'évolution socio-économique et leurs conséquences en terme d'émission de gaz à effet de serre - ssp (shared socioeconomic pathways) -. Ces trajectoires socio-économiques correspondent à une augmentation du forçage radiatif de +2,6 W/m2 ou +7 W/m2 ou +8,5 W/m2 en 2100 par rapport à 2000 [O'Neill et al., 2014] et sont notés ssp126, ssp370 et ssp585 [Karger et al., 2017].

1.2.2 Résultats

1.2.2.1 La détection de la bactérie dans les insectes vecteurs

Sur les 1 200 spécimens testés pour la présence de *Xylella fastidiosa*, la sous-espèce *multiplex* a été détectée chez 8 % d'entre eux. La prévalence dans les 39 populations d'insectes varie de 0 % à 40 %. Bien que la méthode de détection de la bactérie diffère entre les premiers insectes prélevés en 2016 [Cruaud et al., 2018] et ceux prélevés entre 2017 et 2019, aucune différence statistique n'a été détectée entre les résultats de ces deux méthodes. D'après ces analyses de prévalence (figure 12), la bactérie est présente sur l'ensemble du territoire Corse.

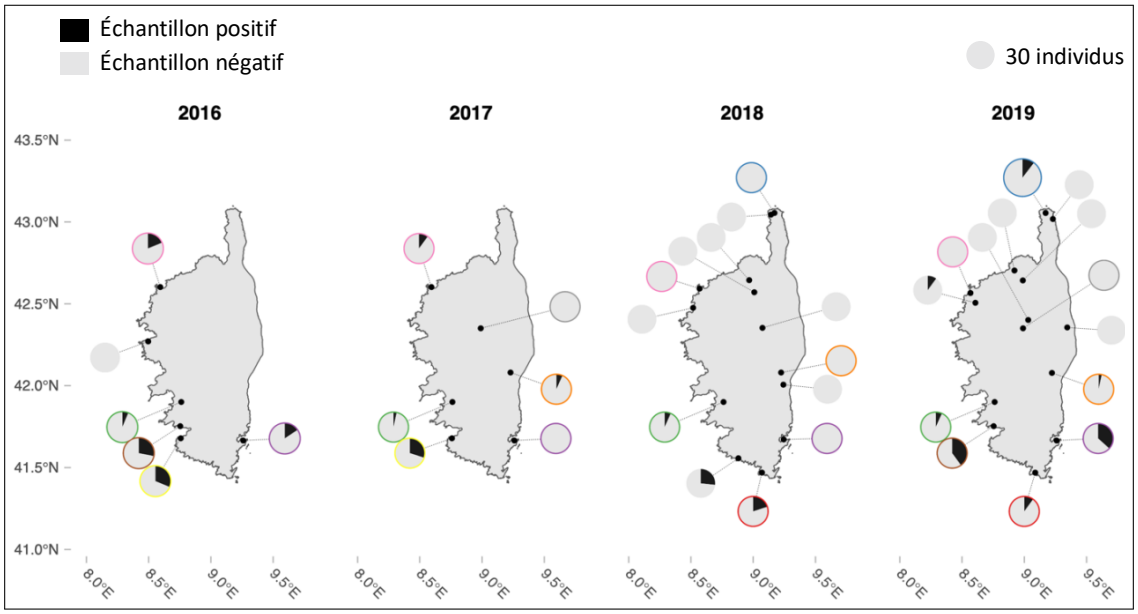


FIGURE 12: Prévalence de la bactérie dans les populations de *Philaenus spumarius* en Corse entre 2016 et 2019. Les cercles d'une même couleur indique la prévalence d'une population suivie sur plusieurs années

1.2.2.2 Compréhension de la dynamique de propagation de la bactérie et de son évolution dans le futur

Les deux GLMMs présentent des résultats similaires. Pour les deux modèles, les variables présentant une corrélation significative avec la prévalence de la bactérie sont fortement liées à la température. Dans le cadre du premier GLMM (construit à partir d'une ACP), la prévalence est d'autant plus forte que la température est élevée. Pour le second GLMM (construit à partir d'une sélection de variables grâce à la PLSR), la prévalence de la bactérie est d'autant plus importante que les températures minimales hivernales (inférieures à 6°C de décembre à février) sont élevées. Ainsi, ces deux modèles montrent l'impact de températures plus douces, qui favorisent la prévalence de *Xylella fastidiosa* chez *Philaenus spumarius* en Corse.

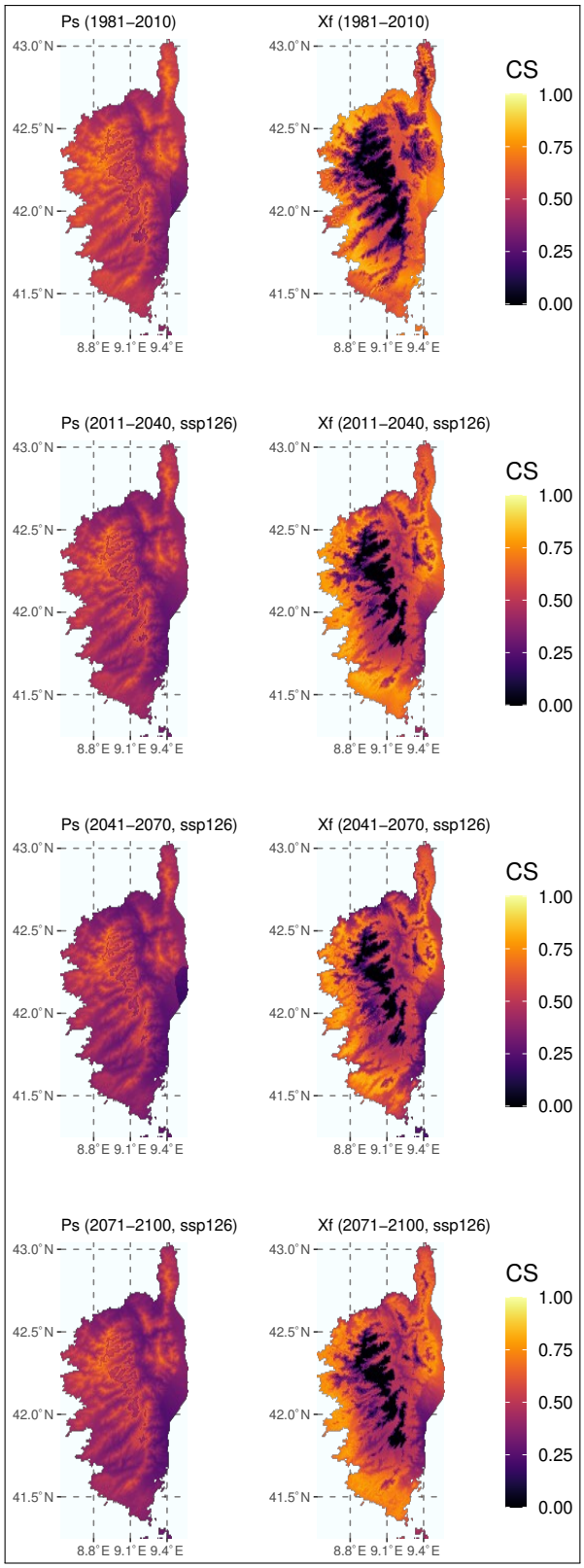


FIGURE 13: Zones climatiques favorables pour *Philaenus spumarius* et *Xylella fastidiosa* selon les conditions climatiques de référence (1981-2010) et pour les périodes 2011-2040, 2041-2070 et 2071-2100 pour la trajectoire socio-économique partagée SSP126 (issue de [Farigoule et al., 2022])

La figure 13 page précédente illustre les zones favorables à *Xylella fastidiosa* et à *Philaenus spumarius* pour la période actuelle et future selon le scénario de trajectoire socio-économique le plus optimiste. Ces modèles suggèrent que les aires climatiquement favorables à la bactérie et à son insecte vecteur sont très étendues en Corse et qu'elles le resteront à l'avenir. En effet la Corse a une superficie de 8680 km^2 et dans le cas du scénario ssp126 entre 2011 et 2040, une aire de 7538 km^2 sera favorable à la bactérie et son insecte et elle sera de 7097 km^2 entre 2041 et 2070 et de 7264 km^2 entre 2071 et 2100 selon les prévisions du modèle. La forte superposition des aires géographiques favorables à la bactérie avec celles favorables à son insecte vecteur implique que la transmission de *Xylella fastidiosa* perdurera. Quelle que soit la trajectoire socio-économique, les températures hivernales devraient augmenter de plusieurs degrés Celsius [Farigoule et al., 2022]. Pour tous les SDMs construits avec les modèles de circulation générale et quelle que soit la trajectoire socio-économique, une augmentation générale des températures hivernales est prévue et suggère donc que la prévalence de la bactérie dans ses insectes vecteurs continuera à augmenter [Farigoule et al., 2022].

Néanmoins, dans les scénarios socio-économiques les plus extrêmes, les zones climatiquement favorables à *Xylella fastidiosa* et *Philaenus spumarius* pourraient évoluer. Les zones côtières pourraient devenir trop chaudes et donc moins favorables et les zones en altitude, avec un climat plus doux, deviendraient plus favorables [Farigoule et al., 2022].

1.2.3 Discussion

Les travaux de recherche mis en place sur l'ensemble du territoire corse et sur plusieurs années permettent en premier lieu d'appuyer les travaux préliminaires menés en 2016 [Cruaud et al., 2018] montrant la possible détection de la bactérie dans les insectes vecteurs. L'application de cette méthode est envisageable à grande échelle, facilitant ainsi une meilleure surveillance de la bactérie, et ce en complément de l'analyse des végétaux symptomatiques. De plus, les travaux de modélisation mobilisant les données de prévalence de la bactérie en Corse permettent de mettre en évidence l'impact probable du réchauffement climatique dans l'épidémiologie de la maladie sur l'île.

1.2.3.1 L'impact du changement climatique sur la prévalence de la bactérie et sa dynamique de transmission

La bactérie et ses insectes vecteurs sont fortement impactés par les conditions climatiques et notamment la température (voir I.2.6.2.1 page 77). Plusieurs études menées sur *Xylella fastidiosa* ont montré que les températures hivernales basses permettent la diminution des populations de bactéries [Feil and Purcell, 2001] et ainsi le « curage » des ceps de vigne notamment [Sisterson et al., 2020]. De plus, les températures élevées induisent une multiplication plus rapide de la bactérie dans les plantes [Daugherty et al., 2017, Feil and Purcell, 2001] et donc un développement de symptômes plus important [Choi et al., 2013]. Aussi, une infection de la plante plus tôt dans la saison impacte d'autant plus sa survie, avec un moindre effet du curage hivernal [Feil et al., 2003].

Concernant *Philaenus spumarius*, les études sont encore peu nombreuses avec des résultats variables. La température minimale pour l'éclosion des œufs et le développement nymphal est comprise entre 2,8°C et 10°C selon les observations et expérimentations [Cornara et al., 2018a]. De plus, la sécheresse peut avoir un impact sur les déplacements de *Philaenus spumarius*, c'est le cas dans les oliveraies italiennes où un passage des plantes sèches à des plantes turgescentes et/ou des climats plus frais a été observé [Bodino et al., 2021, Gargani et al., 2021, Morente et al., 2018]. Cependant, en Corse, *Philaenus spumarius* « disparait » l'été et son milieu de vie n'a pas été identifié durant cette période [Albre et al., 2021]. Enfin, il n'existe pas de données expérimentales, ni d'observations concernant l'effet de la température sur le comportement alimentaire de l'insecte, la multiplication de la bactérie au niveau de la cuticule ou encore l'efficacité de transmission. Mais rappelons tout de même que des études américaines ont mis en évidence une modification de l'efficacité de transmission selon la température - avec des taux de transmission plus importants pour des températures élevées - [Daugherty et al., 2009] et que des températures plus élevées favorisent le déplacement, l'alimentation et donc la survie des insectes l'hiver [Gruber and Daugherty, 2013].

Ainsi, l'augmentation des températures pourrait favoriser la prévalence de la bactérie dans les plantes et sa transmission par les insectes vecteurs et donc amplifier la maladie sur le territoire Corse. Néanmoins, l'expansion de la bactérie pourrait être limitée par la préférence alimentaire des insectes vecteurs qui se nourrissent majoritairement sur des plantes saines par rapport aux plantes symptomatiques lors de tests de choix en labora-

toire [Daugherty et al., 2017]. D'autres études sont nécessaires pour mieux comprendre l'impact de la température mais également celui de l'humidité sur ce pathosystème. Bien que le rôle des précipitations n'ait pas été clairement mis en évidence dans les modèles présentés dans le cadre de ce travail de thèse, il est nécessaire de l'investiguer par d'autres observations de terrain et des expérimentations en laboratoire. De plus, l'adaptation des plantes, des insectes et de la bactérie au changement climatique peut impacter les éléments prévisionnels présentés ici, à savoir, une augmentation de la prévalence et des symptômes dus à la bactérie dans les endroits les plus chauds de la Corse, ainsi qu'une diminution de l'abondance de *Philaenus spumarius*, et une progression du pathosystème de *Xylella fastidiosa* vers des sites plus élevés en altitude. Enfin, avec la mondialisation et des échanges de végétaux croissants [Bebber et al., 2013], l'importation d'insectes vecteurs américains et/ou de nouvelles souches de bactérie sur le territoire corse pourraient modifier considérablement l'épidémiologie de la maladie sur l'île et ceci de façon imprévisible.

1.2.3.2 La complexité de la détection de la bactérie dans ses hôtes

Choix de la méthode de biologie moléculaire : des évolutions qui permettent l'amélioration de la sensibilité de la détection

Les deux méthodes de biologie moléculaire mobilisées pour les expérimentations de 2016 (PCR nichée et séquençage Sanger ; [Cruaud et al., 2018]) et pour celles de 2017 à 2019 (PCR en 2 étapes et séquençage illumina®) présentent l'avantage de permettre le séquençage de gènes de la bactérie et donc obtenir des informations concernant la sous-espèce et d'éventuels recombinants, contrairement à la méthode de qPCR. La PCR en 2 étapes permet de réaliser des expérimentations à haut débit, avec une automatisation possible (travail en plaque de 96 échantillons et utilisation d'un robot pipeteur). Le séquençage illumina® permet de réduire les coûts d'expérimentations par rapport à une PCR nichée suivie d'un séquençage Sanger.

La détection de *Xylella fastidosa* est complexe car la bactérie est présente en faible quantité et sous forme de biofilm dans le cibarium de l'insecte [Cornara et al., 2017b]. Ainsi, les protocoles de biologie moléculaire sont développés et améliorés en temps réel par rapport aux évolutions des méthodes et techniques et à leur accessibilité.

Par exemple, au début de cette thèse, d'autres méthodes de biologie moléculaire performantes auraient pu être développées pour la détection de la bactérie mais le coût financier et/ou humain était trop important pour pouvoir les mettre en œuvre sur un millier d'échantillons. Après seulement trois années, une méthode évoquée a commencé à se démocratiser, la PCR digitale [The dMIQE Group et al., 2020]. Son coût a largement baissé et elle a pu être testée au cours d'une expérimentation préliminaire (présentée en annexe B.3 page B42). Cette méthode est utilisée dans la détection d'événements rares - dont la détection du VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine), [Simmonds et al., 1990] -. Elle est très sensible car l'échantillon d'ADN est fragmenté en milliers de gouttes dans des micro-puits où sont effectués les réactions de PCR. Ce procédé permet de se dispenser des quatre réplicats effectués en PCR en 2 étapes, néanmoins, tout comme la qPCR, il ne permet pas de séquencer les amplicons, ce qui nécessite de réaliser des analyses complémentaires (de PCR en 2 étapes par exemple) pour pouvoir obtenir les séquences ADN.

Dans le cadre de cette expérimentation préliminaire, des échantillons analysés en PCR en 2 étapes ont été ré-analysés en PCR digitale, avec des échantillons positifs, négatifs et « douteux », potentiellement en limite de détection. Une discussion approfondie de ces résultats et de la comparaison entre les deux méthodes nécessiterait de mettre en place des travaux plus complets néanmoins, en première approche, les résultats obtenus avec la PCR en 2 étapes et la PCR digitale sont cohérents (annexe B.3 page B42). Un seul échantillon a conduit à des résultats contradictoires (positif en PCR en 2 étapes et négatif en PCR digitale). Deux hypothèses sont plausibles concernant ces résultats. La première hypothèse est celle d'une contamination lors de la PCR en 2 étapes, qui demande une ouverture de plaque et un transfert entre la première et la seconde amplification et un aérosol d'un échantillon positif à la bactérie aurait pu contaminer cet échantillon. Le puits contenant cet échantillon est à proximité d'un autre échantillon fortement positif (4/4 réplicats positifs avec une bande forte sur gel) alors qu'un seul réplicat sur gel d'agarose est positif pour le premier échantillon (annexe B.3 page B42). La seconde hypothèse est liée à la mise en œuvre de la PCR digitale à partir des amorces de PCR utilisées dans le cadre de la PCR en 2 étapes et ciblant un fragment long de plus de 400 pb. Or, la méthode de PCR digitale est le plus souvent mise en œuvre en routine sur des fragments plus courts [The dMIQE Group et al., 2020]. Dans notre cas, ceci aurait pu conduire à un faux

négatif. Ainsi, dans le cas de l'utilisation de cette dernière méthode pour une détection de la bactérie, il faudrait réaliser des explorations complémentaires et concevoir des amorces de PCR plus adaptées.

Choix de l'hôte et implication pour la surveillance de la bactérie

Les travaux de recherche présentés démontrent qu'il est possible de détecter la bactérie dans les insectes vecteurs à grande échelle, avec une méthode sensible, peu couteuse et en partie automatisable. En effet, aujourd'hui, la surveillance de la bactérie est majoritairement basée sur des inspections visuelles avec le prélèvement de végétaux symptomatiques ou de végétaux asymptomatiques à proximité de zones symptomatiques [EFSA Panel on Plant Health (PLH) et al., 2019]. Or, la détection de la bactérie est facilitée chez les plantes avec une forte charge bactérienne, qui sont souvent symptomatiques mais la discrimination des symptômes dus à un stress hydrique ou à la bactérie est compliquée [Krugner et al., 2019, Thorne et al., 2006]. De plus, cette méthode implique que les plantes asymptomatiques sont moins échantillonnées et qu'ainsi de potentiels réservoirs de la bactérie peuvent être ignorés. L'échantillonnage des insectes vecteurs « à l'aveugle » permet de s'affranchir de ce biais.

De plus, dans le cadre des analyses de plantes, l'échantillon du végétal constitué d'un rameau est testé pour la présence de la bactérie. Or, cette dernière n'est pas distribuée uniformément dans la plante [Holland et al., 2014] et si elle est à faible densité voire absente dans le rameau prélevé, le risque de faux négatif est plus élevé. Au contraire, l'intégralité de l'insecte vecteur est analysée, ainsi, s'il est porteur d'une charge bactérienne suffisante, *Xylella fastidiosa* sera détectée [Cruaud et al., 2018, Farigoule et al., 2022]. Néanmoins, comme pour l'analyse des plantes, si la bactérie est présente à faible densité dans l'insecte, dans le cas par exemple où il s'est nourri sur une plante infectée seulement quelques minutes avant son prélèvement, *Xylella fastidiosa* pourrait ne pas être détectée. C'est pour cette raison qu'il est préférable de réaliser les prélèvements d'insectes à l'automne, période à laquelle ils sont les plus chargés en bactérie et de travailler sur des populations d'insectes [Chatterjee et al., 2008a, Purcell, 1979]. Dans le cas des prélèvements réalisés sur plantes, cette saison est évitée car des inhibiteurs de PCR [Hilton et al., 2020] sont présents en quantité plus importante. Ainsi, la surveillance du statut d'infection des plantes et de celui des insectes pourrait apporter des informations complémentaires.

Cette dernière section met en lumière le lien entre le développement d'outils méthodologiques et les connaissances scientifiques produites qui sont en constante évolution. Ce processus d'amélioration continue, mis en œuvre dans les laboratoires de recherche, implique des réarrangements de protocoles et des « tests » méthodologiques (comme pour la PCR digitale). Ces processus de production de connaissances, avec la mise en œuvre de tests et d'expérimentations préliminaires, sont passés sous silence dans les publications scientifiques bien qu'ils soient cruciaux dans la compréhension de l'utilisation de ces connaissances et de leur mobilisation par les chercheurs mais aussi les institutions, dans le cadre de la surveillance officielle de la bactérie par exemple. Ainsi, dans la prochaine section, nous allons étudier le processus de production de connaissances concernant la détection de *Xylella fastidiosa* dans les insectes vecteurs depuis 2015 en France.

2 Le processus de production de connaissances sur les insectes vecteurs dans un contexte de recherche

L'objectif de cette section est d'analyser finement la production scientifique concernant l'insecte vecteur de *Xylella fastidiosa*. Cette analyse sociologique issue des STS consiste en une explicitation du déroulement des recherches. Au-delà des faits présentés, qui vont probablement sembler évidents aux scientifiques qui pratiquent ce type d'activités, cette section doit permettre aux lecteurs et lectrices de « passer les portes du laboratoire » et de comprendre les difficultés expérimentales, les relations entre les scientifiques ou s'il existe des controverses. Ces éléments seront mis au service de la compréhension de la mobilisation des travaux de recherche en dehors du monde scientifique et notamment pour leur appropriation par le monde législatif et institutionnel qui sera présentée dans la partie III.3 page 222.

Répondre à l'objectif de cette section nécessite « d'ouvrir la boite noire » de la production de connaissances et de changer de regard pour passer de la pratique scientifique effective à la considération de l'activité scientifique et technique comme un objet de recherche. Cette pratique est issue des travaux de recherche sur la vie de laboratoire dans le cadre des STS [Latour and Woolgar, 2013]. Ce travail a été conduit avec la mise en

pratique d'une posture réflexive (avec des temps de description des actions effectuées et des temps d'analyse de ces descriptions) associée à de l'observation participante. Ce travail est également appuyé par des entretiens réalisés avec les scientifiques à partir d'un guide d'entretien semi-directif (encadré 10).

Encadré 10 : Définition de l'entretien semi-directif

"*L'entretien semi-directif est donc une conversation ou un dialogue qui a lieu généralement entre deux personnes. Il s'agit d'un moment privilégié d'écoute, d'empathie, de partage, de reconnaissance de l'expertise du profane et du chercheur. Ce dernier [. . .] va recueillir un récit en s'appuyant sur un guide préalablement testé et construit à l'issue de travaux de recherche exploratoire.*" [Imbert, 2010]

Cette section s'attachera donc à mettre en lumière les travaux menés dans le cadre de la détection de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs, avec les différentes étapes mises en œuvre. Ces éléments descriptifs permettront d'établir une chaîne de traduction depuis les lieux de prélèvement des insectes jusqu'à l'usage des connaissances dans un contexte d'action publique fondée sur l'expertise scientifique. Ces étapes constituent des opérations de traduction qui « transforment » l'objet de recherche pour construire de nouvelles connaissances [Latour, 1993].

Pour réaliser ce travail - et malgré une position duale de participante en tant que doctorante en écologie et d'observatrice en tant que doctorante en sociologie -, un regard du point de vue de l'insecte sera adopté. Cette posture de « penser comme un insecte » reprise aux travaux de Vinciane Despret [Despret, 2016] sur les rats de laboratoires, conduit à appréhender l'insecte comme un objet d'étude qui se trouve réduit, transformé, redéfini dans une succession d'opérations de traduction pour finalement apporter une « contribution scientifique » concernant la prévalence de la bactérie. Elle consiste donc à établir et analyser les opérations réalisées par les humains telles qu'elles seraient « vues » par l'objet. Cette posture permet une prise de distance vis-à-vis des activités de laboratoire que j'ai été amenée à effectuer mais sans les considérer « en surplomb », de façon complètement externe. Adopter ce point de vue suppose un certain agnosticisme à l'égard de la notion de vérité pour se focaliser sur la construction des faits et comprendre comment les différentes

instances du travail scientifique constituent des moments de production de connaissances. Ce travail permet donc de comprendre le contexte de la recherche menée et par la suite les enjeux et les implications potentielles de ces recherches dans le domaine de la surveillance de la bactérie notamment. L'adoption de ce point de vue n'est pas seulement une forme de mise en récit mais également un moyen d'objectiver cette compréhension fine des activités scientifiques pour mettre en lumière des liens avec les enjeux de l'épidémio-surveillance, et ce afin d'éclairer la position de *preparedness* qui sera discutée à la fin de ce manuscrit.

2.1 Introduction

Considérer les activités scientifiques comme un objet de recherche a nécessité la mobilisation d'écrits majeurs en STS pour établir une description fine appuyée par des méthodes sociologiques étayées et pour mettre en œuvre cette recherche en maintenant une certaine « équivalence » d'approche scientifique par rapport à mon regard de doctorante en écologie et en biologie moléculaire. Cette recherche, par ce positionnement, marque son inscription dans une démarche transdisciplinaire.

Les sociologues se sont tout d'abord intéressés à des milieux sociaux auxquels ils étaient étrangers (le milieu ouvrier par exemple [Hughes, 1996] ou les milieux ruraux [Mendras, 1959, Mendras, 1953]) avant de porter leur attention, dans les années 1970, sur le milieu universitaire et plus particulièrement sur les activités scientifiques et technique. Les travaux de M. Lynch, ou de B. Latour et S.Woolgar sont considérés comme ayant formé un tournant pour ces études de laboratoire [Vinck, 2007]. Ces travaux ont pris les activités scientifiques comme objet d'enquête, là où elles étaient auparavant appréhendées sur le plan de l'histoire, de la philosophie ou de l'épistémologie et non comme activités pratiques, situées, et matérielles [Gingras and Godin, 1997]. Ils ont plus généralement été fondateurs pour les STS avec une ouverture de la boite noire des activités scientifiques pour en comprendre les enjeux internes, les différentes pratiques de production de preuves, les discours des chercheurs et les techniques au plus près de la production des faits. Les activités scientifiques devenaient ainsi observables comme d'autres activités humaines et techniques et simplement pour établir le processus de production des faits.

L'analyse des activités de laboratoire [Latour and Woolgar, 2013] requiert alors un travail de terrain de type ethnographique, pour comprendre les processus de production de connaissances qui sont étayés par les scientifiques autant au sein des dispositifs matériels qu'au sein de discours différenciés tenus sur l'expérience elle-même ou sur les comptes rendus des résultats expérimentaux. En effet, les scientifiques peuvent parler au nom de la science au sein d'articles scientifiques, ou discuter entre eux de faits scientifiques et de leur construction mais également des difficultés posées par le dispositif expérimental. Ces discours correspondent à des arènes différentes, qui sont néanmoins agencées dans des continuums qui tiennent par la forces des arguments et la robustesse et le partage des méthodes.

Ainsi, la production de connaissances peut générer des controverses entre différents groupes de scientifiques, liées à la production de preuves et/ou à des arguments théoriques. La stabilisation de ces controverses nécessite des accords qui peuvent mettre en suspend la production de vérité elle-même. L'analyse des activités de laboratoire a donc également permis de comprendre ces controverses et leurs ajustements qui concernent les problèmes que pose la formation d'un accord sur l'expérience et ses produits. Collins a notamment décrit le problème de la flexibilité interprétative dans le contexte de la physique expérimentale [Collins, 1992].

Néanmoins, les connaissances produites ne sont pas seulement mobilisées par les scientifiques dans le cadre de controverses ou de travaux novateurs. De nombreuses institutions (du droit, du travail, de la santé, de la sécurité, etc.) s'appuient sur l'existence de preuves ou sur la contribution des organisations qui abritent des activités de recherche pour la production de normes industrielles ou de décisions publiques via l'expertise scientifique à finalité politique. Ce contexte de production implique en retour une spécification de certains domaines de recherche avec notamment la constitution d'une science réglementaire [Demortain, 2017]. La robustesse des travaux repose alors sur une stabilité des régimes de preuves tout comme sur la clôture d'éventuelles controverses pour les agences d'expertise scientifique et les organisations de production de normes ou du droit par exemple. L'alignement des règles de la méthode scientifique et des règles de la décision publique conduit à stabiliser ces régimes suivant des perspectives de régulation. Ainsi, comprendre la mise

en place de l'action publique nécessite une compréhension fine des régimes de preuves. Cette analyse est d'autant plus importante pour les activités scientifiques qui sont au cœur d'une accélération de la demande de vérité pour décider et pour agir sur des situations où les États ont des prérogatives ou des obligations en constante évolution (instrumentale, métrologique, théorique).

En matière de microorganismes phytopathogènes, des travaux de recherche en France se sont déjà portés sur ce type de question [Claeys and Sirost, 2010, Granjou and Barbier, 2010, Julienne, 2018, Keck, 2010, Prete, 2010, Tétart and Torny, 2009] dans le contexte de travaux sur la politique de la biosécurité des espèces invasives [Barbier et al., 2009, Hinchliffe et al., 2013, Lakoff and Collier, 2008]. Ces travaux en sciences sociales s'inscrivent également dans les études, plus nombreuses, qui portent sur les liens entre expertise scientifique, controverses publiques et qualification des risques [Barbier et al., 2013] avec le développement d'études sur les sciences réglementaires [Demortain, 2013, Prete, 2013]. Ces dernières portent sur des disciplines ou des domaines de recherche qui se trouvent couplés dans leurs pratiques et leurs finalités à la production de normes et d'appui à la décision publique. Un autre pan de ces travaux sur les pathogènes invasifs s'inscrit dans le travail important qui concerne les activités de mise en base de données [Dagiral and Peerbaye, 2012] et plus largement les infrastructures de connaissances [Beltrame and Peerbaye, 2018] ainsi que sur les questions liées à la construction du regard porté sur des maladies infectieuses épidémiques grâce aux dispositifs d'épidémio-surveillance [Barbier, 2006, Charrier et al., 2020, Prete, 2008].

Enfin cette compréhension fine des régimes de preuves, qui a été mise en pratique, est incluse dans un travail plus fondamental d'étude des sciences avec les activités de traçage et d'écriture dans les infrastructures de connaissances qui permettent de comprendre comment les activités scientifiques de laboratoire sont prises dans d'autres dispositifs comme souligné dans l'article de Pontille et collaborateurs :

> " *La collection du vivant [. . .] sert la production de nouvelles connaissances en rendant comparable les traits pertinents de nombreux individus d'une*

même espèce par un fin jeu d'écriture et d'étiquettes associé à un système révisable de classement et de conservation. " [Pontille et al., 2007]

C'est dans ce contexte et par la mobilisation « *ad hoc* » de ces travaux que se place l'objectif de recherche qui visent à décrire et analyser la production de connaissances scientifiques sur et autour de l'insecte vecteur de *Xylella fastidiosa.* Cette description est mise en œuvre pour appréhender les activités de recherche et leurs productions à la fois versées dans la production scientifique académique et en même temps ouvertes à un contexte de production réglementaire et d'analyse de risque lié à l'instauration d'un dispositif national d'épidémio-surveillance.

2.1.1 Moi, *Philaenus spumarius* – Présentation du contexte et de la mise en œuvre des recherches en entomologie en France

Pour introduire l'étude des activités scientifiques et techniques une méthode particulière avec un positionnement sociologique mimant le point de vue de l'insecte vecteur a été mise en œuvre. Cette vision ontologique proposée par V. Despret (2016) et qui implique une écriture du point de vue de l'insecte m'a permis d'aborder les activités scientifiques en tant qu'objet de recherche, d'un point de vue sociologique et ainsi de « m'extraire » des activités du laboratoire [Despret, 2016]. Cette écriture permet ainsi d'identifier et de mettre en exergue d'autres enjeux que ceux présents au cœur même de la conduite des activités expérimentales et de leur agentivité [Quéré, 2015], c'est là aussi l'intérêt de cette approche que de mettre en évidence les relations de traduction qui concernent des instances hors du laboratoire. La mise en récit de ce point de vue « penser comme un insecte » est présentée ci-dessous.

* * *

Certains m'appellent *Philaenus spumarius* mais je suis plus connu sous le nom de cercope des prés (figure 14 page suivante) et souvent je suis repéré au printemps lorsque, au stade larvaire, je forme des amas spumeux appelés crachat de coucou.

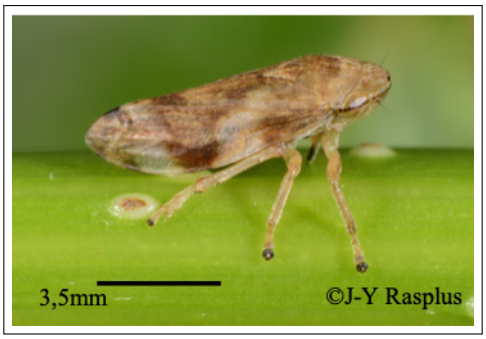


FIGURE 14: Portrait de *Philaenus spumarius* adulte

Je vis depuis toujours sur le continent européen où je me nourris de la sève brute d'une grande diversité de plantes et j'ai voyagé jusqu'aux États-Unis où je suis reconnu comme un ravageur des cultures. C'est surtout depuis 2013, avec la détection de la bactérie *Xylella fastidiosa* en Europe, que je suis devenu source d'attention, depuis que mon rôle dans sa transmission a été mis en évidence. Cette bactérie était déjà connue de certains scientifiques, avant 2013.

> " *J'ai entendu parlé de Xylella bien avant qu'elle arrive en France. Pas sous l'angle Xylella parce que je ne suis pas un microbiologiste mais sous l'angle vecteur. Il arrivait que l'on discute de maladies végétales et d'agents phytopathogènes qui arrivent en Europe et je travaillais avec un éminent virologue. On se disait que parmi les pathogènes qui pouvaient arriver ça serait bien de mettre un petit paquet sur Xylella d'autant plus qu'on avait eu des gens qui avaient travaillé sur Xylella il y a longtemps à Bordeaux et puis ça s'était arrêté, ça s'était estompé parce que ce n'était pas présent. Je ne pouvais pas m'empêcher de penser que ça serait bien de regarder si les vecteurs pouvaient s'adapter en France. C'était la période où Homalodisca était connu aux États-Unis comme un agent important dans le redéveloppement de Xylella en Californie avec des problèmes inhérents. On se disait qu'on était complètement en slip. J'avais déjà entendu parlé de ça mais voilà ça s'arrêtait là. [. . .] Et ensuite j'en avais entendu parlé parce qu'avant que ça arrive j'avais fait un projet européen de diagnostic sur les organismes de quarantaine et là-dedans il y avait un certain nombre de vecteurs de Xylella. A cette période j'avais un peu lu les papiers autour de cette maladie et leurs vecteurs.* " Agent INRAE

Cependant, la majorité des scientifiques européens ont découvert *Xylella fastidiosa* lors de sa détection en Italie puis en Corse. Tout a commencé dans les Pouilles où la sous-espèce *pauca* a été détectée sur oliviers. Rapidement des surfaces d'oliveraies importantes ont été détruites, soit par la bactérie que je transporte parfois soit par la mise en place de mesures d'éradication que les humains ont déployé pour arrêter *Xylella fastidiosa*, avec l'arrachage des végétaux dans les zones contaminées. Suite à cette modification du paysage, j'ai remarqué la présence de nombreux mouvements de contestations à Lecce en Italie (figure 15).

FIGURE 15: *Xylella fastidiosa* au-delà des oliveraies : modes d'existence socio-culturels de la bactérie (issues de [Hugot and Barbier, 2020, Panziera, 2016])

En 2015, c'est la sous-espèce *multiplex* qui a été détectée en Corse, et malgré une différence de sous-espèce, les professionnels corses étaient très préoccupés par l'arrivée de la bactérie « tueuse d'oliviers » sur leur territoire.

> " *Les oléiculteurs [corses] quand ils sont allés en Italie et qu'ils ont vu les dégâts ils ont eu très peur pour leurs propres exploitations en Corse !* "
> Agent INRAE

Les scientifiques mesuraient la différence entre ces deux territoires [Colella et al., 2019b, Panziera, 2016] avec une différence en terme de paysage

mais également de symptomatologie mais nous – insectes vecteurs – qui avons un rôle majeur dans la transmission de la bactérie étions encore peu connus.

> " *On y a été [en Italie] [. . .] et là je me suis rendue compte de la différence entre la Corse et le contexte italien en terme d'abondance de vecteurs et de dégâts clairement !* " Agent INRAE

> " *Je m'en souviens très bien [de la première fois où j'ai entendu parlé de Xylella], c'est quand il y a eu la crise en Corse, [. . .] on était en mission [. . .] et donc on entend tout ça et là on se dit, [. . .] tient ça serait pas mal d'aller faire un tour en Corse, on pourrait faire un point zéro et voir un peu les vecteurs parce qu'on ne connaît rien.* " Agent INRAE

C'est à partir du constat de ces scientifiques que j'ai commencé à exister succinctement dans le paysage de la recherche concernant *Xylella fastidiosa* (plusieurs scientifiques ayant déjà travaillé sur le déterminisme génétique de mes patrons de couleurs) et que je suis également devenu un objet politique. En effet, la seule volonté des scientifiques ne suffit pas à me faire exister aux yeux de la société. Les chercheurs ont contacté leur hiérarchie, elle-même en lien avec la DGAl et c'est finalement sur demande de la DGAl que les chercheurs sont partis en Corse pour essayer de trouver « des insectes vecteurs de *Xylella* » ! En juillet 2015, les scientifiques qui sont venus jusqu'à moi n'étaient pas seuls, ils étaient accompagnés de membres du Ministère et de l'Anses. Sur place, d'autres organismes étaient présents avec des agents du SRAL (Service Régional de l'Alimentation), de la FREDON (Fédération Régionale de lutte et de Défense contre les Organismes Nuisibles), du CBNC (Conservatoire Botanique National de Corse) et également le préfet et des journalistes de Corse Matin. Finalement, avant même de devenir un véritable objet de recherche, j'étais déjà éminemment politique. D'après la lettre de mission provenant du Ministère [Chauvel et al., 2015], tous prélèvements d'échantillons, devaient être réalisés avec l'aval du DRAAF/SRAL Corse et devaient être mis en commun entre l'Anses et INRAE ; de même, les avancées et résultats de cette mission ne pouvaient pas être communiqués sans avis préalable du MAA avant le rendu du rapport. J'étais donc l'objet d'une attention administrative en lien avec la protection des végétaux auxquels je pouvais transmettre la bactérie mais sans que cette attention ne soit diffusée et partagée.

Cette mission avait également de nombreux objectifs scientifiques (indiqués dans la lettre de mission de la DGAl) avec une analyse épidémiologique, une analyse des insectes

sur place, ainsi que l'acquisition de connaissances sur les potentiels insectes vecteurs (qui devaient initier un travail commun entre INRAE et l'Anses) et enfin l'initiation d'une analyse de risque.

Après cette mission les scientifiques d'INRAE sont revenus seuls pour nous étudier. Ils ont pu continuer d'en apprendre plus sur nous avec une année de financement INRAE et du Ministère. Cette année était remplie d'objectifs pour eux avec le développement d'une banque de données pour « identifier les vecteurs potentiels de la bactérie grâce à des analyses biomoléculaires », la cartographie des zones à risque et enfin, le développement « d'une méthode d'identification à haut débit de la bactérie dans ses insectes vecteurs ». Ce dernier objectif impliquait deux unités de recherche et visait un transfert des connaissances acquises à l'Anses. D'autres scientifiques (bactériologistes, statisticiens) d'unités INRAE étaient impliqués dans les recherches sur la bactérie ou les zones à risque sans me porter intérêt. Tous les scientifiques impliqués dans cette convention, via leurs recherches, devaient participer à un groupe de surveillance de *Xylella fastidiosa*. Malgré de nombreuses questions toujours en suspens me concernant et concernant la bactérie, la convention entre INRAE et le Ministère n'a été ni prolongée ni reconduite.

Les scientifiques qui avaient commencé à m'étudier sont quand même revenus en Corse, avec l'appui du CBNC et des financements de la Collectivité Territoriale de Corse qui nous étaient presque exclusivement réservés. Le premier objectif était de créer une base de données, interfacée sur internet, permettant de nous identifier. Cette base de données devait contenir des informations sur notre taxonomie, notre distribution, notre biologie ainsi que des illustrations. Le second objectif visait à développer des protocoles pour le suivi à grande échelle de mes congénères sur l'ensemble de l'île afin de savoir où nous nous trouvions et comment nous vivions. Pour atteindre tous ces objectifs, les chercheurs avaient initialement prévu un projet de trois ans, durée allongée d'un an pour cause de pandémie mondiale chez l'Homme.

La menace que faisait planer la bactérie pour les professionnels corses était toujours très présente au début de ce projet et elle a engendré de nombreux articles de presse et un remous médiatique important sur l'île avec des questions pour l'importation et

l'exportation de matériel végétal dont les plantes aromatiques et médicinales, les ceps de vigne et les oliviers. Ce climat a impacté les recherches qui ont à nouveau été mêlées à des enjeux politiques bien identifiés par les chercheurs. Pour mener ce projet à bien, selon les scientifiques, il fallait impliquer de nombreux partenaires corses mais également que l'ingénieur INRAE recruté avec les fonds de ce projet soit basé en Corse. En effet ce projet visait à *"poser de la science et de la rationalité"* selon un agent INRAE dans un contexte où les producteurs étaient inquiets pour leurs cultures et où les médias couvraient l'arrivée de la « bactérie tueuse d'oliviers », il fallait une instance scientifique qui apporte un point de vue *"objectif et rationnel"* ; mais tous ces enjeux dépassaient largement les objectifs scientifiques qui me concernaient.

Malgré la menace représentée par la « bactérie tueuse d'oliviers » en Italie, les recherches ont été marquées par les réticences de certaines filières de production. Alors que les oléiculteurs étaient très investis pour comprendre où j'étais et si la bactérie était présente dans leurs parcelles, d'autres filières étaient plus réticentes à la recherche de cette bactérie qui, si elle était détectée, induisait des mesures réglementaires fortes menaçant la stabilité économique des exploitations. Au début du projet, l'ensemble des filières végétales agricoles corses avec une culture sensible à *Xylella fastidiosa* (toutes souches confondues) ont été contactées. Mais les scientifiques ont vite compris qu'ils ne pourraient pas aller me collecter au sein de tous ces milieux agricoles, or c'était un problème à la fois politique et scientifique de ne pas représenter toutes les filières agricoles du territoire au sein du plan d'échantillonnage. Ainsi, mon statut d'insecte vecteur représentait une menace et était donc problématique d'un point de vue politique et économique avec la mise en place d'une approche « sécuritaire d'éradication » qui était liée au statut d'organisme de quarantaine à lutte obligatoire de *Xylella fastidiosa* dont je suis l'hôte.

Les activités de recherche ont débuté par un tour des paysages de Corse, avec le fauchage de nombreux milieux, à la recherche de mes congénères mais également des espèces semblables, se nourrissant de sève brute et donc qui auraient éventuellement la capacité de transmettre *Xylella fastidiosa.* Suite à cette première « tournée terrain », les scientifiques, qui pressentaient déjà cette découverte, ont montré, grâce à de nombreuses observations, que j'étais le vecteur majoritaire de la bactérie sur l'île au sein des milieux

semi-naturels et que je me nourrissais principalement de ciste de Montpellier : j'étais découvert ! Ainsi, ils ont choisi d'étudier les milieux semi-naturels, qui sont en connexion avec les parcelles cultivées et qu'il est donc important de connaître puisqu'ils pourraient être des réservoirs de la bactérie. De plus, choisir d'étudier les milieux semi-naturels ne posait plus de problème d'ordre politique avec les filières. Finalement, lors de la présentation du projet à ces dernières dans le cadre d'un comité de pilotage du projet de recherche, le responsable d'une filière pourtant réticente en début de projet a regretté le manque d'investigations pour me trouver en parcelles agricoles.

Pour finir, après quatre années en Corse, les scientifiques ont quitté l'île de beauté. La fin du projet de recherche a également marqué la fin des fauchages en Corse et donc de la collecte de mes congénères sur l'île, plus apaisée qu'à leur arrivée puisque les milieux agricoles n'étaient pas touchés par la bactérie. Maintenant, tous voyaient la différence avec la situation italienne où les oliviers des Pouilles avaient été décimés. Cette période a aussi marqué le début d'un nouveau projet de recherche sur le continent ; les scientifiques sont donc repartis à ma recherche en Nouvelle-Aquitaine, en PACA et en Occitanie.

Ce projet, d'une durée de deux ans, à la différence du précédent, est financé par un grand groupe français privé, possédant de nombreux hectares de vignoble et qui a fait appel aux scientifiques pour les aider à se préparer face à la menace représentée par *Xylella fastidiosa*.

> " *Sur la diapo, [je présentais] ce que l'on a comme financement en ce moment, ce qu'on fait, les différents projets. Et là il [un dirigeant du groupe] me coupe et il me dit « Non mais attendez c'est incroyable, vu l'ampleur que peut prendre ce problème en France et en Europe on ne comprend pas comment vous ne pouvez pas avoir plus de. . . Écoutez ce qu'on va faire c'est qu'on va financer tout le projet nous-mêmes. Il faut vraiment mettre des moyens » Au début ils devaient financer 50% du projet. Il était presque indigné !* " Agent INRAE

* * *

J'espère que la mise en pratique de l'adoption du point de vue de l'insecte, qui constitue le cœur de mes recherches, aura permis aux lectrices et lecteurs de comprendre que *Philaenus spumarius* n'est pas seulement présent au cœur des préoccupations scientifiques à travers différents projets de recherches mais qu'il est également éminemment politique en lien avec des problématiques qui concernent les activités humaines et leur coordination hors de la sphère du laboratoire.

En effet, concevoir la problématique de *Xylella fastidiosa* et sa détection en Corse à travers son insecte vecteur permet de comprendre les projets de recherche menés mais également comment cet insecte, qui est devenu un objet de recherche, a été un objet intermédiaire [Vinck, 2009] à l'interface entre la recherche, l'expertise, le monde agricole ou encore la politique des territoires. La problématique « *Xylella fastidiosa* » a été saisie par les professionnels agricoles et notamment les oléiculteurs corses mais également par les médias [6]. Cette réaction massive a probablement impliqué la mise en place rapide de mesures par la DGAl avec l'envoi d'une mission en Corse d'agent du Ministère mais également d'INRAE et de l'Anses durant les congés d'été [Chauvel et al., 2015]. Néanmoins, après quelques années, le passage de l'île en zone d'enrayement a conduit à ne pas détruire l'intégralité des végétaux en zone infectée mais également de ne pas mettre les oléiculteurs, oléicultrices et pépiniéristes, dans des situations « inégalitaires », avec certains en zone tampon et donc avec une activité économique restreinte voire une production détruite et d'autres non. Ce point montre comment les activités de détection de la bactérie sont associées à la mise en œuvre d'une gestion différenciée des risques, d'un point de vue cartographique, selon les zones géographiques. De plus, durant plusieurs années et jusqu'en 2022, les services de l'État ont recherché activement la bactérie sans la détecter en parcelle cultivée [Giannechini, 2022]. Cette situation a probablement conduit à une baisse de l'inquiétude « visible » face à *Xylella fastidiosa* bien que le risque de sa propagation reste élevé.

6. https://www.lesechos.fr/2015/06/peste-de-lolivier-litalie-tremble-pour-son-or-vert-1107265

https://www.corsenetinfos.corsica/Xylella-fastidiosa-La-colere-des-agriculteurs-apres-l-entree-de-plants-illegaux-en-Corse-et-les-menees-des-pepinieristes_a26385.html

La suite de cette section quitte la mise en récit du « point de vue de l'insecte », pour mettre en lumière le devenir de *Philaenus spumarius* dans les projets de recherche menés au CBGP avec une analyse des activités de recherche et une interprétation des chaînes de traduction telles que nous venons d'en situer l'origine.

2.1.2 Méthodes

La méthode principalement déployée pour l'écriture de cette sous-section est basée sur la méthodologie présentée dans un article de Bruno Latour [Latour, 1993]. Pour l'écriture de cette publication, l'auteur participe à une mission conduite en Amazonie, ainsi, il peut observer l'ensemble des activités des scientifiques sur le terrain et suivre la production des inscriptions et des faits jusqu'aux centres de décisions où un regard plus global est possible. Cette observation participante lui permet de répondre à la question de la construction des connaissances scientifiques : *« Comment passer de l'ignorance à la certitude, de la faiblesse à la force, de l'infériorité à la domination du monde par le regard ? »* [Latour, 1993].

Pour cela, Bruno Latour restitue sa description fine des activités scientifiques sous la forme d'une série de photographies prises au cours de cette mission en Amazonie qui montrent différents moments clés et des dispositifs spécifiques nécessaires aux opérations de traduction. Ainsi, il montre que la connaissance provient d'un enchaînement d'éléments agencés sur une prise de forme d'objets intermédiaires qui relient les chaînes de traduction, (figure 16 page suivante) les unes aux autres pour former un réseau sociotechnique.

> " *Nous avons reconnu à chaque étape, un opérateur commun qui tient à la matière par une extrémité et à la forme par l'autre et qui se distingue de l'étape suivante par une rupture, par un gap qu'aucune ressemblance ne saurait combler.* " [Latour, 1993]

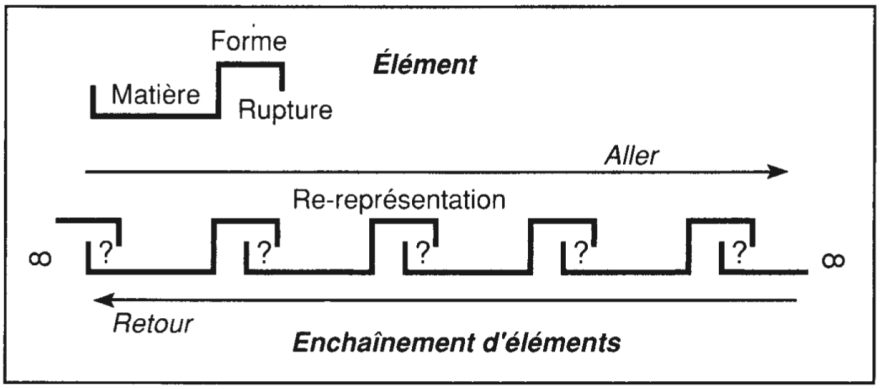


FIGURE 11.21.

FIGURE 16: Représentation du processus de traduction dans l'article de Bruno Latour ([Latour, 1993], p.216)

Cette section reprend les principes de cette description fine des activités de laboratoire afin de permettre la compréhension des opérations de traduction sur la conduite et la réalisation de l'activité scientifique. Ce travail repose à la fois sur ma participation aux travaux de recherche en écologie (réunions de travail, conduite des expérimentations, etc.) mais également sur de l'observation participante des travaux du laboratoire au sein desquels je me suis engagée. Enfin, une série d'entretiens menés auprès des différentes personnes impliquées dans la recherche sur les insectes vecteurs de la bactérie complète l'observation participante en incluant le point de vue des acteurs sur leurs activités.

Afin de mobiliser la méthode développée par Bruno Latour et de faire apparaître les chaînes de traduction au sein de mon travail, j'ai maintenu le suivi des activités scientifiques du point de vue de leur objet : l'insecte vecteur, *Philaenus spumarius*, à la façon d'une expérience mentale visant à observer les activités expérimentales qui se portent sur lui, dans des chaînes de traduction. Ce travail fondé sur une sorte d'inversion du regard sociologique m'a également permis de m'extraire de mes activités de recherche en écologie tout en conservant le point de vue des acteurs centré sur l'insecte vecteur. Ainsi, ce raisonnement depuis le point de vue de l'insecte consiste à mettre en lumière les chaînes de transformation et de traduction qui font la transition entre une bactérie xylémique hébergée à la fois au sein de plantes et dans la cavité buccale des insectes vecteurs jusqu'à

la considération de cette bactérie dans un processus d'épidémio-surveillance et de gestion des risques qu'elle représente.

2.1.3 Mise en récit des opérations de traduction et de leurs instances

Dans les sous-sections suivantes, les travaux présentés ont été mis en œuvre dans le cadre de la collaboration de plusieurs personnes au CBGP avec l'investissement sur ce projet de recherche de deux directeurs de recherche, une chargée de recherche, une doctorante, un ingénieur de recherche et une ingénieure d'études, un assistant ingénieur et une technicienne.

La mise en récit des opérations de traduction est basée sur les travaux menés sur le continent (dont les résultats seront présentés dans la partie III) mais des méthodes déployées en amont dans le cadre du projet en Corse pourront être évoquées.

Le projet mené en Corse a permis de détecter la bactérie dans ses insectes vecteurs sur l'ensemble du territoire et a mis en évidence une préférence alimentaire de *Philaenus spumarius* pour le ciste de Montpellier. Ces résultats permettent d'appuyer la surveillance et la gestion de la bactérie, cependant, la phénologie et l'écologie des insectes varient selon les régions et le comportement alimentaire de *Philaenus spumarius* semble particulier par rapport aux observations de sa polyphagie ailleurs en Europe. Ainsi, dans le cadre du projet de recherche mené sur le continent, les scientifiques se sont posés des questions en lien avec l'émergence potentielle de la bactérie et dans ce cas qu'en est-il du « moteur de l'épidémie » ? C'est-à-dire quels insectes vecteurs sont présents ? Dans quelles régions (Nouvelle-Aquitaine, PACA, Occitanie), dans quels milieux (cultivés ou semi-naturels) ? Sur demande du financeur, une détection de la bactérie a également été mise en œuvre pour savoir si elle était présente dans les vignobles du cognaçais. La détection éventuelle de cette dernière est donc associée à la preuve d'une émergence potentielle avec toutes les conséquences réglementaire que cela entraînerait

Ce sont donc ces questions de recherche, construite lors du montage du projet en cohérence avec les ambitions du financeur, pour anticiper l'arrivée de la bactérie qui sont

à l'origine de la description de la production scientifique et de sa mise en faits présentées ci-dessous.

2.1.3.1 La préparation de la capture des insectes ou comment se construit un plan d'échantillonnage

Alors que le projet Corse portait un intérêt à la détection de la bactérie en zone infectée couplé à l'étude de la phénologie et de la distribution de *Philaenus spumarius* pour caractériser la situation épidémiologique de la région, le projet sur le continent, principalement en Nouvelle-Aquitaine, se place en amont de cette situation épidémique avec une anticipation de l'arrivée de la bactérie. Ainsi, bien que les méthodes de collecte des insectes soient similaires, la méthode de mise au point du plan d'échantillonnage en Corse ne pouvait pas être réutilisée en l'état pour l'échantillonnage en Nouvelle-Aquitaine qui devait couvrir une zone beaucoup plus vaste et des milieux semi-naturels (comme en Corse) mais également des milieux cultivés (dont les vignobles des partenaires du financeur) et répondre à d'autres questions de recherche.

L'échantillonnage nécessite une préparation en amont, en cohérence avec les questions posées mais également les contraintes spatiales et temporels du projet de recherche mené. Pour cela, les scientifiques se demandent comment déterminer les zones où prélever les insectes et donc comment distribuer l'effort d'échantillonnage afin de pouvoir mettre en œuvre les analyses statistiques *ad hoc* pour répondre aux questions de recherche posées. La détermination des zones où prélever les insectes relie la collecte, située dans l'espace et le temps, au laboratoire. Constituer cette chaîne de la collecte des insectes jusqu'à la détection de la bactérie dans ces hôtes suppose de formuler, décrire et stabiliser les méthodes pour qu'elles deviennent reproductibles, propriété fondamentale de la méthode scientifique, mais également déplaçables et applicables ailleurs avec des modifications elles-mêmes descriptibles.

La préparation du plan d'échantillonnage à mettre en œuvre est généralement réalisée en deux étapes successives, dans le cas de ces recherches avec le logiciel R [R Core Team, 2021] de statistiques et d'analyse de données et un système d'information géographique, QGis [QGIS Development Team, 2022]. En premier lieu, un premier plan d'échantillonnage « idéal » est développé en plaçant des points répartis sur l'ensemble

de la région Nouvelle-Aquitaine. Ce plan d'échantillonnage est, sur le papier et pour le traitement des données, très satisfaisant puisqu'il permet de prospecter l'ensemble de la grande région, avec un effort d'échantillonnage important. Néanmoins, les chercheurs qui avaient l'habitude de faire du terrain, voyaient naturellement les problèmes logistiques posés. La première version du plan d'échantillonnage soulevait des questions de faisabilité puisqu'il impliquait de faire plusieurs milliers de kilomètres deux fois par an et de mobiliser près d'une dizaine de personnes : ce qui était proche de quelque chose d'irréalisable au regard des capacités limitées en personnel. Cependant, ce plan d'échantillonnage était le support d'une réflexion autour du traitement statistiques des résultats et donc nécessaire à l'élaboration et aux choix d'analyses statistiques robustes. En effet, il est nécessaire de penser à ce qu'il sera possible de faire avec les prélèvements d'insectes avant même de les avoir commencés.

Ainsi, tous les membres de l'équipe ont saisi les deux contraintes majeures : effectuer un nombre conséquent de relevés de terrain afin qu'ils soient cohérents pour pouvoir réaliser des analyses statistiques robustes et permettre que la campagne de relevés soit réalisable tant en termes de coûts financiers qu'humains.

Suite à plusieurs réunions, les scientifiques ont développé un plan d'échantillonnage « compromis » (figure 17 page suivante) pour satisfaire à ces contraintes tout en atteignant les objectifs du projet. Ce plan d'échantillonnage est construit autour de buffers (zone circulaire d'un kilomètre de rayon) au sein desquels plusieurs milieux sont prospectés pour la collecte des insectes.

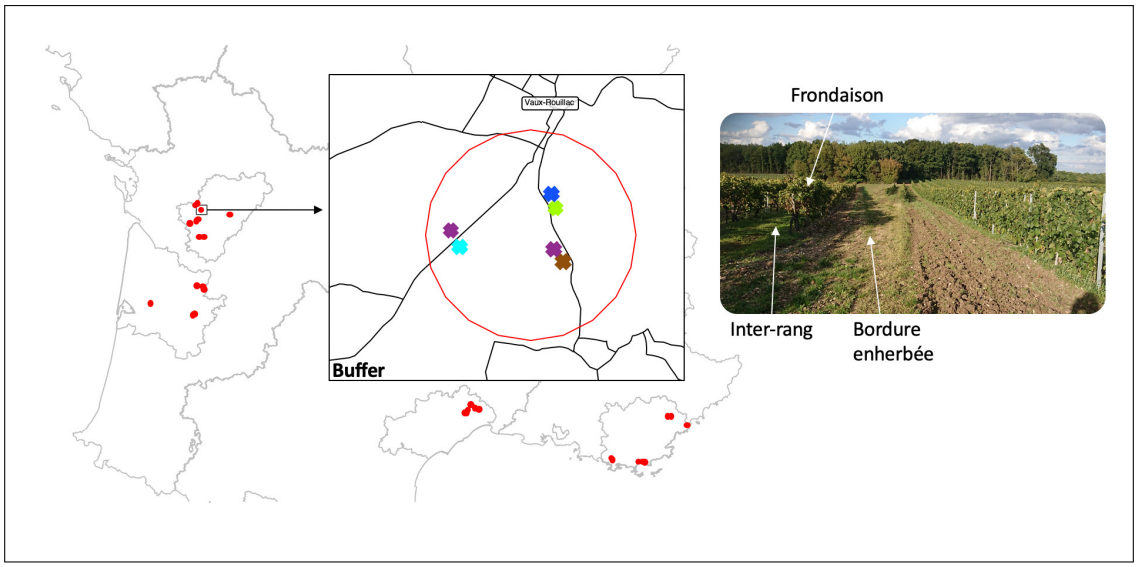


FIGURE 17: Description du plan d'échantillonnage en « poupées russes ». Les points rouges sur la carte de gauche représentent des « buffers » qui regroupent différents sites correspondant à différents types de milieux (les vignes représentées par des croix violettes, les prairies en vert, les ripisylves en bleu et les forêts en marron). Ces sites sont eux-mêmes composés de « sous-milieux » avec la strate herbacée (inter-rang de la parcelle et bordure herbacée) et la frondaison

Une fois le plan d'échantillonnage établi, il s'agit de porter un intérêt à « l'échantillonnage » en lui-même et qui est fondamental pour la production de données. Bien que les travaux présentés par la suite soit effectués sur l'analyse de l'échantillonnage mis en place dans le cadre du projet développé en Nouvelle-Aquitaine (et auquel j'ai participé), il est important de noter que les techniques mises en œuvre (pour la capture des insectes par exemple) sont largement issues du protocole mis en place en Corse par les chercheurs et ingénieurs ayant participé au projet.

2.1.3.2 La « Méta-donnéisation » de l'insecte : capture, étiquettes et feuilles terrain !

A leur arrivée sur le terrain, les ingénieurs et la doctorante, accompagnés de techniciens et personnels du laboratoire qui ne participent pas à l'ensemble du projet mais prêtent main forte pour l'échantillonnage savent précisément où ils doivent aller, munis de cartes et d'un GPS (figure 18 page ci-contre). Ils sont rejoints par des ingénieurs et techniciens d'autres équipes INRAE qui participent au projet financé sur *Xylella fastidiosa*. Cependant, la réalité du terrain est parfois bien différente de celle des cartes.

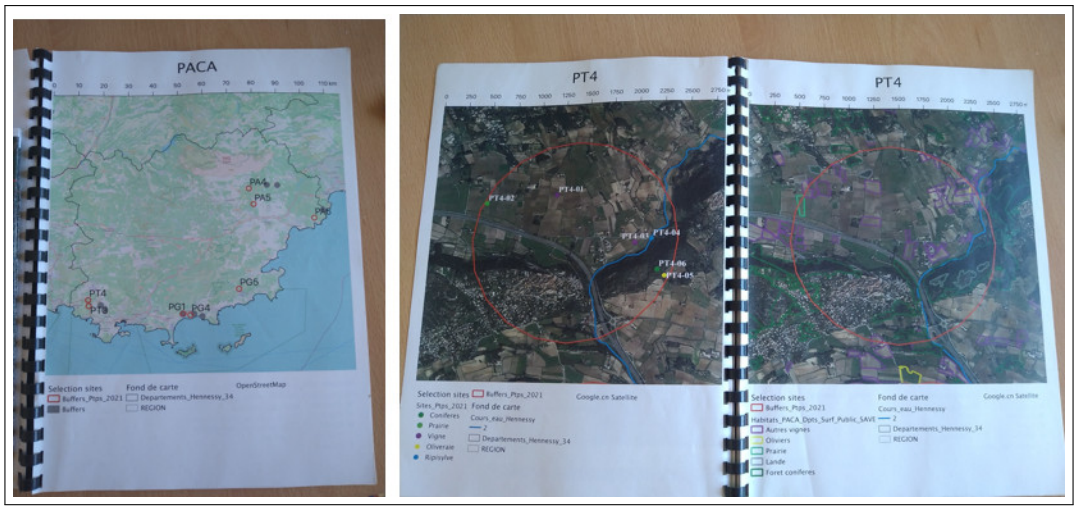


FIGURE 18: Cahier de terrain regroupant l'ensemble des cartes de situation, avec une carte générale qui présente l'ensemble des buffers au sein d'une région puis deux cartes par buffer avec une carte pour les sites sélectionnés et une carte avec la couverture du sol afin de remplacer un site sélectionné qui serait inaccessible ou pour lequel la couverture du sol serait inexacte

Par exemple, des prairies se révèlent être inaccessibles car clôturées et dans ce cas, à l'aide des cartes terrain, les ingénieurs peuvent trouver des « plans B », des zones similaires à prospecter au sein de la zone d'échantillonnage (buffer) initialement prévue. Néanmoins, dans la majorité des cas, les zones à prospecter définies sur les cartes sont accessibles.

A leur arrivée sur une zone à échantillonner, des photos dites « de situation » sont prises. Ces photos doivent permettre aux ingénieurs de pouvoir se remémorer le terrain une fois de retour au laboratoire mais de l'aveu même de l'un d'entre eux *"On prend tout le temps des photos de situation mais on ne s'en est encore jamais servi ! "* Agent INRAE. Une fois les photos de situation prises, place à la collecte des insectes selon le protocole d'échantillonnage prévu : au filet fauchoir pendant 4 minutes pour les insectes adultes (figure 19 page suivante) ou au sein d'une zone délimitée par un quadrat pour les larves. Dans ce deuxième cas une seconde photo est prise, cette fois-ci non pas du paysage mais du quadrat avant qu'il ne soit prospecté.

FIGURE 19: Photo du prélèvement des insectes à l'aide d'un filet fauchoir en milieu semi-naturel

Dans tous les cas, une feuille de terrain (figure 20) est remplie par chaque personne qui prélève des insectes, et ce, même si aucun insecte n'a été récolté sur la zone prospectée. On retrouve entre autres sur cette feuille la date et l'heure de prélèvement, les initiales du préleveur, les identifiants de la zone prélevée et éventuellement des commentaires divers, par exemple le fait qu'aucun insecte n'ait été trouvé sur la zone échantillonnée.

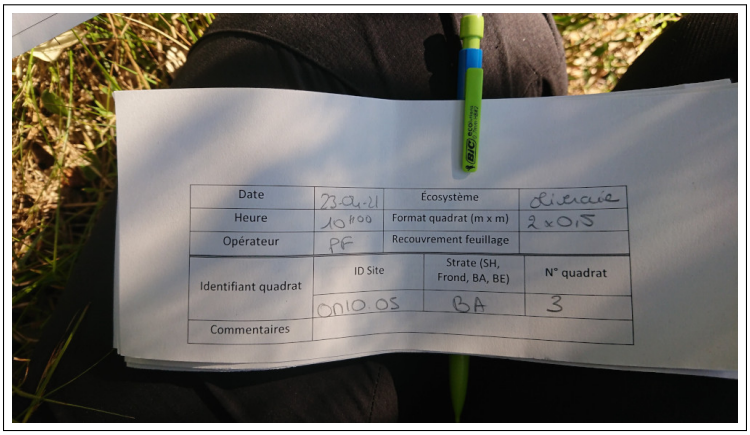


FIGURE 20: Feuille de terrain regroupant les informations attachées aux insectes prélevés sur le terrain (ici la feuille de terrain concerne les larves et elle est rattachée au protocole avec l'utilisation de quadrats)

Si des insectes sont trouvés sur la zone prospectée, ils sont mis dans des tubes avec de l'alcool à 70°. Une étiquette contenant les mêmes informations que la fiche terrain (la date de prélèvement, les initiales du préleveur, les identifiants de la zone prélevée) est glissée dans le tube d'alcool qui contient les insectes. Si ces insectes sont des larves, alors le tube est placé dans un sachet plastique contenant la plante sur laquelle la larve a été prélevée. L'ensemble des sachets plastiques contenant les tubes de larves et plantes pour un même quadrat sont placés dans un plus grand sachet avec la feuille terrain.

Suite à ce travail de terrain, l'insecte qui était libre dans un milieu donné devient un objet frontière : il sera partagé par plusieurs scientifiques qui « agiront sur et avec lui » pour répondre à différentes questions de recherche [Leigh Star, 2010]. Cet insecte va subir de nombreuses manipulations, dont les premières sont sa mort et sa mise en tube dans de l'alcool à 70°, qui vont le transformer en un complexe de données agrégées. Le tube d'alcool contenant le ou les insectes est associé à de nombreuses informations telles que la date, l'heure ou encore le lieu de la collecte. Ce nouvel insecte en tube, complété d'informations de temps et de lieu, est prêt à entrer dans le processus de la recherche scientifique avec, en premier lieu, son « rangement/classement » puis son « utilisation » au sein d'études scientifiques dont nous allons parler plus en détails dans les prochaines sous-sections. L'infrastructure matérielle de la mise en base de données est ainsi constituée.

2.1.3.3 Rangement des insectes et des métadonnées associées : la mise en base

Le rangement des insectes se fait au cours de plusieurs configurations de travail principalement au laboratoire mais également au bureau pour la mise en base des données au sein de fichiers informatiques. Nous allons donc d'abord voir comment sont traités les tubes d'insectes au laboratoire pour être classés et rangés puis comment sont mises en base les informations associées.

2.1.3.4 Le travail de laboratoire

Dans les jours suivant leur arrivée au laboratoire, les boites de tubes qui contiennent les insectes (et qui sont stockées au réfrigérateur à 4°C) vont être ré-ouvertes. Les insectes sont identifiés morphologiquement sous loupe binoculaire par les scientifiques formés à l'entomologie ou spécialisés dans cette discipline : famille, genre et espèce (lorsque cela est possible). Le plus souvent un « tube de stockage » contiendra une seule espèce d'insecte : ainsi des insectes provenant d'un même « tube terrain » pourront être séparés en plusieurs « tubes de stockage » lors de l'identification. Néanmoins, aucune perte de données n'est à déplorer grâce à la « mise en base informatique » de chaque tube. Les insectes identifiés et séparés par espèce sont remis dans des tubes avec de l'alcool à 96° pour une bonne conservation des spécimens et de leur ADN. Sur chaque tube, deux étiquettes sont collées : un QR code sur le bouchon et une étiquette avec un identifiant unique sur le côté. Cet identifiant est composé des initiales (première lettre du prénom et trois premières lettres

du nom) de la personne qui a prélevé et/ou identifié les spécimens et un numéro : par exemple PFAR00001, pour le tube des premiers individus (issus d'un seul tube terrain) identifiés par Pauline Farigoule. Ces identifiants uniques ne sont pas propres au projet de recherche qui s'intéresse aux insectes vecteurs de *Xylella fastidiosa*, ils sont utilisés au sein de l'ensemble des projets des chercheurs qui travaillent sur *Xylella fastidiosa* et ce depuis plus de 20 ans pour tous les spécimens collectés et conservés dans les réfrigérateurs et congélateurs. Cette pratique de l'encodage est ainsi une routine essentielle et fait partie de la standardisation des faits obtenus, c'est une activité de traçage par l'écrit qui participe à la culture du laboratoire et qui permet de remonter les chaînes de traduction jusqu'au prélèvement. Cette traçabilité permet de créer une forme de réversibilité.

> " *C'est dans nos mœurs [. . .]. Les codes, c'est les codes des récolteurs ou des envoyeurs. On travaille comme ça depuis toujours. Pourquoi ? Parce que quand il y a un souci d'identification on va voir directement l'intéressé ! On travaille comme ça depuis 20 ans. Xylella est arrivée dans un système déjà préexistant. On travaille depuis toujours comme ça.* " Agent INRAE

Les identifiants collés sur chaque « tube de stockage » (figure 21 page suivante) sont également utilisés dans la base de données propre au projet de recherche sur les insectes vecteurs de *Xylella fastidiosa*. En effet, au cours de l'identification de l'insecte et de l'attribution au tube d'un numéro unique, l'ensemble des informations soigneusement notées au crayon sur l'étiquette, glissée dans les tubes de terrain, sont reportées dans une base de données informatisée : un tableau Excel®. Malgré cette retranscription des informations, si les insectes contenus dans un « tube de terrain » sont placés dans plusieurs « tubes finaux » alors les étiquettes « de terrain » avec les informations sont dupliquées et placées dans chacun des tubes finaux. Si un « tube de terrain » devient « un tube de stockage » alors l'étiquette est conservée et replacée dans le « tube de stockage ».

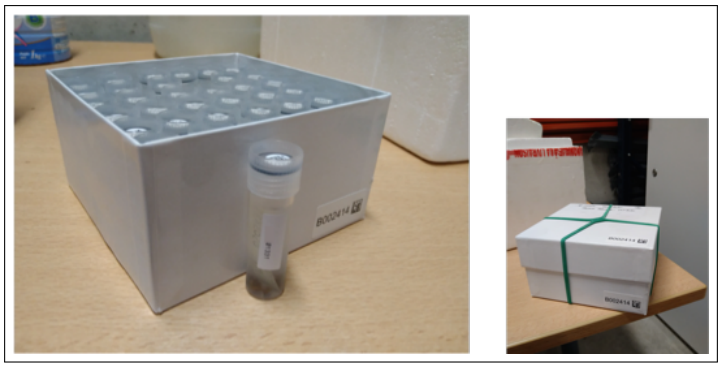


FIGURE 21: Photographies des boites de stockage des tubes d'insectes associés à un code tube suite à l'identification des insectes

Lorsque des larves d'insectes sont prélevées au printemps, une étape supplémentaire au laboratoire est nécessaire (figure 22 page suivante). Les ingénieurs, aidés de la doctorante et des assistants ingénieurs et techniciens, doivent également classer les plantes sur lesquelles les larves ont été collectées et qui ont été mises en sachet. L'activité de traçage va donc également concerner les plantes « supports » suivant le même procédé.

Pour cela, chaque plante est associée au numéro du tube de stockage de la larve prélevée sur cette dernière. La plante est photographiée sous différents angles, à l'appréciation de l'ingénieur qui détient des compétences en botanique, pour pouvoir l'identifier. Elle est ensuite placée en herbier pour une longue conservation avec l'identifiant du tube écrit sur la feuille blanche sur laquelle elle est scotchée. Ainsi, les plantes sont à la fois photographiées « encore fraîches » et conservées séchées pour permettre de les identifier par la suite. Le traitement des plantes au laboratoire est une priorité au retour du terrain puisqu'elles s'abîment rapidement (en quelques jours) après avoir été prélevées et que leur bonne conservation est nécessaire à leur identification. Elles ne sont pas identifiées immédiatement sur le terrain ou au laboratoire car aucun scientifique participant au projet n'est botaniste confirmé. Leur identification nécessite plusieurs semaines de travail avec l'utilisation de flores et est appuyée par l'expertise d'un botaniste confirmé de l'Anses.

FIGURE 22: Travail au laboratoire d'entomologie. Conditionnement des larves d'insectes dans des tubes de stockage avec les étiquettes (code unique) et photographie des plantes associées avant leur mise en herbier (photographie en bas à droite de l'image)

2.1.3.5 Le travail au bureau

Une fois « au bureau » (figure 23 page suivante), les ingénieurs peuvent ré-ouvrir la base de données informatique qui est, à ce stade, constituée des identifiants collés sur chaque tube d'insectes également appelés « code tube ». Cette base de données va ensuite être complétée grâce aux « fiches terrain » qui contiennent des informations sur la localisation du prélèvement des insectes (coordonnées GPS), le milieu dans lequel ils ont été prélevés, etc. Tout comme les étiquettes manuscrites des tubes, les fiches terrain sont conservées pour pouvoir y revenir avec ce souci de traçabilité qui permet la réversibilité. Ainsi, les informations recueillies dans le tube (étiquettes manuscrites) et sur le terrain (fiches terrain) sont rassemblées dans la base de données. Cette dernière est également complétée par les observations de laboratoire lors de la mise en tube de stockage des individus, avec le nombre d'individus par tube, le nom de l'espèce de l'insecte (lorsque cela est possible sinon le nom du genre ou de la famille seulement) et parfois le sexe de l'insecte. Enfin, elle est complétée par des photographies de chaque zone prélevée qui sont soigneusement renommées puis classées dans des dossiers informatiques.

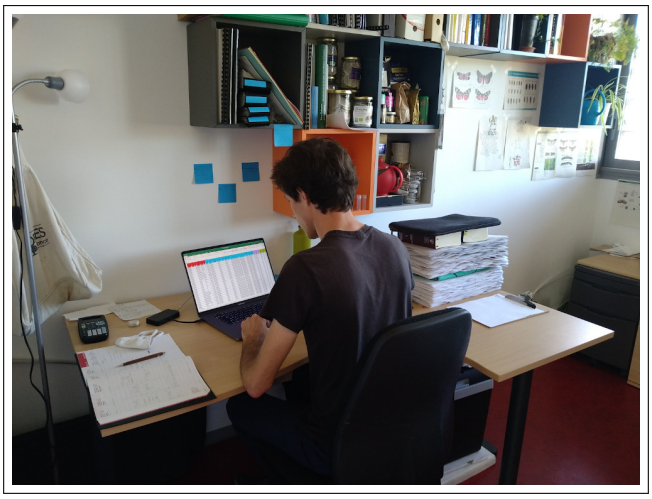


FIGURE 23: La mise en base des informations associées aux codes tubes

Cette base de données est utilisée pour le projet afin d'établir une traçabilité pour chaque insecte collecté. Elle est également intégrée à une base de données qui recense l'ensemble des spécimens présents au laboratoire : la base de données Arthemis [7]. Ainsi, les spécimens collectés et stockés dans les tubes ont une visibilité nationale voire internationale et ils peuvent être observés voire utilisés par d'autres scientifiques. L'infrastructure de connaissances est ainsi mise en service à l'échelle des communautés scientifiques. Le fait qu'elle soit accessible l'institue pleinement.

La base de données sera également utile aux chercheurs, ingénieurs et doctorants du laboratoire qui travaillent sur *Xylella fastidiosa* à de nombreuses reprises. Elle constituera le socle pour réaliser le tableau de données sur lequel sera effectué l'ensemble des analyses statistiques, pour comprendre les variations des populations d'insectes selon des facteurs abiotiques, tels que le climat par exemple. De plus, les scientifiques s'appuieront sur la base de données pour réaliser les expérimentations au laboratoire, en biologie moléculaire, afin de sélectionner les insectes les plus pertinents selon le lieu et leur année de prélèvement.

Nous allons maintenant revenir plus en détails sur le devenir de la base de données et son utilisation dans les sous-sections suivantes. Puis, nous verrons les expérimentations menées en biologie moléculaire. Et enfin, comment ces travaux sont utilisés au sein de publications scientifiques.

7. `https://arthemisdb.supagro.inrae.fr/`

2.1.3.6 Arrêt sur image : la chaîne de traduction

Une fois la mise en base terminée, les scientifiques vont pouvoir réaliser des analyses tant sur les communautés d'insectes que sur la prévalence de la bactérie au sein de populations d'insectes vecteurs. Afin de comprendre la suite du processus de traduction, les figures 24 page ci-contre et 25 page 138 regroupent l'ensemble des étapes de traduction de l'insecte vecteur : celles précédemment décrites et celles à venir.

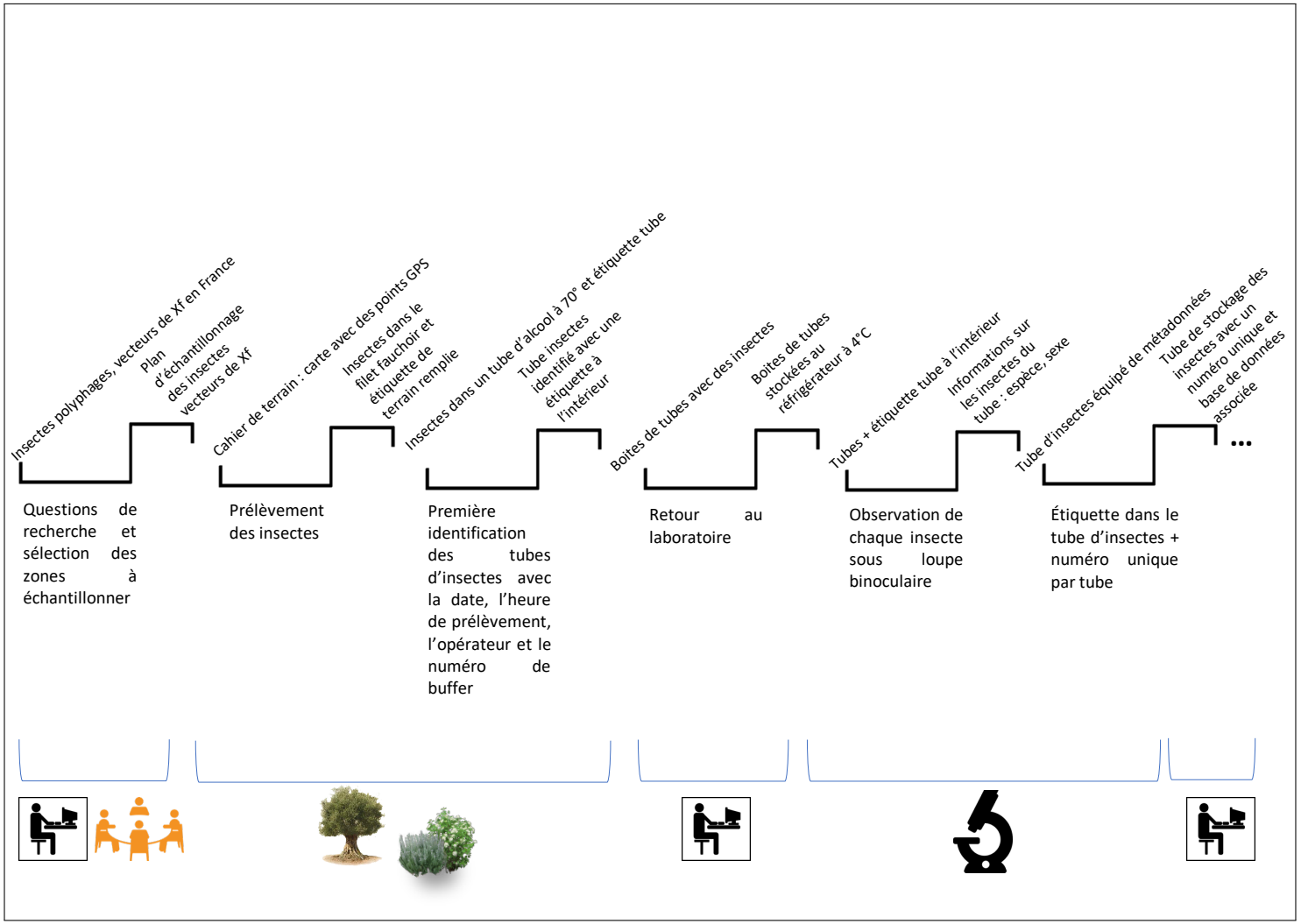


FIGURE 24: Chaîne de traduction du prélèvement des insectes à la mise en tube de stockage au laboratoire

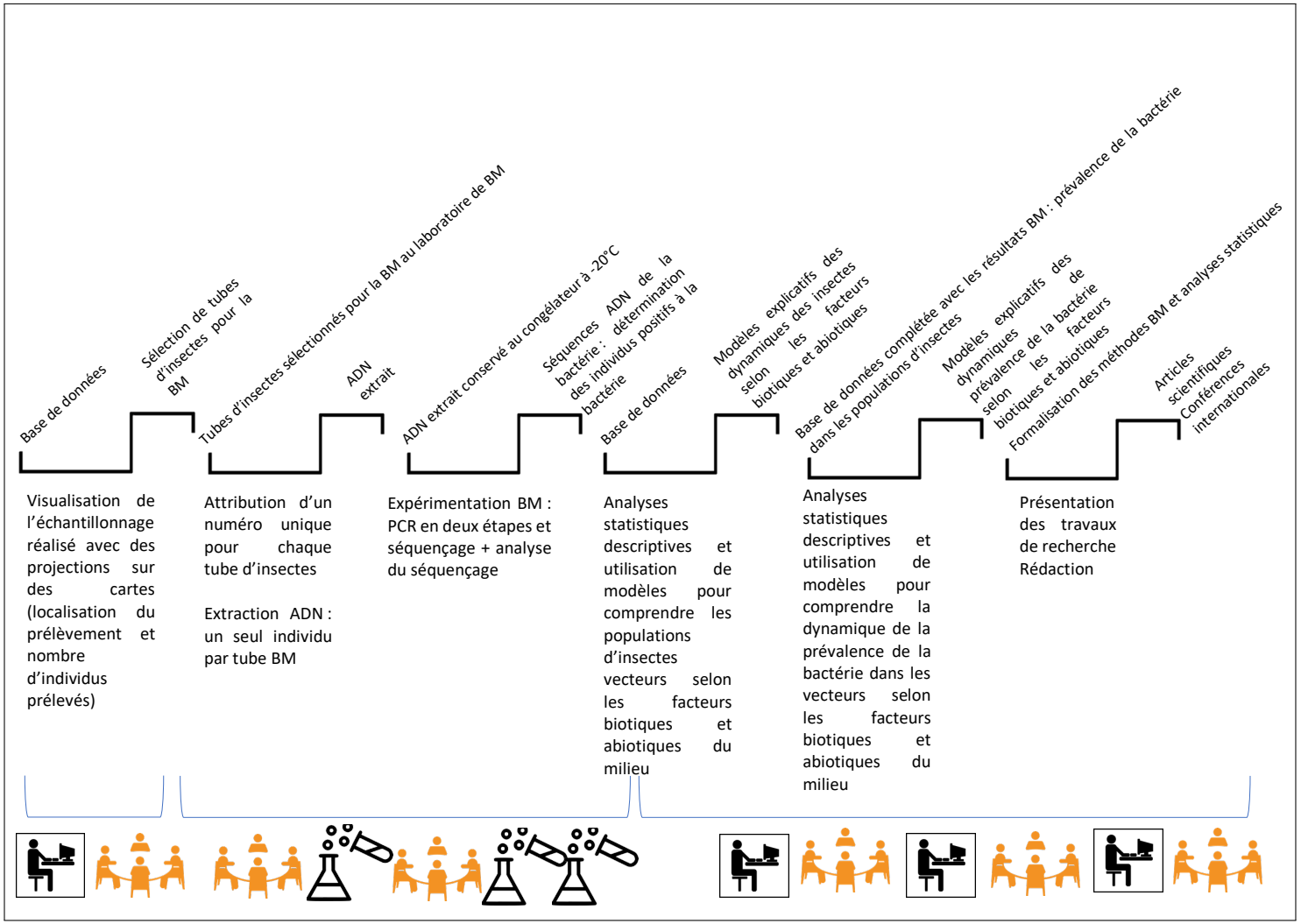


FIGURE 25: Chaîne de traduction des étapes d'analyse des insectes et de leurs métadonnées jusqu'à la production d'articles scientifiques

2.1.3.7 L'insecte au cœur d'une communauté : regroupement des tubes dans des analyses statistiques

Une fois « mis en base » (figure 26 page suivante), les insectes deviennent des « individus statistiques » associés à des données biotiques et abiotiques. Les scientifiques ne travaillent plus sur des insectes et des tubes mais sur des données portées dans un tableau avec une à plusieurs dizaines de colonnes (une colonne par information : espèce d'insecte, nombre d'insectes dans le tube, données biotiques et abiotiques) et des milliers de lignes (une ligne par tube d'insectes).

FIGURE 26: La mise en base : extrait de la base de données (intitulé des colonnes) qui permet de regrouper l'ensemble des informations des collectes d'insectes

Le traitement de ces données requiert la mobilisation de logiciels adaptés tels que R [R Core Team, 2021] et de méthodes statistiques robustes, définies en amont du plan d'échantillonnage, pour répondre aux questions posées qui lient l'insecte au terrain. En effet, comprendre l'impact des conditions pédo-climatiques sur les populations d'insectes par exemple requiert de regrouper les données des insectes collectés et également les données pédo-climatiques des zones prospectées qui sont reliées par des coordonnées GPS (inclues dans les métadonnées associées à l'insecte).

Les analyses statistiques relèvent d'étapes de développement de scripts pour nettoyer et analyser les données et d'étapes de discussions entre les ingénieurs et les chercheurs et surtout entre les personnes fortement impliquées dans ces développements de scripts et celles qui ont un regard plus « extérieur ». Ces échanges permettent à la fois de « vérifier » les analyses statistiques menées par la discussion de leur mise en œuvre et de leurs résultats et également de discuter les résultats eux-mêmes, dans lesquels l'insecte n'est plus considéré « seul dans un tube » mais appartenant à des populations d'insectes associées à un milieu de vie et une localisation précise soumise à des conditions pédoclimatiques (données provenant des observations des scientifiques et de bases de données extérieures au laboratoire telles que les données météorologiques).

2.1.3.8 Quand l'insecte devient ADN

L'insecte est associé à des métadonnées dès sa capture ce qui permet de l'étudier dans son milieu au moyen d'analyses statistiques. Néanmoins, les insectes contiennent également des données « invisibles ». Le travail effectué auparavant sur l'insecte dans son milieu va évoluer vers un travail qui vise à étudier ce qui est présent ou pas dans l'insecte lui-même, et donc rendre possible la détection de *Xylella fastidiosa*.

La mise en visibilité de ces informations nécessite une production de connaissances avec un développement méthodologique spécifique. C'est l'application de ces méthodes qui permet l'acquisition des connaissances supplémentaires. Alors, le « plan de l'étude » change et c'est moins l'insecte dans son milieu qui est étudié que « l'insecte lui-même et ce qu'il contient ». Ici, ce qui intéresse les chercheurs c'est de savoir si l'insecte est infecté par *Xylella fastidiosa*. Or, il n'existe aucune variation morphologique de l'insecte selon son infection par la bactérie ou non. Pour savoir s'il en est porteur, il faut

avoir recours à des méthodes de biologie moléculaire, techniques de manipulation d'ADN ou d'ARN (Acide RiboNucléique). L'insecte géolocalisé, mise en tube, identifié, indexé, mis en base devient un point d'observation du milieu : il devient l'allié objectif d'une observation de la bactérie in situ !

Le passage de l'insecte à l'ADN (figure 27 page suivante) est source de plusieurs enjeux distincts. En premier lieu, il y a un enjeu de finalités : à quoi servent les expérimentations menées, quelles informations apportent-elles, au service de quelles questions de recherche ? Il existe également un enjeu méthodologique : pour obtenir ces informations, les chercheurs en collaboration avec la doctorante et les « BMistes » (l'assistant ingénieur et les techniciennes biomolécularistes) doivent développer des protocoles expérimentaux en fonction de leurs besoins, selon les informations à recueillir et les finalités définies en amont des expérimentations. Enfin, un enjeu de partage des connaissances et notamment des bases de données complète la constitution d'une infrastructure de connaissances biomoléculaires.

Par exemple, dans le cadre de *Xylella fastidiosa*, une des finalités est de détecter la bactérie dans les insectes vecteurs. Ceci nécessite des développements méthodologiques pour que la détection soit la plus fiable et la plus sensible possible (détection précoce de la bactérie). L'application des méthodes développées nécessite un accès aux bases de données internationales afin de comparer l'ADN isolé lors des expérimentations avec celui isolé sur des souches de *Xylella fastidiosa*.

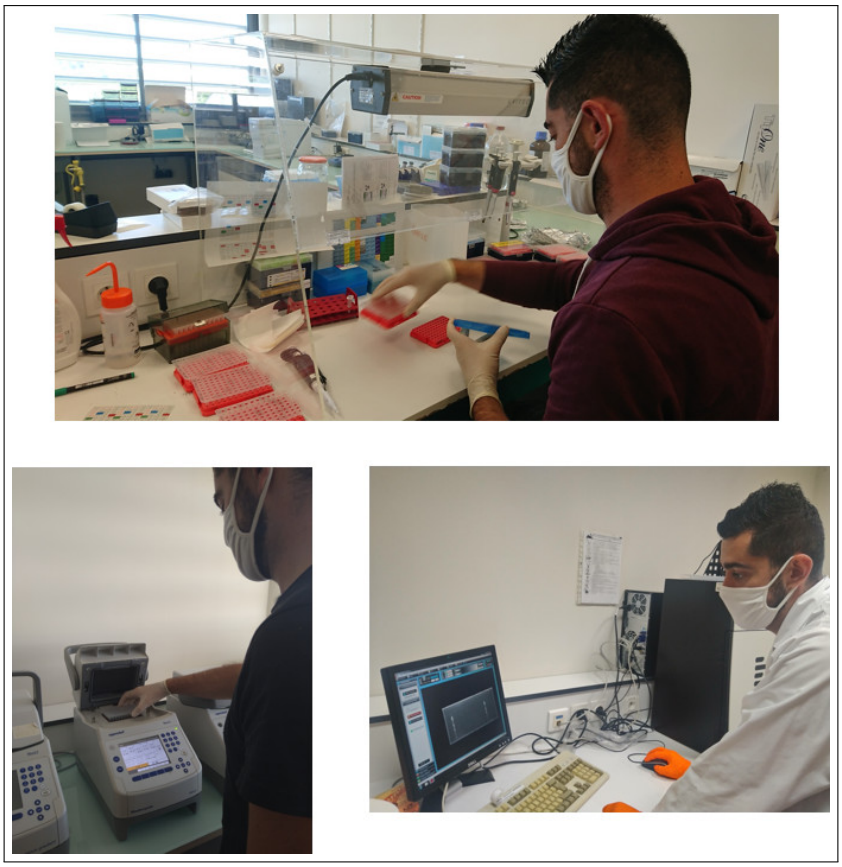


FIGURE 27: La biologie moléculaire : analyse de centaines d'échantillons en plaque et visualisation des résultats sur ordinateur

Enjeu 1 : enjeu de finalités

Les enjeux autour de *Xylella fastidiosa* ont propulsé *Philaenus spumarius* au sein des projets de recherche des scientifiques travaillant sur les insectes. Ce sont donc les enjeux sanitaires autour de cette bactérie qui sont à l'origine des recherches et qui les guident. Ces objectifs seraient différents sans cet enjeu sanitaire (description morphologique, etc.) mais ils sont néanmoins couplés à des enjeux de recherche plus fondamentaux avec le développement d'outils de biologie moléculaire de pointe par exemple qui pourront être « mis au service » d'autres questions de recherche. Pour les scientifiques, les objectifs autour de la détection de *Xylella fastidiosa* dans les insectes sont multiples. Il est important pour les chercheurs de comprendre si la bactérie est présente au sein d'une région géographique dans certains insectes : l'objectif est donc de détecter la bactérie de la façon la plus sensible possible.

En plus de la détection de *Xylella fastidiosa*, les chercheurs souhaitent la caractériser, c'est-à-dire connaître la sous-espèce de la bactérie dont l'insecte est porteur. En effet,

différentes sous-espèces de *Xylella fastidiosa* coexistent dans le milieu et elles ne sont pas hébergées par les mêmes plantes hôtes. Ainsi, si *Xylella fastidiosa* ssp *fastidiosa* est par exemple détectée en France : la vigne sera considérée comme une culture à risque contrairement à la détection de la sous-espèce *pauca* qui fait peser un risque sur les cultures d'oliviers et non sur la vigne.

Enfin, pour évaluer le risque de transmission de la bactérie d'une espèce de plantes à l'autre, il est important de comprendre sur quelles espèces de plantes les insectes vecteurs, potentiels ou avérés, se nourrissent. Le troisième objectif des scientifiques est donc de mettre en évidence le régime alimentaire des insectes et permettre alors de lier plante-hôte et vecteur dans une perspective épidémiologique à l'échelle d'un pathosystème. Comprendre ces enjeux nécessite de suivre précisément les méthodes de biologie moléculaire et d'adopter un point de vue technologique sur ce qui se passe au sein d'une plateforme de biologie moléculaire en « suivant les tubes ».

Enjeu 2 : enjeux méthodologiques

Pour atteindre les objectifs de mise en évidence des interactions insectes-bactérie et les interactions plantes-hôtes - insectes, les scientifiques se basent sur des méthodes de biologie moléculaire. Tout d'abord, il est nécessaire d'extraire l'ADN des insectes qui sera l'« objet » sur lequel porteront les analyses biomoléculaires. Pour cela, les scientifiques, en collaboration étroite avec les personnes du plateau de biologie moléculaire impliquées dans le projet *Xylella*, ont développé un protocole spécifique. Ce protocole, dont la version finale est présentée dans la première section de cette partie et en annexe (section II.1.2.1 page 89 et annexe B.2 page B17) va être ici précisé pour comprendre comment l'insecte devient ADN et les méthodes mises en œuvre pour détecter la bactérie.

Les insectes qui étaient entiers et regroupés dans des tubes d'alcool (selon leur espèce, la zone géographique où ils ont été prélevés et la période de prélèvement) vont être séparés et un seul insecte sera placé dans chaque tube de biologie moléculaire, appelé « tube DNA low bind 2mL ». Ces tubes ont la particularité d'éviter que l'ADN qui est extrait ne s'accroche aux parois. Les métadonnées associées aux insectes sont conservées au cours de ce processus puisque chaque tube de biologie moléculaire est repéré grâce au numéro du « tube de stockage » des insectes auquel un second numéro est ajouté pour distinguer les individus d'un même tube. Par exemple, le second individu prélevé dans le

« tube de stockage » sera codé PFAR000001_0102, avec le « 01 » qui indique que c'est la première espèce du tube (dans le cas des insectes prélevés dans le contexte du projet *Xylella fastidiosa* il y a toujours une seule espèce par tube) et le « 02 » qui indique que c'est le second individu du tube. Ainsi, le lien avec la base de données initiale est conservé.

Les insectes ne sont plus plongés dans l'alcool mais dans un « tampon d'extraction » qui regroupe plusieurs produits nécessaires pour libérer l'ADN avec, par exemple, un ajout de cellulase qui vise à « casser » la paroi des cellules pour libérer l'ADN qu'elles contiennent. Ainsi, les insectes qui étaient observés un à un lors de leur identification, deviennent des « objets standards » qui vont tous subirent le même protocole. Une bille en céramique et du grenat sont ajoutés dans chaque tube pour broyer l'insecte (action mécanique) et « faciliter » l'action chimique des différents composés du tampon d'extraction pour libérer l'ADN. Enfin, l'ADN est purifié grâce à une centrifugation pour récupérer le surnageant (la phase liquide) et enlever la bille et le grenat. Le surnageant de chaque tube est transféré dans une plaque contenant 96 puits et il est purifié à l'aide d'un robot (figure 28 page suivante).

Dès la mise en place de ce premier protocole, destiné à extraire l'ADN des insectes, les machines sont largement présentes pour assister les BMistes qui mettent en œuvre le protocole et leur utilisation est plus ou moins automatisée. Dans le cas du broyage, une machine permet « seulement » une agitation des tubes qui, couplée à la bille de céramique et au grenat crée l'action mécanique de broyage. Pour ce qui est de la purification de l'ADN en routine, la personne en charge de l'expérimentation « n'a plus qu'à poser » les plaques d'échantillons et de tampons de lavage dans la machine (figure 28 page suivante) puis à lancer un programme et le robot se charge de transférer les billes sur lesquelles l'ADN est hybridé pour le nettoyer et l'éluer dans un nouveau tampon pour le conserver.

FIGURE 28: Automatisation des expérimentations avec le robot KingFisher

Suite à l'extraction, une première étape de contrôle est mise en œuvre avec la quantification totale de l'ADN extrait. Ce contrôle permet de mettre en évidence une quantité non nulle d'ADN et ainsi de valider l'étape d'extraction. En revanche, il ne donne pas d'indication sur la nature de l'ADN c'est-à-dire si c'est de l'ADN de l'insecte hôte, de ses endosymbiontes, des plantes consommées ou de *Xylella fastidiosa*.

La quantité d'ADN extraite est fragmentée au sein de plusieurs expérimentations distinctes. Cette fragmentation est notamment due à des contraintes techniques : les méthodes d'analyses requièrent une quantité d'ADN maximum pour fonctionner de façon optimale. L'ADN extrait à partir d'un spécimen peut donc être utilisé dans plusieurs expérimentations et être analysé à l'aide de différentes méthodologies pour répondre à différentes questions de recherche. La majorité des expérimentations mobilise des étapes de PCR qui permettent d'amplifier l'ADN de *Xylella fastidiosa* pour la mettre en évidence. Faire des PCRs, tout comme extraire de l'ADN, nécessite d'avoir recours aux machines, le thermocycleur va successivement chauffer et refroidir l'ADN mélangé à des amorces de PCR et une enzyme, la polymérase, qui permettent l'amplification de l'ADN. La durée de chaque cycle ainsi que les températures sont soigneusement déterminées au cours de la mise au point des protocoles afin que la réaction soit optimum en fonction des amorces de PCR et du type de polymérase choisis. Une fois ces conditions déterminées, un programme est créé et il peut être réutilisé lors de chaque expérimentation menée en routine.

Afin de répondre aux objectifs scientifiques cités précédemment, plusieurs méthodologies ont été développées. En premier lieu, la détection de la bactérie dans les insectes vecteurs nécessite de rechercher *Xylella fastidiosa* dans des centaines d'insectes : on parle de méthodes à « haut-débit ». Ces méthodes sont caractérisées par leur faible coût par individu, leur mise en œuvre rapide et sur au moins une centaine d'échantillons à la fois avec une automatisation partielle du processus. Ce protocole (section II.1.2.1 page 89 et annexe B.2 page B17) requiert l'utilisation d'une double étape de PCR suite à l'extraction de l'ADN. La première PCR mise en place est partiellement automatisée grâce à un robot pipeteur qui transfère les ADNs d'une plaque à l'autre. Elle permet d'amplifier spécifiquement un gène de la bactérie. La seconde PCR permet à la fois de ré-amplifier le gène de la bactérie mais également de préparer cet ADN à être séquencé. En effet, seul le séquençage permet d'obtenir la séquence du gène de la bactérie afin de l'identifier formellement. Nous reviendrons aux résultats du séquençage et à son analyse un peu plus loin.

Pour la caractérisation de la bactérie, ce n'est pas le nombre d'insectes à tester qui est important mais plutôt le nombre de gènes ciblés. En effet, pour caractériser la bactérie et donc connaître sa sous-espèce et son ST (Sequence Type), il faut amplifier et séquencer deux à sept gènes au minimum. Pour effectuer cette caractérisation, le protocole est différent de celui de la détection de *Xylella fastidiosa*. La méthode doit être très sensible et elle est plus coûteuse mais mise en place sur un nombre plus restreint d'individus déjà détectés positifs à la bactérie. De plus, l'expérimentation est mise en œuvre grâce à des kits commerciaux qui fournissent l'ensemble des réactifs nécessaires, à la fois pour préparer l'ADN au séquençage mais également pour « cibler » l'ADN de la bactérie qui sera préférentiellement séquencé. La méthode utilisée pour la caractérisation de la bactérie est également mise en œuvre pour caractériser le régime alimentaire de l'insecte vecteur. En effet, d'autres sondes spécifiques ont été développées pour cibler un gène commun chez toutes les espèces de plantes et qui permet de les discriminer suivant leur genre et/ou leur espèce.

Enjeu 3 : enjeux de partage des connaissances et bases de données

Le dernier enjeu autour de « l'ADNisation » de l'insecte relève du partage des connaissances et des bases de données dans le monde. En effet, pour détecter et caractériser la bactérie *Xylella fastidiosa*, il faut d'abord la connaître. Une bactérie est décrite selon tout ou partie de son génome, c'est-à-dire une séquence spécifique de bases nucléiques formant l'ADN. La description du génome complet de *Xylella fastidiosa* a été réalisée en 2000 par une équipe de chercheurs internationale [Simpson et al., 2000]. De nombreux chercheurs travaillent également sur une partie du génome de la bactérie, le plus souvent de l'ADN codant (qui sera traduit sous forme de protéines nécessaires au fonctionnement de la cellule bactérienne) aussi appelés gènes. L'ensemble des séquences des gènes et génomes de *Xylella fastidiosa* est regroupé sur des bases de données dont la base de données mondiale NCBI [8].

> " *As a national resource for molecular biology information, NCBI's mission is to develop new information technologies to aid in the understanding of fundamental molecular and genetic processes that control health and disease.*"
> Définition du site NCBI [9]

Cette base de données a été utilisée pour la mise au point de la méthode de détection de *Xylella fastidiosa*. Pour mettre au point les amorces PCR spécifiques à la bactérie, il faut connaître la séquence des différentes versions du gène visé aussi appelées allèles. En effet, pour amplifier l'ensemble de ces versions, les amorces doivent s'hybrider avec un fragment d'ADN conservé dans toutes les versions. Pour pouvoir déterminer ces régions et ainsi la séquence des amorces, il faut avoir recours aux bases de données mondiales qui recensent l'ensemble des allèles des gènes de *Xylella fastidiosa*.

L'utilisation de ces bases de données ne s'arrête pas là puisque nous allons maintenant aborder le séquençage. A l'issue de l'ensemble des expérimentations évoquées, l'ADN est séquencé. Par le biais d'un séquenceur - encore une machine -, le scientifique passe d'un

8. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/
9. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/about/mission/

tube rempli d'une solution transparente contenant de l'ADN à un fichier texte informatique contenant des millions de séquences avec des « A », « T », « C », « G », représentants les 4 bases nucléiques formant l'ADN. Néanmoins, rien n'indique que ce sont bien des séquences ADN de la bactérie *Xylella fastidiosa*. Pour le certifier, il faut comparer les séquences obtenues avec les séquences de référence des gènes de la bactérie contenues dans les bases de données mondiales dont NCBI. Cette comparaison s'effectue au moyen de scripts d'analyses développés par les chercheurs et utilisés sur des clusters de calcul ou des machines puissantes permettant le traitement de millions de séquences et permettant également la sauvegarde des données brutes de séquençage.

Pour résumer, l'insecte vecteur de *Xylella fastidiosa*, *Philaenus spumarius*, a fait l'objet d'attention, tant d'un point de vue scientifique que politique, lors de la découverte de la bactérie en Italie en 2013. Une fois prélevé dans son milieu naturel par les scientifiques, l'insecte est mis en alcool pour être conservé et rapporté au laboratoire où il est stocké avant de subir de nombreuses transformations. Il est identifié avec un numéro qui sera entré dans une base de données utilisée par les scientifiques pour faire des analyses statistiques, puis il est broyé par les BMistes afin d'obtenir des informations supplémentaires invisibles à l'œil nu. L'ADN qui en est extrait est également numéroté et identifié, utilisé dans des analyses biomoléculaires et stocké. Nous allons maintenant voir quel est le devenir de toutes ces transformations et des connaissances qui en découlent.

2.1.3.9 L'interdisciplinarité pour répondre à une question de recherche : complémentarité du terrain, de la biologie moléculaire et des analyses statistiques en écologie.

L'insecte se retrouve mobilisé au sein de plusieurs entreprises scientifiques visant à l'utilisation de la production de savoir réalisée au sein de publications scientifiques dont les « cibles » varient selon le degré de finalité opératoire pour appréhender des enjeux de connaissances plus ou moins attachés à la finalité de gestion des risques d'émergence ou de lutte.

Ainsi, différentes « parties » de l'insecte sont utilisées pour répondre à des questions de recherche spécifiques. Par exemple son ADN, sur lequel des méthodes biomoléculaires sont mises au point, permet de répondre à des enjeux méthodologiques de détection et de

caractérisation de la bactérie [Cruaud et al., 2018] avec la mobilisation de méthodes de pointe en front de science. Les données de présence de la bactérie sont également associées aux métadonnées de l'insecte et intégrées à des analyses statistiques et de modélisation. Cette association permet par exemple de répondre à la question de la prévalence de la bactérie en Corse. Ainsi, la production de connaissances pour répondre aux questions de recherche prédéfini nécessite la mobilisation de différents outils et compétences dont chacune et chacun est plus ou moins spécialisé.

Les données recueillies sont utilisées pour répondre à d'autres questions de recherche qui concerne directement l'insecte et non plus son statut d'infection ou non par la bactérie. Dans ce cas, la question qui est posée relève de la vie de l'insecte ou plutôt de la vie des populations d'insectes : où sont-ils présents en grand nombre ou à l'inverse peu nombreux ? Quelles caractéristiques biotiques (communauté végétale) ou abiotiques (données météorologiques) peuvent justifier ces différences [Chartois et al., 2019] ? Ces questions sont également déclinées dans les milieux agricoles [Mesmin et al., 2022b] pour établir des cadres de gestion publique et professionnelle de possibles bio-invasions.

Des données plus vastes issues de nombreux acteurs nationaux et internationaux (données climatiques mondiales et scénarios du climat futur) peuvent également être utilisées dans le cadre de la modélisation afin de cartographier, par exemple, les zones favorables à la bactérie ou à son insecte vecteur en fonction de l'évolution du climat due aux changements globaux [Cruaud et al., 2018, Farigoule et al., 2022].

2.1.4 Analyse

Nous venons de voir l'ensemble de la chaîne de traduction du prélèvement de l'insecte dans son milieu jusqu'à la publication de résultats scientifiques dont la segmentation tisse un éventail de productions de connaissances suivant différents enjeux. Cette description fine du régime de preuve concernant le couplage entre *Xylella fastidiosa* et *Philaenus spumarius* permet d'identifier les systèmes de pratiques au sein du laboratoire. Nous allons voir maintenant comment ces instances sont inscrites dans l'espace et le temps afin de restituer la sociomatérialité des activités scientifiques (notamment le fait que certaines pratiques sont attachées à des machines ou des dispositifs matériels) et les

facteurs organisationnels de ce régime de preuve [Heaton and Millerand, 2013]. Il s'agit d'augmenter la lecture des opérations de traduction issues de Latour [Latour, 1993] en décrivant les instances qui permettent à ces opérations de s'établir. Comme nous l'avons déjà montré tout un ensemble de dispositifs, de bases de données et également de culture scientifique ou métrologiques spécifiques sont à l'œuvre.

2.1.4.1 Les systèmes de pratiques et leurs espace-temps

Les systèmes de pratiques dans l'espace

Les activités scientifiques sont pratiquées au sein de plusieurs instances (rassemblées dans le tableau 4 page 154), certaines communes à plusieurs processus de la chaîne de traduction et d'autres spécifiques. Les scientifiques sont amenés à travailler avec l'aide d'outils informatiques (depuis leur bureau) et également très régulièrement ensemble au sein de salles de réunion afin de débattre et de s'accorder sur les travaux à venir (mise au point de nouvelles expérimentations, débats autour des résultats d'analyses, etc.). Ces échanges sont des moments clés dans la production des connaissances avec des discussions et des prises de décisions concernant les points « techniques » au cours de la mise au point des méthodes dans un collectif restreint et avec leur présentation ainsi que celle des résultats à l'ensemble du collectif (résultats qui sont par la suite discutés par toutes et tous). Par exemple dans le cadre des mises au point de biologie moléculaire, la chargée de recherche, l'assistant ingénieur, la technicienne et la doctorante faisaient des « points » très régulièrement et ce collectif pouvait être élargit avec l'implication d'un directeur de recherche et de l'ingénieur de recherche, avant une présentation des résultats et leur discussion avec l'ensemble du collectif. Ainsi, ces échanges « stratégiques » sont différenciés entre des discussions plus générales et globales concernant les questions de recherche et les résultats obtenus au sein du collectif et des enjeux plus techniques et méthodologiques dans des collectifs réduits.

Pour les espaces plus spécifiques, les insectes sont observés au laboratoire d'entomologie qui regroupe pinces, alcool et loupes binoculaires. Ils sont ensuite disséqués, broyés, analysés en laboratoire de biologie moléculaire en passant de salle en salle (selon le principe de marche en avant) et de machine en machine, au fur et à mesure de l'avan-

cement des expérimentations. Ces espaces sont investis respectivement par les ingénieurs entomologistes et les BMistes.

Ainsi, le travail au bureau et les travaux collectifs en réunion sont réguliers au cours du processus de traduction. En revanche, les insectes passent spécifiquement au laboratoire d'entomologie puis au laboratoire de biologie moléculaire de façon chronologique et ordonnée.

Enfin, la salle de stockage des échantillons pourrait passer inaperçue dans le processus de traduction mais elle est indispensable dans la conservation des échantillons et donc des preuves éventuelles. Cette salle est mobilisée à la fois pour stocker les insectes au réfrigérateur et les ADN extraits au congélateur. Ainsi, les scientifiques, bien qu'ils ne soient que de passage dans cet espace, le fréquentent régulièrement pour entreposer ou récupérer des échantillons avant ou après analyse.

	Bureau	**Salle de réunions**	**Terrain**	**Labo d'entomologie**	**Labo de BM**	**Salle de stockage des échantillons (réfrigérateurs + congélateurs)**
Questions de recherche et sélection des zones à échantillonner	✓	✓				
Prélèvement des insectes			✓			
Première identification des tubes d'insectes avec la date, l'heure de prélèvement, l'opérateur et le numéro de buffer			✓			
Retour au laboratoire						✓
Observation de chaque insecte sous loupe binoculaire				✓		✓
Étiquette dans le tube d'insectes + numéro unique par tube				✓		✓
Visualisation de l'échantillonnage réalisé avec des projections sur des cartes (localisation du prélèvement et nombre d'individus prélevés)	✓	✓				
Extraction ADN : un seul individu par tube BM (Biologie Moléculaire) avec un code tube unique		✓			✓	✓
Expérimentation BM : PCR en deux étapes et séquençage + analyse du séquençage	✓	✓			✓	✓

	Bureau	**Salle de réunions**	**Terrain**	**Labo d'entomologie**	**Labo de BM**	**Salle de stockage des échantillons (réfrigérateurs + congélateurs)**
Analyses statistiques descriptives et utilisation de modèles pour comprendre les populations d'insectes vecteurs selon les facteurs biotiques et abiotiques du milieu	✓	✓				
Analyses statistiques descriptives et utilisation de modèles pour comprendre la dynamique de la prévalence de la bactérie dans les vecteurs selon les facteurs biotiques et abiotiques du milieu	✓	✓				
Présentation des travaux de recherche et rédaction	✓	✓				

TABLE 4: Relations entre les systèmes de pratiques et les différentes étapes de traduction

Les systèmes de pratiques dans le temps : traduction de l'objet de recherche.

L'insecte prélevé au sein des milieux semi-naturels ou agricoles va subir de nombreuses transformations au fil des processus de traduction successifs. En premier lieu, les scientifiques s'attachent à observer sa morphologie afin de l'identifier. Une fois décrit, l'insecte « appartient » à une base de données : il est « dématérialisé » et ne sera pas forcément ré-observé. En effet, suite à sa dématérialisation et à sa projection sur une carte, il va être broyé afin d'obtenir des informations invisibles : la présence de *Xylella fastidiosa* ou non. L'insecte entier devient alors ADN, Il n'est donc plus directement observable et l'obtention des « informations qu'il contient » est rendue possible par la biologie moléculaire et le séquençage de l'ADN. Ainsi l'ADN est lui aussi « dématérialisé » dans des fichiers informatiques lus par des logiciels spécifiques. Enfin, l'insecte et son ADN dématérialisé sont analysés dans des modèles statistiques répondant à des questions de recherche et intégrés au sein d'articles scientifiques.

2.1.4.2 Les usages de la recherche

Les recherches scientifiques menées ont pour objectif premier la production de connaissances avec leur présentation au sein de publications scientifiques. Ces connaissances peuvent néanmoins être mobilisées par d'autres instituts de recherche mais également par des institutions comme celle du droit par exemple via l'expertise scientifique et les agences de la science réglementaire. Dans le cadre spécifique de l'étude de *Xylella fastidiosa*, un projet prévoyait le transfert de connaissances acquises à une autre institution de recherche, investie de missions de contrôles officiels - l'Anses -. Néanmoins, ces transferts de connaissances sont complexes puisque les deux instituts n'ont pas les mêmes contraintes. Par exemple, au laboratoire de recherche, les scientifiques peuvent innover et améliorer leurs protocoles presque en continu contrairement aux laboratoires investis de contrôles officiels qui, une fois les méthodes publiées, ne peuvent plus les modifier jusqu'à la publication de mises à jour ou de méthodes plus innovantes, ce qui peut prendre des mois voire des années. Cette différence de temporalité est une façon pour les agences de maintenir la présence de la science au sein de cadres d'action publique fondés sur des connaissances stables et établies.

Les recherches scientifiques menées n'ont pas vocation à participer à un effort de surveillance de la bactérie sur le territoire français. De plus cette mission est celle des

organismes officiels. Néanmoins, en cas de détection *de Xylella fastidiosa* - qui est un organisme de quarantaine à lutte obligatoire - sur un territoire indemne, les chercheurs signalent immédiatement sa présence aux autorités françaises compétentes, en l'occurrence le Ministère en charge des affaires agricoles et agroalimentaires comme les y oblige le code rural.

Les institutions peuvent tout de même se saisir des recherches menées, dans le cadre de la plateforme d'épidémio-surveillance ESV qui abrite un groupe de travail sur la bactérie par exemple.

2.1.5 Conclusion et perspectives

Pour conclure, les observations de terrain de type ethnographique ont permis de mettre en lumière le processus de traduction, dans le cadre de la production de connaissances sur *Xylella fastidiosa* et ses insectes vecteurs. Ces observations apportent une vision complémentaire aux résultats précédemment décrits en écologie. L'ouverture de cette boite noire a permis la mise en lumière de plusieurs instances de travail, sur le terrain (dans les parcelles agricoles et à proximité) au laboratoire d'entomologie et de biologie moléculaire mais également au bureau et surtout en salle de réunions, espace important où les scientifiques discutent et débattent pour la mise au point de protocoles, concernant l'avancement des expérimentations ou encore à propos des résultats préliminaires obtenus. Enfin nous avons passé en revue les finalités différenciées des activités scientifiques avec notamment cet enjeu de contribution à la science réglementaire. Cette description fine restitue le régime de preuve spécifique à *Xylella fastidiosa* abordée à partir de l'étude de son vecteur.

Suite à cette analyse, la question du devenir et/ou de la mobilisation de ces connaissances pour l'action publique se pose pour appréhender ce régime de preuve en fonction des ressources et capacités dont il dispose au nom d'objectifs régaliens de lutte contre les bio-invasions. Cet aspect qui renvoie à l'idée de recherche finalisée par des objectifs d'action publique sera abordé dans la partie III.

Partie III

Anticipation du risque de l'arrivée et de la propagation de *Xylella fastidiosa* en France

Dans la seconde partie de ce manuscrit, j'ai présenté comment certaines méthodes de biologie moléculaire et différents outils statistiques nous ont permis de mieux comprendre l'évolution de la prévalence de la bactérie dans les insectes vecteurs. Ce processus de production de connaissances a été analysé grâce à une étude des activités scientifiques, en s'appuyant sur la sociologie des sciences et des techniques, et de façon fine sur les étapes de « mise en faits » concernant *Philaenus spumarius*. Réflexivité et transdisciplinarité ont été associées pour établir une vision contextualisée de la production de connaissances scientifiques et pour aborder son prolongement pour l'action publique en dehors du laboratoire. Dans le cadre de cette troisième partie, concernant le traitement du risque d'émergence de *Xylella fastidiosa* en France, sur le continent, cette approche duale sera conservée en combinant biologie moléculaire et écologie avec les sciences sociales.

1 Introduction : passer de la menace au risque en zone indemne

1.1 Aborder les zones indemnes

Nous allons nous intéresser, non plus aux zones infectées et à la production de connaissances lors de l'arrivée d'un agent phytopathogène mais à la question de la production de connaissances permettant de traiter l'anticipation de l'arrivée de la bactérie. Cet aspect sera étudié grâce à l'étude menée en écologie en zones indemnes et au développement d'un point de vue sur la surveillance épidémiologique et l'action publique qui l'accompagne à partir d'une enquête exploratoire.

Contrairement aux travaux menés en Corse et financés par des acteurs publics, les recherches menées dans le cadre de ce projet « d'anticipation de l'arrivée de la bactérie » sont financées par la Maison Hennessy (Cognac). Le projet de recherche implique plusieurs UMR INRAE et son objectif global est d'acquérir des connaissances sur la bactérie (mécanismes de transmission verticale de la bactérie en chênaie, développements méthodologiques de biologie moléculaire, etc.) et ses insectes vecteurs potentiels et avérés (phénologie, comportement alimentaire, dispersion, etc.). Il vise également à faire un état des lieux concernant *Xylella fastidiosa* avec la recherche de la bactérie dans des échantillons de végétaux et dans des insectes vecteurs collectés chez des viticulteurs partenaires.

Concernant les insectes vecteurs de la bactérie, le projet concerne trois zones dites indemnes (encadré 11 page suivante), avec une étude des assemblages d'insectes vecteurs potentiels et avérés de *Xylella fastidiosa* en Nouvelle-Aquitaine, en PACA et en Occitanie. Concernant ces deux dernières régions, le terme « indemne », qui peut paraître surprenant, est utilisé pour décrire les zones qui sont considérées comme tel aux vues de la surveillance officielle lors de la mise en place des collectes [1]. Pour la région PACA, la bactérie est seulement présente en zones urbaines et donc éloignée des zones cultivées

1. `https://shiny-public.anses.fr/Xylella_fastidiosa/` consulté lors de la mise en place du plan d'échantillonnage fin 2019 - début 2020

et semi-naturelles prospectées. Pour l'Occitanie, lors de la conception du plan d'échantillonnage des insectes, la région était indemne et bien qu'aujourd'hui la bactérie ait été détectée sur ce territoire (notamment à proximité de Carcassonne), elle n'a pas été mise en évidence à proximité de Montpellier et des zones échantillonnées lors des mesures de surveillance mises en place par les Services de l'État [SRAL, 2022].

Encadré 11 : Définition d'une zone indemne

Le terme « indemne » renvoie à des végétaux ou à une zone où les végétaux ne présentent pas de symptômes de la bactérie et où aucune émergence n'a pas été mise en évidence. Ce terme regroupe également les végétaux analysés et dont les résultats de ces analyses sont négatifs [Deberdt et al., 2020]. Ainsi, une zone est considérée indemne en l'absence d'une confirmation de la présence de la bactérie mais n'exclut pas son occurrence (par exemple si la bactérie est présente en faible quantité et indétectable par les méthodes de biologie moléculaire actuelles). La gestion et la lutte contre *Xylella fastidiosa* sont concentrées dans les zones infectées qui sont soumises à une réglementation européenne stricte.

Ainsi, les études menées en Corse (Partie II page 85) ont permis d'en apprendre plus sur la présence et la propagation de la bactérie via l'acquisition de connaissances sur *Philaenus spumarius*. Néanmoins, en Corse, cet insecte semble présenter une préférence alimentaire forte pour le ciste de Montpellier (*Cistus monspeliensis*) en milieux semi-naturels [Chartois et al., 2019]. Cette seconde étude menée dans trois régions du continent est plus large que celle initialement réalisée en Corse : elle cible l'ensemble des insectes vecteurs potentiels et avérés de la bactérie ; les milieux semi-naturels ainsi que les milieux cultivés sont prospectés ; le climat des régions étudiées, bien qu'il ne représente pas une barrière au développement de la bactérie (Godefroid et al 2019), est différent et il pourrait donc impacter la flore mais également la faune et notamment les assemblages de vecteurs potentiels ou avérés de la bactérie. Cette étude doit donc permettre à la fois d'acquérir des connaissances sur les insectes vecteurs dans chacune des régions et de les comparer selon les assemblages d'insectes présents.

L'objectif de cette partie est également de comprendre la chaîne de production de savoirs qui fait de la connaissance scientifique une ressource pour gérer l'éventualité d'une épidémie végétale, alors que la bactérie fait l'objet d'une classification comme organisme de quarantaine à lutte obligatoire, élément normatif lui-même fondé sur une expertise scientifique. Pour atteindre ces objectifs, les réseaux d'interactions écologiques impliquant *Xylella fastidiosa* dans les trois régions sont analysés. Ces travaux sont complétés par une étude du dispositif d'épidémio-surveillance français de la bactérie avec un regard sociologique informé par une enquête sociologique exploratoire. Il s'agit ici d'appréhender avec un regard transdisciplinaire la question des modes d'existence d'un dispositif d'épidémio-surveillance de la bactérie pour établir les conditions de traitement d'une éventuelle propagation de *Xylella fastidiosa*.

1.2 Cadrage du problème de la *preparedness*

Les travaux de recherche concernant les assemblages d'insectes vecteurs et de leurs interactions avec les plantes hôtes et potentiellement la bactérie sont pris dans une stratégie de préparation face à l'arrivée de *Xylella fastidiosa*. En effet, l'objectif est d'acquérir des connaissances qui pourraient être mises au service du développement de mesures de prophylaxie et de lutte vis-à-vis de la bactérie. Ainsi, ces actions peuvent être prises en compte et analysées du point de vue de la *preparedness* (voir encadré 12).

Encadré 12 : La preparedness

Le concept de *preparedness* a été développé dans la littérature internationale sur la gestion anticipée des risques et des crises depuis le début du XX^{e} siècle dans le registre militaire et de la santé liée à la première guerre mondiale, puis en matière de santé publique dans les années 30. L'usage du terme dans les publications scientifiques connaît une croissance exponentielle (figure 29 page ci-contre) en deux paliers à partir des 2000 avec une place très importante de la recherche américaine.

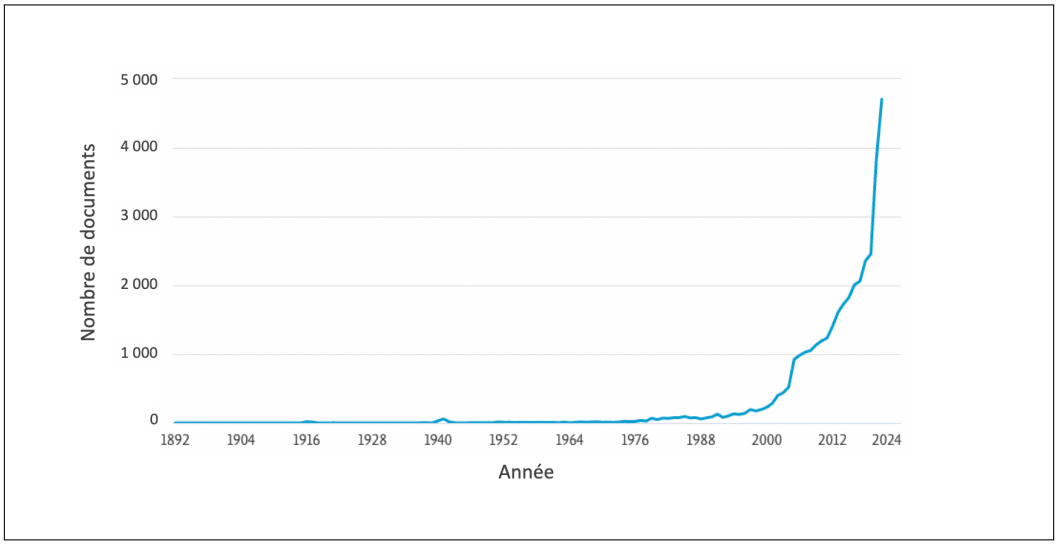


FIGURE 29: Évolution de la production scientifique concernant la *preparedness* indexée par Scopus de 1892 à 2021 avec une requête sur le titre, le résumé et les mots clés des publications

Ce concept connaît cette forme d'expansion dans le cadre de la gestion de différents types de risques [Collier et al., 2004] concernant de nombreux domaines de recherche et de disciplines. Il pose la question de comment agir sur des futurs indéterminés/incertains émergeant d'un ensemble complexe de flux et de connexions [Lakoff, 2006] et signale l'attrait des chercheurs comme des gestionnaires pour penser des futurs possibles afin d'en décliner les conséquences au présent s'il fallait s'y confronter. Ce concept est aujourd'hui développé dans plusieurs domaines dont le domaine de la santé humaine [Moore et al., 2020], dans le cadre de catastrophes naturels ou technologiques [Perry and Lindell, 2003] et plus largement dans la question de la préparation face à l'urgence [Kapucu, 2008, Levac and Toal-Sullivan, 2012].

Au regard de ces recherches, l'objectif est de replacer les travaux menés en écologie dans le contexte de cette *preparedness* face à l'arrivée de *Xylella fastidiosa* et d'aller plus loin en étudiant l'ensemble de l'infrastructure à l'origine de la création, de la mise en œuvre et du déploiement de possibles actions visant à se préparer face à l'arrivée de la bactérie. Cela signifie d'aborder l'existence de la bactérie en zone indemne, dans ses végétaux hôtes ou dans ses insectes vecteurs. En effet, les questions de *preparedness* en santé du

végétale sont récentes alors que la prophylaxie et la surveillance des bioinvasions sont des questions anciennes : "*Our findings could provide a new basis for explaining historical outbreak events, and have implications for biosecurity and public health preparedness*" [Skelsey et al., 2013]

Ainsi, penser la *preparedness* dans le contexte de l'éventualité d'une crise *Xylella fastidiosa* en France suppose de conjuguer l'intérêt porté aux insectes vecteurs de *Xylella fastidiosa* en zone indemne avec celui de la détection de la bactérie dans les plantes hôtes (notamment menée dans le cadre de la surveillance officielle).

La mise en place de cette recherche fait fondamentalement l'hypothèse de la présence de la bactérie dans les zones dîtes indemnes pour en établir une méthodologie robuste. Au-delà de la compréhension des réseaux d'interactions comme sujet d'étude en écologie, il s'agit également d'une éventuelle préparation face à la menace représentée par un organisme pathogène, et cela conduit à faire apparaître évidemment les enjeux sociaux liés à la question de la détection, de la surveillance mais également à la production agricole et à la gestion des espaces dits « naturels ». Limiter notre approche à une étude écologique des réseaux d'interactions impliquant *Xylella fastidiosa* conduirait à occulter les enjeux de transferts et de mobilisation de connaissances, enjeux fondamentaux pour la mise en place de mesures de prophylaxie et de lutte et donc à l'obtention de résultats finalisés. La compréhension et la mise en lumière du processus de transfert des connaissances jusqu'à l'épidémio-surveillance nécessitent donc de mobiliser plusieurs disciplines. Ceci justifie l'emploi de la transdisciplinarité pour répondre à des enjeux qui dépassent la production de connaissances, néanmoins fondamentale et primordiale pour la mise en place de mesures de gestion et de lutte. Ainsi, la préparation au scénario du pire (de la présence et de la propagation de la bactérie en zone indemne et notamment en parcelles cultivées) est envisagée par la production de connaissances scientifiques liée à cet objectif.

1.3 Objectifs et logique d'une recherche transdisciplinaire

Pour répondre à ces questions et enjeux interdépendants, une étude des assemblages des insectes vecteurs est mise en œuvre en mobilisant des méthodes d'écologie, avec des échantillonnages successifs d'insectes en milieux semi-naturels et en zones cultivées ainsi que des analyses statistiques des assemblages et des réseaux d'interactions (interactions plantes – insectes).

L'objectif est d'identifier les habitats favorables à ces insectes et d'observer si la transmission de *Xylella fastidiosa* des milieux semi-naturels aux plantes cultivées est possible au regard de la présence des insectes dans ces différents milieux. De plus, une analyse plus fine des interactions plantes – insectes sera présentée avec des observations directes d'une part et l'appui de méthodes de biologie moléculaire d'autre part (section III.2 page suivante).

La préparation nécessite également une action des pouvoirs publics avec la mise en œuvre de mesures qui découleraient des résultats de la recherche et une application de celles-ci par les professionnels. Pour faire face à ces enjeux, il est nécessaire de comprendre l'épidémio-surveillance mise en place en France, ce qui implique notamment d'identifier les relations entre les différents acteurs sociaux et également les échanges d'informations. Pour comprendre le lien entre la recherche et l'épidémio-surveillance, une analyse de la réglementation sera présentée en section III.3 page 222, complétée par des entretiens semi-directifs menés auprès de scientifiques impliqués dans la recherche concernant les interactions plantes hôtes – bactérie.

Enfin, le dispositif d'épidémio-surveillance français sera présenté en section III.4 page 241. L'étude portera sur la plateforme ESV et le groupe de travail *Xylella fastidiosa*, composés de chercheurs, acteurs de l'action publique, interprofessions, etc. Ces travaux sont appuyés par une enquête sociologique exploratoire (des entretiens semi-directifs avec de nombreux membres du GT - annexe E.1 page E1 -), une analyse documentaire et une observation participante au sein du GT *Xylella fastidiosa*.

Encadré 13 : Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation

1. Produire des connaissances sur les insectes vecteurs en zone indemne pour anticiper une éventuelle propagation de la bactérie
2. Étudier la production de connaissances françaises concernant les interactions plantes hôtes – bactérie
3. Prendre en compte l'impact du statut d'organisme de quarantaine de *Xylella fastidiosa* via une étude de la réglementation et de sa médiatisation en lien avec la production de connaissances
4. Appréhender le fonctionnement de l'épidémio-surveillance en France via la Plateforme ESV

2 État des lieux des réseaux d'interactions impliquant *Xylella fastidiosa* en vigne et dans les milieux adjacents

Encadré 14 : Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation

1. Produire des connaissances sur les insectes vecteurs en zone indemne pour anticiper une éventuelle propagation de la bactérie
2. Étudier la production de connaissances françaises concernant les interactions plantes hôtes – bactérie
3. Prendre en compte l'impact du statut d'organisme de quarantaine de *Xylella fastidiosa* via une étude de la réglementation et de sa médiatisation en lien avec la production de connaissances
4. Appréhender le fonctionnement de l'épidémio-surveillance en France via la Plateforme ESV

2.1 Étude des communautés d'insectes vecteurs

2.1.1 Pourquoi et comment étudier les assemblages d'insectes vecteurs potentiels et avérés de *Xylella fastidiosa* ?

La bactérie *Xylella fastidiosa*, représente une menace pour les oliviers en Corse et dans le sud de la France mais également pour la vigne largement présente en Occitanie et en Nouvelle-Aquitaine. En effet, l'occurrence de plantes hôtes de la bactérie ainsi qu'un climat favorable à son installation rend ces régions vulnérables [Godefroid et al., 2019]. De plus, *Philaenus spumarius* est ubiquiste et polyphage mais son comportement varie selon les régions considérées. Par exemple, en Corse, une forte préférence alimentaire de cet insecte pour les cistes de Montpellier (*Cistus monspeliensis*) a été mise en évidence [Albre et al., 2021, Chauvel et al., 2015, Cruaud et al., 2018]. Très peu d'informations sont disponibles sur les autres insectes vecteurs avérés de la bactérie ainsi que sur les insectes xylémiques qui pourraient potentiellement être vecteurs de *Xylella fastidiosa* en France [Chauvel et al., 2015]. Nous ne disposons donc pas, à l'heure actuelle, des informations nécessaires à la compréhension de l'épidémiologie de la bactérie et à la mise en place de mesures de prophylaxie ou de lutte permettant de limiter son expansion sur le continent. L'objectif des travaux présentés ici est de comprendre les réseaux d'interactions qui pourraient impliquer la bactérie si elle arrivait sur les territoires étudiés et de répondre aux questions de recherche suivantes :

- Quels sont les insectes vecteurs présents dans chaque région ?
- Sur quelles plantes se nourrissent-ils ?
- Quelles sont les zones les plus à risque face à l'émergence de *Xylella fastidiosa* et quelles sont les plantes cultivées concernées ?

Pour répondre à ces questions, trois campagnes d'échantillonnage ont été menées entre 2020 et 2021 et les données ont été analysées à l'aide de méthodes statistiques décrites ci-après.

2.1.2 Méthodes

2.1.2.1 L'échantillonnage

L'échantillonnage des insectes a été concentré sur les insectes xylémiques. Certaines espèces ont fait l'objet de tests de vection (dont *Philaenus spumarius* [Cornara et al., 2017a, Cornara et al., 2016] et *Neophilaenus campestris* [Cavalieri et al., 2019]) en laboratoire mais les connaissances disponibles restent limitées et nous avons donc échantillonné l'ensemble des insectes xylémiques qu'ils soient vecteurs potentiels ou avérés de la bactérie [Chauvel et al., 2015].

Trois campagnes d'échantillonnage ont été menées, deux à l'automne (2020 et 2021) avec le prélèvement d'insectes adultes au filet fauchoir et une au printemps (2021) avec le prélèvement de larves, selon la méthode des quadrats basée sur l'observation des crachats de coucou. Tous les insectes (stade larvaire et adulte) sont conservés dans des tubes numérotés et identifiés, avec un bouchon à visser et un joint torique, contenant de l'éthanol à 75°. Les tubes d'insectes sont conservés à 4°C et après 10 jours, les insectes sont transférés dans de l'alcool à 96°.

Lors de chaque campagne d'échantillonnage, des sites différents ont été prospectés afin de prendre en compte la variabilité spatiale mais également parce que l'échantillonnage est destructif. En effet, les insectes sont prélevés pour être analysés en laboratoire (détermination morphologique et tests de biologie moléculaire). Ainsi, l'échantillonnage du printemps aurait pu impacter les populations étudiées à l'automne si les sites prospectés avaient été les mêmes. L'effort d'échantillonnage a été réparti selon la localisation des parcelles de vignes des viticulteurs partenaires du projet avec un objectif de couverture maximale de la zone étudiée en respectant les contraintes techniques (distance parcourue chaque jour, nombre de personnes impliquées dans l'échantillonnage et nombre de jours de prospection).

Le plan d'échantillonnage

L'échantillonnage des insectes a été mené à l'identique au sein des trois régions étudiées : la Nouvelle-Aquitaine, PACA et l'Occitanie. Cet échantillonnage a été défini selon la capacité de dispersion des insectes qui est approximativement de l'ordre d'un kilomètre [Cornara et al., 2019]. Ainsi, des zones circulaires d'un kilomètre de rayon ont été définies dans les trois régions. Ces zones circulaires appelées « buffers » ont été déterminées autour des parcelles de vignes sélectionnées (figure 30 page suivante). Ainsi, au sein de chaque buffer, en moyenne, deux parcelles de vignes ont été échantillonnées. Des oliveraies, cultures sensibles à la bactérie ont été échantillonnées en région PACA et en Occitanie avec en moyenne une parcelle par buffer dans ces deux régions. Afin de prendre en compte les milieux semi-naturels et herbacés, une forêt, une à deux prairies et/ou une parcelle de luzerne ont été échantillonnées par buffer. Enfin, lorsque de tels écosystèmes étaient présents, des zones de ripisylves ont été échantillonnées en bord de cours d'eau (Tableau 5 page 169). Finalement, chaque buffer contient 5 à 7 sites d'échantillonnage, avec un identifiant de site unique. Pour chaque site, l'échantillonnage a été subdivisé en habitats (herbacé ou frondaison). Dans le cadre des parcelles cultivées pérennes (vignes et oliveraies), quatre habitats ont été définis et échantillonnés : la strate herbacée de la parcelle correspondant aux inter-rangs, les frondaisons des cultures (ceps de vigne ou oliviers), la strate herbacée en bordure de parcelle (bordure enherbée) et la frondaison des haies entourant la parcelle (bordure arbustive - si présente). L'échantillonnage a été conduit afin d'optimiser des conditions favorables pour collecter un maximum de spécimens (selon la phénologie des insectes) sous la contrainte des aléas météorologiques (échantillonnage impossible par temps de pluie) et des dates de vendanges pour les relevés en parcelles de vigne. Toutes les dates concernant les campagnes d'échantillonnage sont disponibles en annexe (annexe C.1 page C1). De plus les campagnes d'échantillonnage ont été impactées par la crise sanitaire de la covid-19 rendant difficiles les déplacements en Nouvelle-Aquitaine.

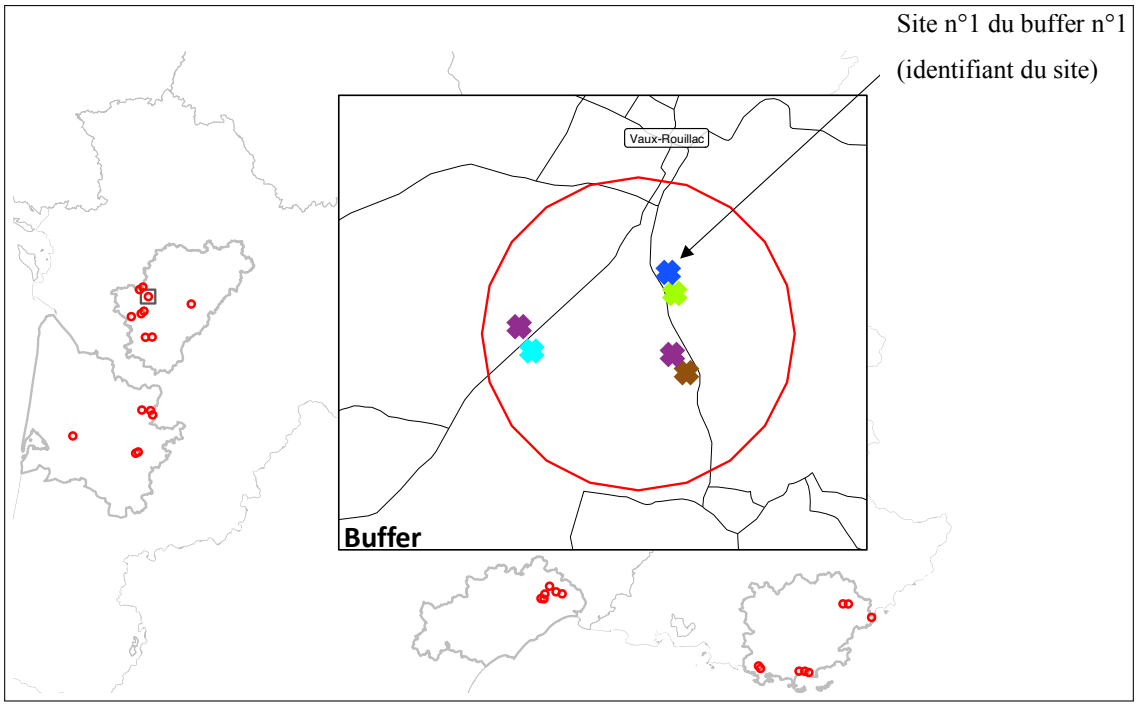


FIGURE 30: Illustration du plan d'échantillonnage des insectes. Les buffers sont dessinés en rouge et les croix représentent les écosystèmes prospectés

Régions concernées	**Écosystème**	**Habitat**
Nouvelle-Aquitaine PACA Occitanie	Vigne	Strate herbacée (inter-rang)
		Frondaison des ceps de vigne
		Bordure enherbée
		Bordure arbustive (si présence de haies)
Nouvelle-Aquitaine PACA Occitanie	Prairie	Strate herbacée
Nouvelle-Aquitaine PACA Occitanie	Forêt	Strate herbacée
		Strate arbustive
Nouvelle-Aquitaine PACA Occitanie	Ripisylve	Strate herbacée
		Strate arbustive
Nouvelle-Aquitaine PACA Occitanie	Luzerne	Strate herbacée

Régions concernées	Écosystème	Habitat
PACA Occitanie	Oliveraie	Strate herbacée (inter-rang)
		Frondaison des oliviers
		Bordure enherbée
		Bordure arbustive (si présence de haies)

TABLE 5: Tableau récapitulatif des écosystèmes et habitats prospectés selon les régions (voir également l'encadré 15 et l'annexe C.2 page C2)

Encadré 15 : Définition des termes de l'échantillonnage utilisés

Un buffer : zone d'un kilomètre de rayon dans lequel des parcelles sont sélectionnées et échantillonnées.

Un écosystème : agroécosystèmes et milieux semi-naturels échantillonnés : vigne, oliveraie, luzernière, prairie, ripisylve, forêt.

Un habitat : sous-milieu d'un écosystème pour réaliser un échantillonnage différencié des strates herbacées et arbustives, avec une différentiation de l'intérieur des parcelles cultivées par rapport aux bordures.

Un relevé : prélèvement des insectes dans un habitat d'un écosystème donné. Un relevé correspond à un seul réplicat si plusieurs prélèvements sont effectués dans le même habitat de l'écosystème par plusieurs opérateurs.

Le prélèvement des adultes au filet fauchoir à l'automne

A l'automne, des insectes adultes ont été collectés à l'aide d'un filet fauchoir triangulaire. Pour chaque habitat, un prélèvement de 4 min effectif au filet fauchoir a été effectué. L'opérateur, dès que nécessaire, peut couper le chronomètre pour récupérer les insectes dans le filet grâce à un aspirateur à bouche. A la fin des 4 minutes de fauchage, l'ensemble des individus prélevés avec l'aspirateur à bouche sont tués avec de l'acétate d'éthyle puis conditionnés dans des tubes, et une photographie de situation (zone de prélèvement) est réalisée. Au laboratoire, chaque insecte est identifié sous loupe binoculaire [Biedermann and Niedringhaus, 2009] et reconditionné dans des tubes avec un « code échantillon » unique et les tubes sont stockés à 4°C.

Le prélèvement des larves et des plantes au printemps selon la méthode des quadrats

Au printemps, le prélèvement des larves n'est pas réalisé avec un filet fauchoir mais en utilisant la méthode des quadrats. Les larves des Cercopidea sont très peu mobiles et facilement repérables grâce aux amas spumeux (également appelés crachat de coucou) qu'elles produisent pour se prémunir de la dessiccation et de la prédation [Weaver and King, 1954]. Pour l'ensemble des strates herbacées échantillonnées, le quadrat utilisé est de taille identique d'un mètre par 25 cm. Pour les frondaisons en forêt ou dans les haies, des quadrats de 2 m x 0,5 m sont utilisés et pour les frondaisons de vignes, des quadrats de 5 m x 0,5 m sont utilisés ce qui correspond à la prospection de 5 pieds de vigne en moyenne. Des quadrats de plus grande taille sont utilisés afin de « compenser » une densité de feuillage moins importante sur les ceps de vigne au printemps [Krebs, 1999].

Cette méthode permet d'échantillonner les insectes vecteurs avérés de la bactérie : *Philaenus spumarius* et *Neophilaenus sp.* Les larves de cicadelles qui ne produisent pas de crachat de coucou ne sont pas échantillonnées. Par conséquent, ces espèces ne sont pas échantillonnées au printemps contrairement à l'automne où elles sont présentes sous forme d'adultes qui sont prélevés dans les filets fauchoirs.

Pour chaque quadrat, l'échantillonnage est exhaustif (et non plus limité par le temps comme à l'automne) : l'ensemble des larves dans les crachats de coucou présents au sein du quadrat sont prélevées. Ainsi, il est possible de déterminer avec exactitude la relation trophique entre l'insecte et la plante. Des photographies de situation et du quadrat sont réalisées. Pour chaque larve prélevée, la plante sur laquelle elle se trouvait est également prélevée pour identifier les espèces végétales. Les larves sont placées directement dans les tubes avec de l'éthanol 75° et les plantes sont mises en sachets perforés. Les tubes de larves et les plantes sont conservés à 4°C. Au laboratoire, les plantes sont photographiées, mises en herbier et elles sont identifiées à l'aide d'une flore. Pour les plantes nécessitant une expertise particulière, leur identification a été confirmée par Guillaume Fried, botaniste à l'Anses. Les larves sont quant à elles identifiées sous loupe binoculaire et toujours conservées à 4°C. La différentiation morphologique des larves de *Neophilaenus campestris* et *Neophilaenus lineatus* n'est pas documentée. Xavier Mesmin, ingénieur travaillant sur le

projet, a tenté de mettre en évidence des critères de différentiation de ces deux espèces au stade larvaire mais suite à une vérification en biologie moléculaire (barcoding), il s'est avéré que les critères morphologiques décrits ne sont pas suffisants pour discriminer les deux espèces. Ainsi, dans le cadre des analyses effectuées dans la suite de ce manuscrit, les populations de larves et d'adultes ont été différenciées dans les analyses avec « _a » pour les adultes et « _l » pour les larves. Cette distinction permet de conserver la différentiation morphologique de *Neophilaenus lineatus* et *campestris* à l'état adulte et les larves sont regroupées sous le terme *Neophilaenus sp.* Cette distinction est importante car la distribution de ces deux espèces varie selon la région étudiée, avec la présence de *Neophilaenus lineatus* majoritairement en Nouvelle-Aquitaine ([Chauvel et al., 2015], pers. com. J-Y Rasplus). L'utilisation du barcoding pour l'ensemble des larves prélevées étant coûteux, il n'a pas été réalisé dans le cadre de cette recherche doctorale.

L'échantillonnage dans les quadrats est généralement réalisé par trois opérateurs différents (trois réplicats) pour chaque habitat (strates herbacées et frondaisons). Les mêmes écosystèmes et habitats qu'à l'automne ont été prospectés. La zone d'échantillonnage étant réduite par rapport à celle de l'automne (moins d'un mètre carré prospecté contre plusieurs dizaines de mètres carrés au filet fauchoir), la réplication de l'échantillonnage permet de couvrir une zone plus importante et d'être plus proche de l'exhaustivité en terme de diversité. Dans la suite du manuscrit, un relevé correspond à la collecte des insectes dans un écosystème et un habitat donnés pour un seul réplicat, ce qui correspond au prélèvement effectué par un opérateur dans un habitat donné.

2.1.2.2 La recherche de la bactérie dans les insectes : mobilisation de la PCR en deux étapes

L'étude des réseaux d'interactions impliquant *Xylella fastidiosa* serait incomplète sans l'analyse des insectes prélevés afin de déterminer s'ils sont porteurs ou non de la bactérie. Ainsi, un sous-échantillonnage des insectes prélevés à l'automne 2020 et 2021 a été analysé grâce à la méthode de PCR en deux étapes présentée dans la partie II.1 page 87. Les critères de sélection des insectes à analyser sont ici différents de ceux utilisés pour l'échantillonnage des insectes de Corse. En effet, les questions de recherche étaient différentes et pour y répondre, plusieurs espèces d'insectes ont été collectées et les insectes vecteurs potentiels et avérés de la bactérie ont été sélectionnés (*Philaenus spumarius* [Cornara et al., 2017a,

Cornara et al., 2016], *Neophilaenus campestris* [Cavalieri et al., 2019] et *Neophilaenus lineatus*). Pour chacune de ces espèces, au maximum 30 individus présents dans un unique buffer ont été analysés. Ces 30 individus sont assimilés à une même population d'insectes compte tenu de la délimitation des buffers qui est équivalente à la capacité de dispersion des insectes. Les individus collectés en parcelle de vigne des viticulteurs partenaires du projet (en Nouvelle-Aquitaine et en PACA) ou dans les milieux semi-naturels à proximité ont été considérés prioritaires pour les tests de présence de *Xylella fastidiosa*. Dans certains cas, des individus prélevés sur prairies ont été ajoutés à l'expérimentation afin d'avoir 30 insectes de la même espèce pour chaque buffer. Enfin, cet échantillonnage a été complété avec quelques insectes d'espèces différentes pour l'automne 2020 car, pour des questions logistiques (nombre de puits disponibles par plaque PCR), l'analyse de ces insectes était possible sans une augmentation du temps d'expérimentation et avec un surcoût très réduit. Ainsi, 557 insectes collectés à l'automne 2020 et 450 collectés à l'automne 2021 ont été analysés (annexe C.3 page C3). Les efforts ont été concentrés sur les insectes collectés en automne car la charge bactérienne est plus élevée en cette saison [Chatterjee et al., 2008a, Hill et al., 1995] (section I.2.5.1 page 68).

2.1.2.3 Les analyses statistiques

L'analyse des données collectées à l'occasion des trois sessions d'échantillonnage a été réalisée à l'aide de différentes méthodes statistiques avec le logiciel R (R version 4.0.5, [R Core Team, 2021]) et les packages associés décrits ci-après. Les figures ont été réalisées avec ggplot2 version 3.3.5 [Wickham, 2016].

Ces analyses statistiques permettront de répondre aux questions suivantes :

1. Quels sont les assemblages d'insectes dans les régions étudiées ?
2. Existe-t-il des différences d'assemblages selon les régions, les écosystèmes, les habitats étudiés ?
3. La bactérie est-elle présente dans les zones étudiées ? Si oui, où ?
4. Quelles sont les plantes hôtes des larves selon les régions et les écosystèmes étudiés ?

Statistiques descriptives des données

En premier lieu, des représentations descriptives des données ont été réalisées avec la construction de diagrammes de Venn (package ggven version 0.1.9, [Yan, 2021]) et de diagrammes en barres (ggplot2). Ils représentent la répartition des insectes selon les habitats et les écosystèmes mais également selon les régions et permettent de connaître le nombre total de spécimens prélevés par espèce. Pour calculer des proportions, le package plyr version 1.8.6 [Wickham, 2011] a été mobilisé. Le logiciel libre (open source) QGis a été utilisé pour représenter la distribution des sites échantillonnés (QGis [2] version 3.10).

Étude des communautés d'insectes vecteurs

Les analyses descriptives des données ont été menées grâce à des analyses multivariées - AFC (Analyse Factorielle des Correspondances) et ACP -. L'objectif de ces analyses est d'identifier les principales structures des grands ensembles de données [Thioulouse et al., 2018]. Dans le cas présent il s'agit d'identifier des différences de structure des communautés d'insectes vecteurs selon les habitats ou les régions étudiés. Suite aux analyses, des graphiques le plus souvent en deux dimensions, sont construits. Les axes sont construits à partir des variables d'origine [Cailliez and Pages, 1976] et ils sont donc eux même des variables aléatoires qui discriminent de façon optimisée les objets [Legendre and Legendre, 2012]. Les variables et les individus peuvent être projetés sur ces nouveaux axes et il est possible de connaître la part de la variance qui est expliquée par chacun de ces nouveaux axes. Les valeurs propres, calculées lors de l'analyse, quantifient la capacité d'un axe à séparer les objets. En ACP, la valeur propre d'un axe est égale à la variance des coordonnées des individus sur cet axe. Le graphique des valeurs propres des analyses multivariables a été affiché avec le package factoextra version 1.0.7 [Kassambara and Mundt, 2020] et les cercles de corrélations ont été affichés avec le package explor version 0.3.9 [Barnier, 2021].

2. `http://www.qgis.org`

Analyse des données de présence/absence

La première analyse effectuée est une AFC, elle est réalisée sur les données précédemment décrites : les effectifs des principaux vecteurs de la bactérie pour les trois périodes de collecte. Ce tableau de données avec des abondances a été transformé en tableau de présence/absence. L'AFC a été réalisée à l'aide du package ade4 version 1.7-18, [Dray and Dufour, 2007]. Les sorties graphiques ont été affichées grâce au package adegraphics version 1.0-16 [Siberchicot et al., 2017].

L'AFC est une méthode descriptive mais il est possible de tester s'il existe des différences significatives entre des groupes de relevés (par exemple les régions ou les écosystèmes). Ceci est décrit sous le terme d'analyse inter-intra par Dolédec et Chessel [Dolédec and Chessel, 1987] et disponible sous la forme de la fonction bca du package ade4. Le principe consiste à calculer l'inertie intergroupe et d'en tester la significativité à l'aide d'un test de Monte-Carlo (fonction randtest, ade4). Ce test repose sur l'idée de reconstruire l'hypothèse nulle (« il n'y a pas de différence entre l'inertie des groupes testés ») en attribuant aléatoirement (randomisation) les relevés entre groupes un grand nombre de fois et recalculer l'inertie dans chaque cas. La position de la valeur observée est ensuite comparée à la distribution des valeurs simulées sous l'hypothèse nulle. On réalise 999 randomisations auxquelles on ajoute la valeur observée pour constituer un ensemble de 1000 réalisations de la variable aléatoire « inertie inter-groupe ».

Analyse des données d'abondance

Les communautés d'insectes ont été analysées à l'aide de l'ACP (package ade4) [Thioulouse et al., 2018] afin de mettre en évidence des éventuelles différences entre les communautés d'insectes en terme d'abondance selon les habitats, les écosystèmes ou les régions [Lebreton et al., 1988]. Les résultats de l'ACP sont analysés à l'aide de l'analyse inter-intra et du test de Monte-Carlo précédemment décrits pour l'AFC.

Les communautés d'insectes étant de taille réduite (généralement un ou deux insectes sont présents dans un échantillon d'un habitat pour un écosystème donné), les données ont été agrégées pour tous les relevés d'une même région et d'une même campagne d'échantillonnage selon l'habitat. Par exemple, au lieu de considérer le prélèvement sur le site A dans une strate herbacée en inter-rang de vigne de Nouvelle-Aquitaine de l'automne

2021 et le prélèvement sur le site B dans une strate herbacée en inter-rang de vigne de Nouvelle-Aquitaine de l'automne 2021, un seul prélèvement est considéré en strate herbacée de vigne, de Nouvelle-Aquitaine à l'automne 2021 (figure 31). Ainsi, les prélèvements diffèrent selon la région, l'écosystème, la campagne d'échantillonnage et l'habitat. L'agrégation des données a été réalisée avec le package Reshape2 version 1.4.4 [Wickham, 2007]. Suite à cette agrégation, le tableau de données comporte 109 individus statistiques contre 1847 pour les données non agrégées. Les données agrégées ont été ré-analysées selon la procédure précédemment décrite à l'aide de l'ACP et du test de Monte-Carlo.

Date	Date_heure	Region	Zone	IDBuffer	IDSite	Ecosysteme	Habitat	Ps	Nc	Nl	Lc	Cv	Aa	Asp	f.Cer	Session
2020-09-29	2020-09-29 14:30:00	NAQ	Bacchus	NB1	NB1-01	Vigne	Strate herbacee	1	0	1	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 14:30:00	NAQ	Bacchus	NB1	NB1-01	Vigne	Frondaisons	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 14:30:00	NAQ	Bacchus	NB1	NB1-01	Vigne	Bordure enherbee	2	0	0	1	2	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 15:00:00	NAQ	Bacchus	NB1	NB1-02	Vigne	Strate herbacee	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 15:00:00	NAQ	Bacchus	NB1	NB1-02	Vigne	Strate herbacee	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 15:00:00	NAQ	Bacchus	NB1	NB1-02	Vigne	Bordure enherbee	6	0	0	1	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 15:00:00	NAQ	Bacchus	NB2	NB2-01	Vigne	Bordure enherbee	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 15:00:00	NAQ	Bacchus	NB2	NB2-01	Vigne	Strate herbacee	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 15:00:00	NAQ	Bacchus	NB2	NB2-01	Vigne	Frondaisons	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 15:00:00	NAQ	Bacchus	NB2	NB2-01	Vigne	Bordure arbustive	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 14:00:00	NAQ	Bacchus	NB2	NB2-02	Vigne	Strate herbacee	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 14:00:00	NAQ	Bacchus	NB2	NB2-02	Vigne	Frondaisons	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 14:00:00	NAQ	Bacchus	NB2	NB2-02	Vigne	Bordure arbustive	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-29	2020-09-29 14:00:00	NAQ	Bacchus	NB2	NB2-02	Vigne	Bordure enherbee	6	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-30	2020-09-30 12:30:00	NAQ	Bacchus	NB3	NB3-01	Vigne	Strate herbacee	9	0	3	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-30	2020-09-30 12:30:00	NAQ	Bacchus	NB3	NB3-01	Vigne	Frondaisons	0	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020
2020-09-30	2020-09-30 12:30:00	NAQ	Bacchus	NB3	NB3-01	Vigne	Bordure enherbee	4	0	0	0	0	0	0	0	Automne_2020

Region	Ecosysteme	Session	Habitat	Ps	Nc	Nl	Lc	Cv	Aa	Asp	f.Cer
NAQ	Vigne	Automne_2020	Bordure arbustive	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.000	0.0000000
NAQ	Vigne	Automne_2020	Bordure enherbee	10.68965517	0.96551724	0.27586207	0.13793103	0.06896552	0.00000000	0.000	0.0000000
NAQ	Vigne	Automne_2020	Frondaisons	0.10714286	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.000	0.0000000
NAQ	Vigne	Automne_2020	Strate herbacee	1.82758621	0.06896552	0.13793103	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.000	0.0000000

FIGURE 31: Extrait du tableau de données avant et après agrégation. Ps : *Philaenus spumarius*, Nc : *Neophilaenus campestris*, Nl : *Neophilaenus lineatus*, Cv : *Cicadella viridis*, Asp : *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*, Lc : *Lepyronia coleoptrata*, Aa : *Aphrophora alni*, f.Cer : *Cercopidae* et NAQ (Nouvelle-Aquitaine)

Analyse spécifique des 4 espèces principales avec des GLMMs

Certaines analyses de données ont été réalisées sur les espèces les plus abondantes uniquement : *Philaenus spumarius, Neophilaenus campestris* (stade adulte), *Neophilaenus lineatus* (stade adulte), *Neophilaenus sp.* (stade larvaire) et *Cicadella viridis*. Les espèces *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*, *Lepyronia coleoptrata*, *Aphrophora alni* et *Cercopidae* sp. sont beaucoup plus rares (prélevées respectivement lors de 6, 34, 21 et 2 relevés sur les 1 847 relevés effectués) ce qui peut poser des problèmes dans certaines analyses.

Comme précédemment, ces analyses visent à comprendre s'il existe des différences d'abondance pour chaque espèce selon la région, l'écosystème et l'habitat considérés. Pour cela, des GLMMs [Bolker et al., 2009, Kraus and Vonesh, 2010] ont été construits pour chaque espèce [Vinatier et al., 2011] avec le package glmmTMB (distribution binomiale) version 1.1.2.3 [Brooks et al., 2017]. Les GLMMs permettent d'inclure des effets aléatoires ainsi que des effets fixes dans des systèmes biologiques hiérarchiques complexes et réalistes, tout en traitant simultanément des variables de réponse non normales (telles que les données binaires et les données de comptage) [Grueber et al., 2011].

Pour chaque modèle, les variables utilisées pour expliquer l'abondance des espèces sont l'habitat, l'écosystème et la région. Dans le cas où une espèce n'est présente que dans une seule région, la variable région est supprimée du modèle. Chaque modèle sera détaillé lors de l'explicitation des résultats. De plus, la campagne d'échantillonnage (variable « session » dans les modèles) est considérée comme un effet fixe car il y a moins de cinq niveaux [Bolker et al., 2009]. Un effet aléatoire, combinant l'identifiant du site et l'habitat a été ajouté afin de prendre en compte le fait que des réplicats ont été réalisé par différents observateurs lors de l'échantillonnage des larves notamment (3 quadrats répliqués par habitat dans chaque site). Les hypothèses de validité pour les GLMMs (distribution, dispersion, fréquence des valeurs extrêmes et homoscédasticité) ont été vérifiées avec le package DHARMa version 0.4.5 [Hartig, 2020].

Étude des interactions trophiques : analyse des relations plantes hôtes - larves

Les analyses des relations plantes-insectes ont été réalisées sur les données de printemps qui sont les seules permettant de connaître précisément les interactions trophiques larves d'insectes – plantes hôtes et ainsi de reconstruire précisément les réseaux d'interactions. L'étude de ces réseaux est largement basée sur la construction de graphiques [Kéfi et al., 2012] représentant les réseaux et le calcul de métriques [Almeida-Neto et al., 2008, Simmons et al., 2019]. Ces méthodes sont récentes et de plus en plus utilisées pour la prise en compte de systèmes globaux abritant des interactions multiples [Borrett et al., 2018, Kéfi et al., 2012]. Elles nécessitent une importante quantité de données. Ainsi, dans le cadre de cette étude, seuls les réseaux les plus conséquents (avec le plus grand nombre d'interactions) ont été analysés : la state herbacée de vigne (inter-rang et bordure) et la strate herbacée de prairie. L'étude de la strate herbacée de ces deux écosystèmes est fondamentale. En effet, si les insectes vecteurs sont présents en strate herbacée de parcelle viticole, le risque de transmission de *Xylella fastidiosa* aux ceps de vigne est important. De plus, les prairies, qui sont des milieux adjacents aux parcelles de vigne, peuvent être des réservoirs de la bactérie.

En premier lieu, une description des données est effectuée avec la construction d'un diagramme de VENN. Ensuite, pour chaque région, les trois réseaux précédemment décrits ont été représentés graphiquement. Trois métriques ont été calculées : la richesse spécifique des taxa de plantes hôtes, l'abondance des insectes vecteurs et la spécificité d'hôtes des deux principales espèces d'insectes vecteurs : *Philaenus spumarius* et *Neophilaenus sp.* Enfin, pour trois réseaux d'interactions : les strates herbacées de prairies de Nouvelle-Aquitaine et celles de PACA et pour les bordures enherbées de vigne en PACA, une dernière métrique a été calculée pour évaluer l'existence d'interactions plus fortes entre un insecte et un groupe spécifique de plantes hôtes : l'emboîtement des réseaux (nestedness).

- Richesse spécifique

  La richesse spécifique cumulée correspond au nombre total de taxa (ici de plantes) qui composent le réseau d'interactions. Le calcul de cette métrique permet de comparer facilement les assemblages. De nombreux facteurs impactent la richesse d'un assemblage dont la disponibilité des ressources, l'hétérogénéité de l'habitat

[Ferreira de Pinho et al., 2017] ou la perturbation du milieu [Lavorel et al., 1998]. La richesse cumulée calculée est corrigée par bootstrap, c'est-à-dire que le jeu de données est répliqué par ré-échantillonnage [Manly, 2018, Rossi, 2016].

- Spécificité

  La spécificité d'hôtes [Dormann, 2011, Poisot et al., 2012] pour *Philaenus spumarius* et *Neophilaenus sp.* a été calculée avec le PDI (Paired Difference Index) et elle permettra de mettre en lumière le caractère plus ou moins généraliste de chacune des espèces (PDI = 1 : spécialiste et PDI = 0 : généraliste).

- L'emboîtement

  L'emboîtement des principaux réseaux [Ulrich et al., 2009] a été mesuré avec l'index de mesure NODF (Nestedness metric based on Overlap and Decreasing Fill) [Almeida-Neto et al., 2008] afin de déterminer si des interactions sont privilégiées entre un sous-groupe de végétaux et une espèce d'insecte.

Pour réaliser la construction des réseaux d'interactions, le package reshape2 a été utilisé. Pour le calcul des indices de chaque réseau : le package rich [Rossi, 2016] a été mobilisé pour la richesse cumulée et la correction par bootstrap et le package bipartite version 2.16 [Dormann et al., 2014] pour le calcul des autres indices. Enfin, pour l'affichage graphique des réseaux, les packages ggplotify version 0.1.0 [Guangchuang, 2019], grid version 4.0.5, gridgGraphics version 0.5-1 [Murrell, 2015] et cowplot version 1.1.1 [Wilke et al., 2019] ont été utilisés.

2.1.3 Résultats

2.1.3.1 Description des données

Suite aux trois campagnes d'échantillonnage et à la mobilisation de plusieurs personnes pour chacune d'elles, plus de 11 000 insectes ont été collectés sur 514 sites regroupés dans 92 buffers (figure 32 page ci-contre et annexe C.2 page C2).

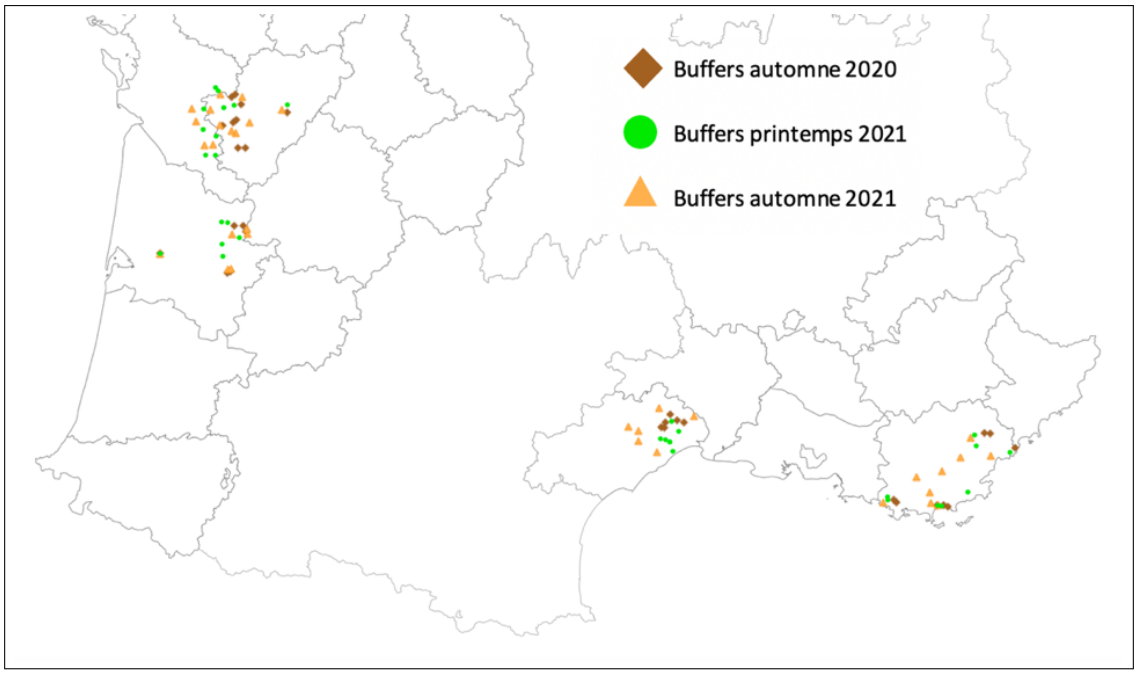


FIGURE 32: Distribution des buffers visités pour les trois campagnes d'échantillonnage des insectes vecteurs potentiels ou avérés de *Xylella fastidiosa*

Le nombre d'insectes collectés est plus important en automne. La majorité des insectes collectés (81%) sont des insectes xylémiques vecteurs potentiels ou avérés de la bactérie. De plus, 99,7% des insectes xylémiques vecteurs potentiels ou avérés de *Xylella fastidiosa* ont été identifiés morphologiquement à l'espèce. Les insectes non identifiés à l'espèce sont généralement des larves trop petites, prélevées au printemps et quelques adultes de la famille des Cercopidae. Le nombre absolu de spécimens capturés est plus élevé en Nouvelle-Aquitaine car l'effort d'échantillonnage est plus important dans cette région (annexe C.4 page C14).

Quatre espèces d'insectes xylémiques ont largement été collectées au cours des trois campagnes d'échantillonnage (tableau 6 page suivante) : *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus campestris*, *Neophilaenus lineatus* et *Cicadella viridis* (seulement à l'automne).

Ps_a	Nc_a	Nl_a	Lc_a	Cv_a	Aa_a	Asp_a	f.Cer_a	Ps_l	Nsp_l	Lc_l	Aa_l	Asp_l	f.Cer_l
4481	3084	838	90	581	12	0	0	1025	579	16	18	129	8

TABLE 6: Nombre d'insectes prélevés par espèce et par stade. Ps : *Philaenus spumarius*, Nc : *Neophilaenus campestris*, Nl : *Neophilaenus lineatus*, Cv : *Cicadella viridis*, Nsp : *Neophilaenus sp.*, Asp : *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*, Lc : *Lepyronia coleoptrata*, Aa : *Aphrophora alni*, f.Cer : *Cercopidae* et « _a » pour adultes et « _l » pour larve

Un plus grand nombre d'insectes a été collecté en strate herbacée dans les prairies et les luzernières (tableau 8 page 182). Très peu d'insectes ont été collectés dans les frondaisons et donc dans des écosystèmes forestiers ou de ripisylves (tableau 7 page suivante) où la strate herbacée est parfois limitée voire inexistante.

	Ps_l	**Nsp_l**	**Lc_l**	**Aa_l**	**Asp_l**	**f,Cer_l**	**Ps_a**	**Nc_a**	**Nl_a**	**Lc_a**	**Cv_a**	**Aa_a**	**Asp_a**	**f,Cer_a**
Bordure arbustive	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,065 (0,25)	0,323 (1,107)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Bordure enherbée	1,645 (4,707)	0,651 (2,389)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8,417 (17,018)	5,879 (12,984)	0,182 (0,77)	0,053 (0,285)	0,076 (0,421)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Frondaison	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,407 (3,564)	0 (0)	0,065 (0,262)	0,134 (0,712)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,011 (0,107)	0 (0)	0 (0)
Strate herbacée	1,614 (4,954)	1,011 (4,232)	0,034 (0,403)	0,039 (0,351)	0 (0)	0,017 (0,327)	7,941 (20,379)	5,363 (20,217)	1,929 (15,718)	0,197 (1,226)	1,353 (6,904)	0,021 (0,145)	0 (0)	0 (0)

TABLE 7: Nombre moyen d'insectes prélevés par espèce et par stade pour chaque habitat (valeur moyenne suivie de l'écart-type entre parenthèse). Ps : *Philaenus spumarius*, Nc : *Neophilaenus campestris*, Nl : *Neophilaenus lineatus*, Nsp : *Neophilaenus sp.*, Cv : *Cicadella viridis*, Asp : *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*, Lc : *Lepyronia coleoptrata*, Aa : *Aphrophora alni*, f.Cer : *Cercopidae* et « _a » pour adultes et « _l » pour larve

	Ps_l	**Nsp_l**	**Lc_l**	**Aa_l**	**Asp_l**	**f,Cer_l**	**Ps_a**	**Nc_a**	**Nl_a**	**Lc_a**	**Cv_a**	**Aa_a**	**Asp_a**	**f,Cer_a**
Forêts	0,005 (0,07)	0,01 (0,099)	0 (0)	0,01 (0,099)	0 (0)	0,039 (0,496)	0,073 (0,384)	0,14 (0,794)	0,039 (0,389)	0,006 (0,075)	0,09 (0,987)	0,011 (0,106)	0 (0)	0 (0)
Luzernes	8,167 (9,411)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	11,032 (19,011)	1,968 (5,936)	0,065 (0,359)	0,032 (0,18)	0,097 (0,396)	0,032 (0,18)	0 (0)	0 (0)
Oliveraies	1,933 (5,658)	1,533 (4,154)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,593 (3,472)	6,056 (14,029)	0,019 (0,136)	0 (0)	0,019 (0,136)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Prairies	3,621 (6,86)	2,752 (7,146)	0,11 (0,718)	0,007 (0,083)	0 (0)	0 (0)	18,606 (30,19)	12,818 (32,524)	5,962 (27,726)	0,614 (2,135)	3,318 (10,521)	0,008 (0,087)	0 (0)	0 (0)
Ripisylves	0,415 (2,33)	0,064 (0,435)	0 (0)	0,16 (0,752)	1,372 (6,467)	0 (0)	0,976 (2,255)	0,095 (0,334)	0 (0)	0 (0)	1,321 (7,408)	0,095 (0,295)	0 (0)	0 (0)
Vignes	0,639 (3,113)	0,203 (0,951)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4,082 (12,958)	2,639 (9,694)	0,111 (0,799)	0,019 (0,172)	0,033 (0,264)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

TABLE 8: Nombre moyen d'insectes prélevés par espèce et par stade pour chaque écosystème (valeur moyenne suivie de l'écart-type entre parenthèse). Ps : *Philaenus spumarius*, Nc : *Neophilaenus campestris*, Nl : *Neophilaenus lineatus*, Nsp : *Neophilaenus sp.*, Cv : *Cicadella viridis*, Asp : *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*, Lc : *Lepyronia coleoptrata*, Aa : *Aphrophora alni*, f.Cer : *Cercopidae* et « _a » pour adultes et « _l » pour larve

Les données reflètent également une variabilité régionale avec des occurrences d'*Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis* uniquement en Nouvelle-Aquitaine et des occurrences de *Cicadella viridis* et de *Neophilaenus lineatus* principalement dans cette région et ponctuellement en PACA (figure 33). De plus, les espèces dont peu de spécimens ont été collectés ont majoritairement été prélevées en ripisylves et en prairies (tableau 7 page 181 et 8 page ci-contre). Néanmoins, en prairies, ces espèces ont une abondance moindre par rapport aux quatre espèces les plus abondantes alors qu'en ripisylves elles peuvent être majoritaires. Par exemple, *A. salicina/pectoralis* a très majoritairement été trouvée sur frondaison de saules en ripisylves.

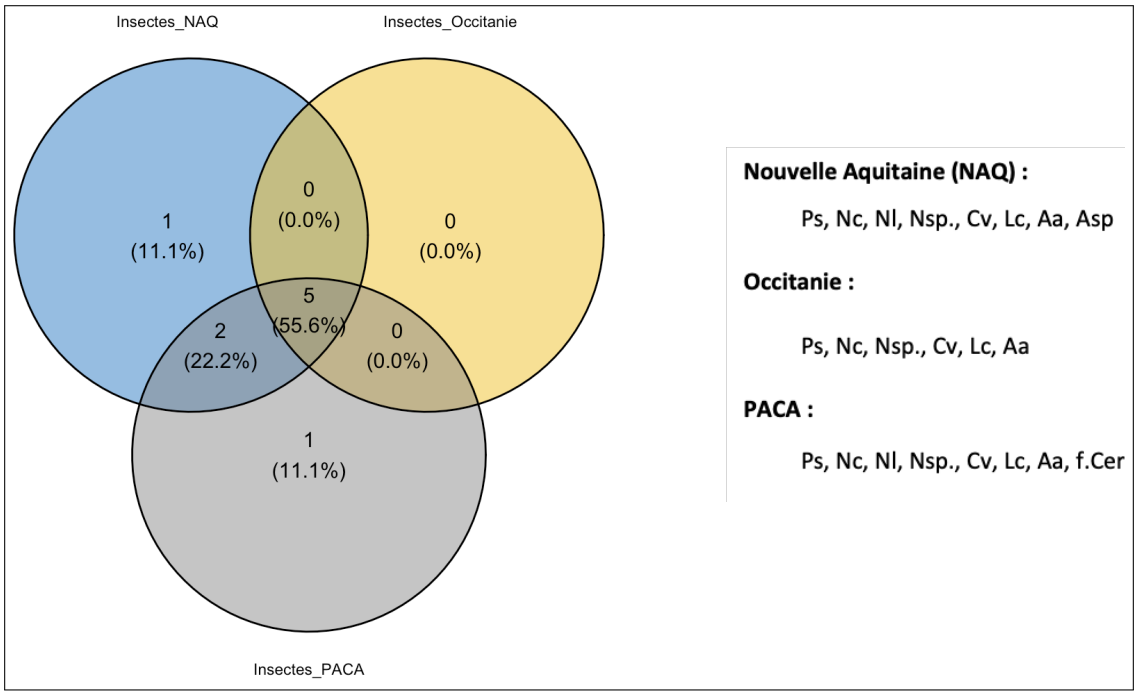


FIGURE 33: Diagramme de VENN représentant la distribution des espèces d'insectes au sein des régions. Ps : *Philaenus spumarius*, Nc : *Neophilaenus campestris*, Nl : *Neophilaenus lineatus*, Nsp : *Neophilaenus sp.*, Cv : *Cicadella viridis*, Asp : *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*, Lc : *Lepyronia coleoptrata*, Aa : *Aphrophora alni*, f.Cer : *Cercopidae*

2.1.3.2 Analyse descriptive des assemblages d'insectes vecteurs

L'AFC mobilisée pour étudier les différences des assemblages selon l'occurrence des espèces d'insectes est fortement impactée par les espèces rares, ici des Cercopidae et *Aphrophora salicina/pectoralis*. Or, ces deux groupes ont été collectés rarement et respectivement en strate herbacée de forêts en région PACA et en frondaison de ripisylves en Nouvelle-Aquitaine. Bien que le test de Monte-Carlo indique une différence entre les habitats et les écosystèmes ($p = 0{,}001$), ces différences sont présentes entre certains habitats ou écosystèmes qui abritent des espèces rares (strate herbacée de forêts et frondaison de ripisylves). Cette analyse ne permet pas de discriminer les autres écosystèmes qui sont d'intérêt majeur (vignes et prairies) (graphiques en annexe C.5 page C15).

Afin d'explorer les différences entre les assemblages d'insectes selon les écosystèmes et les habitats, il est important de prendre en compte les abondances des espèces d'insectes qui fluctuent de façon marquée selon les sites considérés. Ainsi, une ACP est effectuée sur les données d'abondances des trois sessions de relevés (automne 2020 et 2021 et printemps 2021). L'analyse des résultats de l'ACP est comparable, dans une certaine mesure, à celle de l'AFC (figures similaires) et les différences entre les groupes sont également évaluées à l'aide d'un test de Monte-Carlo.

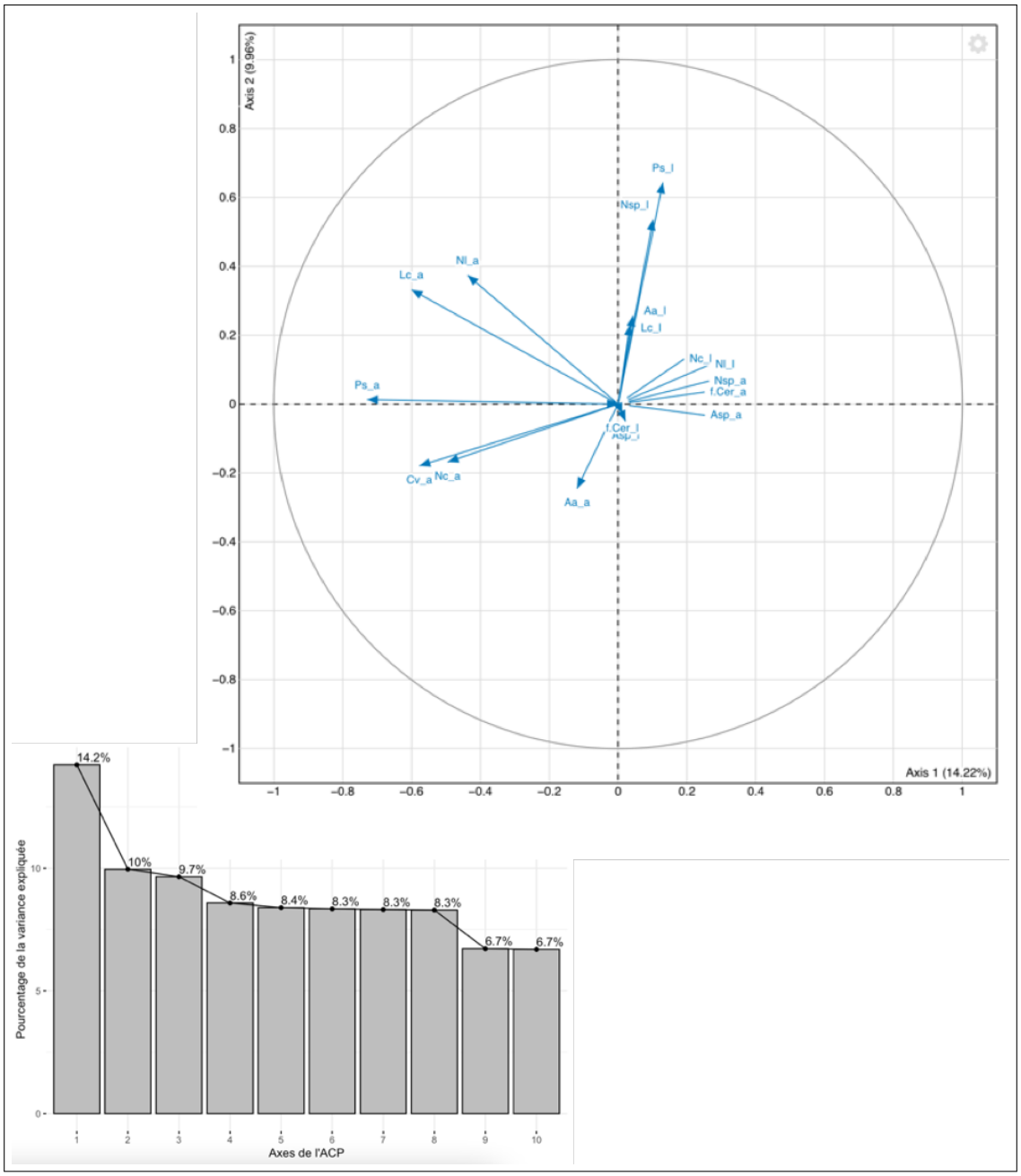


FIGURE 34: Graphique des valeurs propres de l'ACP et cercle des corrélations pour les deux premiers axes. Ps : *Philaenus spumarius*, Nc : *Neophilaenus campestris*, Nl : *Neophilaenus lineatus*, Nsp : *Neophilaenus sp.*, Cv : *Cicadella viridis*, Asp : *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*, Lc : *Lepyronia coleoptrata*, Aa : *Aphrophora alni*, f.Cer : *Cercopidae* et « _a » pour adultes et « _l » pour larve

Contrairement à l'AFC précédemment présentée, les axes du cercle de corrélation de l'ACP sont plus fortement impactés par les espèces abondantes (*Philaenus spumarius* et *Neophilaenus campestris* et *lineatus*) par rapport aux espèces plus rarement échantillon-

nées (e.g. *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*) qui sont au centre du cercle (figure 34 page précédente).

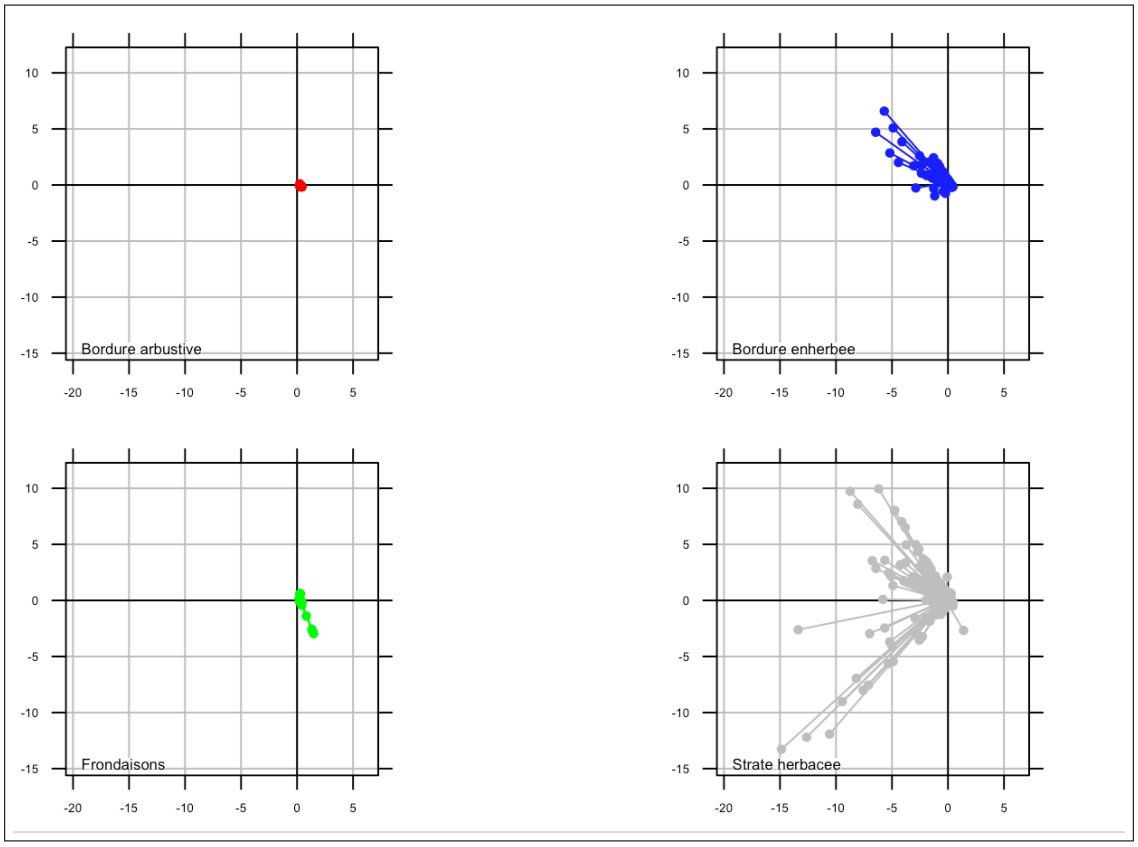


FIGURE 35: Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'ACP selon les habitats test de Monte-Carlo : p = 0,001

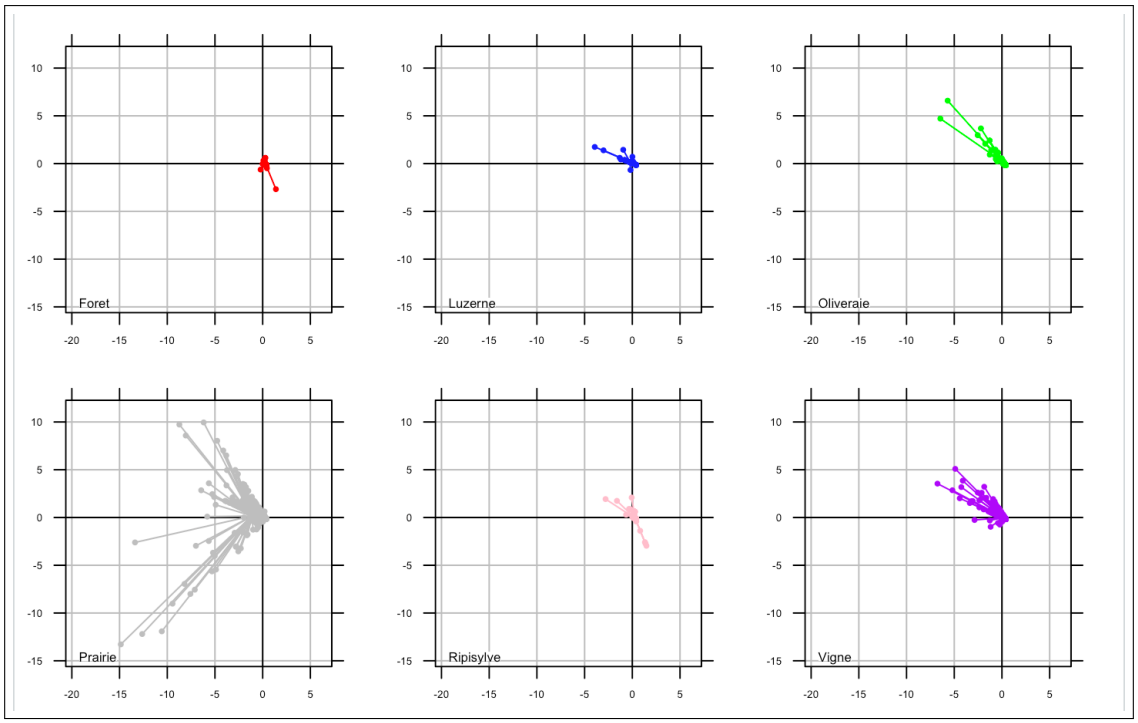


FIGURE 36: Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'ACP selon les écosystèmes test de Monte-Carlo : p valeur = 0,001

D'après les résultats du test de Monte-Carlo, la différence entre les groupes, selon les habitats et selon les écosystèmes, est significative (p = 0,001). Or, les nuages de points pour les habitats et les écosystèmes, bien que différents, sont positionnés à l'origine des axes, ce qui ne permet pas de les discriminer (figures 35 page précédente et 36). Ce positionnement particulier peut s'expliquer par le fait que lors de nombreux relevés, aucun insecte n'a été prélevé. Ainsi, il n'y a statistiquement pas de différence entre tous ces relevés « nuls » dans les différents habitats et écosystèmes. Pour limiter cet effet, les données ont été agrégées par habitat selon un écosystème et une région donnés (figure 31 page 175) afin d'avoir des assemblages avec un nombre plus important d'insectes. Suite à cette agrégation, il reste 109 individus statistiques (contre 1847 avant agrégation). Une ACP est à nouveau mise en œuvre sur les données agrégées.

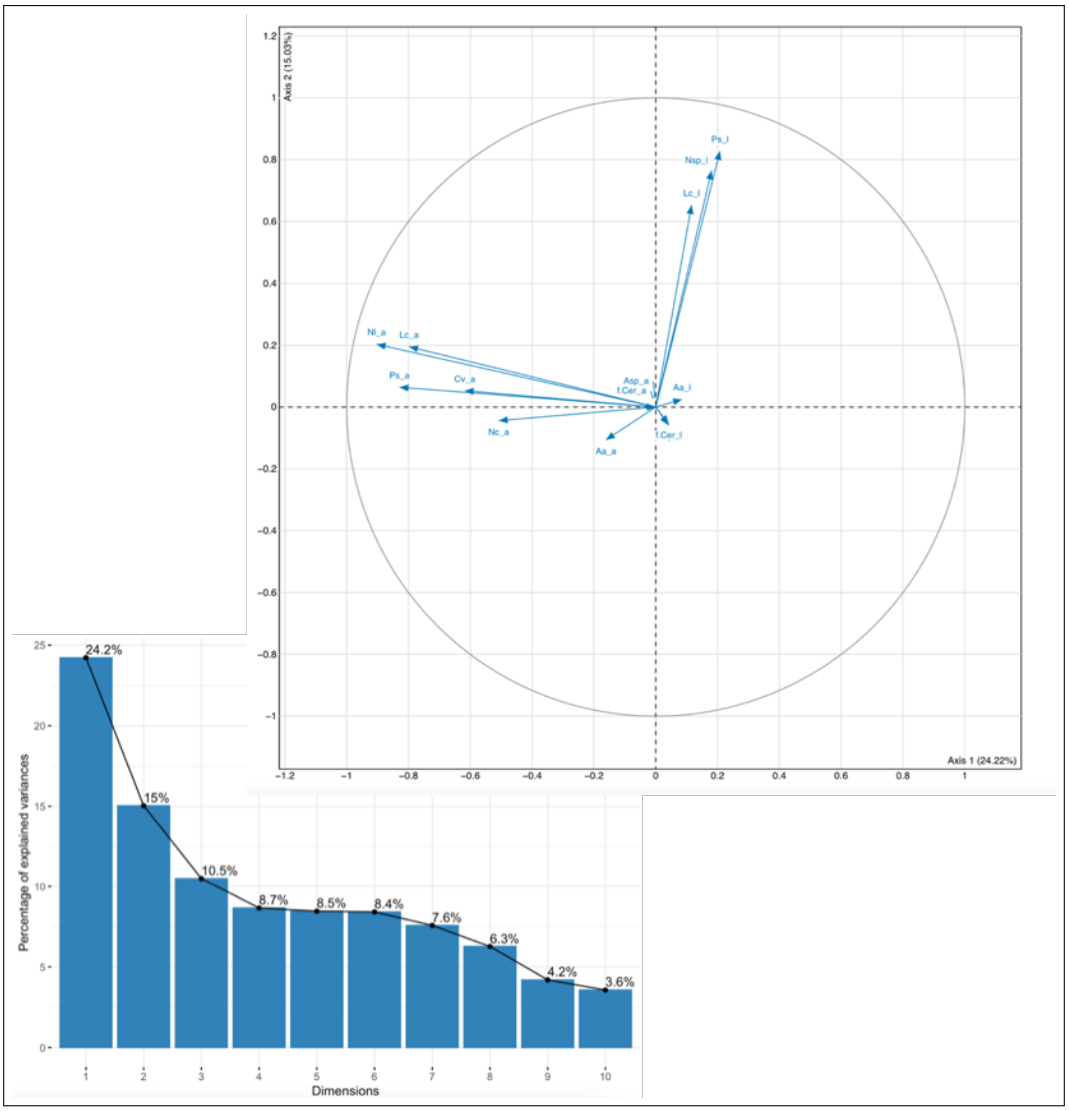


FIGURE 37: Graphique des valeurs propres de l'ACP effectuée sur les données agrégées et cercle des corrélations pour les deux premiers axes

Le cercle des corrélations de l'ACP (figure 37) sur les données agrégées est très semblable à son équivalent obtenu sur les données non agrégées (figure 34 page 185).

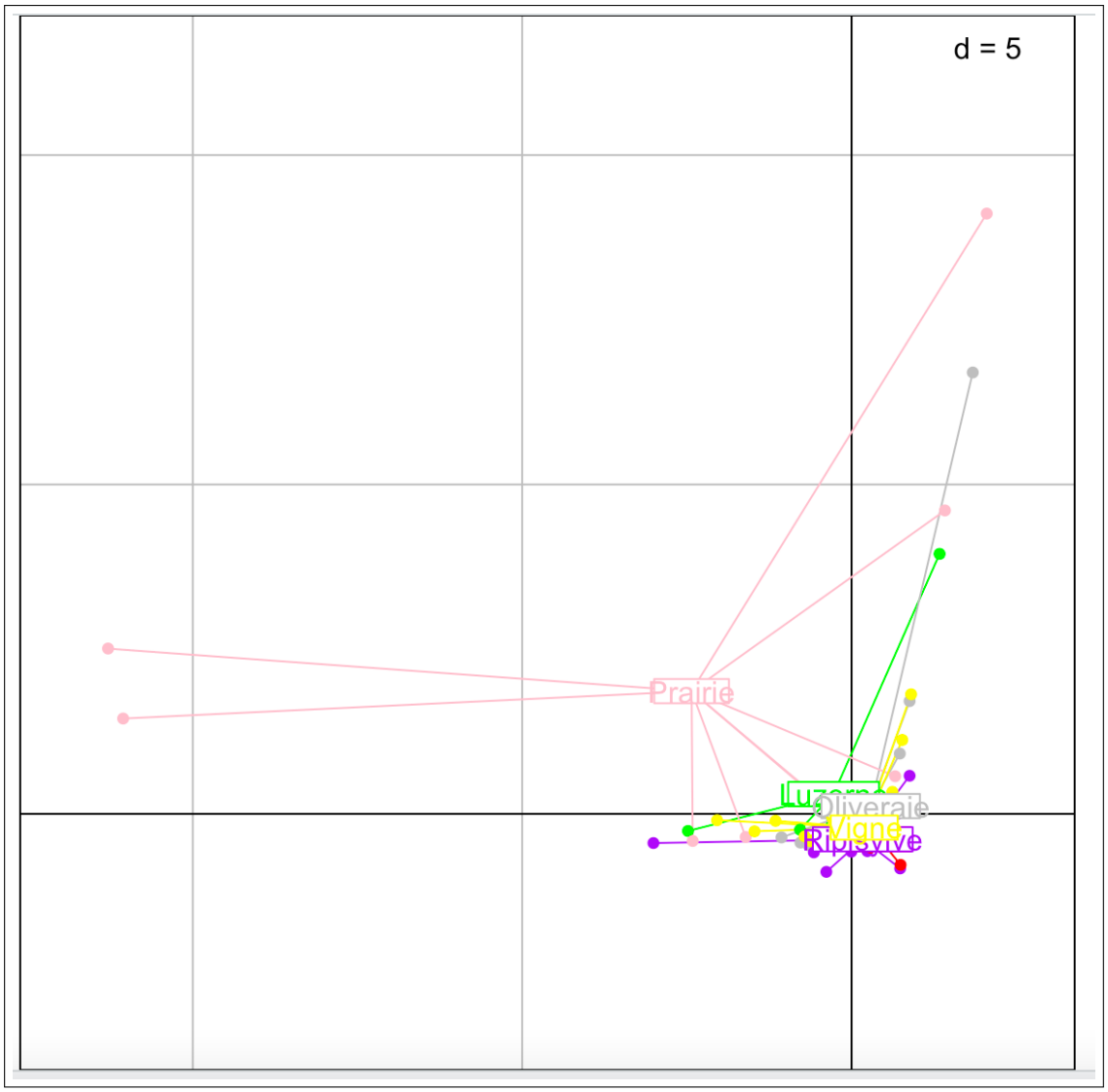


FIGURE 38: Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'ACP réalisée avec les données agrégées selon les écosystèmes test de Monte-Carlo : p = 0,001

Selon les résultats du test de Monte-Carlo, p = 0,001 pour la comparaison des écosystèmes, et p = 0,056 pour la comparaison des habitats. Ainsi, il existe une différence significative d'assemblages d'insectes entre les différents écosystèmes. La représentation graphique permet de mettre en évidence une différence des assemblages en prairies et en ripisylves par rapport aux autres écosystèmes. D'après le cercle des corrélations (figure 38), cette différence s'explique par une forte abondance de *Philaenus spumarius* et *Neophilaenus campestris* adultes en prairies et une abondance plus importante des *Cercopidae* en ripisylves.

Ainsi, les analyses des données à l'aide de l'ACP permettent de montrer une différence des assemblages d'espèces d'insectes selon les écosystèmes avec des assemblages différents en prairies et en ripisylves. Pour compléter ces observations, nous allons maintenant analyser plus finement l'abondance des quatre espèces principales : *Philaenus spumarius, Neophilaenus campestris* (adulte)*, Neophilaenus lineatus* (adulte), *Neophilaenus sp.* (stade larvaire) et *Cicadella viridis* selon les milieux, les écosystèmes et les régions.

2.1.3.3 Analyse des quatre espèces principales par la modélisation (GLMM)

L'abondance des quatre espèces principales a été analysée séparément afin de tester des différences selon la région, l'habitat ou l'écosystème à l'aide de GLMMs. Les quatre espèces moins abondantes sont trop peu fréquentes pour que les données soient analysées avec ce type d'outils (tableau 6 page 180).

Pour chaque espèce, la formule du modèle sera détaillée, les sorties numériques sont disponibles en annexe (annexe C.6.1 page C17) et les sorties graphiques seront commentées. Le premier modèle concernant *Philaenus spumarius* sera explicité plus en détails.

Philaenus spumarius

Philaenus spumarius est l'insecte vecteur principal de la bactérie en Europe. Ubiquiste et largement polyphage, il a été échantillonné dans l'ensemble des habitats, écosystèmes et régions de l'expérimentation. Le modèle permettant d'analyser son abondance est le suivant :

$$Ps \sim Region + Ecosystème + Habitat + Session + (1|IDSite:Habitat)$$

L'abondance de *Philaenus spumarius* est modélisée selon les variables fixes suivantes : la région, l'écosystème, l'habitat et la session et selon un effet aléatoire de l'interaction entre le site et l'habitat. Les variables « Region », « Ecosystemes » et « Habitat » sont celles pour lesquelles nous voulons tester un effet possible de leurs différentes modalités (par exemple la strate herbacée, la bordure enherbée, la bordure arbustive et la frondaison pour les habitats). La session est modélisée par un effet fixe car il y a seulement trois niveaux et il en faut 5 au minimum pour que l'on puisse considérer cette variable en effet aléatoire [Bolker et al., 2009]. La variable aléatoire combinant l'interaction entre le site et

l'habitat permet de prendre en compte les réplicats effectués sur un même site qui ne sont pas des échantillonnages indépendants. C'est le cas par exemple des relevés de printemps où trois quadrats sont réalisés pour chaque habitat de chaque écosystème.

Les résultats sont regroupés dans le tableau 9 page suivante et représentés graphiquement dans les figures suivantes (figures 39 page 193 à 41 page 194). Pour chaque variable, un tableau regroupe la valeur estimée de l'abondance de *Philaenus spumarius* pour chaque niveau (response), l'écart-type (SE), le degré de liberté (df), les valeurs extrêmes des barres d'erreurs (lower.CL et upper.CL) et la différence entre les niveaux (group) avec une significativité alpha = 0,05.

L'abondance de *Philaenus spumarius* est plus élevée dans l'écosystème prairies (group = d) qu'en vignes, oliveraies et ripisylves (group = b). L'espèce est encore moins abondante en forêts (group = a). Le modèle ne permet pas de déterminer de différences entre les prairies (group = d) et les luzernes (group = cd) ni entre les oliveraies (group = bc) et les luzernes (group = cd) (figure 39 page 193).

Pour les habitats (figure 40 page 194), l'abondance de *Philaenus spumarius* est plus importante en bordures enherbées qu'en strates herbacées. Son abondance en frondaisons et bordures arbustives est moins importante par rapport aux deux milieux herbacés.

Enfin, *Philaenus spumarius* est plus abondant en Nouvelle-Aquitaine et en PACA qu'en Occitanie (figure 41 page 194).

Ecosystèmes	**response**	**SE**	**df**	**lower.CL**	**upper.CL**	**group**
Forêt	0.0177	0.00746	1832	0.00773	0.0404	a
Ripisylve	0.1548	0.05268	1832	0.07941	0.3017	b
Vigne	0.2176	0.05076	1832	0.13776	0.3439	b
Oliveraie	0.3303	0.11022	1832	0.17164	0.6355	bc
Luzerne	0.8826	0.32443	1832	0.42925	1.8149	cd
Prairie	1.1967	0.31436	1832	0.71492	2.0033	d

Habitats	**response**	**SE**	**df**	**lower.CL**	**upper.CL**	**group**
Bordure arbustive	0.0475	0.0363	1832	0.0106	0.212	a
Frondaison	0.0556	0.0170	1832	0.0305	0.101	a
Strate herbacée	0.7498	0.1030	1832	0.5728	0.982	b
Bordure enherbée	1.7722	0.3288	1832	1.2316	2.550	c

Régions	**response**	**SE**	**df**	**lower.CL**	**upper.CL**	**group**
Occitanie	0.0765	0.0233	1832	0.0421	0.139	a
PACA	0.3823	0.0954	1832	0.2343	0.624	b
NAQ	0.4929	0.1226	1832	0.3026	0.803	b

TABLE 9: Résultats du GLMM pour l'espèce d'insecte *Philaenus spumarius*. Pour chaque variable, un tableau regroupe la valeur estimée de l'abondance de *Philaenus spumarius* pour chaque niveau (response), l'écart-type (SE), le degré de liberté (df), le calcul des barres d'erreurs (lower.CL et upper.CL) et la différence entre les niveaux avec une significativité alpha = 0,05

Les résultats du tableau 9 page précédente pour chaque variable sont visualisés sur des graphiques représentés ci-dessous (figures 39 à 41 page suivante). Les mêmes résultats sont retrouvés et peuvent être vérifiés grâce aux groupes (lettres a à d) visibles sur les graphiques pour chaque variable.

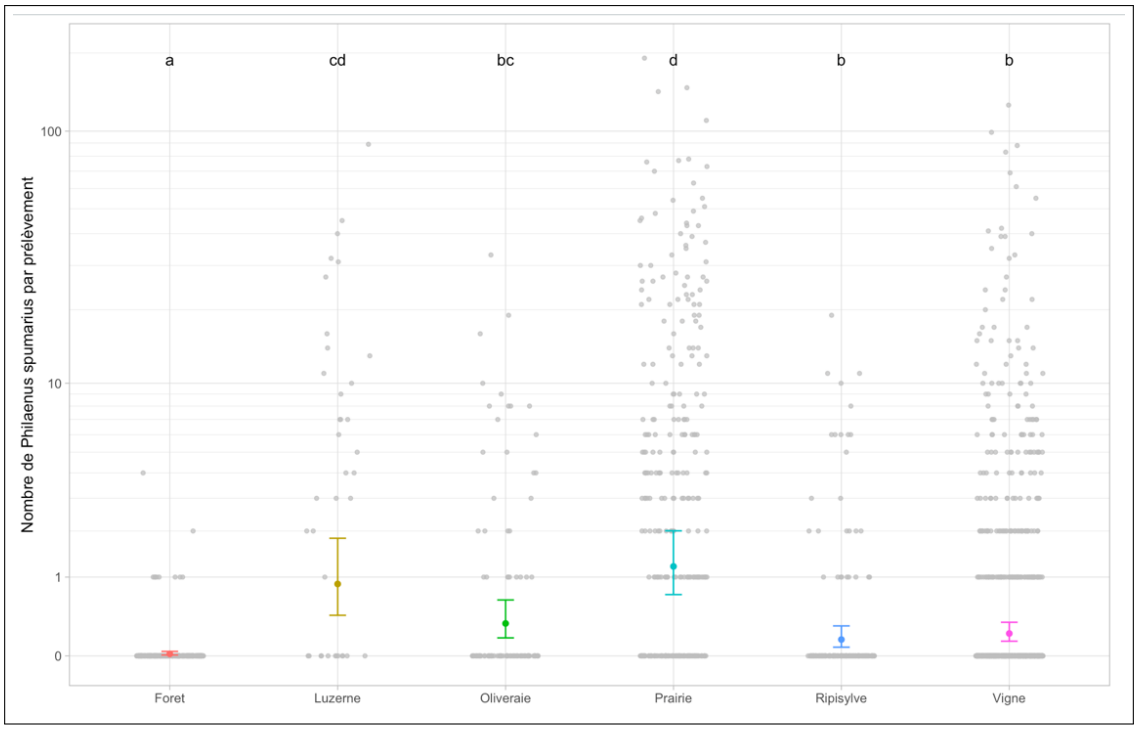


FIGURE 39: Abondance de *Philaenus spumarius* selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM. Les points en gris représentent les données brutes

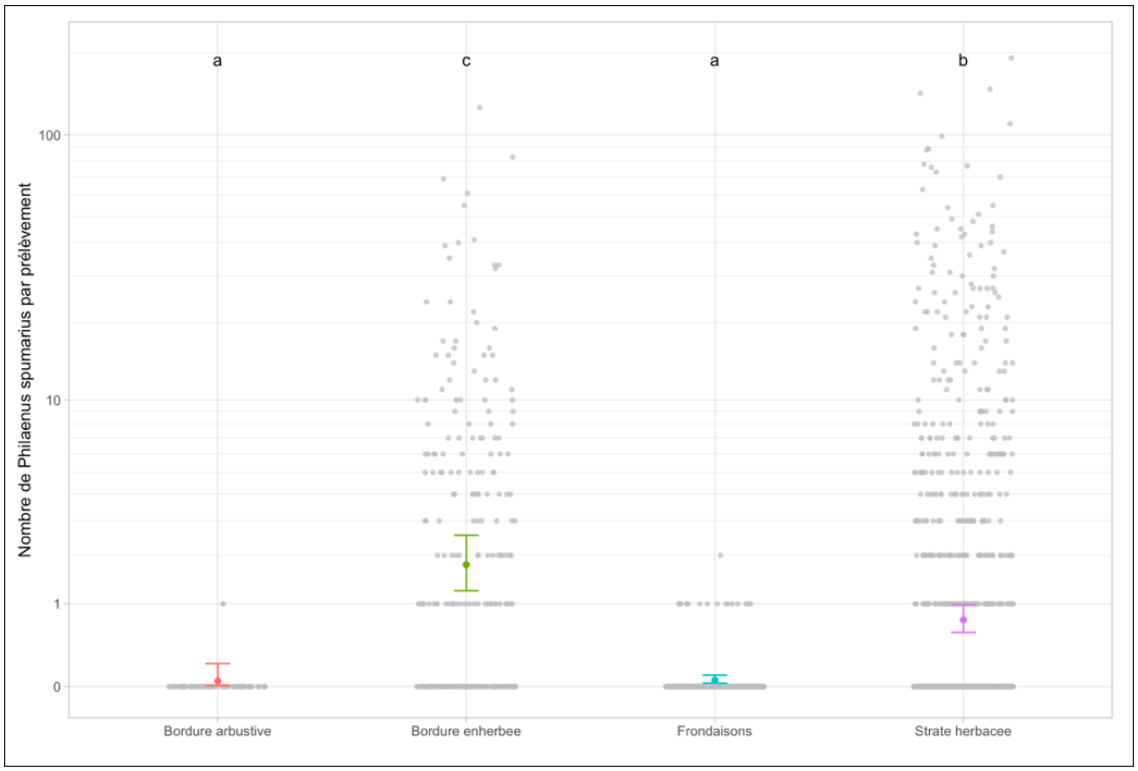


FIGURE 40: Abondance de *Philaenus spumarius* selon les habitats d'après les résultats du GLMM. Les points en gris représentent les données brutes

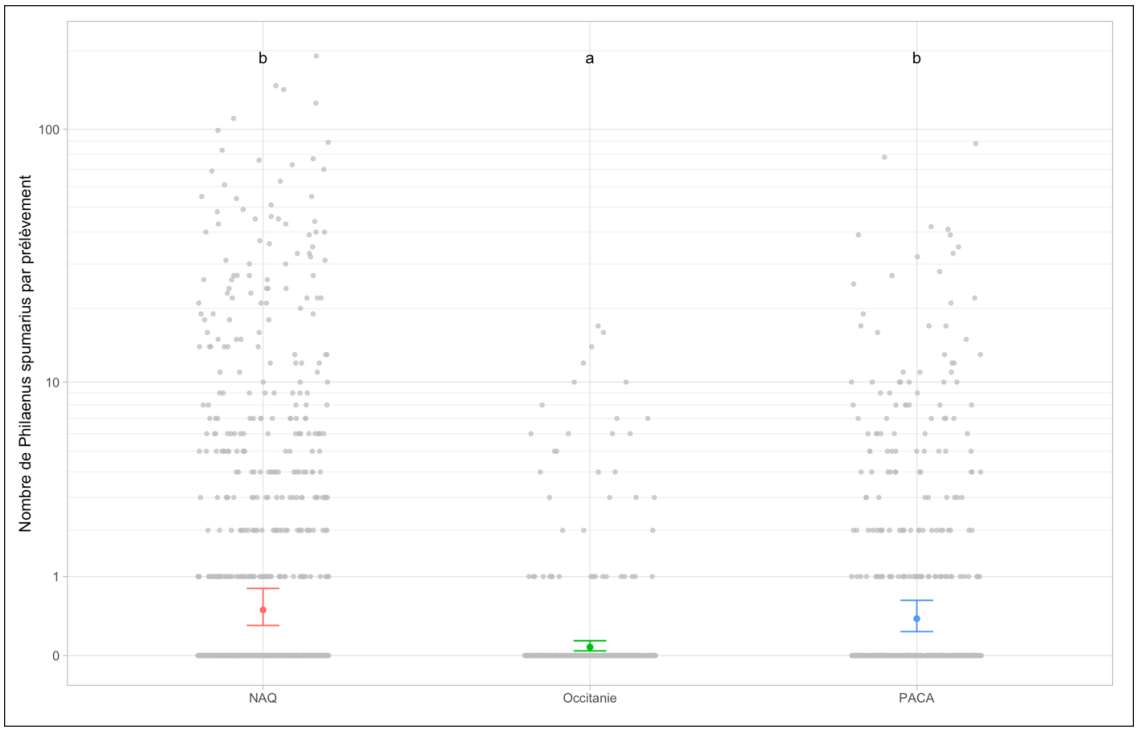


FIGURE 41: Abondance de *Philaenus spumarius* selon les régions d'après les résultats du GLMM. Les points en gris représentent les données brutes

Ainsi, *Philaenus spumarius* est plus abondant en milieux prairiaux puis en strate herbacée de parcelles cultivées et enfin, il est peu abondant en forêts (figure 39 page 193).

Neophilaenus campestris (stade adulte)

Neophilaenus campestris a été échantillonné dans l'ensemble des habitats, écosystèmes et régions de l'expérimentation. Ainsi le modèle suivant permettant d'analyser son abondance tient compte de l'ensemble de ces facteurs :

Nc $\sim$ Region + Ecosystème + Habitat + Session + (1|IDSite :Habitat)

Les résultats du modèle révèlent une abondance plus importante en région PACA et plus faible en Nouvelle-Aquitaine (tableau de résultats en annexe C.6.2 page C18). Comme *Philaenus spumarius, Neophilaenus campestris*, toutes régions confondues, est moins abondant dans les frondaisons par rapport aux strates herbacées. Enfin, comme le montre la figure 42 page suivante, *Neophilaenus campestris* est plus abondant en prairies par rapport aux parcelles cultivées et il est moins abondant en ripisylves et en forêts.

Ainsi, comme *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus* campestris est plus abondant en milieux prairiaux puis en strate herbacée de parcelles cultivées et enfin, il est moins abondant en forêts et ripisylves.

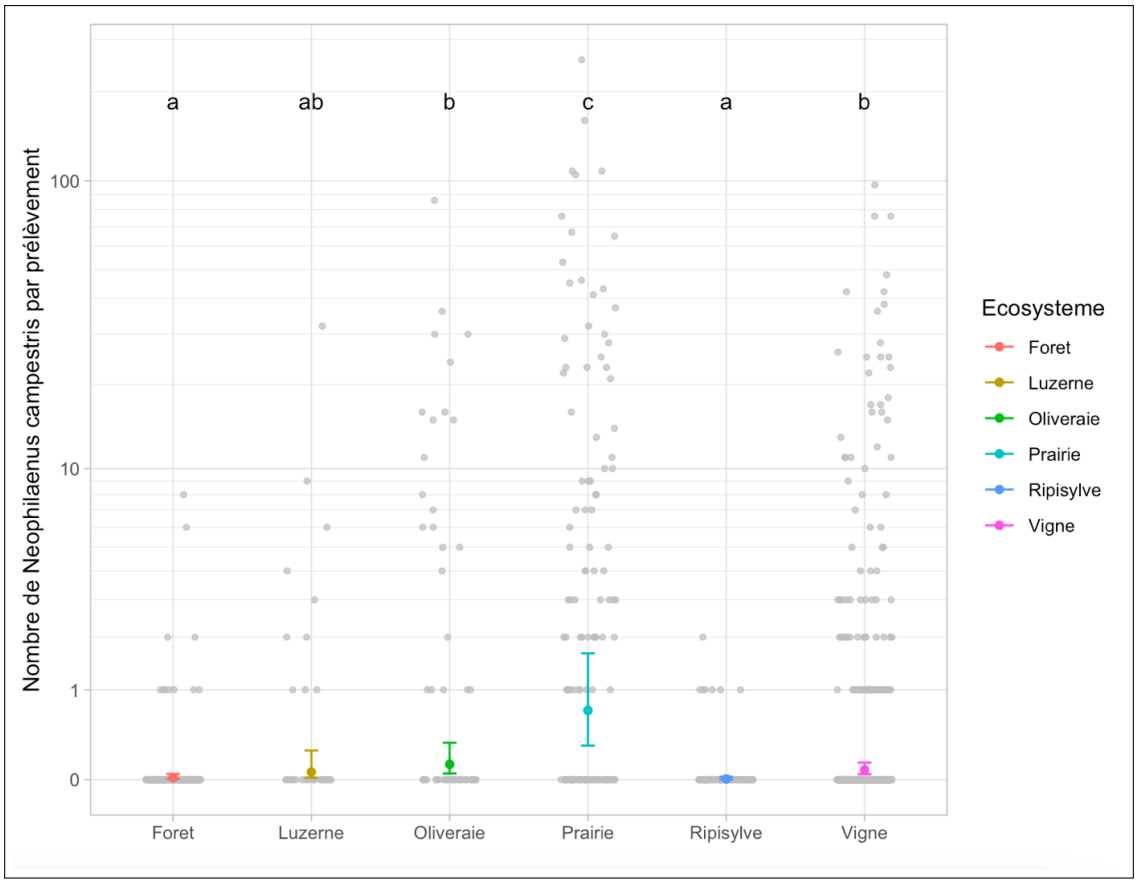


FIGURE 42: Abondance de *Neophilaenus campestris* adulte selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM. Les points en gris représentent les données brutes

***Neophilaenus lineatus* (stade adulte)**

Neophilaenus lineatus a quant à lui été principalement observé en Nouvelle-Aquitaine. Deux spécimens ont été collectés en région PACA mais ce nombre est trop faible pour être pris en compte dans la construction du GLMM et ses analyses. Ainsi, le modèle a été construit sur un sous-jeu de données regroupant uniquement les abondances des insectes en Nouvelle-Aquitaine. De plus, aucun spécimen n'a été collecté en frondaison. Le modèle ne permet pas de déterminer une différence significative entre les deux habitats herbacés pour cette espèce (inter-rangs des parcelles et bordures enherbées) lorsque le test de l'ANOVA du GLMM est mis en place ($p > 0,05$). Le modèle permettant d'analyser l'abondance de *Neophilaenus lineatus* selon l'écosystème est le suivant :

Nl $\sim$ Ecosystème + Session + (1|IDSite :Habitat)

[sous-jeu de données : seulement les strates herbacées et bordures enherbées de Nouvelle-Aquitaine pour tous les écosystèmes]

Les résultats du modèle (tableau en annexe C.6.3 page C18) montrent une abondance de *Neophilaenus lineatus* plus importante dans les praires de Nouvelle-Aquitaine par rapport aux strates herbacées en inter-rangs, en bordures de vignes et aux strates herbacées de forêts (figure 43).

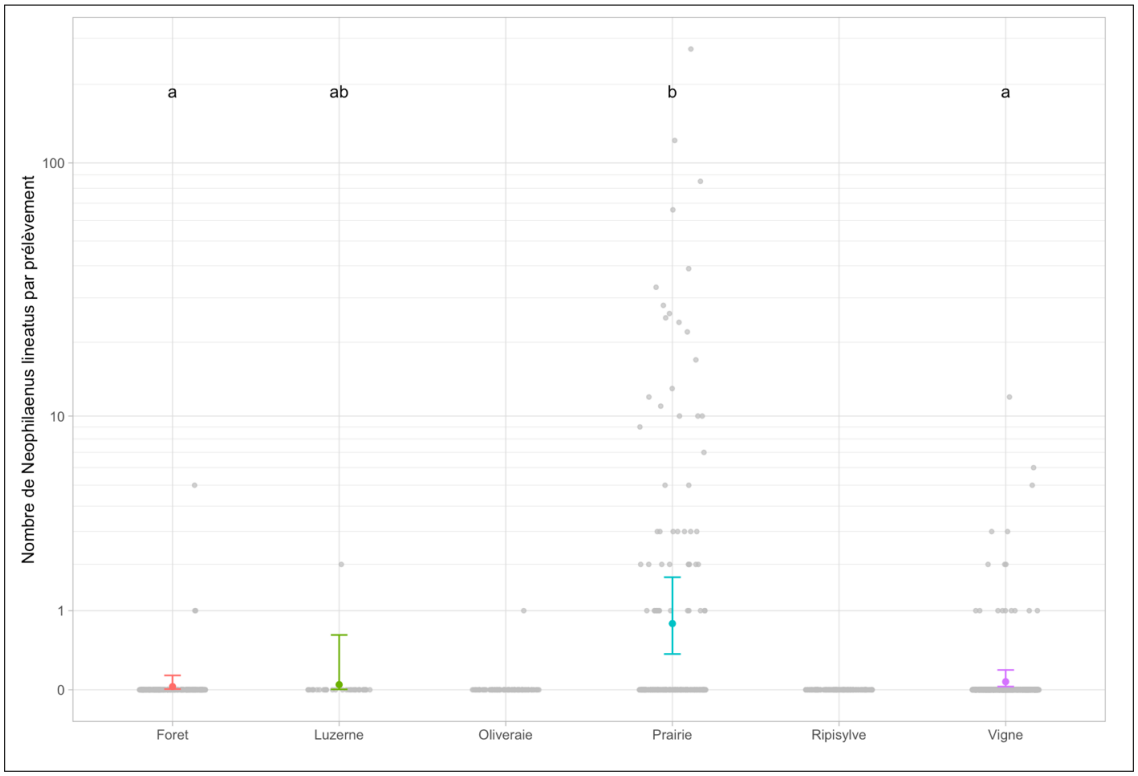


FIGURE 43: Abondance de *Neophilaenus lineatus* (adulte) selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM. Les points en gris représentent les données brutes. L'ensemble des données brutes étant représentée, le point gris au niveau des oliveraies correspond à une occurrence de *Neophilaenus lineatus* en oliveraies en PACA (non analysé dans le GLMM)

***Neophilaenus sp.* (stade larvaire)**

Des larves de *Neophilaenus sp.* ont été observées dans les trois régions au cours du prélèvement du printemps 2021. Le modèle ne permet pas de déterminer une différence significative entre les différents habitats ($p > 0,05$ lors du test de l'ANOVA du GLMM). Ainsi, le modèle permettant d'analyser l'abondance des larves de *Neophilaenus sp.* selon l'écosystème et la région est le suivant :

Nsp $\sim$ Region + Ecosystème + (1|IDSite :Habitat)

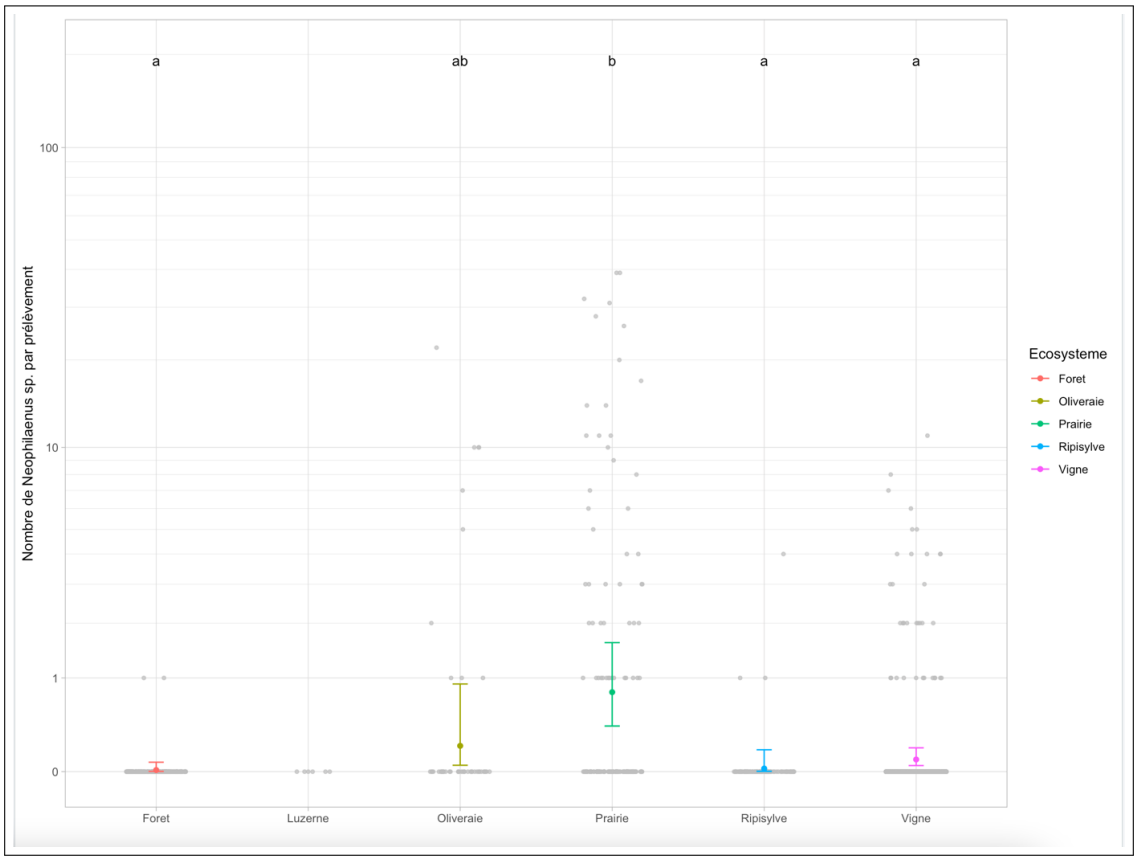


FIGURE 44: Abondance de *Neophilaenus sp.* (stade larvaire) selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM. Les points en gris représentent les données brutes

Les résultats du modèle (tableau en annexe C.6.4 page C18) montrent une abondance de *Neophilaenus sp.* plus importante en PACA qu'en Occitanie et en Nouvelle-Aquitaine. De plus, l'abondance des larves de *Neophilaenus sp.* est plus importante dans les prairies (figure 44).

Cicadella viridis

Cicadella viridis a été observée uniquement en Nouvelle-Aquitaine et en PACA et tout comme *Neophilaenus lineatus* seulement en strates herbacées. Comme expliqué auparavant, cette espèce n'a été observée qu'à l'automne. Ainsi, le modèle a été construit sur un sous-jeu de données regroupant les abondances des insectes en Nouvelle-Aquitaine et en PACA, sur strates herbacées (inter-rangs de parcelles et bordures enherbées) avec deux sessions de terrain (automne 2020 et automne 2021). Or, le modèle ne permet pas de déterminer une différence significative entre les deux habitats ($p > 0,05$ lors du test de l'ANOVA du GLMM), ni entre les deux sessions de terrain ($p > 0,05$ lors du test de l'ANOVA du GLMM). Ainsi, le modèle permettant d'analyser l'abondance de *Cicadella viridis* selon la région et l'écosystème est le suivant :

Cv $\sim$ Region + Ecosystème + (1|IDSite :Habitat)

[sous-jeu de données : seulement les strates herbacées et bordures enherbées de Nouvelle-Aquitaine et de PACA des automnes 2020 et 2021 pour tous les écosystèmes]

Les résultats du modèle (tableau en annexe C.6.5 page C19) montrent une abondance de *Cicadella viridis* plus importante en Nouvelle-Aquitaine qu'en PACA. De plus, son abondance est plus importante dans les strates herbacées de prairies et de ripisylves par rapport aux vignes et aux forêts (figure 45 page suivante).

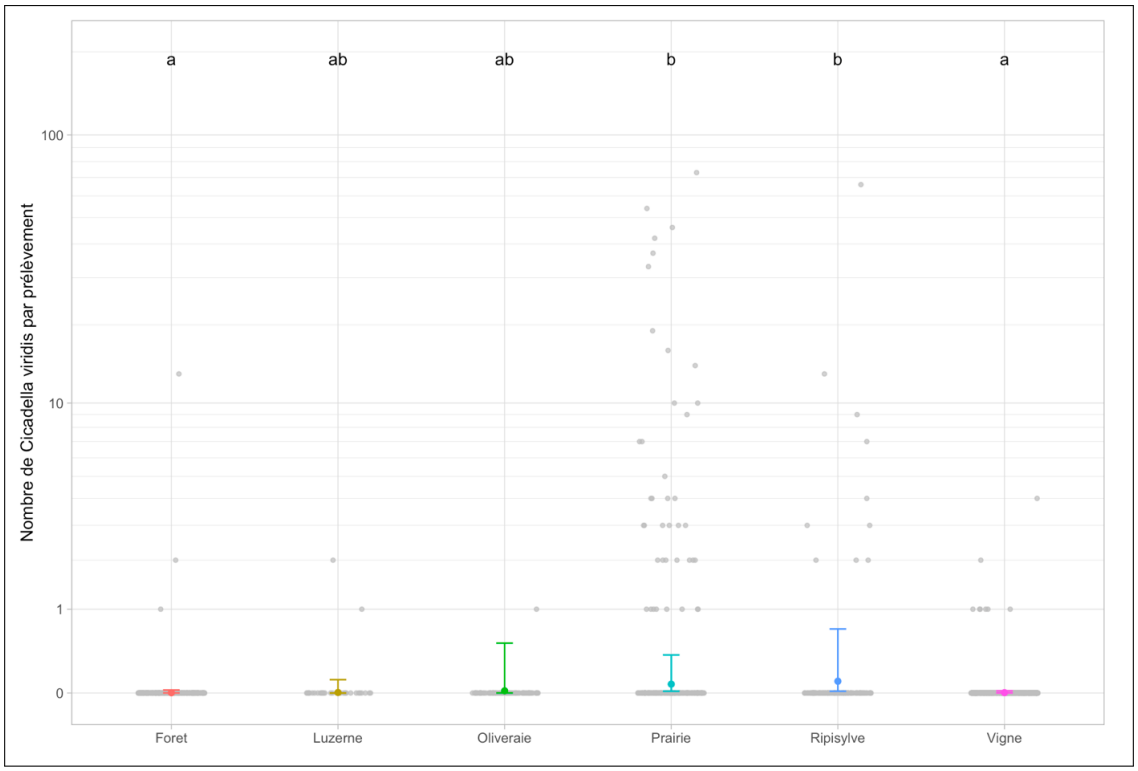


FIGURE 45: Abondance de *Cicadella viridis* selon les écosystèmes d'après les résultats du GLMM. Les points en gris représentent les données brutes

Synthèse pour les quatre espèces

Suite à l'étude des quatre espèces principalement observées lors des campagnes d'échantillonnage de 2020 et 2021, les différents GLMMs permettent de mettre en évidence une abondance plus importante de ces quatre espèces dans les prairies par rapport aux parcelles cultivées et une abondance moindre en forêt. De plus, les spécimens sont plus largement présents en strate herbacée par rapport aux frondaisons (tous écosystèmes confondus).

Néanmoins, quelques différences sont observées : l'abondance de *Cicadella viridis* et *Philaenus spumarius* est plus importante en ripisylves. De plus, *Philaenus spumarius* est abondant en luzernes contrairement à *Neophilaenus sp.*

2.1.3.4 Interactions trophiques

Les analyses de l'ensemble du jeu de données permettent de connaître la distribution des insectes dans les différents habitats et écosystèmes inventoriés. En revanche, les données ne permettent pas de déterminer avec précision les relations trophiques plantes-insectes. Ceci est possible en analysant les données collectées durant la campagne d'échantillonnage de printemps pour laquelle l'association larves – plantes hôtes a été observée et quantifiée. Bien que ces données ne soient pas directement transférables pour connaître les préférences alimentaires des insectes adultes, elles apportent des informations complémentaires concernant les interactions trophiques larves d'insectes - plantes hôtes.

Description du sous-jeu de données du printemps

Dans le cadre de la campagne d'échantillonnage de printemps (2021), 1 681 larves ont été collectées sur 585 plantes, dont 1 553 larves de *Philaenus spumarius* et *Neophilaenus sp*

La majorité des larves a été prélevée en prairies (893) et en vignes (425). La liste des associations entre les plantes et les insectes est disponible en annexe C.7 page C19.

Lors de cette campagne d'échantillonnage, les 585 plantes collectées ont été identifiées morphologiquement avec une identification à l'espèce dans 85% des cas et au genre dans 93% des cas. Seules 4 plantes dont la conservation était insuffisante n'ont pas pu être identifiées. De plus, au moins une larve a été collectée pour chaque plante. Quelques genres de plantes sont communs aux trois régions, mais la majorité ne se retrouve que dans une seule région (figure 46 page suivante). Cependant, en l'absence de relevé floristique exhaustif, il n'est pas possible de déterminer si ces plantes ne sont pas consommées par les larves dans certaines régions ou si elles sont absentes de ces zones.

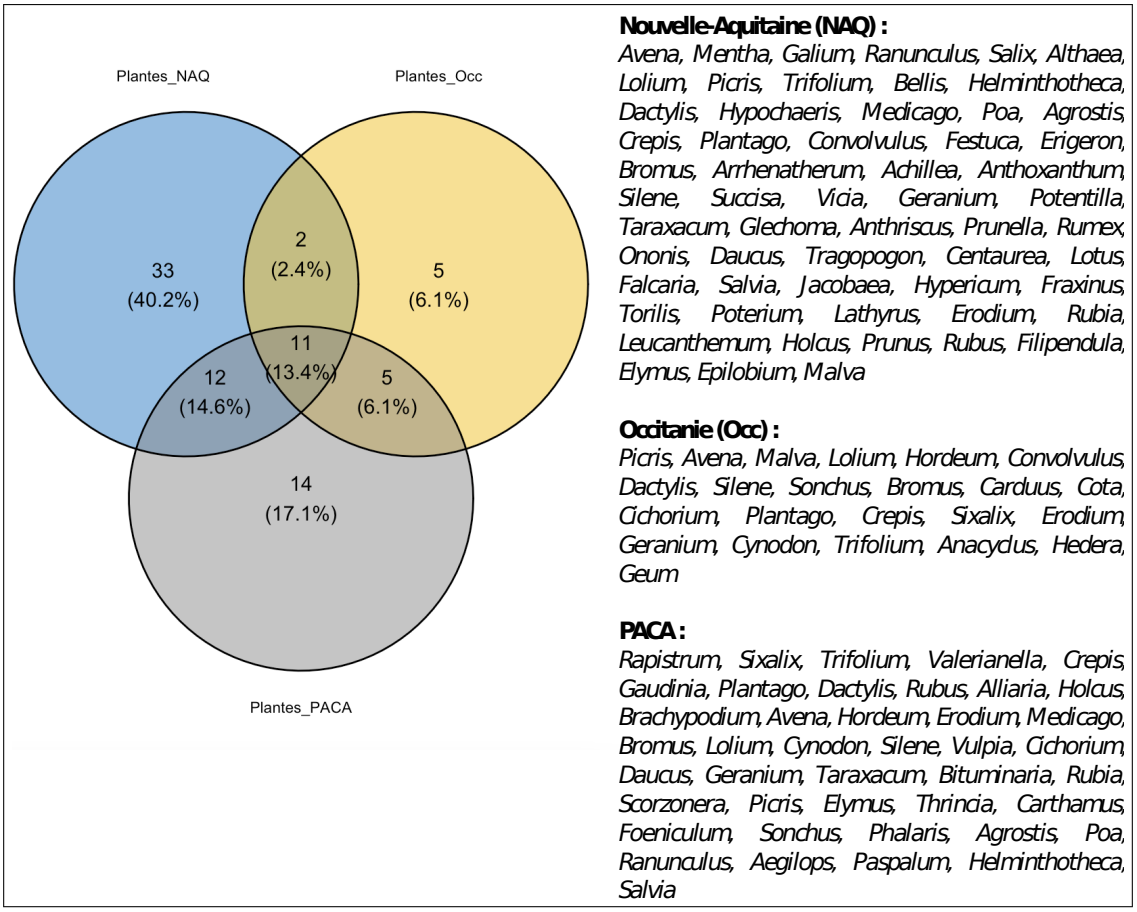


FIGURE 46: Diagramme de VENN réalisé avec la liste des genres de plantes sur lesquelles une ou plusieurs larves ont été collectées lors de la campagne d'échantillonnage du printemps 2021. NAQ : Nouvelle-Aquitaine et Occ : Occitanie

Analyse des réseaux trophiques

Afin de comprendre les interactions trophiques entre les larves et les plantes, des réseaux d'interactions ont été construits. Il est à noter que la majeure partie des métriques calculées pour réaliser des études des réseaux n'est pas possible dans le cadre de ce projet. En effet, ici, des réseaux partiels et peu diversifiés sont étudiés avec moins de dix espèces d'insectes. De plus, chaque réseau est le plus souvent composé d'une à deux espèces d'insectes [Lobry et al., 2008]. Afin de construire des réseaux assez conséquents, les relevés ont été regroupés par habitat herbacé et par région pour deux écosystèmes : la vigne et la prairie. Ces deux écosystèmes permettent la construction de réseaux d'interactions car de nombreuses larves y ont été prélevées : 996 larves pour les prairies et 472 dans les strates herbacées et bandes enherbées de vigne toutes régions confondues. Il est important de noter que les réseaux d'interactions ont été construits grâce aux observations menées

dans respectivement 12, 14 et 25 parcelles de vigne pour l'Occitanie, PACA et la Nouvelle-Aquitaine et 10, 8 et 29 prairies. (annexe C.2 page C2) Ainsi, le nombre d'observations est similaire pour les régions PACA et Occitanie et supérieur pour la région Nouvelle-Aquitaine.

La richesse spécifique des plantes sur lesquelles on observe des larves varie selon les écosystèmes considérés (figure 47).

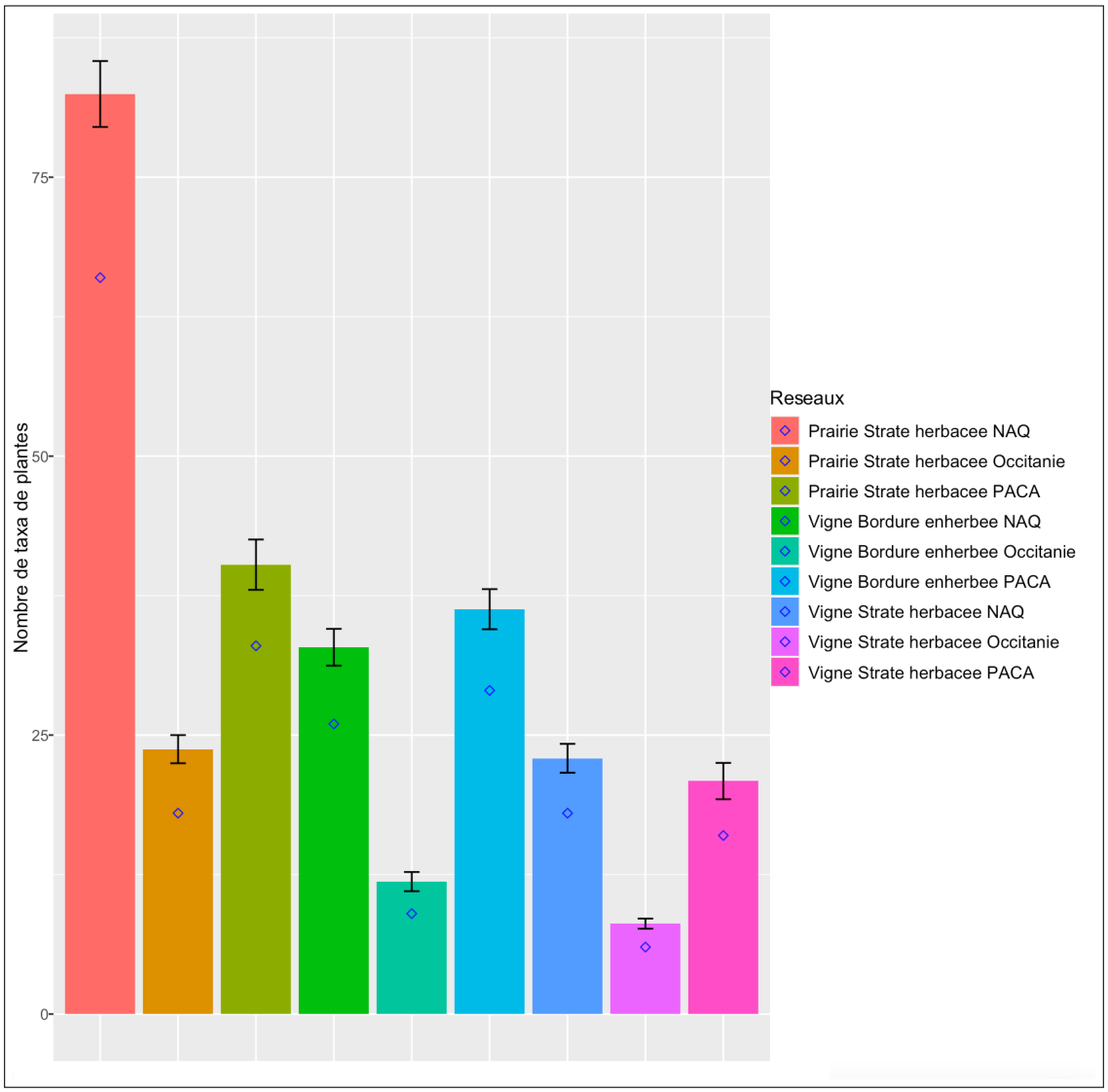


FIGURE 47: Diagramme en barres de la richesse pour les plantes selon les écosystèmes et les régions. Les losanges représentent la valeur calculée de la richesse cumulée et le diagramme en barres représente la valeur estimée de la richesse (la barre d'erreurs correspond à l'erreur standard de la valeur estimée), NAQ : Nouvelle-Aquitaine

La richesse spécifique des insectes est le plus souvent de 2 insectes par écosystème (*Philaenus spumarius et Neophilaenus* sp.) sauf en strates herbacées de prairies en Nouvelle-Aquitaine où *Lepyronia coleoptrata* a été collectée (réseaux en annexe C.8 page C26).

D'après le tableau 10, l'abondance des larves d'insectes vecteurs, toutes espèces confondues, est plus importante dans les prairies et les bordures de vigne que sur les inter-rangs des parcelles viticoles. De plus en Nouvelle-Aquitaine et en PACA, *Philaenus spumarius* est majoritaire en vigne par rapport à *Neophilaenus* et c'est le contraire en prairies (figure des réseaux en annexe C.8 page C26).

	Abondance des insectes vecteurs
NAQ_Prairie_Strate herbacee	657
NAQ_Vigne_Bordure enherbee	100
NAQ_Vigne_Strate herbacee	36
Occitanie_Prairie_Strate herbacee	48
Occitanie_Vigne_Bordure enherbee	14
Occitanie_Vigne_Strate herbacee	8
PACA_Prairie_Strate herbacee	183
PACA_Vigne_Bordure enherbee	158
PACA_Vigne_Strate herbacee	106

TABLE 10: Tableau de l'abondance des larves d'insectes vecteurs pour chaque réseau. NAQ : Nouvelle-Aquitaine

Philaenus spumarius et *Neophilaenus sp.* sont des insectes polyphages et généralistes, cependant, le tableau 11 page ci-contre met en évidence que *Philaenus spumarius* semble plus généraliste en Nouvelle-Aquitaine par rapport à *Neophilaenus sp.* et ce résultat n'est pas aussi marqué en PACA et en Occitanie. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que les réseaux construits dans ces deux régions sont de taille moins importante.

	Neophilaenus sp.	***Philaenus spumarius***
NAQ_Prairie_Strate herbacee	0,979	0,886
NAQ_Vigne_Bordure enherbee	0,960	0,760

	Neophilaenus sp.	***Philaenus spumarius***
NAQ_Vigne_Strate herbacee	0,941	0,706
Occitanie_Prairie_Strate herbacee	0,873	0,888
Occitanie_Vigne_Bordure enherbee	0,625	0,938
Occitanie_Vigne_Strate herbacee	0,800	0,800
PACA_Prairie_Strate herbacee	0,969	0,844
PACA_Vigne_Bordure enherbee	0,957	0,936
PACA_Vigne_Strate herbacee	0,971	0,879

TABLE 11: Calcul du PDI pour *Philaenus spumarius* et *Neophilaenus sp*. Le PDI est compris entre 0 et 1 avec 0 l'insecte est très généraliste et 1 il est très spécialiste

Enfin, pour affiner ces résultats, le NODF (Nestedness metric based on Overlap and Decreasing Fill - emboîtement) a été calculé (tableau 12) et les valeurs de cet indice obtenues pour les trois principaux réseaux d'interactions n'indiquent pas de sous-structuration ou d'emboîtement au sein de ces réseaux.

	NAQ_Prairie_Strate herbacee	**PACA_Prairie_Strate herbacee**	**PACA_Vigne_Bordure enherbee**
NODF	13,533	17,051	6,902

TABLE 12: Calcul du NODF pour les trois principaux réseaux d'interactions. Le NODF est compris entre 0 et 100 avec 0 : absence de structuration à 100 présence d'un ou plusieurs emboîtements dans le réseau

2.1.4 Synthèse des résultats

Les trois campagnes d'échantillonnage ont permis de mettre en évidence la présence de plusieurs espèces d'insectes vecteurs potentiels ou avérés de la bactérie en France, au sein de régions à risque vis-à-vis de l'arrivée de *Xylella fastidiosa*, avec quatre espèces principales : *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus campestris*, *Neophilaenus lineatus* et *Cicadella viridis*.

Contrairement aux observations réalisées en Corse [Chartois et al., 2019], sur le continent *Philaenus spumarius* ne semble pas présenter de forte préférence alimentaire vis-à-vis de *Cistus monspeliensis*. Comme décrit dans la littérature [Weaver and King, 1954, Yurtsever, 2000], *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus campestris* et *Neophileanus lineatus*, semblent largement polyphages dans les régions étudiées, au stade larvaire comme au stade adulte. En effet, ils ont été échantillonnés dans les différents milieux prospectés qu'ils soient semi-naturels ou agricoles. Cependant, il existe des disparités d'abondance et de distribution des espèces.

Philaenus spumarius, *Neophilaenus campestris* et *N. lineatus* sont très peu présents sur les frondaisons, tout écosystème confondu. Cette faible présence pourrait s'expliquer par un sous-échantillonnage de ces milieux. En effet, le battage des branches d'arbres pourrait s'avérer plus efficace que l'utilisation du filet fauchoir mais l'utilisation de deux méthodes distinctes n'aurait pas permis une analyse globale des résultats [Cooper and Whitmore, 1990, Delvare et al., 1997]. Ainsi, l'utilisation du filet fauchoir reste la méthode la plus efficace et appropriée [Bodino et al., 2019, Morente et al., 2018, Weaver and King, 1954]. De plus, une présence importante de ces insectes en strates herbacées au printemps et à l'automne a été plusieurs fois démontrée en Europe [Bodino et al., 2021, Bodino et al., 2019]. Enfin, la finesse des pièces buccales de certains insectes, dont *Neophilaenus sp*., pourrait également expliquer cette faible abondance sur les frondaisons.

Concernant les différents écosystèmes, les résultats sont également similaires à ce qu'indiquent d'autres études [Cornara et al., 2018a, Yurtsever, 2000] : *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus campestris* et *N. lineatus* sont majoritaires dans les prairies. Or, *Xylella fastidiosa* peut coloniser de nombreuses plantes herbacées. Ainsi, les zones prairiales pourraient être des réservoirs de la bactérie. De plus, *Philaenus spumarius* est également retrouvé en parcelles viticoles et il pourrait donc être à l'origine de la transmission de la bactérie aux ceps de vigne. Cependant, très peu d'insectes sont retrouvés dans ces parcelles et ils sont principalement collectés en bordures, rarement en inter-rangs et presque absents sur les ceps. Markheiser et collaborateurs [Markheiser et al., 2020] ont montré une préférence alimentaire de *Philaenus spumarius* pour les vignes par rapport à *Nerium oleander*

lors d'expérimentations avec des tests de choix en conditions contrôlées. En conditions aux champs, une expérimentation avec des captures d'insectes par pièges collants jaunes a mis en évidence des résultats similaires à ceux de notre étude avec une très faible présence des insectes en vignoble [Cappellari et al., 2022]. Cette faible présence des insectes s'explique probablement par une gestion du vignoble (taille, lutte phytosanitaire, labour des inter-rangs, etc.) plus fréquente que pour les prairies. Cette perturbation du milieu impacte négativement les populations d'insectes [Winter et al., 2018] et limite ainsi le risque de transmission de la bactérie au sein des vignes. Par exemple, une étude montre que le labour au printemps détruit les larves et limite ainsi les populations d'insectes adultes [Sanna et al., 2021].

Le nombre d'études menées sur les interactions trophiques entre les insectes vecteurs et les plantes sont peu nombreuses et le plus souvent ce sont les relations écosystèmes – insectes qui sont étudiées [Bodino et al., 2019, Cappellari et al., 2022, Cornara et al., 2018a]. Très rares sont les études qui portent précisément sur les espèces de plantes consommées par l'insecte [Bodino et al., 2021]. En effet, l'observation des interactions plantes – insectes vecteurs est très difficile pour les insectes adultes (qui sont très mobiles). Elle est plus simple pour les larves (moins mobiles et identifiables par les amas spumeux produits pour les Cercopidae) mais leur observation reste néanmoins fastidieuse et chronophage. Dans le cadre de notre étude, les larves de *Philaenus spumarius* ont principalement été retrouvées sur *Asteraceae* et *Fabaceae* et les larves de *Neophilaenus sp.* sur *Poaceae* (annexe C.7 page C19). Ces observations sont comparables à celles menées en Italie dans les vignobles et à proximité [Bodino et al., 2021]. En effet, *Philaenus spumarius* semble privilégier les dicotylédones (ressources alimentaires et sites pour l'oviposition) [Drosopoulos, 2003, Wiegert, 1964a] contrairement à *Neophilaenus sp.* dont la gamme de plantes hôtes regroupe majoritairement des monocotylédones [Booth, 1993, Fielding et al., 1999].

Cependant, ce sont les insectes adultes qui sont au cœur de l'épidémiologie des maladies provoquées par *Xylella fastidiosa*, puisqu'ils ont une capacité de déplacement plus importante que les larves et visitent de nombreuses plantes chaque jour [Gruber and Daugherty, 2013]. Or, la mise en place d'observations pour l'étude des in-

teractions trophiques plantes – insectes adultes est plus complexe, bien que fondamentale pour la mise en œuvre de mesures de gestion et de lutte.

2.2 La biologie moléculaire en complément des observations de terrain : mise au point de la capture de gènes

2.2.1 Biologie moléculaire et capture de gènes : vers une connaissance précise du régime alimentaire des insectes adultes ?

En complément des informations recueillies avec les observations réalisées lors de l'échantillonnage des insectes sur le terrain, il est envisageable de déterminer le régime alimentaire des insectes vecteurs prélevés, à l'aide de méthodes de biologie moléculaire. De nombreuses expérimentations concernant le régime alimentaire des insectes ont été mises en œuvre avec succès sur des insectes herbivores [Avanesyan, 2014, Jurado-Rivera et al., 2009, Matheson et al., 2008]. Il est par contre difficile de détecter le régime alimentaire des insectes qui se nourrissent de sève [Cooper et al., 2016b]. Le xylème des plantes contient majoritairement de l'eau et très peu de cellules végétales contrairement aux tissus végétaux consommés par les insectes herbivores. Cependant, lorsqu'il se nourrit, l'insecte vecteur pique le tissu végétal et certaines cellules végétales peuvent rester accrochées à son rostre [Cornara et al., 2018b]. C'est l'ADN de ces cellules végétales qui est ciblé lors de la mise en évidence des interactions trophiques plantes – insectes. Aujourd'hui, très peu d'études ont été menées sur la mise en évidence de ces interactions [Gonella et al., 2020] et aucune avec la méthode de biologie moléculaire mobilisée dans cette thèse : l'enrichissement par capture de gènes [Mamanova et al., 2010].

La méthode de capture de gènes est utilisée pour de nombreuses applications [Campana, 2018] en génomique avec l'analyse du polymorphisme à nucléotide unique (SNP) [Hugall et al., 2016] et la métagénomique ciblée [Dickson et al., 2021]. Cette méthode est également mobilisée dans le cadre de l'étude d'ADN ancien ou fortement dégradé avec l'analyse du régime alimentaire ou d'ADN issu de collections de musées [Kollias et al., 2015, Mohandesan et al., 2017].

Cette méthode permet de cibler un grand nombre de fragments d'ADN d'intérêt au cours d'une unique expérimentation avec le dessin de plusieurs milliers de sondes [Armbrecht et al., 2021]. De plus, cette méthode est plus sensible qu'une PCR [Dowle et al., 2016, Munyuza et al., 2022]. Enfin, dans le cadre de notre étude, l'utilisation de la capture de gènes permet d'amplifier les gènes d'intérêt et d'éliminer l'ADN non cible et ainsi enrichir largement le milieu en ADN cible tout en limitant des effets négatifs de la présence d'une grande quantité d'ADN non cible. Ici, l'objectif est donc d'amplifier l'ADN de la plante et d'éliminer l'ADN de l'insecte hôte, *Philaenus spumarius*. Bien que cette méthode récente se développe, sa mise en place reste plus coûteuse qu'une PCR en deux étapes [Munyuza et al., 2022].

2.2.2 Choix du gène ciblé et dessin des sondes de capture

Pour l'identification des plantes et contrairement aux insectes [Kress and Erickson, 2012], de nombreux barcodes sont proposés [Chase et al., 2007, Fazekas et al., 2008, Kress et al., 2010, Taberlet et al., 2007]. Les barcodes sont des séquences d'ADN conservées au sein de nombreuses espèces mais variables entre les différentes espèces, ce qui permet de les différencier. Pour une identification des espèces, il est nécessaire que le fragment choisi soit spécifique pour chacune d'elles et également que la banque de données de référence avec laquelle les séquences obtenues seront comparées soit la plus importante possible. Dans le cadre de l'étude de plantes, c'est le gène *rbc*L qui est le plus étudié et donc pour lequel les bases de données sont les plus importantes [CBOL Plant Working Group1 et al., 2009, Newmaster et al., 2006]. De plus, des expérimentations de capture sur ce gène concluantes ont déjà été mises en œuvre [Waycott et al., 2021]. Ainsi, ce gène a été ciblé lors du dessin des sondes de capture qui a été effectué à partir d'une base de données du gène *rbc*L des plantes européennes [Bell et al., 2017], dont *Cistus monspeliensis,* largement consommé par *Philaenus spumarius* en Corse [Chartois et al., 2019, Cruaud et al., 2018]. Ces sondes (4 972 au total) ont une taille de 100 pb avec un recouvrement de 50 pb entre deux sondes consécutives et elles couvrent l'ensemble des 1 400 pb du gène *rbc*L.

2.2.3 Description du protocole

Les protocoles de biologie moléculaire ne seront pas complètement détaillés dans le corps du manuscrit mais ils sont disponibles en annexes B.2 page B17 - protocole d'extraction d'ADN - et D.1 page D1 - protocole de capture de gènes -.

2.2.3.1 L'extraction de l'ADN

Pour la majorité des expérimentations, l'ADN total des insectes a été extrait suivant le protocole d'extraction d'ADN décrit dans la partie II page 85. L'extraction d'ADN avec un kit commercial d'extraction (DNeasy Blood & Tissue Kits, Qiagen®) a été testé dans une expérimentation sur 8 spécimens.

2.2.3.2 La construction de librairies

L'ADN extrait et purifié de chaque échantillon est fragmenté mécaniquement grâce à des ultrasons (utilisation du Bioruptor®) pour que les fragments soient de taille comparable entre 300 et 600 pb et centrée sur 400 pb. Cette fragmentation de l'ADN permet de séquencer des brins d'ADN cible inférieurs à 500 pb, contrainte technique liée au séquençage. Pour chaque échantillon, l'intégralité de l'ADN est préparée au séquençage. Cette construction de librairies (brins d'ADN séquençables) est effectuée à l'aide d'un kit commercial (NEBNext Ultra II Library prep kit for Illumina by NEB®). Cette étape permet l'hybridation d'adaptateurs pour le séquençage et également l'ajout de quelques nucléotides, sorte d'étiquette (ou barcode), qui permettra de différencier les fragments provenant des différents échantillons. Ainsi, la construction des librairies permet par la suite de multiplexer les échantillons avant la réalisation de l'étape de capture.

Lors de cette étape, la quantité d'adaptateurs est clé pour le bon déroulement de la capture de gènes et du séquençage. Lorsque la cible est en très faible quantité, il est recommandé d'augmenter cette quantité d'adaptateurs [Biolabs, 2016]. Or, avec la recherche du régime alimentaire de *Philaenus spumarius*, insecte xylémique, l'ADN de l'hôte est en proportion largement majoritaire par rapport à l'ADN de la plante correspondant à son régime alimentaire [Cooper et al., 2016b].

2.2.3.3 La capture de gènes

Lors de l'étape d'enrichissement par capture, des sondes spécifiques du gène *rbc*L des plantes sont hybridés à l'ADN cible qui est capturé et « nettoyé ». Ainsi, après la phase de capture, le milieu est enrichi en fragments d'ADN d'intérêt, ici le *rbc*L et la proportion de l'ADN de l'hôte (ici *Philaenus spumarius*) est très réduite.

Les paramètres clefs de la capture sont la température et le temps d'hybridation pendant lequel les sondes et les cibles doivent être mises en contact pour permettre la capture d'un maximum d'ADN cible mais sans hybridation aspécifique avec l'ADN non cible [Arbor, 2022]. Pour l'ensemble des expérimentations, le temps d'hybridation a été augmenté par rapport au protocole initial classique avec une hybridation de 65h contre 16h habituellement. Suite à la capture de gènes, les librairies sont contrôlées et dosées afin d'être séquencées.

2.2.3.4 Le séquençage

Le séquençage est réalisé en paire (paired-end) sur un séquenceur Illumina® MiSeq avec des kits Nano (un par expérimentation) qui permettent de générer un million de reads (2 reads de 250 bp sont produits pour chaque fragment séquencé). Les concentrations d'ADN du mélange final contenant l'ensemble des librairies enrichies pour chaque expérimentation étant inférieures à 4nM dans notre cas, la soude utilisée lors de la préparation du séquençage a été neutralisée par de l'acide, selon les recommandations du prestataire en charge du séquençage.

2.2.3.5 L'analyse bio-informatique des résultats du séquençage

L'analyse bio-informatique des résultats du séquençage est similaire à celle mise en œuvre dans la partie 2 et décrite dans l'encadré 9 page 96. La seule différence concerne la séparation des séquences d'ADN de chaque échantillon (démultiplexage) qui n'est pas effectuée par le séquenceur mais suite à la récupération des données et à leur nettoyage grâce à des scripts *bash* et *awk* développés au laboratoire.

Les paramètres de chaque logiciel utilisés pour l'analyse des résultats de chacune des expérimentations menées sont décrits dans tableau 13 page suivante (voir encadré 9 page 96).

Logiciel	Paramètre	Valeur
Trimmomatic	LEADING	20
	TRAILING	20
	SLIDINGWINDOW	20
	MINLEN	200
FLASH	-x (nombre de bases du recouvrement différentes)	0
	-m (min taille recouvrement)	5
	-M (max taille recouvrement)	300

TABLE 13: Paramètres utilisés pour le filtrage qualité des résultats des séquençages issus des expérimentations de capture

Les reads obtenus sont ensuite analysés par BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Le BLAST permet de mettre en évidence des régions de similarité locale entre les séquences. Le programme compare les séquences de nucléotides des reads aux bases de données de séquences et calcule la signification statistique des correspondances [3]. Les reads sont blastés sur deux bases de données. Ils sont blastés sur la base de données de nucléotides de NCBI [Benson et al., 2018, Cooper et al., 2016a]. Cette base de données mondiale regroupe les séquences provenant de plusieurs sources [4], concernant les bactéries, les espèces animales et végétales. Le BLAST sur cette base de données permet une analyse large de la composition des échantillons au-delà de la mise en évidence de l'ADN de plantes. Il permet de comprendre la composition de l'intégralité de l'échantillon séquencé, avec d'éventuelles contaminations. Les reads sont également blastés sur une base de données plus réduite afin d'étudier spécifiquement les reads correspondant à des séquences de plantes. Pour cela, les reads sont comparés à la base de données regroupant l'ensemble des gènes *rbc*L des plantes européennes (adapté de [Bell et al., 2017]) avec près de 20 000 espèces de plantes européennes représentées, appartenant à 187 familles

3. https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi
4. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/

différentes. Enfin, les reads de certains échantillons ont également été blastés sur le génome de *Philaenus spumarius* et un de ses endosymbiontes [5].

Pour chacun de ces BLASTs, une seule séquence de référence, avec la meilleure correspondance possible, est retenue pour chaque read. La longueur de l'alignement entre le read et la séquence de référence est calculée ainsi que la proportion de bases nucléotidiques identiques appelée similarité. Une valeur d'espérance, la valeur-e est attribuée à chaque alignement entre un read et une séquence de référence. Cette valeur correspond au nombre de séquences de référence qui pourraient être obtenues par hasard (notamment dû à l'utilisation d'une très grande base de données) lors de la recherche d'une correspondance avec un read. Plus cette valeur est proche de 0, plus il est improbable que la correspondance de l'alignement entre la séquence de référence et le read soit due au hasard. De plus, plus les alignements sont courts, plus la valeur-e est élevée, car la possibilité d'une correspondance avec une séquence de référence au hasard est plus importante.

L'ensemble de ces analyses ont été réalisée sur le cluster Genotoul [6] et un ordinateur de bureau macOS Monterey (Version 12.5.1) en utilisant un pipeline spécifiquement développé comprenant des scripts *bash*, *awk* et faisant appel au logiciels précédemment cités et à R [R Core Team, 2021]. Les prochaines sous-sections sont consacrées à l'explicitation de ces analyses, semblables à celles mises en œuvre pour les données issues de la PCR en deux étapes (section II.1.2.1.2 page 96), et de l'ensemble des outils mobilisés.

5. Réfs des génomes sur NCBI :
   GCA_002233535.1_ASM223353v1_genomic.fna : *Philaenus spumarius*
   GCA_000829155.1_ASM82915v1_genomic.fna : *Candidatus Sulcia muelleri* PSPU
6. `https://doi.org/10.15454/1.5572369328961167E12`

2.2.3.6 L'analyse des résultats des BLASTs et la création des figures

Les résultats issus des BLASTs ont été analysés avec le logiciel R [R Core Team, 2021]. Ils ont été filtrés afin de conserver une seule portion de la séquence de référence associée à un read aussi appelé hit de BLAST. En effet, un read peut correspondre à plusieurs portions d'une séquence de référence, dans le cadre de portions d'ADN répétées dans le génome. Dans ce cas, le hit de BLAST avec la meilleure similarité et la valeur-e la plus faible est conservée avec l'utilisation de la fonction ddply (package plyr version 1.8.6, [Wickham, 2011]).

L'ensemble des hits de BLAST est ensuite filtré pour ne conserver que ceux qui ont une similarité supérieure à 98% et avec une valeur-e inférieure à 10^{-50}. Ce second critère permet de vérifier la spécificité de la correspondance entre la séquence de référence et le read. Il implique également la suppression des alignements de reads de petite taille, plus susceptibles d'avoir une correspondance avec de nombreuses séquences de référence. Les hits de BLAST ont été comptabilisés afin de mettre en évidence les espèces auxquelles correspondent les reads issus de l'ADN séquencé. Ces analyses de BLAST sur la base de données *rbc*L ont permis de mettre en évidence les plantes consommées ou non par l'insecte et les analyses de BLAST sur NCBI ont permis de mettre en évidence l'ensemble de la composition de l'échantillon, dans le cas où des reads n'auraient pas de correspondance sur la base de données *rbc*L.

L'ensemble des figures a été réalisé avec le package ggplot2 version 3.3.5, [Wickham, 2016]. Dans le cadre du BLAST, sur la base de données *rbc*L, les alignements ont été contrôlés avec le logiciel Geneious Prime®, Version 2020.0.4 [7].

7. https://www.geneious.com

2.2.4 Optimisations de la méthode et résultats

Les expérimentations de mise au point de la méthode d'enrichissement par capture ont été menées sur des insectes entiers (larves et adultes) et sur des dissections de têtes d'insectes. De plus, des insectes ont été élevés sur des plantes hôtes spécifiques. La présentation de ces optimisations sera séquentielle, chaque série d'expérimentations (2 x 2 expérimentations) sera présentée successivement avec une description de l'échantillonnage, les évolutions du protocole et les résultats puis l'évolution de la méthode et l'ensemble des résultats obtenus seront discutés à la fin de cette section. L'ensemble des résultats de séquençage est disponible en annexe D.1 page D1 avec le nombre de reads par séquençage et le nombre de reads analysés par BLAST après nettoyage.

2.2.4.1 La mise en place du protocole de capture : expérimentations XYL01 et XYL02

Objectifs et modifications du protocole

Dans le cadre de ces deux expérimentations, l'objectif était de tester, pour la première fois, la mise en œuvre du protocole de capture de gènes sur *Philaenus spumarius*.

La première expérimentation de « test » (XYL01) a été menée avec deux témoins positifs herbivores (une chenille processionnaire du pin et une punaise) et 28 *Philaenus spumarius* adultes prélevés sur *Cistus monspeliensis* en Corse ou élevés sur plantes hôtes pendant 30 jours (*Pistacia lentiscus* ou *Arbutus unedo* ou *Cistus creticus* ou *Olea europaea* ou *Vitis vinifera* ou *Quercus robur*) (annexe D.3.1 page D14).

Une seconde expérimentation (XYL02) a été mise en place afin d'analyser si la dissection de têtes d'insectes adultes permettait une meilleure mise en évidence de l'ADN de plantes (annexe D.3.2 page D15). En effet, l'objectif de cette mise au point est de mettre en évidence les cellules végétales présentes sur le rostre et potentiellement dans la bouche de l'insecte. Avec la dissection de la tête de l'insecte, avant l'extraction d'ADN, une proportion plus grande d'ADN végétal issu du régime alimentaire de l'insecte devrait donc être extraite par rapport à une extraction d'ADN de l'insecte entier. De plus, des larves ont été ajoutées à cette seconde expérimentation afin de déterminer si la mise en

évidence des plantes consommées était possible et également pour la comparer avec celle des insectes adultes.

Cette seconde expérimentation a également permis d'améliorer l'étape de construction de librairies, avec une augmentation de la quantité d'adaptateurs de 1,5 à 10 µM.

Les résultats du BLAST rbcL

Pour l'expérimentation XYL01, en moyenne, 0,3% des reads ont une correspondance sur la base de données *rbc*L (soit moins de 100 reads par échantillon) et 0,8% en moyenne pour les deux témoins positifs. Les résultats sont similaires pour l'expérimentation XYL02 avec, en moyenne, 0,12% des reads qui ont une correspondance.

Pour l'expérimentation XYL01, où les insectes ont été élevés sur des plantes hôtes spécifiques, le régime alimentaire des insectes est retrouvé seulement chez 3 insectes adultes avec 1 ou 2 reads correspondant au genre *Cistus*, *Arbutus* ou *Vitis* (annexe D.4.1 page D16). Concernant les témoins positifs, les plantes consommées, le pin et la carotte sauvage respectivement pour la chenille processionnaire et la punaise sont retrouvées lors des analyses par BLAST *rbc*L.

Pour l'expérimentation XYL02, l'ensemble des insectes a été prélevé sur *Cistus monspeliensis*, dans leur habitat naturel en Corse, et cette plante est retrouvée chez deux individus sur 6 analysés avec 1 à 55 reads par échantillon (annexe D.4.2 page D17). De plus, la majorité des reads avec un hit de BLAST sur la base de données rbcL correspond à du *Cistus*. Enfin, des séquences de plantes sont retrouvées que la capture de plantes ait été réalisée sur un seul échantillon ou sur un pool de 4 échantillons. Plus généralement, dans le cadre de ces deux expérimentations, un nombre très faible de reads ayant une correspondance avec des séquences de plantes est retrouvé.

Les résultats du BLAST NCBI

Les reads ont été blastés sur la base de données NCBI afin de mettre en évidence la composition des échantillons. Ainsi, dans le cadre de l'expérimentation XYL01, en moyenne 6 % des reads des échantillons d'ADN extrait de *Philaenus spumarius* (analyse sans les témoins positifs) ont une correspondance sur cette base de données et 11,1 % pour l'expérimentation XYL02. Ces reads correspondent majoritairement à des séquences du génome de *Philaenus spumarius* ou de ses endosymbiontes (genre *Sodalis – glossinidius* et *praecaptivus - Candidatus Sulcia muelleri* et *Candidatus Symbiopectobacterium*) (figures 48 et 49 page suivante). La part de reads correspondant à la catégorie « autres » regroupe des reads correspondant potentiellement à des séquences de référence d'espèces végétales (cibles de l'expérimentation), à des microorganismes et des contaminations (organismes modèles étudiés au laboratoire).

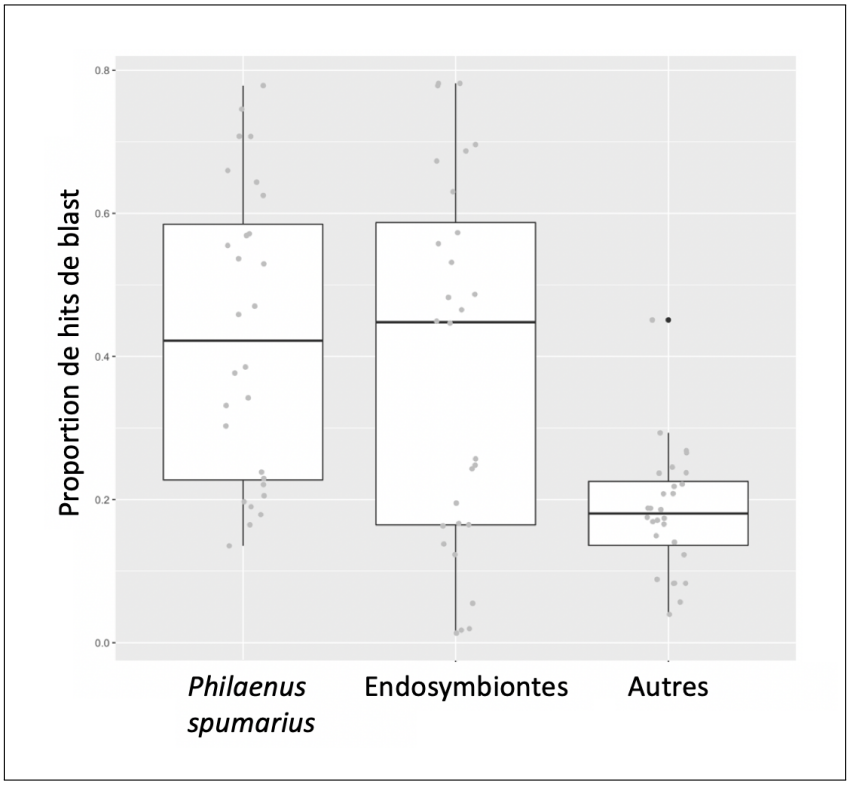


FIGURE 48: Proportion de hit de BLAST correspond à l'ADN de *Philaenus spumarius* et à ses endosymbiontes par échantillon (BLAST NCBI) pour l'expérimentation XYL01. La catégorie « Autres » regroupe de l'ADN de plantes (cible), de bactéries et de modèles du laboratoire (contaminations)

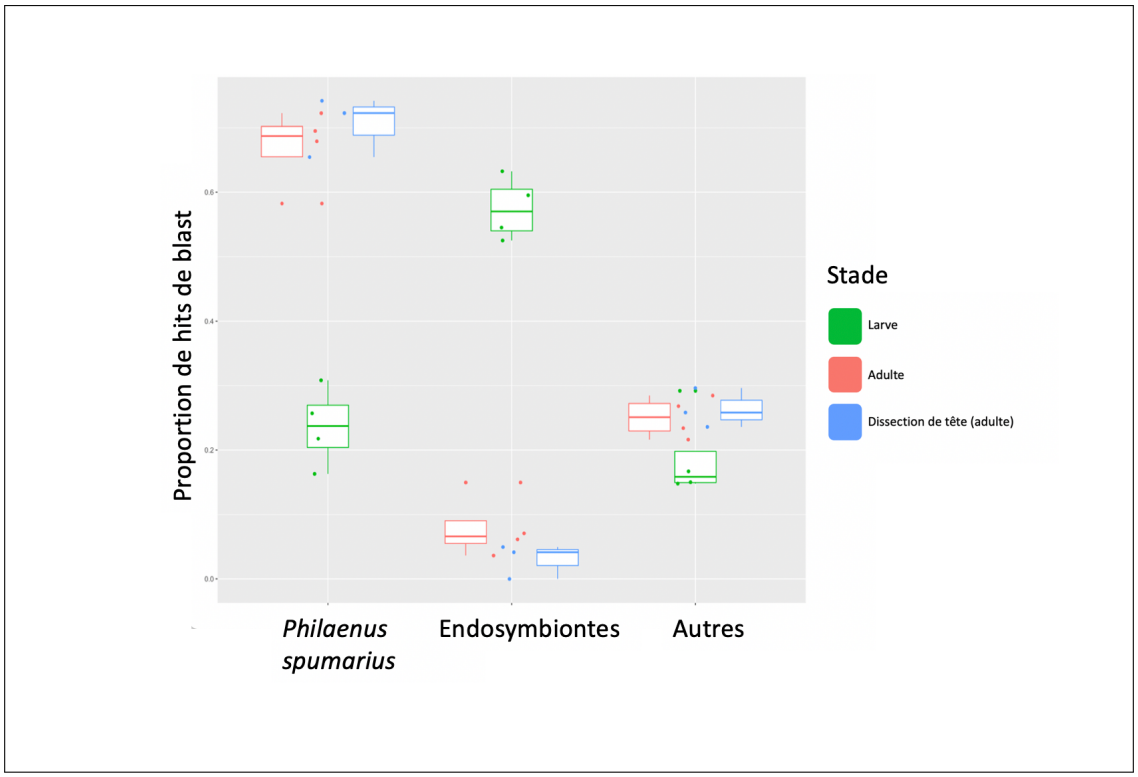


FIGURE 49: Proportion de hit de BLAST correspond à l'ADN de *Philaenus spumarius* et à ses endosymbiontes par échantillon (BLAST NCBI) pour l'expérimentation XYL02. La catégorie « Autres » regroupe de l'ADN de plantes (cible), de bactéries et de modèles du laboratoire (contaminations)

Les échantillons d'ADN issu de larves contiennent en moyenne une plus grande portion d'ADN d'endosymbiontes et une proportion plus faible d'ADN de l'hôte contrairement aux ADNs issus d'adultes (qu'ils soient disséqués ou non). Néanmoins, dans tous les cas, l'ADN de l'hôte et de ses endosymbiontes représente près de 80% des reads ayant un hit de BLAST sur la base de données NCBI.

Les résultats du BLAST sur le génome complet de l'insecte vecteur et ses endosymbiontes

Le BLAST sur NCBI permet de mettre en évidence la composition partielle de chaque échantillon et il a été complété par un BLAST sur le génome de *Philaenus spumarius* et celui d'un de ses endosymbiontes : *Candidatus sulcia mulleri*. Ce dernier BLAST a été réalisé seulement sur les reads qui n'avaient pas de correspondance sur la base de données NCBI. En moyenne, respectivement 73,5% et 67,8% de ces reads ont une correspondance avec le génome de *Philaenus spumarius* pour les expérimentations XYL01 et XYL02. En

revanche, aucune correspondance de ces reads n'est détectée avec le génome de *Candidatus sulcia mulleri.*

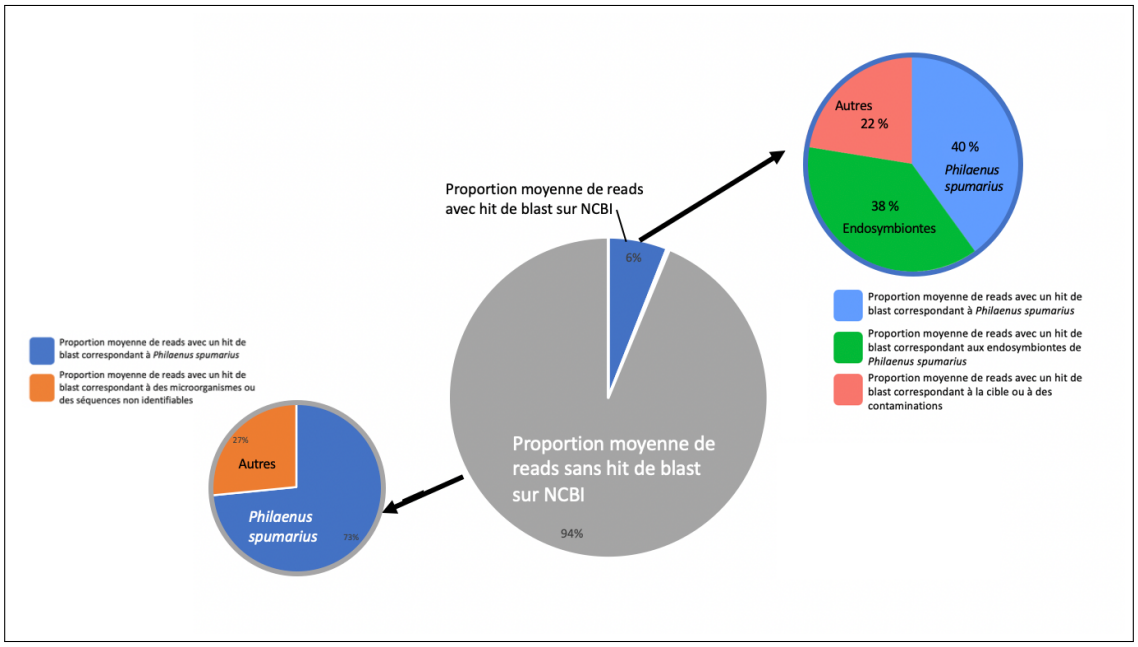


FIGURE 50: Schéma récapitulatif des résultats, avec la composition moyenne d'un échantillon d'ADN de *Philaenus spumarius* suite aux différents BLASTs pour l'expérimentation XYL01 (annexe D.5 page D18 pour l'expérimentation XYL02)

Ainsi, pour ces deux premières expérimentations, les plantes consommées par les insectes sont peu détectées et une proportion importante de l'ADN séquencé correspond à l'ADN de l'hôte et de ses endosymbiontes (figure 50).

2.2.4.2 La mise en place de la capture-recapture : expérimentations XYL03 et XYL04

Objectifs et modifications du protocole

Suite aux résultats des deux premières expérimentations, l'objectif était de diminuer largement la proportion d'ADN de l'hôte avec la mise en œuvre de deux évènements successifs de capture. Ainsi, l'ADN de plantes présent est capturé et amplifié deux fois successivement avant d'être séquencé. Cette modification majeure du protocole a été testée lors de la troisième expérimentation (XYL03), conduite sur des *Philaenus spumarius* au stade larvaire et adulte prélevés sur *Cistus monspeliensis*. Le même protocole a été appliqué à des *Philaenus spumarius* au stade larvaire et adultes élevés sur des plantes

hôtes spécifiques (*Cistus monspeliensis, Vitis vinifera, Quercus ilex, Olea europaea, Arbutus unedo, Avena sativa, Cistus creticus, Pistacia lentiscus, Vicia faba, Quercus robur, Medicago sativa, Taraxacum officinale, Erodium moschatum, Calendula arvensis*). Cette dernière expérimentation (XYL04) a permis de tester la détection de plusieurs espèces végétales lors de la mise en place de la capture-recapture (annexe D.2 page D1).

Les résultats du BLAST NCBI : vérification de l'efficacité de la capture-recapture

Pour les expérimentations XYL03 et XYL04, en moyenne respectivement 90,8% et 79,6% des reads ont une correspondance sur la base de données NCBI et une très faible minorité (moins de 5% en moyenne) des reads ont une correspondance avec des portions du génome de *Philaenus spumarius* ou de ses endosymbiontes (annexe D.7 page D22).

Les résultats du BLAST rbcL

En moyenne, 21% et 12% des reads ont une correspondance sur la base de données *rbc*L respectivement pour les expérimentations XYL03 et XYL04. Dans le cadre de l'expérimentation XYL03, *Cistus monspeliensis* est mis en évidence dans 13 échantillons sur 14 analysés. Pour l'expérimentation XYL04, les résultats sont plus contrastés avec la mise en évidence du régime alimentaire des insectes, selon les plantes d'élevage, dans 11 échantillons sur 45 (annexe D.8 page D23). Des reads correspondant à des plantes du genre *Cistus*, *Quercus*, *Arbutus*, *Taraxacum*, *Erodium* ou *Calendula* ont été mis en évidence. Le nombre de reads est très variable de 3 à 12 794 selon les échantillons considérés (annexe D.8 page D23). De plus, dans un grand nombre d'échantillons d'insectes qui n'ont pas été élevés sur chêne (18/48) des reads correspondant à des plantes du genre *Quercus* ont été mis en évidence.

2.2.5 Synthèse des résultats

La mise en place de deux étapes de capture par rapport à une seule a largement amélioré les résultats avec la mise en évidence de plusieurs milliers de reads de plantes, qui rendent une analyse du séquençage possible. Cependant, la quantité d'ADN de plantes suite aux extractions est très faible voire inexistante si l'insecte ne s'est pas nourri avant d'être collecté, ce qui explique une faible quantité d'ADN avant le séquençage, malgré plusieurs amplifications [McCartney-Melstad et al., 2016].

Pour les insectes prélevés en Corse avec le protocole de capture-recapture, de l'ADN de plantes du genre *Cistus* est largement retrouvé. Ces résultats sont cohérents avec la préférence alimentaire de ces insectes sur l'île [Chartois et al., 2019]. Cependant, l'espèce de la plante ne peut pas être déterminée avec le gène *rbc*L seul qui n'est pas résolutif à 100%. Une identification à l'espèce nécessiterait de dessiner des sondes ciblant d'autres gènes ou exons tels que le *trn*L [García-Robledo et al., 2013, Moorhouse-Gann et al., 2018, Taberlet et al., 2007]. Ce dessin de nouvelles sondes est envisageable, bien qu'il demande du temps, puisque plus de 10 000 sondes peuvent être utilisées et que pour le moment seules 5 000 sondes environ sont mobilisées pour le gène *rbc*L. Cependant, le dessin de nouvelles sondes doit être appuyé par l'existence d'une base de données la plus complète possible concernant le gène ciblé pour les plantes européennes. Or, il est très rare que ces bases de données soient aussi importantes que celle du *rbc*L et par exemple, *Cistus monspeliensis* est régulièrement absent de ces bases de données. Ainsi, en amont du dessin des sondes, la collecte de plantes, leur identification morphologique et la mise en place de barcoding seraient nécessaires pour compléter les bases de données existantes, ce qui est coûteux en temps et financièrement et qui demande des compétences en botanique et en biologie moléculaire.

Concernant les résultats des plantes identifiées pour les insectes élevés, les plantes du genre *Cistus*, *Quercus*, *Arbutus*, *Taraxacum*, *Erodium* ou *Calendula* ont été mises en évidence contrairement aux plantes du genre *Vitis*, *Olea*, *Avena*, *Pistacia*, *Vicia* et *Medicago*. Plusieurs hypothèses peuvent être développées pour expliquer ces résultats. En premier lieu, lors du dessin des sondes, les gènes *rbc*L du genre *Pistacia* et du genre *Avena* n'ont pas été pris en compte car ils étaient absents de la base de données. Cependant, d'autres gènes *rbc*L d'autres genres respectivement de la famille des *Anacardiaceae* et des *Poaceae* étaient dans la base de données et ont donc permis le dessin de sondes pour ces espèces végétales. Une seconde hypothèse relève de l'élevage des insectes. Un fort taux de mortalité a été constaté ce qui implique potentiellement que les insectes ne se sont pas nourris correctement (voire pas du tout) dans ces conditions, sur certaines plantes hôtes. Pour tester si plusieurs espèces de plantes hôtes peuvent être identifiées dans le

régime alimentaire de *Philaenus spumarius* sans condition d'élevage, il faudrait prélever les insectes sur le continent où il semble plus polyphage.

Au-delà des plantes hôtes, d'autres genres de plantes ont été mis en évidence. Ces ADNs relèvent probablement de contaminations liées notamment aux modèles étudiés au laboratoire [Ollivier, 2020]. Ainsi, les analyses de biologie moléculaire ne se substituent pas aux observations de terrain mais pourraient être complémentaires. De plus, la capture-recapture semble plus sensible que l'utilisation de la PCR pour la mise en évidence du régime alimentaire de *Philaenus spumarius* [Gonella et al., 2020]. Enfin, le coût de la mise en place d'expérimentations de capture-recapture reste, pour le moment, un frein à sa mise en place à grande échelle.

3 Les interactions plantes hôtes – bactérie, objet de recherche et intégration dans la réglementation européenne

Encadré 16 : Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation

1. Produire des connaissances sur les insectes vecteurs en zone indemne pour anticiper une éventuelle propagation de la bactérie
2. Étudier la production de connaissances françaises concernant les interactions plantes hôtes – bactérie
3. Prendre en compte l'impact du statut d'organisme de quarantaine de *Xylella fastidiosa* via une étude de la réglementation et de sa médiatisation en lien avec la production de connaissances
4. Appréhender le fonctionnement de l'épidémio-surveillance en France via la Plateforme ESV

Les précédentes sections se sont attachées à la production de connaissances concernant les insectes vecteurs, au cœur de ce projet (voir partie II.2 page 110). Néanmoins, *Xylella fastidiosa* est abritée par des plantes hôtes qui forment son second milieu de vie. Comme nous l'indiquions au début de cette partie, le travail de recherche concernant les interactions plantes hôtes – bactérie ne peut être occulté dans le cadre d'une étude de l'épidémio-surveillance française. Pour cela, cette section propose dans un premier temps de porter un intérêt à la recherche française en bactériologie afin de s'inscrire dans une perspective interdisciplinaire nécessaire pour penser la *preparedness*. Cette analyse complétera la section II.2 page 110 et bien qu'elle soit moins détaillée, elle éclairera notamment les enjeux liés à la détection de la bactérie dans les plantes. En effet, ces enjeux dépassent la recherche puisque la détection de la bactérie dans les plantes est inscrite dans la réglementation. Elle est donc soumise à un processus de déclaration et de gestion de foyers lors de la mise en évidence de *Xylella fastidiosa* avec sa confirmation par un prélèvement et une identification officielle de la bactérie. Ainsi, une analyse de la réglementation et de ses évolutions sera présentée dans la seconde partie de cette section.

L'écriture de cette sous-section est fondée sur la réalisation d'entretiens semi-directifs (annexe E.1 page E1) auprès des principaux acteurs de la recherche en bactériologie concernant *Xylella fastidiosa*, travaillant sur la mise en évidence de la bactérie dans les végétaux et sa pathogénicité. Des chercheurs et ingénieurs travaillant à INRAE et à l'Anses ont été rencontrés. Ces entretiens ont été complétés par une visite de laboratoire (INRAE - IRHS) ainsi qu'une analyse de documents officiels. Bien que très peu d'observations aient été réalisées dans le cadre des expérimentations mises en œuvre sur les plantes, la méthodologie d'observation déployée en amont concernant les expérimentations sur les insectes a été remobilisée et a permis de porter un regard attentif sur les activités de recherche et le processus de fabrication des preuves relevant de la présence de la bactérie dans les végétaux. Ce travail est complété par une étude documentaire avec la lecture et l'analyse des textes réglementaires et de leurs évolutions concernant *Xylella fastidiosa*.

3.1 La recherche française sur *Xylella fastidiosa* et ses plantes hôtes avant sa mise en évidence en Europe en 2013

Les trois prochaines sous-sections proposent une courte restitution de la façon dont l'émergence de *Xylella fastidiosa* est mise en récit dans la littérature, dans la lecture des documents qui tracent l'action publique et dans les entretiens menés. C'est un point de passage obligé pour bien prendre en compte le fait que les émergences ont une profondeur historique car elles « fabriquent » des contextes nouveaux d'action, mais toujours ancrés dans un contexte existant. Cette restitution sera complétée par les travaux d'observations menés à l'IRHS concernant la recherche sur une bactérie de quarantaine et ses végétaux hôtes. Le développement de cette approche socio-historique des STS permettra ainsi de comprendre le contexte de la production des connaissances afin d'identifier par la suite les enjeux liés à la détection de la bactérie dans les plantes et leurs différences avec la détection de *Xylella fastidiosa* dans les insectes, et finalement de donner à la *preparedness* des éléments possibles d'attachement à l'existant voire au passé.

Les premiers travaux sur la bactérie ont débuté à l'Anses en 2002. Néanmoins, ils ont rapidement été mis entre parenthèses à la faveur « d'autres gros dossiers » selon l'ingénieur qui avait amorcé ces travaux. Les agents de l'Anses, qui avaient déjà identifié la bactérie à cette période comme étant un organisme sur lequel travailler, ont remis *Xylella fastidiosa* sur le devant de la scène en 2010 avec un ingénieur dont la principale mission était de travailler sur cette bactérie et notamment de réaliser la mise au point de méthodes de détection et d'identification, la rédaction de méthodes officielles et la validation de celles-ci. Cette date correspond aussi à la mise en avant de la bactérie sur la scène européenne, notamment avec l'organisation de séminaires (workshops) dont celui de Bari en Italie [Barjol et al., 2018]. Des chercheurs américains étaient notamment présents et ont contribué à ce séminaire (dont R. Almeida) et par la suite, aux conférences européennes successives tenus à Majorque (2017) puis à Ajaccio (2019) et en visioconférence durant l'épidémie de Covid-19 (2021).

Ainsi, l'impulsion européenne et l'organisation de ce workshop de Bari ont (re)dynamisé les recherches sur la bactérie en France, d'une part en apportant des connais-

sances sur la bactérie mais également en créant des collaborations entre la France et les États-Unis. Par exemple, les protocoles ont évolué passant de l'analyse de rameaux à l'analyse de pétioles sur les conseils d'un chercheur américain auprès d'agents de l'Anses présents au séminaire. De plus, une contamination non confirmée en 2011 est signalée dans un avis de l'Anses [Manceau et al., 2012] et un travail conjoint est initié fin 2011 entre la DGAl et l'Anses « dans le cadre d'une étude de cas de l'introduction accidentelle de cette bactérie sur le territoire français » [Manceau et al., 2012].

Dès 2012, un plan de caféier importé et contaminé par la bactérie a été détecté en France grâce à la déclaration d'un industriel français qui réalisait des analyses fréquentes sur le matériel végétal importé des pays tiers. Des analyses de confirmation ont été réalisées par le LNR (Laboratoire National de Référence) (Anses Angers) et des recherches (INRAE Angers) ont été mises en œuvre pour approfondir la caractérisation de la bactérie [Jacques et al., 2016]. Le foyer a aussitôt été éradiqué avec la destruction des plants de la serre mais des échantillons ont été conservés pour la recherche. La mise en évidence de ces plants de caféier contaminés a eu plusieurs impacts. Une analyse de risques a été « officiellement » menée contrairement à 2002 et 2010 où le risque *Xylella* était évalué par les agents de l'Anses suite à des questionnements au sein de l'équipe et non de façon officielle.

Suite à l'alerte des caféiers contaminés en 2012 et relayée par l'Anses, le Ministère en charge des Affaires Agricoles et Agroalimentaires a demandé une évaluation du risque simplifiée de *Xylella fastidiosa* via une saisine à l'Anses et conjointement des recherches ont pris de l'ampleur. En effet, des plants contaminés étaient disponibles et il était donc possible de réaliser des premiers tests pour l'isolement des souches par exemple, dans le cadre réglementé de l'expérimentation en confinement.

De plus, dans le cadre d'échanges entre INRAE et l'Anses, notamment sur le site d'Angers avec l'équipe INRAE de Marie-Agnès Jacques, des méthodes de biologie moléculaire ont été développées en collaboration au sein d'un premier projet de recherche sur la bactérie [Jacques et al., 2016]. Des chercheurs INRAE avaient d'ores et déjà développé des méthodes pour obtenir la sous-espèce de la bactérie ainsi que son ST mais ils possédaient également des méthodes de pointe pour replacer les souches bactériennes interceptées au sein de la phylogénie de *Xylella fastidiosa*. Ce travail de collaboration a donc permis d'accroître rapidement (en quelques mois) les connaissances acquises sur la bactérie en

France et d'améliorer les méthodes utilisées grâce à des transferts de connaissances méthodologiques et de description de matériaux biologiques entre INRAE et l'Anses. Ce travail de collaboration a également permis d'enrichir la Collection Française de Bactéries associées aux Plantes (CFBP) qui dépend d'INRAE. Mais c'est avec la déclaration de la découverte de *Xylella* en Italie fin octobre 2013 que *« tout s'est un peu enflammé » Agent INRAE*.

3.2 Les conditions matérielles pour des recherches sur *Xylella fastidiosa*, organisme de quarantaine

Cette sous-section propose une explicitation de la recherche concernant la bactérie et ses plantes et plus particulièrement des études de pathogénicité, selon la méthodologie déployée pour les recherches concernant les insectes (voir partie II.2 page 110) mais de façon plus succincte. En effet, les travaux sur les plantes infectées artificiellement par *Xylella fastidiosa* sont soumis à une réglementation stricte. Le statut d'organisme de quarantaine implique que l'ensemble des expérimentations de pathogénicité se déroule en serre dite de niveau S3.

Le classement des activités expérimentales selon 4 niveaux (1 à 4, où 4 correspond à un confinement maximal dans le cadre de l'étude de maladies humaines incurables par exemple) a été mis en place par la Commission de Génie Génétique (aujourd'hui remplacée par le Haut Conseil des biotechnologies) dans les années 1990. Cette Commission est chargée d'évaluer les dangers et risques potentiels liés à l'utilisation de techniques du génie génétique. La maîtrise de ces risques passe par des mesures de confinement spécifiques avec notamment le classement des activités expérimentales. Ce système de confinement est adopté pour les laboratoires (L1 – L4), les animaleries (A1 – A4) et les serres (S1 – S4) [Zalta, 2000].

Il est intéressant de comprendre ce que signifie ce niveau de confinement du point de vue la conduite des activités expérimentales, car les contraintes sont fortes, autant d'ailleurs pour éviter évidemment des « fuites d'agents pathogènes » que pour ne pas être « pollué » par des apports biologiques externes. Ces contraintes sont explicitées ci-après et basées sur la visite d'une serre S3 (IRHS - Angers).

La serre S3 visitée est imbriquée dans une serre S2. Pour entrer dans la serre S2, il y a un sas, pour éviter l'entrée ou la sortie d'insectes, au sein duquel chaque personne souhaitant entrer doit se désinfecter les mains et passer dans un pédiluve afin de limiter le risque d'introduction de microorganismes. Il faut également s'inscrire sur un registre (mesure de traçabilité en cas de problème) et porter des sur-chaussures ainsi qu'une blouse.

Dans la serre S2, tous les fluides sont récupérés, traités et l'air est recyclé. Il n'y a aucun contact de la serre avec l'extérieur au niveau des ouvrants.

La serre S3 est à l'intérieur de la serre S2, au fond du bâtiment. Pour y entrer, il faut passer deux sas. Le premier permet de se désinfecter les mains, changer de blouse et mettre des sur-bottes (sur les sur-chaussures). Le passage du S2 au S3 est symbolisé au sol par une ligne de marquage afin de ne pas marcher au même endroit avec les sur-chaussures du S2 et les sur-bottes du S3. Il faut par la suite passer dans le second sas qui est dépressurisé et il est ensuite possible d'entrer dans la serre si la première porte du sas a bien été refermée. Pour sécuriser l'entrée dans la serre, les deux portes sont liées et si la première est mal fermée la suivante ne s'ouvre pas.

En serre S3, il n'y a pas de fenêtre et comme le personnel, le matériel végétal entre dans la serre via un sas sécurisé et dépressurisé qui communique avec l'extérieur. Les conditions de culture des végétaux telles que l'éclairage, la température et l'hygrométrie sont contrôlées, et l'arrosage est effectué au moyen d'un système de goutte à goutte. En plus de la récupération des fluides, tout ce qui ressort de la serre S3 est incinéré avant sa sortie (terreau, plantes, etc).

Enfin, le même protocole sanitaire est mis en place mais avec des étapes inversées pour sortir de la serre S3 puis de la serre S2 afin d'éviter la dissémination d'agents pathogènes (changement de blouse, désinfection des mains, passage par le pédiluve, etc).

La description du fonctionnement des serres et de ce qu'impliquent les mesures de confinement selon les organismes étudiés montre la complexité de l'étude des organismes de quarantaine à lutte obligatoire. En effet, des travaux de mise en évidence de la trans-

mission de la bactérie par des insectes vecteurs nécessitent des conditions similaires pour la mise en place des élevages et des tests de vection. Aujourd'hui aucun travail de ce type n'est conduit en France. Ces travaux demanderaient de lourdes infrastructures ainsi que des agréments.

Concernant les laboratoires de biologie moléculaire, la culture de bactéries est contraignante, car l'organisme de quarantaine est vivant et il doit donc être contenu dans un laboratoire confiné. Ainsi, l'accès au laboratoire est limité et un sas d'entrée permet de s'équiper d'une blouse et d'isoler le laboratoire d'analyse du reste du bâtiment. L'étude des plantes potentiellement infectées par la bactérie requiert également des mesures plus strictes que celles des insectes vecteurs. En effet, si un insecte en zone indemne piquait une plante infectée échantillonnée en zone contaminée, la bactérie pourrait être libérée dans l'environnement. Ainsi, le conditionnement des échantillons de plantes est méticuleux pour qu'elles soient strictement hors d'atteinte des insectes et leur analyse est réalisée dans un laboratoire soumis à autorisation. Dans le cadre de l'étude des insectes porteurs de la bactérie, le risque qu'elle soit propagée dans l'environnement est plus limité, notamment par le fait que les insectes sont tués sur place, lors de leur prélèvement en zone contaminée.

Cette courte description des conditions de l'activité expérimentale met en lumière les contraintes d'étude des organismes de quarantaine et de leurs différences selon l'hôte étudié (plante ou insecte). De plus, de même que dans la première partie de cette thèse avec l'étude scientométrique (voir section I.1.3.4 page 41), cette section met en évidence la séparation de l'étude des plantes hôtes à Angers et des insectes vecteurs de la bactérie à Montpellier.

3.3 La découverte de *Xylella fastidiosa* en Italie fin 2013 et l'accélération des recherches françaises

L'officialisation de la découverte de la bactérie en 2013 a largement accéléré les recherches sur la bactérie en France, avec la mise en place de nouveaux projets de recherche et le recrutement d'un post-doctorant qui travaillait à la fois à l'Anses et à INRAE à Angers. Ce recrutement a permis de poursuivre les recherches déjà mises en œuvre

sur la bactérie et les souches présentes dans les plants de caféier, avec le séquençage complet des génomes, c'est à dire la constitution d'une base de connaissances de référence pour anticiper de futures identifications biomoléculaires. L'accélération des recherches a également nécessité l'obtention d'un agrément pour la serre INRAE afin que des recherches de pouvoir pathogène puissent être effectuées en chambre de culture. Cette demande d'agrément passe par les services de l'État et a demandé quelques mois de délai, le temps que la visite d'inspection soit programmée et effectuée. Par la suite, les chercheurs ont pu mettre en place des expérimentations avec l'infection de végétaux par la bactérie afin de tester la sensibilité d'espèces végétales d'intérêt pour l'agriculture française.

Au moment où les expérimentations ont débuté, la bactérie s'est encore « rapprochée des chercheurs français » puisqu'elle a été détectée en Corse, en 2015 [Barbier et al., 2021, Chauvel et al., 2015]. Cette détection de la bactérie a, à nouveau, conduit à une collaboration entre l'Anses et INRAE. Les analyses de détection de la bactérie ont été prises en charge par l'Anses et les analyses de typage de la bactérie par INRAE, établissant la conjugaison des activités scientifiques réglementaires et expérimentales dans un pôle d'expertise dédiée.

> " *A l'époque, l'identification de la sous-espèce n'était pas un sujet méthodologique. [. . .] On a optimisé -à partir de 2016/2017- la méthode pour la MLST pour pouvoir déterminer les sept gènes de ménage.* " Agent Anses

Plusieurs méthodes ont été mises en œuvre pour le typage et leur comparaison a permis d'appréhender la robustesse de chacune et par la suite d'utiliser la méthode la plus efficace pour la détection. Cette période marque aussi, en quelque sorte, la divergence des activités scientifiques d'INRAE et de l'Anses avec des objectifs différents après cette phase d'émergence conduite dans une collaboration tendue par le même objectif. Cette divergence indique bien la différence que des auteurs établissent entre la recherche réglementaire et la recherche académique [Demortain, 2017]. En effet, l'Anses est le LNR et selon la réglementation, une fois la bactérie mise en évidence dans un échantillon, seule la sous-espèce doit être déterminée afin de mettre en place les mesures de gestion associées. La production de connaissances et de méthodes est donc dédiée et maintenue pour établir une capacité normative centrale.

"*Notre rôle c'est d'identifier la sous-espèce.*" Agent Anses

Néanmoins, cette divergence d'objectif ne signifie pas la fin des collaborations, mais elles s'expriment sur un autre registre et dans la continuité des relations de travail établies. Les ADNs déterminés comme positifs à l'Anses ont ainsi pu être analysés à INRAE grâce à une poursuite des collaborations entre les deux instituts notamment via l'encadrement d'une thèse commune. Ainsi, l'institut de recherche avait à sa disposition des centaines d'échantillons positifs, pour la mise au point de méthodes et leur mise en œuvre. Cet objectif a permis de caractériser la bactérie au-delà de la sous-espèce en déterminant son ST voire en séquençant son génome complet.

L'utilisation de méthodes différentes a amené à des résultats différents et quelques échantillons positifs ont pu être déterminés à INRAE jusqu'au ST alors que la sous-espèce n'avait pas pu être mise en évidence auparavant. Néanmoins, une analyse officielle doit être réalisée pour confirmer ou infirmer la présence de la bactérie et suite aux mesures de lutte contre *Xylella fastidiosa*, les végétaux supposés contaminés avaient été détruits lorsque les analyses à INRAE ont été effectuées sur les ADNs positifs. La sous-espèce *pauca* (ST53) a été identifiée par INRAE sur des échantillons où la sous-espèce *multiplex* avait été identifiée en première intention. L'Anses a pu confirmer qu'il s'agissait bien de la sous-espèce *pauca* grâce à la conservation d'échantillons prélevés à Menton. Cette identification a nécessité de revenir sur une identification transmise à l'Europe, avec la déclaration d'une nouvelle sous-espèce sur le territoire français. *« Ce qui a posé une petite difficulté »* Agent INRAE

La remontée de cette information a été accompagnée d'éléments de contexte (seul un végétal ou deux étaient infectés par la sous-espèce *pauca*) afin que la prise de mesures soit raisonnée et que l'ensemble des végétaux spécifiés de la sous-espèce *pauca* du parc ornemental ne soit pas détruit, *« pour que les mesures ne soient pas appliquées bêtement, ce qui a évidemment nécessité du temps »* Agent INRAE.

Seuls les végétaux contaminés ont été détruits et les oliviers patrimoniaux ont été conservés et surveillés de près les années suivantes. Cinq ans plus tard, un olivier était positif et il a donc été arraché. En effet, la mise en évidence de la bactérie dans les oliviers est délicate car de nombreux inhibiteurs de PCR sont présents chez cette espèce. De plus, contrairement à la sous-espèce *pauca*, la sous-espèce *multiplex* provoque très peu de symptômes sur oliviers où elle est présente en très faible quantité et donc en limite de détection malgré la mise en œuvre de méthodes de biologie moléculaire de pointe. Ce travail de prudence vis à vis d'une destruction systématique à l'échelle d'une zone représente également une forme d'anticipation de l'application de la réglementation et de sa possible adaptation locale, stratégie déjà mise en œuvre sur une maladie similaire, la flavescence dorée [Malembic-Maher et al., 2022].

Ainsi, contrairement aux recherches concernant les insectes vecteurs (partie II page 85) où aucune collaboration d'ampleur n'a alors été établie entre INRAE et l'Anses, dans le cadre des recherches sur la bactérie et ses plantes hôtes, des collaborations fortes ont été mises en œuvre dès la détection de la bactérie en Corse. Ces collaborations ont permis un transfert de méthodes d'INRAE vers l'Anses mais également la mise à disposition d'échantillons par l'Anses pour la mise en place de recherches à INRAE. Cependant, la divergence des objectifs et des contraintes des scientifiques des deux instituts, surmontée d'une pression médiatique et politique forte a entraîné des difficultés dans les relations entre les chercheurs et les laboratoires notamment lors de la mise en évidence d'un désaccord concernant la sous-espèce d'un échantillon positif. En effet, l'Anses étant LNR est contraint d'utiliser les protocoles indiqués par la CE (Commission Européenne) pour atteindre les objectifs fixés par la législation : détermination de la contamination d'un végétal par la bactérie et caractérisation de la sous-espèce. En revanche, les scientifiques INRAE, qui font de la recherche académique, mettent en place des protocoles et les modifient en temps réel pour améliorer les procédures et leurs résultats. Ils recherchent souvent à obtenir plus d'informations par rapport à celles nécessaires à la mise en place de la réglementation (détermination de la sous-espèce) avec le séquençage de génomes complets afin de dater l'arrivée de la bactérie en France par exemple. La coordination des objectifs n'est donc pas toujours facile au moment où la décision publique repose sur l'établissement de la vérité qui peut évoluer, au moins dans son niveau de précision. C'est ici le reflet de ce que nous avons appelé plus haut la divergence des objectifs.

De plus, au-delà des différences matérielles de l'analyse des plantes ou des insectes, les résultats de ces analyses ont également des conséquences différentes. Dans le cadre des plantes, une analyse positive implique la mise en place d'un processus de vérification par le LNR (Anses Angers) et le déploiement de la réglementation avec l'arrachage de végétaux si la présence de la bactérie est confirmée. En revanche, la mise en évidence d'insectes vecteurs positifs à la bactérie implique « seulement » un signalement à la DGAl sans conséquence réglementaire forte (pour le moment). Pour approfondir ce point qui tient à l'établissement du système normatif qui préside à l'action publique, la prochaine sous-section propose une analyse de la réglementation et donc de la place de la bactérie, de ses végétaux hôtes et des insectes vecteurs dans cette dernière. Moins que de décrire ce système dans ses liens à une production réglementaire plus générale sur la lutte obligatoire, il s'agira surtout de revenir sur les conséquences que la mise en œuvre de la réglementation peut avoir sur les recherches menées. Ce retour du réglementaire sur la production scientifique est en effet peu souvent étudiée par rapport aux nombreux travaux qui existent sur la production scientifique à finalité politique.

3.4 Travailler sur la détection de la bactérie *Xylella fastidiosa*, organisme de quarantaine à lutte obligatoire, quel(s) impact(s) sur les recherches menées ?

Encadré 17 : Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation

1. Produire des connaissances sur les insectes vecteurs en zone indemne pour anticiper une éventuelle propagation de la bactérie
2. Étudier la production de connaissances françaises concernant les interactions plantes hôtes – bactérie
3. Prendre en compte l'impact du statut d'organisme de quarantaine de *Xylella fastidiosa* via une étude de la réglementation et de sa médiatisation en lien avec la production de connaissances
4. Appréhender le fonctionnement de l'épidémio-surveillance en France via la Plateforme ESV

Cette section pose la question de l'interdépendance plus ou moins forte entre les instituts de recherche et la réglementation dans le cadre de l'étude d'un organisme de quarantaine prioritaire tel que *Xylella fastidiosa.* Pour y répondre, une analyse chronologique des évolutions de la réglementation s'impose et elle est complétée par les entretiens semi-directifs menés auprès des acteurs de la recherche (Anses et INRAE)

3.4.1 Un point sur les obligations vis-à-vis de *Xylella fastidiosa* selon la législation française et européenne

Xylella fastidiosa fait l'objet de considérations dans la réglementation française pour la première fois en 1989 dans un arrêté de portée générale « relatif à l'importation de matériel de multiplication de la vigne originaire ou en provenance des pays membres de la Communauté Economique Européenne » soit deux ans après la description de la bactérie aux USA [Wells et al., 1987]. Dans cet arrêté, seul le matériel végétal de multiplication

de la vigne est concerné par une réglementation qui inclut une demande d'autorisation technique d'importation nécessitant de justifier que "le lieu de production fait l'objet de dispositions particulières de lutte contre divers organismes nuisibles (insectes, acariens, nématodes, cryptogames, bactéries dont *Xylella fastidiosa*, agent de la maladie de Pierce)."

L'année suivante, en 1990, un arrêté relatif au contrôle sanitaire, vise plus largement l'ensemble « *des végétaux et produits végétaux* », avec une définition vaste des végétaux qui comprend « *les plantes vivantes et les parties vivantes de plantes, y compris les semences* » (dont les fruits et légumes ayant fait l'objet d'aucun traitement, les tubercules, branches avec feuillage ou encore les boutures et greffons). Cette réglementation vise à interdire l'introduction d'organismes nuisibles sur le territoire français dont les bactéries suivantes :

> " *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus (Spieckermann et Kotthoff),*
> *Davis et al., 1984 (=Corynebacterium sepedonicum).*
> *Erwinia amylovora (Burrill), Winslow et al., 1920.*
> *Xanthomonas citri (Hasse), Dowson.*
> *Xanthomonas populi subsp.*
> *populi (Ridé), Ridé et Ridé, 1978.*
> *Xylella fastidiosa [Wells et al., 1987].* "

Ainsi, très rapidement après sa description aux États-Unis, la bactérie *Xylella fastidiosa* a fait l'objet d'une vigilance particulière en France au sein des textes réglementaires. Cette vigilance a été élargie dès la mise en place de la législation de l'Union Européenne avec la Directive 2000/29/CE du Conseil du 8 mai 2000 concernant les mesures de protection contre l'introduction dans la Communauté d'organismes nuisibles aux végétaux ou aux produits végétaux et contre leur propagation à l'intérieur de la Communauté publiée en juillet 2000. Cette Directive indique, en annexe, les organismes nuisibles dont l'introduction et la dissémination doivent être interdites dans tous les États Membres et dans la sous-section bactérie, seule *Xylella fastidiosa* est mentionnée. La bactérie est également mentionnée dans la sous-section des insectes puisque ceux connus en tant que vecteurs de la maladie de Pierce sont aussi concernés par cette interdiction. Ainsi, l'arrêté français de 2002 « relatif aux exigences sanitaires des végétaux, produits végétaux et autres objets » établit une « liste des organismes nuisibles dont l'introduction et la dissémination doivent être interdites dans tous les États Membres ».

Dans cet arrêté, *Xylella fastidiosa* est concernée parmi 15 autres bactéries et ses insectes vecteurs font leur apparition dans le texte français suite à leur indication dans le texte européen. Cependant, seuls les insectes vecteurs américains (absents du continent européen) sont concernés par cet arrêté. Ainsi, *Philaenus spumarius*, pourtant identifié comme un vecteur de la bactérie dès 1950 par des chercheurs américains [Severin, 1949b, Severin, 1950], n'est pas formellement explicité dans la réglementation. L'absence de cette espèce implique que sa gestion n'est pas réglementée. Cette absence de réglementation pourrait expliquer que les recherches en entomologie soient plus récentes (car mises en œuvre à la découverte de la bactérie et donc « du problème ») que celles en bactériologie, nécessaires dès la mise en place de la réglementation pour permettre les contrôles aux frontières des végétaux entrant sur le territoire européen avec la détection de *Xylella fastidiosa*.

La détection de la bactérie dans les Pouilles en Italie et son officialisation auprès des autres États Membres le 21/10/2013 va mener à la parution de nombreux textes réglementaires dès février 2014, venant compléter le précédent au fil des découvertes sur la maladie et ses insectes vecteurs.

> "*Il convient de réexaminer les mesures d'ici au 30 avril 2014 au plus tard afin de tenir compte des informations scientifiques et techniques plus précises qui seront disponibles, ainsi que des résultats des inspections et des tests en cours menés par les autorités italiennes.*" Décision d'exécution (2014/87/UE) de la Commission du 13 février 2014 concernant des mesures visant à empêcher la propagation dans l'Union de *Xylella fastidiosa* (Well et Raju)

Cette décision marque également le début d'une réglementation importante vis-à-vis des États Membres tant dans la surveillance face à cet organisme de quarantaine que dans les mesures de lutte en premier lieu drastique (interdiction de circulation des végétaux hors de la zone contaminée) le temps d'en apprendre plus sur *Xylella fastidiosa* et pour éviter tout risque de propagation de la bactérie qui possède un large spectre de plantes hôtes.

De plus, la décision parue en juillet 2014 stipule précisément qu'elle est basée sur les recherches préliminaires menées en Italie par les scientifiques [Colella et al., 2019a, Panziera, 2016]. C'est également la première décision qui vise la mise en place d'une zone délimitée comprenant une zone infectée et une zone tampon d'une largeur d'au moins 2 km (avec des dérogations possibles pour une zone tampon d'1 km de large). Cette zone tampon est aujourd'hui élargie à 2.5 km au moins autour de la zone infectée si une stratégie d'éradication est mise en œuvre et de 5 km lorsque c'est une stratégie d'enrayement de la propagation de la bactérie qui a été décidée.

3.4.2 Une recherche entre le poids de la législation et le poids de la médiatisation de la bactérie

Les entretiens des chercheurs indiquent que la communauté scientifique sait travailler sur un organisme de quarantaine à lutte obligatoire au laboratoire. Comme cela a été montré, ils l'ont déjà fait et ils savent faire, d'autant plus qu'aujourd'hui de nombreuses bonnes pratiques de laboratoire telles que la traçabilité des échantillons, leur enregistrement ou encore la tenue d'un cahier de laboratoire sont mises en place de façon automatique et courante.

Néanmoins, la législation autour des organismes de quarantaine à lutte obligatoire - et notamment la destruction de végétaux contaminés - peut être un frein pour certaines recherches. En effet, dès la confirmation d'un végétal positif à la bactérie par le LNR, celui-ci est détruit, conformément à la législation européenne en vigueur. Les échantillons collectés et positifs sont conservés (rameaux/feuilles et ADN extrait). Ces échantillons permettent aux chercheurs de mener alors des expérimentations plusieurs mois/années après le prélèvement de l'échantillon pour obtenir plus d'informations sur la souche de la bactérie par exemple. Or, si de nouvelles informations sur la bactérie sont découvertes à l'issue de ces recherches, elles ne peuvent pas être confirmées par un nouveau prélèvement sur le végétal qui a déjà été détruit. Ainsi, quelques souches ont été détectées mais les résultats n'ont pas pu être confirmés ou infirmées.

De plus, le fait de travailler sur un organisme de quarantaine est assez contraignant en serre. En effet, dans les serres de type S3, les conditions de culture des végétaux sont

largement artificialisées : contrôle de la lumière, de la température et de l'hygrométrie. Ces conditions rendent difficile le maintien des plantes en serre sur de longues durées avec des conditions physiologiques favorables et ne permettent donc pas des expérimentations à long terme.

> "*Vouloir maintenir en S3 un olivier pendant 18 mois, ça se fait, mais c'est un peu contre nature quand même. Il n'y a plus de saison hivernale, la physiologie de la plante change assez radicalement.*" Agent INRAE

De plus, les conditions en serre étant artificielles, elles influent sur les résultats des expérimentations. Ainsi, les expérimentations visant à infecter des plantes avec la bactérie pour comprendre leur sensibilité mettent en évidence des symptômes souvent surexprimés par rapport à la réalité, si la plante est sensible, puisque les conditions sont très favorables au développement de la bactérie (absence de températures froides qui diminuent les populations de bactérie dans les plantes par exemple). Bien que ces résultats soient entourés d'un maximum de précautions, ils peuvent involontairement faire peur comme le souligne un grand nombre de chercheurs.

En effet, selon les chercheurs, ce qui diffère vraiment entre *Xylella fastidiosa* et les précédents organismes de quarantaine sur lesquels ils ont travaillé, c'est la médiatisation autour de la bactérie. Elle a très rapidement été surnommée « la bactérie tueuse d'oliviers » dans les médias, en lien avec la destruction massive des oliveraies des Pouilles [8]. Ainsi, dès sa détection en Corse en 2015, l'inquiétude sur l'île de Beauté a été immédiate chez les

8. Cette qualification apparaît dans la presse généraliste et sur internet en 2015, puis est réutilisée à de nombreuses reprises, voir par exemple dans Les Echos du 18 juin 2015 « 'Peste de l'olivier' : l'Italie tremble pour son or vert » (https://www.lesechos.fr/2015/06/peste-de-lolivier-litalie-tremble-pour-son-or-vert-1107265)., Futura Sciences le 29 Juillet 2015 : « *Xylella fastidiosa*, la 'tueuse d'oliver' est en Corse-du-Sud » (https://www.futura-sciences.com/planete/actualites/vegetation-xylella-fastidiosa-tueuse-olivier-corse-sud-59166/), voir même nommée « Ebola vert » en Espagne (in https://www.corsenetinfos.corsica/Xylella-fastidiosa-La-colere-des-agriculteurs-apres-l-entree-de-plants-illegaux-en-Corse-et-les-menees-des-pepinieristes_a26385.html).

producteurs et les médias ont largement relayé l'information de la détection de la bactérie et des dégâts causés en Italie. Cette médiatisation de la bactérie est liée à son aspect politique et aux mesures de gestion qui y sont associées et dont l'application en matière d'importation de plants en Corse a fait l'objet de contestations vives par les oléiculteurs. Ce contexte crée ainsi une situation forte de tension autour de la détection de la bactérie.

> "*Je ne sais pas si tu as vu tous les journaux qui sont sortis à l'été 2015 ? C'était de la folie, je n'avais jamais vu ça avant. C'est peut-être la grosse différence, avant Xylella je n'avais pas travaillé sur des pathogènes récemment détectés en Europe et du coup ça s'emballe pas comme ça. Et puis il y a dix ou vingt ans sans les réseaux sociaux ce n'était pas comme ça et maintenant tout va très vite il faut pouvoir maîtriser l'information et c'est compliqué.*" Agent INRAE
>
> "*L'aspect médiatique a été compliqué à gérer, à un moment, parce qu'effectivement il y a des enjeux politiques qui dépassent les enjeux scientifiques.*" Agent INRAE

En effet, les mesures de gestion impliquent l'arrachage du végétal malade dès qu'il est détecté contaminé mais également celui des végétaux sensibles autour du végétal malade. Pour qu'une détection soit officielle et entraîne la mise en place de mesures de gestion, elle doit être signalée par un organisme de recherche en cas d'analyse positive ou par quiconque observant des symptômes semblables à ceux de la bactérie et confirmée par le LNR. L'arrachage peut concerner des zones semi-naturelles et des zones cultivées (parcelles cultivées exploitées, pépinières, etc.). Ainsi, le Laboratoire National de Référence avait instauré un seuil critique au-delà duquel un échantillon était considéré "douteux" lors de son analyse avec la méthode de biologie moléculaire de référence la plus sensible et il ne pouvait pas être confirmé ou infirmé par une seconde méthode.

> "*Cette zone indéterminée en PCR Harper située avec des valeurs de Ct comprises de 35 à 38 voulait dire au gestionnaire : « attention on a vu quelque chose détecté un signal dans l'échantillon mais c'est en limite de détection et on ne peut pas déterminer le ST et la sous-espèce ; mais vraisemblablement le végétal est faiblement contaminé. »*" Agent de l'Anses

L'analyse des textes réglementaires associée aux entretiens semi-directifs présentée ci-dessus permettent de mettre en évidence plusieurs points importants dans les liens entre la réglementation et la recherche concernant l'étude des relations plantes hôtes - bactérie.

En premier lieu, les scientifiques avaient conscience de l'impact de l'annonce d'un végétal positif sur un territoire et ils prenaient donc un ensemble de précautions pour éviter des arrachages massifs de végétaux sans confirmation de la positivité de l'un d'entre eux. Ils sont en quelque sorte partie prenante de la politique mise en place, bien qu'elle contraigne leurs travaux. Mais le seuil méthodologique mis en place dans le cadre de la détection officielle de la bactérie posait un problème au gestionnaire et il a suscité de nombreux débats. Il est d'ailleurs aujourd'hui supprimé. En effet, il est compréhensible d'un point de vue expérimental de fixer des seuils liés aux limites de détection de la méthode mise en œuvre et ainsi avoir un petit nombre d'échantillons « douteux », dont les résultats seraient ambigus. Cependant, cette catégorisation des résultats avec des échantillons « douteux » ne permet pas au gestionnaire d'appliquer strictement la réglementation, ce qui posait un problème.

De plus, *Xylella fastidiosa*, est souvent présente en très faible quantité et repousse encore les protocoles de biologie moléculaire aux limites de détection pour lesquels ils sont conçus. Les populations de la bactérie sont également variables d'une année à l'autre au sein d'un même végétal, elles peuvent être d'autant plus réduites suite à un hiver froid par exemple (voir la section I.2.6.2.1 page 77 et [Feil and Purcell, 2001]). Ainsi, un végétal détecté positif ou en limite de détection à l'année N pourrait être négatif l'année suivante suite aux facteurs abiotiques. Cette réalité biologique complique à la fois les mesures de gestion mais également la compréhension du système vis-à-vis du grand public et des médias.

Enfin, la réglementation européenne fait peser un poids considérable sur le gestionnaire mais aussi sur le LNR. En effet, de nombreux contrôles sont réalisés à la fois par l'État français mais aussi par la Commission Européenne pour vérifier le respect de la législation. Ainsi, l'échantillon qui avait été confirmé comme étant positif pour la sous-

espèce *multiplex* en première intention et déclaré comme tel au niveau de l'UE (Union Européenne) a été ré-analysé et finalement déclaré contaminé par la sous-espèce *pauca*. Cette sous-espèce a été mise en évidence au cours de recherches à INRAE et les travaux ont été publiés dans une revue à comité de lecture. Cette détection de la sous-espèce *pauca* a nécessité de modifier la déclaration faite précédemment à la CE. Elle a aussi renforcé la vigilance du Ministère en charge des Affaires Agricoles et Agroalimentaires qui relie les publications scientifiques avant leur parution et une vigilance est aussi de mise au sein d'INRAE avec une communication sur le sujet qui est contrôlée. De plus, fait nouveau concernant un organisme de quarantaine pour un chercheur rencontré, il doit déclarer tout échantillon positif très rapidement et directement à la DGAl. La sensibilité de ce sujet et la déclaration directe et obligatoire à la DGAl ont largement dégradé les relations entre les laboratoires et/ou celles des personnes qui collaboraient ensemble, avec parfois un climat *« de suspicion tenace »*.

Ainsi, la mise en visibilité de *Xylella fastidiosa* dans les médias, dès sa découverte en Corse a modifié les rapports entre les différentes institutions autour de cette bactérie de quarantaine. En effet, les médias posent de nombreuses questions autour de « la bactérie tueuse d'oliviers », sa détection et la mise en place de la législation qui régit sa gestion. Ainsi, cette médiatisation appuie une « responsabilité » des scientifiques à mettre en œuvre des méthodes efficientes qui déterminent la présence de la bactérie mais qui impactent les milieux avec l'arrachage de végétaux par les services de l'État. Elle met donc en place un rapport plus étroit entre la recherche et l'action publique qui va se renforcer au sein d'un groupe de travail animé par la DGAl puis « transféré » au sein d'une instance nouvelle : la Plateforme d'Épidémio-surveillance en Santé du Végétal (ESV).

4 L'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France

Encadré 18 : Objectifs de la partie 3 : appréhender le système d'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa* en France pour comprendre si et comment nous sommes préparés face à son émergence et sa propagation

1. Produire des connaissances sur les insectes vecteurs en zone indemne pour anticiper une éventuelle propagation de la bactérie
2. Étudier la production de connaissances françaises concernant les interactions plantes hôtes – bactérie
3. Prendre en compte l'impact du statut d'organisme de quarantaine de *Xylella fastidiosa* via une étude de la réglementation et de sa médiatisation en lien avec la production de connaissances
4. Appréhender le fonctionnement de l'épidémio-surveillance en France via la plateforme ESV

Jusqu'ici, différents acteurs sociaux impliqués dans l'épidémio-surveillance de la bactérie ont été évoqués, avec une analyse du milieu académique concernant les recherches sur *Philaenus spumarius* dans la partie II.2 page 110. Le début de la partie III page 157 met en regard la recherche académique concernant la bactérie et ses plantes hôtes avec la réglementation et les méthodes de références appliquées dans le cadre de la détection officielle de la bactérie. Cette partie montre également comment la médiatisation de *Xylella fastidiosa* a contraint et modifié les interactions entre la recherche et le gestionnaire du risque.

De plus, l'implication des professionnels a également été présentée avec le financement du projet Hennessy, qui vise à anticiper l'arrivée de *Xylella fastidiosa* en zone indemne. Cependant, la mise en place de l'épidémio-surveillance nécessite une mise en relation de l'ensemble de ces différents acteurs et des échanges quant aux résultats des recherches menées, aux évolutions de la situation épidémiologique ou encore aux évolutions réglementaires.

En France, cette mise en relation des acteurs de l'épidémio-surveillance est structurée au sein de la Plateforme ESV, dispositif national établie en 2018 dans le cadre d'une réforme du sanitaire avec notamment l'apparition des CNOPSAVs (Conseil National d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétales) et des CROPSAVs (Conseil Régional d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétales) [Guériaux, 2012]. Cette dernière section sera donc consacrée à l'étude de cette plateforme ainsi qu'à celle du groupe de travail *Xylella fastidiosa*. Pour comprendre cette plateforme et le contexte dans lequel elle s'inscrit, le début de cette sous-section s'attachera à présenter la façon dont les acteurs privés abordent la menace de façon à restituer autrement que par la pression médiatique les attentes des acteurs concernés.

4.1 Les acteurs privés face au traitement de la menace

La classification de *Xylella fastidiosa* parmi les organismes de quarantaine prioritaires à lutte obligatoire de l'Union Européenne montre que la bactérie est considérée comme une menace pour l'agriculture européenne. De plus, elle pourrait être à l'origine d'une potentielle crise sanitaire pour certains professionnels sur le terrain, la crise des Pouilles en étant le sombre précurseur. Les mesures obligatoires de lutte impliquent la destruction des végétaux hôtes et si *Xylella fastidiosa* était détectée en parcelles viticoles, ces destructions entraîneraient des pertes considérables. L'objectif de cette sous-section est de déterminer si ce point de vue institutionnel et à une échelle globale rejoint celui des professionnels français sur le terrain. Pour cela, l'implication de la Maison Hennessy sera discutée ainsi que l'analyse de 8 entretiens avec des viticultrices et viticulteurs français.

4.1.1 Projet Hennessy : savoir et mobiliser

L'objectif global du projet financé par la Maison Hennessy est d'acquérir des connaissances sur *Xylella fastidiosa* et ses insectes vecteurs potentiels et avérés. Néanmoins, bien que l'objectif de ces travaux ne soit pas de réaliser strictement de la surveillance, des insectes vecteurs collectés sont testés pour la présence de la bactérie. Au-delà de la reconstruction des réseaux d'interactions et donc de l'étude des interactions bactérie – insectes vecteurs, la recherche de *Xylella fastidiosa* dans ces insectes relève d'une demande explicite du financeur.

Encadré 19 : La Maison Hennessy
La Maison Hennessy fait partie des 100 marques les plus influentes au monde. Elle est leader de son secteur avec la moitié de la production de l'appellation Cognac regroupée sur 35 000 ha de vignes cultivées par 1 600 viticultrices et viticulteurs partenaires. La très grande majorité de la production de Cognac est exportée (98,5%) aux États-Unis mais également en Chine et sur le continent africain. Au-delà de l'importance du Cognac, le secteur viticole en général est très important en France. Il est le second contributeur de la balance commerciale française après l'aéronautique - selon le CNIV (Comité National des Interprofessions des Vins) - et premier contributeur de la balance commerciale dans le secteur agroalimentaire.

Ainsi, par le financement de recherche, la Maison Hennessy marque son souhait d'anticiper le risque que fait peser *Xylella fastidiosa* sur la production du Cognac et de se prémunir face à l'arrivée de ce pathogène.

> " *250 ans d'histoire, on est là depuis 250 ans et j'espère bien que dans 250 ans la Maison sera toujours là! Ça rejoint le sujet de l'anticipation et de Xylella. C'est-à-dire comment dans 250 ans on est encore capable d'être ici, d'exister et de toujours produire ces produits d'excellence.* " Collaborateur de la Maison Hennessy

> " *On s'est dit, est-ce que ça [Xylella fastidiosa] serait pas le phylloxera du XXI^e^ siècle ? Quelque chose qui puisse aller très vite et décimer le vignoble.* " Collaborateur de la Maison Hennessy

L'intérêt que porte la Maison Hennessy à la présence de la bactérie en France et les moyens qu'elle met en œuvre pour financer des recherches, mettent en lumière le risque que fait peser *Xylella fastidiosa* sur la production de Cognac et plus largement sur la viticulture française. En effet, au-delà du risque sanitaire posé par un pathogène d'un point de vue du risque biologique et agronomique, c'est l'appropriation du sujet (voire la réaction) des acteurs sociaux qui y sont confrontés, qui fait de ce risque une réelle menace voire une crise sanitaire.

Dans le cadre de ce projet de recherche, les collectes d'insectes vecteurs ont été menées au sein du domaine viticole de la Maison Hennessy et également dans des parcelles de viticulteurs partenaires. Ainsi, la collecte des insectes vecteurs a également constitué un terrain sociologique privilégié pour rencontrer des professionnels sur le terrain.

Enfin, au-delà du vignoble charentais, les connaissances produites durant le projet pourront être mises au service de la production viticole dans son ensemble et au-delà de cette filière. En effet, le projet comporte un volet portant sur les chênaies qui sont essentielles à la production de fûts pour le vieillissement du Cognac. Or le chêne est également une espèce sensible à la bactérie (EFSA, 2022).

4.1.2 Résultats de l'enquête exploratoire auprès de viticulteurs

Des viticultrices et viticulteurs ont été rencontrés dans le cadre de cette recherche doctorale et, bien que ces entretiens soient exploratoires, ils n'en demeurent pas moins informatifs sur les professionnels potentiellement confrontés à la bactérie et à ses conséquences directes, et donc concernés par l'anticipation d'une émergence.

Huit viticulteurs ont été rencontrés. L'objectif de ces entretiens exploratoires était de comprendre le rapport de ces professionnels vis-à-vis de la bactérie et plus largement la prophylaxie mise en œuvre sur leur exploitation viticole (guide d'entretien annexe E.1 page E1). La moitié d'entre eux sont des vignerons indépendants rencontrés dans l'Hérault (avant la détection de la bactérie en Occitanie) et la seconde moitié sont des viticulteurs partenaires de la Maison Hennessy qui avaient été rencontrés avant la mise en place des entretiens sociologiques lors de la collecte des insectes vecteurs sur leurs parcelles dans le cadre des travaux en écologie. Ce deuxième groupe de viticulteurs est ainsi sensibilisé à la recherche et au développement de méthodes de prophylaxie avec une participation régulière à des nouveaux essais proposés par la Maison Hennessy. Le premier groupe a été enquêté majoritairement « en présentiel » au sein des exploitations alors que le second groupe a été enquêté par téléphone. Ces entretiens n'ont pas pour objectif de faire une sociologie de la perception des risques et sont trop peu nombreux pour mettre en place des analyses statistiques. Ils se veulent avant tout exploratoires mais ils me semblent

indispensables afin de ne pas oublier celles et ceux qui pourraient être confrontés à la bactérie dans leur vignoble.

Ces entretiens permettent de mettre en évidence la volonté de l'ensemble des viticulteurs enquêtés de participer à des programmes d'épidémio-surveillance afin d'enrayer la bactérie par l'arrachage des pieds de vigne concernés. Ils comparent souvent cette bactérie et la mise en place des mesures prophylactiques et de lutte à celles de la flavescence dorée.

> "*Une fois qu'on voit les symptômes on est très attentifs à ce qui se passe [. . .] Par la prospection on arrive à contenir la maladie [flavescence dorée], on trouve un pied par ci par là de manière sporadique.*" Viticulteur

Ainsi, la bactérie ne « fait pas peur » aux viticulteurs, qui ne l'identifient pas forcément comme une menace pour leurs vignes, qu'ils soient indépendants ou partenaires de la Maison Hennessy. En effet, tous ont entendu le nom de *Xylella fastidiosa* et la majorité connaissent « la bactérie tueuse d'oliviers » en Corse, tout comme ils savent ce que signifie les emballements dans la qualification médiatique des phénomènes. Au cours de l'entretien, ils sont sensibles aux informations échangées concernant la bactérie et son mode de transmission par les insectes vecteurs mais beaucoup me confient qu'ils sont confrontés à de nombreux problèmes sanitaires et qu'ils se préoccupent de ceux déjà présents sur leur exploitation ou aux abords.

> "*Le problème du sanglier par exemple qui est un ravageur. C'était pas un problème il y a 20 ans, ça l'était un peu il y a 15 ans, un petit peu plus il y a 10 ans et aujourd'hui c'est un problème énorme. Peut-être que 20% de notre énergie c'est les sangliers et la flavescence c'est 0,5%.*" Viticulteur

> "*Il ne me semble pas qu'en Corse, en tout cas, il y ait eu d'attaques sur la vigne et donc pour l'instant effectivement je n'étais pas trop inquiet, disons qu'on gère les problèmes au fur et à mesure qu'ils arrivent et c'est vrai que dans le quotidien on a déjà pas mal à faire et sur d'autres ravageurs plus présents. Mais on a une certaine écoute sur ce qui peut arriver, s'il y avait une procédure très claire pour se prémunir je n'hésiterais pas.*" Viticulteur

Contrairement à ce qui était craint lors de la mise en place du projet Hennessy, ces entretiens mettent en évidence une volonté des professionnels rencontrés de participer à un programme de recherche et à mettre en œuvre des mesures de prophylaxie et de lutte lorsqu'elles seront définies et si la bactérie se propageait sur le continent. De plus, certains viticulteurs rencontrés dans l'Hérault ont participé à une campagne d'échantillonnage des insectes vecteurs. La disposition de certains viticulteurs par rapport à des investissements à réaliser pour la recherche existe donc bel et bien. Ce point est illustré par la citation ci-après, issue d'un entretien avec un collaborateur de la Maison Hennessy et qui sera scindée pour être explicitée et analysée.

> "*Un point important je pense c'est l'acceptation des viticulteurs. Ça a été un vrai point sociologique pour nous. On se pose beaucoup de questions sur comment on annonce les messages à nos viticulteurs partenaires, si on les embarque sur des sujets, comment on travaille avec eux, sous quelle forme, à quel rythme, etc. [. . .]*" Collaborateur de la Maison Hennessy

Les collaborateurs de la Maison Hennessy en charge de la mise en place de ce projet de recherche avaient donc une vision internationale de la présence de la bactérie et de ses conséquences. Ce projet est mis en œuvre pour anticiper l'arrivée de la bactérie sur vigne comme c'est le cas aux États-Unis où la maladie de Pierce touche les vignobles californiens. Cependant, les contraintes réglementaires sont différentes en Europe. La bactérie est présente sur le continent américain depuis près d'un siècle est l'objectif n'est pas de l'éradiquer mais de vivre avec. Ainsi, la détection de la bactérie implique l'arrachage du pied contaminé mais pas de l'ensemble des végétaux hôtes autour. Il s'agit donc d'explorer avec des viticulteurs la présence potentielle d'un organisme de quarantaine à lutte obligatoire et donc d'aborder leur exploitation dans une trajectoire de durabilité incluant la question de la santé des plantes. Néanmoins, cette « exploration » est prise dans un cadre réglementaire lourd qui suppose une compréhension de la difficulté qui peut se présenter de déclarer la présence d'un pied infecté.

"*On a un réseau de 40 partenaires avec qui on travaille plusieurs sujets sur deux de leurs parcelles, ce sont des gens avec une certaine philosophie, avec qui on peut travailler sur de nombreux sujets et pour les prélèvements [des insectes vecteurs de Xylella fastidiosa], on l'a fait chez ces personnes-là.*" Collaborateur de la Maison Hennessy

Pour mener à bien ce projet de recherche, les viticulteurs partenaires contactés ont été sélectionnés parce qu'ils avaient déjà répondu présent à d'autres projets de recherche. Cette « philosophie » dont il est question relève d'une démarche et d'une ouverture d'esprit vis-à-vis de nouvelles méthodes ou d'outils pour améliorer leurs itinéraires techniques dans un soucis de favoriser les rendements mais également dans un soucis de production plus respectueuse de l'environnement. Cette démarche n'est pas nécessairement acceptable pour l'ensemble des exploitations viticoles, elle nécessite, au-delà des convictions du viticulteur, une situation économique saine pour pouvoir expérimenter sur une parcelle ou deux.

"*On s'est dit, comment on aborde le point ? La question s'est posée de dire qu'on ne pouvait pas y aller, que ça allait être mal compris et que ça allait faire peur et qu'il fallait rester dans le vignoble Hennessy.*" Collaborateur de la Maison Hennessy

Les collaborateurs de la Maison Hennessy, avec ce projet sont donc face à une responsabilité duale, avec un objectif d'anticipation de l'arrivée d'un nouveau pathogène sur le territoire et donc une sécurisation de la production si des méthodes de prophylaxie et de lutte sont développées en amont. Cependant, la détection de la bactérie dans une parcelle viticole, risque d'entraîner des conséquences socio-économiques fortes avec la mise en œuvre de l'application de la réglementation européenne contraignante et donc de fragiliser les exploitations viticoles concernées.

"*C'était un point de discussion avec notre directeur qui nous a dit que ça n'avait pas de sens de se restreindre dans une petite zone et donc qu'on*

assume, qu'on explique et qu'on informe et on embarque. On a utilisé des éléments de langage et appelé chacun individuellement pour leur expliquer la problématique." Collaborateur de la Maison Hennessy

Le projet de recherche était pris dans des considérations scientifiques et socio-économiques mais aussi infra-politiques. En effet, c'est une réelle prise de position de la part de la Maison Hennessy de mettre en œuvre ces recherches et d'y intégrer des viticulteurs partenaires. Elle demandait d'être à la fois comprise et acceptée. La Maison Hennessy, consciente de ces enjeux a « embarqué précautionneusement » les viticulteurs, en prenant le temps de leur expliquer le projet individuellement et de répondre à leurs questions, réactions.

"*Je vous assure Pauline, on appréhendait et on attendait des réactions du type : si on le trouve sur ma parcelle on va tout arracher ? C'est quoi ce nouveau pathogène qui arrive ? On ne peut pas prédire les réactions !* " Collaborateur de la Maison Hennessy

Avant d'anticiper l'arrivée de la bactérie, les réactions des viticulteurs ont donc fait l'objet d'une anticipation, et elle était probablement appuyée par les vives réactions en Italie et en Corse. Cependant, en France les parcelles cultivées ne sont pour le moment que très rarement impactées (et les vignes ne sont pas touchées), ce qui justifie probablement d'autant plus l'anticipation de l'arrivée de la bactérie pour en limiter les impacts. Ce point a été largement compris par les viticulteurs impliqués qui ne se sont pas arrêtés aux faits médiatiques rapportés dans la presse mais qui ont été à l'écoute des explications concernant cette bactérie et la justification de ce projet de recherche.

"*Finalement, la problématique a été hyper bien comprise, ça nous a même surpris, on demandait si ça allait, si ils n'étaient pas inquiets et ils étaient enthousiastes et trouvaient ça super d'anticiper. Ils ont tous complètement joué le jeu. C'était vraiment un sujet, comment ça pouvait être perçu, on ne voulait pas mettre le feu aux poudres et que ça parte en psychose et en même*

temps il fallait être capable de dire qu'il y a un sujet et qu'il fallait le traiter."
Collaborateur de la Maison Hennessy

Ainsi, par ce projet de recherche, une entreprise importante dans le secteur de la viticulture a montré une vision anticipatrice des potentiels défis de ce secteur pour les années à venir et des viticulteurs, qui ont compris ces enjeux, y ont répondu favorablement et présent.

4.1.3 Bilan des entretiens exploratoires avec les acteurs de la filière vigne

Ce regard exploratoire des acteurs de la filière viti-vinicole, avec la rencontre de collaborateurs de la Maison Hennessy par ma participation au projet de recherche en écologie et la rencontre de viticulteurs partenaires ou indépendants permet de mettre en évidence des éléments concernant leur façon d'aborder l'arrivée de la bactérie en France. Le point saillant de ces entretiens montre une réelle volonté des viticulteurs enquêtés à mettre en place des mesures d'épidémio-surveillance contre la bactérie. Bien que le nombre de viticulteurs enquêtés ne soient pas suffisant et pas représentatif de l'intégralité de la filière, ces entretiens montrent que des professionnels sont prêts à réagir face à la menace que fait peser la bactérie contrairement à ce qui est perçu par d'autres acteurs de la filière et par les chercheurs notamment.

Ce travail exploratoire montre ainsi l'importance de la prise en compte de l'intégralité des acteurs impliqués dans l'épidémio-surveillance et surtout leur implication face à l'arrivée d'un nouveau pathogène. En effet, la volonté ou non des viticulteurs à mettre en œuvre des mesures spécifiques est une donnée importante dans la stratégie d'épidémio-surveillance déployée et pour la façon de la mettre en œuvre.

4.2 La Plateforme ESV : contexte et fonctionnement

Les travaux menés dans cette section sont appuyés par la réalisation d'entretiens semi-directifs avec majoritairement des membres du groupe de travail *Xylella fastidiosa* de la Plateforme ESV. Les membres de ce GT sont issus de la recherche académique et réglementaire, des institutions ainsi que du monde professionnel. De plus, d'autres acteurs impliqués dans la plateforme ESV mais pas dans le GT et quelques acteurs impliqués ni dans la plateforme ni dans le GT ont été rencontrés. Ainsi, ce travail d'enquête regroupe une trentaine d'entretiens d'agents de la DGAl et des SRALs en région, de la FREDON, d'INRAE, de l'Anses, des interprofessions et de professionnels du monde viticole (annexe E.1.1 page E1).

Ce travail d'entretien a été mené en parallèle d'une participation active au GT *Xylella fastidiosa*, en tant que doctorante en écologie, travaillant sur les insectes vecteurs de cette bactérie. Ce travail d'observation participante m'a permis de rencontrer les acteurs impliqués dans la surveillance et la gestion de la bactérie et également de comprendre le fonctionnement de cette instance et plus largement de la Plateforme ESV. Ces travaux ont été complétés par la lecture de documents officiels, de compte-rendus de réunions et d'articles scientifiques.

Bien que l'entrée de ces travaux soit le GT *Xylella fastidiosa*, l'objectif est également de porter une attention particulière à la plateforme ESV en tant qu'infrastructure de connaissances potentielle. Ainsi, il est important de noter que cette étude de la plateforme est majoritairement réalisée au prisme des entretiens menés avec des membres du GT *Xylella fastidiosa* et que la vision qui en est donnée est donc partielle (sans prendre en compte les autres GT qui la composent par exemple).

Pour cela, une première sous-section présentera le contexte de construction de la plateforme et son fonctionnement. La seconde sous-section proposera une approche en termes d'infrastructure de la Plateforme ESV [Star and Ruhleder, 2010]. Ces sous-sections, ainsi que la forte médiatisation de cette bactérie classée en tant qu'organisme de quarantaine à lutte obligatoire, posent la question de la définition de cet « évènement sanitaire » qu'est l'arrivée et la propagation de la bactérie en France. Enfin, une dernière sous-section se

penchera plus particulièrement sur la réponse apportée face à cet évènement sanitaire en lien avec le GT *Xylella fastidiosa*.

4.2.1 Un complexe de trois plateformes d'épidémio-surveillance fruit d'une restructuration de la politique sanitaire française – Mise en contexte

Les États Généraux du Sanitaire marquent un tournant dans l'organisation sanitaire française avec notamment un rapprochement des règles sanitaires et du pilotage des politiques dans les domaines animal et végétal [Guériaux, 2012]. L'objectif est de regrouper les acteurs impliqués dans la gestion sanitaire de l'ensemble des maladies pour définir une nouvelle politique sanitaire globale. De nouvelles instances sont mises en place dont le CNOPSAV (placé sous l'autorité du MAA) et les CROPSAVs (placés sous l'autorité du préfet) en régions, sont consultés sur les orientations politiques sanitaires et les projets de mesures réglementaires [Guériaux, 2012]. Bien que cesEGS (États Généraux du Sanitaire) visent à rapprocher les politiques dans le domaine de l'animal et celui du végétal, des distinctions majeures subsistent [Charrier and Barbier, 2021]. En premier lieu, il est important de noter que le vétérinaire en santé animale n'a pas d'« homologue » direct en santé des végétaux. En effet, le vétérinaire qui observe des symptômes nouveaux et similaires dans plusieurs exploitations dans le cadre de son mandat sanitaire en rend compte au service de l'État [Charrier, 2022]. Concernant le domaine du végétal, c'est l'exploitant agricole directement qui est en charge du signalement de symptômes auprès des services de l'État (SRAL).

De plus, alors qu'un système d'épidémio-surveillance national doit être structuré en santé animale, un travail de mise en cohérence et de structuration de l'épidémio-surveillance nationale en santé végétale a déjà été mis en œuvre en amont et les États Généraux du Sanitaire ont « seulement » pour ambition de le consolider. Ainsi, ces deux systèmes semblent évoluer de façon parallèle même après les EGS et la promotion d'une nouvelle politique sanitaire globale. Cette gestion sanitaire globale est promue dans le même temps par le concept One Health (cf encadré 2 page 12), avec sa création dans les années 2010, mais la convergence « des santés » n'est pas encore établie sur le terrain.

En effet, la période des années 2000 est charnière, avec l'émergence de nombreuses crises sanitaires en santé animale - ESB (Encéphalopathie Spongiforme Bovine ou maladie de la vache folle), grippe aviaire - qui implique l'apparition de la notion de sécurité sanitaire avec une réorganisation des institutions notamment suite à la crise de l'ESB [Barbier, 2003, Bonnaud and Fortané, 2016].

Bien que des réarrangements et des mutations du système sanitaire français se dessinent dans les années 2000 [Barnouin and Sache, 2010], la santé des végétaux reste à la marge de la santé vétérinaire et humaine et n'est explicitée dans le concept One Health qu'à la fin des années 2010 [van Bruggen et al., 2019, Zinsstag et al., 2018].

Au-delà de ce décloisonnement difficile, la mise en pratique de l'interdisciplinarité n'est pas plus aisée au niveau des territoires [Claeys and Morel, 2015] et le concept One Health semble être ainsi plus un mot d'ordre épistémologique auquel il faut faire référence qu'une réelle mise en pratique d'une gestion intégrée de la situation sanitaire globale.

C'est dans ce contexte, qu'une plateforme « de surveillance des risques sanitaires en agriculture et de partage de l'information épidémiologique » en santé animale est créée en 2011. Cette plateforme se veut multi-acteurs avec un partenariat notamment entre le Ministère en charge des affaires agricoles, l'Anses et les organisations professionnelles [MAA, 2011]. La plateforme nationale s'appuiera sur ces partenariats afin d'être déclinée localement. Elle a vu le jour dès la fin de l'année 2011 avec la signature d'une convention cadre pour 3 ans dans un premier temps et renouvelée en 2018 [MAA et al., 2018]. Cette Plateforme ESA (Epidémio-surveillance en Santé Animale) est constituée de 6 membres fondateurs : la DGAl, l'Anses, la SNGTV (Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires), GDS (Groupement de Défense Sanitaire) France, Coop de France et l'Adilva (Association française des directeurs et cadres des laboratoires vétérinaires publics d'analyses) [Berthe et al., 2017].

En revanche, concernant la santé des végétaux, un réseau de SBT (Surveillance Biologique du Territoire) est en place et reconnu à partir de 2008 dans le cadre du plan Ecophyto et dont l'ancêtre est le service d'avertissement agricole [Fourche, 2008]. La surveillance biologique du territoire est définie avec l'objectif de « s'assurer de l'état sa-

nitaire et phytosanitaire des végétaux, et de suivre l'apparition éventuelle d'effets non intentionnels des pratiques agricoles sur l'environnement » [MAA, 2009]. Les États Généraux du Sanitaire proposent alors de s'appuyer sur ce réseau et de le consolider en matière d'épidémio-surveillance du végétal avec la mise en place d'une cellule nationale d'épidémio-surveillance [MAA, 2011].

Il faut attendre une ordonnance de 2015 [Anonyme, 2015] et surtout une convention cadre signée en 2018 pour observer une convergence de cette nouvelle organisation sanitaire en santé animale avec la création de deux autres plateformes en santé végétale (ESV) et en surveillance de la chaîne alimentaire (SCA). Les objectifs de ces plateformes sont déjà définis en 2015 :

> "*Des réseaux d'épidémiosurveillance, dénommés plates-formes d'épidémio-surveillance et dotés ou non de la personnalité morale, sont constitués en vue d'apporter aux services compétents de l'État et, à leur demande, aux autres gestionnaires de dispositifs de surveillance un appui méthodologique et opérationnel pour la conception, le déploiement, l'animation, la valorisation et l'évaluation des dispositifs de surveillance sanitaire et biologique du territoire.*" [Anonyme, 2015]

Mais c'est bien en 2018 qu'elles voient le jour lors de la signature de la convention cadre au Salon International de l'Agriculture. Ces trois plateformes (en santé animale, santé végétale et en surveillance de la chaîne alimentaire) sont aujourd'hui liées de par des partenaires communs (Anses, INRAE, DGAl) mais également par la mise en œuvre de la politique One Health avec la signature d'un contrat d'engagement qui a pour but d'organiser une surveillance sanitaire intégrative et de *« contribuer à renforcer une approche globale de la santé à l'interface entre celle des animaux plantes hommes et leur environnement »* B. Fereirra Directeur Général de l'Alimentation, [MAA, 2022].

L'organisation de chacune des trois plateformes est similaire avec une équipe de coordination constituée par le Ministère, INRAE et l'Anses (1 agent par institution en général) et une équipe opérationnelle, soutien scientifique et technique où les agents sont notam-

ment impliqués dans la veille internationale et dans la gestion et le traitement des données [MAA et al., 2018]. Les travaux menés au sein de chaque plateforme sont adossés à des groupes de travail avec des thèmes examinés et validés par le Comité de pilotage de chaque plateforme qui rassemble au moins un membre de chaque organisme partenaire.

4.2.2 Le fonctionnement de la Plateforme ESV

Après les États Généraux du Sanitaire en 2010 et suite à la réaffirmation de la nécessité d'une convergence de la politique sanitaire en santé animale, végétale et en surveillance de la chaîne alimentaire lors des États Généraux de l'Alimentation en 2017 [Blanchet et al., 2010], la Plateforme ESV a été créée en juillet 2018 pour une durée de 10 ans qui pourra être prolongée [MAA et al., 2018]. La convention cadre a été signée par 6 acteurs majeurs de la santé des végétaux : Le Ministère de l'Agriculture (DGAl), l'Anses, INRAE, l'ACTA (Association de Coordination Technique Agricole), l'APCA (Assemblée Permanente des Chambres d'Agriculture) et FREDON France ; aujourd'hui, le CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement) est également partenaire de la plateforme ESV.

Un membre de chacune de ces institutions participe au COPIL (Comité de Pilotage) (figure 51 page 256), comité présidé par le Directeur général de l'alimentation ou son représentant. Ce Comité de pilotage se réunit au moins une fois par an et a pour vocation la définition de « l'orientation de la Plateforme » [MAA et al., 2018]. Ce comité, prononce généralement un avis sur l'ensemble des sollicitations faites à la plateforme. Chaque année, un programme de travail est validé avec une liste d'objectifs pour chaque GT. Ce programme peut être ajusté en cours d'année selon les bilans d'activité intermédiaires.

La plateforme ESV rassemble une équipe de coordination (figure 51 page 256), qui a pour mission de « faire fonctionner la plateforme », d'établir les programmes de travail avant leur validation en COPIL, veiller au bon déroulement de ce programme de travail et à son adéquation avec les moyens disponibles (financiers et humains). Cette équipe est composée d'un coordinateur principal issu de la DGAl et de deux coordinateurs adjoints issus de l'Anses et d'INRAE sans lien hiérarchique entre le coordinateur principal et les deux adjoints. Ils sont désignés après un avis unanime du COPIL. Ainsi, alors que le

COPIL est présidé par la DGAl, il n'existe pas de rapport hiérarchique entre les différents instituts pour ce qui est de la coordination. Néanmoins, le COPIL est décisionnaire des orientations de la plateforme et du programme de travail alors que l'équipe de coordination a plutôt une position de mise en action de la plateforme avec l'animation et l'encadrement de l'activité d'une troisième équipe : l'équipe opérationnelle.

Ainsi, la troisième « composante » de la plateforme est l'équipe opérationnelle (figure 51 page suivante), qui « rend la plateforme opérante » en apportant un appui à ses activités. Pour ce qui est de la Plateforme ESV, la majorité des membres de l'équipe opérationnelle est basée au sein d'une unité INRAE (BioSP) à Avignon avec 8 agents et une autre partie de l'équipe est basée à Lyon, au sein de l'unité EAS (Épidémiologie et Appui à la Surveillance) de l'Anses (2 agents). Enfin, un agent du CIRAD complète cette équipe depuis que cette institution est partenaire de la plateforme. Il y a, selon la convention, un responsable d'équipe à INRAE et un responsable d'équipe à l'Anses qui sont chacun sous l'autorité hiérarchique du directeur d'unité concerné. Bien que les effectifs soient déséquilibrés, les deux équipes n'exercent pas d'autorité fonctionnelle et/ou hiérarchique l'une sur l'autre et elles sont coordonnées conjointement par l'équipe de coordination. L'équipe opérationnelle est composée d'agents qui ont des compétences en épidémiologie, en méthodes statistiques afin d'appuyer le développement « de protocoles de surveillance, l'évaluation et l'élaboration d'indicateurs de performance de dispositifs de surveillance, l'évaluation de dispositifs de surveillance, la gestion de données, l'analyse statistique et l'interprétation de données épidémiologiques, l'investigation épidémiologique » [MAA et al., 2018]. Ils ont également des compétences en communication et de veille informationnelle.

Néanmoins, cette équipe opérationnelle ne réalise pas l'ensemble des travaux menés dans le cadre de la plateforme ESV mais elle vient en appui à des groupes de travail. Un groupe de travail est constitué autour d'une thématique liée aux activités de la Plateforme. Il est composé de membres issus à la fois d'organisations appartenant à la plateforme ou extérieures à celle-ci. Chaque groupe de travail est piloté par une personne ou par une cellule d'animation. La thématique, la composition du groupe de travail et son animation sont validées par le COPIL sur proposition de l'équipe de coordination en amont. Les objectifs de chaque GT sont précisés dans le programme d'activité et le suivi du fonctionnement du

GT est assuré par l'équipe de coordination. Enfin, un ou plusieurs membres de l'équipe opérationnelle participent aux GTs et ils peuvent appuyer leurs travaux par la réalisation de cartes de risques phytosanitaires liés à l'arrivée d'un nouvel agent phytopathogène par exemple.

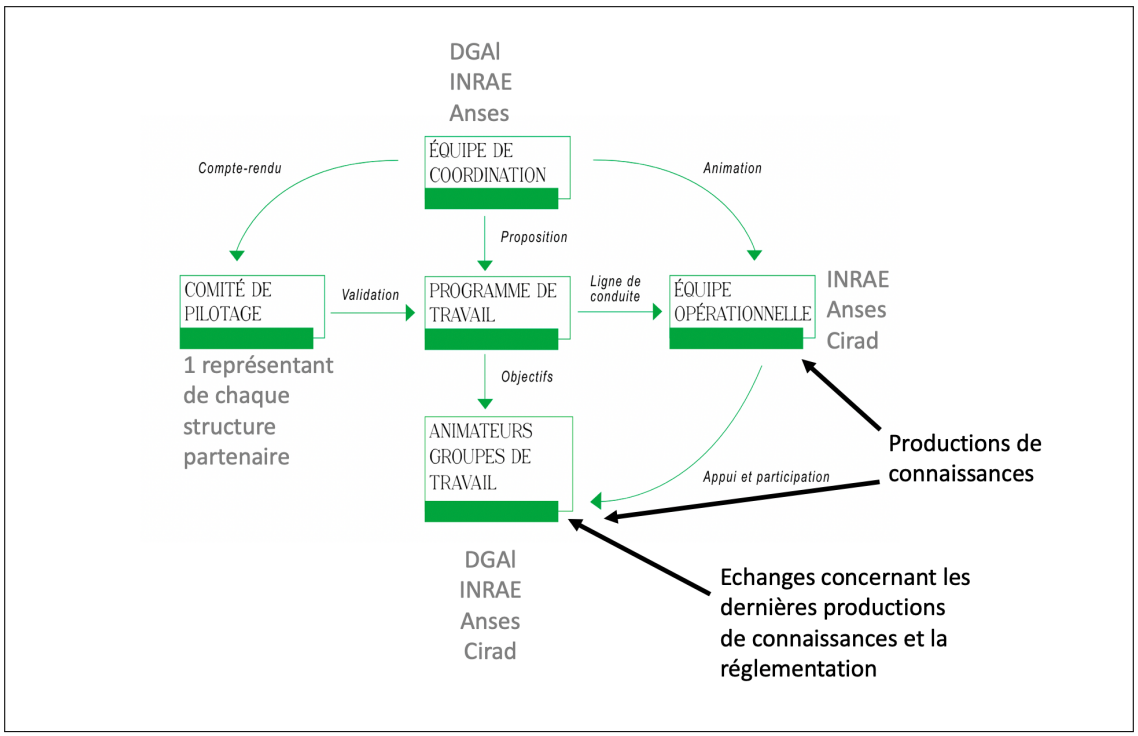


FIGURE 51: Fonctionnement de la Plateforme ESV, adaptée du rapport annuel de la Plateforme ESV [ESV, 2021]

4.3 Construction et devenir d'une infrastructure de connaissances

La Plateforme ESV mise en place lors d'un tournant dans la politique sanitaire française met en relation de façon inédite sur le plan institutionnel de nombreux acteurs de l'épidémio-surveillance dans sa coordination et son pilotage, et cela jusqu'au niveau de groupes de travail où de nouvelles connaissances sur des organismes de quarantaine (ou maladies végétales) sont construites et échangées. L'objectif de cette sous-section est de comprendre ce qui fait de cette plateforme une infrastructure de connaissances et quels sont les défis auxquels elle fait face pour se maintenir et se développer.

4.3.1 Approche en termes d'infrastructure

Selon la définition du dictionnaire le Robert, une infrastructure est : « l'ensemble des équipements économiques ou techniques. [par exemple] L'infrastructure routière d'un pays. » [9]. Ainsi, le terme d'infrastructure est spontanément lié au réseau routier mais également ferroviaire et plus récemment ce terme est aussi associé à internet et aux grandes bases de données qui sont des infrastructures informationnelles. D'après cette définition, le terme d'infrastructure renvoie à des objets techniques identifiés et qui sont souvent stabilisés et invisibles aux yeux de leurs utilisateurs mais déterminant pour un fonctionnement régulier et robuste. Par exemple, le travail des techniciens de laboratoire qui contrôlent la qualité du réseau d'eau passe inaperçu pour l'usager lorsqu'il ouvre le robinet pour se servir un verre d'eau. Or, le travail des techniciens d'analyse des échantillons d'eau constitue l'infrastructure du réseau d'eau pour les usagers.

Si ce terme a une acception commune de dispositif matériel maintenu, le terme d'infrastructure et les concepts qui l'accompagnent ont été développés dans les années 1990 par Susan Leigh Star et Geoffrey Bowker [Bowker and Star, 1999] dans une perspective interprétative en STS. Aujourd'hui, leurs travaux sont toujours mobilisés et inspirent de nouvelles études en matière d'infrastructure numérique [Edwards, 2010, Magnin, 2019]. L. Star et G. Bowker ont développé l'étude de l'infrastructure d'un point de vue sociologique c'est-à-dire non pas en tant qu'ouvrage physique mais en dépassant l'objet technique pour comprendre et étudier les pratiques associées au développement et au maintien de ces infrastructures et en donnant une lecture sociologique de la variété des mondes sociaux concernés. Ces infrastructures qui passent souvent inaperçues alors qu'elles nourrissent la production de faits stables et mobilisent un grand nombre d'acteurs, deviennent un objet de recherche pour les STS dans les années 2000.

> "*Les enquêtes sur les infrastructures informationnelles se multiplient et tendent aujourd'hui à se consolider en un véritable domaine de recherche au sein duquel l'attention systématique à l'effacement d'un certain type de*

9. https://dictionnaire.lerobert.com/definition/infrastructure

tâches et à l'invisibilisation de certains travailleurs constitue une dimension clef, qu'elles s'intéressent aux systèmes d'information coopératifs (Star & Ruhleder, 1996 ; Bowker et al., 2010), aux formes de classification (Bowker & Star, 1999), ou à la production de standards (Lampland & Star, 2009). L'ensemble de ces travaux montre que la valeur du travail, sa reconnaissance en tant qu'activité qui compte, résulte de la distribution écologique entre ce qui est rendu présent et accessible d'un côté, et ce qui est effacé et rendu invisible de l'autre. Revendiquant une posture politique et morale, ces recherches visent à remettre les travailleurs invisibles au premier plan par un « renversement infrastructurel » (Bowker, 1994) qui permet de documenter leurs conditions de travail, l'hétérogénéité des opérations qu'ils accomplissent, leurs savoirs et savoir faire." [Denis and Pontille, 2012]

Ainsi, l'infrastructure en sociologie est un concept fondamentalement relationnel au sens où il cherche à établir la constitution de liens entre les acteurs mais également entre les acteurs et des dispositifs matériels. Il permet de traiter les questions posées par le travail des personnes et notamment du travail invisible dans les grands systèmes techniques comme dans les équipements de recherche : sur quoi repose-t-il, qui et qu'est-ce qui le rend possible ? Comme l'établissent Denis et Pontille (2012) :

"*Cette immédiateté de l'information repose sur ce que Star et Strauss (1999) appellent une écologie du visible et de l'invisible. Si les connaissances ou les données accèdent à une visibilité quasi instantanée, c'est au prix d'un masquage des opérations qui rendent leur constitution, leur publication et leur circulation possibles.*"

Le travail initial de Star et Ruhleder [Star and Ruhleder, 2010] permet de poser alors la question du moment où les conditions de fonctionnement d'un dispositif de production de connaissances équipés établissent que nous sommes en présence d'une infrastructure. Ainsi, comprendre l'émergence d'une infrastructure demande de porter un intérêt aux objets techniques, aux activités et aux personnes qui y sont associées comme un assemblage complexe et hétérogène [Jensen and Morita, 2015] afin de mettre en évidence le processus

de construction et d'émergence de l'infrastructure. Ce processus de conception et de développement actif s'oppose à une vision de l'infrastructure inerte et déjà présente alors qu'elle est l'objet d'un travail permanent dont la robustesse et la fiabilité est à la source de nombreux régimes de preuve [Millerand, 2015].

La création d'une infrastructure n'est donc pas *ex nihilo*, mais elle est adossée à de l'existant afin de le compléter et de l'« augmenter » pour le stabiliser dans un dispositif permanent qui agencent des pratiques de différents mondes sociaux. Lors de sa création, une infrastructure tend à rendre visible tout un ensemble de compromis, de négociations et de contestations qui en font un système relationnel pour répondre à un problème global qui a émergé alors même que les différents acteurs sont en attente d'actions précises.

4.3.2 La Plateforme ESV en tant qu'infrastructure de connaissances

Les prochaines sous-sections vont s'appuyer sur le concept de l'infrastructure de connaissances afin de comprendre la place de la Plateforme ESV dans l'épidémio-surveillance française.

4.3.2.1 La construction de la Plateforme ESV ex materia

La mise en place d'un groupe de travail sur *Xylella fastidiosa* avant la mise en place de la Plateforme ESV

Comme nous l'avons vu précédemment, la bactérie *Xylella fastidiosa* est devenue une préoccupation majeure pour les États européens dont la France à partir des années 2010 avec plusieurs interceptions aux frontières [EFSA, 2015, Jacques et al., 2016] et sa mise en évidence en 2015 en Corse. C'est également en 2015 que l'État français réaffirme une convergence des politiques sanitaires et la création d'un réseau d'épidémio-surveillance composé de trois plateformes dont la plateforme ESA créée en 2011 et par la suite les plateformes ESV et SCA (Surveillance de la Chaîne Alimentaire). Néanmoins, avant même la construction d'une plateforme d'épidémio-surveillance en santé du végétal, une collaboration entre les institutions va très rapidement se mettre en place à l'arrivée de *Xylella fastidiosa*.

En effet, un projet d'étude est co-financé par la DGAl dès la fin de l'année 2015 avec la signature d'une convention entre INRAE et la DGAl. L'objectif de cette étude est d'identifier la gamme de plantes hôtes et les souches bactériennes associées mais également les insectes vecteurs de la bactérie et enfin de mobiliser les outils de modélisation dans le cadre de la prévention et la gestion du risque que représente la bactérie. Bien que la Plateforme ESV ne soit pas visible et seulement inscrite dans les ambitions de l'État, elle est d'ores et déjà stipulée dans cette convention avec un appel à la participation des chercheurs dans *« le groupe de travail méthodologique sur la surveillance de Xylella fastidiosa mis en place par la DGAl dans le cadre de la plateforme d'épidémio-surveillance en santé du végétal »* [MAA and INRA, 2016].

De plus, un groupe de travail piloté par la DGAl a été mis en place dès la détection de la bactérie en 2015 et dès janvier 2016, une chargée de mission à la DGAl a été recrutée pour la gestion des organismes émergents dont *Xylella fastidiosa*. Ce groupe de travail, au-delà de son objectif premier d'amplifier et de partager les connaissances sur la bactérie, a également été « moteur » dans la mise en place de la Plateforme ESV, comme le précise un agent de la DGAl.

> "*Le groupe de travail national Xylella fastidiosa en phase pilote a été vraiment précurseur de l'une des activités que l'on pouvait attendre de la plateforme. C'est à dire véritablement de regrouper des compétences sur une problématique majeure en santé des végétaux dans différentes disciplines, de pouvoir assurer une mutualisation des connaissances pour agir de manière efficiente en termes de surveillance, de détection précoce et de gestion de foyer. C'est vraiment ce que l'on recherche avec ce type d'organisation.*" Agent du MAA

Et plus largement, c'est la détection de *Xylella fastidiosa* qui a probablement mobilisé les différents acteurs à l'origine de la construction de la plateforme.

> "*Xylella fastidiosa a été un élément catalyseur puisqu'il a vraisemblablement accéléré le montage de la plateforme et il a aussi servi de modèle pour le travail multi acteurs, puisqu'on travaillait avec l'Anses sur les aspects diagnostics,*

modélisation et vection de manière plus ou moins étroite selon les sujets. Ça a servi à la fois de catalyseur et de modèle pour certaines dimensions." Agent travaillant pour la Plateforme ESV

La réorientation du groupe de travail et son intégration à la Plateforme ESV en tant que preuve de concept

Néanmoins, le groupe de travail créé et piloté par la DGAl a largement évolué lors de son intégration dans la plateforme. En premier lieu, sa composition a été modifiée, avec la disparition d'acteurs proches des professionnels et avec une approche *« un peu plus syndicaliste »*. En effet, de nombreuses personnes parties prenantes du GT avant son intégration à la plateforme, se remémorent les réunions conduites à la DGAl comme étant descendantes mais également orientées par des considérations d'ordre socio-économique telles que des discussions sur les indemnisations par exemple. Or, pour les chercheurs notamment, un groupe de travail est basé sur des éléments scientifiques visant à ralentir la progression de la bactérie voire à l'éradiquer. Des instances telles que le CNOPSAV et les CROPSAVs sont dédiées aux interactions et aux négociations entre les représentants agricoles et la DGAl.

Ainsi, le passage du groupe de travail dans la Plateforme ESV a permis « une réorientation » de celui-ci ainsi qu'une composition plus réduite d'une part mais aussi plus importante d'autre part avec l'entrée dans le GT de nouvelles filières potentiellement concernées par la bactérie - dont le GNIS (Groupement national interprofessionnel des semences et plants) aujourd'hui SEMAE -. Ce point sera illustré par deux citations, d'un agent de l'Anses et d'un agent travaillant sur la plateforme, qui seront scindées et explicitées en même temps.

"*[Dans le GT DGAl] il y avait plein de gens, il y avait des instituts techniques, c'était un grand GT. L'objectif était de faire un partage de connaissances je pense sur la situation. La DGAl a présenté la situation et ce qui était mis en place et les professionnels étaient là, ils pouvaient poser des questions.*" Agent de l'Anses

"*Je ne suis pas arrivée dès la première réunion du GT avant la plateforme mais en tous cas il était constitué à la fois de représentant de l'État au*

niveau national et local (DRAAF/SRAL). Il y avait des acteurs de la recherche, essentiellement INRAE, des instituts techniques, des chambres d'agriculture et des représentants de certaines filières (dont filière horticole) et aussi l'Anses." Agent travaillant pour la Plateforme ESV

Les acteurs du groupe de travail avant son intégration à la plateforme sont bien identifiés dont les instituts techniques, les représentants de filières et les professionnels qui sont moins présents dans le cadre du GT de la plateforme. Cette différence de composition est due à une différence d'objectifs et d'« échelle de temps ». Le premier GT a été mis en place dès la détection de la bactérie, dans une situation d'urgence face à la réaction *« d'angoisse »* des oléiculteurs corses notamment qui avaient une *« vue »* direct sur la situation italienne. Il avait donc pour objectif de synthétiser et partager l'information connue et de fait répondre aux questionnements des professionnels.

"*Avant la DGAl s'appuyait sur les compétences techniques des partenaires pour faire du partage de connaissances avec la profession. Il y avait une idée de transparence vis-à-vis des instituts techniques. Il y avait l'Anses, les référents DGAl, l'INRAE et les uns et les autres présentaient ce qu'ils faisaient et les professionnels étaient là et ils pouvaient poser des questions. Mais il n'y avait pas d'action, en fin de réunion il n'y avait pas d'objectifs d'action avant la prochaine rencontre. Alors qu'avec la plateforme c'est plus de l'action. Qu'est-ce qu'on fait lorsqu'il y a un nouveau foyer ? Par exemple il y a eu la mission Occitanie. J'ai pas été sur le terrain parce que je n'avais pas le temps mais il y a vraiment de l'action qui est faite. De l'évaluation de risques etc, sous l'égide de la DGAl.*" Agent de l'Anses

"*Je pense que ce n'était pas vraiment un groupe de travail c'était plus un groupe d'information. Ce qui est la grosse différence avec la plateforme d'épidémio-surveillance où il y a un groupe de travail avec des axes de travail, des missions, etc.*" Agent de l'Anses

Les acteurs ayant participé aux deux GTs (avant et après intégration à la plateforme) ont bien identifié les différences tant en termes de composition des groupes de travail que

d'objectifs et de résultats. En effet, le GT de la plateforme a des objectifs de production de données pour appuyer la surveillance de la bactérie via la modélisation par exemple, ce qui implique une participation des différents acteurs en dehors des réunions. Ces changements d'objectifs résultent également d'un changement de gouvernance de ce groupe de travail. Alors qu'il était mis en œuvre par la DGAl, il a intégré une plateforme tri-partite (DGAl, Anses, INRAE) ce qui a conduit à des arrangements entre les acteurs dans son fonctionnement et ses objectifs avec une intégration plus forte de la mise en œuvre de travaux et de productions scientifiques et techniques pour un appui réglementaire. De plus, le premier GT mis en œuvre par la DGAl était probablement en réponse à la découverte de la bactérie en Corse, alors que le GT de la plateforme s'inscrit dans un temps plus long d'appui à la surveillance d'un organisme réglementé et d'autres instances (dont le CROPSAV et le CNOPSAV) sont mobilisées pour répondre aux questionnements de professionnels quant aux questions sanitaires.

> "*Le GT avant la création de la plateforme discutait des aspects vection, les plantes les plus sensibles, la connaissance que l'on pouvait tirer des expériences en Italie et aux États-Unis notamment, la modélisation, les prédictions même si ça avait pas une place majeure. On parlait beaucoup de vection à l'époque.*" Agent travaillant pour la Plateforme ESV

Les sujets discutés ont également évolué en lien avec la différence des objectifs et de la gouvernance des GTs. En effet, pour répondre aux craintes des professionnels et aux mesures à mettre en œuvre, il fallait aborder la sensibilité des plantes hôtes de la bactérie et sa transmission par les insectes vecteurs alors que pour appuyer la surveillance, une place plus importante a été accordé à la définition de zones de risque plus élevées (car plus favorable à l'installation et l'expansion de la bactérie) et à la création de cartes et donc à la mobilisation de la modélisation. L'importance de la modélisation dans le GT aujourd'hui reflète également la composition de l'équipe opérationnelle de la plateforme dont la majorité des membres sont basés dans une unité INRAE à Avignon de bio-statistiques et processus spatiaux. Ainsi, bien que les plantes hôtes et les insectes vecteurs de la bactérie soient « les objets de la surveillance », dans le GT de la plateforme, leur place a été supplantée dans un premier temps par des travaux de modélisation qui répondaient plus

directement à un appui à la mise en place de la surveillance officielle. Ils sont aujourd'hui reconsidérés notamment dans un sous-groupe du GT qui rassemble des membres travaillant sur les insectes vecteurs et leur intégration dans la surveillance officielle.

> "*Ça se voulait être un groupe de travail technique basé sur la science mais la présence d'acteurs plus politiques faisait que les discussions portaient très souvent sur des considérations liées à l'indemnisation par exemple ou le refus de certaines restrictions fondé sur des arguments socio-économiques mais pas sur la science. J'ai participé à deux ou trois réunions du GT avant qu'il soit intégré en 2018 à la plateforme lorsqu'elle a été créée.*" Agent travaillant pour la Plateforme ESV

Le changement de composition du groupe de travail a été permis par le fonctionnement de la plateforme : la mise en place d'une capacité d'anticipation repose donc sur une certaine plasticité organisationnelle [Alcaras and Lacroux, 1999]. En effet, bien qu'il ait joué un rôle moteur dans la construction de la Plateforme ESV, le groupe de travail piloté par la DGAl ne pouvait pas y être intégré directement. Selon la convention de la plateforme, les propositions du GT doivent être examinées et approuvées par le comité de pilotage. Suite à l'approbation du comité de pilotage, les institutions partenaires de la plateforme proposent des membres de leurs institutions ou d'autres institutions pour participer au GT en devenir. C'est ce processus qui a induit la recomposition du groupe de travail.

> "*Ça a été un nouveau GT en quelque sorte puisque tous les acteurs plus politiques ont disparu. La DGAl a proposé au COPIL de traiter la problématique Xylella fastidiosa. Bien entendu le COPIL était d'accord avec ça. Traiter la question de Xylella fastidiosa c'est pas systématique mais ça peut être fait en créant un GT spécifique et il n'y avait aucun sens d'avoir deux GT sur la question. A la création d'un GT dans la plateforme, les membres de la plateforme proposent les noms des participants de leurs entités ou d'autres entités. La volonté était de faire un GT plus technique et scientifique donc les acteurs plus politiques n'ont pas été proposés.*" Agent travaillant pour la Plateforme ESV

> "*[Quand je parle d'] acteurs plus politiques je pense aux représentants de certaines professions, avec une approche peut-être un peu plus syndicale.*"
> Agent travaillant pour la Plateforme ESV

Ainsi, cette recomposition du GT marque le passage d'une volonté politique à informer les professionnels et acteurs impliqués suite aux premières détections de la bactérie alors que, sous l'égide de la plateforme, ce groupe de travail est réorienté avec des objectifs scientifiques et techniques en appui à la surveillance et sous l'égide d'une organisation plus vaste : la Plateforme ESV. Ainsi, cette réorientation du groupe de travail permet de montrer la construction de la plateforme et les réarrangements et compromis qui ont pris place dans ce processus avec un alignement politique puis socio-technique qui ont émergés dans le cadre d'une organisation formelle de la plateforme.

La longue mise en place de la plateforme malgré une base opérationnelle avec des groupes de travail constitués : un point sur « l'infrastructure physique » de la plateforme et le partage des données

La création de la plateforme a nécessité un travail conséquent bien que son alter-ego existait déjà pour la santé animale et que le GT *Xylella fastidiosa* ait été un de ses moteurs. Si le groupe de travail a été, en quelque sorte, la mise en place opérationnelle de la plateforme, une mise en place organisationnelle a également été nécessaire. La première convention [MAA et al., 2018] signée au Salon de l'Agriculture encadre les trois plateformes et c'est la convention spécifique et plus précise de la Plateforme ESV qui a nécessité des discussions.

En premier lieu, l'équipe opérationnelle devait être implantée dans une institution, INRAE et/ou l'Anses puisque la plateforme n'est pas une entité physique. Les personnels sont mobilisés par INRAE et l'Anses et financés par le Ministère de l'Agriculture. Ainsi, les partenaires ont discuté autour de la localisation physique des membres de l'équipe opérationnelle de la plateforme : dans une unité INRAE et/ou Anses ? La/lesquelle(s) ? Mais également combien de personnes dans chaque unité ? Finalement, la majorité de l'équipe opérationnelle (8 agents) est hébergée dans l'unité INRAE BioSP, unité de bio-statistiques qui fournit un cadre de travail propice aux échanges en épidémiologie et en méthodologie de la surveillance pour les agents, comme stipulé dans la convention inter-

plateformes. De plus, deux agents sont à l'Anses (unité EAS aussi liée à l'épidémiologie et au traitement de données) et depuis l'adhésion du CIRAD à la plateforme, un agent de cet institut a également rejoint l'équipe opérationnelle.

Un second sujet de discussion lors de l'écriture de la convention de la Plateforme ESV a eu lieu autour de la mise à disposition des données à des fins de recherche. INRAE, institut de recherche, tenait beaucoup à cette mesure en revanche, l'Anses et le Ministère pour des raisons différentes ont largement discuté ce point pour limiter l'accès aux données et en contrôler l'usage. Bien que l'Anses ne produise pas l'ensemble des données, elle est à l'origine du regroupement de nombreuses données de surveillance officielles. Avec une mise à disposition des données, existait pour l'Anses le risque que cette agence soit considérée comme « fournisseurs de données » sans participer à leur valorisation. Du côté du Ministère, une attention particulière a été portée sur la sécurisation des données et notamment des données non anonymisées avec le nom des propriétaires ayant fait l'objet de contrôles sanitaires. De plus, suite à l'analyse de ces données, le Ministère tient à être informé des résultats en amont afin de pouvoir anticiper par exemple des résultats d'analyse prédisant une flambée de *Xylella fastidiosa* dans les années à venir.

4.3.2.2 La plateforme ESV, une infrastructure en construction sur la base de GTs

A présent, nous allons mettre en regard les informations présentées sur la plateforme et détaillées précédemment avec le concept d'infrastructure des connaissances, notamment à la lumière de l'article de Star et Ruhleder [Star and Ruhleder, 2010] avec l'analyse « de l'existant », des structures et des dispositifs établis avant la plateforme et également de l'implication de cette dernière à la fois dans l'espace et d'un point de vue temporel.

En premier lieu, la Plateforme ESV est construite sur un socle préexistant. Elle ne découle pas directement du dispositif de surveillance biologique du territoire, dispositif d'épidémio-surveillance antérieur à la plateforme mais elle a été « mise en route » grâce au transfert de groupes de travail préexistants à la DGAl et regroupant déjà des membres partenaires tels qu'INRAE, l'Anses et la DGAl. Ainsi, cette infrastructure hérite à la fois des avantages et des inconvénients de ce socle préexistant. L'existence de tels groupes de travail a été une force dans le lancement de la plateforme avec une mise en place probablement accélérée et facilitée en terme d'objectifs de production mais également

organisationnel. En effet, un groupe de travail d'ores et déjà constitué signifie que des questions sont posées et en attente de réponses mais aussi qu'une organisation a été définie et constitue donc un modèle pour la mise en place de la plateforme ESV à partir de la définition du fonctionnement de ces GTs. Bien que forte de ces instances préexistantes, une inertie importante de ce GT a été relevée due à sa composition et au changement de cadrage que nous avons décrit. Ce point « faible » a été pris en compte avec la construction d'un GT au sein de la Plateforme restreint autour de questions scientifiques et avec une mise à l'écart d'acteurs liés au monde professionnel ayant des revendications économiques par exemple.

La Plateforme ESV est également « encastrée » à l'intérieur d'autres structures. En effet, bon nombre de parties prenantes de la plateforme considèrent cette entité comme émanant du Ministère de l'Agriculture et bien que cela soit en partie le cas, la plateforme se distingue de cette institution par le fait d'être co-pilotée par 7 partenaires dont le Ministère de l'Agriculture. De plus, la plateforme n'ayant pas d'entité juridique propre, elle est abritée par des institutions et des unités déjà existantes. Les parties prenantes mettent à disposition des locaux et du personnel. Ainsi, les participants au Comité de Pilotage de la plateforme et celles et ceux de son équipe de coordination sont à la fois membres actifs de la plateforme et agents auprès d'une institution propre. Cette dualité exprime au niveau même du travail des agents cet encastrement structurel.

Enfin, la plateforme a une portée ou une étendue c'est-à-dire qu'elle a des implications (spatiales et/ou temporelles) au-delà d'un évènement ou d'une pratique isolée. En effet, elle apporte un appui à la DGAl dans la mise en œuvre et l'évaluation de la surveillance en santé du végétal. De plus, quel que soit le pathogène considéré, le fonctionnement de la plateforme est ancré : l'importance du pathogène en question est évaluée par le COPIL qui valide ou non la création d'un groupe de travail et son fonctionnement est décrit selon la convention de la plateforme : il doit répondre à un programme de travail. Ainsi, le fonctionnement n'est pas à recréer avec la surveillance d'un nouvel agent pathogène mais il peut être remobilisé directement avec la création d'un nouveau groupe de travail. La plateforme ainsi constituée apparaît aussi comme une perspective de travail conduit en commun : elle est pro-active.

4.3.2.3 Éléments charnières au développement de la plateforme

Cependant, certains éléments montrent une plateforme en construction qui doit encore être affirmée pour se développer dans le paysage de l'épidémio-surveillance en santé du végétal en France.

Collecte et partage des données : le travail invisible

Un premier point de tension a été mis en lumière autour de la collecte et du partage des données. Les données collectées et stockées par la plateforme proviennent de la mise en place de la surveillance officielle réalisée par les services des FREDONs en régions, sous l'égide des SRALs en DRAAF. Pour les données de surveillance concernant *Xylella fastidiosa*, chaque SRAL partage les données aux agents de l'équipe opérationnelle de la Plateforme ESV. Pour *Xylella fastidiosa*, ces données sont centralisées par une seule ingénieure de l'équipe opérationnelle de la Plateforme, et qui est aussi en charge de les nettoyer et de les publier sous la forme de cartes [10]. Le nettoyage de ces données, c'est-à-dire la vérification des informations saisies, est automatisée grâce à l'utilisation du logiciel R. Néanmoins, une partie du nettoyage est réalisée par l'ingénieure elle-même lorsque des erreurs sont détectées au cours du « nettoyage automatique ». Ces erreurs ne sont pas rares ni anodines puisque le nettoyage manuel des données nécessite environ une demi-journée par semaine.

En effet, dès la réception des données, l'ingénieure est confrontée à des types de données différents, avec des tableaux qui ne comportent pas les mêmes noms de colonnes par exemple selon le SRAL d'où ils proviennent. De plus, le formalisme des données n'est pas standardisé (utilisation ou non d'accents, utilisation d'abréviations, etc.), ce qui nécessite des ajustements réguliers pour un nettoyage automatique plus efficace. Enfin, des erreurs humaines sont également détectées lors du tri des données et avant leur publication. Une erreur fréquente est par exemple l'inversion de coordonnées GPS (latitude et longitude) entraînant une erreur détectable car la position du point GPS se retrouve hors de France ou dans la mer. De plus, avec le nombre conséquent de prospections concernant la surveillance de *Xylella fastidiosa*, la remontée des résultats des SRALs vers la Plateforme ESV est parfois tardive et met en péril une actualisation régulière des données.

10. `https://shiny-public.anses.fr/Xylella_fastidiosa/`

Ainsi, le montage de la plateforme et la centralisation des données ont permis de mettre en évidence la nécessité de leur harmonisation. Bien que les partenaires soient volontaires, cette harmonisation est longue, notamment parce que les agents de terrain ne voient pas toujours les implications sur le traitement de données et inversement les ingénieurs de la plateforme ne connaissent pas les contraintes des agents sur le terrain. L'extension du travail des petites « mains de la connaissance » [Denis and Pontille, 2012], hors de la plateforme n'est pas chose facile :

> "*Ça serait bien d'harmoniser les données. Je pense que la création de la plateforme a permis de mettre le doigt sur certains problèmes. C'était peut-être comme ça avant mais nous on essaie de pousser. On leur explique que ce n'est pas possible de passer une semaine à nettoyer un jeu de données. [. . .] Le fait d'aller sur le terrain, les gens de la DGAl ont vu comment les SRALs récupèrent les données. [. . .] Une personne du SRAL m'a montré comment elle fait. Elle fait le prélèvement sur l'arbre, elle prend googlemaps® sur son portable, attend que le point bleu arrête de bouger et récupère les coordonnées GPS. Ces coordonnées sont écrites sur un papier brouillon, puis c'est recopié sur un papier officiel de prélèvement et en rentrant au bureau le soir, c'est mis sur informatique. Je me suis dit tout s'explique ! [. . .] La FREDON ils ont une tablette. La DRAAF a dit qu'ils essaieraient de donner des tablettes aux agents des SRALs mais ça a un coût financier.*" Agent travaillant sur la plateforme ESV

Le fait que les agents de la plateforme qui nettoient les données rencontrent les personnes mobilisées dans la collecte de celles-ci a permis un échange de connaissances mais également une meilleure compréhension des pratiques et donc des contraintes des uns et des autres.

Ce qui apparaît comme un obstacle et un problème pour les agents (ici des données disparates dues à leur collecte) met en visibilité la plateforme en tant qu'infrastructure en construction. En effet, ces « ajustements » nécessaires à l'harmonisation des données pour améliorer le travail des agents de la plateforme mais également des SRALs reflètent une

autre propriété de l'infrastructure avec les conventions qui s'établissent entre des systèmes de pratiques [Star and Ruhleder, 2010]. L'infrastructure est à la fois façonnée et façonne les conventions d'une communauté de pratiques. Dans le cas présent, la base de données de la plateforme repose sur les données issues de la surveillance officielle et est donc façonnée par les SRALs et plus généralement par la DGAl et la législation. Néanmoins, la plateforme façonne également les pratiques mises en œuvre dans la collecte des données avec des initiatives d'agents pour la faire évoluer. Ce deuxième point a été facilité par la rencontre physique entre les agents (de la plateforme et des SRALs) et surtout par l'observation et l'échange autour des pratiques des agents du SRAL en situation de collecte des données.

Le financement de la plateforme : un genre de *crowdfunding* institutionnel

La plateforme ESV ne possède pas de fonds propres puisqu'elle n'a pas de personnalité physique. Chaque partenaire met à disposition de la plateforme des fonds mais également du personnel et des structures physiques (bureaux, équipements, etc) notamment avec la participation de ses membres aux groupes de travail qui est basée sur le volontariat. Ainsi, dans le cadre de partenaires privés, l'absence de fonds peut représenter un frein à l'investissement de certaines parties prenantes. Néanmoins, ce frein est probablement aussi présent chez des acteurs publiques.

> "*Déjà l'année dernière mais aussi cette année on a soulevé le point que la FREDON pourrait s'investir plus lors de la rencontre annuelle avec l'équipe de coordination. J'ai cru comprendre qu'il y avait une vague idée que FREDON France pourrait animer un GT. Je veux bien mais c'est du travail donc il me faut un financement car ça me prendra pas mal de temps.*" Collaborateur réseau FREDON France

Cette limite de fonctionnement est bien identifiée par les parties prenantes de la plateforme qui y sont impliquées.

> "*La plateforme n'a pas de budget, c'est ce que chaque membre fournit. Donc chacun participe avec sa présence, son temps. Ça limite l'engagement. [. . .] Comme il n'y a pas de financement c'est chacun donne ce qu'il peut et au final peut-être que le GT de la plateforme passe en dernière position parce qu'ils ont d'autres projets financés à côté.*" Agent du MAA

Néanmoins, des solutions sont mises en place pour l'obtention de financements avec la participation de la Plateforme ESV à des projets de recherche soit en tant que participant (avec la soumission d'un projet) soit via son implication sur un projet de recherche existant. De plus, lorsque des interprofessions par exemple sollicitent la plateforme pour un accompagnement dans le cadre d'une évaluation de l'état sanitaire d'une culture et de l'identification de facteurs de risque, la collecte et l'analyse biomoléculaire des données est prise en charge par l'interprofession. Ces données peuvent par la suite être utilisées par les membres de l'équipe opérationnelle de la plateforme dans le cadre de cet accompagnement.

Visibilité et mobilisation de la plateforme

Un travail de présentation et d'explicitation de la Plateforme ESV ainsi que de ses missions est réalisé notamment par les coordinateurs avec des interventions dans des séminaires institutionnels ou académiques. Cette mise en avant de la Plateforme ESV est à l'origine de son expansion, avec une augmentation du nombre d'acteurs qui sont en capacité de s'en saisir dans le cadre d'un appui aux enjeux qui touchent notamment à la surveillance (par exemple l'amélioration des dispositifs de surveillance). Néanmoins, bien que le nombre d'entretiens menés auprès de personnes qui ne sont pas des parties prenantes de la plateforme ou de ses GT soit réduit (deux personnes proches des professionnels de la viticulture et deux agents INRAE), aucune d'entre elles ne perçoit ce qui est produit. Il s'agit probablement de l'effet du changement de cadrage et de périmètre que nous avons décrit au moment de son institutionnalisation.

Dans le cadre d'acteurs en lien avec les professionnels, cette méconnaissance de la plateforme induit le fait qu'elle ne sera pas facilement mobilisée par eux. Quant aux agents INRAE, l'idée de la plateforme est saluée mais ils ne voient pas les productions de la plateforme. Or, par l'appréciation de productions (de qualité), malgré l'absence de fonds, les chercheurs pourraient probablement être plus facilement mobilisés. Quant aux professionnels, ils seraient plus à même de connaître la plateforme et les outils qu'elle peut leur apporter et ainsi, ils pourraient penser à la mobiliser le cas échéant.

4.3.2.4 Les plus-values essentielles à l'ancrage de la plateforme en tant qu'infrastructure

Malgré les difficultés relevées précédemment (absence de fonds directs et visibilité), la Plateforme ESV apporte une réelle plus-value aux différents partenaires et cette plus-value est bien identifiée, notamment par les acteurs de la recherche.

> "*Pour nous, institution de recherche, [la plateforme] c'est clairement une façon de valoriser nos travaux, en contribuant aux politiques publiques. Ça c'est très important. Et c'est aussi une façon d'alimenter les recherches en retour. Donc ça c'est indirect en quelque sorte. C'est-à-dire à la fois de mettre à disposition des données pour les équipes de recherche qui vont faire de la recherche académique sur ces données. [. . .] D'autre part, ça stimule les recherches au sens où ça donne une place à la thématique des crises sanitaires, ça donne une sorte d'ancrage et un accès à des compétences en statistiques et en traitement de données qui vont potentiellement stimuler des équipes de recherche sur ce genre de sujets. Ce que l'on n'avait pas anticipé au départ, c'est que ça peut aussi renforcer et stimuler les partenariats mis en place avec certaines filières professionnelles.*" Agent INRAE

La plateforme est à l'origine à la fois d'un renforcement des collaborations entre les différents acteurs et de la création d'un dynamisme autour de la problématique des crises sanitaires qui est centrale aujourd'hui. Cette thématique est déjà au cœur des préoccupations d'INRAE avec des réflexions sur les émergences autour de l'action transversale EpiEmerge [Sache and Barnouin, 2004], puis du métaprogramme SMACH (Sustainable Management of Crop Health) de INRAE [INRA, 2015], et enfin sur les crises sanitaires avec notamment l'initiation d'un groupe de travail en 2014 pour traiter ces sujets dans le cadre du futur schéma stratégique du département SPE.

De plus, la plateforme assure un accompagnent et un soutien dans la gestion d'organismes de quarantaine via ses groupes de travail. Dans le cadre du groupe de travail sur *Xylella fastidiosa* par exemple, une mission spécifique a été déployée en Occitanie suite à la découverte de la bactérie avec le déplacement des participants du GT sur les

lieux et la mise en place de réunions et de concertations pour la gestion des foyers avec l'analyse des données de surveillance existantes et la réalisation de cartes des territoires à risques vis-à-vis de la bactérie. Le risque de l'expansion de la bactérie sur les territoires est défini selon la similitude des territoires indemnes avec les territoires infectés en terme pédo-climatique.

> "*La plateforme a été un soutien lors de l'arrivée de la bactérie sur le territoire, avec la production de cartes de risques [par l'équipe opérationnelle] et qui sont mises à jour avec les nouveaux éléments.*" Agent du MAA

Enfin, les GTs de la plateforme permettent une mise en relation nouvelle ou renforcée entre les acteurs impliqués dans l'arrivée d'un agent phytopathogène dans le cadre de recherches, de surveillance et/ou de gestion.

- *"Les GTs font partie intégrante de la plateforme. Sans les GTs il n'y a pas de plateforme. Elle ne servirait à rien la plateforme sans GT pour moi. C'est la plus-value. Comme je le disais au départ, la plateforme c'est le fait de réunir les différents acteurs sur des thématiques particulières. Au COPIL on a que 7 partenaires et ça ne fait pas l'ensemble des acteurs potentiels qui sont impliqués dans la surveillance ou la santé des végétaux. La plateforme elle a besoin de ses GTs.*
- *Qu'est-ce que la plateforme apporte aux GTs ?*
- *Le COPIL permet d'avoir une orientation stratégique sur des différentes thématiques des GTs à mettre en place."*

Collaborateur du réseau FREDON France

Ainsi, la Plateforme ESV dans son ensemble mais également les GTs qu'elle abrite permettent d'apporter une plus-value aux parties prenantes et donc de faire vivre cette structure nouvellement créée.

Finalement, la construction de la Plateforme ESV a notamment été appuyée par l'arrivée de *Xylella fastidiosa* en France. Elle s'est mise en place sur les bases du groupe de travail existant à la DGAl en impliquant majoritairement le Ministère de l'Agriculture et les instituts de recherche avec l'Anses et INRAE dont des représentants la coordonnent.

Ces instituts mettent à disposition, pour le moment, la majorité des agents rattachés à cette infrastructure (pour la coordination et l'animation des GTs). De plus, les négociations engagées lors de sa mise en place ont majoritairement été menées entre le Ministère et les instituts de recherche qui avaient des objectifs et points de vue divergents, par exemple concernant la gestion des données. Ce point est aujourd'hui « fixé » en ce qui concerne le partage des données et la plateforme permet une avancée en termes de gestion avec des arrangements entre les différents acteurs pour la mise en base et le traitement de ces données. La construction de la plateforme impulsée par la découverte de *Xylella fastidiosa* et la médiatisation de la bactérie pose la question de son importance dans le paysage phytosanitaire français, et de savoir pourquoi son arrivée a constitué une accélération de la mise en place de la Plateforme ESV ? Est-ce la reconnaissance de son caractère dangereux, à l'origine d'une « crise sanitaire » dépeinte par certains médias ou acteurs professionnels, notamment suite à ses conséquences en Italie ? Ainsi, la prochaine sous-section porte un intérêt à la caractérisation de la bactérie par les acteurs de l'épidémio-surveillance et à une (potentielle) crise sanitaire dont elle serait à l'origine.

4.4 *Xylella fastidiosa* à l'origine d'une (potentielle) crise sanitaire en France ?

Pour comprendre si *Xylella fastidiosa* est à l'origine ou appréhendée comme une crise sanitaire, une analyse d'une partie des entretiens menés et présentés en début de cette section a été réalisée à partir des trois questions suivantes, extraites du guide d'entretiens (voir annexe E.1.2 page E3) :

1. Pouvez-vous me donner des exemples de crises sanitaires françaises (également dans le domaine de la santé des végétaux) ?
2. Au regard de ces exemples, d'après vous qu'est-ce qu'une crise sanitaire ?
3. Qu'en est-il pour *Xylella fastidiosa* selon vous ? Est-ce une crise sanitaire (en Italie, Corse, PACA, Occitanie) ? Si non, est-ce que ça pourrait le devenir ?

4.4.1 Qu'est-ce qu'une crise sanitaire ?

Le terme de crise sanitaire est communément utilisé dans le cadre d'épidémies dans la santé humaine, que ce soit des maladies affectant directement les personnes ou des problèmes sanitaires liés aux produits consommés. En revanche, ce terme est plus récemment utilisé dans le cadre des maladies végétales qui sont plus souvent qualifiées de fléau ou de problème phytosanitaire mais rarement de crise sanitaire.

Ainsi, nous allons nous pencher sur la définition d'une crise sanitaire dans le monde du végétal. Cette analyse est réalisée sur la base des entretiens décrits au début de la section et qui regroupent des agents du Ministère de l'Agriculture (Centrale et SRAL), de l'Anses, d'INRAE, de la FREDON et des interprofessions, avec une majorité de participants au groupe de travail sur *Xylella fastidiosa* de la plateforme d'épidémio-surveillance. L'analyse ci-dessous présentera les résultats finalisés et synthétisés pour les différents entretiens.

En début d'entretien, la majorité des personnes, bien qu'elles soient impliquées de par leur profession dans le domaine de la santé du végétal, évoque très rapidement - et dans un premier temps- des exemples de crises sanitaires portées sur la santé humaine et la santé animale avec la crise sanitaire du covid-19 mais également la grippe aviaire ou la maladie de la vache folle. Suite à une demande de précisions sur les crises phytosanitaires, le phylloxera et la flavescence dorée sont les maladies les plus citées. Néanmoins, le terme de crise est souvent évalué comme étant « trop fort » pour parler de pathologie végétale.

Concernant la définition d'une crise sanitaire, quatre composantes majeures peuvent être identifiées suite à l'analyse des 31 entretiens (grille d'entretien en Annexe E.1.3 page E6).

En premier lieu, un organisme nuisible et/ou de quarantaine, ayant un impact « sur la santé » est à l'origine d'une crise sanitaire. Une majorité des personnes interrogées définissent la crise sanitaire par ses impacts qu'ils soient agronomiques, environnementaux, socio-économiques avec l'implication de réactions des parties prenantes concernées ou encore patrimoniaux ou politiques. Les impacts socio-économiques sont très fréquemment cités par rapport aux autres impacts. Par la suite, des aspects spatio-temporels sont évoqués. L'aspect temporel de la crise sanitaire revient régulièrement avec la notion d'« ur-

gence » et la qualification d'une crise comme étant « soudaine ». Dans le cadre de l'aspect temporel, la notion d'anticipation est également évoquée. Quant à l'aspect spatial, la crise sanitaire est définie par filière ou par territoire/zone de présence d'un organisme nuisible.

Enfin, lorsque se pose la question d'une crise sanitaire, la gestion (les solutions à apporter) de celle-ci est également évoquée avec le fait que lors d'une crise sanitaire il n'y a pas de maîtrise de l'organisme pathogène, avec une absence de moyens de lutte et l'apparition de dégâts. De plus, les mesures de gestion sont souvent évoquées avec la mise en place d'une surveillance mais aussi d'une réglementation spécifique et de moyens financiers alloués aux mesures de gestion de la maladie. Ces aspects renvoient au besoin de mettre en place une « organisation extraordinaire » avec des changements de pratiques et des apprentissages afin de « s'adapter ». Ces termes qui traduisent une certaine globalité de la crise sanitaire sont utilisés seulement par quelques acteurs.

Ainsi, à la lumière des différentes définitions, la crise sanitaire pourrait être définie comme un évènement soudain lors d'une émergence ou réémergence d'un organisme de quarantaine nuisible sur un territoire ou à l'échelle d'une filière, sans moyens de lutte existants et avec des impacts agronomiques, socio-économiques, environnementaux importants et qui nécessitent donc la mise en place de mesures de surveillance et de gestion coûteuses. La crise sanitaire se manifeste donc par l'irruption d'un pathosystème dans le « monde du vivant » avec des conséquences à traiter par le gestionnaire du risque ainsi le pathosystème devient « socio-pathosystème » [Charrier and Barbier, 2021].

Suite à cette définition générale d'une crise sanitaire, la question suivante repose sur le fait de savoir si *Xylella fastidiosa* est à l'origine d'une crise sanitaire. Cette question permet de mettre en lumière la place accordée à la bactérie dans le champ de l'épidémio-surveillance et de la santé des plantes et de la santé plus globalement. Cependant, il est important de la mettre en regard avec la définition générale de la crise sanitaire.

4.4.2 La bactérie *Xylella fastidiosa* est-elle à l'origine d'une crise phytosanitaire ?

Pour rappel en France, *Xylella fastidiosa* est détectée en milieux urbains et semi-naturels depuis 2015 et début 2022, un olivier en production en Balagne (Corse) a été détecté positif. En revanche, en Italie et en Espagne, la bactérie a été détectée sur plantes cultivées (respectivement les oliviers et les amandiers) et elle est à l'origine de destructions massives dans les Pouilles. Une grande majorité des enquêtés connaissent la situation italienne et soulignent que dans ce pays, la bactérie est à l'origine d'une crise sanitaire cependant, pour ce qui est de la France, la situation est moins claire. Dans le cadre de cette étude, deux idéaux types s'opposent. D'une part, une majorité des personnes interrogées travaillant au sein des interprofessions estiment que la bactérie n'est pas à l'origine d'une crise phytosanitaire ou qu'elle n'est que potentielle.

> "*A court terme, forcément non, officiellement pour l'instant ça l'est pas. Parce que aujourd'hui on n'a pas eu de crise en soi. Ça peut être une crise qui peut arriver très rapidement par un manque de contrôle. On l'a vu dans les Pouilles, entre la déclaration des premières détections de Xylella fastidiosa et la situation aujourd'hui. Dans certaines régions de l'Italie, on voit bien qu'il y a un vrai problème pour les professionnels. C'est ça qui est intéressant, nous on n'est pas dans une crise sanitaire officielle parce que l'objectif est de ne pas arriver dans une crise officielle mais d'être en amont de tout ça [en Corse]. [. . .] Je considère que Xylella, il faut s'en préoccuper.*" Interprofession

Il est important de noter que les personnes interrogées travaillent sur le continent et non pas en Corse où la bactérie est plus présente et plus médiatisée.

D'autre part, pour les acteurs des institutions ministérielles et académiques la bactérie est à l'origine d'une crise sanitaire, soit de façon formelle soit dans le cadre de la gestion qui est réalisée concernant la détection de la bactérie en France. En effet, au MAA, l'émergence de la bactérie a été gérée comme une crise sanitaire, selon un de ses agents rencontré, avec une anticipation des conséquences pour l'agriculture françaises identiques à celles observées en Italie. Cette gestion de crise a été également ressentie dans les directives européennes avec la hiérarchisation des organismes de quarantaine dans le règlement « Santé des Végétaux » en 2016 et le position de *Xylella fastidiosa* comme étant la maladie de quarantaine la plus importante. Cet agent m'a expliqué qu'aujourd'hui, avec

le recul, les agents se rendent compte que la situation n'est pas (encore) celle de l'Italie mais la réglementation dans le cadre de la surveillance et de la gestion de foyers est très contraignantes car « on a le traumatisme CoDiRo » et que la situation italienne est encore très suivi et présente au MAA.

Ainsi, cette perception de l'arrivée de la bactérie comme une crise sanitaire par les institutions constitue une mise à l'épreuve à l'origine de la mise en place du GT et de la Plateforme ESV. La construction du GT représente donc une réponse à l'éventualité d'une crise sanitaire en France, avec par la suite la construction d'un dispositif plus vaste représenté par la plateforme.

La fin de cette section sera consacrée à ce processus de construction d'une réponse avec un regard porté sur le GT *Xylella fastidiosa*. En premier lieu, la plateforme sera présentée selon les membres du GT *Xylella fastidiosa* afin de comprendre le point de vue des participants de ce GT sur cette infrastructure et de pouvoir la mettre en regard par rapport à sa description fonctionnelle (section III.4.2.2 page 254). Cette seconde approche de la définition et du fonctionnement de la plateforme soulignera « le rôle » du GT, prégnant dans les relations entre les membres de la plateforme en tant qu'objet frontière [Star and Griesemer, 1989].

4.4.3 La Plateforme ESV vue par les membres du GT *Xylella fastidiosa*

Nous avons vu le fonctionnement de la Plateforme ESV et des GTs qui lui sont rattachés selon sa définition arrêtée dans la convention signée par les partenaires [MAA et al., 2018]. Nous allons à présent nous pencher sur la définition et le fonctionnement de la plateforme selon les membres du GT *Xylella fastidiosa*. L'objectif de cette « double description » est de pouvoir comprendre la mise en œuvre de la convention de façon opérationnelle.

En premier lieu, il est important de considérer l'hétérogénéité des membres du GT. En effet, certains membres de la plateforme ESV (de l'équipe de coordination et de l'équipe opérationnelle) participent à ce GT alors que d'autres membres ne sont pas directement liés aux activités de la plateforme. Ces derniers sont issus de différents mondes sociaux : la DGAl (avec un membre qui provient de cette institution et qui pilote le GT et des référents

nationaux rattachés à la DGAl et basés en DRAAF), les SRALs, INRAE, l'Anses, la FREDON, les laboratoires départementaux, les interprofessions et chambre d'agriculture. Ainsi, alors que des parties prenantes ont une vision plus centrée sur le réglementaire de l'arrivée de *Xylella fastidiosa* et de sa gestion au regard de la loi européenne et française (DGAl, SRALs) d'autres ont une vision plus opérationnelle avec la mise en place de la réglementation et des contrôles, la surveillance des symptômes et le poids des contraintes réglementaires sur les exploitations agricoles (FREDON, interprofessions). Et enfin, les agents de l'Anses et INRAE ont une vision de recherche vis-à-vis de l'arrivée de la bactérie avec des problématiques liées à sa détection, son expansion et le rôle de ses insectes vecteurs. Bien que les objectifs de ces deux instituts soient divergents (section III.3.3 page 228), ils partagent des connaissances et des compétences communes, par exemple, des connaissances en biologie moléculaire pour la détection de la bactérie qui ne sont pas forcément partagées par les autres parties prenantes du GT, ou pas de façon aussi pointues et précises.

Les membres du GT impliqués dans la Plateforme ESV (équipe de coordination ou opérationnelle) en connaissent son fonctionnement. Néanmoins, ils reconnaissent que ce mode de fonctionnement n'est pas habituel et qu'ils ont mis du temps à le comprendre. En effet, il n'y a pas de hiérarchie sur la plateforme mais les agents appartenant à une institution (INRAE, Anses, DGAl) sont pris dans une organisation hiérarchique au sein de leur institut. Les agents ont plusieurs « casquettes » par exemple en tant que chef d'unité/ de service dans leur institut respectif mais aussi coordinateur de la plateforme et dans ce cas, il n'y a pas de relation de hiérarchie dans le cadre de la plateforme mais ces relations hiérarchiques existent entre les mêmes personnes au sein de l'institut.

> "*Mon arrivée au sein de la plateforme a nécessité un gros travail d'adaptation à un environnement qui ne m'était pas familier. J'ai dû me familiariser avec un mode de fonctionnement qui pour moi était assez atypique, travailler avec plusieurs partenaires en mode groupe de travail. Il m'a fallu maîtriser le fonctionnement, les relations au sein de la plateforme, les différentes thématiques traitées et comment tout ça s'articule, et enfin me positionner avec mon rôle au*

sein de la plateforme et beaucoup d'informations à traiter." Agent travaillant pour la Plateforme ESV

En revanche, pour les membres du GT qui ne sont pas impliqués dans la plateforme, sa définition et son fonctionnement semblent flous voire parfois inconnus. Alors que certains, pris dans des institutions publiques ont cerné l'appartenance du GT à la plateforme, d'autres utilisent ces deux termes indifféremment pour parler du groupe de travail et enfin, certains membres de celui-ci qui ont participé au moins à une réunion plénière de ce groupe de travail ne considèrent pas en faire partie.

"*Non justement je ne suis pas dans le groupe de travail Xylella, je me suis raccroché au groupe de travail de la rédaction du PNISU mais je ne suis pas dans le GT Xylella de la plateforme [. . .]. Là où j'ai participé c'était en fait ce séminaire de la plateforme, c'est assez général, il n'y avait pas que les membres du GT mais effectivement il y a pu y avoir je pense des réunions spécifiques du GT plateforme Xylella fastidiosa . . . je ne sais pas quand puisque je n'y suis pas. [. . .] Là j'avoue que c'est un peu confus pour moi ou alors je n'ai pas compris tout ce qui se passe. On a eu cette invitation mais il faudrait demander la liste du groupe de travail à un coordinateur de la plateforme mais moi je n'en fais pas partie. Ou alors on a oublié de me dire que j'en faisais partie.*" Un membre du GT

De plus, la vision du GT est différente selon les parties prenantes et les institutions auxquelles elles sont rattachées. Alors que les organisations liées aux professionnels voient les réunions du GT comme une information descendante depuis le Ministère (la DGAl) jusqu'au terrain, la DGAl se saisit quant à elle du GT pour la mise en place et la discussion de la surveillance du territoire en lien avec les recherches menées et la législation en vigueur. Cependant, certains chercheurs voient ce GT comme un groupe d'échange scientifique sans percevoir la dimension réglementaire qui « dicte » les mesures de surveillance et d'analyse à mettre en place selon les méthodes officielles.

Le mot de « plateforme » peut également être à l'origine d'incompréhension pour certaines parties prenantes. Un membre de la plateforme ressent régulièrement l'effet de ce terme utilisé pour désigner de nombreux objets très différents. Par exemple, lorsqu'on s'adresse à lui afin « d'avoir un accès à la plateforme » la personne souhaite accéder au site web de la plateforme. Un membre du GT, lorsque je lui ai demandé s'il connaissait la Plateforme ESV, s'est questionné quant au fait de savoir si la plateforme était la même que celle où « il y a tous les diaporamas du GT qui sont mis [. . .] il y a l'outil RIBESS aussi qui est sur cette plateforme-là ». Dans le cadre de cet entretien, la personne interrogée parlait certainement du cloud de la Plateforme ESV qui regroupe des documents partagés entre les membres du GT et plus largement de la plateforme. Cela souligne bien l'importance du rôle communicationnel de la plateforme.

Enfin, souvent les personnes qui sollicitent un soutien de la plateforme n'ont pas conscience du fonctionnement de cette dernière, de son organisation et dans les faits de qui peut prendre en charge leur demande. Ce n'est pas la plateforme qui peut prendre en charge leur sollicitation mais c'est l'équipe opérationnelle qui peut répondre à un besoin suite à une validation lors d'un COPIL.

> "*Quand on me parle de LA plateforme souvent on me dit « la Plateforme elle peut le faire ! ». En fait, pour vous c'est quoi la plateforme ? La plateforme c'est 7 partenaires autour d'une table. Donc la plateforme, c'est compliqué. Qui physiquement derrière son ordinateur va taper ? Du coup je dis souvent pour vous la plateforme c'est l'entité la plateforme qui n'a même pas d'entité juridique, il n'y a pas de signature « la plateforme ESV » par contre si on nous dit est-ce que l'équipe opérationnelle peut venir en appui, là c'est plus concret. Parfois quand les gens disent la plateforme peut le faire c'est en fait l'équipe opérationnelle de la plateforme qui peut faire. C'est tout bête mais souvent ça peut amener à des quiproquos. [. . .] Quand on me dit la plateforme peut le faire, je réponds, oui le comité de pilotage peut se mettre autour d'une table et réfléchir si on répond à votre sollicitation mais après c'est pas la plateforme. Il y a une équipe opérationnelle ou des membres du GT qui travaillent dessus. C'est sûr, la plateforme peut s'en charger mais qui*

va faire le boulot derrière c'est pas très défini ! " Agent travaillant pour la Plateforme ESV

Cette description opérationnelle de la plateforme qui reprend la dimension du travail invisible, soulève plusieurs points. En premier lieu, l'opérationnalité vécue par les membres du GT est différente de l'organisation fonctionnelle décrite dans la convention et les documents officiels. En effet, l'organisation et la structure de la plateforme est mal connue des membres du GT, qui « participent seulement » aux réunions sans avoir une vision claire de la globalité de la plateforme. Cependant, il y a plusieurs types d'acteurs qui « vivent » leur participation au GT de la plateforme différemment. Pour les interprofessions, ces réunions relèvent d'informations descendantes depuis la DGAl. Pour les scientifiques en revanche, le GT est vécu comme une instance de mise en commun de l'expertise scientifique autour de la bactérie dont l'aspect réglementaire est parfois occulté. Finalement, le GT rassemble des acteurs de l'épidémio-surveillance avec divers objectifs mais qui sont tous en capacité d'échanger autour d'une problématique commune - ce qui est une propriété d'une infrastructure de connaissance - qui en fait un objet frontière qui rassemble et permet la mise en action de la Plateforme ESV.

4.4.4 Le GT : objet frontière de mise en visibilité de la plateforme face aux « crises » ?

Finalement, cette approche inductive de la Plateforme ESV et du GT *Xylella fastidiosa* avec à la fois une étude documentaire et la réalisation d'entretiens permet de mettre en lumière la construction de la plateforme en tant qu'infrastructure, visible à la fois dans l'analyse documentaire et les entretiens mais également le caractère d'objet-frontière du GT qui va être discuté à présent.

Encadré 20 : Le concept d'objet-frontière

Le concept d'objet-frontière a été développé par Star et Griesemer [Star and Griesemer, 1989] et est aujourd'hui largement utilisé dans plusieurs domaines dont la sociologie et les STS [Zeiss and Groenewegen, 2009]. Parfois considéré comme complémentaire de l'approche Latourienne de la théorie de l'acteur réseau [Mévellec, 2021] ou allant au-delà de cette dernière [Granjou and Mauz, 2009], ce concept reste très lié à cette théorie et à l'activité

scientifique en ne la considérant pas seulement à l'intérieur du laboratoire mais également comme une activité distribuée en dehors de ce dernier.

L'objet frontière est caractérisé par trois points fondamentaux dont un qui a été particulièrement développé et largement mobilisé : la flexibilité interprétative [Leigh Star, 2010]. Cette notion renvoie à la différence d'interprétation d'un objet par des personnes de différents mondes sociaux par exemple. Cependant, deux autres caractéristiques ont été développées dans le cadre du concept d'objet-frontière : la structure (matérielle et organisationnelle) des objets-frontières et la question de l'échelle [Leigh Star, 2010].

> "*Les objets-frontières sont un arrangement qui permet à différents groupes de travailler ensemble sans consensus préalable. Toutefois, leurs formes ne sont pas arbitraires. Ce sont essentiellement des infrastructures organiques apparues à cause « des besoins d'information » comme Jim Griesemer et moi-même les avions nommés en 1989. J'ajouterai maintenant « les exigences de l'information et du travail » perçues localement par les groupes qui veulent coopérer.*" [Leigh Star, 2010]

De plus, la construction parfois difficile des objets frontières avec leur stabilisation et leur trajectoire dans le temps est peu étudiée, tous comme les différentes façons de les utiliser et dont les acteurs sont attachés à l'objet [Meyer, 2009].

D'après l'analyse documentaire, les GTs semblent orientés sous l'égide de la plateforme avec son comité de pilotage et l'équipe de coordination qui mettent en lien de nombreux acteurs de l'épidémio-surveillance pour une maladie ou un pathogène donné avec une finalité de surveillance officielle.

> "*La Plateforme d'Épidémiosurveillance en Santé Végétale est en charge d'améliorer la surveillance de la santé des végétaux en France en associant 7 acteurs publics et privés nationaux reconnus en leur haut niveau d'expertise.*"
> Site de la Plateforme ESV

Cependant, lors de la rencontre avec les participants du GT *Xylella fastidiosa*, cette instance apparaît comme un objet-frontière au-delà de la surveillance officielle. En effet, les participants du groupe de travail ne visualisent pas, pour la majorité d'entre eux, la structuration de la plateforme ainsi que ses objectifs de surveillance et de réponse à la réglementation. Alors que le Ministère souhaite la mise en œuvre d'un dispositif pour gouverner et répondre aux exigences législatives, certains chercheurs perçoivent et vivent ce groupe de travail comme un groupe d'expertise scientifique pour échanger sans forcément avoir une vision réglementaire au-delà des recherches menées. Ainsi, au sein du GT, la relation entre les scientifiques et le Ministère semble asymétrique et c'est cette instance qui permet son existence et au-delà la rencontre de nombreux acteurs avec des objectifs différents. En effet, ce groupe de travail rassemble chacune et chacun autour d'un sujet commun mais avec un maintien de différences de points de vue.

> "*[L'infrastructure] Se répare de manière incrémentale et modulaire, ni en une seule fois ni intégralement. Parce que l'infrastructure est massive, stratifiée et complexe, et parce qu'elle signifie localement des choses différentes, elle n'est jamais modifiée par le haut. Les changements exigent du temps et des négociations, ainsi que des ajustements à d'autres aspects des systèmes. Personne n'est vraiment responsable de l'infrastructure.*" [Star, 2018]

De plus, cette réponse législative nécessite de travailler sur la mise en œuvre d'une surveillance réglementée dans les zones contaminées et donc de réagir à la détection de la bactérie. C'est par exemple le cas dans le cadre de la « mission Occitanie », impliquant les membres du GT et visant à « apporter un appui méthodologique à la DRAAF (SRAL) Occitanie pour définir une stratégie de surveillance permettant de déterminer l'étendue réelle des contaminations [. . .] avec pour objectif de formuler des recommandations sur le dispositif régional ». La mise en place de cette mission fait état de la structuration par le bas de la plateforme avec une demande de cette mission par les agents du SRAL (et de la FREDON) confrontés à la mise en place de la surveillance de la bactérie. Ce déplacement sur le terrain est également précurseur dans les activités des GTs et montre qu'aujourd'hui encore, le GT *Xylella fastidiosa* est pionnier dans les activités de la plateforme.

Ces travaux questionnent quant à la préparation de la propagation de la bactérie en zone cultivée et font montre d'une réaction et d'une mise à disposition des parties prenantes plus qu'à une réelle stratégie intégrée de *preparedness*. Néanmoins, la question de la présence et de la propagation de cette bactérie est complexe à appréhender tant ses conséquences sont variables selon la sous-espèce présente et le(s) milieu(x) qui l'abrite(nt). Ainsi, cette complexité questionne quant à la préparation qui pourrait être mise en œuvre face à *Xylella fastidiosa*. En effet, la recherche seule ne suffit pas, elle doit être prise en compte dans les mesures de gestion de la bactérie qui sont largement impactées par la réglementation européenne et française qui elles-mêmes ont un poids sur les recherches menées. De plus l'action publique en matière sanitaire suppose l'alignement des acteurs de la production ou de la gestion des espaces naturels. Ces questions seront discutées dans la dernière partie de ce manuscrit qui vise à faire de cette recherche doctorale une recherche finalisée autour de la question de la *preparedness* à partir du regard transdisciplinaire qui s'est déployé depuis l'insecte, vers les chercheurs et en dehors du laboratoire vers les acteurs de la gestion du risque et les professionnels, puis vers la plateforme d'épidémiosurveillance.

Discussion

L'objectif de cette thèse était de produire des connaissances finalisées sur un organisme de quarantaine à lutte obligatoire récemment découvert sur le territoire français et avec une gamme de plantes hôtes très large, incluant des plantes cultivées. Les travaux de recherche, bien que centrés sur les insectes vecteurs de *Xylella fastidiosa*, portent un intérêt à l'ensemble des réseaux d'interactions impliquant la bactérie avec l'étude des relations bactérie – insectes et insectes - plantes. Cependant, pour comprendre ce pathosystème ainsi que la surveillance et la gestion de cet organisme phytopathogène, il est nécessaire de porter un intérêt aux acteurs sociaux impliqués. Pour cela, les travaux menés en sociologie ont été centrés sur la production de connaissances scientifiques, et les devenirs de cette production de connaissances hors du milieu de la recherche avec une étude de l'épidémio-surveillance française de *Xylella fastidiosa*. Cette discussion revient sur les principaux résultats, sur leur articulation pour la compréhension du pathosystème et leur mobilisation dans le cadre de la mise en place de la *preparedness* face à une épidémie végétale. Cette discussion portera également sur le caractère transdisciplinaire des travaux menés.

1 Les apports de la thèse

1.1 La mise en évidence de la bactérie dans les insectes vecteurs et l'étude des interactions trophiques plantes - insectes

1.1.1 Mise en évidence de la bactérie dans les insectes vecteurs

L'analyse de 1 200 *Philaenus spumarius* collectés en Corse entre 2016 et 2019 a permis de mettre en évidence la présence de *Xylella fastidiosa* ssp *multiplex* sur l'ensemble de ce territoire [Farigoule et al., 2022]. La mise en œuvre de la méthode de PCR en deux

étapes à grande échelle permet de montrer la faisabilité de l'utilisation des insectes dans la surveillance de la bactérie [Cruaud et al., 2018].

- Les analyses temporelles de certains sites ne montrent pas de tendance forte vers une augmentation de la prévalence de la bactérie au fil des années. La prévalence de la bactérie dans une population d'insectes peut être importante (plus de 10 %) pour une année n et être nulle pour l'année $n + 1$ (figure 12). Ainsi, ces résultats n'indiquent pas la présence d'un front épidémique comme c'est le cas en Italie par exemple [Kottelenberg et al., 2021, Saponari et al., 2019] mais plutôt une présence diffuse et à bas bruit de la bactérie.
- *Xylella fastidiosa* est essentiellement présente en milieu semi-naturel (où sa détection date de 2015) et une occurrence a été détectée en parcelle d'oliviers en 2022 [Giannechini, 2022]. Cette situation est également très différente de la situation des Pouilles où la bactérie est largement présente en oliveraies [Martelli et al., 2016, Saponari et al., 2013]. Ainsi, bien que la même sous-espèce soit présente dans les deux régions, la prévalence et l'expansion de la bactérie sont très différentes avec un front de colonisation dans les Pouilles, où les oliveraies s'étendent largement contre une présence diffuse de la bactérie en Corse dans un habitat majoritairement semi-naturel. Les résultats des analyses d'occurrence et de modélisation ont montré que la Corse restera climatiquement favorable à la présence de *Xylella fastidiosa* et à celle de son principal insecte vecteur dans les décennies à venir. Ainsi, le risque de transmission de la bactérie, notamment dans les parcelles cultivées, reste important. La surveillance dans cette région doit perdurer et considérer différents types de paysages. En effet, l'étude des communautés d'insectes vecteurs en oliveraies et en clémentineraies a montré la présence de plusieurs insectes vecteurs avec majoritairement *Philaenus spumarius* mais également *Neophilaenus campestris* dans les parcelles et aux abords [Mesmin et al., 2022a].
- Enfin, l'introduction d'une nouvelle sous-espèce de la bactérie ou d'un insecte vecteur plus performant que *Philaenus spumarius* (dont *Graphocephala atropunctata* ou *Homalodisca vitripennis*) impacterait l'épidémiologie de la maladie de façon imprévisible et potentiellement soudaine [Blua et al., 2000, Purcell, 2013, Sorensen and Gill, 1996]. Il est donc important à la fois de surveiller les orga-

nismes du pathosystème présents sur le territoire mais également l'introduction d'autres organismes (insectes vecteurs ou sous-espèces/souches de la bactérie).

Ces travaux en zone infectée montrent qu'il est important d'appréhender le pathosystème dans son ensemble et de réaliser une surveillance de *Xylella fastidiosa* en zones cultivées et en zones semi-naturelles, ces dernières pouvant constituer des réservoirs de la bactérie. La transmission à la parcelle est due aux insectes vecteurs ubiquistes et polyphages [Cruaud et al., 2018, Mesmin et al., 2022a]. L'étude des interactions entre les plantes et les insectes vecteurs permet donc d'anticiper l'arrivée de la bactérie sur des territoires indemnes [Farigoule et al., 2020]. En effet, leur compréhension devrait être à l'origine de mesures de prophylaxie plus efficientes. Par exemple, mettre en place des mesures de lutte contre un insecte vecteur seulement en parcelles cultivées alors que celui-ci est présent dans les milieux semi-naturels adjacents ne permet pas de casser les chaînes de transmission de *Xylella fastidiosa*.

1.1.2 L'étude des interactions trophiques plantes - insectes

Les travaux menés en Nouvelle-Aquitaine, PACA et Occitanie pour reconstruire les réseaux d'interactions plantes - insectes s'inscrivent dans les mesures d'anticipation en zone indemne. Bien que des méthodes d'analyse globale des interactions se démocratisent depuis les années 1990 [Ings et al., 2009], ces travaux sont rares concernant ce pathosystème et d'autant plus en France [Almeida et al., 2019]. Ces études qui nécessitent l'observation des interactions *in natura* sont chronophages et coûteuses. Quand cela est possible, elles sont aujourd'hui complétées par la biologie moléculaire pour limiter ce temps d'observation et/ou mettre en évidence des interactions invisibles à l'œil nu [Evans et al., 2016].

Les résultats obtenus lors des observations de terrain indiquent la présence de quatre espèces principales d'insectes vecteurs potentiels ou avérés de *Xylella fastidiosa* : *Philaenus spumarius, Neophilaenus capestris, Neophilaenus lineatus* et *Cicadella viridis,* qui ont été identifiées dans les trois régions étudiées.

- Ces espèces sont majoritairement retrouvées en strates herbacées et leur abondance est plus importante en prairies et en bordures de parcelles cultivées (vigne) par

rapport aux inter-rangs. De plus, *Philaenus spumarius* ne semble pas exprimer de préférence alimentaire forte pour *Cistus monspeliensis* ou une autre espèce végétale en région PACA et NAQ contrairement à ce qui est observé en Corse [Chartois et al., 2019, Cruaud et al., 2018].

- Ces observations mettent en évidence que les milieux semi-naturels et les bordures de parcelles sont plus favorables à la propagation de la bactérie. En revanche, très peu d'insectes ont été retrouvés dans les parcelles cultivées probablement parce que ce milieu est plus perturbé que leurs abords [Sanna et al., 2021] ou que les vecteurs montrent peu d'appétence pour la vigne (rostre fin pour certaines espèces). Ainsi, le risque de transmission de la bactérie du milieu semi-naturel aux plantes cultivées semble plus modéré.

Cependant, seules des interactions trophiques précises entre les larves et leurs plantes hôtes ont été mises en évidence car elles sont peu mobiles. L'observation des interactions plantes – insectes adultes est beaucoup plus difficilement réalisable et n'a pas pu être mise en œuvre. Ainsi, le fait d'associer un insecte adulte à un habitat semi-naturel ne signifie pas qu'il ne se nourrit pas dans les parcelles cultivées adjacentes. En effet, ces insectes ont une capacité de vol allant jusqu'à un kilomètre [Cornara et al., 2019]. Il est donc important de caractériser plus finement le régime alimentaire et cela a été tenté au moyen de méthodes de pointe en biologie moléculaire.

- La capture de gènes est une méthode plus sensible que la PCR en deux étapes mais elle est également plus couteuse. Dans le cadre de cette étude, les conditions de mise en application de cette méthode étaient complexes, bien qu'elle ait une forte sensibilité. En effet, l'ADN de la plante consommée par les insectes est présent en faible quantité (contrairement aux phytophages) et sa mise en évidence nécessite plusieurs marqueurs (contrairement à la mise en évidence d'espèces animales avec le *COI*). De plus, sur le terrain, une interaction plante – insecte non observée peut être inexistante ou due à un effort d'échantillonnage trop faible. A l'inverse, lors de la mise en œuvre de la capture, la mise en évidence d'une espèce de plante dans un échantillon doit être analysée précautionneusement car elle peut être due à de l'ADN de plante ingérée par l'insecte ou à une éventuelle contamination de l'échantillon, notamment par l'ADN d'organismes modèles étudiés au laboratoire.

- Le développement de cette approche de biologie moléculaire ne permet pas de s'affranchir des observations *in natura* mais elle pourrait permettre de compléter la liste des plantes consommées par les insectes. Cependant, la mise au point doit se poursuivre et il faut noter que sa mise en œuvre reste couteuse, ce qui limite son application dans le cadre de l'étude du régime alimentaire de milliers d'individus.

Ces résultats posent plusieurs questions qui dépassent la recherche académique et le contexte du laboratoire. En premier lieu, le développement de la méthode de PCR en deux étapes, permettant la mise en évidence de la bactérie dans les insectes vecteurs à partir d'un échantillonnage sans a priori, pose la question de sa mobilisation dans le système de surveillance officielle, notamment en zone indemne (en l'absence de symptômes sur plantes) ou en complément de la détection de *Xylella fastidiosa* dans les plantes en zone contaminée. De plus, la mise en évidence de la bactérie dans les plantes nécessite des méthodes similaires (basées sur la PCR) à celles utilisées sur les insectes [Cesbron et al., 2020, Dupas et al., 2019] et auraient donc pu être appliquées dans le cadre de cette recherche. Cependant, la mise en évidence de la bactérie dans ses plantes hôtes n'est pas seulement régie par des contraintes techniques mais également par des contraintes réglementaires qui expliquent également que ces interactions n'aient pas été étudiées au cours de ces travaux (absence d'agrément du laboratoire). Cette distinction entre la recherche de la bactérie dans les insectes vecteurs et dans les plantes hôtes pose donc la question de l'implication de sa détection dans l'un ou l'autre de ces organismes hôtes. La réponse à ces questions nécessite de mobiliser d'autres ressources disciplinaires pour comprendre les enjeux de la production de connaissances hors du laboratoire.

1.2 Les connaissances produites : mobilisations et enjeux hors du laboratoire

La mobilisation des méthodes du courant des études sociologiques des sciences et des techniques permet à la fois de comprendre le contexte de la recherche académique et les enjeux de ces recherches hors du laboratoire.

En premier lieu, l'analyse scientométrique couplée avec l'observation participante et la rencontre des acteurs de la recherche académique permettent de mettre en évidence une

recherche partitionnée en France entre la bactériologie avec l'étude de *Xylella fastidiosa* et ses plantes hôtes et l'entomologie avec l'étude des insectes vecteurs, tant à l'Anses qu'à INRAE.

- Les recherches sont également disjointes entre ces deux instituts, dont les objectifs diffèrent avec des contraintes régaliennes fortes à l'Anses qui sont absentes à INRAE. Néanmoins, les recherches concernant la bactérie ne sont pas disjointes selon deux courants de pensée entre entomologie et bactériologie et l'ensemble des preuves sont mobilisées quelle que soit la discipline exercée.
- Les recherches sont partagées et mobilisées à l'échelle mondiale avec une communauté scientifique restreinte et regroupée d'une part selon la discipline (bactériologie ou entomologie) et d'autre part selon les maladies provoquées par *Xylella fastidiosa*. Ainsi, les recherches européennes sont largement portées sur l'OQDS qui touche notamment l'Italie alors que les recherches américaines sont axées sur la maladie de Pierce au nord du continent et la CVC au sud (figure 6 page 42).
- Cependant, les recherches françaises se distinguent dans ce paysage puisqu'elles ne sont pas étroitement liées aux recherches menées sur l'OQDS mais aux recherches plus générales en bactériologie (figure 6 page 42). Les recherches en entomologie sont disjointes des recherches concernant l'OQDS, bien qu'elles soient majoritairement européennes (différence d'insectes vecteurs présents sur ce continent et en Amérique).

L'étude du couplage de la recherche entre l'Anses et INRAE met en lumière une forme de science réglementaire avec en retour un effet de la réglementation sur les recherches menées qui engendre des contraintes et des opportunités.

- L'investigation du rôle de la réglementation conduit à étudier l'appropriation des connaissances produites au sein des laboratoires par des instances réglementaires. Les résultats de cette recherche montrent que la bactérie est réglementée au sein de l'Union Européenne (bactérie de quarantaine à lutte obligatoire) et que la gestion de cette bactérie visant à son éradication est largement basée sur ses plantes hôtes, avec la destruction du végétal positif et des végétaux hôtes spécifiés dans la zone infectée autour du végétal contaminé.

- Les conséquences de la présence de la bactérie et de l'application de la législation (destruction des oliveraies italiennes dans les Pouilles notamment) ont été largement médiatisées. En France, la bactérie surnommée « tueuse d'oliviers » a fait la Une des journaux en Corse en 2015, avec des questions sur sa détection et la mise en place de la réglementation. Cette médiatisation a notamment participé à renforcer la responsabilité des scientifiques vis-à-vis de la détection de la bactérie.
- En effet, la mise en évidence d'un échantillon contaminé est à l'origine d'un processus de confirmation de cette analyse de première intention puis d'une destruction du végétal contaminé si elle est confirmée. De plus, les mesures d'éradication sont mises en œuvre avec l'arrachage des végétaux hôtes autour de la plante contaminée. L'appropriation de ce sujet par les médias a également contribué à modifier les rapports en place entre la recherche et l'État en associant la détection de la bactérie (et la sensibilité des méthodes mises en œuvre) avec le déploiement de la réglementation conduit par le gestionnaire du risque.

Pour terminer, porter un intérêt aux connaissances hors du laboratoire nécessite d'étudier les lieux au sein desquels les connaissances sont transférées, partagées à d'autres mondes sociaux. Dans le cas de la bactérie *Xylella fastidiosa*, un lieu privilégié d'échanges entre les scientifiques et les instances régaliennes mais également avec les interprofessions est le groupe de travail *Xylella fastidiosa* aujourd'hui associé à la plateforme d'Epidémiosurveillance en Santé du Végétal.

- La création de cette plateforme est intégrée dans un objectif d'harmonisation et de convergence de la surveillance et de la gestion en santé animale, végétale et pour la sécurité sanitaire des aliments. Elle vise également à fournir un outil au gestionnaire du risque dans le cadre de l'émergence de maladies végétales par exemple.
- Cependant, cette infrastructure de connaissances résulte d'arrangements entre INRAE, l'Anses et le Ministère où le GT *Xylella fastidiosa*, en tant qu'objet frontière, est le lieu de rencontre de ces acteurs dont les objectifs et les points de vue varient. Ainsi, l'infrastructure de connaissances qu'est la plateforme, se construit et se réarrange « par le bas » selon les discussions réalisées dans le cadre du GT et dont

les travaux vont au-delà de l'épidémio-surveillance et de l'appui au gestionnaire du risque.

La mobilisation de la sociologie permet de « sortir du laboratoire » et de prendre en compte les enjeux réglementaires notamment ceux qui ont un impact sur la production de connaissances. L'étude de la Plateforme ESV, avec le GT *Xylella fastidiosa* met en lumière une infrastructure de connaissances en construction autour de l'épidémio-surveillance française qui résulte de compromis et d'arrangements entre les parties prenantes. Ainsi, les contours de cette infrastructure sont ajustables et ajustés selon les objectifs et enjeux de chacun des partenaires malgré la définition de ses objectifs institutionnels qui portent sur l'épidémio-surveillance « au sens réglementaire » du terme. Ces résultats posent la question plus large de la préparation du gestionnaire du risque et des différents acteurs face à la détection d'un nouvel agent phytopathogène. Ils montrent l'importance de considérer la production de connaissances, fondamentale pour la mise en œuvre de la surveillance et de la lutte, mais également les enjeux qui l'entourent à la fois au laboratoire et en dehors dans les instances réglementaires et professionnelles notamment. Ce sont les démarches de transdisciplinarité ou d'interdisciplinarité qui permettent la prise en compte de ces considérations qui dépassent les enjeux d'une seule discipline.

2 Mise en pratique de la transdisciplinarité

2.1 Originalité et limites – caractère spécifique de la thèse

Mobiliser plusieurs disciplines dans un travail de recherche limité à 3 ans requiert de faire des choix dans les travaux menés et dans leur mise en œuvre. Dans le cadre de cette recherche doctorale, l'écologie a été définie, dès le début, comme la discipline majeure. Ceci a impliqué que le temps consacré au terrain, aux recherches en laboratoire et à l'analyse des résultats a été plus conséquent que celui passé à la définition du terrain pour l'étude sociologique, la rencontre avec les acteurs et l'analyse des entretiens menés. Ce choix a notamment été fait en cohérence avec mon parcours de formation axé sur les sciences exactes.

Ainsi, contrairement à des travaux de sociologie des sciences ou interdisciplinaires ancrés en sociologie [Chavinskaia, 2020], le cadre des STS et les méthodes sociologiques ont été mobilisées de façon plus limitée mais ces choix ont été assumés dès le début de cette recherche. Cette discipline a été mobilisée comme un outil heuristique pour appréhender les dimensions sociales de recherche en sciences biologiques, notamment quand celles-ci sont utilisées dans des contextes d'action publique réglementée. Ainsi, les concepts et les travaux n'ont pas fait l'objet d'une revue de littérature et d'un déploiement systématique, même si un effort conséquent de lecture et d'apprentissage du regard sociologique a été réalisé au fil de la recherche et de façon plus intensive en lien avec les périodes de terrain et surtout d'analyse des matériaux.

Une approche agnostique tirée des STS, souvent présentée avec une approche inductive du terrain, lui-même niché dans mes activités de laboratoire et de prospection, a été mise en place. Elle permet de répondre aux questions aux frontières du laboratoire et des différentes instances où les connaissances produites allaient être utilisées dans un cadre institutionnel et qu'il fallait donc connaître à partir d'une description fine. Cette mobilisation de la sociologie constitue certainement un atout, pour comprendre « l'environnement » dans lequel sont posées les questions de sciences exactes et s'insèrent les résultats des recherches académiques bien que ces travaux ne soient pas comparables, par leur ampleur et leur développement à des travaux qui auraient pu être menés en sociologie.

Au-delà des résultats de ces travaux, la position de recherche transdisciplinaire permet de créer un lien entre les sciences exactes et les sciences sociales qui, bien que très souvent invoqué, n'est que trop rare.

2.2 Articulation des disciplines

L'articulation des deux domaines de recherche, au cours de ces trois années de thèse comme dans l'écriture de ce manuscrit, n'a pas toujours été simple. Pour ne pas mettre la sociologie « au service » de la biologie ou encore déconnecter ces deux disciplines en les faisant coexister sans lien, j'ai tenté de construire la complémentarité de leurs regards sur l'objet d'étude. Cette démarche a été appliquée dans la conduite des recherches menées concomitamment tout au long de ces trois années et qui ont été associées lors de l'écriture de ce manuscrit.

Cependant, ce travail a nécessité de veiller à la solidité des méthodologies employées et à ne pas « bafouer » les disciplines mobilisées. En effet, la transdisciplinarité ne dispense pas d'une rigueur méthodologique et s'appuie sur des disciplines ancrées. De plus, sciences exactes et sciences humaines et sociales sont très différentes, d'autant plus que des entretiens qualitatifs et semi-directifs ont été menés ce qui m'éloignait d'une approche de sociologie statistique. De la collecte des données à leur analyse et jusqu'à la présentation des résultats, ces deux domaines m'ont souvent paru disjoints voire inconciliables et pourtant si complémentaires. Cette complémentarité était visible dans l'objet d'étude qui se dessinait avec cette *preparedness* dont je voulais interroger les conditions de possibilité dans le cas d'une éventuelle « crise sanitaire » due à *Xylella fastidiosa*. Alors que le plan d'échantillonnage des insectes vecteurs en écologie comporte une composante aléatoire et un certain nombre de contraintes liées à l'emploi de tests statistiques permettant de tester des hypothèses, les personnes interrogées en sociologie font pour la plupart partie d'une seule entité (le GT *Xylella fastidiosa*). Bien qu'une problématique soit construite en amont des entretiens avec la définition d'un guide d'entretien, les suggestions, réflexions et autres discussions en marge des entretiens façonnent la problématique et peuvent faire émerger d'autres questions voire même questionner les analyses menées en écologie et faire émerger de nouvelles orientations possibles. C'est une situation très bien décrite par les travaux de Claeys and Morel (2015).

> " *Le problème posé par le commanditaire d'une recherche n'est qu'un point de départ, mais la problématique développée par le sociologue ne s'y réduit pas. Par exemple, étudier les « perceptions des INVABIO [invasions biologiques] par la population » (formulation régulièrement utilisée par les SV [Sciences de la Vie] ou les gestionnaires) serait éminemment descriptif et ne permettrait pas de comprendre en quoi les écarts de représentations peuvent ou pas freiner la gestion des INVABIO sur le terrain. Or, armés de cette seule description, gestionnaires ou SV seraient particulièrement démunis. Il n'y a pas seulement un effet de la traduction mais un changement complet de point de vue.* "
> [Claeys and Morel, 2015]

Ensuite, l'objectivité et la répétabilité des résultats chères aux sciences exactes est plus difficilement palpable en sociologie, qui paraît attachée à un questionnement et un terrain spécifiques [Nicolescu, 2011]. En effet, le sociologue est impliqué dans la production des données, il mène l'entretien et doit donc veiller à la structure du guide d'entretien, l'enchaînement des questions et les mots utilisés pour ne pas « orienter ou biaiser » les propos recueillis. De plus, il est soumis à la mise en place ou non d'une relation humaine, d'une confiance réciproque. Alors qu'en écologie, un insecte sera forcément collecté s'il est fauché dans la zone à échantillonner ; une personne importante pour l'étude sociologique peut refuser l'entretien ou le contact avec elle peut être difficile à établir.

De plus, le vocabulaire utilisé pour discuter avec les personnes interrogées n'est pas forcément le vocabulaire mobilisé en sciences exactes et cette différence sémantique est certainement visible dans ce manuscrit et peut être déroutante. L'écriture est donc elle aussi « variable » en fonction des disciplines [Charaudeau, 2010]. Par exemple, alors que les références bibliographiques en sciences exactes sont mobilisées pour justifier des faits avancés, en sociologie, ces références renvoient plutôt à la définition d'un concept pour en préciser l'usage, ou bien encore à une définition ou une approche méthodologique similaire.

Enfin, mener un entretien sociologique implique un engagement de la part de l'enquêté mais également de la part de l'enquêteur. Ainsi, l'analyse des entretiens nécessite de prendre de la distance avec les données acquises, là où les outils de laboratoire dont j'ai décrit la fonction dans les chaînes de traduction de l'inscription scientifique constitue une mise à distance de l'insecte (partie II page 85).

Cette prise de distance a été d'autant plus importante dans l'étude des activités scientifiques propres aux recherches menées en écologie. Le fait de se mettre « à la place » des insectes relève d'un stratagème qui m'a permis cette « extraction du tableau étudié » et de veiller à conserver une rigueur d'analyse en traduisant le plus fidèlement possible les observations et les propos recueillis pour illustrer la problématique de recherche. Il est également important de préciser que *« recueillir et traduire la parole d'autrui ne signifie pas justifier ni s'associer au point de vue des personnes enquêtées »* [Claeys and Morel, 2015]. Ce point constitue aussi une différence qui me semble éloigner sciences sociales et sciences exactes, dont les chercheurs exposent des résultats auxquels « ils s'associent » en quelque sorte.

A ces points méthodologiques et épistémologiques, il me semble important d'ajouter un point « purement pratique » qu'est la valorisation des travaux transdisciplinaires qui est plus délicate : il faut s'inscrire dans une discipline pour publier des résultats de recherche mais également pour poursuivre sa carrière et obtenir la reconnaissance de ses pairs. En effet, un chercheur est reconnu dans une discipline donnée et, bien que je sois peu concernée par ces préoccupations professionnelles, il me semblait important de le souligner : prôner l'interdisciplinarité ou la transdisciplinarité sans que sa pratique soit reconnue en tant que telle revêt un caractère contradictoire et une difficulté pour les jeunes chercheurs embarqués dans cette démarche.

Pour terminer, concernant les « difficultés », non pas moins enrichissantes, de la pratique et l'articulation de disciplines de sciences exactes et de sciences humaines, il en est une qui m'a particulièrement marquée et qui est liée aux points ci-dessus : il s'agit de la « suprématie » accordée aux sciences exactes par rapport aux sciences sociales et qui m'est apparue profondément ancrée. Bien que ma posture soit différente, j'ai ressenti une différence de perception des viticulteurs lorsque j'évoquais ma position de doctorante en écologie ou bien celle de doctorante en sociologie. Lors de la collecte des insectes dans le cadre d'un projet scientifique, nous étions plusieurs et « armés » de matériels (filets fauchoirs, tubes, etc.). Lors des entretiens sociologiques, j'étais une jeune doctorante (seule) et j'ai plutôt fait face, dans un premier temps, à des interrogations quant à la nécessité de mener ces entretiens avec les vignerons et quant à l'intérêt de ces recherches.

J'ai également ressenti cette différence au laboratoire entre la mise en pratique de recherche en sciences exactes et en sciences humaines et sociales. Au fil de discussions avec chercheurs ou doctorants en écologie, j'ai notamment eu l'occasion de rappeler que faire de la sociologie ne rime pas avec s'affranchir de méthodologies rigoureuses et j'espère que ce manuscrit participera à cette « démonstration » (voir aussi [Claeys and Morel, 2015]).

Il est également important de rappeler ici que la théorie des réseaux mobilisée en écologie est un sujet interdisciplinaire. En effet, cette discipline s'est largement inspirée d'algorithmes développés dans le domaine des sciences sociales et de la théorie de l'information [Ings et al., 2009]. De plus, ce type d'approches plus globales, étudiant des

systèmes à différentes échelles et influencés par de nombreux facteurs pour tenir compte de leur complexité est de plus en plus souvent employé et permet des existences multiples de l'interdisciplinarité [Thompson Klein, 2011]. C'est par exemple le cas avec le développement de l'agroécologie [Hippolyte et al., 2020, Petit, 2017]. Enfin, l'interdisciplinarité n'est pas restreinte aux recherches doctorales ou aux projets de recherche mais elle est également promue à l'échelle de laboratoires, d'instituts ou d'agences de financement pour favoriser les collaborations interdisciplinaires [Caranta et al., 2019]. Ainsi, le fossé entre les sciences exactes et les sciences humaines et sociales est peut-être moins grand que ce que l'on pourrait croire et l'interdisciplinarité probablement mises en œuvre plus souvent qu'il n'y paraît.

Nous venons de mettre en lumière des points épistémologiques, méthodologiques et « pratiques » qui ne facilitent pas la mobilisation de plusieurs disciplines et nous allons maintenant rappeler et nous pencher sur le « pourquoi ? » d'une telle mise en pratique. En effet, dans le cadre de ces travaux de recherche, sans la transdisciplinarité, les travaux menés en écologie auraient probablement été plus conséquents mais ils auraient répondu à une question d'anticipation de l'arrivée d'une bactérie pathogène dans trois régions françaises et pas à une stratégie intégrée de la *preparedness* incluant notamment le gestionnaire du risque. Ainsi, la transdisciplinarité permet d'avoir une vision d'ensemble d'un système complexe et global faisant intervenir différents acteurs sociaux, qui bien que discutant au sein d'infrastructures communes, ont des objectifs et des points de vue différents. Elle permet également d'apporter des éléments de compréhension de ce système qui résulte d'un ensemble d'évènements et de facteurs ayant engendré une situation particulière, parfois perçue comme une crise sanitaire qui serait à anticiper.

3 Apports de la thèse dans le cadre de la *preparedness* face à une épidémie végétale

La *preparedness* relève de la question paradoxale pour les pouvoirs publics de « penser l'impensable » ou encore « prévoir l'imprévisible » [Aradau and van Munster, 2012]. Ainsi, ce concept vise à établir la préparation face à un évènement futur et inattendu, non pas pour l'empêcher mais pour limiter voire supprimer ses effets dommageables, néfastes.

La *preparedness* s'inscrit dans un contexte de résilience par la compréhension de l'émergence de problématiques dans des systèmes complexes et interconnectés [Anderson, 2010]. La réponse à de tels évènements nécessite de lier différents mondes sociaux pour la mise en œuvre de diagnostics et de solutions appropriés, avec la prise en compte des enjeux scientifiques, sanitaires et ceux de l'ordre de la sécurité [Samimian-Darash, 2009].

Dans le cadre de maladies végétales telles que celles provoquées par *Xylella fastidiosa*, les enjeux scientifiques relèvent de la détection de la bactérie et également de la recherche concernant des mesures de gestion pour limiter sa propagation. Les enjeux sanitaires relèvent de la protection des cultures mais également des écosystèmes semi-naturels. Enfin, les enjeux en termes de biosécurité relèvent de la surveillance aux frontières d'un État comme d'un laboratoire pour empêcher l'introduction d'une nouvelle souche de bactérie ou d'un « super » insecte vecteur.

Cette thèse, par la mise en place de la transdisciplinarité, porte donc un intérêt à plusieurs de ces aspects sans se restreindre aux questions de sciences exactes qui répondent à la question de l'anticipation et aux enjeux scientifiques mais également en tenant compte du contexte des recherches menées et de leur appropriation par les pouvoirs publics. Dans cette perspective d'analyse, les résultats de cette recherche permettent de mettre en évidence plusieurs éléments clés de l'ordre d'une stratégie de *preparedness* qui lient les différents mondes sociaux ou qui représentent des freins à ces échanges.

3.1 Les enjeux de la détection d'un agent phytopathogène réglementé

Le premier défi dans la compréhension et la lutte contre un microorganisme pathogène relève de son identification [Purcell, 2013] et de sa détection. Pour *Xylella fastidiosa*, sa détection peut relever à la fois d'une analyse de ses plantes hôtes et d'autre part de l'analyse de ses insectes vecteurs. Dans le cadre de la législation, les tests sur plantes sont largement privilégiés dans les analyses officielles, probablement en partie parce qu'il est plus simple d'appliquer une réglementation vis-à-vis d'un végétal dans une zone donnée plutôt que sur un insecte vecteur mobile. De plus, le prélèvement des insectes vecteurs nécessite des compétences en entomologie et du matériel spécifique. Il est parfois difficile de les capturer (selon la saison notamment) ce qui rend compliqué la réalisation d'objectifs de

nombre de tests à réaliser dans le cadre de la législation. Néanmoins, la réglementation n'exclut pas totalement les insectes vecteurs qui sont pris en compte dans le cadre des mesures d'éradication de la bactérie suite à sa découverte lors d'une détection officielle dans un végétal hôte. De plus, ils sont aujourd'hui également de plus en plus intégrés dans la surveillance de *Xylella fastidiosa*.

Cependant, détecter la bactérie dans les plantes ou dans les insectes ne relève pas exactement des mêmes contraintes techniques et des mêmes objectifs. En effet, la majorité des analyses de végétaux sont réalisés sur des fragments de spécimens symptomatiques, tandis que les analyses des insectes sont réalisées sur des spécimens entiers sans prise en compte de la symptomatologie des plantes. Le prélèvement des végétaux symptomatiques répond à la fois à la réglementation et permet de définir la zone contaminée et il facilite la détection de la bactérie dont les populations sont plus importantes dans les végétaux symptomatiques. Cette démarche s'inscrit dans un objectif de lutte contre la bactérie via l'éradication des végétaux contaminés. La détection de la bactérie dans les insectes mise en œuvre dans cette thèse est probablement complémentaire à sa détection dans les plantes mais elle peut également s'inscrire dans un objectif de *preparedness*. En effet, cette méthode peut être privilégiée dans les zones considérées indemnes mais à risque, pour anticiper l'arrivée de la bactérie et la détecter avant l'apparition des premiers symptômes (qui peut prendre plusieurs mois ou ne jamais se produire dans le cas des végétaux asymptomatiques) et qui a été mise en œuvre dans le cadre du projet financé par le Maison Hennessy. Cependant, le protocole mis au point pour la détection de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs (majoritairement *Philaenus spumarius*) dans le cadre de la recherche académique n'est pas directement applicable pour les tests officiels et pourrait ne jamais l'être. En effet, les protocoles standardisés doivent répondre à des normes spécifiques pour pouvoir être mis en œuvre dans les laboratoires agréés notamment. Par exemple, la mise en œuvre de deux PCR successives nécessite l'ouverture des tubes entre ces deux étapes avec un risque de contamination des échantillons qui pourrait être considéré trop important pour l'intégration du protocole dans les méthodes officielles. Cependant, cette méthode met en évidence que la détection de la bactérie dans les insectes à haut débit est possible et qu'elle permet la détection de la bactérie dans des zones où la végétation ne présente pas de symptômes (données non publiées).

3.2 D'un pathosystème intégré à sa dissociation scientifique et réglementaire

Aujourd'hui, l'étude des réseaux d'interactions en écologie se démocratise [Ings et al., 2009] avec la prise en compte des interactions entre les espèces dans leur environnement. Cette démocratisation est renforcée par l'essor de la biologie moléculaire [Evans et al., 2016] qui permet de compléter voire de s'affranchir des observations des interactions *in natura* qui sont couteuses, chronophages et parfois difficiles voire impossibles. Le développement de cette approche « réseaux » permet d'intégrer la complexité des assemblages d'espèces dans leur environnement (prédation, parasitisme, compétition, accès aux ressources, etc.) qui est nécessaire à leur coexistence et à la stabilité des écosystèmes [Pimm, 1984]. Ce type d'étude est également conduit dans le cadre de la lutte contre les plantes invasives et les ravageurs des cultures [Bartomeus et al., 2008, Ollivier et al., 2021].

La mise en œuvre d'une démarche « réseaux » dans le cadre de cette thèse a conduit à l'étude des interactions plantes – insectes et insectes – bactérie. L'étude de ces interactions contribuent à une stratégie de *preparedness* de par leur mise en œuvre en amont de la détection officielle de la bactérie dans les régions étudiées, qui sont donc considérée indemnes, et par leur financement qui provient d'un grand groupe privé qui affiche une ambition d'anticipation face à l'arrivée de *Xylella fastidiosa*. En premier lieu, les connaissances produites dans le cadre de ce projet s'appuient sur la méthode développée dans le cadre du projet corse pour la détection de *Xylella fastidiosa* à grande échelle. La détection de la bactérie dans ses insectes vecteurs permet de s'affranchir de la visualisation de symptômes qui est souhaitable lors des analyses d'échantillons de plantes. Ainsi, cette méthode répond à une anticipation de l'arrivée de la bactérie avec l'étude de zones indemnes telle que cela a été réalisé dans le cadre du projet Hennessy. La mise en œuvre de cette méthode sur plusieurs centaines d'insectes ne révèle pas la présence de la bactérie qui est donc supposée absente de la zone ou indétectable. En effet, alors qu'un échantillon positif avec une analyse de confirmation permet de montrer la présence de la bactérie, une analyse négative ne permet pas strictement de démontrer son absence, ce qui justifie de la mise en place de recherches pour se prémunir de son arrivée ou de son émergence sur

le territoire. Ces recherches « anticipatrices » posent deux questions majeures : quels sont les insectes vecteurs potentiels ou avérés présents dans les différentes régions et dans les différents milieux ? Plus précisément, existe-t-il des préférences alimentaires des insectes et donc quelles sont leurs plantes hôtes ? La réponse à ces questions, traitées dans la partie III page 157 du manuscrit permet de confirmer que les insectes vecteurs avérés de la bactérie, dont *Philaenus spumarius*, sont présents dans les trois régions. Ce facteur n'est donc pas limitant pour l'expansion de *Xylella fastidiosa* en cas d'émergence. Néanmoins, pour anticiper les risques de propagation de la bactérie il est nécessaire de comprendre plus finement dans quels milieux se trouve l'insecte et quelles sont ses plantes hôtes. Par exemple, aux États-Unis, *Graphocephala atropunctata* est largement présent en milieu humide, et sur certaines plantes hôtes particulières, ce qui augmente le risque de transmission de la bactérie aux vignobles à proximité. La mise en évidence de ce milieu favorable et des plantes hôtes associées permet la mise en place de mesures de gestion pour protéger les cultures à proximité avec la destruction des plantes hôtes et leur remplacement par d'autres espèces végétales [Daugherty, 2021].

Dans les trois régions françaises étudiées, les insectes vecteurs sont principalement présents dans les milieux semi-naturels et aux abords des cultures mais très rarement collectés dans les parcelles cultivées. Ces résultats indiquent que le risque de transmission de la bactérie au sein de la parcelle semble limité mais que la transmission depuis le milieu semi-naturel jusqu'aux abords des parcelles cultivées est possible. De plus, les résultats ne mettent pas en évidence de plante hôte privilégiée par *Philaenus spumarius* ou les autres principales espèces vectrices collectées. Ces résultats permettent d'anticiper l'arrivée de la bactérie par la mise en place de recherches agronomiques appliquées pour la gestion des populations d'insectes vecteurs [Almeida et al., 2005, Morelli et al., 2021] et de développer des méthodes intégrées en limitant l'apport de produits phytopharmaceutiques. Il est par exemple envisageable de tester le fauchage des bordures de parcelles au printemps pour réduire les populations de larves ou de les gérer pour favoriser les ennemis naturels de l'insecte vecteur [Lantero et al., 2018] mais également de mener des recherches pour le développement d'agents de biocontrôle [Mesmin et al., 2020].

L'étude des réseaux d'interactions a été réalisée dans le cadre de cette thèse autour d'une bactérie phytopathogène, organisme de quarantaine à lutte obligatoire. Malgré des techniques de biologie moléculaire similaires pour la mise en évidence des différentes interactions plantes hôtes – bactérie – insectes vecteurs, les interactions plantes hôtes – bactérie n'ont pas été étudiées. L'étude de ces interactions aurait pu être intégrée aux questions de recherche mais sa mise en place était contrainte par un aspect réglementaire et de temps : analyser les plantes hôtes d'un organisme de quarantaine à lutte obligatoire nécessite un agrément et un aspect organisationnel puisque ces études sont déjà menées dans une autre UMR INRAE.

De plus, cet organisme étant réglementé, il est soumis à une surveillance officielle selon la mise en application de la législation européenne. Dans ce cadre, des méthodes officielles doivent être appliquées pour la détection de la bactérie. Ces méthodes sont développées au sein de laboratoires à INRAE et à l'Anses (LNR) ou en collaboration entre les deux instituts. Cependant, les chercheurs des laboratoires INRAE développent également des méthodes de détection et de caractérisation de la bactérie très sensibles dans un objectif de recherche au-delà de la surveillance. Or, les résultats de ces méthodes « de recherche pure » se heurtent parfois à ceux de la surveillance officielle.

Ainsi, le développement et la mise en œuvre de mesures de prophylaxie et de lutte contre un organisme de quarantaine regroupent des productions de connaissances diverses conduites dans le cadre d'objectifs différenciés même s'ils forment un ensemble cohérent. En effet, les travaux de recherche menés pour la mise au point de méthodes de détection et de caractérisation de la bactérie permettent de produire des connaissances concernant la bactérie, sa distribution géographique, les routes de colonisation, etc. mais ils peuvent également alimenter les protocoles des méthodes officielles avec la proposition d'outils plus performants. Cependant, les protocoles officiels sont soumis à plus de contraintes. Ils doivent répondre à des tests de sensibilité et à une mise en œuvre « standardisable » et standardisée ainsi qu'à un coût acceptable pour l'analyse de milliers d'échantillons. Ces contraintes semblent éloigner les travaux de recherche qui sont pourtant tous pris dans l'épidémio-surveillance française à plusieurs niveaux. En l'absence d'une bonne compréhension de ce processus global, il est difficile de concevoir comment et pourquoi

certaines connaissances produites sont réutilisées ou non hors du cadre de la recherche académique. C'est pourquoi il est pertinent de considérer l'instance où ces objectifs s'agencent, à savoir le dispositif d'épidémio-surveillance.

3.3 Une infrastructure de connaissances à la croisée des mondes sociaux et l'implication d'un objet frontière

Les recherches concernant la bactérie sont fragmentées au sein de plusieurs instituts et plusieurs laboratoires, cependant, l'ensemble des connaissances produites est nécessaire au gestionnaire du risque pour prendre des décisions quant à la mise en place de mesures préventives ou prophylactiques. Par exemple, la mobilisation des occurrences de la bactérie et de *Philaenus spumarius* dans des analyses statistiques et de modélisation a permis de montrer que l'aire favorable à l'insecte et celle favorable à la bactérie resteraient importantes et largement superposées [Farigoule et al., 2022]. Ces travaux sont complémentaires à des travaux menés dans le cadre du GT *Xylella fastidiosa* de la Plateforme ESV, avec la création de cartes de zones « à risques », et peuvent être mobilisés pour la surveillance de la bactérie qui d'après ces résultats nécessite d'être maintenue.

Cette infrastructure de connaissances qu'est la Plateforme ESV a été initiée par le Ministère en charge de l'Agriculture et de l'Alimentation, en collaboration avec INRAE et l'Anses, par le biais de la création de trois plateformes d'épidémio-surveillance. La Plateforme ESV, qui regroupe les acteurs de la recherche (INRAE et Anses) et du Ministère, intègre également les interprofessions et les agents impliqués dans la mise en œuvre de la réglementation (SRAL, FREDON France). Les interactions et les travaux menés au sein de la plateforme sont réalisés sous l'égide de groupes de travail spécifiques à une problématique phytosanitaire donnée. Dans le cadre du GT *Xylella fastidiosa*, le groupe de travail constitue une instance de coordination à la frontière entre les différents acteurs. Les contours de cet objet frontière et les travaux menés dans le GT évoluent et sont « négociés » autour de compromis selon les différents objectifs et points de vue des acteurs.

En effet, au-delà des objectifs du GT autour de la surveillance de la bactérie, ce groupe de travail est également une opportunité pour les chercheurs de partager leurs recherches et d'obtenir des données (issues de la surveillance officielle). En revanche pour les représentants des interprofessions, le GT représente plutôt une instance de diffusion

de l'information et renforce un lien déjà présent avec le Ministère mais leur implication est moindre, d'autant plus que certaines filières sont plus concernées que d'autres par la bactérie. Ainsi, bien que ce GT soit tourné vers l'épidémio-surveillance et la mise en œuvre de mesures prises en charge par les services de l'État ainsi que les professionnels (inspections visuelles de leurs parcelles et signalement de symptômes), ces derniers, en aval du processus semblent moins impliqués que les chercheurs et les agents du MAA.

Actuellement, ce GT permet surtout de renforcer les liens entre la recherche et le Ministère dans le cadre de la mise en œuvre de la surveillance de la bactérie et d'appuyer les SRALs et leurs délégataires, FREDON France. Les interprofessions semblent, pour le moment, plus en retrait de ce processus. Ce positionnement s'explique probablement par la récente découverte de la bactérie. En effet, les recherches concernant les mesures de prophylaxie et de lutte contre *Xylella fastidiosa* sont encore en cours et au-delà de la surveillance, ce sont ces méthodes qui importent aux interprofessions et qui pourraient être transférées aux professionnels pour protéger leurs exploitations. Ce serait là un enjeu à traiter si la *preparedness* devait être abordée plus en détails.

3.4 Au-delà des acteurs institutionnels, l'appropriation de l'émergence d'un pathogène par la société

Xylella fastidiosa n'est pas confinée aux instances scientifiques et réglementaires. Elle est également visible et discutée par les professionnels et plus généralement dans la société où elle est présente dans les médias et informations « grand public ».

Cependant, alors que c'est une bactérie phytopathogène dont le nom latin est *Xylella fastidiosa* pour le domaine scientifique et un organisme de quarantaine réglementé du même nom pour le monde institutionnel, dans les médias français cette bactérie est « tueuse d'oliviers ». Cette dénomination provient des conséquences de *Xylella fastidiosa* dans les Pouilles en Italie et surtout des images d'arrachages d'oliviers relayées dans les médias. Elle reflète une vérité « guidée » par ses conséquences socio-économiques en Europe. Ainsi, les médias jouent un rôle important dans la lutte contre cette bactérie. En s'emparant de ce sujet, ils questionnent à la fois les responsabilités des chercheurs et la mise en œuvre de la réglementation. Or, la détection de la bactérie dans les plantes est le point de départ

de la mise en place de la réglementation avec une confirmation des analyses puis, si elles sont positives, un arrachage des végétaux hôtes. La manière de traiter ce sujet par les médias modifie alors les rapports entre la recherche et les services de l'État.

De plus, le terme de « tueuse d'oliviers » utilisé en France fait glisser la caractérisation de la bactérie présente sur de nombreuses espèces dont des espèces cultivées majeures à une bactérie seulement présente sur oliviers [Moirand, 2004]. En effet, dans le cadre des entretiens menés avec les viticulteurs, la présence de la bactérie sur oliviers en Italie était connue, en revanche, sa présence sur vigne aux États-Unis a rarement été évoquée. Ainsi, cette bactérie est considérée comme étant inféodée à l'olivier et donc avec un très faible risque voire aucun pour la vigne. L'information relayée par les médias participe probablement à cette « image » de la bactérie qu'ont les professionnels de la viticulture.

Cette vision biaisée de la bactérie ne mobilise pas directement les professionnels et fait apparaître un enjeu de diffusion de l'information à travers les différents mondes sociaux. En effet, la Maison Hennessy et INRAE portaient une inquiétude vis-à-vis de la réaction des viticulteurs face à la construction et la mise en place d'un projet de recherche. La collecte d'insectes vecteurs pour tester la présence de *Xylella fastidiosa* dans leurs vignes aurait pu être à l'origine de réactions négatives face aux risques de détection effective de la bactérie et aux conséquences réglementaires qui en découleraient. L'ensemble des viticulteurs sollicités a pourtant répondu présent et a perçu les enjeux de production de connaissances et d'une détection précoce de la bactérie. *Xylella fastidiosa* n'a pas été mise en évidence en Nouvelle-Aquitaine et sa possible détection pose la question de la réaction des professionnels. Une seconde question qui restera en suspens dans ce manuscrit relève de l'appropriation des résultats par la Maison Hennessy concernant les recherches en écologie.

3.5 Perspectives de la recherche

La mobilisation du concept de *preparedness*, qui rapproche les travaux de différentes disciplines dans un objectif de production de connaissances finalisées mériterait d'être approfondie. De plus, les questions de la mise en œuvre et du déploiement de la transdisciplinarité et de l'interdisciplinarité pourraient également être développées et mises en perspectives avec les travaux menés [Boisot, 1971, Charaudeau, 2010, Resweber, 2011]. Ce travail qui nécessite une appropriation plus forte des travaux menés sur ce concept et cette démarche n'est malheureusement pas compatible avec le temps limité d'une recherche doctorale. Néanmoins, les travaux de « terrain » mettent en place « le décor » de l'épidémio-surveillance française concernant *Xylella fastidiosa* et ils ouvrent la porte à des premières observations. En effet, l'objectif de ces travaux n'est pas d'évaluer un dispositif ou une instance mais plutôt de le « photographier » pour en montrer sa complexité, de quoi il est constitué, comment il évolue et comment il pourrait évoluer dans le futur avec un objectif d'amélioration de l'épidémio-surveillance. Concernant l'épidémio-surveillance de *Xylella fastidiosa*, elle est prise dans des considérations scientifiques avec des contraintes techniques qui limitent sa détection et qui nécessitent donc le déploiement de méthodes de pointe. Cependant, en tant qu'organisme de quarantaine à lutte obligatoire, ces considérations sont rattachées à des enjeux de détection qui dépassent le laboratoire de recherche avec l'existence d'une surveillance officielle et la mise en application de la réglementation stricte d'éradication de la bactérie par la destruction des végétaux hôtes contaminés (et ceux de la zone infectée). Ces enjeux qui relèvent d'instances différentes sont portés par des acteurs différents qui sont rassemblés au sein de la Plateforme ESV et plus particulièrement des GTs, qui offrent des espaces d'échanges résultant de compromis entre leurs membres. Cette infrastructure de connaissances, bien qu'en construction, est un atout pour l'épidémio-surveillance française et de tels dispositifs sont rares [1].

De plus, la réglementation européenne concernant la bactérie est à l'origine de contestations sociales, notamment en Italie et en Espagne, et de revendications de la part des

1. Des dispositifs comparables existent en Australie par exemple : `https://www.planthealthaustralia.com.au/` ou aux États-Unis `https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/plant-pest-and-disease-programs`

Voir également : `https://plateforme-\gls{ESV}.fr/ressources`

professionnels touchés par la bactérie qui perdent tout ou partie de leur « outil de production » et parfois l'intégralité de leur activité économique. Enfin, l'ensemble de ces points sont discutés et relayés par les médias et ce relai d'informations ajoute un niveau de complexité dans ce système avec une modification des rapports entre le gestionnaire du risque et les scientifiques notamment.

Néanmoins, la situation française est différente de celle de l'Italie et de l'Espagne d'un point de vue épidémiologique d'une part, avec une bactérie le plus souvent confinée en milieux semi-naturels ou en zones urbaines et avec très peu de parcelles cultivées touchées en France. D'autre part, le travail d'enquête et de terrain auprès des viticulteurs montre une volonté de ces professionnels de s'investir dans la préparation de l'arrivée de la bactérie, par la participation à des projets de recherche ou par la mise en application de méthodes de prophylaxie définies ce qui contraste avec les revendications diffusées dans les médias. Bien que ces résultats ne représentent pas l'intégralité des professionnels et que ce point constitue une limite à leur généralisation, ils sont appuyés par l'implication de la Maison Hennessy dans un projet de recherche et les observations du GT *Xylella fastidiosa,* où les représentants des interprofessions montrent un intérêt concernant l'avancée des recherches et de potentielles informations ou méthodes à diffuser pour lutter contre l'arrivée ou la propagation de la bactérie.

Ces professionnels semblent cependant se heurter à deux écueils ; le premier concerne le temps de la recherche. La mise au point de méthodes de lutte nécessite des tests en laboratoire et en pleins champs et donc plusieurs années après la mise en route des projets. Or, la détection de *Xylella fastidiosa* est récente et les recherches appliquées en Europe sont en cours ou récemment finalisées. Le second écueil concerne la mobilisation des interprofessions qui restent restreinte par rapport à leur volonté et leur capacité d'action auprès des professionnels. En effet, les travaux du GT *Xylella fastidiosa* mobilisent fortement les acteurs de la recherche (équipe opérationnelle, INRAE, Anses) pour un appui à la mise en place de la réglementation concernant la surveillance de la bactérie. Cependant, cet appui à la surveillance semble peu prolongé par la mobilisation des professionnels via les interprofessions dans le cadre du GT pour mettre en œuvre une certaine préparation et anticipation face à l'arrivée potentielle de la bactérie dans les exploitations.

Néanmoins, ces observations sont à mettre en regard du poids indéniable de la réglementation européenne qui doit être respectée et qui vise l'éradication de la bactérie. De plus, le rôle des médias et le statut de bactérie « tueuse d'oliviers » est une hypothèse forte expliquant au moins en partie ces observations. En effet, le gestionnaire du risque, probablement comme la Maison Hennessy lors de la mise en œuvre du projet de recherche, redoute la réaction des exploitants agricoles. Aujourd'hui la bactérie a des conséquences limitées pour l'agriculture française et il ne faut pas non plus, par un excès de communication, *« mettre le feu aux poudres »* ou entraîner une *« psychose »*. Le lancement du projet Hennessy montre qu'une implication plus forte de certains exploitants agricoles est possible dans le cadre de la mise en œuvre d'une certaine forme de recherche et d'épidémio-surveillance (bien que non officielle), d'autant plus qu'ils ont, pour certains, été impliqués dans les travaux de sociologie de cette recherche doctorale. Tous ont été volontaires et ont porté un intérêt aux connaissances acquises concernant la bactérie ainsi qu'aux résultats des recherches en écologie. Par conséquent, impliquer des professionnels pour l'épidémio-surveillance est non seulement possible mais également bénéfique pour apporter un autre regard sur un pathosystème complexe et potentiellement faciliter la diffusion de l'information voire l'acceptation des mesures de surveillance mises en œuvre auprès d'autres professionnels.

4 Vers une approche en termes de socio-pathosystème

Pour conclure, cette étude menée sur le pathosystème impliquant *Xylella fastidiosa* montre la complexité de l'épidémio-surveillance, de la production de connaissances au développement de méthodes officielles en cohérence avec la réglementation jusqu'à leur mise en œuvre.

Ce pathosystème pourrait être considéré comme « modèle » d'après les caractéristiques de Jacques Barnouin (2010) puisqu'il concerne des hôtes sauvages et cultivés, il implique des vecteurs et il pose un problème économique à l'Homme (actuellement majoritairement sur le continent américain et en Italie). Or, les activités humaines sont largement incluses dans les modes d'existence de ce pathosystème [Barnouin, 2010]. En effet, le travail des

chercheurs permet de mieux le caractériser et les agents des organismes de surveillance établissent sa présence. De plus, des agents de l'administration sont impliqués dans la prévention et la gestion du pathosystème tout en prenant en compte qu'il peut être un objet de droit. Enfin, des acteurs, par leurs pratiques, font circuler du matériel biologique, des plants et des « frayeurs » liées au transport de potentiels organismes phytopathogènes. Prendre en compte le type de travail transdisciplinaire qui a été le mien c'est alors changer de niveau d'approche et passer de l'approche d'un pathosystème à celle d'un socio-pathosystème.

Ce caractère de socio-pathosystème modèle pourrait être mobilisé dans des études plus vastes pour faire progresser l'épidémiologie et la *preparedness* dans son ensemble. Dans tous les cas, a minima, cette recherche met en évidence la nécessité de la mobilisation de plusieurs disciplines pour l'étude de tels pathosystèmes complexes intégrant des enjeux de production de connaissances, de surveillance et de lutte dans le cadre des organismes de quarantaine.

Enfin, au-delà de la prise en compte de la complexité qui entoure l'étude et la gestion des organismes phytopathogènes de quarantaine, la notion de socio-pathosystème peut participer à rapprocher l'épidémio-surveillance animale et végétale avec des recherches et développements de stratégies portant sur les maladies émergentes et leur épidémio-surveillance au sens large sans distinction de la nature du pathogène identifié. Ces rapprochements sont déjà identifiés comme étant des enjeux forts, notamment avec le déploiement des trois plateformes d'épidémio-surveillance, mais également dans la mise en œuvre de recherches en épidémiologie [Barnouin and Sache, 2010, Bonnaud and Fortané, 2016, Charrier and Barbier, 2021, Sache and Barnouin, 2010].

Conclusion

Pour terminer, ces trois années ont été riches et intenses, avec un apprentissage de la recherche, de ses méthodes tant en biologie qu'en sociologie, et plus important encore, avec la rencontre de nombreuses personnes, des chercheurs mais également de professionnels de « l'agriculture en général » : du Ministère de l'Agriculture, des SRALs et de FREDON France, en passant par les responsables des interprofessions agricoles jusqu'aux viticultrices et viticulteurs héraultais et néo-aquitains qui ont toutes et tous acceptés de partager une partie de leurs savoirs, bien au-delà des questionnements sociologiques posés dans le cadre de mes travaux de recherche. Toutes ces rencontres ont ainsi été source de nouveaux questionnements et de réflexions parfois traités dans ce manuscrit ou laissés en suspens. Ainsi, cette thèse jalonnée de rencontres sera certainement un atout pour aborder les questions d'épidémies végétales depuis d'autres instances, avec d'autres enjeux que ceux de la recherche académique.

Bibliographie

[Aktinson and Hammersley, 1998] Aktinson, P. and Hammersley, M. (1998). Ethnography and participant observation. *Strategies of Qualitative Inquiry. Thousand Oaks : Sage*, pages 248–261.

[Albre et al., 2021] Albre, J., Carrasco, J. M. G., and Gibernau, M. (2021). Ecology of the meadow spittlebug *Philaenus spumarius* in the Ajaccio region (Corsica) – I : spring. *Bulletin of Entomological Research*, 111(2) :246–256.

[Alcaras and Lacroux, 1999] Alcaras, J.-R. and Lacroux, F. (1999). Planifier c'est s'adapter. page 31.

[Almeida et al., 2005] Almeida, R. P. P., Blua, M. J., Lopes, J. R. S., and Purcell, A. H. (2005). Vector transmission of *Xylella fastidiosa* : applying fundamental knowledge to generate disease management strategies. *Annals of the Entomological Society of America*, 98(6) :775–786.

[Almeida et al., 2019] Almeida, R. P. P., De La Fuente, L., Koebnik, R., Lopes, J. R. S., Parnell, S., and Scherm, H. (2019). Addressing the new global threat of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology*, 109(2) :172–174.

[Almeida and Purcell, 2003a] Almeida, R. P. P. and Purcell, A. H. (2003a). *Homalodisca coagulata* (Hemiptera, Cicadellidae) transmission of *Xylella fastidiosa* to almond. *Plant Disease*, 87(10) :1255–1259.

[Almeida and Purcell, 2003b] Almeida, R. P. P. and Purcell, A. H. (2003b). Transmission of *Xylella fastidiosa* to grapevines by *Homalodisca coagulata* (Hemiptera : Cicadellidae). *Journal of economic entomology*, 96(2) :264–271.

[Almeida and Purcell, 2006] Almeida, R. P. P. and Purcell, A. H. (2006). Patterns of *Xylella fastidiosa* colonization on the precibarium of sharpshooter vectors relative to transmission to plants. *Annals of the Entomological Society of America*, 99(5) :884–890.

[Almeida-Neto et al., 2008] Almeida-Neto, M., Guimarães, P., Guimarães, P. R., Loyola, R. D., and Ulrich, W. (2008). A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems : reconciling concept and measurement. *Oikos*, 117(8) :1227–1239.

[Altinok et al., 2008] Altinok, I., Capkin, E., and Kayis, S. (2008). Development of multiplex PCR assay for simultaneous detection of five bacterial fish pathogens. *Veterinary Microbiology*, 131(3-4) :332–338.

[Amanifar et al., 2014] Amanifar, N., Taghavi, M., Izadpanah, K., and Babaei, G. (2014). Isolation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa* from grapevine and almond in Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, 53(2) :318–327.

[Anas et al., 2008] Anas, O., Harrison, U. J., Brannen, P. M., and Sutton, T. B. (2008). The effect of warming winter temperatures on the severity of Pierce's Disease in the Appalachian Mountains and Piedmont of the southeastern United States. *Plant Health Progress*, 9(1) :13.

[Anbumani et al., 2021] Anbumani, S., da Silva, A. M., Carvalho, I. G. B., Fischer, E. R., de Souza e Silva, M., von Zuben, A. A. G., Carvalho, H. F., de Souza, A. A., Janissen, R., and Cotta, M. A. (2021). Controlled spatial organization of bacterial growth reveals key role of cell filamentation preceding *Xylella fastidiosa* biofilm formation. *npj Biofilms and Microbiomes*, 7(1) :12.

[Andersen et al., 1992] Andersen, P. C., Brodbeck, B. V., and Mizell, R. F. (1992). Feeding by the leafhopper, *Homalodisca coagulata*, in relation to xylem fluid chemistry and tension. *Journal of Insect Physiology*, 38(8) :611–622.

[Anderson, 2009] Anderson, A. (2009). The rat and the octopus : initial human colonization and the prehistoric introduction of domestic animals to Remote Oceania. *Biological Invasions*, 11(7) :1503–1519.

[Anderson, 2010] Anderson, B. (2010). Preemption, precaution, preparedness : Anticipatory action and future geographies. *Progress in Human Geography*, 34(6) :777–798.

[Andrews, 2010] Andrews, S. (2010). FastQC : a quality control tool for high throughput sequence data. Available online. *Retrieved May*, 17.

[Anonyme, 2015] Anonyme (2015). Ordonnance n° 2015-1242 du 7 octobre 2015 relative à l'organisation de la surveillance en matière de santé animale, de santé végétale et d'alimentation.

[Aradau and van Munster, 2012] Aradau, C. and van Munster, R. (2012). The Time/Space of Preparedness : Anticipating the "Next Terrorist Attack". *Space and Culture*, 15(2) :98–109.

[Arbor, 2022] Arbor, A. (2022). Hybridization Capture for Targeted NGS User Manual. page 39.

[Armbrecht et al., 2021] Armbrecht, L., Hallegraeff, G., Bolch, C. J. S., Woodward, C., and Cooper, A. (2021). Hybridisation capture allows DNA damage analysis of ancient marine eukaryotes. *Scientific Reports*, 11(1) :3220.

[Avanesyan, 2014] Avanesyan, A. (2014). Plant DNA detection from grasshopper guts : A step-by-step protocol, from tissue preparation to obtaining plant DNA sequences. *Applications in Plant Sciences*, 2(2) :1300082.

[Aynaud, 2020] Aynaud, T. (2020). python-louvain xy : Louvain algorithm for community detection.

[Backus et al., 2015] Backus, E. A., Shugart, H. J., Rogers, E. E., Morgan, J. K., and Shatters, R. (2015). Direct evidence of egestion and salivation of *Xylella fastidiosa* suggests sharpshooters can be "flying syringes". *Phytopathology*, 105(5) :608–620.

[Baldi and La Porta, 2017] Baldi, P. and La Porta, N. (2017). *Xylella fastidiosa* : Host range and advance in molecular identification techniques. *Frontiers in Plant Science*, 8 :944.

[Ballester, 2015] Ballester, P. (2015). Tourisme de masse et tourisme responsable en période de crise paysagère : le canal du Midi (France). *Études caribéennes*, (31-32). En ligne.

[Barbier, 2003] Barbier, M. (2003). Une interprétation de la constitution de l'ESB comme problème public européen. *Revue internationale de politique comparée*, 10(2) :233–246.

[Barbier, 2006] Barbier, M. (2006). Surveiller pour abattre : La mise en dispositif de la surveillance épidémiologique et de la police sanitaire de l'ESB (enquête). *Terrains & travaux*, n° 11(2) :101–121.

[Barbier et al., 2013] Barbier, M., Cauchard, L., Joly, P.-B., Paradeise, C., and Vinck, D. (2013). Pour une approche pragmatique, écologique et politique de l'expertise. *Revue d'anthropologie des connaissances*, page 24.

[Barbier and Cointet, 2012] Barbier, M. and Cointet, J.-P. (2012). Reconstruction of socio-semantic dynamics in sciences-society networks : Methodology and epistemology of large textual corpuses analysis. Conférence.

[Barbier et al., 2021] Barbier, M., Farigoule, P., Cruaud, A., and Rossi, J.-P. (2021). A socio-semantic analysis of the research domain on *Xylella fastidiosa*. Structure and scientific dynamics. Conférence.

[Barbier et al., 2009] Barbier, M., Prete, G., Sache, I., and Suffert, F. (2009). Cultures en péril ? *Pour la Science. Dossier*, (65) :110–115.

[Barjol et al., 2018] Barjol, J.-L., Barthod, C., Larguier, M., and Stefanini-Meyrignac, O. (2018). *Xylella fastidiosa* en Corse : connaissances, risques afférents à sa présence pour la végétation cultivée ou naturelle, et stratégies d'enrayement. Rapport de mission d'expertise, Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire ; Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation.

[Barnier, 2021] Barnier, J. (2021). *explor : Interactive Interfaces for Results Exploration*.

[Barnouin, 2010] Barnouin, J. (2010). L'émergence épidémiologique : bases conceptuelles, perspectives scientifiques et sociétales. page 17.

[Barnouin and Sache, 2010] Barnouin, J. and Sache, I. (2010). *Les maladies émergentes : Epidémiologie chez le végétal, l'animal et l'homme*. Editions Quae.

[Barthod et al., 2018] Barthod, C., Larguier, M., and Stefanini-Meyrignac, O. (2018). *Xylella fastidiosa* en Corse : connaissances, risques afférents à sa présence pour la végétation cultivée ou naturelle, et stratégie d'enrayement. page 203.

[Bartomeus et al., 2008] Bartomeus, I., Vilà, M., and Santamaría, L. (2008). Contrasting effects of invasive plants in plant–pollinator networks. *Oecologia*, 155(4) :761–770.

[Bebber et al., 2013] Bebber, D. P., Ramotowski, M. A. T., and Gurr, S. J. (2013). Crop pests and pathogens move polewards in a warming world. *Nature Climate Change*, 3(11) :985–988.

[Bell et al., 2017] Bell, K. L., Loeffler, V. M., and Brosi, B. J. (2017). An *rbcL* reference library to aid in the identification of plant species mixtures by DNA metabarcoding. *Applications in Plant Sciences*, 5(3) :1600110.

[Beltrame and Peerbaye, 2018] Beltrame, T. and Peerbaye, A. (2018). Prendre soin des infrastructures. Introduction à la traduction de « L'ethnographie des infrastructures » de Susan Leigh Star. *Tracés*, (35) :179–186.

[Benson et al., 2018] Benson, D. A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Ostell, J., Pruitt, K. D., and Sayers, E. W. (2018). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 46(D1) :D41–D47.

[Berche, 1998] Berche, T. (1998). *Anthropologie et santé publique en pays dogon*. KARTHALA Editions.

[Berisha et al., 1998] Berisha, B., Chen, Y. D., Zhang, G. Y., Xu, B. Y., and Chen, T. A. (1998). Isolation of Peirce's disease bacteria from grapevines in Europe. (104) :427–433.

[Berthe et al., 2017] Berthe, T., Bour-Desprez, B., Chomienne, J.-P., Marchal, Y., and Rey, G. (2017). Évaluation du dispositif sanitaire français. page 242.

[Biedermann and Niedringhaus, 2009] Biedermann, R. and Niedringhaus, R. (2009). *The plant- and leafhoppers of Germany - identification key to all species*. Wissenschaftlich Akademischer Buchvertrieb-Fründ, Scheeßel (Germany).

[Biolabs, 2016] Biolabs, N. E. (2016). NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep Kit for Illumina®.

[Birkle et al., 2020] Birkle, C., Pendlebury, D. A., Schnell, J., and Adams, J. (2020). Web of Science as a data source for research on scientific and scholarly activity. *Quantitative Science Studies*, 1(1) :363–376.

[Blanchet et al., 2010] Blanchet, P., Domenech, J., Perrin, D., and Repiquet, D. (2010). Etats généraux du sanitaire : Synthèse des travaux. page 10.

[Blondel et al., 2008] Blondel, V. D., Guillaume, J.-L., Lambiotte, R., and Lefebvre, E. (2008). Fast unfolding of communities in large networks. *Journal of Statistical Mechanics : Theory and Experiment*, 2008(10) :14.

[Blua et al., 2000] Blua, M. J., Phillips, P. A., and Redak, R. A. (2000). A new sharpshooter threatens both crops and ornamentals. *Plant Health Progress*, 1(1) :4.

[Bodino et al., 2019] Bodino, N., Cavalieri, V., Dongiovanni, C., Plazio, E., Saladini, M. A., Volani, S., Simonetto, A., Fumarola, G., Di Carolo, M., Porcelli, F., Gilioli, G., and Bosco, D. (2019). Phenology, seasonal abundance and stage-structure of spittlebug

(Hemiptera : Aphrophoridae) populations in olive groves in Italy. *Scientific Reports*, 9(1) :17725.

[Bodino et al., 2021] Bodino, N., Demichelis, S., Simonetto, A., Volani, S., Saladini, M. A., Gilioli, G., and Bosco, D. (2021). Phenology, Seasonal Abundance, and Host-Plant Association of Spittlebugs (Hemiptera : Aphrophoridae) in Vineyards of Northwestern Italy. *Insects*, 12(11) :1012.

[Bodino et al., 2017] Bodino, N., Plazio, E., Cavalieri, V., Dongiovanni, E., Ripamonti, M., Volani, S., Gilioli, G., Fumarola, G., Di Carolo, M., Porcelli, F., and others (2017). Host-plant association and host-shifting of nymphs and adults of *Philaenus spumarius* L. In *Italian olive orchards. In Proceedings 3rd Hemipteran-plant interactions symposium (HPIS), Madrid, Spain*, pages 4–8.

[Boisot, 1971] Boisot, M. H. (1971). Discipline, interdisciplinarité, programme interdisciplinaire. *Revue française de pédagogie*, 17(1) :32–38.

[Bolger et al., 2014] Bolger, A. M., Lohse, M., and Usadel, B. (2014). Trimmomatic : a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15) :2114–2120.

[Bolker et al., 2009] Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geange, S. W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H., and White, J.-S. S. (2009). Generalized linear mixed models : a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(3) :127–135.

[Boncristiani et al., 2011] Boncristiani, H., Li, J., Evans, J. D., Pettis, J., and Chen, Y. (2011). Scientific note on PCR inhibitors in the compound eyes of honey bees, Apis mellifera. *Apidologie*, 42(4) :457–460.

[Bonnaud and Fortané, 2016] Bonnaud, L. and Fortané, N. (2016). État des lieux : Au-delà des crises de santé animale Pour une sociologie de l'action publique vétérinaire. *Gouvernement et action publique*, 3(3) :131 – 140.

[Booth, 1993] Booth, W. J. (1993). *Aspects of host plant relations in Cercopidae (Homoptera : Auchenorrhyncha)*. PhD thesis.

[Bordignon, 2021] Bordignon, F. (2021). A scientometric review of permafrost research based on textual analysis (1948–2020). *Scientometrics*, 126(1) :417–436.

[Bornmann, 2014] Bornmann, L. (2014). Do altmetrics point to the broader impact of research ? An overview of benefits and disadvantages of altmetrics. *Journal of Informetrics*, 8(4) :895–903.

[Borrett et al., 2018] Borrett, S. R., Sheble, L., Moody, J., and Anway, E. C. (2018). Bibliometric review of ecological network analysis : 2010–2016. *Ecological Modelling*, 382 :63–82.

[Boucher et al., 2018] Boucher, O., Denvil, S., Levavasseur, G., Cozic, A., Caubel, A., Foujols, M.-A., Meurdesoif, Y., Cadule, P., Devilliers, M., Ghattas, J., Lebas, N., Lurton, T., Mellul, L., Musat, I., Mignot, J., and Cheruy, F. (2018). IPSL IPSL-CM6A-LR model output prepared for CMIP6 CMIP.

[Bourdieu, 1978] Bourdieu, P. (1978). Sur l'objectivation participante. Réponse à quelques objections. pages 67–69.

[Bové and Ayres, 2007] Bové, J. M. and Ayres, A. J. (2007). Etiology of three recent diseases of citrus in São Paulo State : Sudden death, variegated chlorosis and huanglongbing. *IUBMB Life*, 59(4) :346–354.

[Bowker and Star, 1999] Bowker, G. C. and Star, S. L. (1999). *Sorting things out : classification and its consequences*. Inside technology. MIT Press, Cambridge, Mass.

[Boyd and Hoddle, 2006] Boyd, E. A. and Hoddle, M. S. (2006). Oviposition and flight activity of the blue-green sharpshooter (Hemiptera : Cicadellidae) on Southern California wild grape and first report of associated egg parasitoids. *Annals of the Entomological Society of America*, 99(6) :1154–1164.

[Brlansky et al., 1991] Brlansky, R., Davis, C., Timmer, L., Howd, D., and Contreras, J. (1991). Xylem-limited bacteria in citrus from Argentina with symptoms of citrus variegated chlorosis. *Phytopathology*, 81(10).

[Brlansky et al., 1983] Brlansky, R., Timmer, L., French, W., McCoy, R., and others (1983). Colonization of the sharpshooter vector, Oncometopia nigricans and *Homalodisca coagulata* by xylem-limited bacteria. *Phytopathology*, 73(4) :530–535.

[Brlansky et al., 1982] Brlansky, R., Timmer, L., and Lee, R. (1982). Detection and transmission of a gram-negative, xylem-limited bacterium in sharpshooters from a citrus grove in Florida. *Plant Dis*, 66 :590–592.

[Brodbeck et al., 1993] Brodbeck, B. V., Mizell, R. F., and Andersen, P. C. (1993). Physiological and behavioral adaptations of three species of leafhoppers in response to the dilute nutrient content of xylem fluid. *Journal of Insect Physiology*, 39(1) :73–81.

[Brodersen et al., 2019] Brodersen, C. R., Roddy, A. B., Wason, J. W., and McElrone, A. J. (2019). Functional Status of Xylem Through Time. *Annual Review of Plant Biology*, 70(1) :407–433.

[Broin et al., 2019] Broin, M., Delaporte, E., Duru, M., Izopet, J., Paul, M., Roger, F., and Simard, F. (2019). Santé globale : homme, animal, plantes, environnement : pour des approches intégrées de la santé.

[Brooks et al., 2017] Brooks, M. E., Kristensen, K., van Benthem, K. J., Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen, A., Skaug, H. J., Maechler, M., and Bolker, B. M. (2017). glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *The R Journal*, 9(2) :378–400.

[Buhtz et al., 2004] Buhtz, A., Kolasa, A., Arlt, K., Walz, C., and Kehr, J. (2004). Xylem sap protein composition is conserved among different plant species. *Planta*, 219(4).

[Bull et al., 2012] Bull, C. T., Boer, S. H. D., Denny, T. P., Firrao, G., Saux, M. F.-L., Saddler, G. S., Scortichini, M., Stead, D. E., and Takikawa, Y. (2012). List of new names of plant pathogenic bacteria (2008-2010). *Journal of Plant Pathology*, page 7.

[Cailliez and Pages, 1976] Cailliez, F. and Pages, J. P. (1976). *Introduction à l'analyse des données*. Société de mathématiques appliquées et de sciences humaines Smash.

[Campana, 2018] Campana, M. G. (2018). BaitsTools : Software for hybridization capture bait design. *Molecular Ecology Resources*, 18(2) :356–361.

[Cappellari et al., 2022] Cappellari, A., Santoiemma, G., Sanna, F., D ?Ascenzo, D., Mori, N., Lami, F., and Marini, L. (2022). Spatio-temporal dynamics of vectors of *Xylella fastidiosa* subsp.*pauca*across heterogeneous landscapes. *Entomologia Generalis*, pages –.

[Caranta et al., 2019] Caranta, C., Monod, H., Berry, H., Chelle, M., Génard, M., Jourdan, F., Lannou, C., Maguin, E., Medale, F., Oddou-Muratorio, S., Rogel Gaillard, C., and Traas, J. (2019). Réflexion prospective interdisciplinaire approches prédictives pour la biologie et l'écologie.

[Carton et al., 2007] Carton, Y., Sorensen, C., Smith, J., and Smith, E. (2007). Une coopération exemplaire entre entomologistes enançais et américains pendant la crise

du Phylloxera en France (1868–1895). *Annales de la Société entomologique de France (N.S.)*, 43(1) :103–125.

[Castro et al., 2021] Castro, C., DiSalvo, B., and Roper, M. C. (2021). *Xylella fastidiosa* : A reemerging plant pathogen that threatens crops globally. *PLOS Pathogens*, 17(9) :e1009813.

[Caudwell, 1957] Caudwell, A. (1957). *Deux années d'études sur la flavescence dorée nouvelle maladie grave de la vigne*. Ann. Amélioration des Plantes. Institut National de la Recherche agronomique.

[Cavalieri et al., 2019] Cavalieri, V., Altamura, G., Fumarola, G., di Carolo, M., Saponari, M., Cornara, D., Bosco, D., and Dongiovanni, C. (2019). Transmission of *Xylella fastidiosa* subspecies *pauca* Sequence Type 53 by different insect species. *Insects*, 10(10) :324.

[CBOL Plant Working Group1 et al., 2009] CBOL Plant Working Group1, Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., van der Bank, M., Chase, M. W., Cowan, R. S., Erickson, D. L., Fazekas, A. J., Graham, S. W., James, K. E., Kim, K.-J., Kress, W. J., Schneider, H., van AlphenStahl, J., Barrett, S. C., van den Berg, C., Bogarin, D., Burgess, K. S., Cameron, K. M., Carine, M., Chacón, J., Clark, A., Clarkson, J. J., Conrad, F., Devey, D. S., Ford, C. S., Hedderson, T. A., Hollingsworth, M. L., Husband, B. C., Kelly, L. J., Kesanakurti, P. R., Kim, J. S., Kim, Y.-D., Lahaye, R., Lee, H.-L., Long, D. G., Madriñán, S., Maurin, O., Meusnier, I., Newmaster, S. G., Park, C.-W., Percy, D. M., Petersen, G., Richardson, J. E., Salazar, G. A., Savolainen, V., Seberg, O., Wilkinson, M. J., Yi, D.-K., and Little, D. P. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31) :12794–12797.

[Cesbron et al., 2020] Cesbron, S., Dupas, E., Beaurepère, Q., Briand, M., Montes-Borrego, M., Velasco-Amo, M. d. P., Landa, B. B., and Jacques, M.-A. (2020). Development of a nested-multiLocus sequence typing approach for a highly sensitive and specific identification of *Xylella fastidiosa* subspecies directly from plant samples. *Agronomy*, 10(8) :1099.

[Chang et al., 1993] Chang, C. J., Garnier, M., Zreik, L., Rossetti, V., and Bové, J. M. (1993). Culture and serological detection of the xylem-limited bacterium causing citrus

variegated chlorosis and its identification as a strain of *Xylella fastidiosa*. *Current Microbiology*, 27(3) :137–142.

[Chapman et al., 2015] Chapman, J. W., Reynolds, D. R., and Wilson, K. (2015). Long-range seasonal migration in insects : mechanisms, evolutionary drivers and ecological consequences. *Ecology Letters*, 18(3) :287–302.

[Charaudeau, 2010] Charaudeau, P. (2010). Pour une interdisciplinarité « focalisée » dans les sciences humaines et sociales. *Questions de communication*, (17) :195–222.

[Charrier, 2022] Charrier, F. (2022). *Aux prises avec les Socio-pathosystèmes : Une perspective dialectique entre situation et dispositifs de gestion, appliquée au domaine de la gestion des maladies infectieuses animales*. PhD Thesis, Paris-Est Sup ; ABIES.

[Charrier and Barbier, 2021] Charrier, F. and Barbier, M. (2021). Le socio-pathosystème : une notion pour comprendre et construire l'action de gestion de la santé animale. *Natures Sciences Sociétés*, 29(4) :396–409.

[Charrier et al., 2020] Charrier, F., Hannachi, M., and Barbier, M. (2020). Rendre l'ingérable gérable par la transformation collective de la situation de gestion : étude du cas de la gestion d'une maladie animale en Corse. *Annales des Mines - Gérer et comprendre*, N° 139(1) :33–45.

[Chartois et al., 2019] Chartois, M., Quiquerez, I., Mesmin, X., Borgomano, S., Casabianca, F., Farigoule, P., Gonzalez, A.-A., Hugot, L., Pierre, É., Streito, J.-C., Thuillier, J.-M., Rossi, J.-P., Rasplus, J.-Y., and Cruaud, A. (2019). Investigating the role of the meadow spittlebug (*Philaenus spumarius*) and its major host plant (*Cistus monspeliensis*) in the spread of *Xylella fastidiosa* in Corsica.

[Chase et al., 2007] Chase, M. W., Cowan, R. S., Hollingsworth, P. M., van den Berg, C., Madriñán, S., Petersen, G., Seberg, O., Jørgsensen, T., Cameron, K. M., Carine, M., Pedersen, N., Hedderson, T. A., Conrad, F., Salazar, G. A., Richardson, J. E., Hollingsworth, M. L., Barraclough, T. G., Kelly, L., and Wilkinson, M. (2007). A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *TAXON*, 56(2) :295–299.

[Chatterjee et al., 2008a] Chatterjee, S., Almeida, R. P. P., and Lindow, S. (2008a). Living in two worlds : the plant and insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. *Annual Review of Phytopathology*, 46(1) :243–271.

[Chatterjee et al., 2010] Chatterjee, S., Killiny, N., Almeida, R. P. P., and Lindow, S. E. (2010). Role of cyclic di-GMP in *Xylella fastidiosa* biofilm formation, plant virulence, and insect transmission. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23(10) :1356–1363.

[Chatterjee et al., 2008b] Chatterjee, S., Wistrom, C., and Lindow, S. E. (2008b). A cell–cell signaling sensor is required for virulence and insect transmission of *Xylella fastidiosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(7) :2670–2675.

[Chauvel and Martinez, 2013] Chauvel, B. and Martinez, Q. (2013). Allergie à l'ambroisie : quels moyens pour empêcher l'invasion ? *Revue Française d'Allergologie*, 53(3) :229–234.

[Chauvel et al., 2015] Chauvel, G., Cruaud, A., Legendre, B., Germain, J., and Rasplus, J. (2015). Rapport de mission d'expertise sur *Xylella fastidiosa* en Corse. Technical report.

[Chavinskaia, 2020] Chavinskaia, L. (2020). *La vache globale : la génétique quantitative dans la globalisation de la sélection bovine*. PhD Thesis, Paris Est.

[Chen et al., 2005] Chen, J., Groves, R., Civerolo, E. L., Viveros, M., Freeman, M., and Zheng, Y. (2005). Two *Xylella fastidiosa* genotypes associated with almond leaf scorch disease on the same location in California. *Phytopathology*, 95(6) :708–714.

[Choat et al., 2004] Choat, B., Jansen, S., Zwieniecki, M. A., Smets, E., and Holbrook, N. M. (2004). Changes in pit membrane porosity due to deflection and stretching : the role of vestured pits. *Journal of Experimental Botany*, 55(402) :1569–1575.

[Choi et al., 2013] Choi, H.-K., Iandolino, A., da Silva, F. G., and Cook, D. R. (2013). Water Deficit Modulates the Response of *Vitis vinifera* to the Pierce's Disease Pathogen *Xylella fastidiosa*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26(6) :643–657.

[Chomel and Sun, 2010] Chomel, B. B. and Sun, B. (2010). Bioterrorism and invasive species. 29(2) :193–199.

[Chuche, 2010] Chuche, J. (2010). *Comportement de Scaphoideus titanus, conséquences spatiales et démographiques*. PhD thesis.

[Chuche and Thiéry, 2014] Chuche, J. and Thiéry, D. (2014). Biology and ecology of the Flavescence dorée vector *Scaphoideus titanus* : a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2) :381–403.

[Claeys and Morel, 2015] Claeys, C. and Morel, M. T.-B. (2015). L'apport de la sociologie à l'analyse des invasions biologiques : retour d'expériences et pistes de recherche pour dépasser déceptions méthodologiques et irritations épistémologiques. pages 175–190.

[Claeys and Sirost, 2010] Claeys, C. and Sirost, O. (2010). Proliférantes natures. Introduction. *Études rurales*, (185) :009–022.

[Cointet, 2009] Cointet, J.-P. (2009). *Dynamiques sociales et sémantiques dans les communautés de savoirs, morphogenèse et diffusion*. PhD thesis.

[Colella et al., 2019a] Colella, C., Carradore, R., and Cerroni, A. (2019a). Problem setting and problem solving in the case of Olive Quick Decline Syndrome in Apulia, Italy : A sociological approach. *Phytopathology*, 109(2) :187–199.

[Colella et al., 2019b] Colella, C., Panziera, F., Charrier, F., and Barbier, M. (2019b). Living with *Xylella* : The dynamics of knowledges within *X. fastidiosa* 'sociopathosystems' in Puglia and Corsica.

[Coletta-Filho et al., 2020] Coletta-Filho, H. D., Castillo, A. I., Laranjeira, F. F., de Andrade, E. C., Silva, N. T., de Souza, A. A., Bossi, M. E., Almeida, R. P. P., and Lopes, J. R. S. (2020). Citrus Variegated Chlorosis : an Overview of 30 Years of Research and Disease Management. *Tropical Plant Pathology*, 45(3) :175–191.

[Collier et al., 2004] Collier, S. J., Lakoff, A., and Rabinow, P. (2004). Biosecurity : Towards an anthropology of the contemporary. *Anthropology Today*, 20(5) :3–7.

[Collins, 1992] Collins, H. (1992). Changing order : Replication and induction in scientific practice. *University of Chicago Press*.

[Cooper et al., 2016a] Cooper, P., Landrum, M., Mizrachi, I., and Weisemann, J. (2016a). Entrez Sequences Quick Start. page 14.

[Cooper and Whitmore, 1990] Cooper, R. and Whitmore, R. C. (1990). Arthropod sampling methods in ornithology. (13) :9.

[Cooper et al., 2016b] Cooper, W. R., Horton, D. R., Unruh, T. R., and Garczynski, S. F. (2016b). Gut Content Analysis of a Phloem-Feeding Insect, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera : Triozidae). *Environmental Entomology*, 45(4) :938–944.

[Cornara et al., 2018a] Cornara, D., Bosco, D., and Fereres, A. (2018a). *Philaenus spumarius* : when an old acquaintance becomes a new threat to European agriculture. *Journal of Pest Science*, 91(3) :957–972.

[Cornara et al., 2017a] Cornara, D., Cavalieri, V., Dongiovanni, C., Altamura, G., Palmisano, F., Bosco, D., Porcelli, F., Almeida, R. P. P., and Saponari, M. (2017a). Transmission of *Xylella fastidiosa* by naturally infected *Philaenus spumarius* (Hemiptera, Aphrophoridae) to different host plants. *Journal of Applied Entomology*, 141(1-2) :80–87.

[Cornara et al., 2018b] Cornara, D., Garzo, E., Morente, M., Moreno, A., Alba-Tercedor, J., and Fereres, A. (2018b). EPG combined with micro-CT and video recording reveals new insights on the feeding behavior of /textitPhilaenus spumarius. *PLoS ONE*, 13(7) :e0199154.

[Cornara et al., 2020a] Cornara, D., Marra, M., Morente, M., Garzo, E., Moreno, A., Saponari, M., and Fereres, A. (2020a). Feeding behavior in relation to spittlebug transmission of *Xylella fastidiosa*. *Journal of Pest Science*, 93(4) :1197–1213.

[Cornara et al., 2020b] Cornara, D., Marra, M., Tedone, B., Cavalieri, V., Porcelli, F., Fereres, A., Purcell, A., and Saponari, M. (2020b). No evidence for cicadas' implication in *Xylella fastidiosa* epidemiology. *Entomologia Generalis*, 40(2) :125–132.

[Cornara et al., 2019] Cornara, D., Morente, M., Markheiser, A., Bodino, N., Tsai, C.-W., Fereres, A., Redak, R. A., Perring, T. M., and Lopes, J. R. S. (2019). An overview on the worldwide vectors of *Xylella fastidiosa*. *Entomologia Generalis*, 39(3-4) :157–181.

[Cornara et al., 2017b] Cornara, D., Saponari, M., Zeilinger, A. R., de Stradis, A., Boscia, D., Loconsole, G., Bosco, D., Martelli, G. P., Almeida, R. P. P., and Porcelli, F. (2017b). Spittlebugs as vectors of *Xylella fastidiosa* in olive orchards in Italy. *Journal of Pest Science*, 90(2) :521–530.

[Cornara et al., 2016] Cornara, D., Sicard, A., Zeilinger, A. R., Porcelli, F., Purcell, A. H., and Almeida, R. P. P. (2016). Transmission of *Xylella fastidiosa* to grapevine by the meadow Ssittlebug. *Phytopathology*, 106(11) :1285–1290.

[Cornu, 1880] Cornu, M. (1880). The phylloxera in France. *Nature*, 23(580) :127–130.

[Costa et al., 2000] Costa, H., Blua, M., Bethke, J., and Redak, R. (2000). Transmission of *Xylella fastidiosa* to oleander by the Glassywinged Sharpshooter, *Homalodisca coagulata*. *HortScience*, 35(7) :1265–1267.

[Courtial et al., 1993] Courtial, J.-P., Callon, M., and Penan, H. (1993). *La scientométrie*.

[Courtial and Kerneur, 1997] Courtial, J.-P. and Kerneur, L. (1997). La méthode des mots associés, outil d'analyse du changement social. *Histoire & Mesure*, pages 251–270.

[Cruaud et al., 2018] Cruaud, A., Gonzalez, A.-A., Godefroid, M., Nidelet, S., Streito, J.-C., Thuillier, J.-M., Rossi, J.-P., Santoni, S., and Rasplus, J.-Y. (2018). Using insects to detect, monitor and predict the distribution of *Xylella fastidiosa* : a case study in Corsica. *Scientific Reports*, 8(1) :15628.

[Cruaud et al., 2017] Cruaud, P., Rasplus, J.-Y., Rodriguez, L. J., and Cruaud, A. (2017). High-throughput sequencing of multiple amplicons for barcoding and integrative taxonomy. *Scientific Reports*, 7(1) :41948.

[Cunty et al., 2022] Cunty, A., Legendre, B., de Jerphanion, P., Dousset, C., Forveille, A., Paillard, S., and Olivier, V. (2022). Update of the *Xylella fastidiosa* outbreak in France : two new variants detected and a new region affected. *European Journal of Plant Pathology*.

[Daane et al., 2011] Daane, K. M., Wistrom, C. M., Shapland, E. B., and Sisterson, M. S. (2011). Seasonal Abundance of *Draeculacephala minerva* and other *Xylella fastidiosa* vectors in California almond orchards and vineyards. *Journal of Economic Entomology*, 104(2) :367–374.

[Dagiral and Peerbaye, 2012] Dagiral, É. and Peerbaye, A. (2012). Les mains dans les bases de données : Connaître et faire reconnaître le travail invisible. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 6, 1(1) :191.

[Damsteegt et al., 2006] Damsteegt, V. D., Brlansky, R. H., Phillips, P. A., and Roy, A. (2006). Transmission of *Xylella fastidiosa* , causal agent of citrus variegated chlorosis, by the Glassy-Winged Sharpshooter, *Homalodisca coagulata*. *Plant Disease*, 90(5) :567–570.

[Dantas-Torres et al., 2012] Dantas-Torres, F., Chomel, B. B., and Otranto, D. (2012). Ticks and tick-borne diseases : a One Health perspective. *Trends in Parasitology*, 28(10) :437–446.

[Daugherty, 2021] Daugherty, M. (2021). Revisiting the role of *Graphocephala atropunctata* in Pierce's disease dynamics.

[Daugherty et al., 2009] Daugherty, M., Bosco, D., and Almeida, R. (2009). Temperature mediates vector transmission efficiency : inoculum supply and plant infection dynamics. *Annals of Applied Biology*, 155(3) :361–369.

[Daugherty and Almeida, 2019] Daugherty, M. P. and Almeida, R. P. P. (2019). Understanding how an invasive vector drives Pierce's disease epidemics : Seasonality and vine-to-vine spread. *Phytopathology*, 109(2) :277–285.

[Daugherty et al., 2019] Daugherty, M. P., Cooper, M., Smith, R., Varela, L., and Almeida, R. (2019). Has Climate Contributed to a Pierce's Disease Resurgence in North Coast Vineyards ? page 3.

[Daugherty et al., 2011] Daugherty, M. P., Rashed, A., Almeida, R. P. P., and Perring, T. M. (2011). Vector preference for hosts differing in infection status : sharpshooter movement and *Xylella fastidiosa* transmission. *Ecological Entomology*, 36(5) :654–662.

[Daugherty et al., 2017] Daugherty, M. P., Zeilinger, A. R., and Almeida, R. P. P. (2017). Conflicting Effects of Climate and Vector Behavior on the Spread of a Plant Pathogen. *Phytobiomes Journal*, 1(1) :46–53.

[Davis, 1980] Davis, M. J. (1980). Etiological Role of the Xylem-Limited Bacterium Causing Pierce's Disease in Almond Leaf Scorch. *Phytopathology*, 70(6) :472.

[De La Fuente et al., 2007] De La Fuente, L., Burr, T. J., and Hoch, H. C. (2007). Mutations in Type I and Type IV pilus biosynthetic genes affect twitching motility rates in *Xylella fastidiosa*. *Journal of Bacteriology*, 189(20) :7507–7510.

[De Negri, 1990] De Negri, J. (1990). Clorose variegada dos citros : nova anomalia afetando pomares em São Paulo e Minas Gerais. *Campinas : CATI*, page 6.

[De Pascali et al., 2022] De Pascali, M., Vergine, M., Negro, C., Greco, D., Vita, F., Sabella, E., De Bellis, L., and Luvisi, A. (2022). *Xylella fastidiosa* and drought stress in olive trees : A complex relationship mediated by soluble sugars. *Biology*, 11(1) :112.

[De Pascali et al., 2019] De Pascali, M., Vergine, M., Sabella, E., Aprile, A., Nutricati, E., Nicolì, F., Buja, I., Negro, C., Miceli, A., Rampino, P., De Bellis, L., and Luvisi, A. (2019). Molecular Effects of *Xylella fastidiosa* and drought combined stress in olive trees. *Plants*, 8(11) :437.

[Deberdt et al., 2020] Deberdt, P., Legrand, P., Manceau, C., Nesme, X., Olivier, V., Le Bourgeois, T., Balesdent, M.-H., Binet, F., Biondi, A., Castagnone, P., Desneux, N., Desprez Loustau, M. L., Escobar Gutiérrez, A., Gentzbittel, L., Jactel, H., Makowski, D., Monty, A., Navajas, M., Robin, M.-H., Steyer, S., Verdin, E., Verheggen, F., Wetzel, T., Gachet, E., and Tayeh, C. (2020). Période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus*. Technical report, Anses éditions.

[Del Cid et al., 2018] Del Cid, C., Krugner, R., Zeilinger, A. R., Daugherty, M. P., and Almeida, R. P. P. (2018). Plant Water Stress and Vector Feeding Preference Mediate Transmission Efficiency of a Plant Pathogen. *Environmental Entomology*, 47(6) :1471–1478.

[Delvare et al., 1997] Delvare, G., Aberlenc, H., Adis, J., Springate, N., Stork, N., Didham, R., and Basset, Y. (1997). A review of methods for sampling arthropods in tree canopies. *Canopy arthropods*, 27 :52.

[Demortain, 2013] Demortain, D. (2013). Regulatory toxicology in controversy. *Science, Technology, & Human Values*, 38(6) :727–748.

[Demortain, 2017] Demortain, D. (2017). Expertise, regulatory science and the evaluation of technology and risk : Introduction to the special issue. *Minerva*, 55(2) :139–159.

[Denancé et al., 2019] Denancé, N., Briand, M., Gaborieau, R., Gaillard, S., and Jacques, M.-A. (2019). Identification of genetic relationships and subspecies signatures in *Xylella fastidiosa*. *BMC Genomics*, 20(1) :239.

[Denancé et al., 2017] Denancé, N., Legendre, B., Briand, M., Olivier, V., de Boisseson, C., Poliakoff, F., and Jacques, M.-A. (2017). Several subspecies and sequence types are associated with the emergence of *Xylella fastidiosa* in natural settings in France. *Plant Pathology*, 66(7) :1054–1064.

[Denis and Pontille, 2012] Denis, J. and Pontille, D. (2012). Travailleurs de l'écrit, matières de l'information. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 6(1) :20.

[Despret, 2016] Despret, V. (2016). Penser comme un rat. *Penser comme un rat*, pages 1–96.

[Deyett and Rolshausen, 2019] Deyett, E. and Rolshausen, P. E. (2019). Temporal Dynamics of the Sap Microbiome of Grapevine Under High Pierce's Disease Pressure. *Frontiers in Plant Science*, 10 :1246.

[Dickson et al., 2021] Dickson, Z. W., Hackenberger, D., Kuch, M., Marzok, A., Banerjee, A., Rossi, L., Klowak, J. A., Fox-Robichaud, A., Mossmann, K., Miller, M. S., Surette, M. G., Golding, G. B., and Poinar, H. (2021). Probe design for simultaneous, targeted capture of diverse metagenomic targets. *Cell Reports Methods*, 1(6) :100069.

[Dolédec and Chessel, 1987] Dolédec, S. and Chessel, D. (1987). Rythmes saisonniers et composantes stationnelles en milieu aquatique I- Description d'un plan d'observations complet par projection de variables. 8(3) :403–426.

[Dormann, 2011] Dormann, C. F. (2011). How to be a specialist ? Quantifying specialisation in pollination networks. page 35.

[Dormann et al., 2013] Dormann, C. F., Elith, J., Bacher, S., Buchmann, C., Carl, G., Carré, G., Marquéz, J. R. G., Gruber, B., Lafourcade, B., Leitão, P. J., Münkemüller, T., McClean, C., Osborne, P. E., Reineking, B., Schröder, B., Skidmore, A. K., Zurell, D., and Lautenbach, S. (2013). Collinearity : a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, 36(1) :27–46.

[Dormann et al., 2014] Dormann, C. F., Fruend, J., Gruber, B., Dormann, M. C. F., LazyData, T., and ByteCompile, T. (2014). Package 'bipartite'. *Visualizing bipartite networks and calculating some (ecological) indices (Version 2.04).(R Foundation for Statistical Computing.) Available at https ://cran. r-project. org/web/packages/bipartite/index. html [Verified 28 July 2015]*.

[Dowle et al., 2016] Dowle, E. J., Pochon, X., C. Banks, J., Shearer, K., and Wood, S. A. (2016). Targeted gene enrichment and high-throughput sequencing for environmental biomonitoring : a case study using freshwater macroinvertebrates. *Molecular Ecology Resources*, 16(5) :1240–1254.

[Dray and Dufour, 2007] Dray, S. and Dufour, A.-B. (2007). The ade4 Package : Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4) :1–20.

[Drosopoulos, 2003] Drosopoulos, S. (2003). New data on the nature and origin of colour polymorphism in the spittlebug genus *Philaenus* (Hemiptera : Aphorophoridae). *Annales de la Société entomologique de France (N.S.)*, 39(1) :31–42.

[Drosopoulos and Asche, 1991] Drosopoulos, S. and Asche, M. (1991). Biosystematic studies on the spittlebug genus *Philaenus* with the description of a new species. *Zoological journal of the Linnean Society*, 101(2) :169–177.

[Dubois, 1999] Dubois, M. (1999). *Introduction à la sociologie des sciences et des connaissances scientifiques*. FeniXX.

[Dunne et al., 2020] Dunne, J. P., Horowitz, L. W., Adcroft, A. J., Ginoux, P., Held, I. M., John, J. G., Krasting, J. P., Malyshev, S., Naik, V., Paulot, F., Shevliakova, E., Stock, C. A., Zadeh, N., Balaji, V., Blanton, C., Dunne, K. A., Dupuis, C., Durachta, J., Dussin, R., Gauthier, P. P. G., Griffies, S. M., Guo, H., Hallberg, R. W., Harrison, M., He, J., Hurlin, W., McHugh, C., Menzel, R., Milly, P. C. D., Nikonov, S., Paynter, D. J., Ploshay, J., Radhakrishnan, A., Rand, K., Reichl, B. G., Robinson, T., Schwarzkopf, D. M., Sentman, L. T., Underwood, S., Vahlenkamp, H., Winton, M., Wittenberg, A. T., Wyman, B., Zeng, Y., and Zhao, M. (2020). The GFDL Earth System Model Version 4.1 (GFDL-ESM 4.1) : Overall Coupled Model Description and Simulation Characteristics. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems*, 12(11).

[Dupas et al., 2019] Dupas, E., Briand, M., Jacques, M.-A., and Cesbron, S. (2019). novel tetraplex quantitative PCR assays for simultaneous detection and identification of *Xylella fastidiosa* subspecies in plant tissues. *Frontiers in Plant Science*, 10 :1732.

[Durand et al., 1993] Durand, Y., Brun, E., Merindol, L., Guyomarc'h, G., Lesaffre, B., and Martin, E. (1993). A meteorological estimation of relevant parameters for snow models. *Annals of Glaciology*, 18 :65–71.

[Eck and Waltman, 2009] Eck, N. J. v. and Waltman, L. (2009). How to normalize cooccurrence data ? An analysis of some well-known similarity measures. *Journal of the American Society for Information Science and Technology*, 60(8) :1635–1651.

[Edwards, 2010] Edwards, P. N. (2010). *A vast machine : computer models, climate data, and the politics of global warming*. MIT Press, Cambridge, Mass.

[EFSA, 2015] EFSA (2015). *Xylella fastidiosa* pest risk assessment. *EFSA Journal*, 13(1) :263.

[EFSA et al., 2022] EFSA, Delbianco, A., Gibin, D., Pasinato, L., and Morelli, M. (2022). Update of the *Xylella* spp. host plant database – systematic literature search up to 30 June 2021. *EFSA Journal*, 20(1).

[EFSA Panel on Plant Health (PLH) et al., 2019] EFSA Panel on Plant Health (PLH), Bragard, C., Dehnen-Schmutz, K., Di Serio, F., Gonthier, P., Jacques, M.-A., Jaques Miret, J. A., Justesen, A. F., MacLeod, A., Magnusson, C. S., Milonas, P., Navas-Cortés, J. A., Potting, R., Reignault, P. L., Thulke, H.-H., van der Werf, W., Vicent Civera, A., Yuen, J., Zappalà, L., Boscia, D., Chapman, D., Gilioli, G., Krugner, R., Mastin, A., Simonetto, A., Spotti Lopes, J. R., White, S., Abrahantes, J. C., Delbianco, A., Maiorano, A., Mosbach-Schulz, O., Stancanelli, G., Guzzo, M., and Parnell, S. (2019). Update of the Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory. *EFSA Journal*, 17(5).

[EFSA Panel on Plant Health (PLH) et al., 2018] EFSA Panel on Plant Health (PLH), Jeger, M., Bragard, C., Caffier, D., Candresse, T., Chatzivassiliou, E., Dehnen-Schmutz, K., Grégoire, J.-C., Jaques Miret, J. A., MacLeod, A., Navajas Navarro, M., Niere, B., Parnell, S., Potting, R., Rafoss, T., Rossi, V., Urek, G., Van Bruggen, A., Van Der Werf, W., West, J., Winter, S., Hart, A., Schans, J., Schrader, G., Suffert, M., Kertész, V., Kozelska, S., Mannino, M. R., Mosbach-Schulz, O., Pautasso, M., Stancanelli, G., Tramontini, S., Vos, S., and Gilioli, G. (2018). Guidance on quantitative pest risk assessment. *EFSA Journal*, 16(8).

[Egret, 2021] Egret, D. (2021). Recensements et mesures de la publication scientifique : l'article scientifique comme donnée. *Histoire de la recherche contemporaine*.

[Elbeaino et al., 2014] Elbeaino, T., Valentini, F., Abou Kubaa, R., Moubarak, P., Yaseen, T., and Digiaro, M. (2014). Multilocus sequence typing of *Xylella fastidiosa* isolated from olive affected by "olive quick decline syndrome" in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 53(3).

[EPPO, 2019] EPPO (2019). First report of *Xylella fastidiosa* in Israel.

[Erlich, 1989] Erlich, H. A., editor (1989). *PCR Technology : Principles and Applications for DNA Amplification*. Palgrave Macmillan UK, London.

[Esteves et al., 2019] Esteves, M. B., Kleina, H. T., Sales, T. d. M., Oliveira, T. P., de Lara, I. A. R., Almeida, R. P. P., Coletta-Filho, H. D., and Lopes, J. R. S. (2019). Transmission efficiency of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* Sequence Types by sharpshooter vectors after in vitro acquisition. *Phytopathology*, 109(2) :286–293.

[ESV, 2021] ESV, P. (2021). Rapport Annuel 2021. Technical report.

[Evans et al., 2016] Evans, D. M., Kitson, J. J. N., Lunt, D. H., Straw, N. A., and Pocock, M. J. O. (2016). Merging DNA metabarcoding and ecological network analysis to understand and build resilient terrestrial ecosystems. *Functional Ecology*, 30(12) :1904–1916.

[Fanton and Brodersen, 2021] Fanton, A. C. and Brodersen, C. (2021). Hydraulic consequences of enzymatic breakdown of grapevine pit membranes. *Plant Physiology*, 186(4) :1919–1931.

[Fanton et al., 2022] Fanton, A. C., Furze, M. E., and Brodersen, C. R. (2022). Pathogen-induced hydraulic decline limiting photosynthesis and starch storage in grapevines (*Vitis* sp.). *Plant, Cell & Environment*, page pce.14312.

[Farigoule et al., 2022] Farigoule, P., Chartois, M., Mesmin, X., Lambert, M., Rossi, J.-P., Rasplus, J.-Y., and Cruaud, A. (2022). Vectors as sentinels : rising temperatures increase the risk of *Xylella fastidiosa* outbreaks. page 15.

[Farigoule et al., 2020] Farigoule, P., Chartois, M., Mesmin, X., Quiquerez, I., Genson, G., Godefroid, M., Nidelet, S., Pierre, E., Thuillier, J.-M., Borgomano, S., Casabianca, F., Hugot, L., Streito, J.-C., Rossi, J.-P., Rasplus, J.-Y., and Cruaud, A. (2020). *Xylella fastidiosa* : insectes vecteurs, plantes et climat. *Phytoma*, (732) :39–43.

[Fazekas et al., 2008] Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesanakurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G., Husband, B. C., Percy, D. M., Hajibabaei, M., and Barrett, S. C. H. (2008). Multiple Multilocus DNA Barcodes from the Plastid Genome Discriminate Plant Species Equally Well. *PLoS ONE*, 3(7) :e2802.

[Feil et al., 2003] Feil, H., Feil, W. S., and Purcell, A. H. (2003). Effects of date of inoculation on the within-plant movement of *Xylella fastidiosa* and persistence of Pierce's Disease within field grapevines. *Phytopathology*, 93(2) :244–251.

[Feil and Purcell, 2001] Feil, H. and Purcell, A. H. (2001). Temperature-dependent growth and survival of *Xylella fastidiosa* in vitro and in potted grapevines. *Plant Disease*, 85(12) :1230–1234.

[Ferreira de Pinho et al., 2017] Ferreira de Pinho, F., Braga Ferreira, G., and Pereira Paglia, A. (2017). Influence of vegetation physiognomy, elevation and fire frequency on medium and large mammals in two protected areas of the Espinhaço Range. *Zoologia*, 34 :1–11.

[Fielding et al., 1999] Fielding, C. A., Whittaker, J. B., Butterfield, J. E. L., and Coulson, J. C. (1999). Predicting responses to climate change : the effect of altitude and latitude on the phenology of the Spittlebug *Neophilaenus lineatus* : Spittlebug phenology and climate change. *Functional Ecology*, 13 :65–73.

[Finke, 2012] Finke, D. L. (2012). Contrasting the consumptive and non-consumptive cascading effects of natural enemies on vector-borne pathogens : Predator effects on vector-borne pathogens. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 144(1) :45–55.

[Flood, 2010] Flood, J. (2010). The importance of plant health to food security. *Food Security*, 2(3) :215–231.

[Fourche, 2008] Fourche, R. (2008). Contribution à l'histoire de la protection phytosanitaire dans l'agriculture française, 1880-1970.

[Foyer, 2011] Foyer, J. (2011). Libérer et écologiser les sciences sociales. *Hermès*, n° 60(2) :182.

[Fry and Milholland, 1990] Fry, S. and Milholland, R. (1990). Response of resistant, tolerant, and susceptible grapevine tissues to invasion by the Pierce's disease bacterium, Xylella fastidiosa. *Phytopathology*, 80(1) :66–69.

[Galan et al., 2018] Galan, M., Pons, J.-B., Tournayre, O., Pierre, É., Leuchtmann, M., Pontier, D., and Charbonnel, N. (2018). Metabarcoding for the parallel identification of several hundred predators and their prey : Application to bat species diet analysis. *Molecular Ecology Resources*, 18(3) :474–489.

[Galvez et al., 2010] Galvez, L. C., Korus, K., Fernandez, J., Behn, J. L., and Banjara, N. (2010). The threat of pierce's disease to midwest wine and table grapes. *APSnet Feature Articles*.

[García-Robledo et al., 2013] García-Robledo, C., Erickson, D. L., Staines, C. L., Erwin, T. L., and Kress, W. J. (2013). Tropical Plant–Herbivore Networks : Reconstructing Species Interactions Using DNA Barcodes. *PLoS ONE*, 8(1) :e52967.

[Garfield, 1964] Garfield, E. (1964). The citation index—A new dimension in indexing. *Science*, 144(3619) :649–654.

[Gargani et al., 2021] Gargani, E., Benvenuti, C., Marianelli, L., Roversi, P. F., Ricciolini, M., Scarpelli, I., Sacchetti, P., Nencioni, A., Rizzo, D., Strangi, A., Iovinella, I., and Cutino, I. (2021). A five-year survey in Tuscany (Italy) and detection of *Xylella fastidiosa*

subspecies*multiplex* in potential insect vectors, collected in Monte Argentario. *Redia*, 104 :75–88.

[Giampetruzzi et al., 2015] Giampetruzzi, A., Chiumenti, M., Saponari, M., Donvito, G., Italiano, A., Loconsole, G., Boscia, D., Cariddi, C., Martelli, G. P., and Saldarelli, P. (2015). Draft genome sequence of the *Xylella fastidiosa* CoDiRO strain. *Genome Announcements*, 3(1) :e01538–14.

[Giampetruzzi et al., 2019] Giampetruzzi, A., D'Attoma, G., Zicca, S., Abou Kubaa, R., Rizzo, D., Boscia, D., Saldarelli, P., and Saponari, M. (2019). draft genome sequence resources of three strains (TOS4, TOS5, and TOS14) of *Xylella fastidiosa* infecting different host plants in the newly discovered outbreak in Tuscany, Italy. *Phytopathology*, 109(9) :1516–1518.

[Giampetruzzi et al., 2017] Giampetruzzi, A., Saponari, M., Loconsole, G., Boscia, D., Savino, V. N., Almeida, R. P. P., Zicca, S., Landa, B. B., Chacón-Diaz, C., and Saldarelli, P. (2017). Genome-wide analysis provides evidence on the genetic relatedness of the emergent *Xylella fastidiosa* genotype in Italy to isolates from Central America. *Phytopathology*, 107(7) :816–827.

[Giannechini, 2022] Giannechini, L. (2022). Un cas de *Xylella fastidiosa* détecté en Balagne. *Corse Matin*.

[Gibbs, 2014] Gibbs, E. P. J. (2014). The evolution of One Health : a decade of progress and challenges for the future. *Veterinary Record*, 174(4) :85–91.

[Gingras and Godin, 1997] Gingras, Y. and Godin, B. (1997). Expérimentation, instrumentation et argumentation. *Didaskalia*, 11(1) :149–160.

[Godefroid et al., 2019] Godefroid, M., Cruaud, A., Streito, J.-C., Rasplus, J.-Y., and Rossi, J.-P. (2019). *Xylella fastidiosa* : climate suitability of European continent. *Scientific Reports*, 9(1) :8844.

[Godefroid et al., 2022] Godefroid, M., Cruaud, A., Streito, J.-C., Rasplus, J.-Y., and Rossi, J.-P. (2022). Forecasting future range shifts of *Xylella fastidiosa* under climate change. *Plant Pathology*. Article en préparation.

[Godefroid et al., 2021] Godefroid, M., Morente, M., Schartel, T., Cornara, D., Purcell, A., Gallego, D., Moreno, A., Pereira, J. A., and Fereres, A. (2021). Climate tolerances

of *Philaenus spumarius* should be considered in risk assessment of disease outbreaks related to *Xylella fastidiosa*. *Journal of Pest Science*.

[Gonella et al., 2020] Gonella, E., Picciau, L., Pippinato, L., Cavagna, B., and Alma, A. (2020). Host plant identification in the generalist xylem feeder *Philaenus spumarius* through gut content analysis. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 168(12) :890–899.

[Good et al., 2019] Good, P., Sellar, A., Tang, Y., Rumbold, S., Ellis, R., Kelley, D., and Kuhlbrodt, T. (2019). MOHC UKESM1.0-LL model output prepared for CMIP6 ScenarioMIP ssp245.

[Goodwin et al., 1988] Goodwin, P., DeVay, J., and Meredith, C. (1988). Physiological responses of Vitis vinifera cv. "Chardonnay" to infection by the Pierce's disease bacterium. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 32(1) :17–32.

[Goodwin and Zhang, 1997] Goodwin, P. and Zhang, S. (1997). Distribution of *Xylella fastidiosa* in southern Ontario as determined by the polymerase chain reaction. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19(1) :13–18.

[Granjou and Barbier, 2010] Granjou, C. and Barbier, M. (2010). *Métamorphoses de l'expertise : Précaution et maladies à prions*. Editions Quae.

[Granjou and Mauz, 2009] Granjou, C. and Mauz, I. (2009). Quand l'identité de l'objet-frontière se construit chemin faisant : Le cas de l'estimation de l'effectif de la population de loups en France. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 3, 1(1) :29.

[Gruber and Daugherty, 2013] Gruber, B. R. and Daugherty, M. P. (2013). Understanding the effects of multiple sources of seasonality on the risk of pathogen spread to vineyards : vector pressure, natural infectivity, and host recovery. *Plant Pathology*, 62(1) :194–204.

[Grueber et al., 2011] Grueber, C. E., Nakagawa, S., Laws, R. J., and Jamieson, I. G. (2011). Multimodel inference in ecology and evolution : challenges and solutions : Multimodel inference. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(4) :699–711.

[Guangchuang, 2019] Guangchuang, Y. (2019). ggplotify : Convert plot to 'grob' or 'ggplot' object.

[Guériaux, 2012] Guériaux, D. (2012). La nouvelle gouvernance sanitaire française se met en place. page 5.

[Guilhabert and Kirkpatrick, 2005] Guilhabert, M. R. and Kirkpatrick, B. C. (2005). Identification of *Xylella fastidiosa* antivirulence genes : hemagglutinin adhesins contribute to *X. fastidiosa* biofilm maturation and colonization and attenuate virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18(8) :856–868.

[Gutierrez et al., 2011] Gutierrez, A. P., Ponti, L., Hoddle, M., Almeida, R. P., and Irvin, N. A. (2011). Geographic distribution and relative abundance of the invasive glassy-winged sharpshooter : effects of temperature and egg parasitoids. *Environmental Entomology*, 40(4) :755–769.

[Hamers et al., 1989] Hamers, L., Hemeryck, Y., Herweyers, G., Janssen, M., Keters, H., Rousseau, R., and Vanhoutte, A. (1989). Similarity measures in scientometric research : The Jaccard index versus Salton's cosine formula. *Information Processing and Management*, 25(3) :315–18.

[Hartig, 2020] Hartig, F. (2020). DHARMa : residual diagnostics for hierarchical (multi-level/mixed) regression models. *R package version 0.3*, 3.

[Härtung et al., 1994] Härtung, J., Beretta, J., Brlansky, R., Spisso, J., and Lee, R. (1994). Citrus variegated chlorosis bacterium : axenic culture, pathogenicity, and serological relationship with other strain of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology*, 84 :591–597.

[Heaton and Millerand, 2013] Heaton, L. and Millerand, F. (2013). La mise en base de données de matériaux de recherche en botanique et en écologie. Spécimens, données et métadonnées. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 7(7-4).

[Hendson et al., 2001] Hendson, M., Purcell, A. H., Chen, D., Smart, C., Guilhabert, M., and Kirkpatrick, B. (2001). Genetic diversity of Pierce's Disease strains and other pathotypes of *Xylella fastidiosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(2) :895–903.

[Henneberger et al., 2004] Henneberger, T. S. M., Stevenson, K. L., Britton, K. O., and Chang, C. J. (2004). Distribution of *Xylella fastidiosa* in sycamore associated with low temperature and host resistance. *Plant Disease*, 88(9) :951–958.

[Hewitt et al., 1949] Hewitt, W. B., Frazier, N. W., Freitag, J. H., and Winkler, A. J. (1949). Pierce's disease investigations. *Hilgardia*, 19(7) :207–264.

[Hill and Purcell, 1995] Hill, B. and Purcell, A. (1995). Multiplication and movement of *Xylella fastidiosa* within grapevine and four other plants. *Phytopathology*, 85(11) :1368–1372.

[Hill et al., 1995] Hill, B., Purcell, A., and others (1995). Acquisition and retention of *Xylella fastidiosa* by an efficient vector, *Graphocephala atropunctata*. *Phytopathology*, 85(2) :209–212.

[Hilton et al., 2020] Hilton, A., Wang, X., Zhang, M., Cervantes, K., French, J., Randall, J. J., Bock, C. H., Grauke, L. J., and Jo, Y.-K. (2020). Improved methods for detecting *Xylella fastidiosa* in pecan and related Carya species. *European Journal of Plant Pathology*, 157(4) :899–918.

[Hinchliffe et al., 2013] Hinchliffe, S., Allen, J., Lavau, S., Bingham, N., and Carter, S. (2013). Biosecurity and the topologies of infected life : from borderlines to borderlands. *Transactions of the Institute of British Geographers*, 38(4) :531–543.

[Hippolyte et al., 2020] Hippolyte, I., Guiderdoni, E., Mia, J., Hubert, B., Crespi, M., Diribarne, M., Gilbert, H., Lemanceau, P., Litrico, I., Médale, F., Phocas, F., Salse, J., and Treyer, S. (2020). Les apports de la génomique à l'agroécologie. page 74.

[Hirsch, 2005] Hirsch, J. E. (2005). An index to quantify an individual's scientific research output. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(46) :16569–16572.

[Hoddle et al., 2003] Hoddle, M. S., Triapitsyn, S. V., and Morgan, D. J. W. (2003). Distribution and plant association records for *Homalodisca coagulata* (Hemiptera cicadellidae) in Florida. *Florida Entomologist*, 86(1) :89–91.

[Holland et al., 2014] Holland, R. M., Christiano, R. S. C., Gamliel-Atinsky, E., and Scherm, H. (2014). Distribution of *Xylella fastidiosa* in blueberry stem and root sections in relation to disease severity in the field. *Plant Disease*, 98(4) :443–447.

[Hopkins, 1989] Hopkins, D. (1989). *Xylella fastidiosa* : xylem-limited bacterial pathogen of plants. *Annual review of phytopathology*, 27(1) :271–290.

[Hopkins et al., 1971] Hopkins, D., Mortensen, J., and others (1971). Suppression of Pierce's disease symptoms by tetracycline antibiotics. *Plant Disease Reporter*, 55(7) :610–612.

[Hopkins and Purcell, 2002] Hopkins, D. L. and Purcell, A. H. (2002). *Xylella fastidiosa* : cause of Pierce's Disease of grapevine and other emergent diseases. *Plant Disease*, 86(10) :1056–1066.

[Horsfield, 1978] Horsfield, D. (1978). Evidence for xylem feeding by *Philaenus spumarius* (L.) (Homoptera : Cercopidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 24(1) :95–99.

[Horvat, 2013] Horvat, N. (2013). Le regard critique en situation d'immersion : Observation in situ d'un dispositif de vidéosurveillance. *Socio-anthropologie*, (27) :59–69.

[Houston et al., 1947] Houston, B., Esau, K., and Hewitt, W. B. (1947). The mode of vector feeding and the tissues involved in the transmission of Pierces disease virus in grape and alfalfa. *Phytopathology*, 37(4) :247–253.

[Hoyle and Costerton, 1991] Hoyle, B. D. and Costerton, J. W. (1991). Bacterial resistance to antibiotics : the role of biofilms. *Progress in Drug Research/Fortschritte der Arzneimittelforschung/Progrès des recherches pharmaceutiques*, pages 91–105.

[Hugall et al., 2016] Hugall, A. F., O'Hara, T. D., Hunjan, S., Nilsen, R., and Moussalli, A. (2016). An Exon-Capture System for the Entire Class Ophiuroidea. *Molecular Biology and Evolution*, 33(1) :281–294.

[Hughes, 1996] Hughes, E. C. (1996). Le regard sociologique. 70 :344.

[Hugot and Barbier, 2020] Hugot, L. and Barbier, M. (2020). La mise en recherche et en gestion de *Xylella fastidiosa*.

[Hulme, 2021] Hulme, P. E. (2021). Unwelcome exchange : International trade as a direct and indirect driver of biological invasions worldwide. *One Earth*, 4(5) :666–679.

[Hulme et al., 2008] Hulme, P. E., Bacher, S., Kenis, M., Klotz, S., Kühn, I., Minchin, D., Nentwig, W., Olenin, S., Panov, V., Pergl, J., Pyšek, P., Roques, A., Sol, D., Solarz, W., and Vilà, M. (2008). Grasping at the routes of biological invasions : a framework for integrating pathways into policy. *Journal of Applied Ecology*, 45(2) :403–414.

[Hummel et al., 2006] Hummel, N. A., Zalom, F. G., Toscano, N. C., Burman, P., and Peng, C. Y. S. (2006). Seasonal patterns of female *Homalodisca coagulata* (Say) (Hemiptera : Cicadellidae) reproductive physiology in riverside, California. *Environmental Entomology*, 35(4) :901–906.

[Illumina, 2016] Illumina (2016). Optimizing cluster density on Illumina Sequencing Systems. page 12.

[Imbert, 2010] Imbert, G. (2010). L'entretien semi-directif : à la frontière de la santé publique et de l'anthropologie :. *Recherche en soins infirmiers*, N° 102(3) :23–34.

[Ingel et al., 2019] Ingel, B., Jeske, D. R., Sun, Q., Grosskopf, J., and Roper, M. C. (2019). *Xylella fastidiosa* endoglucanases mediate the rate of Pierce's Disease development in *Vitis vinifera* in a cultivar-dependent manner. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 32(10) :1402–1414.

[Ings et al., 2009] Ings, T. C., Montoya, J. M., Bascompte, J., Blüthgen, N., Brown, L., Dormann, C. F., Edwards, F., Figueroa, D., Jacob, U., Jones, J. I., Lauridsen, R. B., Ledger, M. E., Lewis, H. M., Olesen, J. M., van Veen, F. F., Warren, P. H., and Woodward, G. (2009). Review : Ecological networks - beyond food webs. *Journal of Animal Ecology*, 78(1) :253–269.

[INRA, 2015] INRA (2015). Mobiliser les régulations naturelles, surveiller, diagnostiquer, anticiper les risques pour la santé des cultures. *Lettre d'information du MétaProgramme SMaCH N°4*, page 24.

[Ionescu et al., 2014] Ionescu, M., Zaini, P. A., Baccari, C., Tran, S., da Silva, A. M., and Lindow, S. E. (2014). *Xylella fastidiosa* outer membrane vesicles modulate plant colonization by blocking attachment to surfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(37) :E3910–E3918.

[Jacques et al., 2016] Jacques, M.-A., Denancé, N., Legendre, B., Morel, E., Briand, M., Mississipi, S., Durand, K., Olivier, V., Portier, P., Poliakoff, F., and Crouzillat, D. (2016). New coffee plant-infecting *Xylella fastidiosa* variants derived via homologous recombination. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(5) :1556–1568.

[Janissen et al., 2015] Janissen, R., Murillo, D. M., Niza, B., Sahoo, P. K., Nobrega, M. M., Cesar, C. L., Temperini, M. L. A., Carvalho, H. F., de Souza, A. A., and Cotta, M. A. (2015). Spatiotemporal distribution of different extracellular polymeric substances and filamentation mediate *Xylella fastidiosa* adhesion and biofilm formation. *Scientific Reports*, 5(1) :9856.

[Jeggo and Mackenzie, 2014] Jeggo, M. and Mackenzie, J. S. (2014). Defining the Future of One Health. In Atlas, R. M. and Maloy, S., editors, *One Health*, pages 253–267. ASM Press, Washington, DC, USA.

[Jensen and Morita, 2015] Jensen, C. B. and Morita, A. (2015). Infrastructures as Ontological Experiments. *Engaging Science, Technology, and Society*, 1 :81–87.

[Jolley and Maiden, 2014] Jolley, K. A. and Maiden, M. C. (2014). Using MLST to study bacterial variation : prospects in the genomic era. *Future Microbiology*, 9(5) :623–630.

[Julienne, 2018] Julienne, C. (2018). La lutte contre l'ambroisie. Gestion biosécuritaire d'une espèce invasive. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 12(12-3).

[Jurado-Rivera et al., 2009] Jurado-Rivera, J. A., Vogler, A. P., Reid, C. A., Petitpierre, E., and Gómez-Zurita, J. (2009). DNA barcoding insect–host plant associations. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 276(1657) :639–648.

[Kaack et al., 2021] Kaack, L., Weber, M., Isasa, E., Karimi, Z., Li, S., Pereira, L., Trabi, C. L., Zhang, Y., Schenk, H. J., Schuldt, B., Schmidt, V., and Jansen, S. (2021). Pore constrictions in intervessel pit membranes provide a mechanistic explanation for xylem embolism resistance in angiosperms. *New Phytologist*, 230(5) :1829–1843.

[Kahn and Almeida, 2022] Kahn, A. K. and Almeida, R. P. P. (2022). Phylogenetics of historical host switches in a bacterial plant pathogen. *Applied and Environmental Microbiology*, page 15.

[Kapucu, 2008] Kapucu, N. (2008). Culture of preparedness : household disaster preparedness. page 10.

[Karban and Strauss, 2004] Karban, R. and Strauss, S. Y. (2004). Physiological tolerance, climate change, and a northward range shift in the spittlebug, *Philaenus spumarius*. *Ecological Entomology*, 29(2) :251–254.

[Karger et al., 2017] Karger, D. N., Conrad, O., Böhner, J., Kawohl, T., Kreft, H., Soria-Auza, R. W., Zimmermann, N. E., Linder, H. P., and Kessler, M. (2017). Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas. *Scientific Data*, 4(1) :170122.

[Kassambara and Mundt, 2020] Kassambara, A. and Mundt, F. (2020). *factoextra : Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses*.

[Katoh and Standley, 2013] Katoh, K. and Standley, D. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7 : improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30 :772–780.

[Katoh and Toh, 2010] Katoh, K. and Toh, H. (2010). Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. *Bioinformatics*, 26(15) :1899–1900.

[Kaur et al., 2022] Kaur, S., Samota, M. K., Choudhary, M., Choudhary, M., Pandey, A. K., Sharma, A., and Thakur, J. (2022). How do plants defend themselves against pathogens-Biochemical mechanisms and genetic interventions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(2) :485–504.

[Keck, 2010] Keck, F. (2010). Une sentinelle sanitaire aux frontières du vivant* : Les experts de la grippe aviaire à Hong Kong. *Terrain*, (54) :26–41.

[Kéfi et al., 2012] Kéfi, S., Berlow, E. L., Wieters, E. A., Navarrete, S. A., Petchey, O. L., Wood, S. A., Boit, A., Joppa, L. N., Lafferty, K. D., Williams, R. J., Martinez, N. D., Menge, B. A., Blanchette, C. A., Iles, A. C., and Brose, U. (2012). More than a meal. . . integrating non-feeding interactions into food webs. *Ecology Letters*, 15(4) :291–300.

[Khon et al., 2010] Khon, V. C., Mokhov, I. I., Latif, M., Semenov, V. A., and Park, W. (2010). Perspectives of Northern Sea Route and Northwest Passage in the twenty-first century. *Climatic Change*, 100(3-4) :757–768.

[Killiny and Almeida, 2011] Killiny, N. and Almeida, R. P. P. (2011). Gene regulation mediates host specificity of a bacterial pathogen : Gene regulation mediates *X. fastidiosa* host specificity. *Environmental Microbiology Reports*, 3(6) :791–797.

[Killiny and Almeida, 2014] Killiny, N. and Almeida, R. P. P. (2014). Factors affecting the initial adhesion and retention of the plant pathogen *Xylella fastidiosa* in the foregut of an insect vector. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(1) :420–426.

[Killiny et al., 2012] Killiny, N., Rashed, A., and Almeida, R. P. P. (2012). Disrupting the Transmission of a Vector-Borne Plant Pathogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(3) :638–643.

[Kircher et al., 2012] Kircher, M., Sawyer, S., and Meyer, M. (2012). Double indexing overcomes inaccuracies in*multiplex* sequencing on the Illumina platform. *Nucleic Acids Research*, 40(1) :e3–e3.

[Kirk et al., 1986] Kirk, J., Miller, M. L., and Miller, M. L. (1986). *Reliability and validity in qualitative research*. Sage.

[Kollias et al., 2015] Kollias, S., Poortvliet, M., Smolina, I., and Hoarau, G. (2015). Low cost sequencing of mitogenomes from museum samples using baits capture and Ion Torrent. *Conservation Genetics Resources*, 7(2) :345–348.

[Kottelenberg et al., 2021] Kottelenberg, D., Hemerik, L., Saponari, M., and van der Werf, W. (2021). Shape and rate of movement of the invasion front of *Xylella fastidiosa* spp.*pauca*in Puglia. *Scientific Reports*, 11(1) :1061.

[Kozich et al., 2013] Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., Highlander, S. K., and Schloss, P. D. (2013). Development of a Dual-Index Sequencing Strategy and Curation Pipeline for Analyzing Amplicon Sequence Data on the MiSeq Illumina Sequencing Platform. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(17) :5112–5120.

[Kraus and Vonesh, 2010] Kraus, J. M. and Vonesh, J. R. (2010). Feedbacks between community assembly and habitat selection shape variation in local colonization. *Journal of Animal Ecology*.

[Krebs, 1999] Krebs, C. J. (1999). *Ecological methodology*. Number 574.5072 K7.

[Kress and Erickson, 2012] Kress, W. J. and Erickson, D. L., editors (2012). *DNA Barcodes : Methods and Protocols*, volume 858 of *Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ.

[Kress et al., 2010] Kress, W. J., Erickson, D. L., Swenson, N. G., Thompson, J., Uriarte, M., and Zimmerman, J. K. (2010). Advances in the Use of DNA Barcodes to Build a Community Phylogeny for Tropical Trees in a Puerto Rican Forest Dynamics Plot. *PLoS ONE*, 5(11) :e15409.

[Krugner, 2010] Krugner, R. (2010). Differential reproductive maturity between geographically separated populations of *Homalodisca vitripennis* (Germar) in California. *Crop Protection*, 29(12) :1521–1528.

[Krugner and Backus, 2014] Krugner, R. and Backus, E. A. (2014). Plant water stress effects on stylet probing behaviors of *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera : Cicadellidae) associated with acquisition and inoculation of the bacterium *Xylella fastidiosa*. *Journal of Economic Entomology*, 107(1) :66–74.

[Krugner et al., 2019] Krugner, R., Sisterson, M. S., Backus, E. A., Burbank, L. P., and Redak, R. A. (2019). Sharpshooters : a review of what moves *Xylella fastidiosa*. *Austral Entomology*, 58 :248–267.

[Labroussaa et al., 2017] Labroussaa, F., Ionescu, M., Zeilinger, A. R., Lindow, S. E., and Almeida, R. P. P. (2017). A chitinase is required for *Xylella fastidiosa* colonization of its insect and plant hosts. *Microbiology*, 163(4) :502–509.

[Lakoff, 2006] Lakoff, A. (2006). From Disaster to Catastrophe : The Limits of Preparedness. page 6.

[Lakoff and Collier, 2008] Lakoff, A. and Collier, S. J. (2008). *Biosecurity interventions : global health and security in question*. Columbia University Press.

[Landa, 2017] Landa, B. B. (2017). Emergence of *Xylella fastidiosa* in Spain : current situation.

[Landa et al., 2020] Landa, B. B., Castillo, A. I., Giampetruzzi, A., Kahn, A., Román-Écija, M., Velasco-Amo, M. P., Navas-Cortés, J. A., Marco-Noales, E., Barbé, S., Moralejo, E., Coletta-Filho, H. D., Saldarelli, P., Saponari, M., and Almeida, R. P. P. (2020). Emergence of a plant pathogen in Europe associated with multiple intercontinental introductions. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(3) :e01521–19.

[Lantero et al., 2018] Lantero, E., Matallanas, B., Pascual, S., and Callejas, C. (2018). PCR species-specific primers for molecular gut content analysis to determine the contribution of generalist predators to the biological control of the vector of *Xylella fastidiosa*. *Sustainability*, 10(7) :2207.

[Latour, 1993] Latour, B. (1993). Le «pédofil» de Boa Vista ou la référence scientifique. *La clef de Berlin et autres leçons d'un amateur de science*.

[Latour and Woolgar, 2013] Latour, B. and Woolgar, S. (2013). *Laboratory life : The construction of scientific facts*. Princeton University Press.

[Lavorel et al., 1998] Lavorel, S., Touzard, B., Lebreton, J.-D., and Clément, B. (1998). Identifying functional groups for response to disturbance in an abandoned pasture. *Acta Oecologica*, 19(3) :227–240.

[Lebreton et al., 1988] Lebreton, J., Chessel, D., Richardot-Coulet, M. e., and Yoccoz, N. (1988). L'analyse des relations espèces-milieu par l'analyse canonique des correspondances. *Acta Oecologica-Oecologia Generalis*, 9 :137–151.

[Lee and Brumme, 2013] Lee, K. and Brumme, Z. L. (2013). Operationalizing the One Health approach : the global governance challenges. *Health Policy and Planning*, 28(7) :778–785.

[Legendre and Legendre, 2012] Legendre, P. and Legendre, L. (2012). *Numerical ecology*. Elsevier.

[Leigh Star, 2010] Leigh Star, S. (2010). Ceci n'est pas un objet-frontière ! : Réflexions sur l'origine d'un concept. *Revue d'anthropologie des connaissances*, Vol 4, 1(1) :18.

[Leu et al., 1993] Leu, L., Su, C., and others (1993). Isolation, cultivation, and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*, the causal bacterium of pear leaf scorch disease in Taiwan. *Plant Disease*, 77(6) :642–646.

[Levac and Toal-Sullivan, 2012] Levac, J. and Toal-Sullivan, D. (2012). Household Emergency Preparedness : A Literature Review. *J Community Health*, page 9.

[Levine et al., 2003] Levine, J. M., Vilà, M., Antonio, C. M. D., Dukes, J. S., Grigulis, K., and Lavorel, S. (2003). Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences*, 270(1517) :775–781.

[Li et al., 2002] Li, W.-B., Zhou, C. H., Pria, W. D., Teixeira, D. C., Miranda, V. S., Pereira, E. O., Ayres, A. J., He, C.-X., Costa, P. I., and Hartung, J. S. (2002). Citrus and coffee strains of *Xylella fastidiosa* induce pierce's disease in grapevine. *Plant Disease*, 86(11) :1206–1210.

[Li et al., 2007] Li, Y., Hao, G., Galvani, C. D., Meng, Y., Fuente, L. D. L., Hoch, H. C., and Burr, T. J. (2007). Type I and type IV pili of *Xylella fastidiosa* affect twitching motility, biofilm formation and cell–cell aggregation. *Microbiology*, 153(3) :719–726.

[Lieth et al., 2011] Lieth, J. H., Meyer, M. M., Yeo, K.-H., and Kirkpatrick, B. C. (2011). Modeling Cold Curing of Pierce's Disease in *Vitis vinifera* 'Pinot Noir' and 'Cabernet Sauvignon' Grapevines in California. *Phytopathology*, 101(12) :1492–1500.

[Lobry et al., 2008] Lobry, J., David, V., Pasquaud, S., Lepage, M., Sautour, B., and Rochard, E. (2008). Diversity and stability of an estuarine trophic network. *Marine Ecology Progress Series*, 358 :13–25.

[Loconsole et al., 2014] Loconsole, G., Potere, O., Boscia, D., Altamura, G., Djelouah, K., Elbeaino, T., Frasheri, D., Lorusso, D., Palmisano, F., Pollastro, P., Silletti, M. R.,

Trisciuzzi, N., Valentini, F., Savino, V., and Saponari, M. (2014). Detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees by molecular and serological methods. *Journal of Plant Pathology*, page 8.

[Loconsole et al., 2016] Loconsole, G., Saponari, M., Boscia, D., D'Attoma, G., Morelli, M., Martelli, G. P., and Almeida, R. P. P. (2016). Intercepted isolates of *Xylella fastidiosa* in Europe reveal novel genetic diversity. *European Journal of Plant Pathology*, 146(1) :85–94.

[Lowe, 2022] Lowe, K. (2022). Xylella Files : California Pierce Disease control program.

[MAA, 2009] MAA (2009). CIRCULAIRE CAB/C2009-0002.

[MAA, 2011] MAA (2011). Les états généraux du sanitaire : Une politique de sécurité sanitaire rénovée pour l'agriculture française en 40 actions.

[MAA, 2022] MAA (2022). Séminaire : Les Plateformes d'épidémiosurveillance.

[MAA and INRA, 2016] MAA and INRA (2016). Convention de subvention relative à l'amélioration de la connaissance du comportement des souches présentes en France, et à un appui pour l'amélioration de la surveillance et de la lutte contre *Xylella fastidiosa*.

[MAA et al., 2018] MAA, INRAE, and Anses (2018). Convention portant sur l'objectif collectif d'amélioration de la surveillance sanitaire et biologique du territoire dans le cadre des plate-formes d'épidémiosurveillance en santé animale, végétale et alimentaire.

[Mackenzie and Jeggo, 2019] Mackenzie, J. S. and Jeggo, M. (2019). The One Health Approach—Why Is It So Important ? *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 4(2) :88.

[Maddi, 2018] Maddi, A. (2018). *La quantification de la recherche scientifique et ses enjeux : bases de données, indicateurs et cartographie des données bibliométriques*. PhD thesis, Université Sorbonne Paris Cité.

[Magnin, 2019] Magnin, L. (2019). La politique agricole commune et les données retardataires. *Techniques & culture*, (72) :130–143.

[Magoc and Salzberg, 2011] Magoc, T. and Salzberg, S. L. (2011). FLASH : fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21) :2957–2963.

[Mahé et al., 2014] Mahé, F., Rognes, T., and Quince, C. (2014). Colomban de Vargas, and Micah Dunthorn. *Swarm : robust and fast clustering method for amplicon-based studies. PeerJ*, 2 :e593.

[Maiden et al., 1998] Maiden, M. C. J., Bygraves, J. A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J. E., Urwin, R., Zhang, Q., Zhou, J., Zurth, K., Caugant, D. A., Feavers, I. M., Achtman, M., and Spratt, B. G. (1998). Multilocus sequence typing : A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(6) :3140–3145.

[Malembic-Maher et al., 2022] Malembic-Maher, S., Foissac, X., Panziera, F., and Barbier, M. (2022). Gérer les crises sanitaires lorsqu'elles s'installent. La prophylaxie comme régime du « vivre avec » les maladies : cas de la Flavescence dorée de la vigne. In *Invasions biologiques et crises sanitaires en agriculture*. Quae edition. Chapitre de livre en préparation.

[Mamanova et al., 2010] Mamanova, L., Coffey, A. J., Scott, C. E., Kozarewa, I., Turner, E. H., Kumar, A., Howard, E., Shendure, J., and Turner, D. J. (2010). Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nature Methods*, 7(2) :111–118.

[Manceau et al., 2012] Manceau, C., Legendre, B., Reignault, P., Augustin, S., Bréda, N., Castagnone, P., Chauvel, B., Desneux, N., Gutiérrez, A. E., Gentzbittel, L., Jactel, H., Laberche, J.-C., Le Bourgeois, T., Lemperiere, G., Mugniery, D., Silvie, P., Steyer, S., Suffert, F., Verhenggen, F., and Wetzel, T. (2012). Evaluation de risque simplifiée pour *Xyllela fastidiosa*. PhD Thesis.

[Manly, 2018] Manly, B. F. J. (2018). *Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in biology : texts in statistical science*. chapman and hall/CRC.

[Marcelletti and Scortichini, 2016] Marcelletti, S. and Scortichini, M. (2016). Genome-wide comparison and taxonomic relatedness of multiple *Xylella fastidiosa* strains reveal the occurrence of three subspecies and a new *Xylella* species. *Archives of Microbiology*, 198(8) :803–812.

[Marco-Noales et al., 2021] Marco-Noales, E., Barbé, S., Monterde, A., Navarro-Herrero, I., Ferrer, A., Dalmau, V., Aure, C. M., Domingo-Calap, M. L., Landa, B. B., and Roselló, M. (2021). Evidence that *Xylella fastidiosa* is the causal agent of almond leaf scorch disease in Alicante, mainland Spain (Iberian Peninsula). *Plant Disease*, 105(11) :3349–3352.

[Markheiser et al., 2020] Markheiser, A., Cornara, D., Fereres, A., and Maixner, M. (2020). Analysis of vector behavior as a tool to predict *Xylella fastidiosa* patterns of spread. *Entomologia Generalis*, 40(1) :1–13.

[Marques et al., 2002] Marques, L. L. R., Ceri, H., Manfio, G. P., Reid, D. M., and Olson, M. E. (2002). Characterization of biofilm formation by *Xylella fastidiosa* in vitro. *Plant Disease*, 86(6) :633–638.

[Marshall, 2004] Marshall, O. J. (2004). PerlPrimer : cross-platform, graphical primer design for standard, bisulphite and real-time PCR. *Bioinformatics*, 20(15) :2471–2472.

[Martelli et al., 2016] Martelli, G. P., Boscia, D., Porcelli, F., and Saponari, M. (2016). The olive quick decline syndrome in south-east Italy : a threatening phytosanitary emergency. *European Journal of Plant Pathology*, 144(2) :235–243.

[Martin, 2019] Martin, J.-F. (2019). Creating error-proof indexes for high throughput sequencing.

[Martinetti and Soubeyrand, 2019] Martinetti, D. and Soubeyrand, S. (2019). Identifying lookouts for epidemio-surveillance : application to the emergence of *Xylella fastidiosa* in France. *Phytopathology*, 109(2) :265–276.

[Martins et al., 2013] Martins, G., Lauga, B., Miot-Sertier, C., Mercier, A., Lonvaud, A., Soulas, M.-L., Soulas, G., and Masneuf-Pomarède, I. (2013). Characterization of Epiphytic Bacterial Communities from Grapes, Leaves, Bark and Soil of Grapevine Plants Grown, and Their Relations. *PLoS ONE*, 8(8) :e73013.

[Maryańska-Nadachowska et al., 2012] Maryańska-Nadachowska, A., Kajtoch, Ł., and Lachowska, D. (2012). Genetic diversity of *Philaenus spumarius* and *P. tesselatus* (Hemiptera, Aphrophoridae) : implications for evolution and taxonomy. *Systematic Entomology*, 37(1) :55–64.

[Matheson et al., 2008] Matheson, C., Muller, G., Junnila, A., Vernon, K., Hausmann, A., Miller, M., Greenblatt, C., and Schlein, Y. (2008). A PCR method for detection of plant meals from the guts of insects. *Organisms Diversity & Evolution*, 7(4) :294–303.

[McCartney-Melstad et al., 2016] McCartney-Melstad, E., Mount, G. G., and Shaffer, H. B. (2016). Exon capture optimization in amphibians with large genomes. *Molecular Ecology Resources*, 16(5) :1084–1094.

[Mehmood et al., 2012] Mehmood, T., Liland, K. H., Snipen, L., and Sæbø, S. (2012). A review of variable selection methods in Partial Least Squares Regression. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 118 :62–69.

[Mendras, 1953] Mendras, H. (1953). Etudes de sociologie rurale : Novis & Virgin. *Cahiers de la Fondation Nationale des Sciences Politiques*.

[Mendras, 1959] Mendras, H. (1959). Sociologie de la campagne francaise. Coll. *Que sais-je, Paris : PUF*.

[Meng et al., 2005] Meng, Y., Li, Y., Galvani, C. D., Hao, G., Turner, J. N., Burr, T. J., and Hoch, H. C. (2005). Upstream migration of *Xylella fastidiosa* via pilus-driven twitching motility. *Journal of Bacteriology*, 187(16) :5560–5567.

[Mesmin et al., 2022a] Mesmin, X., Chartois, M., Borgomano, S., Rasplus, J.-Y., Rossi, J.-P., and Cruaud, A. (2022a). Interaction networks between spittlebugs and vegetation types in and around olive and clementine groves of Corsica ; implications for the spread of *Xylella fastidiosa*. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 334 :107979.

[Mesmin et al., 2022b] Mesmin, X., Chartois, M., Borgomano, S., Rossi, J.-P., Rasplus, J.-Y., and Cruaud, A. (2022b). Interaction networks between spittlebugs and plants in and around olive and clementine groves of Corsica ; implications for the management of *Xylella fastidiosa*. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 334 :107979.

[Mesmin et al., 2020] Mesmin, X., Chartois, M., Genson, G., Rossi, J.-P., Cruaud, A., and Rasplus, J.-Y. (2020). *Ooctonus vulgatus* (Hymenoptera, Mymaridae), a potential biocontrol agent to reduce populations of *Philaenus spumarius*(Hemiptera, Aphrophoridae) the main vector of *Xylella fastidiosa* in Europe. *PeerJ*, 8 :e8591.

[Mévellec, 2021] Mévellec, P. (2021). Le développement du contrôle de gestion à l'hôpital : l'apport de la notion d'objet frontière. page 16.

[Meyer, 2009] Meyer, M. (2009). Objet-frontière ou Projet-frontière ? : Construction, (non-)utilisation et politique d'une banque de données. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 3, 1(1) :127.

[Meyerson and Mooney, 2007] Meyerson, L. A. and Mooney, H. A. (2007). Invasive alien species in an era of globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(4) :199–208.

[Meyerson and Reaser, 2003] Meyerson, L. A. and Reaser, J. K. (2003). Bioinvasions, bioterrorism, and biosecurity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1(6) :307–314.

[Milanovic, 2011] Milanovic, F. (2011). Les ressources biologiques : Enjeux transversaux de connaissance, socialisation, régulation. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 5, 2(2) :189.

[Millerand, 2015] Millerand, F. (2015). Infrastructure sociotechnique. In Bouchard, F., Doray, P., and Prud'homme, J., editors, *Sciences, technologies et sociétés de A à Z*, pages 126–129. Presses de l'Université de Montréal.

[Mohandesan et al., 2017] Mohandesan, E., Speller, C. F., Peters, J., Uerpmann, H.-P., Uerpmann, M., De Cupere, B., Hofreiter, M., and Burger, P. A. (2017). Combined hybridization capture and shotgun sequencing for ancient DNA analysis of extinct wild and domestic dromedary camel. *Molecular Ecology Resources*, 17(2) :300–313.

[Moirand, 2004] Moirand, S. (2004). De la médiation à la médiatisation des faits scientifiques et techniques : où en est l'analyse du discours ? page 29.

[Mollenhauer and Hopkins, 1974] Mollenhauer, H. H. and Hopkins, D. L. (1974). Ultrastructural Study of Pierce's Disease Bacterium in Grape Xylem Tissue. *Journal of Bacteriology*, 119(2) :612–618.

[Montero-Astúa et al., 2008] Montero-Astúa, M., Saborío-R, G., Chacón-Díaz, C., Garita, L., Villalobos, W., Moreira, L., Hartung, J., and Rivera, C. (2008). First report of *Xylella fastidiosa* in avocado in Costa Rica. *Plant disease*, 92(1) :175–175.

[Moore et al., 2020] Moore, K. A., Ostrowsky, J. T., Mehr, A. J., and Osterholm, M. T. (2020). Influenza response planning for the centers of excellence for influenza research and surveillance : Science preparedness for enhancing global health security. page 8.

[Moorhouse-Gann et al., 2018] Moorhouse-Gann, R. J., Dunn, J. C., de Vere, N., Goder, M., Cole, N., Hipperson, H., and Symondson, W. O. C. (2018). New universal ITS2 primers for high-resolution herbivory analyses using DNA metabarcoding in both tropical and temperate zones. *Scientific Reports*, 8(1) :8542.

[Morelli et al., 2021] Morelli, M., García-Madero, J. M., Jos, Á., Saldarelli, P., Dongiovanni, C., Kovacova, M., Saponari, M., Baños Arjona, A., Hackl, E., Webb, S., and

Compant, S. (2021). *Xylella fastidiosa* in olive : A review of control attempts and current management. *Microorganisms*, 9(8) :1771.

[Morente et al., 2018] Morente, M., Cornara, D., Plaza, M., Durán, J., Capiscol, C., Trillo, R., Ruiz, M., Ruz, C., Sanjuan, S., Pereira, J., Moreno, A., and Fereres, A. (2018). Distribution and relative abundance of insect vectors of *Xylella fastidiosa* in olive groves of the Iberian Peninsula. *Insects*, 9(4) :175.

[Munyuza et al., 2022] Munyuza, C., Ji, H., and Lee, E. R. (2022). Probe Capture Enrichment Methods for HIV and HCV Genome Sequencing and Drug Resistance Genotyping. *Pathogens*, 11(6) :693.

[Murrell, 2015] Murrell, P. (2015). The gridGraphics Package. *The R Journal*, 7(1) :151.

[Muzzalupo and Perri, 2009] Muzzalupo, I. and Perri, E. (2009). Genetic diversity in olive tree cultivars from Italy and other countries of the Mediterranean basin as revealed by RAPD and SSR molecular marker. page 13.

[Neill, 2008] Neill, U. S. (2008). Publish or perish, but at what cost ? *Journal of Clinical Investigation*, 118(7) :2368–2368.

[Newman et al., 2003] Newman, K. L., Almeida, R. P. P., Purcell, A. H., and Lindow, S. E. (2003). Use of a green fluorescent strain for analysis of *Xylella fastidiosa* colonization of *Vitis vinifera*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12) :7319–7327.

[Newman et al., 2004] Newman, K. L., Almeida, R. P. P., Purcell, A. H., and Lindow, S. E. (2004). Cell-cell signaling controls *Xylella fastidiosa* interactions with both insects and plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(6) :1737–1742.

[Newmaster et al., 2006] Newmaster, S., Fazekas, A., and Ragupathy, S. (2006). DNA barcoding in land plants : evaluation of *rbcL* in a multigene tiered approach. *Canadian Journal of Botany*, 84(3) :335–341.

[Nicolescu, 2011] Nicolescu, B. (2011). De l'interdisciplinarité à la transdisciplinarité : fondation méthodologique du dialogue entre les sciences humaines et les sciences exactes. *Nouvelles perspectives en sciences sociales*, 7(1) :89–103.

[O'Leary et al., 2020] O'Leary, M. L., Burbank, L. P., Krugner, R., and Stenger, D. C. (2020). Complete genome sequence data of three *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* strains isolated from olive trees in California, U.S.A. *Phytopathology*, 110(11) :1759–1762.

[Olivier de Sardan, 2008] Olivier de Sardan, J.-P. (2008). *La rigueur du qualitatif : les contraintes empiriques de l'interprétation socio-anthropologique*. Academia.

[Ollivier, 2020] Ollivier, M. (2020). *Lutte biologique par introduction contre Sonchus oleraceus (Asteraceae)-Une approche intégrative pour questionner le processus d'invasion et contribuer à la sélection des agents de lutte via l'analyse des réseaux écologiques.* PhD thesis.

[Ollivier et al., 2021] Ollivier, M., Lesieur, V., Tavoillot, J., Bénetière, F., Tixier, M.-S., and Martin, J.-F. (2021). An innovative approach combining metabarcoding and ecological interaction networks for selecting candidate biological control agents. *Journal of Applied Ecology*, 58(12) :2866–2880.

[Olmo et al., 2017] Olmo, D., Nieto, A., Adrover, F., Urbano, A., Beidas, O., Juan, A., Marco-Noales, E., López, M. M., Navarro, I., Monterde, A., Montes-Borrego, M., Navas-Cortés, J. A., and Landa, B. B. (2017). First detection of *Xylella fastidiosa* infecting cherry (*Prunus avium*) and *Polygala myrtifolia* plants, in Mallorca Island, Spain. *Plant Disease*, 101(10) :1820–1820.

[O'Neill et al., 2014] O'Neill, B. C., Kriegler, E., Riahi, K., Ebi, K. L., Hallegatte, S., Carter, T. R., Mathur, R., and van Vuuren, D. P. (2014). A new scenario framework for climate change research : the concept of shared socioeconomic pathways. *Climatic Change*, 122(3) :387–400.

[Panziera, 2016] Panziera, F. (2016). Etude de la gestion de l'émergence de *Xylella fastidiosa* dans les Pouilles (Italie). Technical report.

[Park et al., 2006] Park, Y.-L., Perring, T. M., Yacoub, R., Bartels, D. W., and Elms, D. (2006). Spatial and temporal dynamics of overwintering *Homalodisca coagulata* (Hemiptera : Cicadellidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(6) :7.

[Pérez-Donoso et al., 2010] Pérez-Donoso, A. G., Sun, Q., Roper, M. C., Greve, L. C., Kirkpatrick, B., and Labavitch, J. M. (2010). Cell wall-degrading enzymes enlarge the pore size of intervessel pit membranes in healthy and *Xylella fastidiosa* -infected grapevines. *Plant Physiology*, 152(3) :1748–1759.

[Perring et al., 2001] Perring, T. M., Farrar, C. A., and Blua, M. J. (2001). Proximity to citrus influences Pierce's disease in Temecula Valley vineyards. *California Agriculture*, 55(4) :13–18.

[Perry and Lindell, 2003] Perry, R. W. and Lindell, M. K. (2003). Preparedness for Emergency Response : Guidelines for the Emergency Planning Process. page 15.

[Petit, 2017] Petit, T. (2017). *Du territoire aux agriculteurs, approche technique et sociologique du maintien des prairies dans un contexte d'élevage périurbain de plaine. Enquête auprès d'éleveurs de la partie nord de l'agglomération de Rennes*. PhD Thesis, Paris, Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France.

[Phillips, 1998] Phillips, P. (1998). The glassy-winged sharpshooter : a potential threat to California citrus. *Citrograph*, 83(12) :10–12.

[Phillips et al., 2006] Phillips, S. J., Anderson, R. P., and Schapire, R. E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190(3-4) :231–259.

[Piaget, 1972] Piaget, J. (1972). L'epistimologie des relations interdisciplinaires. In OCDE (ed.), L'interdisciplinarite : problemes d'enseignement et de recherche dans les universites.

[Pierce, 1892] Pierce, N. B. (1892). *The California vine disease : a preliminary report of investigations*. Number 2. US Government Printing Office.

[Pilkington et al., 2014] Pilkington, L. J., Lewis, M., Jeske, D., and Hoddle, M. S. (2014). Calculation and Thematic Mapping of Demographic Parameters for *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera : Cicadellidae) in California. *Annals of the Entomological Society of America*, 107(2) :424–434.

[Pimm, 1984] Pimm, S. L. (1984). The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, 307(5949) :321–326.

[Pinon and Feugey, 1994] Pinon, J. and Feugey, L. (1994). La graphiose de l'orme : une maladie dévastatrice à causes bien identifiées. *Revue Forestière Française*, (5) :422.

[Plazio et al., 2017] Plazio, E., Bodino, N., Cavalieri, V., Dongiovanni, E., Fumarola, G., Ciniero, A., Galetto, L., Saponari, M., and Bosco, D. (2017). Investigations on dispersal capability of *Philaenus spumarius* by mark-release-recapture method. In *Book of abstracts-european conference on Xylella, Palma de Mallorca*, volume 56.

[Plumb et al., 2013] Plumb, G., Olsen, S., and Buttke, D. (2013). Brucellosis : "One Health" challenges and opportunities : -EN- -FR- Brucellose : défis et opportunités dans une perspective « Une seule santé » -ES- Problemas y posibilidades de “Una

sola salud" en relación con la brucelosis. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 32(1) :271–278.

[Poisot et al., 2012] Poisot, T., Canard, E., Mouquet, N., and Hochberg, M. E. (2012). A comparative study of ecological specialization estimators : *Species-level specialization*. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(3) :537–544.

[Pontille et al., 2007] Pontille, D., Milanovic, F., and Rial-Sebbag, E. (2007). Collectionner le vivant : régulation, marché, valeur. *Revue d'économie industrielle*, (n°120) :195–212.

[Pouchet, 2017] Pouchet, T. (2017). Enjeux de connaissances et jeux d'acteurs dans une crise sanitaire : Le cas de *Xylella fastidiosa* en Corse. Technical report.

[Pouzoulet et al., 2020] Pouzoulet, J., Rolshausen, P. E., Charbois, R., Chen, J., Guillaumie, S., Ollat, N., Gambetta, G. A., and Delmas, C. E. L. (2020). Behind the curtain of the compartmentalization process : Exploring how xylem vessel diameter impacts vascular pathogen resistance. *Plant, Cell & Environment*, 43(11) :2782–2796.

[Prato, 2000] Prato, J. (2000). Quem diria, a *Xylella fastidiosa* sempre esteve no café. *A Granja*, 614 :40–43.

[Prete, 2008] Prete, G. (2008). Surveiller en éradiquant : l'importance des «médiateurs de la surveillance» et des réseaux informels dans la surveillance des risques sanitaires et environnementaux. *Sociologie du travail*, 50(4) :489–504.

[Prete, 2010] Prete, G. (2010). *Les intermédiaires du risque : recherche, alerte, surveillance : mobilisations scientifiques face aux introductions de pathogènes de quarantaine en agriculture*. PhD Thesis, Paris, Institut d'études politiques.

[Prete, 2013] Prete, G. (2013). Les frontières de la mobilisation scientifique, entre recherche et administration. Démarcation et alignement de la recherche finalisée face à l'introduction de pathogènes agricoles. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 7(7-1).

[Price, 1965] Price, D. J. D. S. (1965). Networks of scientific papers : The pattern of bibliographic references indicates the nature of the scientific research front. *Science*, 149(3683) :510–515.

[Purcell, 1974] Purcell, A. (1974). Spatial patterns of Pierce's disease in the Napa Valley. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25(3) :162–167.

[Purcell, 1976] Purcell, A. (1976). Seasonal changes in host plant preference of the blue-green sharpshooter Hordnia circellata (Homoptera : Cicadellidae)[Insect vector of Pierce's virus disease of grapevines]. *Pan Pacific Entomologist*.

[Purcell, 2013] Purcell, A. (2013). Paradigms : examples from the bacterium *Xylella fastidiosa*. *Annual Review of Phytopathology*, 51(1) :339–356.

[Purcell and Feil, 2001] Purcell, A. and Feil, H. (2001). Glassy-winged Sharpshooter. *Pesticide Outlook*, 12(5) :199–203.

[Purcell and McBride, 1999] Purcell, A. and McBride, J. (1999). Management of riparian woodlands for control of PierceÕs disease in coastal California. *California Department of Pesticide Regulation, Pest Management Grants Final Report, Contract 97Ğ0249*.

[Purcell and Saunders, 1999] Purcell, A. and Saunders, S. (1999). Glassy-winged sharpshooters expected to increase plant disease. *California Agriculture*, 53(2) :26–27.

[Purcell, 1975] Purcell, A. H. (1975). Role of the Blue-green Sharpshooter, *Hordnia circellata* in the Epidemiology of Pierce's Disease of Grapevines. *Environmental Entomology*, 4(5) :745–752.

[Purcell, 1979] Purcell, A. H. (1979). Evidence for Noncirculative Transmission of Pierce's Disease Bacterium by Sharpshooter Leafhoppers. *Phytopathology*, 69(4) :393.

[Purcell, 1980] Purcell, A. H. (1980). Almond Leaf Scorch : Leafhopper and Spittlebug Vectors. *Journal of Economic Entomology*, 73(6) :834–838.

[Purcell et al., 1979] Purcell, A. H., Finlay, A. H., and McLean, D. L. (1979). Pierce's disease bacterium : Mechanism of transmission by leafhopper vectors. *Science*, 206(4420) :839–841.

[Purcell and Frazier, 1985] Purcell, A. H. and Frazier, N. W. (1985). Habitats and Dispersal of the Principal Leafhopper Vectors of Pierce's Disease Bacterium in the San Joaquin Valley. page 34.

[Purcell and Hopkins, 1996] Purcell, A. H. and Hopkins, D. L. (1996). Fastidious xylem-limited bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 34(1) :131–151.

[Purcell et al., 1999] Purcell, A. H., Saunders, S. R., Hendson, M., Grebus, M. E., and Henry, M. J. (1999). Causal role of *Xylella fastidiosa* in oleander leaf scorch disease. *Phytopathology*, 89(1) :53–58.

[QGIS Development Team, 2022] QGIS Development Team (2022). *QGIS Geographic Information System*. QGIS Association.

[Qin et al., 2001] Qin, X., Miranda, V. S., Machado, M. A., Lemos, E. G. M., and Hartung, J. S. (2001). An Evaluation of the Genetic Diversity of *Xylella fastidiosa* Isolated from Diseased *Citrus* and Coffee in São Paulo, Brazil. *Phytopathology*, 91(6) :599–605.

[Quéré, 2015] Quéré, L. (2015). Retour sur l'agentivité des objets. *Occasional Papers*, 25.

[R Core Team, 2021] R Core Team (2021). *R : A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

[Ranieri et al., 2020] Ranieri, E., Zitti, G., Riolo, P., Isidoro, N., Ruschioni, S., Brocchini, M., and Almeida, R. P. (2020). Fluid dynamics in the functional foregut of xylem-sap feeding insects : A comparative study of two *Xylella fastidiosa* vectors. *Journal of Insect Physiology*, 120 :103995.

[Rapicavoli et al., 2018a] Rapicavoli, J., Ingel, B., Blanco-Ulate, B., Cantu, D., and Roper, C. (2018a). *Xylella fastidiosa* : an examination of a re-emerging plant pathogen : *Xylella fastidiosa*. *Molecular Plant Pathology*, 19(4) :786–800.

[Rapicavoli et al., 2018b] Rapicavoli, J. N., Blanco-Ulate, B., Muszyński, A., Figueroa-Balderas, R., Morales-Cruz, A., Azadi, P., Dobruchowska, J. M., Castro, C., Cantu, D., and Roper, M. C. (2018b). Lipopolysaccharide O-antigen delays plant innate immune recognition of *Xylella fastidiosa*. *Nature Communications*, 9(1) :390.

[Raven, 1983] Raven, J. A. (1983). Phytophages of xylem and phloem : a comparison of animal and plant sap-feeders. In *Advances in ecological research*, volume 13, pages 135–234. Elsevier.

[Redak et al., 2004] Redak, R. A., Purcell, A. H., Lopes, J. R., Blua, M. J., Mizell III, R. F., and Andersen, P. C. (2004). The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Review of Entomology*, 49(1) :243–270.

[Resweber, 2011] Resweber, J.-P. (2011). Les enjeux de l'interdisciplinarité. *Questions de communication*, (19) :171–200.

[Retchless et al., 2014] Retchless, A. C., Labroussaa, F., Shapiro, L., Stenger, D. C., Lindow, S. E., and Almeida, R. P. P. (2014). Genomic Insights into *Xylella fastidiosa*

Interactions with Plant and Insect Hosts. *Genomics of Plant-Associated Bacteria*, pages 177–202.

[Rochlin et al., 2013] Rochlin, I., Ninivaggi, D. V., Hutchinson, M. L., and Farajollahi, A. (2013). Climate Change and Range Expansion of the Asian Tiger Mosquito (Aedes albopictus) in Northeastern USA : Implications for Public Health Practitioners. *PLoS ONE*, 8(4) :e60874.

[Rodrigues et al., 2014] Rodrigues, A. S. B., Silva, S. E., Marabuto, E., Silva, D. N., Wilson, M. R., Thompson, V., Yurtsever, S., Halkka, A., Borges, P. A. V., Quartau, J. A., Paulo, O. S., and Seabra, S. G. (2014). New mitochondrial and nuclear evidences support recent demographic expansion and an atypical phylogeographic pattern in the spittlebug *Philaenus spumarius* (Hemiptera, Aphrophoridae). *PLoS ONE*, 9(6) :e98375.

[Rodríguez et al., 2001] Rodríguez, C., Obando, J., Villalobos, W., Moreira, L., and Rivera, C. (2001). First report of *Xylella fastidiosa* infecting coffee in Costa Rica. *Plant disease*, 85(9) :1027–1027.

[Rognes et al., 2016] Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., and Quince, C. (2016). Vsearch : A versatile open source tool for metagenomics.

[Román Ecija et al., 2019] Román Ecija, M., Landa, B. B., Olivares-García, C., Jiménez Díaz, R. M., and Navas Cortés, J. A. (2019). Temperature determines growth and biofilm formation of *Xylella fastidiosa* strains in vitro.

[Roper et al., 2019] Roper, C., Castro, C., and Ingel, B. (2019). *Xylella fastidiosa* : bacterial parasitism with hallmarks of commensalism. *Current Opinion in Plant Biology*, 50 :140–147.

[Roper et al., 2007] Roper, M. C., Greve, L. C., Warren, J. G., Labavitch, J. M., and Kirkpatrick, B. C. (2007). *Xylella fastidiosa* requires polygalacturonase for colonization and pathogenicity in *Vitis vinifera* Grapevines. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(4) :411–419.

[Rösch et al., 2022] Rösch, V., Marques, E., Miralles-nunez, A., Zahniser, J. N., and Wilson, M. R. (2022). *Draeculacephala robinsoni* Hamilton, 1967 (Hemiptera : Auchenorrhyncha : Cicadellidae), a newly introduced species and genus in Europe with comments on its identification. *Zootaxa*, 5116(3) :439–448.

[Rossetti et al., 1990] Rossetti, V., Garnier, M., Bové, J., Beretta, M.-J.-G., Teixeira, A., Quaggio, J., and de Negri, J. D. (1990). Présence de bactéries dans le xylème d'orangers atteints de chlorose variégée, une nouvelle maladie des agrumes au Brésil. *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie*, 310(8) :345–349.

[Rossi, 2016] Rossi, J.-P. (2016). Introduction to the R package rich. page 19.

[Roux, 2009] Roux, K. H. (2009). Optimization and Troubleshooting in PCR. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2009(4) :pdb.ip66.

[Sabella et al., 2018] Sabella, E., Luvisi, A., Aprile, A., Negro, C., Vergine, M., Nicolì, F., Miceli, A., and De Bellis, L. (2018). *Xylella fastidiosa* induces differential expression of lignification related-genes and lignin accumulation in tolerant olive trees cv. Leccino. *Journal of Plant Physiology*, 220 :60–68.

[Sache and Barnouin, 2004] Sache, I. and Barnouin, J. (2004). L'Action Transversale INRA EpiEmerge - Epidémiologie & risques émergents / Epidemiology and Emerging Risks.

[Sache and Barnouin, 2010] Sache, I. and Barnouin, J. (2010). Construction et vie de l'Action Transversale épiÉmerge.

[Saint-Martin, 2018] Saint-Martin, A. (2018). L'édition scientifique « piratée ». Passage en revue et esquisse de problématisation. *Zilsel*, 4(2) :179.

[Salton et al., 1975] Salton, G., Wong, A., and Yang, C. S. (1975). A vector space model for automatic indexing. *Communications of the ACM*, 18(11) :613–620.

[Samimian-Darash, 2009] Samimian-Darash, L. (2009). A pre-event configuration for biological threats : Preparedness and the constitution of biosecurity events. *American Ethnologist*, 36(3) :478–491.

[Sanna et al., 2021] Sanna, F., Mori, N., Santoiemma, G., D'Ascenzo, D., Scotillo, M. A., and Marini, L. (2021). Ground cover management in olive groves reduces populations of *Philaenus spumarius* (Hemiptera : Aphrophoridae), vector of *Xylella fastidiosa*. *Journal of Economic Entomology*, 114(4) :1716–1721.

[Sano, 2005] Sano, Y. (2005). Inter- and Intraspecific Structural Variations among Intervascular Pit Membranes, as Revealed by Field-Emission Scanning Electron Microscopy. *American Journal of Botany*, 92(7) :1077–1084.

[Saponari et al., 2016] Saponari, M., Boscia, D., Altamura, G., D'Attoma, G., Cavalieri, V., Zicca, S., Morelli, M., Tavano, D., Loconsole, G., Susca, L., Potere, O., Savino, V., Martelli, G. P., Palmisano, F., Dongiovanni, C., Saponari, A., Fumarola, G., and Carolo, M. D. (2016). Pilot project on *Xylella fastidiosa* to reduce risk assessment uncertainties. *EFSA Supporting Publications*, 13(3).

[Saponari et al., 2013] Saponari, M., Boscia, D., Nigro, F., and Martelli, G. (2013). Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (southern Italy). *Journal of Plant Pathology*, 95(3).

[Saponari et al., 2019] Saponari, M., Giampetruzzi, A., Loconsole, G., Boscia, D., and Saldarelli, P. (2019). *Xylella fastidiosa* in olive in Apulia : Where we stand. *Phytopathology*, 109(2) :175–186.

[Saponari et al., 2014] Saponari, M., Loconsole, G., Cornara, D., Yokomi, R. K., De Stradis, A., Boscia, D., Bosco, D., Martelli, G. P., Krugner, R., and Porcelli, F. (2014). Infectivity and transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera : Aphrophoridae) in Apulia, Italy. *Journal of Economic Entomology*, 107(4) :1316–1319.

[Sattary et al., 2015] Sattary, M., Rakhshanderoo, F., Mozafari, J., Haelterman, R. M., Tolocka, P. A., Roca, M. E., Guzmán, F. A., Fernández, F. D., and Otero, M. L. (2015). First report of a mosaic disease caused by tomato ringspot virus on rose and almond plants in Iran. page 1.

[Scala et al., 2020] Scala, V., Pucci, N., Salustri, M., Modesti, V., L'Aurora, A., Scortichini, M., Zaccaria, M., Momeni, B., Reverberi, M., and Loreti, S. (2020). *Xylella fastidiosa* subsp.*pauca*and olive produced lipids moderate the switch adhesive versus non-adhesive state and viceversa. *PLoS ONE*, 15(5) :e0233013.

[Scally et al., 2005] Scally, M., Schuenzel, E. L., Stouthamer, R., and Nunney, L. (2005). Multilocus sequence type system for the plant pathogen *Xylella fastidiosa* and relative contributions of recombination and point mutation to clonal diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12) :8491–8499.

[Schaad et al., 2004] Schaad, N., Postnikova, E., Lacy, G., Fatmi, M., and Chang, C. J. (2004). *Xylella fastidiosa* subspecies : *X. fastidiosa* subsp piercei, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp.*multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp.*pauca*subsp. nov. *Systematic and applied microbiology*, 27 :290–300.

[Schaad et al., 2002] Schaad, N. W., Opgenorth, D., and Gaush, P. (2002). Real-Time Polymerase Chain Reaction for One-Hour On-Site Diagnosis of Pierce's Disease of Grape in Early Season Asymptomatic Vines. *Phytopathology*, 92(7) :721–728.

[Schmitt and Liese, 1994] Schmitt, U. and Liese, W. (1994). Wound tyloses in *Robinia Pseudoacacia* L. *IAWA Journal*, 15(2) :157–160.

[Schneider et al., 2020] Schneider, K., van der Werf, W., Cendoya, M., Mourits, M., Navas-Cortés, J. A., Vicent, A., and Oude Lansink, A. (2020). Impact of *Xylella fastidiosa* subspecies *pauca* in European olives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(17) :9250–9259.

[Semal, 1995] Semal, J. (1995). L'épopée du mildiou de la pomme de terre (1845-1995). *Cahiers Agricultures*, 4(4) :287–298.

[Sétamou and Jones, 2005] Sétamou, M. and Jones, W. A. (2005). Biology and Biometry of Sharpshooter *Homalodisca coagulata*</I> (Homoptera : Cicadellidae) Reared on Cowpea. *Annals of the Entomological Society of America*, 98(3) :322–328.

[Severin, 1949a] Severin, H. (1949a). Life history of the blue-green sharpshooter, Neokolla circellata. *Hilgardia*, 19(6) :187–189.

[Severin, 1949b] Severin, H. (1949b). Transmission of the virus of Pierce's disease of grapevines by leafhoppers. *Hilgardia*, 19(6) :190–206.

[Severin, 1950] Severin, H. H. P. (1950). Spittle-insect vectors of Pierce's disease virus : II. Life history and virus transmission. *Hilgardia*, 19(11) :29.

[Shamim et al., 2014] Shamim, G., Ranjan, S. K., Pandey, D. M., and Ramani, R. (2014). Biochemistry and biosynthesis of insect pigments. *European Journal of Entomology*, 111(2) :149–164.

[Siberchicot et al., 2017] Siberchicot, A., Julien-Laferrière, A., Dufour, A.-B., Thioulouse, J., and Dray, S. (2017). adegraphics : An S4 Lattice-Based Package for the Representation of Multivariate Data. *The R Journal*, 9(2) :198.

[Sicard et al., 2021] Sicard, A., Saponari, M., Vanhove, M., Castillo, A. I., Giampetruzzi, A., Loconsole, G., Saldarelli, P., Boscia, D., Neema, C., and Almeida, R. P. P. (2021). Introduction and adaptation of an emerging pathogen to olive trees in Italy. *Microbial Genomics*, 7(12).

[Sicard et al., 2018] Sicard, A., Zeilinger, A. R., Vanhove, M., Schartel, T. E., Beal, D. J., Daugherty, M. P., and Almeida, R. P. P. (2018). *Xylella fastidiosa* : Insights into an emerging plant pathogen. volume 56 of *Annual Review of Phytopathology*, pages 181–202.

[Sigogneau, 1995] Sigogneau, A. (1995). *Approche scientométrique de la définition d'un domaine de recherche par des revues scientifiques*. PhD Thesis, Paris 7.

[Simmonds et al., 1990] Simmonds, P., Balfe, P., Peutherer, J. F., Ludlam, C. A., Bishop, J. O., and Brown, A. J. (1990). Human immunodeficiency virus-infected individuals contain provirus in small numbers of peripheral mononuclear cells and at low copy numbers. *Journal of Virology*, 64(2) :864–872.

[Simmons et al., 2019] Simmons, B. I., Cirtwill, A. R., Baker, N. J., Wauchope, H. S., Dicks, L. V., Stouffer, D. B., and Sutherland, W. J. (2019). Motifs in bipartite ecological networks : uncovering indirect interactions. *Oikos*, 128(2) :154–170.

[Simpson et al., 2000] Simpson, A. J. G., Reinach, F., Arruda, P., Abreu, F. A., Acencio, M., Alvarenga, R., Alves, L. M. C., Araya, J. E., Baia, G. S., Baptista, C. S., Barros, M. H., Bonaccorsi, E. D., Bordin, S., Bové, J. M., Briones, M. R. S., Bueno, M. R. P., Camargo, A. A., Camargo, L. E. A., Carraro, D. M., Carrer, H., Colauto, N. B., Colombo, C., Costa, F. F., Costa, M. C. R., Costa-Neto, C. M., Coutinho, L. L., Cristofani, M., Dias-Neto, E., Docena, C., El-Dorry, H., Facincani, A. P., Ferreira, A. J. S., Ferreira, V. C. A., Ferro, J. A., Fraga, J. S., França, S. C., Franco, M. C., Frohme, M., Furlan, L. R., Garnier, M., Goldman, G. H., Goldman, M. H. S., Gomes, S. L., Gruber, A., Ho, P. L., Hoheisel, J. D., Junqueira, M. L., Kemper, E. L., Kitajima, J., Krieger, J. E., Kuramae, E. E., Laigret, F., Lambais, M. R., Leite, L. C. C., Lemos, E. G. M., Lemos, M. V. F., Lopes, S. A., Lopes, C. R., Machado, J. A., Machado, M. A., Madeira, A. M. B. N., Madeira, H. M. F., Marino, C. L., Marques, M. V., Martins, E. A. L., Martins, E. M. F., Matsukuma, A. Y., Menck, C. F. M., Miracca, E. C., Miyaki, C. Y., Monteiro-Vitorello, C. B., Moon, D. H., Nagai, M. A., Nascimento, A. L. T. O., Netto, L. E. S., Nhani, A., Nobrega, F. G., Nunes, L. R., Oliveira, M. A., de Oliveira, M. C., de Oliveira, R. C., Palmieri, D. A., Paris, A., Peixoto, B. R., Pereira, G. A. G., Pereira, H. A., Pesquero, J. B., Quaggio, R. B., Roberto, P. G., Rodrigues, V., de M. Rosa, A. J., de Rosa, V. E., de Sá, R. G., Santelli, R. V., Sawasaki, H. E., da Silva, A. C. R., da Silva, A. M., da Silva, F. R., Silva, W. A., da Silveira, J. F., Silvestri, M. L. Z., Siqueira, W. J.,

de Souza, A. A., de Souza, A. P., Terenzi, M. F., Truffi, D., Tsai, S. M., Tsuhako, M. H., Vallada, H., Van Sluys, M. A., Verjovski-Almeida, S., Vettore, A. L., Zago, M. A., Zatz, M., Meidanis, J., and Setubal, J. C. (2000). The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nature*, 406(6792) :151–157.

[Sisterson, 2008a] Sisterson, M. S. (2008a). Effects of Insect-Vector Preference for Healthy or Infected Plants on Pathogen Spread : Insights from a Model. *Journal of Economic Entomology*, 101(1) :8.

[Sisterson, 2008b] Sisterson, M. S. (2008b). Egg load dynamics of *Homalodisca vitripennis*. *Environmental Entomology*, 37(5) :8.

[Sisterson et al., 2020] Sisterson, M. S., Burbank, L., Krugner, R., Haviland, D., and Stenger, D. C. (2020). *Xylella fastidiosa* and glassy-winged sharpshooter population dynamics in the southern San Joaquin Valley of California. *Plant Disease*.

[Sisterson et al., 2008] Sisterson, M. S., Yacoub, R., Montez, G., Grafton-Cardwell, E. E., and Groves, R. L. (2008). Distribution and Management of Citrus in California : Implications for Management of Glassy-Winged Sharpshooter. *Journal of Economic Entomology*, 101(4) :10.

[Skelsey et al., 2013] Skelsey, P., With, K. A., and Garrett, K. A. (2013). Pest and Disease Management : Why We Shouldn't Go against the Grain. *PLoS ONE*, 8(9) :e75892.

[Smith et al., 2000] Smith, J. M., Feil, E. J., and Smith, N. H. (2000). Population structure and evolutionary dynamics of pathogenic bacteria. *BioEssays*, 22(12) :1115–1122.

[Son et al., 2012] Son, Y., Backus, E. A., Groves, R. L., and Johnson, M. W. (2012). Pattern of Stylet Penetration Activity by Homalodisca vitripennis (Hemiptera : Cicadellidae) Adults in Relation to Environmental Temperature and Light Conditions. *Environmental Entomology*, 41(5) :1215–1230.

[Son et al., 2009] Son, Y., Groves, R. L., Daane, K. M., Morgan, D. J. W., and Johnson, M. W. (2009). Influences of temperature on *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera : Cicadellidae) survival under various feeding conditions. *Environmental Entomology*, 38(5) :1485–1495.

[Son et al., 2010] Son, Y., Groves, R. L., Daane, K. M., Morgan, D. J. W., Krugner, R., and Johnson, M. W. (2010). Estimation of Feeding Threshold for Homalodisca vitri-

pennis (Hemiptera : Cicadellidae) and Its Application to Prediction of Overwintering Mortality. *Environmental Entomology*, 39(4) :1264–1275.

[Sorensen and Gill, 1996] Sorensen, J. and Gill, R. (1996). A range extension of Homalodisca coagulata (Say)(Hemiptera : Clypeorrhyncha : Cicadellidae) to southern California. *Pan-Pacific Entomologist*, 72(3) :160–161.

[Soubeyrand et al., 2018] Soubeyrand, S., de Jerphanion, P., Martin, O., Saussac, M., Manceau, C., Hendrikx, P., and Lannou, C. (2018). Inferring pathogen dynamics from temporal count data : the emergence of *Xylella fastidiosa* in France is probably not recent. *New Phytologist*, 219(2) :824–836.

[Souza et al., 2004] Souza, A. A., Takita, M. A., Coletta-Filho, H. D., Caldana, C., Yanai, G. M., Muto, N. H., Oliveira, R. C., Nunes, L. R., and Machado, M. A. (2004). Gene expression profile of the plant pathogen *Xylella fastidiosa* during biofilm formation in vitro. *FEMS Microbiology Letters*, 237(2) :341–353.

[Sperry and Hacke, 2004] Sperry, J. S. and Hacke, U. G. (2004). Analysis of circular bordered pit function I. Angiosperm vessels with homogenous pit membranes. *American Journal of Botany*, 91(3) :369–385.

[SRAL, 2022] SRAL (2022). Réunion du CROPSAV Occitanie le lundi 16/05/2022.

[Stancanelli et al., 2015] Stancanelli, G., Gregoire, J.-C., Almeida, R., Hollo, G., Bosco, D., Mosbach-Schulz, O., Caffier, D., and Parnell, S. (2015). Assessing the risk posed to plant health by *Xylella fastidiosa* in the European Union. page 8.

[Star, 2018] Star, S. (2018). L'ethnographie des infrastructures. *Tracés*, (35) :187–206.

[Star and Griesemer, 1989] Star, S. L. and Griesemer, J. R. (1989). Institutional ecology,translations' and boundary objects : Amateurs and professionals in Berkeley's Museum of Vertebrate Zoology, 1907-39. *Social studies of science*, 19(3) :387–420.

[Star and Ruhleder, 2010] Star, S. L. and Ruhleder, K. (2010). Vers une écologie de l'infrastructure. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 4(1) :114–161.

[Strona et al., 2017] Strona, G., Carstens, C. J., and Beck, P. S. A. (2017). Network analysis reveals why *Xylella fastidiosa* will persist in Europe. *Scientific Reports*, 7(1) :71.

[Su et al., 2013] Su, C.-C., Chang, C. J., Chang, C.-M., Shih, H.-T., Tzeng, K.-C., Jan, F.-J., Kao, C.-W., and Deng, W.-L. (2013). Pierce's disease of grapevines in Taiwan :

isolation, cultivation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*. *Journal of Phytopathology*, 161(6) :389–396.

[Suffert et al., 2008] Suffert, F., Barbier, M., Sache, I., and Labussière, E. (2008). Biosécurité des cultures et agroterrorisme. Une menace, des questions scientifiques et une opportunité : réactiver un dispositif d'épidémiovigilance. page 21.

[Sun et al., 2013] Sun, Q., Sun, Y., Walker, M. A., and Labavitch, J. M. (2013). Vascular Occlusions in Grapevines with Pierce's Disease Make Disease Symptom Development Worse. *Plant Physiology*, 161(3) :1529–1541.

[Taberlet et al., 2007] Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A., Vermat, T., Corthier, G., Brochmann, C., and Willerslev, E. (2007). Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research*, 35(3) :e14–e14.

[Takiya et al., 2006] Takiya, D. M., McKamey, S. H., and Cavichioli, R. R. (2006). Validity of *Homalodisca*</I> and of *H. vitripennis*</I> as the Name for Glassy-Winged Sharpshooter (Hemiptera : Cicadellidae : Cicadellinae). *Annals of the Entomological Society of America*, 99(4) :648–655.

[Tancoigne et al., 2014] Tancoigne, E., Barbier, M., Cointet, J.-P., and Richard, G. (2014). Les services écosystémiques dans la littérature scientifique : démarche d'exploration et résultats d'analyse. Rapport d'étude pour la phase d'exploration du métaprogramme EcoServ.. [Rapport de recherche].

[Tétart and Torny, 2009] Tétart, G. and Torny, D. (2009). « ça tue parfois mais ce n'est pas dangereux » : Injonction institutionnelle et mobilisation scientifique autour d'un pathogène émergent, Bacillus cereus. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 3, 1(1) :73.

[The dMIQE Group et al., 2020] The dMIQE Group, Whale, A. S., De Spiegelaere, W., Trypsteen, W., Nour, A. A., Bae, Y.-K., Benes, V., Burke, D., Cleveland, M., Corbisier, P., Devonshire, A. S., Dong, L., Drandi, D., Foy, C. A., Garson, J. A., He, H.-J., Hellemans, J., Kubista, M., Lievens, A., Makrigiorgos, M. G., Milavec, M., Mueller, R. D., Nolan, T., O'Sullivan, D. M., Pfaffl, M. W., Rödiger, S., Romsos, E. L., Shipley, G. L., Taly, V., Untergasser, A., Wittwer, C. T., Bustin, S. A., Vandesompele, J., and Huggett, J. F. (2020). The Digital MIQE Guidelines Update : Minimum Information

for Publication of Quantitative Digital PCR Experiments for 2020. *Clinical Chemistry*, 66(8) :1012–1029.

[Thioulouse et al., 2018] Thioulouse, J., Dray, S., Dufour, A.-B., Siberchicot, A., Jombart, T., and Pavoine, S. (2018). *Multivariate Analysis of Ecological Data with ade4*. Springer.

[Thompson Klein, 2011] Thompson Klein, J. (2011). Une taxinomie de l'interdisciplinarité. *Nouvelles perspectives en sciences sociales*, 7(1) :15–48.

[Thorne et al., 2006] Thorne, E. T., Young, B. M., Young, G. M., Stevenson, J. F., Labavitch, J. M., Matthews, M. A., and Rost, T. L. (2006). The structure of xylem vessels in grapevine (Vitaceae) and a possible passive mechanism for the systemic spread of bacterial disease. *American Journal of Botany*, 93(4) :497–504.

[Triapitsyn et al., 1998] Triapitsyn, S. V., Mizell, R. F., Bossart, J. L., and Carlton, C. E. (1998). Egg Parasitoids of Homalodisca coagulata (Homoptera : Cicadellidae). *The Florida Entomologist*, 81(2) :241.

[Triapitsyn and Phillips, 2000] Triapitsyn, S. V. and Phillips, P. A. (2000). First Record of *Gonatocerus triguttatus* (Hymenoptera : Mymaridae) from eggs of *Homalodisca coagulata* (Homoptera : Cicadellidae) with notes on the distribution of the host. *The Florida Entomologist*, 83(2) :200.

[Tumber et al., 2014] Tumber, K., Alston, J., and Fuller, K. (2014). Pierce's disease costs California $104 million per year. *California Agriculture*, 68 :20–29.

[Turner and Pollard, 1959] Turner, W. F. and Pollard, H. N. (1959). *Life histories and behavior of five insect vectors of phony peach disease*. Number 1188. US Department of Agriculture.

[Ulrich et al., 2009] Ulrich, W., Almeida-Neto, M., and Gotelli, N. J. (2009). A consumer's guide to nestedness analysis. *Oikos*, 118(1) :3–17.

[Urvois, 2022] Urvois, T. (2022). *Structure génétique et modélisation de la distribution des populations de deux espèces invasives de Xylosandrus (Scolytinae : Xyleborini) : deux espèces proches aux histoires d'invasion différentes*. PhD thesis.

[Vakil, 2019] Vakil, C. (2019). Les revues prédatrices. page 3.

[van Bruggen et al., 2019] van Bruggen, A. H., Goss, E. M., Havelaar, A., van Diepeningen, A. D., Finckh, M. R., and Morris, J. G. (2019). One Health - Cycling of

diverse microbial communities as a connecting force for soil, plant, animal, human and ecosystem health. *Science of The Total Environment*, 664 :927–937.

[van Dalen and Henkens, 2012] van Dalen, H. P. and Henkens, K. (2012). Intended and unintended consequences of a publish-or-perish culture : A worldwide survey. *Journal of the American Society for Information Science and Technology*, 63(7) :1282–1293.

[Van Sluys et al., 2003] Van Sluys, M. A., de Oliveira, M. C., Monteiro-Vitorello, C. B., Miyaki, C. Y., Furlan, L. R., Camargo, L. E. A., da Silva, A. C. R., Moon, D. H., Takita, M. A., Lemos, E. G. M., Machado, M. A., Ferro, M. I. T., da Silva, F. R., Goldman, M. H. S., Goldman, G. H., Lemos, M. V. F., El-Dorry, H., Tsai, S. M., Carrer, H., Carraro, D. M., de Oliveira, R. C., Nunes, L. R., Siqueira, W. J., Coutinho, L. L., Kimura, E. T., Ferro, E. S., Harakava, R., Kuramae, E. E., Marino, C. L., Giglioti, E., Abreu, I. L., Alves, L. M. C., do Amaral, A. M., Baia, G. S., Blanco, S. R., Brito, M. S., Cannavan, F. S., Celestino, A. V., da Cunha, A. F., Fenille, R. C., Ferro, J. A., Formighieri, E. F., Kishi, L. T., Leoni, S. G., Oliveira, A. R., Rosa, V. E., Sassaki, F. T., Sena, J. A. D., de Souza, A. A., Truffi, D., Tsukumo, F., Yanai, G. M., Zaros, L. G., Civerolo, E. L., Simpson, A. J. G., Almeida, N. F., Setubal, J. C., and Kitajima, J. P. (2003). Comparative analyses of the complete genome sequences of Pierce's Disease and Citrus Variegated Chlorosis strains of *Xylella fastidiosa*. *Journal of Bacteriology*, 185(3) :1018–1026.

[Vanhove et al., 2019] Vanhove, M., Retchless, A. C., Sicard, A., Rieux, A., Coletta-Filho, H. D., De La Fuente, L., Stenger, D. C., and Almeida, R. P. P. (2019). Genomic Diversity and Recombination among *Xylella fastidiosa* Subspecies. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(13) :e02972–18.

[Vinatier et al., 2011] Vinatier, F., Tixier, P., Duyck, P.-F., and Lescourret, F. (2011). Factors and mechanisms explaining spatial heterogeneity : a review of methods for insect populations : *Factors and mechanisms explaining spatial heterogeneity*. *Methods in Ecology and Evolution*, 2(1) :11–22.

[Vinck, 2007] Vinck, D. (2007). Retour sur le laboratoire comme espace de production de connaissances. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 1, 2(2) :159.

[Vinck, 2009] Vinck, D. (2009). De l'objet intermédiaire à l'objet-frontière : Vers la prise en compte du travail d'équipement. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 3, 1(1) :51.

[von Storch et al., 2017] von Storch, J.-S., Putrasahan, D., Lohmann, K., Gutjahr, O., Jungclaus, J., Bittner, M., Haak, H., Wieners, K.-H., Giorgetta, M., Reick, C., Esch, M., Gayler, V., de Vrese, P., Raddatz, T., Mauritsen, T., Behrens, J., Brovkin, V., Claussen, M., Crueger, T., Fast, I., Fiedler, S., Hagemann, S., Hohenegger, C., Jahns, T., Kloster, S., Kinne, S., Lasslop, G., Kornblueh, L., Marotzke, J., Matei, D., Meraner, K., Mikolajewicz, U., Modali, K., Müller, W., Nabel, J., Notz, D., Peters, K., Pincus, R., Pohlmann, H., Pongratz, J., Rast, S., Schmidt, H., Schnur, R., Schulzweida, U., Six, K., Stevens, B., Voigt, A., and Roeckner, E. (2017). MPI-M MPIESM1.2-HR model output prepared for CMIP6 HighResMIP.

[Wallis and Truter, 1978] Wallis, F. and Truter, S. J. (1978). Histopathology of tomato plants infected with *Pseudomonas solanacearum*, with emphasis on ultrastructure. *Physiological Plant Pathology*, 13(3) :307–317.

[Waycott et al., 2021] Waycott, M., van Dijk, K.-j., and Biffin, E. (2021). A hybrid capture RNA bait set for resolving genetic and evolutionary relationships in angiosperms from deep phylogeny to intraspecific lineage hybridization. preprint, Evolutionary Biology.

[Weaver and King, 1954] Weaver, C. R. and King, D. (1954). Meadow spittlebug, *Philaenus leucophthalmus* (L.). *Research bulletin*, 741.

[Wells et al., 1987] Wells, J. M., Raju, B. C., Hung, H.-Y., Weisburg, W. G., Mandelco-Paul, L., and Brenner, D. J. (1987). *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov : gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 37(2) :136–143.

[Wickham, 2007] Wickham, H. (2007). Reshaping Data with the reshape Package. *Journal of Statistical Software*, 21(12) :1–20.

[Wickham, 2011] Wickham, H. (2011). The Split-Apply-Combine Strategy for Data Analysis. *Journal of Statistical Software*, 40(1).

[Wickham, 2016] Wickham, H. (2016). *ggplot2 : Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.

[Wiegert, 1964a] Wiegert, R. G. (1964a). The ingestion of xylem sap by Meadow Spittlebugs, *Philaenus Spumarius* (L.). *American Midland Naturalist*, 71(2) :422.

[Wiegert, 1964b] Wiegert, R. G. (1964b). Population energetics of meadow spittlebugs (*Philaenus spumarius* L.) as affected by migration and habitat. *Ecological Monographs*, 34(3) :217–241.

[Wilke et al., 2019] Wilke, C. O., Wickham, H., and Wilke, M. C. O. (2019). Package 'cowplot'. *Streamlined Plot Theme and Plot Annotations for 'ggplot2*.

[Williamson and Fitter, 1996a] Williamson, M. and Fitter, A. (1996a). The varying success of invaders. *Ecology*, 77(6) :1661–1666.

[Williamson and Fitter, 1996b] Williamson, M. H. and Fitter, A. (1996b). The characters of successful invaders. *Biological Conservation*, 78(1-2) :163–170.

[Winkler, 1949] Winkler, A. (1949). Pierce's disease investigations. *Hilgardia*, 19(7) :207–264.

[Winter et al., 2018] Winter, S., Bauer, T., Strauss, P., Kratschmer, S., Paredes, D., Popescu, D., Landa, B., Guzmán, G., Gómez, J. A., Guernion, M., Zaller, J. G., and Batáry, P. (2018). Effects of vegetation management intensity on biodiversity and ecosystem services in vineyards : A meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 55(5) :2484–2495.

[Wistrom and Purcell, 2005] Wistrom, C. and Purcell, A. H. (2005). The fate of *Xylella fastidiosa* in vineyard weeds and other alternate hosts in California. *Plant Disease*, 89(9) :994–999.

[Wold et al., 2001] Wold, S., Sjöström, M., and Eriksson, L. (2001). PLS-regression : a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58(2) :109–130.

[Wouters, 2006] Wouters, P. (2006). Aux origines de la scientométrie : La naissance du Science Citation Index. *Actes de la recherche en sciences sociales*, 164(4) :11.

[Xu and Hutchinson, 2011] Xu, T. and Hutchinson, M. (2011). ANUCLIM version 6.1 user guide. *The Australian National University, Fenner School of Environment and Society, Canberra*.

[Yan, 2021] Yan, L. (2021). ggvenn : Draw Venn Diagram by'ggplot2'. R package version 0.1. 8.

[Yu and Pauls, 1992] Yu, K. and Pauls, K. (1992). Optimization of the PCR program for RAPD analysis. *Nucleic Acids Research*, 20(10) :2606–2606.

[Yuan et al., 2010] Yuan, X., Morano, L., Bromley, R., Spring-Pearson, S., Stouthamer, R., and Nunney, L. (2010). Multilocus sequence typing of *Xylella fastidiosa* causing Pierce's Disease and Oleander Leaf Scorch in the United States. *Phytopathology*, 100(6) :601–611.

[Yukimoto et al., 2019] Yukimoto, S., Koshiro, T., Kawai, H., Oshima, N., Yoshida, K., Urakawa, S., Tsujino, H., Deushi, M., Tanaka, T., Hosaka, M., Yoshimura, H., Shindo, E., Mizuta, R., Ishii, M., Obata, A., and Adachi, Y. (2019). MRI MRI-ESM2.0 model output prepared for CMIP6 ScenarioMIP.

[Yurtsever, 2000] Yurtsever, S. (2000). On the polymorphic meadow spittlebug, *Philaenus spumarius* (L.)(Homoptera : Cercopidae). *Turkish Journal of Zoology*, 24(4) :447–460.

[Zalta, 2000] Zalta, J.-P. (2000). Principes de classement et guides officiels de la Comission de Génie Génétique.

[Zeiss and Groenewegen, 2009] Zeiss, R. and Groenewegen, P. (2009). Engaging Boundary Objects in OMS and STS ? Exploring the Subtleties of Layered Engagement. *Organization*, 16(1) :81–100.

[Zinsstag et al., 2018] Zinsstag, J., Crump, L., Schelling, E., Hattendorf, J., Maidane, Y. O., Ali, K. O., Muhummed, A., Umer, A. A., Aliyi, F., Nooh, F., Abdikadir, M. I., Ali, S. M., Hartinger, S., Mäusezahl, D., de White, M. B. G., Cordon-Rosales, C., Castillo, D. A., McCracken, J., Abakar, F., Cercamondi, C., Emmenegger, S., Maier, E., Karanja, S., Bolon, I., de Castañeda, R. R., Bonfoh, B., Tschopp, R., Probst-Hensch, N., and Cissé, G. (2018). Climate change and One Health. *FEMS Microbiology Letters*, 365(11).

[Zinsstag et al., 2020] Zinsstag, J., Schelling, E., Waltner-Toews, D., A. Whittaker, M., and Tanner, M. (2020). *One Health, une seule santé*. éditions Quae.

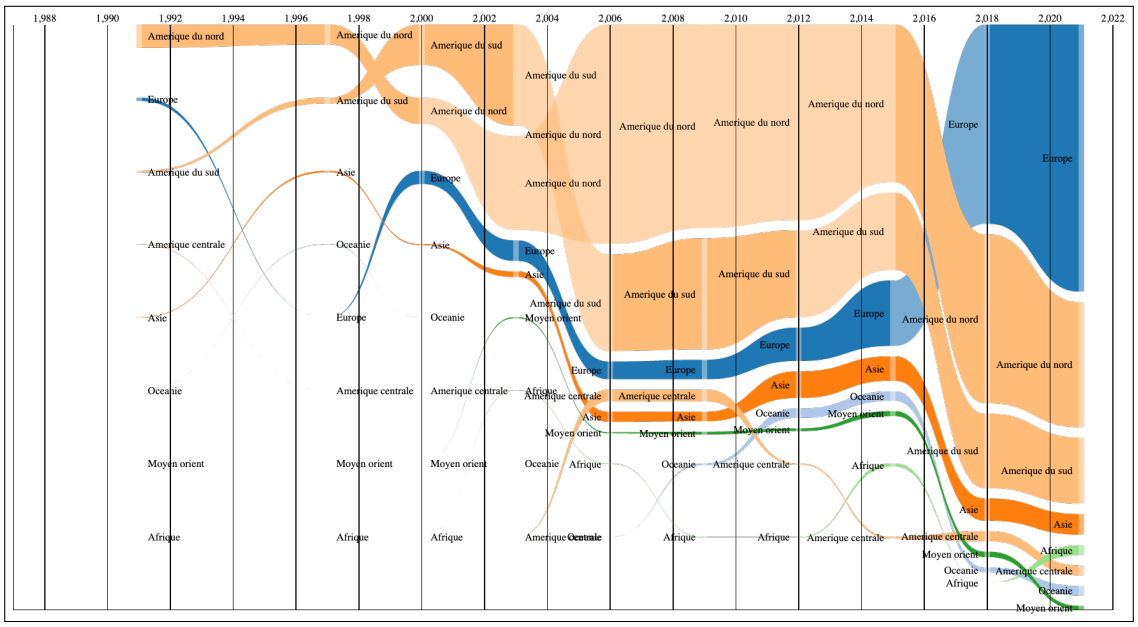
[Zinsstag et al., 2011] Zinsstag, J., Schelling, E., Waltner-Toews, D., and Tanner, M. (2011). From "one medicine" to "one health" and systemic approaches to health and well-being. *Preventive Veterinary Medicine*, 101(3-4) :148–156.

Annexes

Annexe A

Analyses complémentaires de scientométrie

1 Évolution du nombre de publications selon l'affiliation des auteurs ayant publié sur *Xylella fastidiosa* entre 1987 et 2021 (regroupées par continent)



Graphique construit avec l'outil Epic Epoch de CorTexT (paramètres par défaut)

2 Nombre de publications selon l'affiliation des auteurs

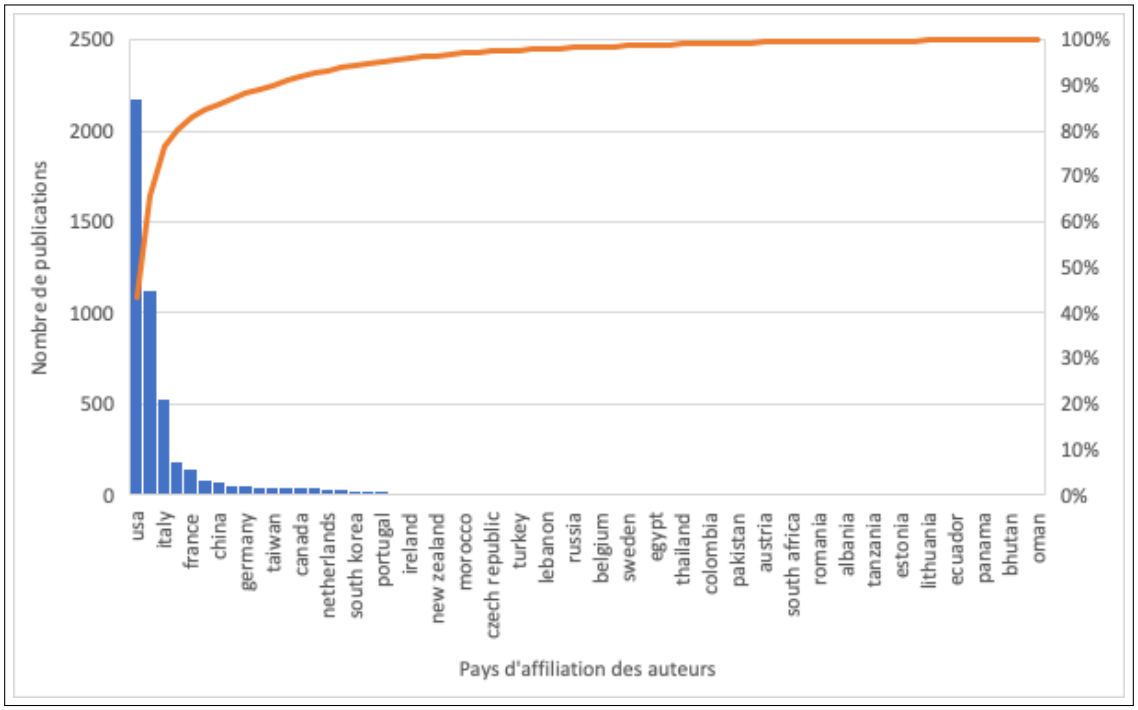
2.1 Liste des pays d'affiliation des autrices et auteurs ayant publiés sur *Xylella fastidiosa*

Pays	**Continent**	**Fréquence**	**Nombre de documents distincts**
États-Unis	Amérique du Nord	2182	1158
Brésil	Amérique du Sud	1123	434
Italie	Europe	529	222
Espagne	Europe	183	89
France	Europe	146	76
Royaume-Uni	Europe	80	50
Chine	Asie	76	50
Argentine	Amérique du Sud	57	27
Allemagne	Europe	52	45
Australie	Océanie	49	19
Taiwan	Asie	45	28
Costa Rica	Amérique centrale	44	22
Canada	Amérique du Nord	41	26
Inde	Asie	40	29
Pays-Bas	Europe	36	27
Mexique	Amérique centrale	35	16
Corée du Sud	Asie	25	12
Japon	Asie	22	18
Portugal	Europe	20	11
Grèce	Europe	17	8
Nouvelle-Zélande	Océanie	15	8
Irlande	Europe	15	14
Suisse	Europe	15	12
Israël	Moyen orient	14	10
Hongrie	Europe	10	4

Pays	**Continent**	**Fréquence**	**Nombre de documents distincts**
Maroc	Afrique	10	5
République Tchèque	Europe	8	3
Iran	Moyen orient	8	4
Liban	Moyen orient	7	4
Turquie	Moyen orient	7	6
Slovénie	Europe	7	6
Chili	Amérique du Sud	6	5
Russie	Europe	6	3
Égypte	Afrique	5	5
Ouganda	Afrique	5	3
Uruguay	Amérique du Sud	5	4
Singapour	Asie	5	5
Belgique	Europe	5	4
Thaïlande	Asie	5	3
Finlande	Europe	5	4
Suède	Europe	5	4
Colombie	Amérique du Sud	4	3
Cuba	Amérique centrale	4	2
Pologne	Europe	4	4
Pakistan	Moyen orient	3	3
Autriche	Europe	3	2
Afrique du Sud	Afrique	3	1
Serbie	Europe	3	3
Indonésie	Asie	3	1
Roumanie	Europe	2	1
Tunisie	Afrique	2	1
Danemark	Europe	2	2
Albanie	Europe	1	1
Nigéria	Afrique	1	1
Tanzanie	Afrique	1	1

Pays	Continent	Fréquence	Nombre de documents distincts
Nicaragua	Amérique centrale	1	1
Estonie	Europe	1	1
Burkina Faso	Afrique	1	1
Lituanie	Europe	1	1
Bolivie	Amérique du Sud	1	1
Équateur	Amérique du Sud	1	1
Pérou	Amérique du Sud	1	1
Panama	Amérique centrale	1	1
Ukraine	Europe	1	1
Bhoutan	Asie	1	1
Malaisie	Asie	1	1
Oman	Moyen orient	1	1

2.2 Courbe cumulée du nombre de publications en fonction de l'affiliation des auteurs et autrices



3 Liste des « multi-termes » extraits et utilisés dans les analyses scientométriques

La liste a été obtenue avec le script d'extraction terminologique (Terms extraction) paramétré pour extraire les 500 termes les plus fréquents dans le résumé ou le titre des publications. Cette liste a été nettoyée : les termes liés à l'acte de publication (relevant du nom des éditeurs et de leur copyright) ou des termes consacrés à l'écriture de l'article scientifique (e.g. « objective of this article ») ont été supprimées. Quelques regroupements de termes tels que « causative agent of Pierce » et « causal agent of Pierce » ont été effectués.

3.1 Liste nettoyée des 458 termes utilisés

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
plant growth promotion	plant growth promotion|&|plant growth promoting|&|promotion of plant growth
sequence type	sequence type|&|sequence types|&|sequence typing
citrus plants	citrus plants
fastidiosa genes	fastidiosa genes|&|fastidiosa gene|&|fastidiosa with a gene
gene expression profile	gene expression profile
gene flow	gene flow
spread of *Xylella fastidiosa*	spread of *Xylella fastidiosa*|&|spread *Xylella fastidiosa*|&|*Xylella fastidiosa* and spread
almond strain	almond strain|&|almond strains|&|strains from almond|&|strain from almond
host plants	host plants|&|host plant|&|plant hosts|&|plant host
spacer sequence	spacer sequence|&|spacer sequences
Lecce province	lecce province|&|province of lecce
susceptible plants	susceptible plants
xylem cell	xylem cell|&|xylem cells

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
acquisition and inoculation	acquisition and inoculation|&|acquisition or inoculation
multivariate analysis	multivariate analysis
sequence similarity	sequence similarity
different plant species	different plant species
North America	north america
many genes	many genes
infected plants	infected plants|&|plant infection|&|infected plant
phylogenetic analyses	phylogenetic analyses
Xanthomonas oryzae pv	xanthomonas oryzae pv
including Pierce	including pierce
bacterial diseases	bacterial diseases|&|bacterial disease|&|diseases bacterial
Xylella fastidiosa strains	*Xylella fastidiosa* strains|&|strains of *Xylella fastidiosa*|&|*Xylella fastidiosa* strain|&|strain of *Xylella fastidiosa*|&|strains against *Xylella fastidiosa*|&|strain *Xylella fastidiosa*
drought stress	drought stress
adhesion forces	adhesion forces|&|adhesion force|&|force of adhesion
Sao Paulo State	state of sao paulo|&|sao paulo
type III secretion	type iii secretion
amplification products	amplification products|&|amplification product
intersubspecific recombination	intersubspecific recombination
Homalodisca liturata	homalodisca liturata
signal molecule	signal molecule|&|signaling molecules|&|signal molecules
endophytic bacteria	endophytic bacteria|&|endophytic bacterial|&|bacterial endophytes
abiotic and biotic factors	abiotic and biotic factors|&|biotic and abiotic factors
conjugative plasmids	conjugative plasmids|&|conjugative plasmid
sharpshooter egg	sharpshooter egg|&|sharpshooter eggs|&|eggs of the sharpshooter

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
gene expression	gene expression|&|expressed genes|&|genes expression|&|expression of genes|&|expression of the genes|&|expression of these genes
southern highbush blueberry	southern highbush blueberry
sweet orange plants	sweet orange plants|&|sweet orange trees
Homalodisca coagulata	homalodisca coagulata
causes citrus variegated	causes citrus variegated|&|cause citrus variegated
axenic culture	axenic culture
detection methods	detection methods|&|detection method
leaf scorch strains	leaf scorch strains|&|leaf scorch strain
serious diseases	serious diseases|&|serious disease
attachment and biofilm formation	attachment and biofilm formation|&|attachment or biofilm formation|&|biofilm formation or attachment
natural competence	natural competence
spittlebug species	spittlebug species
Anagrus spp	anagrus spp
electron microscopy	electron microscopy
waveform library	waveform library
fragment length polymorphism	fragment length polymorphism
tribe Proconiini	tribe proconiini|&|proconiini tribe
Oncometopia facialis	oncometopia facialis
Xanthomonas citri subsp	xanthomonas citri subsp
other plant diseases	other plant diseases
outer membrane protein	outer membrane protein
blueberry plantings	blueberry plantings|&|blueberry plants
genetic diversity	genetic diversity

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
oleander leaf scorch	oleander leaf scorch
pecan bacterial leaf	pecan bacterial leaf
almond leaf scorch	almond leaf scorch|&|leaf scorch in almond|&|almond scorch leaf|&|leaf scorch of almond
host cells	host cells
parasitoid Gonatocerus ashmeadi	parasitoid gonatocerus ashmeadi
Apulia region	apulia region|&|region of apulia
plum genotypes	plum genotypes
Coffea arabica	coffea arabica
extracellular polysaccharide	extracellular polysaccharide|&|extracellular polysaccharides
pathogenic bacterium	pathogenic bacterium|&|pathogen bacterium|&|pathogenicity of this bacterium|&|pathogenicity of a bacterium|&|bacterium pathogen
olive orchards	olive orchards|&|olive orchard
important plant diseases	important plant diseases
quorum sensing	quorum sensing
acquisition access period	acquisition access period|&|acquisition access periods
microbial community	microbial community|&|microbial communities
Xanthomonas campestris	xanthomonas campestris
control agent	control agent|&|control agents
infection risk	infection risk|&|risk of infection
healthy plants	healthy plants
Olive Quick Decline	olive quick decline
plum leaf	plum leaf|&|plum with leaf|&|leaf plum

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
Vitis vinifera grapevines	vitis vinifera grapevines|&|grapevines vitis vinifera|&|vitis vinifera cv
Puerto Rico	puerto rico
Agrobacterium tumefaciens	agrobacterium tumefaciens
cyclic di-GMP	cyclic di-gmp
carbon source	carbon source|&|carbon sources
axonopodis pv	axonopodis pv
human pathogens	human pathogens
DNA microarray	dna microarray|&|dna microarrays
ground vegetation	ground vegetation
colony forming units	colony forming units
simple sequence	simple sequence
IncP-1 plasmid	incp-1 plasmid|&|incp-1 plasmids|&|plasmids incp-1
Citrus sinensis	citrus sinensis
plant water stress	plant water stress
disease of grapevine	disease of grapevine|&|disease of grapevines|&|disease in grapevines|&|diseased grapevines|&|disease in grapevine|&|disease on grapevines|&|grapevine disease|&|disease within the grapevine|&|disease of grape|&|disease in grapes|&|disease of grapes|&|disease on grape|&|disease in grape
type IV pili	type iv pili
control program	control program|&|control programs
olive cultivars	olive cultivars
meadow spittlebug Philaenus	meadow spittlebug|&|philaenus spumarius
oak leaf scorch	oak leaf scorch
Plant Virulence	plant virulence|&|virulence of plant|&|virulence within plant
red oak	red oak|&|red oaks
fastidiosa cells	fastidiosa cells|&|fastidiosa cell
insect samples	insect samples

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
symptom severity	symptom severity|&|severe symptoms
fastidiosa populations	fastidiosa populations|&|fastidiosa population|&|fastidiosa in populations
fastidiosa biofilm formation	fastidiosa biofilm formation|&|fastidiosa and biofilm formation
Ogliarola salentina	ogliarola salentina
healthy grapevines	healthy grapevines
climate change	climate change
chain reaction assay	chain reaction assay|&|chain reaction assays
fastidiosa causes	fastidiosa causes|&|fastidiosa causing|&|fastidiosa caused|&|fastidiosa that cause|&|fastidiosa cause
Nerium oleander	nerium oleander
plant cell	plant cell|&|plant cells
Erwinia amylovora	erwinia amylovora
other bacteria	other bacteria
type II	type ii
Xylella fastidiosa 9a5c	*Xylella fastidiosa* 9a5c
probing behaviors	probing behaviors|&|probing behavior
type IV	type iv
pathogen acquisition	pathogen acquisition
leaf water	leaf water
gene cluster	gene cluster|&|gene clusters
Homalodisca vitripennis	homalodisca vitripennis
population structure	population structure
penetration graph	penetration graph
Cellina di Nardo	cellina di nardo
disease dynamics	disease dynamics|&|dynamics of disease
Prunus persica	prunus persica
electrical origin	electrical origin|&|electrical origins

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
strain CoDiRO	strain codiro|&|codiro strain
PCR primers	PCR primers|&|pcr primer|&|pcr with primer|&|pcr with these primers
PCR amplification	PCR amplification|&|pcr with the amplification
Xylella fastidiosa causes	*Xylella fastidiosa* causes|&|*Xylella fastidiosa* causing|&|*Xylella fastidiosa* that causes
polymorphic DNA	polymorphic dna
different hosts	different hosts
olive plants	olive plants
cultivar Leccino	cultivar leccino|&|leccino cultivar
plant resistance	plant resistance|&|resistant plants|&|resistance of plants|&|resistance in plants|&|resistance of the plants
transmission mechanisms	transmission mechanisms|&|mechanism of transmission|&|transmission mechanism|&|mechanisms of transmission
xylem sap-feeding insects	xylem sap-feeding insects
leafhopper vectors	leafhopper vectors
Draeculacephala minerva	draeculacephala minerva
endophytic colonization	endophytic colonization
potential insect vectors	potential insect vectors
siderophore production	siderophore production
water relations	water relations
cell-cell aggregation	cell-cell aggregation
mulberry leaf scorch	mulberry leaf scorch
virulence factor production	virulence factor production|&|production of virulence factors|&|production of some virulence factors
Genetic relationships	genetic relationships
TA systems	ta systems|&|ta system

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
Methylobacterium mesophilicum	methylobacterium mesophilicum
transmission efficiency	transmission efficiency|&|transmission efficiencies|&|efficient transmission
phony peach	phony peach
plant parts	plant parts|&|parts of the plant
glassy-winged sharpshooter	glassy-winged sharpshooter|&|glassy-winged sharpshooters
phytopathogenic bacterium	phytopathogenic bacterium
phytopathogenic bacteria	phytopathogenic bacteria
hot-water treatment	hot-water treatment
Prunus dulcis	prunus dulcis
Xylella fastidiosa Wells	*Xylella fastidiosa* wells
tree species	tree species|&|species tree
plant pathogenic bacteria	plant pathogenic bacteria|&|plant pathogenic bacterium|&|plant pathogen bacterium
Gonatocerus ashmeadi	gonatocerus ashmeadi
rpfF mutants	rpff mutants
transmission rates	transmission rates|&|transmission rate|&|rate of transmission
Costa Rica	costa rica
diffusible signal	diffusible signal|&|diffusible signaling
northern region	northern region|&|northern regions
Food Safety Authority	food safety authority
different species	different species
codon usage	codon usage
ecosystem services	ecosystem services

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
CVC strain	CVC strain|&|cvc strains
EPS production	eps production|&|production of eps
OLS strains	ols strains
leaf scorch disease	leaf scorch disease|&|leaf scorch diseases|&|scorch leaf disease
different host plants	different host plants|&|different plant hosts
pear leaf scorch	pear leaf scorch
broad host range	broad host range
pathogenic bacteria	pathogenic bacteria
xylem-limited bacterium that causes	xylem-limited bacterium that causes
Xylella fastidiosa in Europe	*Xylella fastidiosa* in europe
egg masses	egg masses|&|egg mass
growth rate	growth rate
subtractive hybridization	subtractive hybridization|&|subtractive hybridizations
citrus orchards	citrus orchards|&|citrus orchard
developmental stage	developmental stage|&|developmental stages
mutant strains	mutant strains|&|mutant strain
pathogen spread	pathogen spread|&|spread of the pathogen|&|spread of pathogen
egg maturation	egg maturation|&|mature eggs
Xf infection	xf infection|&|xf infections
symptomatic plants	symptomatic plants
genome sequence	genome sequence|&|genome sequences|&|genomic sequences|&|genomic sequence|&|sequenced genome|&|sequence a genome
Xanthomonas fuscans subsp	xanthomonas fuscans subsp
United States	united states
conventional PCR	conventional PCR
main vector	main vector

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
genomic DNA	genomic dna
control measures	control measures
xylem vessels	xylem vessels|&|xylem vessel|&|vessels of xylem
phylogenetic relationships	phylogenetic relationships
almond trees	almond trees|&|almond tree
adult emergence	adult emergence
genes encoding	genes encoding|&|gene encodes|&|gene encoding|&|encoding genes|&|genes encode|&|genes that encode|&|gene that encodes
mass spectrometry	mass spectrometry
natural transformation	natural transformation
strain EB92-1	strain eb92-1
fastidiosa genome	fastidiosa genome|&|fastidiosa genomes|&|fastidiosa genomic
bacterium *Xylella fastidiosa*	bacterium *Xylella fastidiosa*|&|*Xylella fastidiosa* bacterium
nucleotide sequence	nucleotide sequence|&|nucleotide sequences
risk assessment	risk assessment
scion wood	scion wood
III secretion system	iii secretion system
colony morphology	colony morphology
viable cells	viable cells
South American	south american
strain J1a12	strain j1a12|&|strains j1a12|&|j1a12 strain
diseases including Pierce	diseases including pierce
extracellular polymeric substances	extracellular polymeric substances
xylem vessel occlusions	xylem vessel occlusions|&|occlusion of xylem vessels|&|occlusion of the xylem vessels
field conditions	field conditions

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
Xylella fastidiosa genome	*Xylella fastidiosa* genome|&|*Xylella fastidiosa* genomic|&|genome of *Xylella fastidiosa*
citrus groves	citrus groves
host eggs	host eggs|&|host egg
strain 9a5c	strain 9a5c|&|9a5c strain|&|strains 9a5c
stylet penetration	stylet penetration
egg ages	egg ages|&|egg age|&|age of the egg
population size	population size|&|population sizes
cell wall	cell wall|&|cell walls
diffusible signal factor	diffusible signal factor|&|diffusible signaling factor
citrus canker	citrus canker
cecropin B	cecropin b
plant pests	plant pests|&|plant pest
Olea europaea	olea europaea
bacterial communities	bacterial communities|&|bacterial community
different regions	different regions
plant protection	plant protection
model plants	model plants|&|model plant|&|plant model
citrus industry	citrus industry|&|citrus industries
citrus species	citrus species|&|species in citrus
Xf Delta pilG-C	xf delta pilg-c
subspecies pauca	subspecies pauca|&|fastidiosa subsp pauca
coffee plants	coffee plants|&|coffee plant
specific detection	specific detection
decline syndrome	decline syndrome
cell growth	cell growth
Xylella fastidiosa subspecies	*Xylella fastidiosa* subspecies|&|subspecies *Xylella fastidiosa*|&|subspecies of *Xylella fastidiosa*|&|*Xylella fastidiosa* subsp|&|xylella spp

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
fastidiosa strain M23	fastidiosa strain m23
Methylobacterium spp	methylobacterium spp
Graphocephala atropunctata	graphocephala atropunctata
pathogen transmission	pathogen transmission|&|transmission of the pathogen|&|transmission of this pathogen
oryzae pv	oryzae pv
vector species	vector species
immunosorbent assay	immunosorbent assay
biological control	biological control
bacterial leaf scorch	bacterial leaf scorch
IV secretion system	iv secretion system
plant pathogen	plant pathogen|&|plant pathogens|&|plant pathogenic|&|pathogen plant|&|pathogens and plants|&|plants by pathogens
Xylella fastidiosa cells	*Xylella fastidiosa* cells
Xanthomonas axonopodis pv	xanthomonas axonopodis pv
management programs	management programs|&|management program
shuttle vector	shuttle vector
risk reduction options	risk reduction options
wide host range	wide host range|&|wide range of hosts
polymerase chain reaction	polymerase chain reaction
coffee leaf scorch	coffee leaf scorch|&|leaf scorch in coffee
plant growth	plant growth
phytopathogen *Xylella fastidiosa*	phytopathogen *Xylella fastidiosa*|&|phytopathogenic bacterium xylella
transgenic plants	transgenic plants

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
insect host	insect host|&|insect hosts|&|host insect
Xanthomonas spp	xanthomonas spp
leaf scorch symptoms	leaf scorch symptoms|&|leaf scorching symptoms
real-time PCR assay	real-time PCR assay|&|real-time PCR assays
Carya illinoinensis	carya illinoinensis
16S rDNA sequence	16s rdna sequences|&|16s rdna
Delta csp1	delta csp1
Xf detection	xf detection|&|detection of xf
virulence gene expression	virulence gene expression|&|expression of virulence genes|&|expression of these virulence genes
Bucephalogonia xanthophis	bucephalogonia xanthophis
French Polynesia	french polynesia
plant samples	plant samples
potential use	potential use
membrane proteins	membrane proteins|&|membrane protein
important vector	important vector|&|important vectors
specific primers	specific primers
type IV pilus	type iv pilus
citrus strain	citrus strain|&|citrus strains
vibrational signals	vibrational signals
Xylella fastidiosa citrus	*Xylella fastidiosa* citrus|&|*Xylella fastidiosa* on citrus
EPG waveforms	epg waveforms|&|epg waveform
draft genome	draft genome|&|draft genomes
fastidiosa strains	fastidiosa strains|&|fastidiosa strain
form biofilms	form biofilms|&|form biofilm|&|forms biofilm|&|forms biofilms|&|form a biofilm|&|forms a biofilm
enzyme-linked immunosorbent assay	enzyme-linked immunosorbent assay
PD resistance	pd resistance|&|pd resistant

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
multilocus sequence typing	multilocus sequence typing
sequence data	sequence data
unknown function	unknown function|&|unknown functions
genus Xanthomonas	genus xanthomonas|&|xanthomonas genus
Gonatocerus ashmeadi Girault	gonatocerus ashmeadi girault
CVC symptoms	CVC symptoms|&|symptoms of CVC
Central America	central america
Neophilaenus campestris	neophilaenus campestris
fastidiosa strain CoDiRO	fastidiosa strain codiro|&|fastidiosa codiro strain
fastidiosa infection	fastidiosa infection|&|fastidiosa infections|&|fastidiosa infected|&|fastidiosa infects|&|fastidiosa infecting
sweet oranges	sweet oranges|&|sweet orange
feeding behavior	feeding behavior|&|feeding behaviors
mu M	mu m
protein domains	protein domains|&|protein domain|&|domain protein
olive groves	olive groves|&|olive grove
vessel occlusion	vessel occlusion|&|vessel occlusions
fastidiosa transmission	fastidiosa transmission
fastidiosa strain 9a5c	fastidiosa strain 9a5c|&|fastidiosa 9a5c strain
genomic islands	genomic islands
causes bacterial leaf	causes bacterial leaf
multilocus sequence	multilocus sequence
type IV secretion	type iv secretion
detection and identification	detection and identification
campestris pv	campestris pv|&|pv campestris

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
tomato DC3000	tomato dc3000
PCR products	PCR products|&|pcr product
spread of Pierce	spread of pierce|&|spread pierce
inoculation access period	inoculation access period
PD strains	pd strains|&|pd strain
blue-green sharpshooter	blue-green sharpshooter|&|blue-green sharpshooters
fastidiosa subsp	fastidiosa subsp|&|subsp fastidiosa|&|fastidiosa subspecies|&|subspecies fastidiosa|&|fastidiosa at the subspecies
host plant database	host plant database|&|database of host plants|&|database on the host plants
comparative analysis	comparative analysis
insect vectors	insect vectors|&|insect vector|&|vector insects|&|vector insect
scanning electron microscopy	scanning electron microscopy
Draft Genome Sequence	draft genome sequence
subspecies multiplex	subspecies multiplex|&|multiplex subspecies|&|subspecies fastidiosa and multiplex
geographic distribution	geographic distribution|&|geographical distribution
electrical penetration graph	electrical penetration graph
request from the European Commission	request from the european commission
plant health	plant health
devastating disease	devastating disease|&|devastating diseases
pit membranes	pit membranes|&|pit membrane
bacterial strains	bacterial strains|&|bacterial strain
SSR markers	ssr markers

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
DNA fragment	dna fragment
many plant species	many plant species
leafhopper species	leafhopper species
endophytic bacterial community	endophytic bacterial community|&|endophytic bacterial communities|&|bacterial endophyte community|&|endophytic communities|&|endophytic community|&|endophyte communities
encoding proteins	encoding proteins|&|encodes a protein|&|encode proteins
xylem ingestion	xylem ingestion|&|ingestion of the xylem
leafhopper abundance	leafhopper abundance
swimming motility	swimming motility
plant genotype	plant genotype|&|plant genotypes
treated trees	treated trees
California and Texas	california and texas|&|texas and california
xylem fluid	xylem fluid|&|xylem fluids
microfluidic flow chambers	microfluidic flow chambers|&|microfluidic flow chamber|&|microfluidic chambers
important agricultural crops	important agricultural crops
wild-type strain	wild-type strain|&|wild-type strains|&|strain and wild-type|&|wild type
Candidatus Liberibacter asiaticus	candidatus liberibacter asiaticus
natural infectivity	natural infectivity|&|natural infections
Pseudomonas syringae	pseudomonas syringae
sharpshooter leafhoppers	sharpshooter leafhoppers|&|sharpshooter leafhopper
twitching motility	twitching motility|&|motility twitching
plant pathogen Xylella	plant pathogen xylella|&|plant pathogens xylella|&|plant-pathogenic bacterium xylella
olive trees	olive trees|&|olive tree

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
PIERCES DISEASE	pierces disease|&|pierce disease|&|pierce s disease
insect pests	insect pests|&|insect pest
plant species	plant species|&|species within this plant
European Union	european union
lytic peptide	lytic peptide|&|lytic peptides
Pantoea agglomerans	pantoea agglomerans
biofilm formation	biofilm formation|&|formation of biofilms|&|formation of a biofilm|&|formation of biofilm
citrus variegated chlorosis	citrus variegated chlorosis|&|cvc disease
sex ratio	sex ratio
sharpshooter Tapajosa rubromarginata	sharpshooter tapajosa rubromarginata
virulence factors	virulence factors|&|virulence factor
vector control	vector control
GC content	gc content
secretion system	secretion system|&|secretion systems
salivary sheath	salivary sheath|&|salivary sheaths
other strains	other strains
San Joaquin Valley	san joaquin valley
Catharanthus roseus	catharanthus roseus
bacterial plant pathogen	bacterial plant pathogen|&|bacterial plant pathogens|&|plant bacterial pathogens
genetic structure	genetic structure
fastidiosa vector	fastidiosa vector|&|fastidiosa vectors|&|fastidiosa and vectors|&|fastidiosa during vector|&|fastidiosa by the vectors
pathogen *Xylella fastidiosa*	pathogen *Xylella fastidiosa*|&|pathogenicity of *Xylella fastidiosa*|&|pathogens *Xylella fastidiosa*|&|*Xylella fastidiosa* pathogenicity|&|*Xylella fastidiosa* pathogen|&|pathogenicity in *Xylella fastidiosa*

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
sharpshooter population	sharpshooter population|&|sharpshooter populations
field surveys	field surveys|&|field survey
Citrus reticulata	citrus reticulata
biofilm development	biofilm development|&|development of a biofilm
egg parasitoid Gonatocerus	egg parasitoid gonatocerus
stomatal conductance	stomatal conductance
cultivars Ogliarola salentina	cultivars ogliarola salentina|&|ogliarola salentina cultivars
ALS strains	als strains
type III	type iii
seasonal abundance	seasonal abundance
insect species	insect species
Dilobopterus costalimai Young	dilobopterus costalimai young
cell wall-degrading enzymes	cell wall-degrading enzymes
primer pairs	primer pairs|&|primer pair
vitripennis populations	vitripennis populations|&|vitripennis population|&|vitripennis within each population
Ralstonia solanacearum	ralstonia solanacearum
virulence genes	virulence genes|&|virulence gene
sequence analysis	sequence analysis
egg production	egg production
symptomatic trees	symptomatic trees
stylet activities	stylet activities
growth of *Xylella fastidiosa*	growth of *Xylella fastidiosa*
strain De Donno	strain de donno|&|de donno strain

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
housekeeping genes	housekeeping genes
almond orchards	almond orchards
Xylella fastidiosa biofilm	*Xylella fastidiosa* biofilm|&|*Xylella fastidiosa* biofilms
temperature threshold	temperature threshold|&|temperature thresholds
leaf scorch	leaf scorch|&|leaf scorching|&|scorch leaf
Nutritional requirements	nutritional requirements
bacterium causing Pierce	causal agent of pierce|&|causal agent of the pierce|&|causative agent of pierce|&|causative agent in pierce|&|causes pierce|&|cause pierce|&|causing pierce|&|cause of pierce
transcriptional regulator	transcriptional regulator|&|transcriptional regulators|&|transcriptional regulation
gel electrophoresis	gel electrophoresis
culture medium	culture medium
Southwestern United States	southwestern united states
southern United States	southern united states
resistance genes	resistance genes|&|resistance gene
oleander strains	oleander strains|&|oleander strain
sweet orange seedlings	sweet orange seedlings
sharpshooter Homalodisca coagulata	sharpshooter homalodisca coagulata
Rangpur lime	rangpur lime
planktonic growth	planktonic growth
tree canopies	tree canopies|&|tree canopy
fastidiosa polygalacturonase	fastidiosa polygalacturonase

Forme principale du groupe nominal	**Groupes nominaux associés**
Xylella fastidiosa infection	*Xylella fastidiosa* infection|&|*Xylella fastidiosa* infects|&|*Xylella fastidiosa* infections|&|infection by *Xylella fastidiosa*|&|*Xylella fastidiosa* infecting|&|infection of the *Xylella fastidiosa*|&|infection of *Xylella fastidiosa*|&|infection with *Xylella fastidiosa*
phony peach disease	phony peach disease
sigma factor	sigma factor|&|sigma factors|&|factor sigma
Escherichia coli	escherichia coli
fastidiosa in grapevine	fastidiosa in grapevine|&|fastidiosa in grapevines|&|fastidiosa on grapevine|&|fastidiosa within grapevine|&|fastidiosa from grapevine|&|fastidiosa on grapevines
complete genome sequence	complete genome sequence|&|complete genome sequences
sharpshooter species	sharpshooter species|&|sharpshooters species|&|species of sharpshooters
males and females	males and females|&|females and males
16S rRNA gene	16s rrna genes|&|16s rrna
Xylella fastidiosa populations	*Xylella fastidiosa* populations|&|*Xylella fastidiosa* population|&|population of *Xylella fastidiosa*
causal agent	causal agent
Quick Decline Syndrome	quick decline syndrome|&|syndrome of quick decline
initial adhesion	initial adhesion
Salento peninsula	salento peninsula|&|peninsula of salento|&|salento area|&|salento areas
egg parasitoid	egg parasitoid|&|egg parasitoids
fastidiosa outbreaks	fastidiosa outbreaks|&|fastidiosa outbreak
coagulata egg masses	coagulata egg masses
southern California	southern california
pathogenicity factors	pathogenicity factors|&|pathogenicity factor
disease progression	disease progression|&|disease progress
transmission electron microscopy	transmission electron microscopy

Forme principale du groupe nominal	Groupes nominaux associés
fatty acids	fatty acids|&|fatty acid
whole genome sequences	whole genome sequences|&|whole genome sequence
bacterial populations	bacterial populations|&|bacterial population
susceptible grapevines	susceptible grapevines
woody plants	woody plants|&|woody plant

3.2 Liste des 42 termes regroupés ou supprimés :

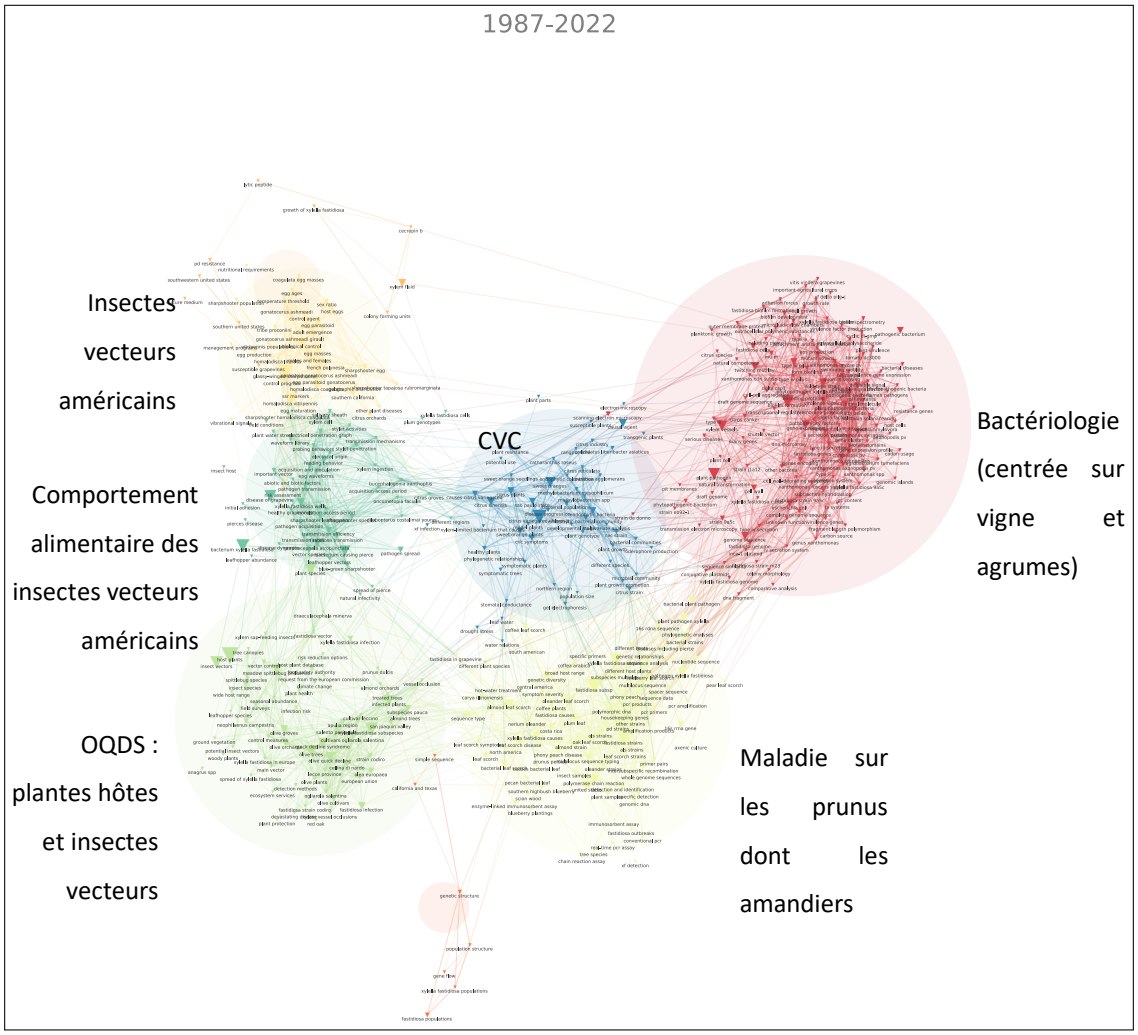
Forme principale du groupe nominal	Groupes nominaux associés
16S rDNA	16S rDNA
16S rRNA	16S rRNA
causal agent of Pierce	causal agent of Pierce|&|causal agent of the Pierce|&|causative agent of Pierce|&|causative agent in Pierce|&|causes Pierce|&|cause Pierce|&|causing Pierce|&|cause of Pierce
causative agent of Pierce	causative agent of Pierce|&|causative agent in Pierce
causes Pierce	causes Pierce|&|cause Pierce|&|causing Pierce|&|cause of Pierce
CVC disease	CVC disease
disease of grape	disease of grape|&|disease in grapes|&|disease of grapes|&|disease on grape|&|disease in grape
Elsevier Masson SAS	Elsevier Masson SAS
endophytic bacterial	endophytic bacterial|&|bacterial endophytes
endophytic communities	endophytic communities|&|endophytic community|&|endophyte communities
European Microbiological Societies	European Microbiological Societies
fastidiosa causes Pierce	fastidiosa causes Pierce

fastidiosa subsp pauca	fastidiosa subsp pauca
fastidiosa subspecies	fastidiosa subspecies|&|subspecies fastidiosa|&|fastidiosa Subspecies|&|Subspecies fastidiosa|&|fastidiosa at the subspecies
fastidiosa subspecies multiplex	fastidiosa subspecies multiplex|&|subspecies fastidiosa and multiplex|&|fastidiosa and multiplex subspecies
fastidiosa subspecies pauca	fastidiosa subspecies pauca|&|subspecies pauca and fastidiosa|&|fastidiosa subsp pauca
high levels	high levels|&|high level
Homalodisca vitripennis Germar	Homalodisca vitripennis Germar
host plant species	host plant species|&|plant host species
John Wiley	John Wiley
last decade	last decade|&|last decades
meadow spittlebug	meadow spittlebug
microfluidic chambers	microfluidic chambers|&|Microfluidic Chambers
new perspectives	new perspectives|&|new perspective
objective of this study	objective of this study|&|objectives of this study
objective of this work	objective of this work
open reading frames	open reading frames|&|open reading frame
Philaenus spumarius	Philaenus spumarius
phytopathogenic bacterium Xylella	phytopathogenic bacterium Xylella
plant pathogenic bacterium	plant pathogenic bacterium|&|plant pathogen bacterium
plant-pathogenic bacterium Xylella	plant-pathogenic bacterium Xylella
Pseudomonas syringae pv	Pseudomonas syringae pv
Salento area	Salento area|&|Salento areas
Sao Paulo	Sao Paulo
Sons Ltd on behalf	Sons Ltd on behalf

spittlebug Philaenus spumarius	spittlebug Philaenus spumarius|&|spittlebugs Philaenus spumarius
sweet orange trees	sweet orange trees
Vitis vinifera cv	Vitis vinifera cv
wild type	wild type
Xanthomonas campestris pv	Xanthomonas campestris pv
Xylella fastidiosa subsp	*Xylella fastidiosa* subsp|&|*Xylella fastidiosa* Subsp
Xylella spp	Xylella spp

4 Carte des réseaux multi-termes

4.1 Carte des réseaux des 458 mots les plus utilisés dans les résumés et titres des publications du corpus de texte



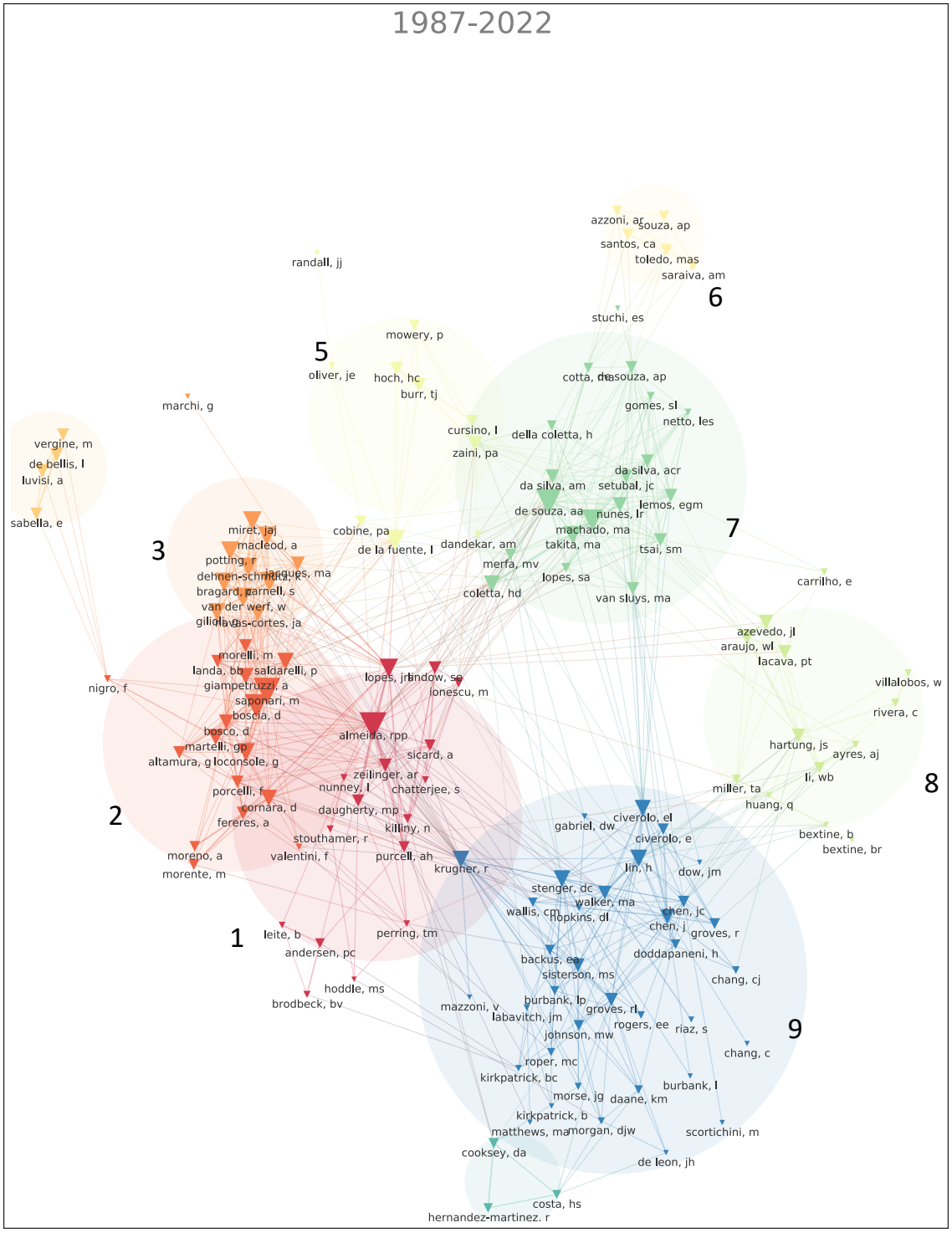
Pour construire cette image, l'outil Network Mapping de CorTexT est utilisé avec la liste de mots nettoyée (utilisée deux fois dans les champs 1 et 2) et 458 nœuds, la métrique est Distributionnal et l'algorithme de clusterisation est celui de Louvain (Louvain resolution).

La taille des clusters (diamètre) est proportionnelle aux nombre d'articles qui contiennent les termes spécifiques des clusters.

La carte permet de distinguer 6 clusters principaux, avec des thèmes de recherche distincts qui sont les suivants :

- Les insectes vecteurs américains (Glassy wind sharpshooter dont *Homalodisca vitripennis*)
- Un thème plus spécifique sur le comportement alimentaire des insectes vecteurs américains (test EPG, test d'acquisition de la bactérie)
- La bactérie avec des études de bactériologie pour comprendre les mécanismes cellulaire et notamment la formation des biofilms avec une recherche centrée sur la vigne et les agrumes.
- Un thème spécifique lié à la problématique de la CVC qui touche essentiellement les pays sud-américains.
- Un thèse sur les maladies que provoque *Xylella fastidiosa* sur les végétaux du genre *Prunus* dont les amandiers.
- Un thème sur l'OQDS (syndrome de dépérissement des oliviers) qui combine à la fois des recherches sur les plantes hôtes (dont l'olivier) et sur les insectes vecteurs européens de la bactérie puisque l'OQDS touche majoritairement l'Italie.

5 Carte du réseau des co-auteurs

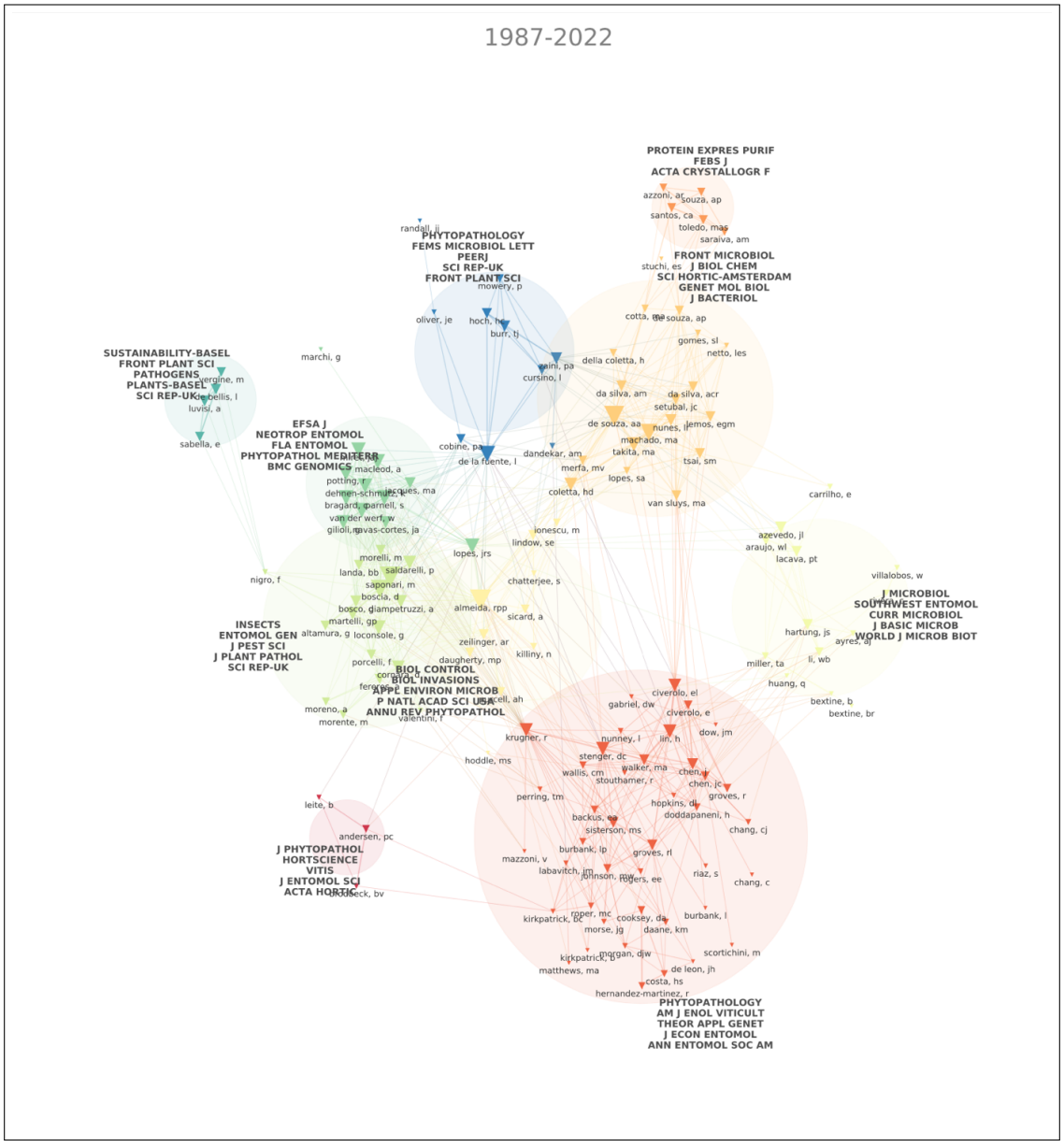


Pour construire cette carte, l'outil Network Mapping de CorTexT est utilisé avec la liste des autrices et auteurs, une mesure raw et la clusterisation de Louvain (Louvain resolution).

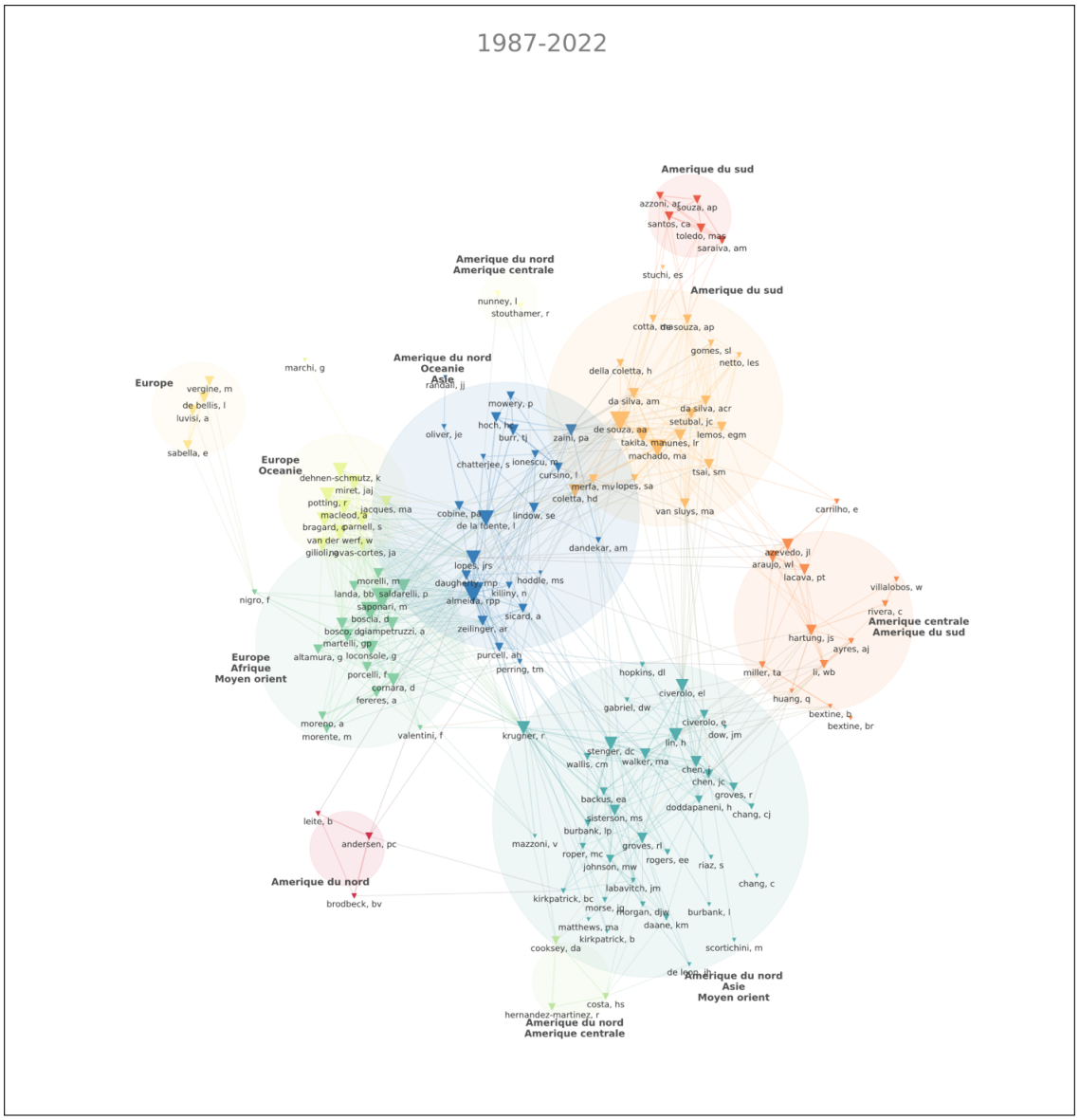
5.1 Cartes pour la construction du tableau de caractérisation des clusters de co-auteurs

Ces cartes ont été construites avec l'outil network mapping de CorTexT, en utilisant la liste des 135 premiers auteurs (soit des auteurs ayant participé à au moins 10 publications ce qui représente 25% des publications) avec une mesure de proximité simple (raw) et en ajoutant un troisième paramètre (utilisation du Chi2) (précisé pour chacune des cartes construites)

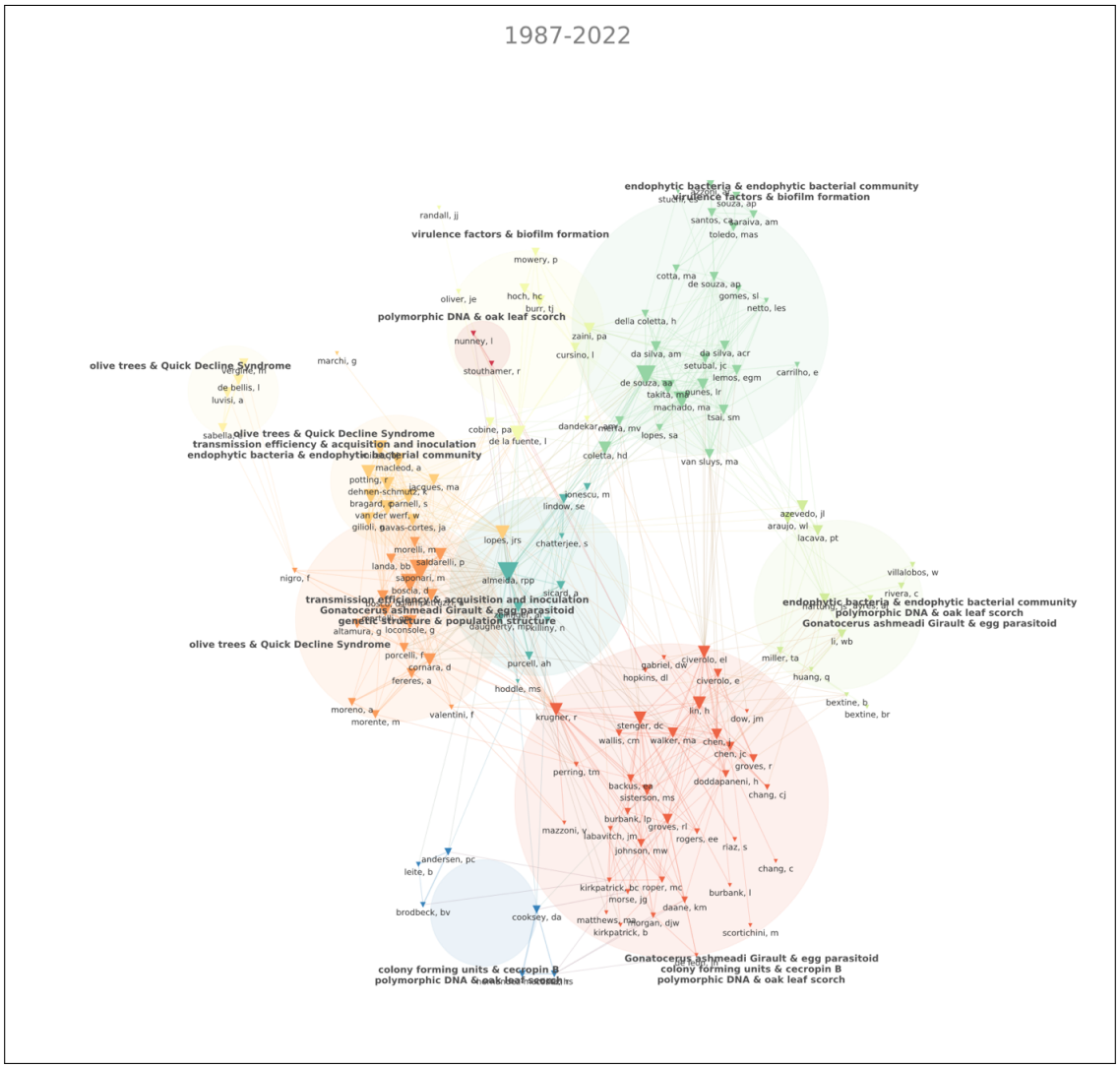
5.1.1 Carte de réseaux des co-auteurs avec les principaux journaux en troisième variable



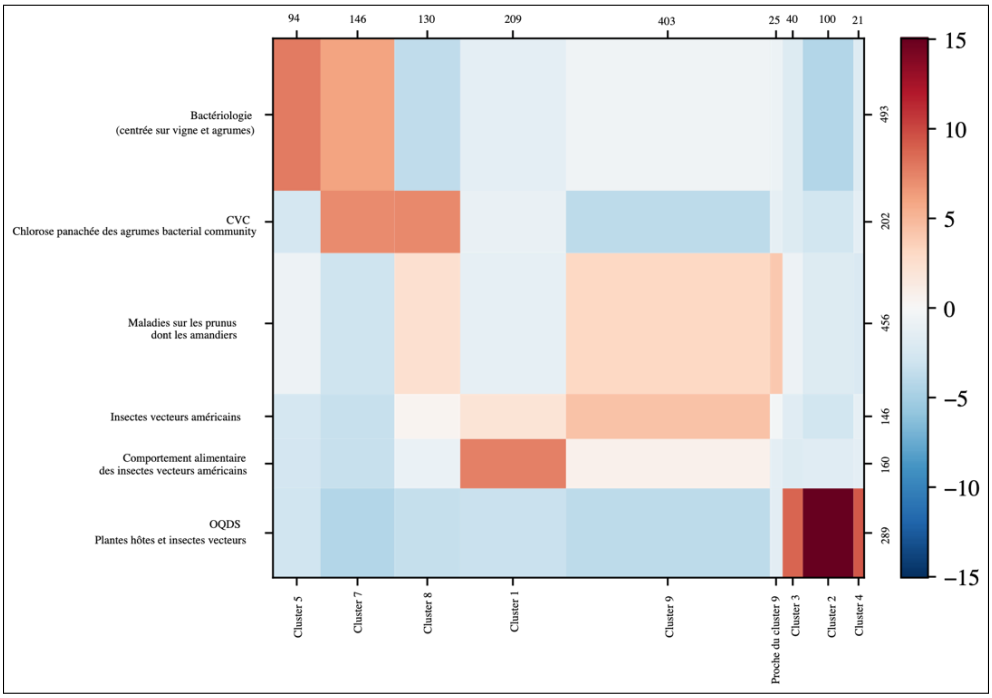
5.1.2 Carte de réseaux des co-auteurs avec les continents en troisième variable



5.1.3 Carte de réseaux des co-auteurs avec les clusters de termes en troisième variable



6 Matrice de contingence des clusters de termes et les clusters de co-auteurs



Matrice de contingence avec les 6 principaux clusters de termes mis en évidence (annexe A.4 page A28) et les 9 clusters de co-auteurs mis en évidence (annexe A.5 page A30). Cette matrice de contingence a été construite avec l'outil matrice contingency de CorTexT, paramètre du Chi2 et clusterisation de Louvain (Louvain resolution).

Cette figure présente plus spécifiquement les contingences entre les clusters de termes et les clusters de co-auteurs. On retrouve sur cette matrice une forte contingence entre les co-auteurs majoritairement affiliés à des laboratoires européens (clusters 2 à 4) et un intérêt particulier porté à l'OQDS, maladie sur oliviers qui a détruit la majorité des oliveraies des Pouilles ces dernières années. La forte contingence entre les recherches menées sur la CVC et plus largement la bactériologie par des chercheurs affiliés à des laboratoires d'Amérique du Sud (clusters 7 et 8) est aussi visible sur cette matrice ainsi que celle des recherches menées sur les insectes vecteurs américains et leur comportement alimentaire par les chercheurs majoritairement affiliés à des laboratoires nord-américains (cluster 1).

Annexe B

Documents complémentaires concernant les analyses de biologie moléculaire pour la détection de *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs

1 Mise en œuvre de la méthode de l'insecte sentinelle en Corse : la hausse des températures augmente le risque d'épidémies de *Xylella fastidiosa*

biology

MDPI

Article

Vectors as Sentinels: Rising Temperatures Increase the Risk of *Xylella fastidiosa* Outbreaks

Pauline Farigoule [1,2], Marguerite Chartois [1,3], Xavier Mesmin [1,3], Maxime Lambert [1], Jean-Pierre Rossi [1,†], Jean-Yves Rasplus [1,†] and Astrid Cruaud [1,*,†]

1 CBGP, INRAE, CIRAD, IRD, Institute Agro, University of Montpellier, 34988 Montferrier-sur-Lez, France
2 AgroParisTech, 91120 Palaiseau, France
3 AGAP Institute, INRAE, CIRAD, Institute Agro, University of Montpellier, 20230 San Giuliano, France
* Correspondence: astrid.cruaud@inrae.fr
† These authors are joint senior authors on this work.

Simple Summary: Although global change is expected to modify the threat posed by plant pathogens, not much is known about how a changing climate will affect the epidemiology of generalist vector-borne diseases. In the present study, we developed a high-throughput screening method to test for the presence of a deadly plant pathogen, *Xylella fastidiosa*, in its insect vectors. Based on a four-year survey in climatically distinct areas of the island of Corsica (France), we found a significant positive correlation between the frequency of insect vectors positive for *X. fastidiosa* and temperature. We observed that a higher prevalence in insects corresponded with milder winters. We used future climate projections up to the year 2100, and found that the risk for *X. fastidiosa* outbreak will increase in the future. While the proportion of vectors that carry the pathogen should increase, the climate conditions will remain suitable for the bacterium and its main vector, with possible shifts towards higher elevations. Besides calling for research efforts to limit the incidence of plant diseases in temperate zones, this works reveals that recent molecular technologies could and should be used for massive screening of pathogens in vectors in order to scale-up surveillance and management efforts.

Abstract: Global change is expected to modify the threat posed by pathogens to plants. However, little is known regarding how a changing climate will influence the epidemiology of generalist vector-borne diseases. We developed a high-throughput screening method to test for the presence of a deadly plant pathogen, *Xylella fastidiosa*, in its insect vectors. Then, using data from a four-year survey in climatically distinct areas of Corsica (France), we demonstrated a positive correlation between the proportion of vectors positive to *X. fastidiosa* and temperature. Notably, a higher prevalence corresponded with milder winters. Our projections up to 2100 indicate an increased risk of outbreaks. While the proportion of vectors that carry the pathogen should increase, the climate conditions will remain suitable for the bacterium and its main vector, with possible range shifts towards a higher elevation. Besides calling for research efforts to limit the incidence of plant diseases in the temperate zone, this work reveals that recent molecular technologies could and should be used for massive screening of pathogens in vectors to scale-up surveillance and management efforts.

Keywords: plant health; *Xylella fastidiosa*; *Philaenus spumarius*; climate change; spy insect strategy

check for updates

Citation: Farigoule, P.; Chartois, M.; Mesmin, X.; Lambert, M.; Rossi, J.-P.; Rasplus, J.-Y.; Cruaud, A. Vectors as Sentinels: Rising Temperatures Increase the Risk of *Xylella fastidiosa* Outbreaks. *Biology* **2022**, *11*, 1299. https://doi.org/10.3390/biology11091299

Academic Editor: Christian Staehelin

Received: 13 July 2022
Accepted: 27 August 2022
Published: 31 August 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Increased globalization of food production and climate change are facilitating the movement and local establishment of pests and pathogens [1]. The spread of plant pathogens is jeopardizing food security [2] and biodiversity [3]. Identifying how plants, pathogens, and their vectors will respond to a changing climate is challenging [4], even more so for unmanaged ecosystems [4–6]. However, improvements in molecular detection and climate modelling allow us to model realistic scenarios more accurately. Bacterial

vector-borne plant diseases represent a major cost to producers worldwide [7], because they decrease the overall yield and require expensive control measures. Bacteria are mainly transmitted to plants by Hemipteran insects (e.g., psyllids, leafhoppers, and spittlebugs) that feed on the mesophyll, phloem, or xylem sap [8]. Climate change is expected to affect the distribution of vectors and, hence, the geographical range over which diseases are transmitted. Ambient temperature is also an important factor for determining the efficiency with which vectors transmit pathogens, how well plants can defend themselves, and possibly the multiplication rate of pathogens within hosts [9]. Despite generalist bacteria posing a severe and costly threat to both managed and unmanaged systems, it is largely unknown how they will respond to climate change.

With about 600 host species in over 85 families of wild and cultivated plants, the vector-borne bacterium *Xylella fastidiosa* Wells et al. (*Xf*) (Xanthomonadaceae) is a worldwide threat to agriculture, horticulture, forestry, and unmanaged habitats [10]. Biofilm-like colonies are formed; pectin gels and tyloses are produced by the plant, which reduce the hydraulic conductivity within the xylem and can lead to plant death [11]. *Xf* is transmitted to plants by xylem-feeding hemipterans (mainly sharpshooters and spittlebugs) [12,13]. There is no vertical transmission to offspring and infectivity is lost during molting, although adults that acquire *Xf* remain infective for life [13]. Sharpshooters can inoculate *Xf* with no latent period [14] and most vectors are polyphagous [12,13], which increases chances of transmission within and between semi-natural and cultivated habitats. At its center of origin in the New World, the bacterium has caused more than 100 million USD worth of losses each year to the Brazilian citrus industry and to the US grape industry [15,16]. Since the dramatic 2013 outbreak in the olive groves of Southern Italy [17], the presence of *Xf* has been confirmed in different Mediterranean regions of Europe (https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/distribution, accessed on 13 July 2022). The economic impact on the European olive industry over 50 years could reach 5.2 billion EUR (5.6 billions USD) depending on cultivar resistance and effective control of the disease [18]. It is reasonable to expect that climate change will play a role in the worldwide epidemiology of *Xf* [19–23], but too few experimental studies have been conducted so far with which to generate robust predictions [19,20].

We conducted a four-year survey (2016–2019) across a range of climates in Corsica (France; Figures 1 and 2), where *Xf* was detected for the first time in the summer of 2015. We explored relationships between climate variables (temperature and precipitation) and the prevalence of *Xf* in vectors (defined as the proportion of insects that carry *Xf* in sampled populations). We also generated hypotheses under a range of global change scenarios for the future climate suitability of Corsica for *Xf* and its main vector and for the prevalence of *Xf* in vectors. Our results are discussed with consideration regarding what we do, and do not know, about the pathosystem (*Xf*, its vectors, and their host feeding plants).

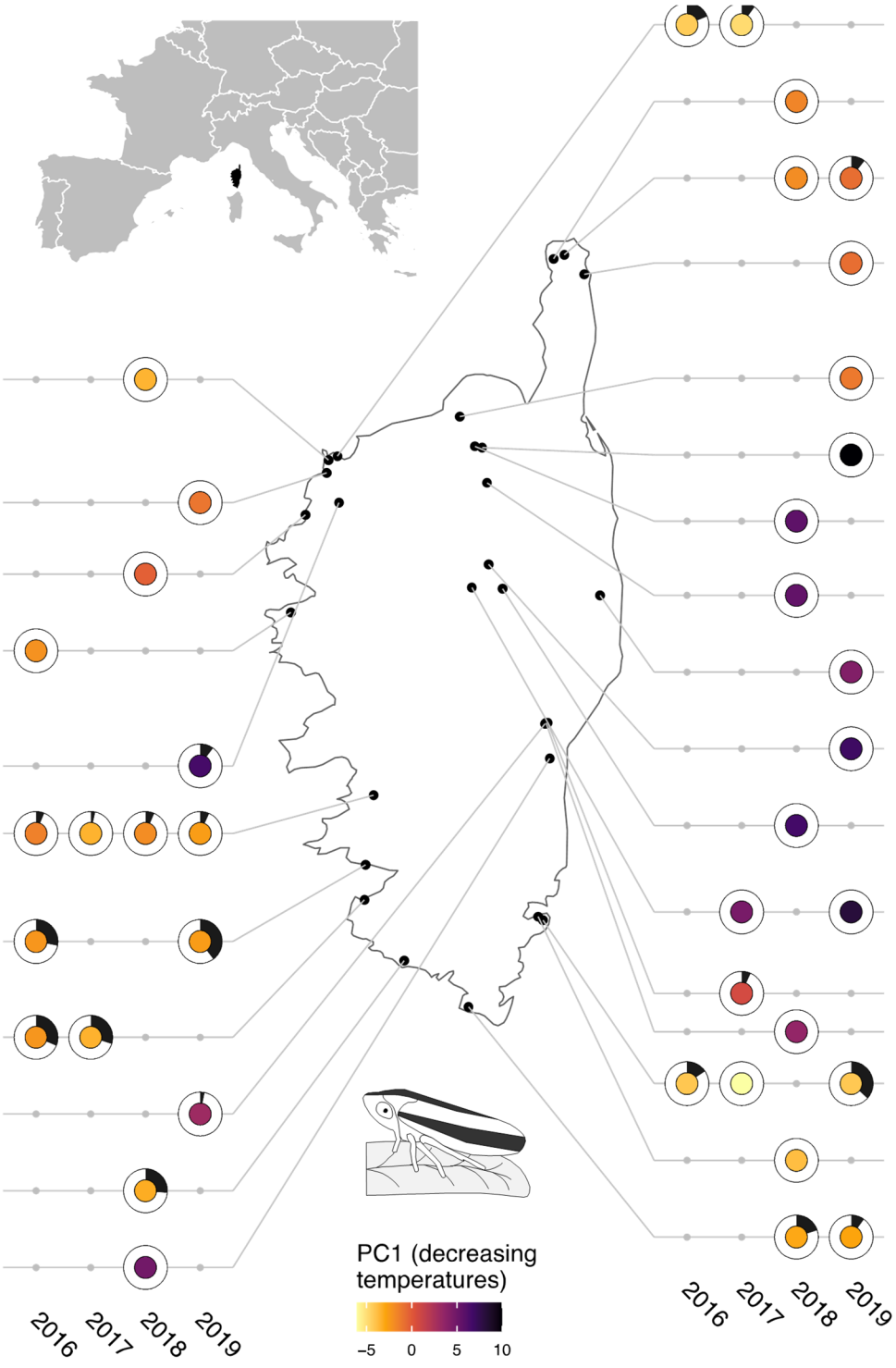


Figure 1. Prevalence of *X. fastidiosa* in populations of insect vectors. The black portion of each donut represents the proportion of specimens from which *Xf* was sequenced. The color of the pies shows the score of the sampling sites on PC1 of the PCA performed on climate variables (the warmest colors correspond to the highest temperatures).

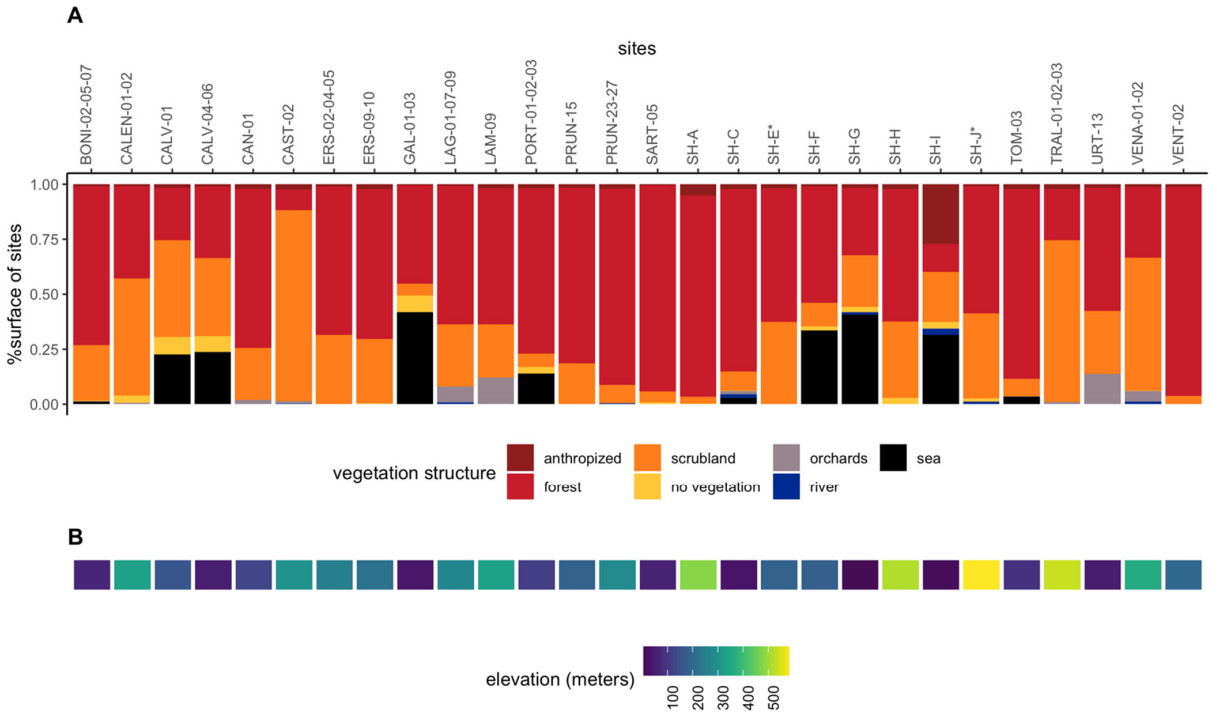


Figure 2. Vegetation structure and elevation of the sampling sites. (**A**) Proportion of each vegetation structure in all sites sampled (**B**) Elevation of the sample sites (in the same order as in (**A**)). The vegetation structure is given within a radius of 1 km around the sampling sites. See also the additional map.

2. Materials and Methods

Sampling sites and collection of specimens—The sampling sites (Figure 1, Table S1, supplementary map) were selected with the primary aim of maximizing the range of climatic conditions (climate data retrieved from SAFRAN models (see next section)). Sampling sites were located in various types of vegetation (Figure 2A; vegetation data retrieved from the OCS GE database (© IGN—2022, https://geoservices.ign.fr/ocsge, accessed on 12 July 2022)) and at varying altitudes (Figure 2B). The sampling sites were not selected based on official detections of *Xf* in plants. Indeed, false positive or negative results may exist and surveillance does not cover all areas because it is almost exclusively directed towards symptomatic plants. We considered repeated measures for some sites to obtain an idea of the steadiness of *Xf* prevalence through time. However, as much as possible and because our aim was not to analyze time series, we selected insect populations originating from different sites to minimize data inter-dependence in the data set. Indeed, as advocated by Colegrave and Ruxton [24], even if data inter-dependence was now correctly accounted for by random effects in the generalized linear mixed model (GLMM) [25], it remains more powerful to collect independent data. A minimum of 30 adults were collected by sweep netting the vegetation at each sampling site (Table S1a). Insects were killed on site with ethyl acetate, and were quickly transferred to 8 mL vials filled with 70% EtOH and stored in 96% EtOH about 10 days later. The vials were stored at 4 °C until DNA extraction. The adults were collected in late October so that they had time to feed on infected plants and *Xf* could multiply in their foregut [26].

Prevalence data—Quantitative and conventional PCR are currently established as the gold standard when testing for the presence of *Xf* in plants, but drawbacks regarding sensitivity and versatility have been highlighted for vectors [27]. Therefore, we developed a high-throughput method to amplify and sequence *leuA*, one of the housekeeping genes of *Xf* [28], in insects. *Philaenus spumarius* (L.) (Aphrophoridae), the most significant vector of *Xf* in Europe [12], was used as a sentinel to track *Xf* in the environment. DNA was

extracted from single specimens following Cruaud et al. [27]. A two-step PCR approach targeting *leuA* was set up following Cruaud et al. [29]. Details on the protocol are provided in the Supplementary Material, in Tables S4 and S5. A unique combination of 9-nt indexes was assigned to each specimen to track index hopping, and four PCR replicates were performed per insect to reduce false negatives (the same combination of indexes for all replicates). Sequencing was performed on a MiSeq system (2 × 250 bp). Analysis of the raw data was adapted from Cruaud et al. [29]. Adapter trimming and the selection of high quality paired reads was performed with Trimmomatic [30]; paired reads were merged with FLASH [31]; clustering of sequences was performed with SWARM [32]. Consensuses were aligned to the set of reference sequences available in pubMLST (http://pubmlst.org/xfastidiosa, accessed on 12 July 2022) and alignment was visually inspected in Geneious R11.1.4 (https://www.geneious.com, accessed on 12 July 2022) to discard non-target amplifications. The complete analytical workflow with examples is available from https://github.com/acruaud/prevalenceXfinsectclimate_2022 (accessed on 12 July 2022) and details are provided in Supplementary Material. The two step PCR approach was used for specimens collected in 2017–2019. Prevalence data for 2016 were retrieved from a previous study (nested PCR, Sanger sequencing [27]). We note that prevalence data for 2016 were not statistically different from those of the following years (Figure S5).

Climate variables—Twenty-five temperature- and five precipitation-related variables were computed to describe the climate profile of the sampling sites. Variables were chosen considering the phenology of *P. spumarius* in Corsica; literature on the multiplication of *Xf* in plants and *P. spumarius* and, in the absence of knowledge on the epidemiological dynamics of *Xf multiplex* in Europe, annual fluctuations of Pierce's disease incidence in California. Five time slices were defined (as for growing and dormant seasons for plant/insects: March–November, December–February, and regarding *P. spumarius* phenology: March–June, July–August, and September–October). For each time slice, we computed the daily mean temperature. For each time slice but for the dormant season, we computed the maximum temperature of the time slice and the average daily maximum temperature over the time slice. For the dormant season, we computed the minimum temperature of the time slice and the average daily minimum temperature over the time slice. Finally, for the growing season, we computed the number of days with a daily maximal temperature strictly greater than 16 °C, 18 °C, 20 °C, 22 °C, 24 °C, and 30 °C, while the number of days with a daily minimum temperature strictly lower than 0 °C, 2 °C, 4 °C, and 6 °C was computed for the dormant season. For each time slice but for the dormant season, we computed the sum of the daily precipitation. Finally, we computed the sum of the daily precipitation for the growing season of the year Y-1 (see Supplementary Material and Table S1a for details). Raw data to compute climate variables were retrieved from Météo France (SAFRAN model), which interpolates temperature/precipitation measures made several times a day by a network of over 1000 meteorological stations spread over the French territory. SAFRAN provides the daily temperature (2 m above ground) and precipitation data simulated at a resolution of 8 km on an extended Lambert-II projection that were used to compute the studied climate variables. To estimate future and past climate conditions under different global circulation models (GCMs) and shared socioeconomic pathways (SSPs) (Supplementary Material and Table S1b,c), we relied on bioclimatic variables from the CHELSA v2.1 database (https://chelsa-climate.org, accessed on 12 July 2022).

Statistical analyses—GLMMs were built to analyze the effect of climate variables on prevalence (binomial distribution). Independent climate variables were built with two methods. First, a principal component analysis (PCA) was performed on the 30 climate variables and the scores of the sampling sites on PC1 and PC2 were used as the input for a first GLMM (GLMM1). Second, a partial least square regression analysis (PLSR) was conducted to rank climate variables in decreasing importance (using the Variable Importance on Projection, VIP [33]) regarding the correlation with *Xf* prevalence. Climate variables were selected step by step, in decreasing VIP order, with two conditions: VIP > 1 and Spearman correlation coefficient with variables selected in the previous steps lower

than 0.7 [34]. The climate data table for sampling sites reduced to the selected variables was used as the input for a second GLMM (GLMM2). To account for repeated measures, we added the random effect of the sample site identifier. The year was included as an experimental design fixed effect owing to the number of factor levels being below 5. GLMM validity (correct distribution, dispersion, frequency of outliers, and homoscedasticity) was ascertained and we tested the significance of the fixed variables in models with type II analyses of deviance (two-sided type II Wald chi-square tests) (see Supplementary methods for all details).

Species distribution modelling—Species distribution models (SDMs) were built from worldwide occurrences of *Xf* ssp. *multiplex* and *P. spumarius* using 12 bioclimatic variables (Table S3; CHELSA database) and the Maxent algorithm [35] with 10,000 background points to define the available environmental conditions. The SDMs were used to predict the species future potential distribution using the same combinations of GCMs and SSPs as those used to model the future climate profiles of the sampling sites (see Supplementary methods for all details).

3. Results

Of the 1200 insects tested for *Xf* (39 populations of *P. spumarius* across Corsica; Supplementary Table S1a), 8% were recovered as positive for *Xf* ssp. *multiplex*. Prevalence in insect populations ranged from 0 to 40% (Figure 1, Table S1a). The first (PC1) and second (PC2) axes of the PCA performed on the 30 climate variables respectively supported 56.7% and 12.9% of the climate variability. PC1 opposed plots with high temperatures to plots with low temperatures. PC2 opposed plots with high maximal temperatures and high precipitations during the previous year to plots with high precipitations. In both GLMMs, variables that were significantly correlated with *Xf* prevalence were strongly linked to temperature descriptors (Table S2 and Figure 3). GLMM1 (built from scores of the sampling sites on PC1 and PC2 of the PCA; Figure S1 and Table S1a) and GLMM2 (built from uncorrelated most explanatory variables according to PLSR) provided similar results, showing that *Xf* prevalence in vectors was positively correlated to temperature. In GLMM1, prevalence decreased with the sampling site score on PC1, meaning that prevalence was higher in sites with higher temperatures (Figure 3A). GLMM2 identified the number of days from December to February, with a minimal temperature <6 °C (d6C_dec_fev) as the most explanatory variable. A higher prevalence was predicted under milder winter (Figure 3B).

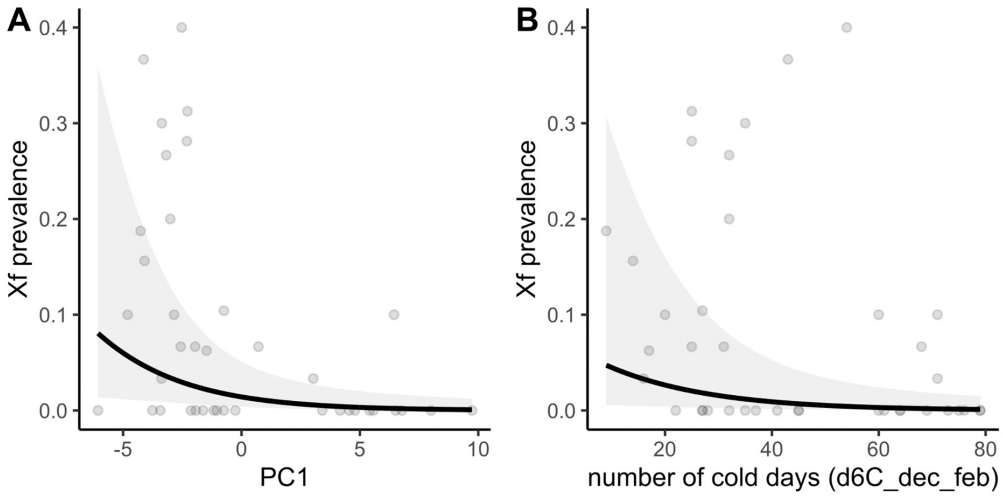


Figure 3. Correlation between *X. fastidiosa* prevalence in vectors and climate. (**A**) GLMM1: Prevalence and sampling site scores on PC1 of the PCA performed on climate variables. (**B**) GLMM2: Prevalence and number of days in December to February (d6C_dec_feb) with minimal daily temperature <6 °C. Points are raw data, lines are regression curves from GLMMs, and grey ribbons are 95% confidence envelopes.

To explore the past and future climate profiles of the sampling sites, we computed the mean temperature of the coldest quarter (bio11), which is the bioclimatic variable that is the closest to d6C_dec_fev (Figure S2; Spearman's rank correlation coefficient between bio11 and d6C_dec_feb for current climate = −0.87)) and for which the past and future values are publicly available. For all combinations of GCMs and SSPs, a general increase in winter temperatures (Figure 4 and Table S1b) was predicted. This, together with GLMM predictions, suggests that milder winters in the future will favour an increase in the prevalence of *Xf* in vectors.

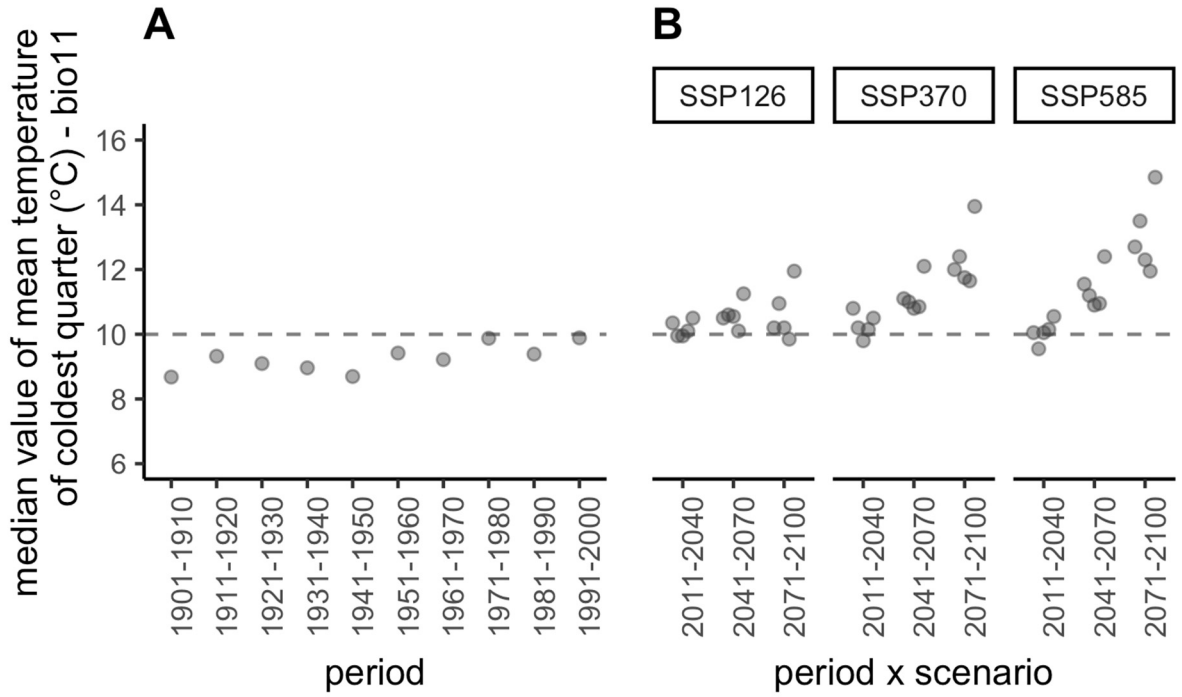


Figure 4. Past and future projections of temperature for the coldest quarter. (**A**) Median value of bio11 (mean temperature of coldest quarter) over all sampling sites projected in the past. (**B**) Median value of bio11 over all sampling sites projected in the future under three shared socio-economic pathways (SSPs, three facets) and five global circulation models (GCMs, five points per facet jittered along abscissa) that reflect uncertainties regarding the response of humans to climate change and the evolution of physical processes in the atmosphere, oceans, cryosphere, and land surface, respectively (see Table S1c for details). The dashed line shows the current median value (for the period 2000–2018).

Only uncorrelated bioclimatic variables (variance inflation factor < 10) were retained for SDMs (bio5, bio8, bio9, bio10, bio11, bio13, bio17, and bio19 for *Xf*; bio5, bio6, bio8, bio9, bio13, bio14, and bio18 for *P. spumarius*). The MIAmaxent stepwise model fitting procedure led to a significant model ($p = 6.83 \times 10^{-5}$) based on four explanatory climate variables for *P. spumarius*, namely: bio5 (variable contribution = 53.7%), bio6 (36.6%), bio8 (4.9%), and bio13 (4.9%). The model was also significant for *Xf* ($p = 1.11 \times 10^{-3}$) and five variables were retained, namely: bio11 (60.0%), bio5 (24.1%), bio19 (13.0%), bio9 (1.5%), and bio8 (1.5%). Both models exhibited good evaluation metrics. The area under the curve (AUC) values and continuous Boyce indexes (CBI) were 0.822 and 0.992, respectively, for *P. spumarius* and 0.993 and 0.976, respectively, for *Xf*. Figure 5 shows the climate suitability of Corsica in the form of a consensus model based on the median of the predicted climate suitability using the model of each species and the five GCMs. Consensus models were computed for the periods covering 2011–2040 and 2041–2070 for both SSP370 and SSP585 using the medium to high end of plausible future pathways of greenhouse gas emissions (radiative forcing reaching respectively 7.0 W/m^2 or 8.5 W/m^2 in 2100; Table S1c). Other results (time periods and SSPs) are available in supplementary Figures S3 and S4. All predictions

suggest that both *Xf* and its main vector will keep encountering suitable climate conditions in Corsica in the future. In the most extreme scenarios, climate change may lead to lower suitability on the coastal areas of Corsica for both partners, but suitable conditions could be found in areas that were previously unsuitable or less suitable, especially in higher elevation areas. The surface corresponding to suitable conditions for both species, i.e., for which there is an overlap between the vector and the pathogen decreases for the most extreme situations (Table S6, 2071–2100, SSP370 and SSP585), but remains high in all of the scenarios explored.

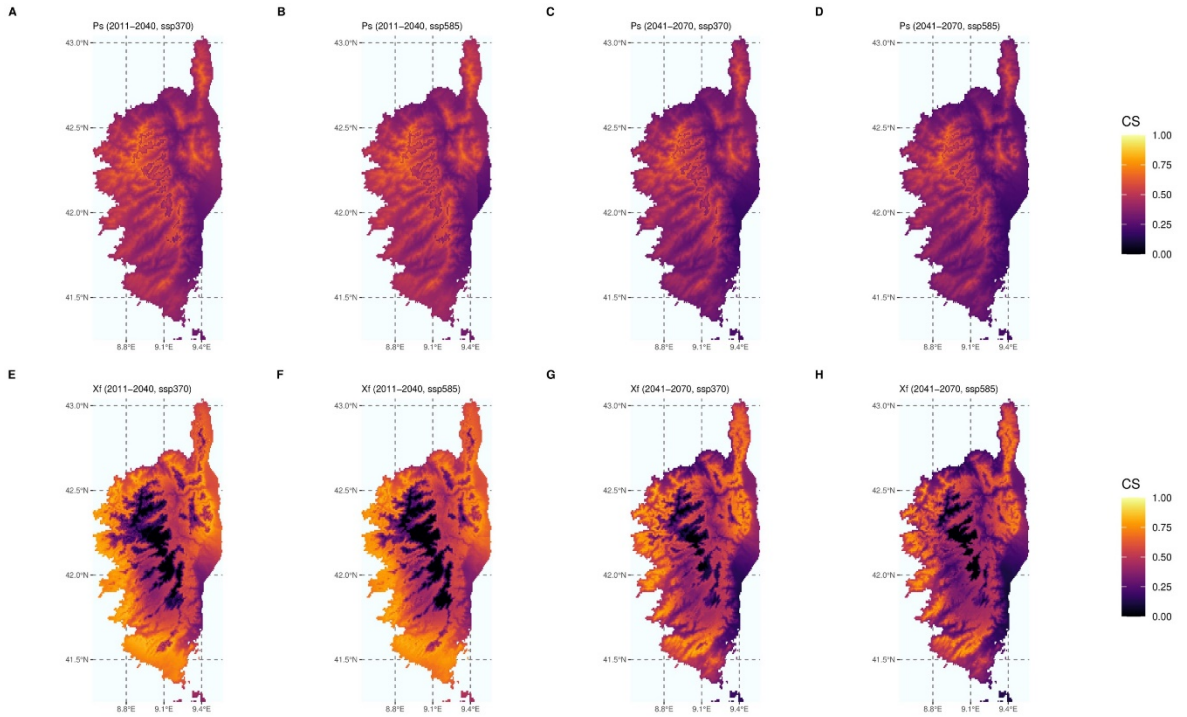


Figure 5. Species distribution modelling. Consensus models showing climate suitability (CS) for *P. spumarius* (Ps, (**A**–**D**)) and *Xf* ssp. *multiplex* (Xf, (**E**–**H**)) according to two time periods (2011–2040 and 2041–2070) and two shared socio-economic pathways (SSP370 and SSP585). Climate suitability is estimated using the Maxent algorithm and climate reference data corresponding to the period of 1981–2010.

4. Discussion

This study has two major outcomes. First, it highlights the power of insect vectors to track *Xf* in ecosystems. Currently, the surveillance of *Xf* is almost exclusively directed towards symptomatic plants. However, infected vectors have now been recorded twice in areas supposedly free of *Xf* based on plant survey (e.g., northwestern and northeastern Corsica; this study and [27]). These findings clearly indicate the need for alternative early warning and long-term monitoring systems. Indeed, the surveillance of *Xf* in plants is actually more challenging than in insects. First, *Xf* is heterogeneously distributed within the plant tissue [36], which can lead to false negatives. This source of false negatives does not exist with insects for which the whole body is analyzed. In addition, the diversity of PCR inhibitors associated with numerous *Xf* host plant matrices adds technical challenges to the effective detection of the bacterium [37]. Finally, because many species are asymptomatic to low bacterial loads in natural conditions [23], targeting only symptomatic plants is not effective. A nuanced understanding of the factors leading to pathogenicity in this endophytic bacterium requires an explicit inclusion of insect vectors. Insects need to be surveyed at large scale using cutting-edge molecular tools.

The second major outcome is that the prevalence in vectors is highly likely to increase with ambient temperature. It has been established that *Xf* spread is directly linked to the abundance of infectious vectors [22], while plant mortality relates to the number of inoculation events [38]. A corollary of these factors is that areas experiencing milder winters and warmer springs and falls are at greater risk of new outbreaks. A mechanistic understanding requires a summary of what is known concerning the effect of temperature on *Xf* and its main vector.

Regarding the bacterium, the optimal temperature range may vary among strains of *Xf*, but temperatures below 10 °C and above 32 °C affect the survival of the bacterium according to in vitro and potted plant experiments [39]. Within this range, increasing temperatures favor higher multiplication rates [39], with plants achieving an infectious status faster [20]. Overwinter recovery of plants is observed in natural conditions and experiments show that exposure to freezing temperatures can lead to temporary or complete remission of symptoms [40]. Plants (vines) inoculated later in the growing season have better chances of recovery than those inoculated earlier [41]. However, the mechanisms leading to recovery are still not fully understood. Regarding the development of *P. spumarius*, data on the influence of temperature are inconsistent [42]. The minimum temperature for egg hatching and nymphal development ranges from 2.8 °C to 10 °C, and development is still observed at 27 °C, while the nymphal period becomes shorter with increasing temperatures [42]. Summer droughts can negatively impact *P. spumarius* populations and shifts from dry to less water-stressed plants or migration toward cooler climates have been documented [43,44]. In Corsica, field observations suggest that low numbers of adults survive until mid-February [45], while the first nymphs hatch in early February. Adults are virtually impossible to find in the summer, including in the riparian vegetation [45]. As such, the effects of temperature on the probing behavior or feeding rate of *P. spumarius* are unknown. The same applies for *Xf* multiplication within the insect foregut or transmission efficiency. In the US, a positive temperature-dependent transmission efficiency has been highlighted for some vectors [21] and a higher temperature also favors flight activity, feeding, and overwinter survival [22].

Our current understanding of vector and pathogen ecology allows us to propose the following. Milder winters likely increase the overwinter survival of *Xf* in plants, and the bacterial load is consequently higher in spring. The multiplication of *Xf* is favored by warmer weather during the growing season. A high cell density (which promotes biofilm formation [46]) is achieved earlier and, consequently, acquisition by insects happens sooner. A higher temperature in the growing season may also increase vector activity. Vectors may fly more frequently, disperse further, and take longer meals, which could favor the acquisition [47] and transmission of *Xf*. The probability of encounters between vectors and *Xf* is thus steadily increasing. A better understanding of the whole process would require lab and, above all, given the expected discrepancies, field experiments. These field experiments should primarily be designed to follow bacterial load in insects and plants throughout the year, but will also help to document unknown aspects of the ecology of *P. spumarius*. Of particular interest would be studies on overwinter survival of *P. spumarius*, because survival may steadily increase with milder winters. The population size may also increase and lead to a higher transmission efficiency. All of these factors could affect the epidemiology of *Xf* [48]. Obviously, an increased understanding of the environmental factors on other components of this complex pathosystem is also crucial [49,50].

We show that the prevalence might continue to increase, but how do these factors align across the pathosystem? Are vector populations, prevalence in vectors, and plant symptoms all favored by the same climatic conditions? As shown by our SDMs, the effect of climate on vector populations will probably be context-dependent: conditions becoming hotter and drier will favor *P. spumarius* at the cool-moist end of our climatic gradient (i.e., on the most elevated sites), while they will have an adverse effect on *P. spumarius* at the hot-dry end of our gradient (e.g., on sites already experiencing heat waves of up to 37.8 °C in summer, Table S1a). This is in line with the preference of *P. spumarius* for moist environments in

Mediterranean climates [42,51] and the preference of vectors for fully irrigated plants [47]. The link between climate and *Xf* prevalence was clear for temperature, but inconclusive for precipitation, as none of the precipitation-related variables were retained in our models. The link between temperature and *Xf* symptoms is understudied, but Pierce's disease severity is expected to be strongest in the warmest places of the Mediterranean basin, especially in those experiencing mild winters [52]. Finally, a negative feedback loop is likely to operate between vector populations and symptoms, because vectors strongly prefer to feed on healthy or asymptomatic plants in controlled conditions [20]. As a result, it is unlikely that rising temperatures will contribute to an exponential increase in the number of outbreaks. However, we can anticipate (i) increasing *Xf* prevalence and symptoms in the warmest places of Corsica, together with a decrease in *P. spumarius* abundance, and (ii) a progression of the *Xf* pathosystem towards more elevated sites, with the build-up of large vector populations. It is worth noting that adaptation to climate change for both partners (e.g., possibly longer aestivation for the vectors) is unknown and may influence our projections [53]. A final argument against runaway resides in the biology of *Xf* itself, which, for most plants, is a commensal exhibiting self-limiting behavior through quorum sensing [46].

Mitigating the effect of global warming requires knowledge on how the climate may affect different aspects of plant pathosystems [20]. Here, we provide a first assessment of how increasing temperatures may affect the prevalence of *Xf* in vectors. In addition, increased market globalization is also of concern as it may favor the introduction to Europe of other efficient vectors (e.g., *Homalodisca vitripennis* and *Graphocephala atropunctata*) or bacterial strains with which hybridizing is possible with unpredictable outcomes [54].

As illustrated here for *X. fastidiosa*, recent works have suggested that climate change will result in increasing the burden of plant pathogens at a high latitude in the Northern Hemisphere, particularly in Europe, China, and the central to eastern US [2,5]. Impact may vary depending on the ability of natural ecosystems and production systems to adapt [2,5,6]. Preventive and, when possible, curative plant protection have been underlined as key components to maintain and preserve current and future food security [5]. However, managed and unmanaged ecosystem should not be considered as separate compartments [6] with surveillance mainly targeting symptomatic cultivated plants. Indeed, especially for generalist vector-borne plant diseases, genetically diverse wild plants should be seen as potential reservoirs of pathogens for crops [6]. Conversely, infected cultivated plants that are introduced at the vicinity of natural ecosystems could become a source of biodiversity loss. In a rapidly changing world, early warning and long-term monitoring systems are crucial. This study is an example of how and why new sequencing technologies targeting pathogens in vectors are essential for scaling up surveillance efforts and protecting plant health. A blind and massive screening of vectors could also reveal undocumented vector–pathogen associations that may influence disease dynamics.

5. Conclusions

This study highlights how the surveillance of *Xylella fastidiosa* could be improved by using insects in addition to symptomatic plants. Indeed, we show that infected vectors are found in localities where symptomatic plants have never been recorded. This survey is an example of how and why new sequencing technologies targeting pathogens in vectors are essential for scaling up surveillance efforts and long-term monitoring.

Our results clearly indicate that *Xf* prevalence in its insect vectors is very likely to increase with ambient temperature. Areas experiencing milder winters and warmer springs and falls are expected to be at greater risk of outbreaks. Projections of the future potential distribution of both *P. spumarius* and *X. fastidiosa* indicate that although the climate may alter their current distribution, both species will find suitable climate conditions in more elevated areas of Corsica.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at https://www.mdpi.com/article/10.3390/biology11091299/s1: Supplementary Methods; Table S1: Raw data collected and analyzed in this study; Table S2: Results of the GLMMs; Table S3: Climate descriptors used in species distribution modeling; Table S4: Primers, mix and cycling parameters used in the first PCR; Table S5: Primers, mix and cycling parameters used in the second PCR; Table S6: Spatial overlap between *P. spumarius* (Ps) and *X. fastidiosa* (Xf) in Corsica; Figure S1: Principal component analysis of the 30 climate variables used to describe the climate of the sampling sites during the 4 years of the survey; Figure S2: Spearman correlation matrix of climate variables calculated from SAFRAN data; Figure S3: Climate suitability for *P. spumarius* (Ps) and *X. fastidiosa* (Xf) according to reference climate condition (1981-2010) and for the periods 2011–2040, 2041–2070 and 2071–2100 for the shared socio-economic pathway SSP126; Figure S4: Consensus models showing the of climate suitability for *P. spumarius* (Ps) and *X. fastidiosa* (Xf) for 2071-2100 for the shared socio-economic pathways SSP370 and SSP585; Figure S5: Scatterplots of raw data and GLMM predictions for pairwise associations between prevalence of *Xylella fastidiosa* in populations of vector and sampling year; Supplementary Map: Distribution of sampling sites and landscape vegetation structure within 1000 m radius buffers zones around sites. [19,20,27–35,39,41,45,55–100].

Author Contributions: Conceived and designed the study: J.-P.R., J.-Y.R. and A.C.; collected the data: P.F., M.C., X.M., M.L., J.-P.R., J.-Y.R. and A.C.; performed the analysis: P.F., M.C., X.M., J.-P.R., J.-Y.R. and A.C.; wrote the paper: P.F., M.C., X.M., J.-P.R., J.-Y.R. and A.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: P.F. was funded by a French Ministry of Agriculture doctoral fellowship. A.C., J.-Y.R. and J.-P.R. were funded by the plant health and environment department of the INRAE. This study was supported by the Collectivité Territoriale de Corse and the European Union Horizon 2020 research and innovation program under grant agreement no. 727987 XF-ACTORS.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Raw sequence reads generated as part of this study are available from the NCBI Sequence Read Archive under BioProject accession PRJNA873902. The code for the analysis of the sequence data is available from github: https://github.com/acruaud/prevalenceXfinsectclimate_2022 (accessed on 12 July 2022).

Acknowledgments: We acknowledge the general support for the molecular work from the CBGP-BM staff, thank Sabine Nidelet and Guénaëlle Genson for assistance in the laboratory methods and Audrey Weber for sequencing of the library. We are grateful to François Casabianca (INRAE) and Laetitia Hugot (CNBC) for their help in the setup of a research project in Corsica and to Simon Segar (Harper Adams University) for his helpful comments on a first version of this manuscript. We thank the two anonymous reviewers for their feedbacks on this manuscript. Analyses utilized the computing resources of the Genotoul bioinformatics platform Toulouse Midi-Pyrenees.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Bebber, D.P.; Ramotowski, M.A.T.; Gurr, S.J. Crop pests and pathogens move polewards in a warming world. *Nat. Clim. Chang.* **2013**, *3*, 985–988. [CrossRef]
2. Chaloner, T.M.; Gurr, S.J.; Bebber, D.P. Plant pathogen infection risk tracks global crop yields under climate change. *Nat. Clim. Chang.* **2021**, *11*, 710–715. [CrossRef]
3. Bellard, C.; Cassey, P.; Blackburn, T.M. Alien species as a driver of recent extinctions. *Biol. Lett.* **2016**, *12*, 20150623. [CrossRef]
4. Juroszek, P.; Racca, P.; Link, S.; Farhumand, J.; Kleinhenz, B. Overview on the review articles published during the past 30 years relating to the potential climate change effects on plant pathogens and crop disease risks. *Plant Pathol.* **2019**, *69*, 179–193. [CrossRef]
5. IPPC Secretariat. *Scientific Review of the Impact of Climate Change on Plant Pests—A Global Challenge to Prevent and Mitigate Plant Pest Risks in Agriculture, Forestry and Ecosystems*; IPPC Secretariat: Rome, Italy, 2021.
6. Jeger, M.J. The impact of climate change on disease in wild plant populations and communities. *Plant Pathol.* **2021**, *71*, 111–130. [CrossRef]
7. Huang, W.; Reyes-Caldas, P.; Mann, M.; Seifbarghi, S.; Kahn, A.; Almeida, R.P.; Béven, L.; Heck, M.; Hogenhout, S.A.; Coaker, G. Bacterial Vector-Borne Plant Diseases: Unanswered Questions and Future Directions. *Mol. Plant* **2020**, *13*, 1379–1393. [CrossRef]

8. Perilla-Henao, L.M.; Casteel, C.L. Vector-Borne Bacterial Plant Pathogens: Interactions with Hemipteran Insects and Plants. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 1163. [CrossRef]
9. Cavicchioli, R.; Ripple, W.J.; Timmis, K.N.; Azam, F.; Bakken, L.R.; Baylis, M.; Behrenfeld, M.J.; Boetius, A.; Boyd, P.W.; Classen, A.T.; et al. Scientists' warning to humanity: Microorganisms and climate change. *Nat. Rev. Microbiol.* **2019**, *17*, 569–586. [CrossRef]
10. European Food Safety Authority (EFSA); Delbianco, A.; Gibin, D.; Pasinato, L.; Morelli, M. Update of the *Xylella* spp. host plant database—Systematic literature search up to 30 June 2021. *EFSA J.* **2022**, *20*, 7039.
11. Chatterjee, S.; Almeida, R.P.P.; Lindow, S. Living in two Worlds: The Plant and Insect Lifestyles of *Xylella fastidiosa*. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2008**, *46*, 243–271. [CrossRef]
12. Cornara, D.; Morente, M.; Markheiser, A.; Bodino, N.; Tsai, C.-W.; Fereres, A.; Redak, R.A.; Perring, T.M.; Lopes, J.R.S. An overview on the worldwide vectors of Xylella fastidiosa. *Èntomol. Gen.* **2019**, *39*, 157–181. [CrossRef]
13. Krugner, R.; Sisterson, M.S.; Backus, E.A.; Burbank, L.P.; Redak, R.A. Sharpshooters: A review of what moves Xylella fastidiosa. *Austral Èntomol.* **2019**, *58*, 248–267. [CrossRef]
14. Purcell, A.H.; Finlay, A. Evidence of noncirculative transmission of Pierce's Disease bacterium by sharpshooter leafhoppers. *Phytopathology* **1979**, *69*, 393–395. [CrossRef]
15. Bové, J.M.; Ayres, A.J. Etiology of three recent diseases of citrus in São Paulo State: Sudden death, variegated chlorosis and huanglongbing. *IUBMB Life* **2007**, *59*, 346–354. [CrossRef]
16. Tumber, K.P.; Alston, J.M.; Fuller, K.B. Pierce's disease costs California $104 million per year. *Calif. Agric.* **2014**, *68*, 20–29. [CrossRef]
17. Saponari, M.; Giampetruzzi, A.; Loconsole, G.; Boscia, D.; Saldarelli, P. *Xylella fastidiosa* in Olive in Apulia: Where We Stand. *Phytopathology* **2019**, *109*, 175–186. [CrossRef]
18. Schneider, K.; van der Werf, W.; Cendoya, M.; Mourits, M.; Navas-Cortés, J.A.; Vicent, A.; Lansink, A.O. Impact of *Xylella fastidiosa* subspecies *pauca* in European olives. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2020**, *117*, 9250–9259. [CrossRef]
19. Daugherty, M.P.; Cooper, M.; Smith, R.; Varela, L.; Almeida, R. *Has Climate Contributed to a Pierce's Disease Resurgence in North Coast Vineyards?* PWV: San Rafael, CA, USA, 2019.
20. Daugherty, M.P.; Zeilinger, A.R.; Almeida, R.P.P. Conflicting Effects of Climate and Vector Behavior on the Spread of a Plant Pathogen. *Phytobiomes J.* **2017**, *1*, 46–53. [CrossRef]
21. Daugherty, M.; Bosco, D.; Almeida, R. Temperature mediates vector transmission efficiency: Inoculum supply and plant infection dynamics. *Ann. Appl. Biol.* **2009**, *155*, 361–369. [CrossRef]
22. Gruber, B.R.; Daugherty, M.P. Predicting the effects of seasonality on the risk of pathogen spread in vineyards: Vector pressure, natural infectivity, and host recovery. *Plant Pathol.* **2013**, *62*, 194–204. [CrossRef]
23. Sicard, A.; Zeilinger, A.R.; Vanhove, M.; Schartel, T.E.; Beal, D.J.; Daugherty, M.P.; Almeida, R.P. *Xylella fastidiosa*: Insights into an Emerging Plant Pathogen. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2018**, *56*, 181–202. [CrossRef]
24. Colegrave, N.; Ruxton, G.D. Using Biological Insight and Pragmatism When Thinking about Pseudoreplication. *Trends Ecol. Evol.* **2018**, *33*, 28–35. [CrossRef]
25. Faraway, J.J. *Extending the Linear Model with R: Generalized Linear, Mixed Effects and Non-Parametric Regression Models*, 2nd ed.; Chapman & Hall: London, UK; CRC Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA, 2016.
26. Bodino, N.; Cavalieri, V.; Pegoraro, M.; Altamura, G.; Canuto, F.; Zicca, S.; Fumarola, G.; Almeida, R.P.P.; Saponari, M.; Dongiovanni, C.; et al. Temporal dynamics of the transmission of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* by *Philaenus spumarius* to olive plants. *Èntomol. Gen.* **2021**, *41*, 463–480. [CrossRef]
27. Cruaud, A.; Gonzalez, A.-A.; Godefroid, M.; Nidelet, S.; Streito, J.-C.; Thuillier, J.-M.; Rossi, J.-P.; Santoni, S.; Rasplus, J.-Y. Using insects to detect, monitor and predict the distribution of Xylella fastidiosa: A case study in Corsica. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 15628. [CrossRef]
28. Yuan, X.; Morano, L.; Bromley, R.; Spring-Pearson, S.; Stouthamer, R.; Nunney, L. Multilocus Sequence Typing ofXylella fastidiosaCausing Pierce's Disease and Oleander Leaf Scorch in the United States. *Phytopathology* **2010**, *100*, 601–611. [CrossRef]
29. Cruaud, P.; Rasplus, J.-Y.; Rodriguez, L.J.; Cruaud, A. High-throughput sequencing of multiple amplicons for barcoding and integrative taxonomy. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 41948. [CrossRef]
30. Bolger, A.M.; Lohse, M.; Usadel, B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* **2014**, *30*, 2114–2120. [CrossRef]
31. Magoč, T.; Salzberg, S.L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics* **2011**, *27*, 2957–2963. [CrossRef]
32. Mahé, F.; Rognes, T.; Quince, C.; de Vargas, C.; Dunthorn, M. Swarm v2: Highly-scalable and high-resolution amplicon clustering. *PeerJ* **2015**, *3*, e1420. [CrossRef]
33. Mehmood, T.; Liland, K.H.; Snipen, L.; Sæbø, S. *A Review of Variable Selection Methods in Partial Least Squares Regression*; Chemometr. Intell. Lab.: Amsterdam, The Netherlands, 2012; Volume 118, pp. 62–69. [CrossRef]
34. Dormann, C.F.; Elith, J.; Bacher, S.; Buchmann, C.; Carl, G.; Carré, G.; Marquéz, J.R.G.; Gruber, B.; Lafourcade, B.; Leitão, P.J.; et al. Collinearity: A review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography* **2013**, *36*, 27–46. [CrossRef]
35. Phillips, S.J.; Anderson, R.P.; Schapire, R.E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecol. Model.* **2006**, *190*, 231–259. [CrossRef]

36. Holland, R.M.; Christiano, R.S.C.; Gamliel-Atinsky, E.; Scherm, H. Distribution of *Xylella fastidiosa* in Blueberry Stem and Root Sections in Relation to Disease Severity in the Field. *Plant Dis.* **2014**, *98*, 443–447. [CrossRef] [PubMed]
37. Dupas, E.; Legendre, B.; Olivier, V.; Poliakoff, F.; Manceau, C.; Cunty, A. Comparison of real-time PCR and droplet digital PCR for the detection of *Xylella fastidiosa* in plants. *J. Microbiol. Methods* **2019**, *162*, 86–95. [CrossRef] [PubMed]
38. Costa, H.S.; Blua, M.S.; Bethke, J.A.; Redak, R.A. Transmission of *Xylella fastidiosa* to Oleander by the Glassywinged Sharp-shooter, Homalodisca coagulata. *HortScience* **2000**, *35*, 1265–1267. [CrossRef]
39. Feil, H.; Purcell, A.H. Temperature-Dependent Growth and Survival of *Xylella fastidiosa* in Vitro and in Potted Grapevines. *Plant Dis.* **2001**, *85*, 1230–1234. [CrossRef] [PubMed]
40. Purcell, A.H. Cold therapy of Pierce's disease of grapevines. *Plant Dis. Rep.* **1977**, *61*, 514–518.
41. Feil, H.; Feil, W.S.; Purcell, A.H. Effects of Date of Inoculation on the Within-Plant Movement of *Xylella fastidiosa* and Persistence of Pierce's Disease Within Field Grapevines. *Phytopathology* **2003**, *93*, 244–251. [CrossRef]
42. Cornara, D.; Bosco, D.; Fereres, A. Philaenus spumarius: When an old acquaintance becomes a new threat to European agri-culture. *J. Pest Sci.* **2018**, *91*, 957–972. [CrossRef]
43. Cornara, D.; Panzarino, O.; Santoiemma, G.; Bodino, N.; Loverre, P.; Mastronardi, M.G.; Mattia, C.; De Lillo, E.; Addante, R. Natural areas as reservoir of candidate vectors of Xylella fastidiosa. *B. Insectol.* **2021**, *74*, 173–180.
44. Bodino, N.; Cavalieri, V.; Dongiovanni, C.; Plazio, E.; Saladini, M.A.; Volani, S.; Simonetto, A.; Fumarola, G.; Di Carolo, M.; Porcelli, F.; et al. Phenology, seasonal abundance and stage-structure of spittlebug (Hemiptera: Aphrophoridae) populations in olive groves in Italy. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 17725. [CrossRef] [PubMed]
45. Albre, J.; Carrasco, J.M.G.; Gibernau, M. Ecology of the meadow spittlebug *Philaenus spumarius* in the Ajaccio region (Corsica)—I: Spring. *Bull. Èntomol. Res.* **2020**, *111*, 246–256. [CrossRef] [PubMed]
46. Roper, C.; Castro, C.; Ingel, B. Xylella fastidiosa: Bacterial parasitism with hallmarks of commensalism. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2019**, *50*, 140–147. [CrossRef]
47. Krugner, R.; Backus, E.A. Plant Water Stress Effects on Stylet Probing Behaviors of Homalodisca vitripennis (Hemiptera: Cicadellidae) Associated with Acquisition and Inoculation of the Bacterium Xylella fastidiosa. *J. Econ. Èntomol.* **2014**, *107*, 66–74. [CrossRef] [PubMed]
48. Daugherty, M.P.; Almeida, R.P.P. Understanding How an Invasive Vector Drives Pierce's Disease Epidemics: Seasonality and Vine-to-Vine Spread. *Phytopathology* **2019**, *109*, 277–285. [CrossRef] [PubMed]
49. Almeida, R.P.; Blua, M.J.; Lopes, J.R.; Purcell, A.H. Vector Transmission of Xylella fastidiosa: Applying Fundamental Knowledge to Generate Disease Management Strategies. *Ann. Èntomol. Soc. Am.* **2005**, *98*, 775–786. [CrossRef]
50. Mesmin, X.; Chartois, M.; Borgomano, S.; Rasplus, J.Y.; Rossi, J.P.; Cruaud, A. Interaction networks between spittlebugs and plants in and around olive and clementine groves of Corsica; implications for the management of Xylella fastidiosa. *Agr. Ecosyst. Environ.* **2022**, *334*, 107979. [CrossRef]
51. Godefroid, M.; Morente, M.; Schartel, T.; Cornara, D.; Purcell, A.; Gallego, D.; Moreno, A.; Pereira, J.A.; Fereres, A. Climate tolerances of *Philaenus spumarius* should be considered in risk assessment of disease outbreaks related to *Xylella fastidiosa*. *J. Pest. Sci.* **2021**, *95*, 855–868. [CrossRef]
52. Godefroid, M.; Cruaud, A.; Streito, J.C.; Rasplus, J.Y.; Rossi, J.P. Climate change and the potential distribution of Xylella fas-tidiosa in Europe. *bioRxiv* **2018**. [CrossRef]
53. Hällfors, M.H.; Liao, J.; Dzurisin, J.; Grundel, R.; Hyvärinen, M.; Towle, K.; Wu, G.C.; Hellmann, J.J. Addressing potential local adaptation in species distribution models: Implications for conservation under climate change. *Ecol. Appl.* **2016**, *26*, 1154–1169. [CrossRef]
54. Vanhove, M.; Retchless, A.C.; Sicard, A.; Rieux, A.; Coletta-Filho, H.; De La Fuente, L.; Stenger, D.C.; Almeida, R.P.P. Genomic Diversity and Recombination among *Xylella fastidiosa* Subspecies. *Appl. Environ. Microbiol.* **2019**, *85*, e02972-18. [CrossRef] [PubMed]
55. EPPO PM 7/24 (4) *Xylella Fastidiosa*. *EPPO Bull.* **2019**, *49*, 175–227. [CrossRef]
56. Marshall, O.J. PerlPrimer: Cross-Platform, Graphical Primer Design for Standard, Bisulphite and Real-Time PCR. *Bioinformatics* **2004**, *20*, 2471–2472. [CrossRef] [PubMed]
57. Marcelletti, S.; Scortichini, M. Genome-Wide Comparison and Taxonomic Relatedness of Multiple *Xylella Fastidiosa* Strains Reveal the Occurrence of Three Subspecies and a New Xylella Species. *Arch. Microbiol.* **2016**, *198*, 803–812. [CrossRef]
58. Martin, J.-F. Creating Error-Proof Indexes for High Throughput Sequencing 2019. *Methods Mol. Biol.* **2019**, *840*, 197–228.
59. Rognes, T.; Flouri, T.; Nichols, B.; Quince, C.; Mahé, F. VSEARCH: A Versatile Open Source Tool for Metagenomics. *PeerJ* **2016**, *4*, e2584. [CrossRef]
60. Katoh, K.; Standley, D.M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Mol. Biol. Evol.* **2013**, *30*, 772–780. [CrossRef]
61. Wistrom, C.; Purcell, A.H. The Fate of *Xylella Fastidiosa* in Vineyard Weeds and Other Alternate Hosts in California. *Plant Dis.* **2005**, *89*, 994–999. [CrossRef]
62. Lieth, J.H.; Meyer, M.M.; Yeo, K.-H.; Kirkpatrick, B.C. Modeling Cold Curing of Pierce's Disease in *Vitis Vinifera* 'Pinot Noir' and 'Cabernet Sauvignon' Grapevines in California. *Phytopathology*^{TM} **2011**, *101*, 1492–1500. [CrossRef]
63. Purcell, A. Paradigms: Examples from the Bacterium *Xylella Fastidiosa*. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2013**, *51*, 339–356. [CrossRef]
64. Hewitt, W.B.; Frazier, N.W.; Freitag, J.H.; Winkler, A.J. Pierce's Disease Investigations. *Hilgardia* **1949**, *19*, 207–264.

65. R Core Team. *R Version 3.5.1 (Feather Spray): A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2018; Available online: Https://Www.R-Project.Org/ (accessed on 12 July 2022).
66. Quintana-Seguí, P.; Le Moigne, P.; Durand, Y.; Martin, E.; Habets, F.; Baillon, M.; Canellas, C.; Franchisteguy, L.; Morel, S. Analysis of Near-Surface Atmospheric Variables: Validation of the SAFRAN Analysis over France. *J. Appl. Meteorol. Climatol.* **2008**, *47*, 92–107. [CrossRef]
67. Brooks, M.E.; Kristensen, K.; van Benthem, K.J.; Magnusson, A.; Berg, C.W.; Nielsen, A.; Skaug, H.J.; Maechler, M.; Bolker, B.M. GlmmTMB Balances Speed and Flexibility among Packages for Zero-Inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *R J.* **2017**, *9*, 378–400. [CrossRef]
68. Chessel, D.; Dufour, A.-B.; Thioulouse, J. The Ade4 Package—I: One-Table Methods. *R News* **2004**, *4*, 5–10.
69. Wold, S.; Sjöström, M.; Eriksson, L. PLS-Regression: A Basic Tool of Chemometrics. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2001**, *58*, 109–130. [CrossRef]
70. Faraway, J.J. *Extending the Linear Model with R: Generalized Linear, Mixed Effects and Nonparametric Regression Models*; Chapman and Hall/CRC: Boca Raton, FL, 2006.
71. Bolker, B.M.; Brooks, M.E.; Clark, C.J.; Geange, S.W.; Poulsen, J.R.; Stevens, M.H.H.; White, J.-S.S. Generalized Linear Mixed Models: A Practical Guide for Ecology and Evolution. *Trends Ecol. Evol.* **2009**, *24*, 127–135. [CrossRef] [PubMed]
72. Hartig, F. DHARMa: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level/Mixed) Regression Models. 2020. Available online: https://cran.r-project.org/web/packages/DHARMa/vignettes/DHARMa.html (accessed on 12 July 2022).
73. Fox, J.; Weisberg, S. *An {R} Companion to Applied Regression*, 3rd ed.; Social Sciences Mcmaster: Thousand Oaks, CA, USA, 2019.
74. Lenth, R.V. Emmeans: Estimated Marginal Means, Aka Least-Squares Means. 2021. Available online: https://cran.r-project.org/web/packages/emmeans/emmeans.pdf (accessed on 12 July 2022).
75. Hothorn, T.; Bretz, F.; Westfall, P. Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biom. J.* **2008**, *50*, 346–363. [CrossRef]
76. Karger, D.N.; Conrad, O.; Böhner, J.; Kawohl, T.; Kreft, H.; Soria-Auza, R.W.; Zimmermann, N.E.; Linder, H.P.; Kessler, M. Climatologies at High Resolution for the Earth's Land Surface Areas. *Sci. Data* **2017**, *4*, 170122. [CrossRef]
77. Xu, T.; Hutchinson, M. *ANUCLIM Version 6.1 User Guide*; Australia National University: Canberra, Australia, 2011.
78. Hijmans, R.J.; Phillips, S.; Leathwick, J.; Elith, J. Dismo: Species Distribution Modeling. Available online: https://cran.r-project.org/web/packages/dismo/dismo.pdf (accessed on 12 July 2022).
79. Karger, D.N.; Schmatz, D.R.; Dettling, G.; Zimmermann, N.E. High-Resolution Monthly Precipitation and Temperature Time Series from 2006 to 2100. *Sci. Data* **2020**, *7*, 248. [CrossRef]
80. Buisson, L.; Thuiller, W.; Casajus, N.; Lek, S.; Grenouillet, G. Uncertainty in Ensemble Forecasting of Species Distribution. *Glob. Change Biol.* **2010**, *16*, 1145–1157. [CrossRef]
81. O'Neill, B.C.; Kriegler, E.; Riahi, K.; Ebi, K.L.; Hallegatte, S.; Carter, T.R.; Mathur, R.; van Vuuren, D.P. A New Scenario Framework for Climate Change Research: The Concept of Shared Socioeconomic Pathways. *Clim. Change* **2014**, *122*, 387–400. [CrossRef]
82. Godefroid, M.; Cruaud, A.; Streito, J.-C.; Rasplus, J.-Y.; Rossi, J.-P. *Xylella Fastidiosa*: Climate Suitability of European Continent. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 8844. [CrossRef] [PubMed]
83. Falsini, S.; Tani, C.; Sambuco, G.; Papini, A.; Faraoni, P.; Campigli, S.; Ghelardini, L.; Bleve, G.; Rizzo, D.; Ricciolini, M.; et al. Anatomical and Biochemical Studies of Spartium Junceum Infected by *Xylella fastidiosa* Subsp. Multiplex ST 87. *Protoplasma* **2021**, *259*, 103–115. [CrossRef] [PubMed]
84. Boria, R.A.; Olson, L.E.; Goodman, S.M.; Anderson, R.P. Spatial Filtering to Reduce Sampling Bias Can Improve the Performance of Ecological Niche Models. *Ecol. Model.* **2014**, *275*, 73–77. [CrossRef]
85. Aiello-Lammens, M.E.; Boria, R.A.; Radosavljevic, A.; Vilela, B.; Anderson, R.P. SpThin: An R Package for Spatial Thinning of Species Occurrence Records for Use in Ecological Niche Models. *Ecography* **2015**, *38*, 541–545. [CrossRef]
86. Phillips, S.J.; Dudík, M.; Elith, J.; Graham, C.H.; Lehmann, A.; Leathwick, J.; Ferrier, S. Sample Selection Bias and Presence-Only Distribution Models: Implications for Background and Pseudo-Absence Data. *Ecol. Appl.* **2009**, *19*, 181–197. [CrossRef]
87. Naimi, B.; Hamm, N.A.S.; Groen, T.A.; Skidmore, A.K.; Toxopeus, A.G. Where Is Positional Uncertainty a Problem for Species Distribution Modelling? *Ecography* **2014**, *37*, 191–203. [CrossRef]
88. Varela, S.; Anderson, R.P.; García-Valdés, R.; Fernández-González, F. Environmental Filters Reduce the Effects of Sampling Bias and Improve Predictions of Ecological Niche Models. *Ecography* **2014**, *2014*, 1084–1091. [CrossRef]
89. VanDerWal, J.; Shoo, L.P.; Graham, C.; Williams, S.E. Selecting Pseudo-Absence Data for Presence-Only Distribution Modeling: How Far Should You Stray from What You Know? *Ecol. Model.* **2009**, *220*, 589–594. [CrossRef]
90. Seabra, S.G.; Rodrigues, A.S.B.; Silva, S.E.; Neto, A.C.; Pina-Martins, F.; Marabuto, E.; Thompson, V.; Wilson, M.R.; Yurtsever, S.; Halkka, A.; et al. Population Structure, Adaptation and Divergence of the Meadow Spittlebug, *Philaenus Spumarius* (Hemiptera, Aphrophoridae), Revealed by Genomic and Morphological Data. *PeerJ* **2021**, *9*, e11425. [CrossRef]
91. Vollering, J.; Halvorsen, R.; Mazzoni, S. The MIAmaxent R Package: Variable Transformation and Model Selection for Species Distribution Models. *Ecol. Evol.* **2019**, *9*, 12051–12068. [CrossRef] [PubMed]
92. Mazzoni, S.; Halvorsen, R.; Bakkestuen, V. MIAT: Modular R-Wrappers for Flexible Implementation of MaxEnt Distribution Modelling. *Ecol. Inform.* **2015**, *30*, 215–221. [CrossRef]
93. Fielding, A.H.; Bell, J.F. A Review of Methods for the Assessment of Prediction Errors in Conservation Presence/Absence Models. *Environ. Conserv.* **1997**, *24*, 38–49. [CrossRef]

94. Hirzel, A.H.; Le Lay, G.; Helfer, V.; Randin, C.; Guisan, A. Evaluating the Ability of Habitat Suitability Models to Predict Species Presences. *Ecol. Model.* **2006**, *199*, 142–152. [CrossRef]
95. Yackulic, C.B.; Chandler, R.; Zipkin, E.F.; Royle, J.A.; Nichols, J.D.; Campbell Grant, E.H.; Veran, S. Presence-Only Modelling Using MAXENT: When Can We Trust the Inferences? *Methods Ecol. Evol.* **2013**, *4*, 236–243. [CrossRef]
96. Streito, J.-C.; Chartois, M.; Pierre, É.; Dusoulier, F.; Armand, J.-M.; Gaudin, J.; Rossi, J.-P. Citizen Science and Niche Modeling to Track and Forecast the Expansion of the Brown Marmorated Stinkbug Halyomorpha Halys (Stål, 1855). *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 11421. [CrossRef]
97. Broennimann, O.; Cola, V.D.; Guisan, A. Ecospat: Spatial Ecology Miscellaneous Methods; 2020. Available online: https://cran.r-project.org/web/packages/ecospat/index.html (accessed on 12 July 2022).
98. Fadrosh, D.W.; Ma, B.; Gajer, P.; Sengamalay, N.; Ott, S.; Brotman, R.M.; Ravel, J. An Improved Dual-Indexing Approach for Multiplexed 16S RRNA Gene Sequencing on the Illumina MiSeq Platform. *Microbiome* **2014**, *2*, 1. [CrossRef]
99. Kassambara, A.; Mundt, F. Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. 2017. Available online: https://cran.r-project.org/web/packages/factoextra/readme/README.html (accessed on 12 July 2022).
100. Wei, T.; Simko, V. R Package "Corrplot": Visualization of a Correlation Matrix. 2017. Available online: https://scirp.org/reference/referencespapers.aspx?referenceid=3067218 (accessed on 12 July 2022).

2 Protocoles de biologie moléculaire : extraction et purification KingFisher et PCR en deux étapes

Extraction/Purification d'ADN d'insecte (et d'éventuelles cellules bactériennes et végétales associées)

Historique des versions

Référence : PEX-EXT-002n		**Gestionnaire : Responsable qualité**
Version	**date de version**	Historique des modifications
Version 00	22/08/2016	Création
Version 01	12/11/2020	Révision – Pauline Farigoule

Etat du document : A Contrôler

Confidentialité : Metteurs au point

1. Objectif /Principe

L'objectif de ce protocole est d'isoler rapidement et de manière fiable de l'ADN génomique de haute qualité à partir d'insectes de types cicadelles. Il est adapté au traitement d'une quantité de départ de 5 à 20 mg de matériel frais. Ce protocole utilise la technologie de « capture » des acides nucléiques sur billes magnétiques et est donc dédié à l'utilisation conjointe d'une robotique adaptée (KingFisher Flex, instruction « **INS-EXT-005-Kingfisher-Flex.pdf** »).
Ce protocole a été spécifiquement mis au point pour purifier l'ADN végétal et minimiser la co-purification avec des polysaccharides et des polyphénols de la cellule. Le tampon d'extraction utilise à la fois du Tween, un détergent efficace et du chlorure de guanidium pour dégrader et déstabiliser tous les composants cellulaires et les protéines associés à l'ADN. Pour purifier l'ADN, nous utilisons des billes métalliques coatées avec de la silice (groupements Silanol) (Billes Perkin-Elmer Chemagen CMG 252-A). L'adsorption des acides nucléique est réalisée par déshydratation en présence d'éthanol. Les tampons de lavage sont très doux, ils ne contiennent que des sels et de l'éthanol. La purification de l'ADN n'est donc pas maximale mais les pertes en rendement sont ainsi réduites.

Consignes de sécurité
Si nécessaire, décrire les précautions

- A la manipulation de produits dangereux
  - Isopropanol
  - Chlorure de guanidium

A l'utilisation de l'équipement (KingFisher Flex, voir **INS-EXT-005-Kingfisher-Flex.pdf**)

2. Matériel utilisé/nécessaire

- Centrifugeuse (3000 à 5000g)
- Incubateur-agitateur (56°C à 65°C)
- Robot de purification des acides nucléiques (KingFisher Flex)
- Matériel de laboratoire classique

Fiche de visas

	Rédacteur	Testeur	Vérificateur	Approbateur
Nom	GONZALEZ			SANTONI
Fonction	Assistante ingénieur			Ingénieur
Visa				
Date	22/08/2016			22/08/2016

Mode opératoire

BROYAGE (SUR 5 A 20 MG D'INSECTE)

Jour J1 : Préparer les tubes de 2 mL Eppendorf à fond rond (et non conique pour une meilleure efficacité de broyage) avec la matrice de broyage: 1 bille de broyage en céramique avec du grenat (l'intérieur d'un bouchon de tube 0.5mL) et annoter les tubes

Jour J2 : Sortir l'insecte du tube d'alcool avec une pince préalablement passée à la flamme (ou bécher de javel 20% et bécher d'eau osmosée) et le poser sur filtre absorbant

Placer l'insecte dans le tube Eppendorf 2 ml avec la matrice de broyage

Pour les cigales, à l'aide de deux pinces fines préalablement nettoyées dans un bécher de javel 20% et rincées dans un bécher d'eau osmosée, mettre la bête sur le dos, passez délicatement la pince fine sous le stylet et arracher la tête. Une fois que la tête est arrachée, enlever les yeux à l'aide des pinces.

Ajouter 135µL de Tampon de lyse (Attention : ajouter le bisulfite avant utilisation dans la quantité de tampon nécessaire pour l'expérimentation cf page 5).

L'échantillon est broyé avec le broyeur à bille (Recht MM301) à température ambiante pendant 2 minutes à 16 pulsations par secondes pour les Philaenus ou pendant 4 minutes à 16 pulsations par seconde pour les têtes de cigales. Retourner le couvercle et le fond de la boite et refaire 2 minutes de broyage à 16 pulsations par secondes (permet l'homogénéisation du broyage). Après l'étape de broyage vérifier qu'elle a fonctionné correctement (surtout pour les têtes de cigales) et si ce n'est pas le cas refaire un broyage comme précédemment.

Remarques : le broyage constitue une étape importante et qui doit parfois être adaptée en fonction du type d'insecte manipulé (poids, forme, qualité du stockage)
Pour des insectes de taille moyenne (i.e ; philaenus / neophilaneus 20 mg/insecte, en bon état ou tête de cigales) nous utilisons : 1 bille de broyage en céramique + environ 0.2g de sable de grenat (diamètre 0,5 mm). Cette matrice de broyage est identique à celle de MP biomedicals matrice de lyse de type A (réf. 116910050) adaptée ici dans un tube de 2mL avec du grenat DNA free et une bille de céramique recouverte d'oxyde de zirconium.

- **LYSE CELLULAIRE**

Placer deux portoirs au congélateur pour l'étape de déprotéinisation.
Au broyat obtenu, faire une centrifugation et :

Faire 2 minutes d'ultrasons

Centrifuger et ouvrir les tubes délicatement.

Ajouter 10 µL de Ready Lyse Lysozyme
Ajouter 10 µL de Solution de cellulase
Ajouter 10 µL de Solution de RNase à 0.1 µg/ µL

Vortex.

Incuber à 37°C pendant 30 min dans une étuve avec agitation.

Centrifugation

Ajouter 135 µL de Tampon d'extraction 2X (Attention : ajouter le bisulfite avant utilisation dans la quantité de tampon nécessaire pour l'expérimentation cf page 6).
Ajouter 10 µL de Solution de Protéinase K

Vortex

Incuber à 56°C pendant 60 min dans une étuve avec agitation.

- **DEPROTEINISATION**

Après centrifugation, placer les tubes sur les portoirs froids sortis du congélateur et sous la sorbonne ajouter 150 µl d'acétate de potassium (5M/3M) froid (dans la glace). Agiter par inversion et au vortex. Incuber 25 min à 4°C.

Centrifuger 10 min à 12 000 rpm à 4°C dans la centrifugeuse Eppendorf avec le rotor cassette.

Remarque : cette étape de centrifugation à haute vitesse permet d'obtenir un surnageant clair, débarrassé des particules en suspension.

- **PURIFICATION DES ADN**

Pour chaque échantillon, transférer 325 µl de surnageant dans un puit de la plaque de binding (plaque deepwell 96 puits spécifique du robot KingFisher) et ajouter 270 µL de chlorure de guanidium 7.8M.

A cette étape les plaques peuvent être filmées avec un papier aluminium et conservées au réfrigérateur 1 jour et demi le temps de faire la purification au King Fisher (J1 extraction, J2 extraction d'une seconde plaque, matin du J3 purification au KingFisher).

Le reste du protocole est mis en place au sein des laboratoire d'ARCAD (Rue Arthur Young, 34090 Montpellier), cf liste du consommable page suivante.

Liste du consommable nécessaires pour la purification au KingFisher :

Purification 1 plaque	**Purification 2 plaques**	**Purification 3 plaques**	**Purifications 4 plaques**
4 plaques Deepwell	8 plaques Deepwell	12 plaques Deepwell	16 plaques Deepwell
1 plaque d'élution	2 plaques d'élution	3 plaques d'élution	4 plaques d'élution
La plaque d'élution pour les « chaussettes »	La plaque d'élution pour les « chaussettes »	La plaque d'élution pour les « chaussettes »	La plaque d'élution pour les « chaussettes »
1 plaque « chaussette »	2 plaques « chaussette »	3 plaques « chaussette »	4 plaques « chaussette »
Marqueurs et stylos	Marqueurs et stylos	Marqueurs et stylos	Marqueurs et stylos
Un aliquot de billes Chemagic 1,5mL	Un aliquot de billes Chemagic 3mL	Un aliquot de billes Chemagic 4,5mL	Un aliquot de billes Chemagic 6mL
Un aliquot de 5mL de TE Low	Un aliquot de 10mL de TE Low	Un aliquot de 15mL de TE Low	Un aliquot de 20mL de TE Low
1 plaque d'échantillons + glaçons	2 plaques d'échantillons + glaçons	3 plaques d'échantillons + glaçons	4 plaques d'échantillons + glaçons
120 mL AMM Lav + EtOH + Falcon 50mL pour aliquot	250 mL AMM Lav + EtOH + Falcon 50mL pour aliquot	380 mL AMM Lav + EtOH + Falcon 50mL pour aliquot	500 mL AMM Lav + EtOH + Falcon 50mL pour aliquot
120 mL EtOH 75 + Falcon 50mL pour aliquot	250 mL EtOH 75 + Falcon 50mL pour aliquot	380 mL EtOH 75 + Falcon 50mL pour aliquot	500 mL EtOH 75 + Falcon 50mL pour aliquot
1 Falcon 50mL pour aliquot isopropanol	1 Falcon 50mL pour aliquot isopropanol	1 Falcon 50mL pour aliquot isopropanol	1 Falcon 50mL pour aliquot isopropanol
Multipipette	Multipipette	Multipipette	Multipipette
3 combitips oranges	5 combitips oranges	5 combitips oranges	5 combitips oranges
2 combitips verts	3 combitips verts	3 combitips verts	3 combitips verts
2 combitips violet	3 combitips violet	3 combitips violet	3 combitips violet
3 alus	5 alus	9 alus	11 alus

A chaque échantillon, ajouter 345 µL d'isopropanol et 15 µL de suspension de billes magnétiques Chemagic.

A partir de cette étape c'est le robot KingFisher qui prend en charge la purification.

1. Préparation des plaques pour le robot :
   1 plaque 96 puits deepwell contenant 600 µL de tampon AMMLav/E
   1 plaque 96 puits deepwell contenant 600 µL de tampon AMMLav/E
   1 plaque 96 puits deepwell contenant 600 µL d'éthanol 75%
   1 plaque 96 puits deepwell contenant 600 µL d'éthanol 75%
   1 plaque d'élution 96 puits avec 50 µL de tampon d'élution TE low 1X

2. Passage sur robot King Fisher en utilisant le programme Chemagic_DNA_Insecte (voir le protocole d'utilisation du robot)

Les ADNs sont ensuite conservés à -20°C.

3. Procéder à l'élimination des déchets et au lavage des plaques.

4. Poser la plaque d'élution sur plaque aimantée pour transférer tout l'ADN dans une plaque à jupe (adapter pour utiliser le robot pipeteur et faire une two step PCR) et faire un dosage Qubit de quelques échantillons pour vérifier que l'extraction a fonctionné.

PREPARATION DES SOLUTIONS

TAMPON DE LYSE: 10mM Tris pH = 8.0, 1mM EDTA, 100mM NaCl, 1% PVP 40000 + 1 g/100ml bisulfite de sodium (à ajouter extemporanément)

Pour **50 mL**	Concentrations initiales	Concentrations finales	Volumes ou poids
Tris-HCl pH = 8.0	1 M	10 mM	500 µL
EDTA	0.5 M	1 mM	100 µL
NaCl	5 M	100 mM	1 mL
Polyvinylpyrrolidone	1 % (masse/volume)	0.5 %	0.5 g
Eau ultra pure			qsp 50 mL

Bisulfite de sodium	1 % (masse/volume)	A ajouter extemporanément en fonction du nombre d'échantillons (l'anti-oxydant ne se conserve pas plus d'un jour)

READY LYSE LYSOZYME : 100mM Tris pH = 8.0, 0.2mM EDTA, 0.2M NaCl, 20mM $CaCl_2$, 0.2% Triton X100, 40mg/L lysozyme (soit 50 000 U/mg), 1 volume de glycérol.
Roche Diagnostics Lysozyme ref. 10 837 059 001

	Pour **10 mL** (à aliquoter)	Concentrations initiales	Concentrations finales	Volumes ou poids
	Tris-HCl pH = 8.0	1 M	100 mM	1 mL
	EDTA	0.5 M	0.2 mM	4 µL
	NaCl	5 M	0.2 M	400 µL
	$Cacl_2$	100 mM	20 mM	2 mL
	lysozyme		40 mg/mL	0.4 g
mettre le savon à la fin	Triton	100 %	0.2 %	20 µL
	glycérol		1 volume	5 mL
	Eau ultra pure			qsp 10 mL

Solution mère $Cacl_2$ 100 mM : 2.94g dans 200mL (poudre à 147.02 g/mol)

Solution de cellulase: 20% de cellulase en poudre dissoute dans de l'eau milliQ, 1 volume de glycérol. (0.2g de cellulase dans 0.5 mL d'eau + 0.5 mL de glycérol)
Sigma cellulase d'*Aspergillus niger* ref. 9012-54-8

Solution de RNase: concentration initiale à 10 mg/mL (soit 10 µg/µL), solution finale à 0.1 µg/µL. Préparer la quantité exacte à utiliser, la solution finale ne se conserve pas (dil. *100)
RNase A : Roche ref. 10109169001

Tampon d'extraction 2X: 60mM Tris pH = 8.0, 60mM EDTA, 10% Tween 20, 1% Triton X100, 1.6M chlorure de guanidium, 200mM NaCl, 6mM $CacL_2$, 1% PVP 40000 + 1 g/100ml bisulfite de sodium (à ajouter extemporanément)

	Pour **50 mL**	Concentrations initiales	Concentrations finales	Volumes ou poids
	Tris-HCl pH = 8.0	1 M	60 mM	3 mL
	EDTA	0.5 M	60 mM	6 mL
	NaCl	5 M	200 mM	2 mL
	Polyvinylpyrrolidone (PVP)	1 % (masse/volume)	2 %	1 g
	$Cacl_2$	100 mM	6 mM	3 mL
	Chl. de guanidium	7.8 M	1.6 M	10.2 mL
mettre à la fin	Tween 20	100 %	10 %	5 mL
	Triton	100 %	1 %	0.5 mL
	Eau ultra pure			qsp
	Bisulfite de sodium	1 % (masse/volume)	A ajouter extemporanément	

Solution prête à l'emploi de protéinase K : QIAGEN PROTEINASE K
Ref. 19133 (>600mAU/mL)

Acétate de potassium (3M K et 5M Ac)
Pour 100 ml, mélanger 60 ml de KAc 5M, 11.5 ml d'acide acétique glacial (37%) et 28.5 ml d'H_2O.

Chlorure de guanidium: Dissoudre 37.25 gr de chlorure de guanidium (produit Sigma ref G-3272) dans l'eau jusqu'à un volume final de 50 mL de solution (faire le mélange dans un tube Sarstedt ou Falcon de 50 mL). Concentration finale 7.8 M

Billes magnétiques: Chemagic (Perkin Elmer), ref. CMG-252-A.

AMM Lav Faire une solution aqueuse AMMLav (Acétate de potassium 160 mM, Tris HCl ph 8 22,5 mM, EDTA 0,1 mM)

SOLUTIONS		**100 ml**	**200 ml**	**300 ml**
400ml				
TRIS 1M PH = 8	2,25 ml	4,5 ml	6,75 ml	9 ml
EDTA 0,5M	20 µl	40 µl	60 µl	80 µl
ACONA 5 M	3,2 ml	6,4 ml	9,6 ml	12,8 ml
ddH2O	94,50 ml	189 ml	283,50 ml	378 ml

AMMLav/E : Mélanger 100 ml d'AMMLav et 170 ml d'éthanol à 96%

TE Low 1X : Tris-HCl pH8 10 mM, EDTA 0,1 mM.

Pour **50 mL**	Concentrations initiales	Concentrations finales	Volumes ou poids
Tris-HCl pH = 8.0	1 M	10 mM	0.5 mL
EDTA	0.5 M	0.1 mM	10 µL

Eau ultra pure			qsp

Eau UP : eau ultra pure ou eau MilliQ : eau de laboratoire purifiée par le système MilliQ de Millipore. Test de conductivité 18MΩ/cm.

Nettoyage, élimination des déchets

Les tubes plastiques Eppendorf de 2 ml et la plaque DeepWell de binding contenant les résidus d'extraction sont éliminés en poubelle spécifique.
Les billes en céramique sont récupérées et lavées dans une solution de javel pure et rincées à l'eau osmosée.
Les solutions contenant du chlorure de guanidium et de l'éthanol sont versées dans le bidon de récupération spécifique prévu à cet usage.
Les plaques DeepWell de lavage sont lavées et réutilisées à AGAP suivant le protocole de lavage javel et eau.

3. Réactifs

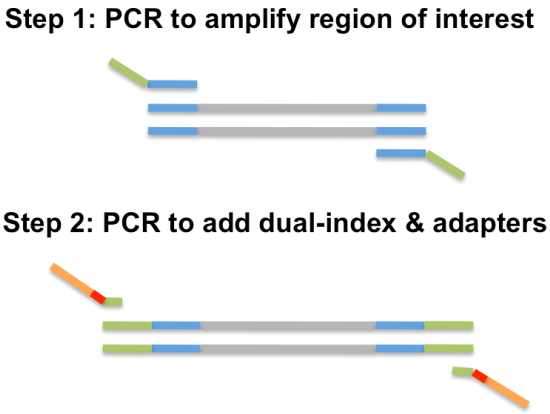
Réactifs chimiques, éléments de sécurité

	Formule chimique	Toxicité	Protection	Phrase de risque	Phrase de conseil de prudence
Tris (Trisma Base, Tris[hydroxymethyl]aminometane)	$C_4H_{11}NO_3$	irritant	cutanée	R36/37/38	S26-36
EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid)	$C_{10}H_{14}N_2O_8Na_22H_20$	irritant	cutanée	R36	S26
Chlorure de sodium (sodium chloride)	NaCl		cutanée		
Bisulfite de sodium (sodium bisulfite, sodium disulfite, sodium metabisulfite)	$Na_2S_2O_5$	irritant	cutanée	R22-31	S25-46
Acetate de potassium (potassium acetate)	CH_3COOK	irritant	Cutanée, respiratoire	R36/37/38	S26-36
Acide acétique glacial (glacial acetic acid)	CH_3COOH	irritant	Cutanée, respiratoire, oculaire	R10-35	S26-36/37/39-45
Chlorure de guanidium (Guanidine hydrochloride Guanidium chloride, Aminomethanamidine hydrochloride)	CH5N3, HCl	irritant	cutanée	R22-36/38	S26-36
Polyvinylpyrrolidone PVP (PVP 40000, PVT 40T)	$[C_6H_9NO]_n$	Irritant	Cutanée, respiratoire		S22-24/25
Isopropanol (Alcool isopropylique, isopropyl alcohol)	[CH3]2CHOH	Irritant	Cutanée, respiratoire	R11-36-67	S7-16-24/25-26
Ethanol (alcool ethylique, Ethyl alcool)	CH_3CH_2OH		cutanée	R11-20/21/22-36/37/38	S7-16-24/25/26

CENTRE DE BIOLOGIE POUR LA GESTION DES POPULATIONS

Plateforme de Biologie Moléculaire

Protocole – Librairies d'amplicons par 2-step PCR pour le séquençage MiSeq (Illumina) adapté pour Xylella fastidiosa



Rédaction : Maxime Galan & Anne-Laure Clamens
Mise à jour 1.2 : Pauline Farigoule
Date : 04.03.2014
Version : 1.1 modifié le 20.04.2017 pour une mise au format plateforme
1.2 modifié le 04.11.2020 pour correspondre au protocole utilisé dans le cadre des recherches sur la bactérie *Xylella fastidiosa* (modification réalisée à partir du protocole existant et de celui de P. Cruaud).

Résumé : Le protocole de préparation de librairies d'amplicons pour le séquençage MiSeq repose sur l'amplification PCR en deux étapes (2-step PCR). La première étape (PCR1) est une PCR classique qui permet d'amplifier le gène cible avec les amorces habituelles auxquelles on ajoute en 5' les séquences des amorces de séquençage Illumina. La deuxième PCR (PCR2) permet d'ajouter les paires d'index (dual-index) spécifiques à chaque échantillon (i.e. PCR 1) ainsi que les adaptateurs Illumina P5 et P7. Pour cela on utilise des amorces universelles indexées qui correspondent au kit Nextera index (Illumina) pour lesquelles les index de multiplexage Illumina ont été remplacés par les index publiés par Kozich et al (2013). Cela accroit la capacité de multiplexage (jusqu'à 1536 produits PCR multiplexables sur le même run MiSeq). Le nombre moyen de séquences attendu par échantillon est supérieur à 6000 reads pour un run MiSeq v2 d'environ 10 millions de reads au total. Ici le protocole

est adapté pour la recherche de deux gènes du MLST de la bactérie *Xylella fastidiosa* : LeuA et HolC.

Considérations générales, matériel et réactifs spécifiques

Matériel :

Enceinte PCR en plexiglas DNAfree
Gants nitriles
Poubelle de paillasse classique
Jeux de pipettes DNAfree incluant multicanaux p10
Multipette Eppendorf
Pointes à filtre P10, P200, P1000
Combitips Eppendorf
Microplaques PCR 96
Films autocollants PCR
Microplaques 96 Elution Microtubes RS (Qiagen) et bouchons
Thermocyler
Centrifugeuse à tube et à plaque
Tubes 1,5 Eppendorf low-binding
Barrettes de 8 tubes et bouchons
Vortex à tubes et à plaques
Cuve électrophorèse
Table UV et Imager
Lame de scalpel
Cellophane

Réactifs :

Eau DNAase RNase free (Qiagen)
Multiplex PCR kit (Qiagen)
Amorces PCR gène spécifique (PCR1)
Amorces indexés type Illumina index kit (PCR2)
Bleu de charge (3X)
Marqueur de taille
Agarose Classique
Agarose low-melting (BioRad Low Range Ultra)
Tampon TAE 0,5X
PCR clean-up & Gel extraction kit (Macherey-Nagel)

Considérations générales :

1- Préparer au préalable les plans de microplaques 96 dans le fichier « 2-step PCR.xlsx » disponible sur le wiki BM et dédié à l'organisation des échantillons par rapport aux 16 microplaques de dual-index pouvant être constituées ;
2- Inclure des contrôles négatifs, positifs, et prévoir 4 plaques par individus correspondants aux 4 réplicats pour pouvoir ensuite filtrer et valider les résultats de séquençage ;
3- L'ensemble des manipulations est réalisé avec des pointes à filtres et des pipettes dédiées à chaque étape, et selon les principes de marche en avant et de BPL très précis. Se reporter aux procédures des laboratoires utilisés avant d'y pénétrer ou s'adresser aux responsables ;
4- Les préparations de mix PCR sont réalisées dans le laboratoire de préparation de mix L.1.2 sous l'enceinte PCR en plexiglas dédiée au NGS ;
5- Les solutions d'ADN (PCR1) sont ajoutées en salle S.1.6.
6- Les produits PCR1 amplifiés sont ajoutés à la PCR2 dans le laboratoire post-PCR L.1.7

A - Dessin des amorces de la PCR1

Ajouter les séquences des amorces de séquençage Illumina Read 1 (R1) et Read 2 (R2) suivantes en 5' des amorces PCR permettant d'amplifier le(s) gène(s) cible(s) :

F : 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-(Forward primer)-3'
R : 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-(Reverse primer)-3'

Pour améliorer la qualité du séquençage, il est fortement recommandé d'ajouter également un *heterogeneity spacer* entre les séquences Illumina et les séquences des amorces gène-spécifiques. Cela consiste à réaliser un cocktail de plusieurs amorces forward et reverse comme illustré pour l'exemple ci-dessous :

	Sequencing primer R1	Heterogeneity spacer	Forward primer
F1	5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		GAYAAARTYCCVTTYCAYCC-3'
F2	5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	C	GAYAAARTYCCVTTYCAYCC-3'
F3	5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	TC	GAYAAARTYCCVTTYCAYCC-3'
F4	5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	ATG	GAYAAARTYCCVTTYCAYCC-3'

	Sequencing primer R2	Heterogeneity spacer	Reverse primer
R1	5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		AARTAYCAYTCDGGYTTRAT-3'
R2	5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	C	AARTAYCAYTCDGGYTTRAT-3'
R3	5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	TG	AARTAYCAYTCDGGYTTRAT-3'
R4	5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	GCT	AARTAYCAYTCDGGYTTRAT-3'

Le choix des bases de l'*heterogeneity spacer* et le nombre d'amorces en cocktail dépend de la composition en base de la partie 5' des amorces gène-spécifiques utilisées. Ces *spacers* permettent de tendre vers une représentation de 25% de chaque base A C G T à la surface de la flowcell durant les 4 premiers cycles de séquençage des reads 1 et des reads 2, et cela en déphasant la lecture du primer gène-spécifique, soit dans notre exemple :

Read 1:	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
F1	G	A	Y (C or T)	A
F2	C	G	A	Y (C or T)
F3	T	C	G	A
F4	A	T	G	G

Read 2:	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
R1	A	A	R (A or G)	T
R2	C	A	A	R (A or G)
R3	T	G	A	A
R4	G	C	T	A

Ces *spacers* sont particulièrement important si un seul et même amplicon est séquencé. En effet, dans ce cas le séquençage du primer d'amplification ne permet pas une hétérogénéité de bases à la surface de la flowcell Illumina. Pour plus d'informations, voir l'article de Fadrosh et al 2014.

Amorces de PCR1 utilisées dans le cadre de la détection de la bactérie *Xylella fastidiosa* :

Nom du primer	Séquence
HolC_F_v0	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGAGAAACTCGATTAATGGCACGC
HolC_F_v1_NuoL	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCAATTGGAGAAACTCGATTAATGGCACGC
HolC_R_v0	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGTCACATGTCGTGTTTGTTCATG
HolC_R_v1_NuoL	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGTAATGTGGTCACATGTCGTGTTTGTTCATG
LeuA_F_v0	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTGCACGCCAAATCGAATGT
LeuA_F_v1	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGACAGTGTGCACGCCAAATCGAATGT
LeuA_R_v0	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGTCGACATCGGTGACCAAA
LeuA_R_v1	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCAAGAGGTCGACATCGGTGACCAAA

En rouge : amorces de séquençage illumina
En bleu : *heterogeneity spacer*
En vert : amorces spécifiques des gènes HolC et LeuA de la bactérie *Xylella fastidiosa*

B - Préparation des amorces d'indexage de la PCR 2

Les noms et séquences des amorces d'indexage sont listés en Annexe de ce document et dans l'onglet « Primers » du fichier « 2-step PCR.xlsx ». Ces amorces sont construites sur la base des séquences du kit Nextera Index (Illumina) à l'exception des séquences des index de 8 bases qui sont celles publiées par Kozich et al. (2013). Le manifeste qui permet de reconnaître et de démultiplexer chaque dual-index est installé sur les MiSeq du Cirad AGAP, INRA AGAP et de la plateforme GenSeq.

La construction de ces amorces d'indexage est la suivante :

	Adapter P5	Index i5	Linker F
Index primer i5	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	NNNNNNNN	TCGTCGGCAGCGTC

	Adapter P7	Index i7	Linker R
Index primer i7	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	NNNNNNNN	GTCTCGTGGGCTCGG

Nous disposons de 32 index i5 et 48 index i7, de sorte que l'ensemble des combinaisons possibles de dual-index permet de multiplexer 1536 produits PCR différents, soit 16 microplaques PCR. La manière dont sont constituées ces 16 plaques est illustrée dans l'onglet « Index plates » du fichier « 2-step PCR.xlsx ».
Note : Cette capacité de multiplexage peut être augmentée en dual-indexant de manière identique des marqueurs (=amplicons) différents appartenant à un même individu/échantillon.

Les amorces d'indexage i5 (x32) et i7 (x48) sont diluées à 3,5µM avant utilisation à partir des solutions stocks à 100µM :

1-Décongeler les solutions stocks (100µM) d'amorces d'indexage (congélateur du laboratoire L.1.4)
2-Centrifuger (*quick pulse*) les tubes d'amorces d'indexage avant ouverture

3-Disposer sur 2 racks 96 d'Elution Microtubes RS (Qiagen) :

- 4 barrettes de 8 tubes Elution Microtubes RS en colonne pour les index i5
- 4 barrettes de 12 tubes Elution Microtubes RS en ligne pour les index i7

4-Distribuer 400µL d'eau ultrapure dans chaque tube à l'aide d'une Multipette Eppendorf
5-Ajouter 14,6µL de chaque index dans chaque tube correspondant à l'aide d'une pipette P20 en suivant le plan suivant :

INDEX i5 (3,5µM)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	SA501			SB501			SC501			SD501		
B	SA502			SB502			SC502			SD502		
C	SA503			SB503			SC503			SD503		
D	SA504			SB504			SC504			SD504		
E	SA505			SB505			SC505			SD505		
F	SA506			SB506			SC506			SD506		
G	SA507			SB507			SC507			SD507		
H	SA508			SB508			SC508			SD508		

INDEX i7 (3,5µM)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	SA701	SA702	SA703	SA704	SA705	SA706	SA707	SA708	SA709	SA710	SA711	SA712
B												
C	SB701	SB702	SB703	SB704	SB705	SB706	SB707	SB708	SB709	SB710	SB711	SB712
D												
E	SC701	SC702	SC703	SC704	SC705	SC706	SC707	SC708	SC709	SC710	SC711	SC712
F												
G	SD701	SD702	SD703	SD704	SD705	SD706	SD707	SD708	SD709	SD710	SD711	SD712
H												

6-Boucher les barrettes avec les bouchons en caoutchouc fournis avec les Elution Microtubes RS (Qiagen)
7-Noter sur les bouchons et les barrettes les IDs des index correspondants
8-Noter sur les barrettes votre nom et la date
9-Vortexer au vortex à plaque (laboratoire L1.3) et centrifuger (*quick pulse*)
10-Stocker à -20°C entre chaque utilisation (congélateur laboratoire L1.3)

C- PCR1 : amplification du ou des gènes d'intérêt

Dans le laboratoire L1.2 sous l'enceinte PCR dédiée aux NGS :

1- Préparer des solutions d'amorces gène-spécifiques à 10µM à partir des solutions stocks à 100µM
   Pour chaque amorce mélanger 90µL d'eau ultrapure et 10µL de solution stock
2- Réaliser un master mix PCR, soit pour une microplaque 96 puits et un volume final de 10µL/puits :
   - 500µL de Mulitplex PCR Master Mix 2x (Qiagen ; 1x final)
   - 50µL de chaque solution d'amorce à 10µM (2 amorces forward et 2 amorces reverse)
3- Vortexer le master mix
4- Distribuer 7µL/puits dans une microplaque PCR 96 à l'aide d'une Multipette Eppendorf

Dans le laboratoire S.1.6 :

5- A la multicanal P10, distribuer 3µL d'ADN
6- Sceller la microplaque avec un film autocollant, vortexer et centrifuger (*quick pulse*)
7- Réaliser le programme PCR correspondant à chaque couple d'amorces gène-spécifiques utilisé :

Programme de PCR1 spécifique aux amorces Holc et LeuA :

15 min à 95 °C

30 s à 94 °C
90 s à 60 °C
90 s à 72 °C
} 35 cycles

10 min à 72 °C

A l'issu de cette PCR1, les produits PCR1 possèdent une extrémité universelle Illumina qui sera utilisée comme linker lors de la PCR2 (voir Figure 1).

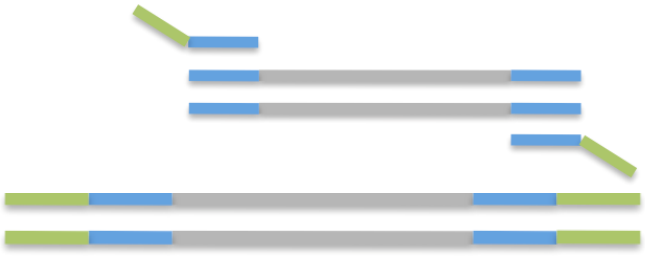


Figure 1: Schéma de l'hybridation des amorces gène-spécifiques (en haut) et de l'amplicon après PCR1 (en bas). Chaque amorce est constituée d'une séquence gène-spécifique (en bleu) en 3' qui permet l'hybridation à l'ADN cible, et d'une extrémité universelle *overhang* (en vert) en 5'. A la fin de la PCR1, chaque amplicon possède à ses extrémités les séquences des amorces de séquençage Illumina (en vert) qui sont (1) utilisées comme linkers à la PCR2 et (2) utilisées comme site d'hybridation des amorces de séquençage lors du run MiSeq.

Optionnel : Après cette étape, les produits PCR peuvent être contrôlés en déposant 3µL de tout ou partie des échantillons (mélangé à 2µL de bleu 3X) sur un gel d'agarose à 1%. Généralement seuls les produits de PCR2 sont déposés sur gel d'agarose ainsi que le témoin positif de la PCR1 pour vérifier que l'amplification de PCR2 a bien eu lieu (l'amplicon T+ post PCR1 doit avoir une taille légèrement inférieure à celui post PCR2).

D- PCR2 : Indexage des amplicons pour chaque individu/échantillon

Cette étape nécessite de remplir au préalable les plans de plaque de l'onglet « 2-step PCR » du fichier « 2-step PCR.xlsx » de manière à avoir la traçabilité de la correspondance entre chaque produit PCR et le dual-index utilisé. Les plaques PCR1 destinées à être multiplexées et séquencées sur un même run MiSeq doivent être indexées différemment. Au maximum, 16 microplaques (=1536 produits PCR) peuvent être mutliplexées sur un même run en combinant les 32 index i5 et les 48 index i7 selon le schéma suivant (voir également l'onglet « Index plates » du fichier « 2-step PCR » pour plus de détails):

	Barrettes d'amorces à combiner:	
	Index i5	Index i7
Plaque 1	SA5	SA7
Plaque 2	SA5	SB7
Plaque 3	SA5	SC7
Plaque 4	SA5	SD7
Plaque 5	SB5	SA7
Plaque 6	SB5	SB7
Plaque 7	SB5	SC7
Plaque 8	SB5	SD7
Plaque 9	SC5	SA7
Plaque 10	SC5	SB7
Plaque 11	SC5	SC7
Plaque 12	SC5	SD7
Plaque 13	SD5	SA7
Plaque 14	SD5	SB7
Plaque 15	SD5	SC7
Plaque 16	SD5	SD7

Dans le laboratoire L1.2 sous l'enceinte PCR dédiée aux NGS :

1- Distribuer 5µL de Multiplex PCR Master Mix 2X (Qiagen ; 1X final) dans une microplaque 96 « PCR2 » à l'aide d'une Multipette Eppendorf (sauf dans le puit correspondant au contrôle puits vide = un puit vide sans réactif, qui correspond au contrôle négatif d'indexage)
2- Décongeler, centrifuger (*quick pulse*) et ouvrir délicatement les barrettes d'indexage correspondant à la plaque PCR à indexer (ex : plaque 1 = barrette « bleue » de 8 tubes SA5 et barrette « bleue » de 12 tubes SA7)

3- A l'aide d'une pipette P10 multicanal 8 canaux, distribuer 2µL/puit des 8 amorces d'indexage i5 (3,5µM initial ; 0,7µM final) dans les 12 colonnes 1 à 12 (voir Figure 2)
4- A l'aide d'une pipette P10 multicanal 12 canaux, distribuer 2µL/puit des 12 amorces d'indexage i7 (3,5µM initial ; 0,7µM final) dans les 8 lignes A à H en changeant de pointes pour chaque ligne afin d'éviter les contaminations croisées entre index.

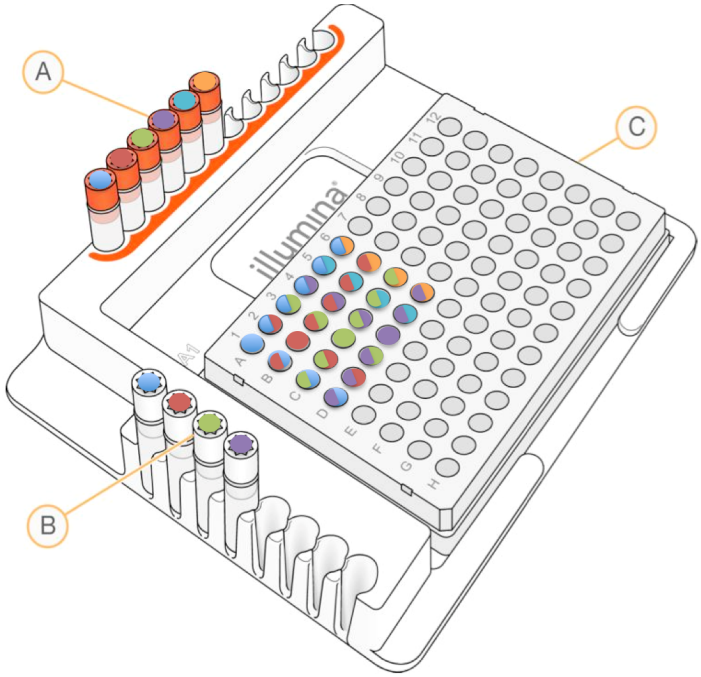


Figure 2 : Exemple de schéma de distribution d'index i7 (A) et i5 (B) permettant de créer des dual-index i5/i7 différent dans chaque puits d'une microplaque 96 PCR (C). Chaque index est symbolisé ici par une couleur différente, la combinaison de 2 couleurs dans les puits étant unique pour chaque puits (source : Illumina).

5- Sceller la microplaque avec un film aluminium autocollant

Dans le laboratoire post PCR L1.7 sur le poste dédié aux NGS :

6- Centrifuger (*quick pulse*) la plaque PCR1 correspondante et retirer le film autocollant des 2 plaques (PCR1 et PCR2)
7- A l'aide d'une pipette P10 multicanal 8 canaux et de pointes à filtres, transférer 1µL/puit des produits PCR1 dans la microplaque PCR2
8- Sceller la microplaque PCR2, vortexer et centrifuger (*quick pulse*)
9- Réaliser le programme PCR d'indexage suivant :

Dénaturation initiale:	95°C	15min	
Dénaturation:	95°C	40s	10 cycles
Hybridation:	55°C	45s	
Elongation:	72°C	60s	
Elongation finale:	72°C	10min	
	10°C		

A l'issue de la PCR2, les produits PCR présentent une construction complète compatible avec les séquenceurs Illumina (Figure 3).

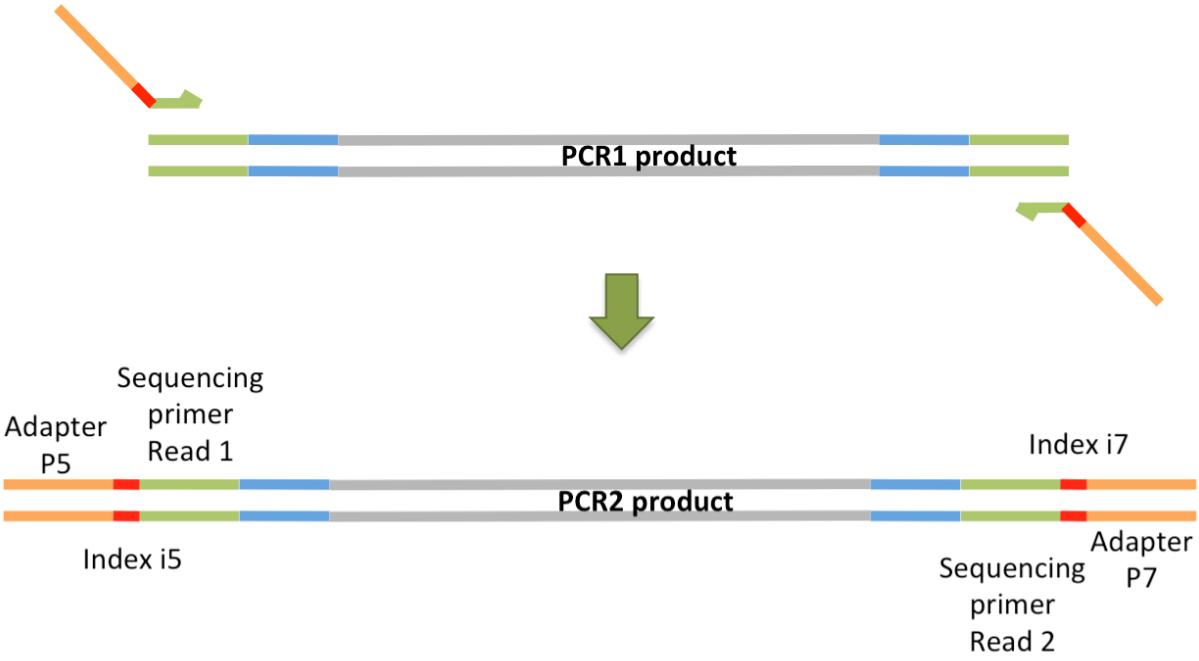


Figure 3 : Schéma de l'hybridation des amorces d'indexage (en haut) et de l'amplicon après PCR2 (en bas). La partie en 3' de chaque amorce (en vert) permet l'hybridation aux produits PCR1. A la fin de la PCR2, les amplicons possèdent à leurs extrémités les séquences des adaptateurs P5 et P7 Illumina (en orange), les index de multiplexage (en rouge) et les séquences complémentaires aux amorces de séquençage Illumina (en vert).

Optionnel : si le nombre de dual-index est insuffisant (plus de 1536 produits PCR sur un run) et que plusieurs marqueurs différents sont amplifiés pour le même individu/échantillon, il est possible d'utiliser les mêmes dual-index pour des marqueurs différents d'un même individu/échantillon. Les marqueurs différents d'un même échantillon devront alors être démultiplexés par une étape bioinformatique supplémentaire, le logiciel du MiSeq ne gérant pas ce type de démultiplexage. Ceci peut être effectué dans le cadre de la recherche des MLST de *Xyllela fastidiosa* en utilisant les mêmes combinaisons d'index pour le réplicat X d'un individus X pour le gène LeuA et pour le gène HolC, les amorces de ces deux gènes ne pouvant pas être utilisées directement en duplex PCR.

E- Contrôle des produits de PCR1 et de PCR2 sur gel d'agarose

Cette étape permet de vérifier le décalage de taille entre les amplicons de la PCR1 et de la PCR2 pour s'assurer que les index et adaptateurs ont bien été ajoutés. Ce contrôle peut être réalisé sur quelques échantillons par plaque, incluant également les contrôles négatifs et positifs pour d'une part s'assurer de l'absence de contaminations et d'autre part valider l'efficacité des PCR. La différence de taille entre les amplicons de la PCR1 et de la PCR2 est de 69pb.

Dans le cadre des recherches sur *Xylella* tous les produits de PCR2 sont déposés ainsi que le témoin positif de PCR1 pour vérifier le décalage de taille entre les amplicons. Les résultats

des gels sont utilisés pour déterminer si un échantillon (un insecte, ici *Philaenus spumarius* ou une cigale) est négatif ou positif à la bactérie *Xylella fastidiosa*.

Dans les laboratoires d'électrophorèse L1.6 et post PCR L1.7 sur le poste dédié aux NGS :

1-Préparer un gel d'agarose à 1% standard
2-Dans une microplaque 96 PCR, distribuer 2µL de bleu de charge 3x
3-Ajouter 3µL des produits PCR à contrôler
4-Centrifuger la microplaque (*quick pulse*)
5-Déposer les 5µL de produits PCR + bleu de charge (en intercalant les PCR1 et PCR2 d'un même échantillon de manière à faciliter la mise en évidence de l'augmentation des tailles lors de la lecture du gel)
6-Ajouter un marqueur de taille par ligne de dépôt sur le gel
7-Laisser migrer au minimum 35 min à 100 V
8-Immerger le gel dans un bain de BET pour marquer l'ADN pendant 20 min au minimum
9-Révéler le gel sous UV et prendre une photo (ex. Figure 4)

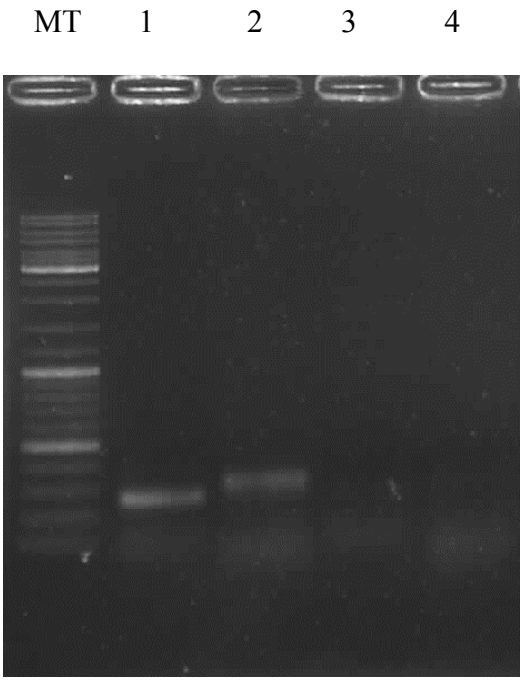


Figure 4 : Photo de gel d'agarose d'un échantillon amplifié en 2-step PCR. MT : marqueur de taille ; 1 : PCR1 du gène cytochrome *b* (243pb) ; 1 : PCR2 d'indexage (312pb) ; 3 et 4 : contrôle négatif d'extraction des PCR1 et PCR2 respectivement.

F- Pooling des produits PCR2

Une fois les produits PCR2 contrôlés sur gel d'agarose pour chaque microplaque 96, ils peuvent être mélangés ensemble volume à volume.

Note : Dans le cas du séquençage de plusieurs marqueurs différents sur un même run, faire un pool par marqueur. Cela permet de réaliser une quantification Kapa par marqueur pour compenser par la suite les différences de quantité de fragments entre marqueur. Ces différences sont liées à la longueur de chaque marqueur ainsi qu'au rendement des PCR propre à chaque marqueur. Après dosage Kapa (voir paragraphe I), les pools de chaque marqueur pourront être normalisés avec pondération par leur taille respective avant séquençage de manière à obtenir le nombre de reads souhaité pour chaque marqueur, et ainsi éviter des biais important en terme de nombre de reads par marqueur.

Dans le laboratoire post PCR L1.7 sur le poste dédié au NGS :

1- Prendre une barrette de 8 tubes 1,5mL Eppendorf low binding sur un support.
2- A la multicanal P10 munie de pointes à filtres, prélever 1µL de chaque colonne 1 à 12 et pooler le 1µL dans la barrette
3- Vortexer et centrifuger la barrette de tubes (ou les barettes de tubes si il en faut plusieurs) et mettre tout le volume de chaque tube de la barrette dans un tube 1,5mL Eppendorf low binding.

G- Excision sur gel

Cette étape vise à éliminer les résidus d'amorces, de dimères d'amorces et d'éventuelles amplifications non-spécifiques du pool final avant le dosage Kapa et le séquençage MiSeq.

Dans le laboratoire post PCR d'électrophorèse L1.6 puis dans la salle BET S1.20:

1- Peser un tube Falcon 10mL (ou un tube de 2mL Eppendorf, en fonction de la quantité de gel à exciser – le Falcon de 10mL est recommandé pour une première expérience)
2- Rincer une cuve d'électrophorèse et la remplir de TAE 0,5X neuf
3- Préparer un gel à 1,25% d'agarose « Low Range Ultra Agarose » (BioRad) TAE 0,5X de 10cm de long environ et assez épais. Faire un puit de grande capacité en scotchant ensemble deux puits du peigne
4- Ajouter 10µL de Orange-G Loading Dye (NEB) au 60µL de pool final
5- Charger la totalité des 70µL sur gel
6- Si il y a peu d'échantillons positifs, faire migrer 3*70µL dans trois puits.
7- Charger 5µL de marqueur de taille (100bp ladder Invitrogen) dans des puits adjacents en laissant 2 puits libres de part et d'autre de la librairie pour éviter toute contamination à la découpe
8- Migrer à 135V 15 min puis à 100V pendant environ 45min dans du TAE 0,5X, jusqu'à ce que le Orange-G soit au ¾ du gel
9- Déposer le gel dans un couvercle de P1000, immerger d'eau osmosée + 5 gouttes de BET et homogénéiser par agitation
10- Incuber 20min environ
11- Recouvrir la table UV de cellophane pour éviter de cross-contaminer le gel avec des résidus de librairies anciennes, et déposer le gel
12- Prendre une photo avant découpe sur gel pour visualiser la quantité de matériel dans l'intervalle de taille souhaité (voir exemple Figure 5)
13- Se protéger les yeux avec un masque adapter, mettre les UV en marche forcée et découper sur gel une fine bande à la taille attendue à l'aide d'un scalpel neuf
14- Placer le produit d'excision dans le tube Falcon 10mL préalablement pesé ;
15- Prendre une photo du gel après excision (voir exemple Figure 5).

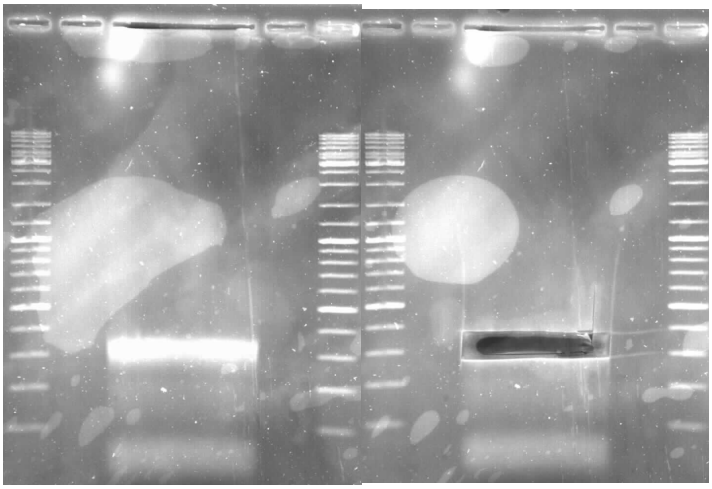


Figure 5 : Photo du pool final avant (à gauche) et après (à droite) excision sur gel d'agarose

H- Purification du gel sur colonne Machery-Nagel Nucleospin Extract II Clean-up

Dans le laboratoire post PCR L1.7 sur le poste dédié au NGS :

1- Peser le tube avec le bout de gel excisé pour calculer la quantité de tampon NT1 à ajouter
2- Ajouter l'équivalent de 200µL de tampon NT1 pour 100mg de gel
3- Vortexer régulièrement jusqu'à dissolution complète du gel (environ 5min)
Note : cette étape peut être réalisée dans un Thermomixer à 55°C pour accélérer la dissolution
4- Déposer au maximum 700µL sur la colonne (éluer en plusieurs fois si nécessaire)
5- Centrifuger 1min à 11.000g
6- Répéter les deux étapes précédentes pour l'ensemble du volume de tampon NT1 + gel, en vidant l'éluât du tube poubelle à chaque centrifugation
7- Laver avec 700µL de tampon NT3
8- Centrifuger 1min à 11.000g
9- Laver avec 700µL de tampon NT3
10- Centrifuger 1min à 11.000g
11- Sécher la colonne en centrifugeant 2min à 11.000g
12- Laisser la colonne ouverte 1 à 2 min pour évaporer les résidus d'éthanol
13- Déposer 15µL de tampon d'élution NE sur la colonne. Incuber 1min à température ambiante puis centrifuger 1min à 11.000g
14- Répéter l'étape ci-dessus : déposer 15µL de tampon d'élution NE sur la colonne. Incuber 1min à température ambiante puis centrifuger 1min à 11.000g

Le produit d'excision purifié est déposé sur puce DNA High Sensitivity Bioanalyzer (un dosage Qubit peut-être effectué pour vérifier la concentration et diluer 1µL de la librairie avant de la déposer pour que la concentration soit dans la gamme de la puce) pour vérifier l'absence de résidus de dimères d'amorces et de bandes non-spécifiques (exemple Figure 6).

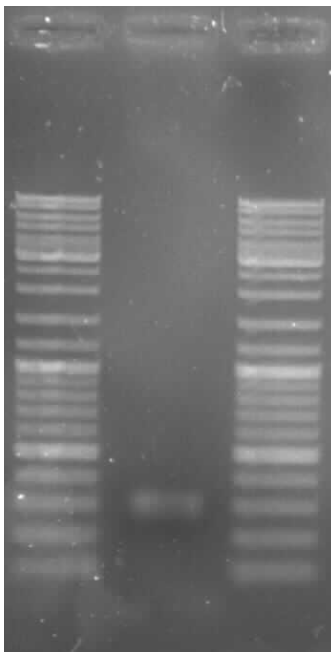


Figure 6 : Contrôle qualité sur gel d'agarose de la librairie amplicon finale

Si plusieurs dépôts sur gel ont été effectuer, reconcentrer la librairie sur billes (1V d'ADN :1,8V de billes) dans 30µL.
La librairie est prête à être dosée par qPCR (kit Kapa Biosciences), normalisée à 4nM puis séquencée sur MiSeq.

I- A prévoir avant séquençage

1- Réaliser un dosage qPCR Kapa (voir protocole Kapa Biosciences) et calculer la concentration de la ou des librairies en pondérant par la taille totale des fragments (adaptateurs et index inclus). Ce type de librairie étant très concentré, il est recommandé de diluer un alicot au 1/50^{e} avant les dilutions recommandées par Kapa Biosciences (e.g. 1/500^{e} et 1/5000^{e}).
2- Normaliser la ou les librairies à 4nM en diluant avec de l'eau ultrapure
3- Dans le cas du séquençage de plusieurs libraries, pooler les librairies avec des volumes correspondant aux proportions de reads souhaitées pour chaque librairie
4- Remplir la feuille de route de l'onglet « Sample Sheet » du fichier « 2-step PCR.xlsx », enregistrer au format « texte séparateur de points-virgules » puis remplacer les points virgules par des virgules dans un éditeur de texte
5- Tester la compatibilité de la feuille de route dans le logiciel IEM (Illumina) sur le poste informatique CBGP BM4 de la salle informatique S1.21
6- Remplir la fiche de dilution de librairie MiSeq correspondante à la plateforme de séquençage utilisée (Cirad AGAP, INRA AGAP ou GenSeq).
7- Pour un premier run, charger 5% de PhiX et au maximum 10pM final de librairie pour obtenir (1) environ 10 millions de reads (550 K clusters/mm^2) pour les kits v2 ou (2) 18 millions de reads (800 K clusters/mm^2) pour les kits v3. Pour des librairies amplicons (=faible diversité), une trop forte concentration/densité peut affecter dramatiquement la qualité des reads.

Informations complémentaires

Consulter les manuels du kit Kapa (Kapa Biosciences), du logiciel Illumina IEM et se rapprocher des personnes ressources compétentes.

Bibliographie

Galan M, Pons JB, Tournayre O, Pierre E, Leuchtmann M, Pontier D, Charbonnel N. 2018. Metabarcoding for the parallel identification of several hundred predators and their prey: application to bat species diet analysis. *Molecular Ecology Resources*. doi: 10.1111/1755-0998.12749

Kozich, J.J, Westcott S.L, Baxter N.T, Highlander S.K, Schloss P.D. 2013. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(17), 5112–5120. https://doi.org/10.1128/aem.01043-13

Annexe 1 : ID et séquences des amorces indexées de la PCR2

Primers i5 (5' --> 3'):

Index ID	Adapter P5	Index i5	Linker F
SA501	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	ATCGTACG	TCGTCGGCAGCGTC
SA502	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	ACTATCTG	TCGTCGGCAGCGTC
SA503	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TAGCGAGT	TCGTCGGCAGCGTC
SA504	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CTGCGTGT	TCGTCGGCAGCGTC
SA505	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TCATCGAG	TCGTCGGCAGCGTC
SA506	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CGTGAGTG	TCGTCGGCAGCGTC
SA507	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	GGATATCT	TCGTCGGCAGCGTC
SA508	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	GACACCGT	TCGTCGGCAGCGTC
SB501	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CTACTATA	TCGTCGGCAGCGTC
SB502	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CGTTACTA	TCGTCGGCAGCGTC
SB503	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	AGAGTCAC	TCGTCGGCAGCGTC
SB504	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TACGAGAC	TCGTCGGCAGCGTC
SB505	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	ACGTCTCG	TCGTCGGCAGCGTC
SB506	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TCGACGAG	TCGTCGGCAGCGTC
SB507	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	GATCGTGT	TCGTCGGCAGCGTC
SB508	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	GTCAGATA	TCGTCGGCAGCGTC
SC501	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	ACGACGTG	TCGTCGGCAGCGTC
SC502	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	ATATACAC	TCGTCGGCAGCGTC
SC503	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CGTCGCTA	TCGTCGGCAGCGTC
SC504	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CTAGAGCT	TCGTCGGCAGCGTC
SC505	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	GCTCTAGT	TCGTCGGCAGCGTC
SC506	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	GACACTGA	TCGTCGGCAGCGTC
SC507	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TGCGTACG	TCGTCGGCAGCGTC
SC508	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TAGTGTAG	TCGTCGGCAGCGTC
SD501	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	AAGCAGCA	TCGTCGGCAGCGTC
SD502	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	ACGCGTGA	TCGTCGGCAGCGTC
SD503	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CGATCTAC	TCGTCGGCAGCGTC
SD504	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TGCGTCAC	TCGTCGGCAGCGTC
SD505	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	GTCTAGTG	TCGTCGGCAGCGTC
SD506	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CTAGTATG	TCGTCGGCAGCGTC
SD507	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	GATAGCGT	TCGTCGGCAGCGTC
SD508	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TCTACACT	TCGTCGGCAGCGTC

Primers i7 (5' --> 3'):

Index ID	Adapter P7	Index i7	Linker R
SA701	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	AACTCTCG	GTCTCGTGGGCTCGG
SA702	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	ACTATGTC	GTCTCGTGGGCTCGG
SA703	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	AGTAGCGT	GTCTCGTGGGCTCGG
SA704	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CAGTGAGT	GTCTCGTGGGCTCGG
SA705	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CGTACTCA	GTCTCGTGGGCTCGG
SA706	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CTACGCAG	GTCTCGTGGGCTCGG
SA707	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GGAGACTA	GTCTCGTGGGCTCGG
SA708	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GTCGCTCG	GTCTCGTGGGCTCGG
SA709	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GTCGTAGT	GTCTCGTGGGCTCGG
SA710	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TAGCAGAC	GTCTCGTGGGCTCGG
SA711	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TCATAGAC	GTCTCGTGGGCTCGG
SA712	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TCGCTATA	GTCTCGTGGGCTCGG
SB701	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	AAGTCGAG	GTCTCGTGGGCTCGG
SB702	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	ATACTTCG	GTCTCGTGGGCTCGG

SB703	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	AGCTGCTA	GTCTCGTGGGCTCGG
SB704	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CATAGAGA	GTCTCGTGGGCTCGG
SB705	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CGTAGATC	GTCTCGTGGGCTCGG
SB706	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CTCGTTAC	GTCTCGTGGGCTCGG
SB707	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GCGCACGT	GTCTCGTGGGCTCGG
SB708	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GGTACTAT	GTCTCGTGGGCTCGG
SB709	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GTATACGC	GTCTCGTGGGCTCGG
SB710	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TACGAGCA	GTCTCGTGGGCTCGG
SB711	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TCAGCGTT	GTCTCGTGGGCTCGG
SB712	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TCGCTACG	GTCTCGTGGGCTCGG
SC701	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	ACCTACTG	GTCTCGTGGGCTCGG
SC702	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	AGCGCTAT	GTCTCGTGGGCTCGG
SC703	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	AGTCTAGA	GTCTCGTGGGCTCGG
SC704	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CATGAGGA	GTCTCGTGGGCTCGG
SC705	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CTAGCTCG	GTCTCGTGGGCTCGG
SC706	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CTCTAGAG	GTCTCGTGGGCTCGG
SC707	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GAGCTCAT	GTCTCGTGGGCTCGG
SC708	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GGTATGCT	GTCTCGTGGGCTCGG
SC709	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GTATGACG	GTCTCGTGGGCTCGG
SC710	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TAGACTGA	GTCTCGTGGGCTCGG
SC711	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TCACGATG	GTCTCGTGGGCTCGG
SC712	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TCGAGCTC	GTCTCGTGGGCTCGG
SD701	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	ACCTAGTA	GTCTCGTGGGCTCGG
SD702	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	ACGTACGT	GTCTCGTGGGCTCGG
SD703	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	ATATCGCG	GTCTCGTGGGCTCGG
SD704	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CACGATAG	GTCTCGTGGGCTCGG
SD705	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CGTATCGC	GTCTCGTGGGCTCGG
SD706	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	CTGCGACT	GTCTCGTGGGCTCGG
SD707	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GCTGTAAC	GTCTCGTGGGCTCGG
SD708	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GGACGTTA	GTCTCGTGGGCTCGG
SD709	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	GGTCGTAG	GTCTCGTGGGCTCGG
SD710	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TAAGTCTC	GTCTCGTGGGCTCGG
SD711	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TACACAGT	GTCTCGTGGGCTCGG
SD712	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	TTGACGCA	GTCTCGTGGGCTCGG

Annexe 2 : Plan de plaque type (expérimentations *Xylella fastidiosa*)

Plan de plaque PCR1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
individu_01	individu_09	individu_17	individu_25	individu_31	individu_39	individu_47	individu_55	individu_61	individu_69	individu_77	individu_85
individu_02	individu_10	individu_18	individu_26	individu_32	individu_40	individu_48	individu_56	individu_62	individu_70	individu_78	individu_86
individu_03	individu_11	individu_19	individu_27	individu_33	individu_41	individu_49	individu_57	individu_63	individu_71	individu_79	individu_87
individu_04	individu_12	individu_20	individu_28	individu_34	individu_42	individu_50	individu_58	individu_64	individu_72	individu_80	individu_88
individu_05	individu_13	individu_21	individu_29	individu_35	individu_43	individu_51	individu_59	individu_65	individu_73	individu_81	individu_89
individu_06	individu_14	individu_22	individu_30	individu_36	individu_44	individu_52	individu_60	individu_66	individu_74	individu_82	individu_90
individu_07	individu_15	individu_23	Témoin négatif extraction	individu_37	individu_45	individu_53	Témoin négatif extraction	individu_67	individu_75	individu_83	Témoin négatif PCR 1
individu_08	individu_16	individu_24		individu_38	individu_46	individu_54		individu_68	individu_76	individu_84	Témoin positif (cible synthétique)

Plan de plaque PCR2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
individu_01	individu_09	individu_17	individu_25	individu_31	individu_39	individu_47	individu_55	individu_61	individu_69	individu_77	individu_85
individu_02	individu_10	individu_18	individu_26	individu_32	individu_40	individu_48	individu_56	individu_62	individu_70	individu_78	individu_86
individu_03	individu_11	individu_19	individu_27	individu_33	individu_41	individu_49	individu_57	individu_63	individu_71	individu_79	individu_87
individu_04	individu_12	individu_20	individu_28	individu_34	individu_42	individu_50	individu_58	individu_64	individu_72	individu_80	individu_88
individu_05	individu_13	individu_21	individu_29	individu_35	individu_43	individu_51	individu_59	individu_65	individu_73	individu_81	individu_89
individu_06	individu_14	individu_22	individu_30	individu_36	individu_44	individu_52	individu_60	individu_66	individu_74	individu_82	individu_90
individu_07	individu_15	individu_23	Témoin négatif extraction	individu_37	individu_45	individu_53	Témoin négatif extraction	individu_67	individu_75	individu_83	Témoin négatif PCR 1
individu_08	individu_16	individu_24	Témoin négatif PCR 2	individu_38	individu_46	individu_54	Contrôle puits vide	individu_68	individu_76	individu_84	Témoin positif (cible synthétique)

3 Test préliminaire de la PCR digitale

La PCR digitale, méthode développée avant la qPCR, est utilisée en médecine pour la détection d'évènements rares [Simmonds et al., 1990] et elle connaît un essor plus important depuis quelques années avec l'avancée technologique qui facilite les manipulations et rend également les expérimentations moins coûteuses et plus rapide [The dMIQE Group et al., 2020]. Brièvement cette méthode partitionne l'échantillon à analyser en milliers de sous-échantillons dans des puits séparés. La réaction de PCR est donc réalisée au sein de chaque puits et à l'aide de sondes ou d'intercalants, les puits positifs avec une amplification PCR, sont mis en évidence. Cette méthode permet donc de réaliser une détection mais également de quantifier l'ADN. Dans le cadre du projet sur la bactérie *Xylella fastidiosa*, cette méthode a été testée de façon exploratoire et sur un nombre réduit d'échantillons afin de comparer ces résultats à ceux de la PCR en 2 étapes. Néanmoins, aucune mise au point de la méthode n'a été effectuée par manque de temps et parce que les coûts restent relativement élevés. En effet, une fois la PCR digitale mise en application sur l'ensemble des échantillons, les échantillons positifs doivent être ré-amplifier avec le protocole de PCR en deux étapes présenté précédemment afin d'être séquencés pour avoir une indication sur la sous-espèce de *Xylella fastidiosa*. Ce « double-protocole » constitue une limite dans la mise en œuvre de cette méthode aujourd'hui bien que les coûts de la PCR digitale soient amenés à diminuer.

Néanmoins, ce test permet d'avoir un aperçu sur la sensibilité de la PCR digitale par rapport à la PCR en deux étapes. De plus, les expérimentations de PCR en deux étapes sont réalisées en quadriplicat avec 3 µL d'ADN par réplicat alors que la PCR digitale permet d'utiliser 12 µL d'ADN en une seule réaction. Ainsi, cette méthode permet de s'affranchir des réplicats puisque 12 µL d'ADN peuvent être testés et que cet échantillon est partitionné en milliers de « micro milieux réactionnels ». Néanmoins, l'ensemble des 12 µL ne sont pas utilisés puisque le volume mort est d'environ 50 % (pers. com. Présentation réalisée par un collaborateur Qiagen®).

3.1 Matériels et méthodes

Afin de réaliser ce test, des échantillons analysés en PCR en deux étapes ont été réutilisés pour la PCR digitale. Ainsi, 2 ADN de cigales prélevées en Corse, 6 ADN de *Philaenus spumarius* prélevés en Corse (4), en Nouvelle-Aquitaine (1) et en PACA (1), l'ADN d'un *Graphocephala atropunctata* positif à *Xylella fastidiosa* (vérifier avec la méthode de capture d'exons – non présentée dans ce manuscrit de thèse) ainsi que des dilutions de cibles synthétiques ont été utilisés pour l'expérimentation.

Les échantillons ont été sélectionnés afin d'avoir une représentativité des situations, c'est-à-dire :

- Des échantillons avec des réplicats sur gel en PCR en deux étapes et positifs au séquençage
- Des échantillons sans réplicats sur gel et donc négatifs (non séquencés)
- Des échantillons avec une bande sur gel de faible intensité appelés « douteux » et négatif au séquençage.

De plus, l'utilisation de cibles synthétiques permet à la fois de confirmer le bon déroulement de l'expérimentation et également de quantifier les dilutions. Dans le cadre de ce test des dilutions avec 1000 cibles, 100 cibles et 10 cibles dans de l'eau ont été utilisées.

Les échantillons négatifs ont été testés une seule fois avec 12µL d'ADN de départ et les échantillons avec des bandes sur gels (qu'ils soient positifs ou négatifs au séquençage) ont été testés deux fois : une fois en utilisant 12µL d'ADN et une fois en utilisant 3µL d'ADN. Ces deux conditions visent à « mimer » les 4 réplicats de la PCR en 2 étapes (12µL) et un seul réplicat (3µL). Ce double dépôt doit aussi permettre d'évaluer si il y a une différence de détection en fonction de la quantité d'ADN de départ. L'échantillon positif d'ADN de graphocephala a été déposé une seule fois avec 3µL d'ADN de départ et un témoin négatif a été ajouté à l'expérimentation.

Dans le cadre de cette expérimentation, la machine QIAcuity Qiagen® a été utilisée avec une nanoplaque 24 puits et 26 000 partitions pour chaque puits.

Un mix de PCR est préparé avec les amorces de PCR d'amplification du gène *LeuA* (identiques à celles utilisées en PCR en deux étapes sans la partie qui permet l'accrochage du second primer de PCR 2) et le Master Mix 3X EvaGreen qui contient à la fois les réactifs de PCR et l'intercalant qui permet de révéler les résultats.

Mix réactionnel de la PCR :

Solution d'amorce forward *LeuA* (10 µM)	2 µL
Solution d'amorce reverse *LeuA* (10 µM)	2 µL
Master Mix 3X EvaGreen	13,3 µL
ADN extrait et purifié	3 µL ou 12 µL selon le plan d'expérimentation
Eau ultra pure	qsp 40 µL

Les microplaques sont remplies et sont ensuite prises en charge par la machine QIAcuity Qiagen® dans laquelle un thermocycleur permet de réaliser les PCRs et une lampe permet de les révéler. Les résultats sont ensuite transférés sur un ordinateur connecté au QIAcuity Qiagen® et analysés avec un logiciel spécifique.

Le programme PCR utilisé est le suivant :

1 cycle :

==95°C 2 min==

puis 35 cycles :

95°C 15 sec

60°C 15 sec

72°C 45 sec

(un temps d'élongation plus important a été utilisé parce que l'amplicon est plus long que ce qui est généralement conseillé en PCR digital.)

puis 1 cycle :

==40°C 5min==

3.2 Résultats

Les résultats de la PCR digitale sont présenté dans le tableau ci-dessous :

Nom échantillon	**Quantité ADN départ pour la PCR digitale en µL**	**Résultats gels PCR en deux étapes**	**Résultats séquençage après PCR en deux étapes**	**Résultats PCR digitale**
XMES00631_0101	12	Négatif	Négatif	Négatif
XMES00643_0104	12	Négatif	Négatif	Négatif
RKRU00001_0101	3	NA	Positif	Positif
XMES02120_0102	12	Négatif	Négatif	Négatif
XMES02120_0102	3	Négatif	Négatif	Négatif
MCHA00446_0104	12	Négatif	Négatif	Négatif
MCHA00650_0103	12	Négatif	Négatif	Négatif
MCHA00650_0103	3	Négatif	Négatif	Négatif
XMES00876_0117	12	4 réplicats	Positif	Positif
XMES00876_0117	3	4 réplicats	Positif	Positif
XMES00876_0116	12	1 réplicat	Positif	Négatif
XMES00876_0116	3	1 réplicat	Positif	Négatif
XMES00863_0105	12	Négatif	Négatif	Négatif
JRAS07930_0109	12	1 réplicat « douteux »	Négatif	Négatif
JRAS07930_0109	3	1 réplicat « douteux »	Négatif	Négatif
XMES00873_0114	12	1 réplicat	Négatif	Négatif
XMES00873_0114	3	1 réplicat	Négatif	Négatif
Dilution_10_cibles_01	12	NA	NA	Positif
Dilution_10_cibles_02	12	NA	NA	Positif
Dilution_100_cibles_01	12	NA	NA	Positif
Dilution_100_cibles_02	12	NA	NA	Positif
Dilution_1000_cibles_01	12	NA	NA	Positif
Dilution_1000_cibles_02	12	NA	NA	Positif
Témoin négatif PCR digitale	12	NA	NA	Négatif

Annexe C

Documents complémentaires pour l'étude des réseaux d'interactions impliquant *Xylella fastidiosa*

1 Dates de collectes des insectes

Session	**Région**	**Date de l'échantillonnage**
Automne 2020	PACA	Du 23 au 26 septembre
	Occitanie	Du 14 au 18 septembre
	Nouvelle-Aquitaine	Le 29 et 30 septembre et du 10 au 12 octobre
Printemps 2021	PACA	Du 12 au 15 avril
	Occitanie	Le 19, 22 et 23 avril
	Nouvelle-Aquitaine	Du 4 au 9 mai
Automne 2021	Nouvelle-Aquitaine	Du 6 au 12 octobre
	Occitanie	Du 18 au 20 octobre
	PACA	Du 25 au 28 octobre

2 Écosystèmes prospectés pour chaque campagne d'échantillonnage

Region	Ecosysteme	Nb_sites _automne_2020	Nb_sites _printemps_2021	Nb_sites _automne_2021
NAQ	Foret	22	19	24
NAQ	Luzerne	3	2	7
NAQ	Oliveraie	0	0	0
NAQ	Prairie	21	29	30
NAQ	Ripisylve	7	8	8
NAQ	Vigne	29	25	29
Occitanie	Foret	12	4	5
Occitanie	Luzerne	4	0	3
Occitanie	Oliveraie	3	1	5
Occitanie	Prairie	2	10	9
Occitanie	Ripisylve	3	3	4
Occitanie	Vigne	12	12	12
PACA	Foret	11	10	9
PACA	Luzerne	2	0	5
PACA	Oliveraie	3	4	6
PACA	Prairie	7	8	11
PACA	Ripisylve	8	5	8
PACA	Vigne	16	14	20

3 Liste des spécimens analysés en biologie moléculaire pour la détection de *Xylella fastidiosa* selon les espèces d'insectes et les régions et écosystèmes de prélèvement

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2020	XMES01968	12	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01969	5	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01970	13	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02063	16	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02064	14	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02074	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02078	13	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02079	12	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02080	3	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01939	6	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01941	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01945	5	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01950	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2020	XMES01958	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01960	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01967	2	Lepyronia coleoptrata	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02025	8	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02032	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02037	3	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02041	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02048	7	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02051	4	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02056	3	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02099	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02101	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02114	7	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02125	3	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02127	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02130	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2020	XMES02132	6	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02134	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01552	2	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2020	XMES01557	3	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2020	XMES01560	2	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2020	XMES01652	9	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01656	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01657	6	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01690	1	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Lande
Automne_2020	XMES01698	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Chenaie
Automne_2020	XMES01700	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Chenaie
Automne_2020	XMES01693	7	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Coniferes
Automne_2020	XMES01694	6	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Coniferes
Automne_2020	XMES01654	2	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01664	2	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01676	7	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Prairie

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2020	XMES01685	4	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01976	12	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01977	14	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01981	4	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02104	12	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02110	7	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02112	11	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01953	7	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2020	XMES01965	16	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01997	9	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2020	XMES01993	1	Aphrophora alni	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01975	1	Lepyronia coleoptrata	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01980	3	Lepyronia coleoptrata	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01999	2	Lepyronia coleoptrata	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02003	4	Lepyronia coleoptrata	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02015	5	Lepyronia coleoptrata	Nouvelle-Aquitaine	Prairie

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2020	XMES02045	1	Aphrophora alni	Nouvelle-Aquitaine	Chenaie
Automne_2020	XMES02093	4	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02094	7	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02095	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02117	7	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2020	XMES02120	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2020	XMES02138	1	Aphrophora alni	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02142	1	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02146	1	Cicadella viridis	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02135	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02139	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02143	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02144	5	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02147	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	MCHA00636	1	Philaenus spumarius	PACA	Chenaie
Automne_2020	MCHA00641	4	Philaenus spumarius	PACA	Prairie

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2020	MCHA00646	6	Philaenus spumarius	PACA	Prairie
Automne_2020	MCHA00650	6	Philaenus spumarius	PACA	Prairie
Automne_2020	MCHA00638	1	Philaenus spumarius	PACA	Ripisylve
Automne_2020	MCHA00640	1	Philaenus spumarius	PACA	Ripisylve
Automne_2020	XMES02026	1	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02088	1	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02115	1	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES02133	1	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2020	XMES01558	2	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2020	XMES01561	5	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2020	XMES01563	1	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2020	XMES01653	8	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01658	6	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01667	3	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01675	13	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01689	1	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Lande

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2020	XMES01688	8	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Lande
Automne_2020	XMES01691	3	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Lande
Automne_2020	XMES01692	1	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Coniferes
Automne_2020	XMES01696	8	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Coniferes
Automne_2020	XMES01695	5	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Coniferes
Automne_2020	XMES01683	5	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES01686	3	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02005	16	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	XMES02008	14	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2020	MCHA00642	7	Neophilaenus campestris	PACA	Prairie
Automne_2020	MCHA00647	18	Neophilaenus campestris	PACA	Prairie
Automne_2020	MCHA00651	5	Neophilaenus campestris	PACA	Prairie
Automne_2020	XMES01994	1	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Chenaie
Automne_2020	MCHA00686	1	Philaenus spumarius	PACA	Coniferes
Automne_2020	MCHA00689	4	Philaenus spumarius	PACA	Prairie
Automne_2020	MCHA00675	5	Philaenus spumarius	PACA	Ripisylve

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2020	MCHA00656	2	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2020	MCHA00660	1	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2020	MCHA00667	2	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2020	MCHA00679	5	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2020	MCHA00682	1	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2020	MCHA00718	2	Philaenus spumarius	PACA	Luzerne
Automne_2020	MCHA00709	3	Philaenus spumarius	PACA	Ripisylve
Automne_2020	MCHA00710	3	Philaenus spumarius	PACA	Ripisylve
Automne_2021	XMES03098	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2021	XMES03099	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2021	MCHA00787	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00799	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00831	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2021	MCHA00832	5	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2021	MCHA00837	10	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2021	MCHA00827	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne

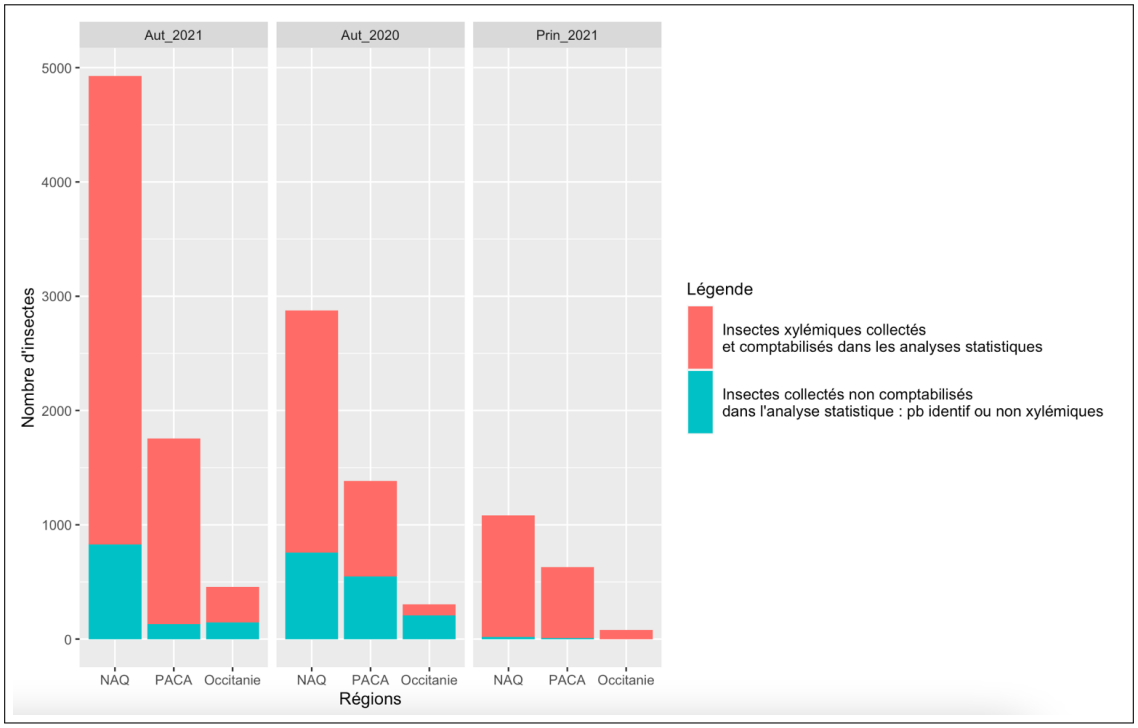
Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2021	MCHA00724	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	MCHA00725	14	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	MCHA00726	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES03033	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES03034	4	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES03038	11	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES03083	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2021	XMES03084	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Luzerne
Automne_2021	XMES03031	5	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00744	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00746	1	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	XMES03046	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES03047	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES03163	5	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES03167	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES03187	10	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2021	XMES03146	18	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	XMES03156	12	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	XMES03176	17	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	XMES03178	11	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	XMES03179	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	XMES02961	20	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES02971	10	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES02996	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	XMES02997	15	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Prairie
Automne_2021	MCHA00878	1	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00859	1	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00871	1	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00873	20	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00876	3	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00882	9	Neophilaenus campestris	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00877	1	Philaenus spumarius	PACA	Vigne

Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2021	MCHA00857	1	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00858	5	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00860	2	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00861	1	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00872	1	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00875	1	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2021	MCHA00881	2	Philaenus spumarius	PACA	Vigne
Automne_2021	XMES03145	18	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	XMES03155	4	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00839	5	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00748	7	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00751	2	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00769	3	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00775	10	Philaenus spumarius	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00734	1	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00736	1	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Vigne

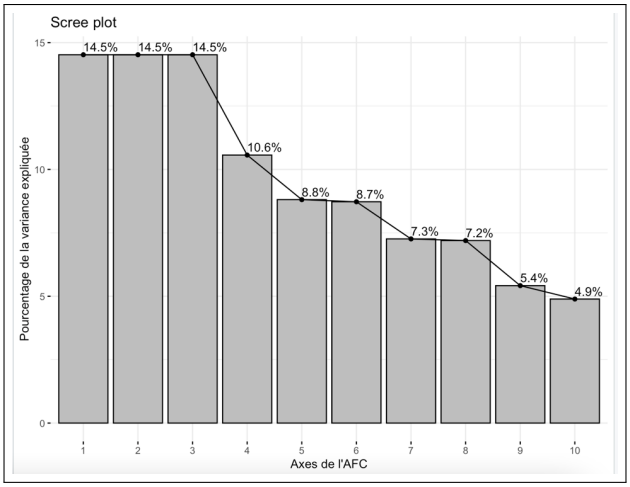
Session	Code_tube	Nb d'individus testés	Espece	Région	Ecosysteme
Automne_2021	MCHA00739	6	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00749	1	Neophilaenus lineatus	Nouvelle-Aquitaine	Vigne
Automne_2021	MCHA00790	1	Neophilaenus campestris	Nouvelle-Aquitaine	Vigne

4 Distribution des insectes échantillonnés

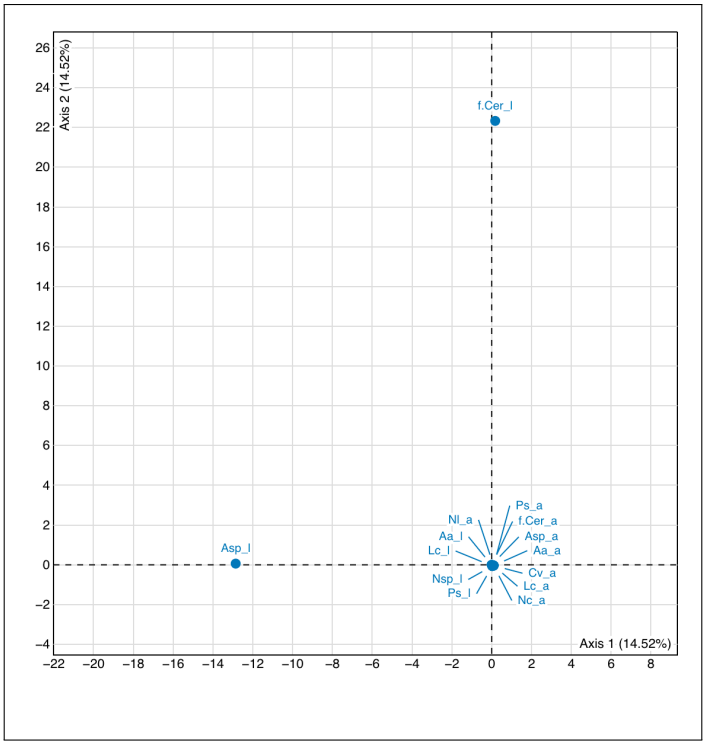


5 Résultats de l'AFC

5.1 Graphique des valeurs propres de l'AFC

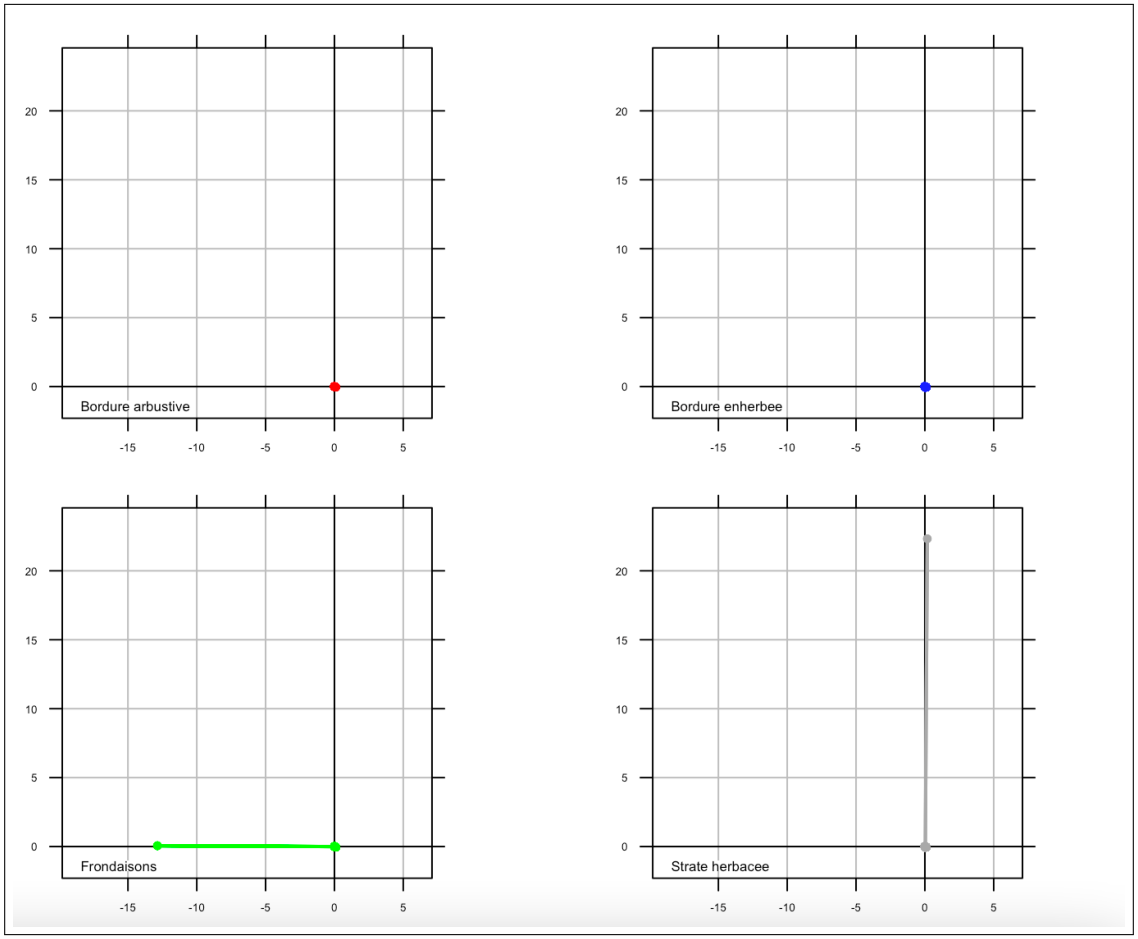


5.2 Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'AFC

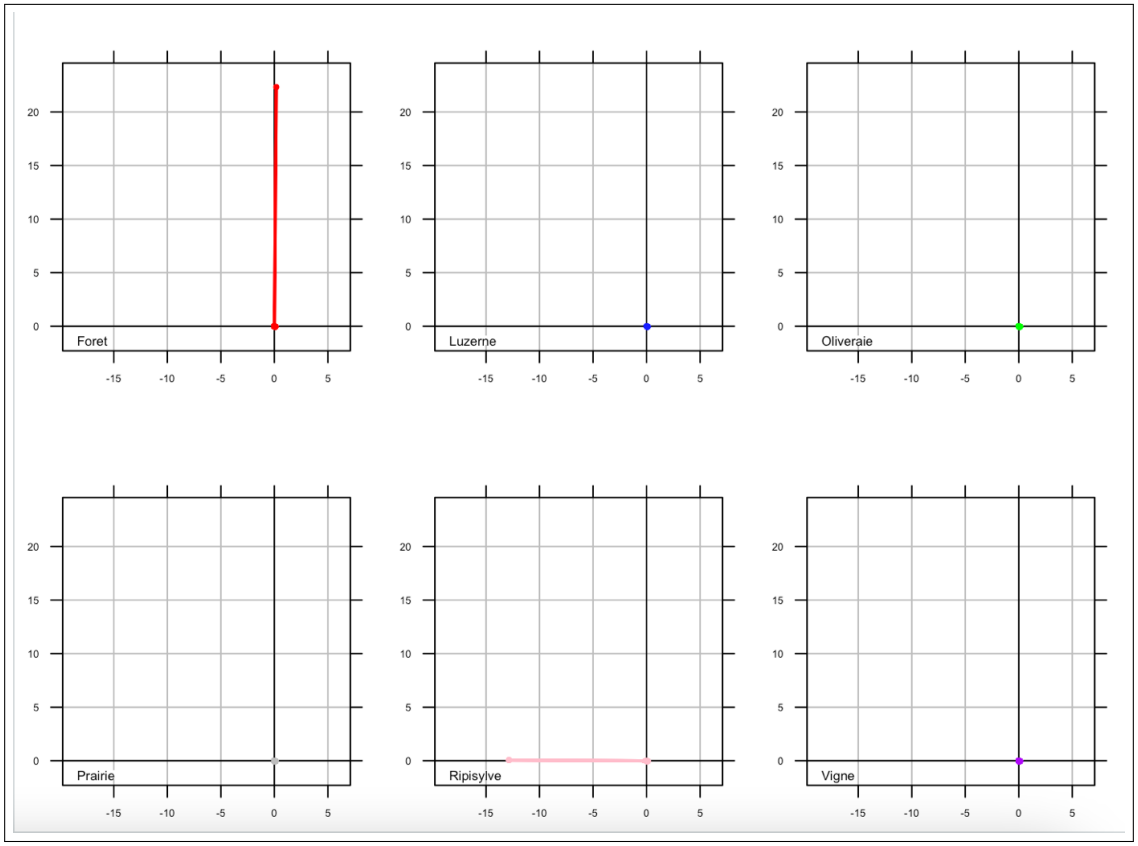


Ps : *Philaenus spumarius*, Nc : *Neophilaenus campestris*, Nl : *Neophilaenus lineatus*, Nsp : *Neophilaenus sp.*, Cv : *Cicadella viridis*, Asp : *Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*, Lc : *Lepyronia coleoptrata*, Aa : *Aphrophora alni*, f.Cer : *Cercopidae* et « _a » pour adultes et « _l » pour larve

5.3 Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'AFC selon les habitats test de Monte-Carlo : p valeur = 0,001



5.4 Représentation graphique des axes 1 et 2 du résultat de l'AFC selon les écosystèmes test de Monte-Carlo : p valeur = 0,001



6 Résultats des GLMMs

6.1 Résultats du GLMM pour *Philaenus spumarius*

Ecosysteme	response	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Ripisylve	0.00573	0.00412	833	0.00139	0.0235	a
Foret	0.01650	0.00842	833	0.00606	0.0449	a
Luzerne	0.06201	0.04424	833	0.01529	0.2515	ab
Vigne	0.07842	0.02354	833	0.04351	0.1413	b
Oliveraie	0.12640	0.06178	833	0.04843	0.3299	b
Prairie	0.70552	0.30547	833	0.30160	1.6504	c

Habitat	response	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Frondaisons	0.0130	0.00578	833	0.00541	0.0311	a
Bordure arbustive	0.0133	0.01082	833	0.00270	0.0656	a
Strate herbacee	0.1569	0.04073	833	0.09424	0.2612	b
Bordure enherbee	0.4386	0.16563	833	0.20903	0.9204	c

6.2 Résultats du GLMM pour *Neophilaenus campestris* adulte

Region	response	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
NAQ	0.0110	0.00485	833	0.00464	0.0261	a
Occitanie	0.0589	0.02363	833	0.02682	0.1295	b
PACA	0.3120	0.10349	833	0.16269	0.5983	c

6.3 Résultats du GLMM pour *Neophilaenus lineatus* adulte

Ecosysteme	response	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Foret	0.0785	0.0612	259	0.01692	0.364	a
Luzerne	0.1222	0.1569	259	0.00974	1.532	ab
Vigne	0.1830	0.0916	259	0.06829	0.490	a
Prairie	1.5152	0.6223	259	0.67487	3.402	b

6.4 Résultats du GLMM pour *Neophilaenus sp.* au stade larvaire

Region	response	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
NAQ	0.0309	0.0164	617	0.0109	0.0875	a
Occitanie	0.0565	0.0316	617	0.0189	0.1694	a
PACA	0.3545	0.1390	617	0.1641	0.7654	b

Ecosysteme	response	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Foret	0.0122	0.0111	617	0.00205	0.0725	a
Ripisylve	0.0232	0.0239	617	0.00306	0.1757	a
Vigne	0.0943	0.0343	617	0.04617	0.1926	a
Oliveraie	0.2106	0.1573	617	0.04860	0.9126	ab
Prairie	0.8000	0.2816	617	0.40077	1.5968	b

6.5 Résultats du GLMM pour *Cicadella viridis*

Ecosysteme	response	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
Foret	0.00233	0.00283	433	0.000216	0.0252	a
Vigne	0.00306	0.00275	433	0.000521	0.0179	a
Luzerne	0.00435	0.00727	433	0.000162	0.1165	ab
Oliveraie	0.01860	0.03136	433	0.000677	0.5111	ab
Prairie	0.07614	0.06137	433	0.015616	0.3712	b
Ripisylve	0.10261	0.10015	433	0.015066	0.6988	b

7 Liste des interactions trophiques larves – plantes

7.1 Liste des associations larves – plantes identifiées lors de la campagne d'échantillonnage du printemps 2021

Plante	Insecte
Achillea millefolium	*Philaenus spumarius*
Aegilops sp.	*Neophilaenus sp.*
Aegilops triuncialis	*Neophilaenus sp.*
Agrostis capillaris	*Neophilaenus sp.*
Agrostis sp.	*Neophilaenus sp.*
Agrostis stolonifera	*Neophilaenus sp.*
Agrostis stolonifera	*Neophilaenus sp.*
Alliaria petiolata	*Aphrophora alni*
Althaea cannabina	*Philaenus spumarius*
Anacyclus clavatus	*Philaenus spumarius*

Anthoxanthum odoratum	*Philaenus spumarius*
Apiaceae	*Philaenus spumarius*
Arrhenatherum elatius	*Neophilaenus sp.*
Arrhenatherum elatius	*Philaenus spumarius*
Asteraceae	*Philaenus spumarius*
Avena barbata	*Neophilaenus sp.*
Avena barbata	*Philaenus spumarius*
Avena sp.	*Neophilaenus sp.*
Avena sp.	*Philaenus spumarius*
Avena sterilis	*Neophilaenus sp.*
Avena sterilis	*Philaenus spumarius*
Bellis perennis	*Philaenus spumarius*
Bituminaria bituminosa	*Cercopidae*
Brachypodium phoenicoides	*Neophilaenus sp.*
Bromus diandrus	*Neophilaenus sp.*
Bromus hordeaceus	*Neophilaenus sp.*
Bromus hordeaceus	*Philaenus spumarius*
Bromus madritensis	*Neophilaenus sp.*
Bromus sp.	*Neophilaenus sp.*
Bromus sterilis	*Neophilaenus sp.*
Carduus tenuiflorus	*Philaenus spumarius*
Carthamus lanatus	*Philaenus spumarius*
Centaurea gr. jacea sp.	*Aphrophora alni*
Centaurea gr. jacea sp.	*Philaenus spumarius*
Cichorium intybus	*Philaenus spumarius*
Convolvulus arvensis	*Philaenus spumarius*
Cota altissima	*Philaenus spumarius*
Crepis bursifolia	*Philaenus spumarius*
Crepis foetida	*Philaenus spumarius*
Crepis sancta	*Philaenus spumarius*
Crepis sp.	*Philaenus spumarius*
Crepis vesicaria ssp. taraxacifolia	*Philaenus spumarius*
Cynodon dactylon	*Neophilaenus sp.*

Dactylis glomerata	*Neophilaenus sp.*
Dactylis glomerata	*Neophilaenus sp.*
Dactylis glomerata	*Philaenus spumarius*
Daucus carota	*Aphrophora alni*
Daucus carota	*Philaenus spumarius*
Elymus repens	*Neophilaenus sp.*
Elymus repens	*Philaenus spumarius*
Epilobium tetragonum	*Philaenus spumarius*
Erigeron sp.	*Philaenus spumarius*
Erodium botrys	*Philaenus spumarius*
Erodium ciconium	*Philaenus spumarius*
Erodium cicutarium	*Philaenus spumarius*
Falcaria vulgaris	*Philaenus spumarius*
Festuca sp.	*Neophilaenus sp.*
Filipendula vulgaris	*Philaenus spumarius*
Foeniculum vulgare	*Philaenus spumarius*
Fraxinus angustifolia	*Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*
Galium album	*Philaenus spumarius*
Galium mollugo	*Aphrophora alni*
Galium mollugo	*Philaenus spumarius*
Galium palustre	*Lepyronia coleoptrata*
Galium verum	*Philaenus spumarius*
Gaudinia fragilis	*Neophilaenus sp.*
Geranium dissectum	*Neophilaenus sp.*
Geranium dissectum	*Philaenus spumarius*
Geranium molle	*Neophilaenus sp.*
Geum urbanum	*Aphrophora alni*
Glechoma hederacea	*Philaenus spumarius*
Hedera helix	*Aphrophora alni*
Helminthotheca echioides	*Philaenus spumarius*
Holcus lanatus	*Neophilaenus sp.*
Holcus lanatus	*Philaenus spumarius*
Hordeum murinum	*Neophilaenus sp.*

Hordeum vulgare	*Neophilaenus sp.*
Hypericum perforatum	*Philaenus spumarius*
Hypochaeris radicata	*Philaenus spumarius*
Jacobaea erratica	*Philaenus spumarius*
Jacobaea sp.	*Philaenus spumarius*
Jacobaea vulgaris	*Philaenus spumarius*
Lathyrus pratensis	*Philaenus spumarius*
Leucanthemum ircutianum	*Philaenus spumarius*
Lolium arundinaceum	*Neophilaenus sp.*
Lolium arundinaceum	*Philaenus spumarius*
Lolium perenne	*Neophilaenus sp.*
Lolium pratense	*Neophilaenus sp.*
Lolium rigidum	*Neophilaenus sp.*
Lolium rigidum	*Philaenus spumarius*
Lotus corniculatus	*Philaenus spumarius*
Malva sylvestris	*Philaenus spumarius*
Medicago arabica	*Philaenus spumarius*
Medicago gr. rigidula sp.	*Philaenus spumarius*
Medicago minima	*Neophilaenus sp.*
Medicago polymorpha	*Philaenus spumarius*
Medicago rigidula	*Philaenus spumarius*
Medicago sativa	*Philaenus spumarius*
Medicago sp.	*Philaenus spumarius*
Mentha aquatica	*Philaenus spumarius*
Ononis spinosa ssp. procurrens	*Philaenus spumarius*
Phalaris coerulescens	*Neophilaenus sp.*
Picris hieracioides	*Philaenus spumarius*
Plantago coronopus	*Philaenus spumarius*
Plantago lanceolata	*Philaenus spumarius*
Poa sp.	*Neophilaenus sp.*
Poa trivialis	*Neophilaenus sp.*
Poa trivialis	*Philaenus spumarius*
Poaceae	*Neophilaenus sp.*

Poaceae	*Neophilaenus sp.*
Poaceae	*Philaenus spumarius*
Potentilla reptans	*Philaenus spumarius*
Poterium sanguisorba	*Philaenus spumarius*
Prunella vulgaris	*Aphrophora alni*
Prunus sp.	*Philaenus spumarius*
Ranunculus acris	*Aphrophora alni*
Ranunculus acris	*Philaenus spumarius*
Ranunculus bulbosus	*Philaenus spumarius*
Ranunculus lanuginosus	*Aphrophora alni*
Ranunculus repens	*Lepyronia coleoptrata*
Ranunculus repens	*Philaenus spumarius*
Rapistrum rugosum	*Philaenus spumarius*
Rubia peregrina	*Aphrophora alni*
Rubia peregrina	*Cercopidae*
Rubus sp.	*Aphrophora alni*
Rubus sp.	*Philaenus spumarius*
Rumex conglomeratus	*Philaenus spumarius*
Rumex crispus	*Philaenus spumarius*
Salix alba	*Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*
Salix atrocinerea	*Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*
Salix sp.	*Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis*
Salvia pratensis	*Philaenus spumarius*
Salvia verbenaca	*Philaenus spumarius*
Scorzonera laciniata	*Philaenus spumarius*
Silene gallica	*Neophilaenus sp.*
Silene gallica	*Philaenus spumarius*
Silene latifolia	*Philaenus spumarius*
Silene nocturna	*Philaenus spumarius*
Silene sp.	*Philaenus spumarius*
Silene vulgaris	*Philaenus spumarius*
Sixalix maritima	*Cercopidae*
Sixalix maritima	*Philaenus spumarius*

Sonchus asper	*Philaenus spumarius*
Sonchus oleraceus	*Philaenus spumarius*
Succisa pratensis	*Philaenus spumarius*
Taraxacum sp.	*Philaenus spumarius*
Torilis arvensis	*Philaenus spumarius*
Tragopogon dubius	*Philaenus spumarius*
Tragopogon porrifolius	*Philaenus spumarius*
Tragopogon pratensis	*Philaenus spumarius*
Tragopogon sp.	*Philaenus spumarius*
Trifolium campestre	*Philaenus spumarius*
Trifolium dubium	*Philaenus spumarius*
Trifolium fragiferum	*Philaenus spumarius*
Trifolium lappaceum	*Philaenus spumarius*
Trifolium pratense	*Philaenus spumarius*
Trifolium repens	*Philaenus spumarius*
Trifolium sp.	*Philaenus spumarius*
Valerianella eriocarpa	*Philaenus spumarius*
Vicia sativa	*Lepyronia coleoptrata*
Vulpia ciliata	*Neophilaenus*
NA	*Philaenus spumarius*

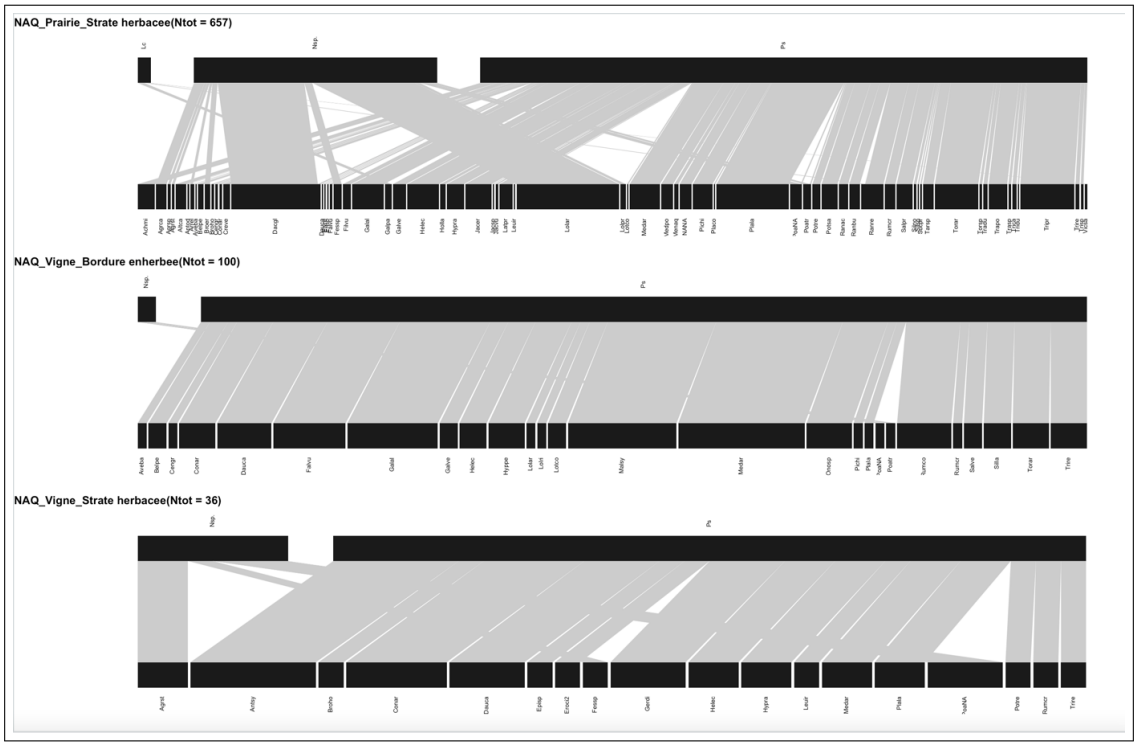
7.2 Association des familles de plantes et des insectes vecteurs selon la région

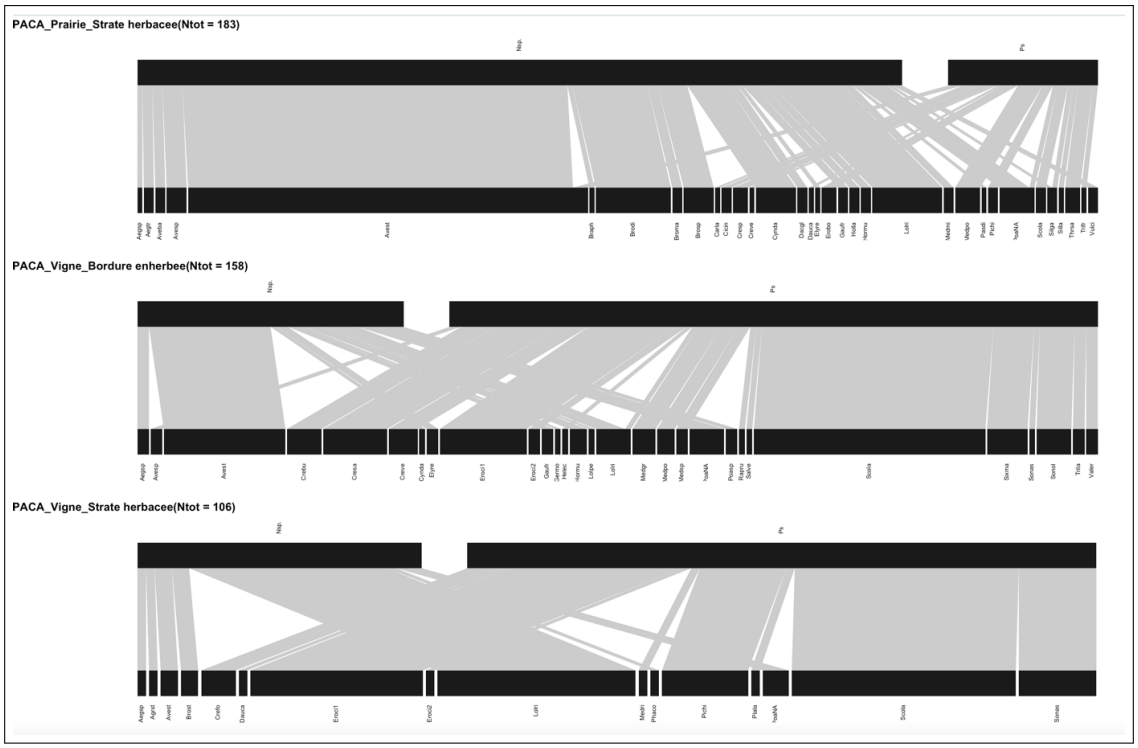
Espèce d'insecte	**Famille de plantes**	**NAQ**	**Occitanie**	**PACA**
Aphrophora alni	Apiaceae	1	0	0
Aphrophora alni	Araliaceae	0	1	0
Aphrophora alni	Asteraceae	3	0	0
Aphrophora alni	Brassicaceae	0	0	3
Aphrophora alni	Lamiaceae	1	0	0
Aphrophora alni	Ranunculaceae	1	0	1
Aphrophora alni	Rosaceae	0	1	3
Aphrophora alni	Rubiaceae	3	0	0

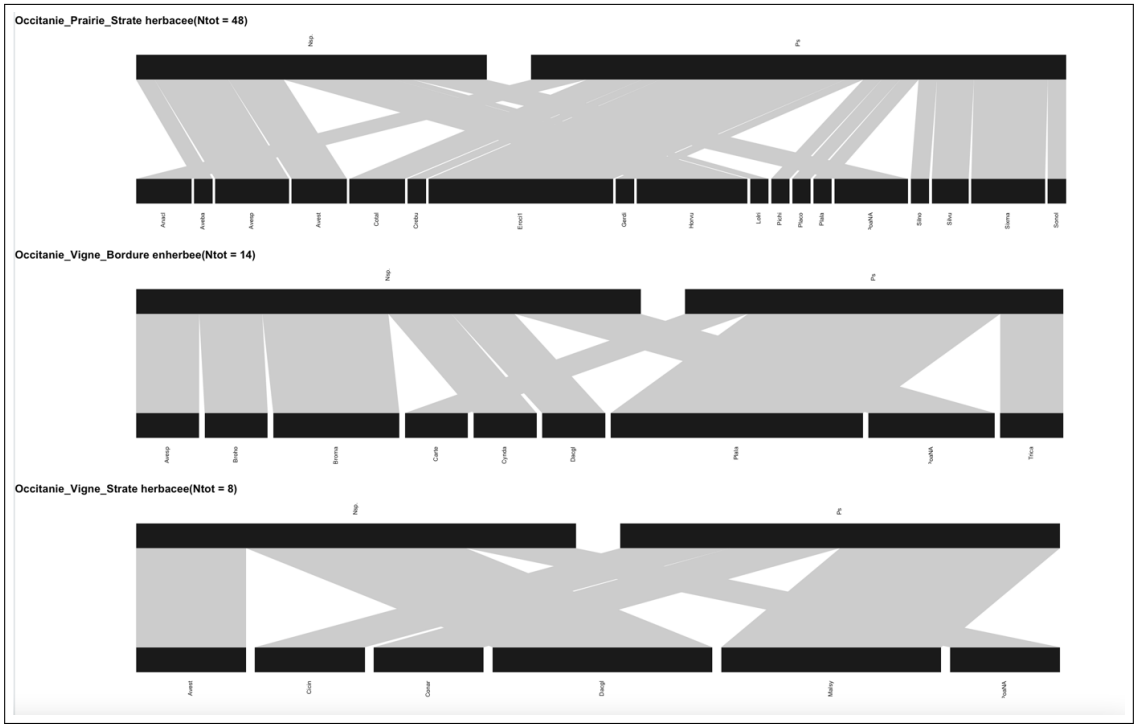
Espèce d'insecte	Famille de plantes	NAQ	Occitanie	PACA
Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis	Oleaceae	1	0	0
Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis	Polycitoridae	15	0	0
Aphrophora salicina/Aphrophora pectoralis	Salicaceae	76	0	0
Cercopidae	Caprifoliaceae	0	0	5
Cercopidae	Fabaceae	0	0	2
Cercopidae	Rubiaceae	0	0	1
Lepyronia coleoptrata	Fabaceae	2	0	0
Lepyronia coleoptrata	Ranunculaceae	3	0	0
Lepyronia coleoptrata	Rubiaceae	5	0	0
Neophilaenus sp.	Caryophyllaceae	0	0	1
Neophilaenus sp.	Fabaceae	0	0	2
Neophilaenus sp.	Geraniaceae	0	0	3
Neophilaenus sp.	Poaceae	194	32	303
Philaenus spumarius	Apiaceae	64	0	7
Philaenus spumarius	Asteraceae	147	17	163
Philaenus spumarius	Brassicaceae	0	0	1
Philaenus spumarius	Caprifoliaceae	1	4	42
Philaenus spumarius	Caryophyllaceae	6	3	2
Philaenus spumarius	Convolvulaceae	11	1	0
Philaenus spumarius	Cymuloporidae	0	0	3
Philaenus spumarius	Fabaceae	170	1	20
Philaenus spumarius	Geraniaceae	4	11	42
Philaenus spumarius	Hypericaceae	4	0	0
Philaenus spumarius	Lamiaceae	18	0	1
Philaenus spumarius	Malvaceae	20	2	0
Philaenus spumarius	Onagraceae	1	0	0
Philaenus spumarius	Plantaginaceae	59	6	7
Philaenus spumarius	Poaceae	18	0	7
Philaenus spumarius	Polygonaceae	16	0	0

Espèce d'insecte	Famille de plantes	NAQ	Occitanie	PACA
Philaenus spumarius	Ranunculaceae	33	0	0
Philaenus spumarius	Rosaceae	30	0	0
Philaenus spumarius	Rubiaceae	66	0	0
Philaenus spumarius	NA	9	0	1

8 Réseaux d'interactions larves – plantes hôtes




PACA_Prairie_Strate herbacee(Ntot = 183)
Nap.
Ps
Aegop
Aegil
Anebo
Avesp
Avest
Bleph
Brodi
Bromx
Bromp
Carfa
Crepa
Crepp
Crewe
Cynda
Dactg
Dauca
Elyrt
Erobo
Gauli
Holca
Hormu
Lolpe
Lolpr
Medmi
Medpo
Phalc
Phlpa
PoaNA
Scola
Silga
Silvu
Thesa
Trifr
Vulmi
PACA_Vigne_Bordure enherbee(Ntot = 158)
Nap.
Ps
Aegop
Avesp
Avest
Crehu
Crepa
Crewe
Cynda
Elyrt
Eroci1
Eroci2
Gauli
Helpe
Hormu
Lolpe
Lolpr
Medgr
Medpo
Medsp
PoaNA
Psesp
Rumac
Salvr
Scola
Silvna
Sonas
Sonsd
Trifa
Valer
PACA_Vigne_Strate herbacee(Ntot = 106)
Nap.
Ps
Aegop
Agrst
Avest
Brost
Crehi
Dauca
Eroci1
Eroci2
Lolpr
Medmi
Phaco
Picch
Phlpa
PoaNA
Scola
Sonas


Occitanie_Prairie_Strate herbacee(Ntot = 48)
Nap.
Ps
Avest
Arebe
Avesp
Avest
Calal
Crebu
Eroci1
Gersl
Horvu
Lolpr
Polpi
Phaco
Phlpa
PoaNA
Silvu
Silvu
Sonna
Sonsd
Occitanie_Vigne_Bordure enherbee(Ntot = 14)
Nap.
Ps
Avesp
Brahs
Bromx
Carte
Cynda
Dactg
Phlpa
PoaNA
Trica
Occitanie_Vigne_Strate herbacee(Ntot = 8)
Nap.
Ps
Avest
Conn
Cersr
Dactg
Melsy
PoaNA

Annexe D

Biologie moléculaire : mise au point de la capture-recapture

1 Résultats des séquençages sur kit Nano (500 cycles) Illumina®

	XYL01	XYL02	XYL03	XYL04
Nb échantillons	32	16	16	48
Nb insectes / évènement de capture	16	1 ou 4	8, 5 et 3	8
Nb de reads demultiplexés	771 683	583 015	392 955	292 782
Nb de reads mergés (FLASH)	363 401	548 564	344 439	259 277

2 Protocoles : Construction de librairie et Capture-recapture

Protocole : Capture d'exons kit MyBaits (Xylella avril 2019)

Rédactrice : Sabine Nidelet

Ce protocole a été développé pour la construction de librairies d'ADN génomique en vue de les séquencer sur une plateforme Illumina du type MiSeq. On réduit l'effort de séquençage en utilisant un protocole de capture Mybaits. Le set de sondes utilisé cible 7 gènes de ménage du génome de la bactérie Xylella et 1300 pb du gène chloroplastique RBCL des plantes européennes. Les sondes « Xylella » sont surreprésentées par rapport aux sondes « plantes ».

> Réserver un créneau Bioruptor par mail auprés de Cédric Mariac ET Leila Zekraoui (UMR Diade) pour qu'ils puissent mettre en route le sonicateur avant notre arrivée (45min de mise en route)
cedric.mariac@ird.fr (04.67.41.64.16) &
Leila.zekraoui@ird.fr (04.67.41.64.78)

Mise en route du Bioruptor : [presser le bouton on/off du Cryostat + presser le bouton situé sur l'écran du Cryostat puis appuyer sur le bouton on/off au dos du Bioruptor.]

Travailler en pré-NGS

> Sortir du réfrigérateur les billes de purification pour les ramener à RT et préparer l'Ethanol 70% (*15mL d'éthanol absolu mélangé à 6,9mL d'H_2O).*

1-Extraction des ADN et quantification

Les échantillons sont extraits selon un protocole bien spécifique développé par Sylvain Santoni de l'unité AGAP (cf proto) et purifiés sur KingFisher.
Une fois extraits, les ADN sont quantifiés au Qubit (1ul d'ADN non dilué) et normalisés pour avoir ~ 200ng d'ADN dans 100µl pour la sonication au Bioruptor Pico (pour une taille de fragments centrée sur 400pb)

2-Sonication de l'ADN

La sonication se fait à l'aide du Boruptor Pico et du rotor 12 tubes 0.5ml.

- Tampon de sonication : EB
- Quantité ADN à soniquer : 200ng
- Volume ADN à soniquer : 100µl
- Température de sonication : 4°C

Avant la sonication, décongeler les ADN, bien les vortexer et pulse puis les stocker dans la glace en attendant de lancer la sonication. Installer les tubes contenant les ADN à soniquer dans le rotor et installer le rotor dans le bain à 4°C.

Programmer les conditions de sonication (centrage sur 400pb) :

15sec ON / 90sec OFF pdt 8 cycles

Purification billes magnétiques (ratio 1:1 pour éliminer les petits fragments):

- Vortexer les billes de purification
- Dans des barrettes de tubes, ajouter 1V de billes Ampure XP pour 1V d'ADN soniqué (soit 100uL pour 100uL d'ADN) vortexer
- Incuber les tubes **5min** à température ambiante et faire un petit pulse de centri
- Placer les tubes sur un support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Enlever et jeter 199ul de surnageant sans toucher les billes
- Sans enlever les tubes du support, ajouter 200uL d'éthanol 70% sans perturber les billes
- Attendre **30s** et enlever le surnageant
- Répéter le lavage à l'éthanol 70%, attendre **30s** et enlever le surnageant
- Bien enlever l'éthanol restant avec une pipette 10ul si besoin
- Laisser les tubes sécher **5 min**
- Ajouter 52uL de EB, retirer les tubes du support magnétique, vortexer, attendre **2min** et faire un petit pulse de centri
- Replacer les tubes sur le support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Transférer 50ul de surnageant dans une nouvelle plaque.

STOP possible (jusqu'à 1 semaine à -20°C)

3- End Repair + A tailing (NEBNext Ultra II Library prep kit for Illumina by NEB)

Transférer les 50ul d'ADN soniqué et purifié dans une plaque pcr 96.

Décongeler le NEBNext Ultra II End Prep Reaction Buffer (bouchon vert).
Vortexer et centrifuger.

Préparer le mix suivant :

Master Mix :	X1	X34
NEBNext Ultra II End Prep Enzyme Mix (bouchon vert)	3 µL	102 µL
NEBNext Ultra II End Prep Reaction Buffer (bouchon vert)	7 µl	238 µl
Master mix à ajouter à chaque échantillon	10 µL	

Vortexer et centrifuger délicatement le mix.

- Ajouter 10µL de mix dans les puits contenant les 50µl d'ADN et sceller la plaque avec un film pcr renforcé.
- Vortexer et centrifuger délicatement.
- Placer au thermocycler. **Enable heated lid**
  30 min @ 20°C
  30 min @ 65°C [Programme : NEBENDPR]
  Hold at 4°C

NE PAS S'ARRETER ET CONTINUER IMMEDIATEMENT AVEC LA LIGATION

4- Ligation des adaptateurs (NEBNext Ultra II Library prep kit for Illumina by NEB)

Décongeler les stocks d'adaptateurs à **1,5uM**. Vortexer et centrifuger.

Pour 32 échantillons, utiliser le plan de plaque suivant :

P1-1	P1-1	P1-1	P1-1
P1-2	P1-2	P1-2	P1-2
P1-3	P1-3	P1-3	P1-3
P1-4	P1-4	P1-4	P1-4
P1-5	P1-5	P1-5	P1-5
P1-6	P1-6	P1-6	P1-6
P1-7	P1-7	P1-7	P1-7
P1-8	P1-8	P1-8	P1-8
P2-1	P2-2	P2-3	P2-4

Décongeler le NEBNext Ultra II Ligation master mix (bouchon rouge) et le NEBNext Ligation Enhancer (bouchon rouge).
Vortexer et centrifuger.
Travailler sur bloc et portoir froid.
Préparer le mix suivant :

Master Mix :	X1	X34
NEBNext Ultra II Ligation master mix (bouchon rouge)	30 µL	1020 µL
NEBNext Ligation enhancer (bouchon rouge)	1 µl	34 µL
Master mix à ajouter à chaque échantillon	31 µL	

Vortexer et centrifuger délicatement le mix.

- Ajouter 31µL de mix dans les puits contenant les 60µl de la précédente réaction.
- Ajouter 1,25ul d'adaptateurs P1 (1,5uM) puis d'adaptateurs P2 (1,5uM) dans chaque puits en suivant le plan de plaque ci-dessus.
- Sceller la plaque avec un film alu.
- Vortexer et centrifuger délicatement.
- Placer au thermocycler. **Disable heated lid**

  15 min @ 20°C [**Programme :** NEBLIG]

  (Les échantillons peuvent être stockés à -20°C pour la nuit)

> Sortir du réfrigérateur les billes de purification pour les ramener à RT et préparer l'Ethanol 70% (*15mL d'éthanol absolu mélangé à 6,9mL d'H_2O).*

Purification billes magnétiques (ratio 0.8:1 pour éliminer les dimers d'adaptateurs) :

- Vortexer les billes de purification
- Dans des barrettes de tubes, ajouter 0,8V de billes Ampure XP pour 1V d'ADN soniqué (soit 75µL pour 93,5µL d'ADN soit un vol tot = 168,5ul) vortexer et petit pulse de centri
- Incuber les tubes **5min** à température ambiante
- Placer les tubes sur un support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Enlever et jeter 168ul de surnageant sans toucher les billes
- Sans enlever les tubes du support, ajouter 200µL d'éthanol 70% sans perturber les billes
- Attendre **30s** et enlever le surnageant
- Répéter le lavage à l'éthanol 70%, attendre **30s** et enlever le surnageant
- Bien enlever l'éthanol restant avec une pipette 10µl si besoin
- Laisser les tubes sécher **5 min**
- Ajouter 17µL de EB, retirer les tubes du support magnétique, vortexer et petit pulse de centri, attendre **2min**
- Replacer les tubes sur le support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Transférer 15µl de surnageant dans une nouvelle plaque.

5- Enrichissement des librairies

Décongeler le NEBNext Ultra II Q5 Master Mex (bouchon bleu)
Ne pas vortexer mais centrifuger.

Préparer le mix suivant :

Master Mix :	X1	X34
NEBNext Ultra II Q5 Master Mix (bouchon bleu)	25 µL	850 µL
RAD Lib F (10uM)	2	68 µL
RAD Lib R (10uM)	2	68 µL
Master mix à ajouter à chaque échantillon	29 µL	

Vortexer et centrifuger délicatement le mix.

- Ajouter 29µL de mix dans les puits contenant les 15µl de la précédente réaction.
- Vortexer et centrifuger délicatement.
- Placer au thermocycler. **Enable heated lid**

		15 cycles			
Time	30s	10s	75s	5min	∞
Temperature	98°C	98°C	65°C	65°C	10°C

[Programme : PCRCAPNEB]

Travailler en post-NGS

> Sortir du réfrigérateur les billes de purification pour les ramener à RT et préparer l'Ethanol 70% (*15mL d'éthanol absolu mélangé à 6,9mL d'H_2O).*

Purification billes magnétiques (ratio 0.8:1 pour éliminer les dimers de primers) :

- Vortexer les billes de purification
- Dans des barrettes de tubes, ajouter 0,8V de billes Ampure XP pour 1V d'ADN soniqué (soit 35µL pour 44µL d'ADN soit un vol tot = 79ul) vortexer et petit pulse de centri
- Incuber les tubes **5min** à température ambiante
- Placer les tubes sur un support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Enlever et jeter 78ul de surnageant sans toucher les billes
- Sans enlever les tubes du support, ajouter 200µL d'éthanol 70% sans perturber les billes
- Attendre **30s** et enlever le surnageant
- Répéter le lavage à l'éthanol 70%, attendre **30s** et enlever le surnageant
- Bien enlever l'éthanol restant avec une pipette 10µl si besoin
- Laisser les tubes sécher **5 min**
- Ajouter 22µL de EB, retirer les tubes du support magnétique, vortexer et petit pulse de centri, attendre **2min**
- Replacer les tubes sur le support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Transférer 20µl de surnageant dans une nouvelle plaque.

Quantifier les librairies au Qubit (2ul non diluées).

7- Pool des librairies

Dans des tubes 1,5ml low bind, pooler 100ng de chaque librairies en faisant deux pools de 16 librairies.

> Sortir du réfrigérateur les billes de purification pour les ramener à RT et préparer l'Ethanol 70% (*1mL d'éthanol absolu mélangé à 460uL d'H_2O).*

Reconcentration sur billes magnétiques (ratio 1:1) :

- Vortexer les billes de purification
- Dans des barrettes de tubes, ajouter 1V de billes Ampure XP pour 1V d'ADN soniqué. Vortexer et petit pulse de centri
- Incuber les tubes **5min** à température ambiante
- Placer les tubes sur un support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Enlever et jeter le surnageant sans toucher les billes
- Sans enlever les tubes du support, ajouter 200µL d'éthanol 70% sans perturber les billes
- Attendre **30s** et enlever le surnageant
- Répéter le lavage à l'éthanol 70%, attendre **30s** et enlever le surnageant
- Bien enlever l'éthanol restant avec une pipette 10µl si besoin
- Laisser les tubes sécher **5 min**
- Ajouter 10µL de EB, retirer les tubes du support magnétique, vortexer et petit pulse de centri, attendre **2min**
- Replacer les tubes sur le support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Transférer 10µl de surnageant dans une nouvelle plaque.

Quantifier les librairies au Qubit (1ul dilué au ½) et déposer 1ul (dilué au ½) sur Agilent puce HS.

Préparer 7 µl d'ADN dans du buffer EB (400ng final) pour démarrer la capture.

Protocole : Capture d'exons (kit Mybaits) 2019 – XYL03 Capture recapture
Rédactrice : Sabine Nidelet
Mise à jour : Pauline Farigoule juillet 2020

En bleu : round 1
En gris : round 2
En souligné les différences avec le protocole « classique »

8- Capture à l'aide du kit MYbaits (Microarray) Attention version v4 2019

MYbaits® est un système de capture en solution d'ADN (enrichissement ciblé). Des oligonucléotides complémentaires aux séquences spécifiques d'intérêt sont synthétisés et transcris en ARN biotinylés qui serviront de sondes.

-Hybridization (*Prévoir de commencer vers 15h30-16h pour lancer l'hybr vers 17h30 – 18h*) (pour hyb 65h)

> Sortir du réfrigérateur HN, HS (Boîte 1) et dégeler HD, HR, BC, BO, BA (Boîte 2).
> Garder les Baits (Boîte 3) dans la glace après les avoir sorties du -80°C.

- Une fois que les réactifs sont à température ambiante, vortexer et centrifuger. Si Hyb N et/ou Hyb S ont tout de même un précipité visible, chauffer à 60°C et vortexer jusqu'à dissolution complète.

Hybridization Mix :	X1	X3
HYB N **(bouchon rouge)**	9.25µL	27,75
HYB D **(bouchon jaune)**	3.5µL	10,5
HYB S **(bouchon turquoise)**	0.5µL	1,5
HYB R **(bouchon violet)**	1.25µl	3,75
Baits (-80°C)	4.4µl 1.1µL	13,2 3,3
Free Nuclease Water	1.1µL 4.4µL	3,3 13,2
	20µL	

Vortexer brièvement et centrifuger

> Penser à préchauffer le thermocycler Biometra (rouge) pour faire monter le couvercle à 100°C.

- L'ajout de Hyb S peut créer un trouble dans le mix qui disparaitra après l'incubation
- Incuber le mix 10 min à 60°C au thermomixer
- Puis laisser revenir à température ambiante 5 min
- Pour chaque réaction de capture, aliquoter 18.5µl de mix d'hybridation dans des tubes de 0.2ml low-bind. Noter les tubes « HYB »

Blockers Mix :	X1	X3
BLOCK O **(bouchon bleu)**	2.5µL	7,5
BLOCK C **(bouchon vert)**	2.5µL	7,5
BLOCK A **(bouchon orange)**	0.5µL	1,5
	5.5µL	

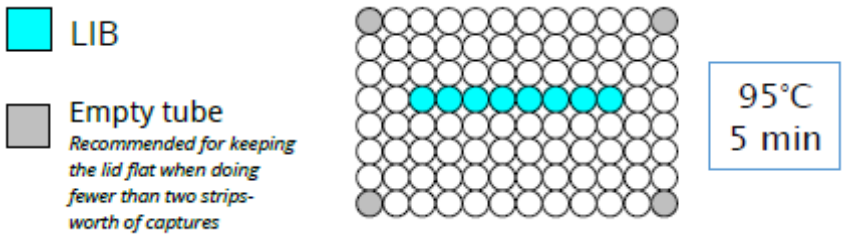
Vortexer brièvement

- Pour chaque réaction de capture, aliquoter 5µl de blockers mix dans des tubes de 0.2ml low-bind.
- Ajouter 7µl de librairies d'ADN (100-500ng) dans chaque aliquot de 5µl de blockers mix et mélanger par pipetage (total : 12µl). Noter les tubes « LIB »

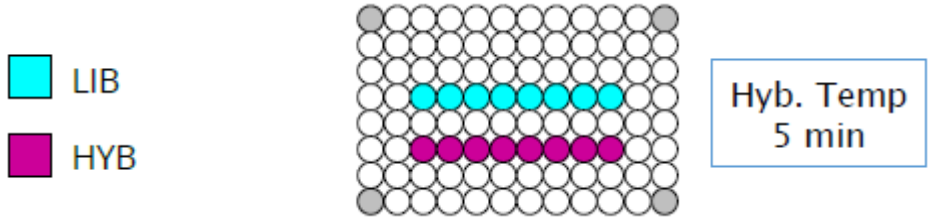
Programme :	**Attention à bien faire préchauffer le couvercle à 99 °C ou 105°C selon le cycler !**		
Time	5min	5min	∞
Temperature	95°C	Hyb temp*	Hyb temp*

* Hyb temp choisie à 65°C pour ce protocole

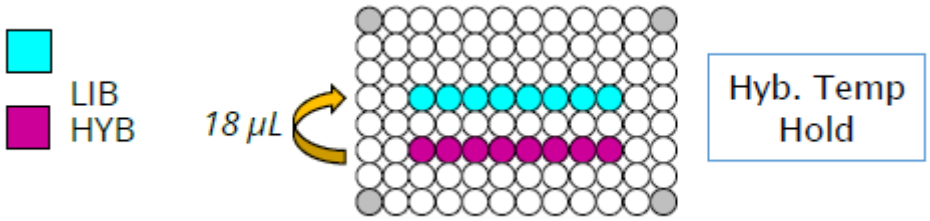
A. Disposer les tubes « LIB » dans le thermocycleur ainsi que 4 tubes vides pour équilibrer la pression du couvercle. Fermer le couvercle et lancer le programme.



B. Mettre en pause le thermocycleur lorsqu'il est redescendu à la température d'ybridation de l'étape 2. Disposer les tubes « HYB » dans le thermocycleur et relancer le programme.



C. Après les 5min à la température d'hybridation choisie, laisser tous les tubes dans le thermocycleur, pipeter 18µl de chaque tube « HYB » et les ajouter aux tubes « LIB » correspondant. Mélanger par aspiration/refoulement 5 fois.



D. Jeter les tubes « HYB ». Fermer le couvercle du thermocycleur et laisser incuber à la température d'hybridation choisie pendant 65h.

> Penser à commencer l'étape suivante « Hybrid Bind & Wash » environ 1h30 avant la fin des 65h d'hybridation.

-Hybrid Bind & Wash using a 1.5 mL Magnetic Particle Collector ***(Prévoir de commencer vers 8h le matin pour commencer l'accrochage sondes/billes vers 9h30-10h)*** **(matin)**

Les séquences d'intérêts hybridées avec les sondes vont être liés à des billes magnétiques revêtues de Streptavidine, Puis une série de lavages va permettre d'éliminer les sondes non-hybridées et les hybridations non spécifiques.

- Garder Hyb S et le Wash Buffer à RT pour être sûr que le SDS est bien dissout avant utilisation.

Préparation du Wash Buffer X :

Wash Buffer X :	1 capture	X4*	X3*
HYB S	9 µL	36 µL	27 µL
H2O up	900 µL	3600 µL	2700 µL
Wash Buffer X	227 µL	908 µL	681 µL

*Le wash buffer en excès lors du premier round de capture a été conservé pour faire le second round de capture

> Sortir du réfrigérateur HS, Binding Buffer, Wash Buffer, les beads (Boîte 1) et le 10mM Tris-Cl, 0.05% Tween-20.
Penser à chauffer les aliquots de Wash Buffer X si besoin.

- *Note : Pour préparer directement les 50ml de Wash Buffer X (pour 44 réactions de capture), mélanger 400µl de HS, 39.6ml de NF water et 10ml de Wash Buffer dans un falcon 50ml noté « Wash Buffer X». Bien vortexer. Se conserve 1 mois à 4°C*

- Chauffer au thermomixer la quantité désirée de Wash Buffer X à la température d'hybridation choisie (ici 65°C) pendant 30min avant utilisation.

Préparation des billes :

> Penser à préchauffer le thermomixer à la température d'hybridation (ici 65°C).

>préparer le buffer X dans un falcon 15ml et aliquoter en tubes 1.5ml

Attention : cette étape sert à préparer les billes en vue de la capture, il ne faut pas encore ajouter les librairies !!

- Pour chaque réaction de capture, aliquoter 30µl de billes Streptavidine en tubes 1.5ml low bind.
- Placer les tubes 1.5ml bouchons ouverts sur un support magnétique et attendre **2min**
- Enlever et jeter le surnageant sans toucher les billes
- Ajouter 200µL de Binding Buffer dans chaque aliquot de billes. Vortexer 3sec et centrifuger brièvement.
- Replacer les tubes sur le support magnétique, attendre 2min, enlever et jeter le surnageant sans toucher les billes
- Répéter le lavage avec 200µl de Binding Buffer 2 fois pour un total de 3 lavages
- Resuspendre chaque aliquot de billes dans 70µl de Binding Buffer.

Accrochage sondes/billes :

- Chauffer autant d'aliquots de billes que de réactions de capture à faire au moins 2min à la température d'hybridation choisie (ici 65°C)
- Transférer chaque réaction de capture (30µl) dans un aliquot de billes et mélanger par pipetage
- Incuber les tubes de librairies + billes à la température d'hybridation (ici 65°C) pendant 5min en agitant à la moitié du temps (by flicking) pour garder les billes en suspension

> Programme thermomixer :
5 min sous agitation (toutes les 2min pendant 10sec à 900rpm)

Lavage :

- Placer les tubes 1.5ml bouchons ouverts sur un support magnétique et attendre **2min**
- Enlever et jeter le surnageant sans toucher les billes
- Ajouter 375µL de Wash Buffer X préchauffé dans chaque tube. Vortexer brièvement et centrifuger brièvement.
- Incuber 5 min à la température d'hybridation et agiter à mi-parcours
- Replacer les tubes sur le support magnétique, attendre 2min, enlever et jeter le surnageant sans toucher les billes
- Répéter le lavage avec 375µl de Wash Buffer X et les 5 min d'incubation à la température d'hybridation deux fois pour un total de 3 lavages
- Après le 3e lavage, enlever le plus de surnageant possible sans perturber les billes

-Library Elution & Amplification

A cette étape, la librairie enrichie est libérée de la sonde ARN par dénaturation thermique puis amplifiée en vue du séquençage.

- Ajouter 30µl de 10mM Tris-Cl, 0.05% TWEEN-20 solution (pH8.0-8.5) et mélanger par pipetage jusqu'à reprise du culot de billes

Si la KAPA Hifi est utilisée pour réaliser l'amplification, il ne faut pas faire les 2 étapes suivantes et utiliser directement cette suspension de billes. Pour toute autre polymérase, suivre les deux étapes suivantes :

- *Incuber la suspension de billes 5min à 95°C*
- *Placer les tubes 1.5ml bouchons ouverts sur un support magnétique, culoter les billes puis récupérer le surnageant qui contient les librairies enrichies.*

Post-capture PCR Master Mix :	Cf	X1	X7
H2O up	-	5µl	35
2X KAPA Hifi HotStart ReadyMix	1X	25µl	175
RAD_Lib_F (10µM)	500nM	2.5µl	17,5
RAD_Lib_R (10µM)	500nM	2.5µl	17,5
Enriched Library (on- or off-bead)		15µl	
		50µL	

Distribuer 35µl de mix par puits contenant 15µl de librairie

Programme :		14 cycles$				
Step	Activation	Denaturation	Annealing	Extension	Final Extention	End
Time	2min	20sec	30sec	45sec*	5min	∞
Temperature	98°C	98°C	65°C£	72°C	72°C	10°C

* Pour des librairies <500pb : 30sec, entre 500 et 700pb : 45sec et >700pb : 1min
$ Utiliser le moins de cycles possible (8 à 14) pour obtenir une quantité suffisante pour le séquençage
£ Température d'hybridation spécifique des primers utilisés

> Réaliser les PCR en plaque PCR.

> Faire 2 réactions de pcr par lib (on a obtenu 30µl de lib à l'élution et il faut 15µl par la pcr)

Purification billes magnétiques AMPure XP :

- Si les billes de Streptavidine ont été gardées lors de la PCR, placer les tubes sur un support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Transférer et pooler (librairie par librairie) les surnageants dans des tubes
- Vortexer les billes de purification

> Il n'est pas nécessaire de mettre un T-

> Sortir du réfrigérateur les billes de purification pour les ramener à RT et préparer l'Ethanol 70% (*2.5mL d'ethanol absolu mélangé à 1.15 mL d'H_2O).*

- Ajouter 1V de billes Ampure XP pour 1V de librairie (soit 100µL pour 100µL d'ADN) vortexer et petit pulse de centri
- Incuber les tubes **5min** à température ambiante
- Placer les tubes sur un support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Enlever et jeter le surnageant sans toucher les billes
- Sans enlever les tubes du support, ajouter 200µL d'éthanol 70% sans perturber les billes
- Attendre **30s** et enlever le surnageant
- Répéter le lavage à l'éthanol 70%, attendre **30s** et enlever le surnageant
- Bien enlever l'éthanol restant avec une pipette 10µl si besoin
- Laisser les tubes sécher **5 min**
- Ajouter 8*µl – 15µL** de EB, retirer les tubes du support magnétique, vortexer et petit pulse de centri, attendre **2min**
- Replacer les tubes sur le support magnétique et attendre **2 à 5min**
- Transférer 8µl – 15µL de surnageant dans de nouveaux tubes.

*7µL + 1µL pour la puce agilent

** 15µL dont 1µL puce agilent + 2µL Qubit + 2µL Kappa

Second round de capture : reprendre le protocole depuis le début /!\ :

- 1.1µL de baits + 4.4µL d'eau
- Reconcentration dans 15µL

9- Validation des librairies

- Doser **2µl** au Qubit (Quantitation Range : 0.2-100 ng)
- Validation sur puce Agilent High Sensitivity : **1µl de lib non diluée**

[Qubit] < 0.5ng/µl : puce High Sensitivy
0.1ng/µl < [Qubit] < 50ng/µl : puce DNA1000

- Dosage Kapa **(matin)**

Dosage par qPCR à l'aide du kit Kapa :

Vérifier à l'aide des résultats Agilent que les molarités (nM) des librairies se situent dans la gamme étalon.

Nom	[pM]	[pM] réaction
C1	20	4
C2	2	0,4
C3	0,2	0,04
C4	0,02	0,004
C5	0,002	0,0004
C6	0,0002	0,00004

1-Préparation des dilutions des librairies (en post-pcr) (dilutions identiques à celles de XYL02)

- **Dilution des librairies pures au 1/50e :**
  2µl de lib + 98µl d'h2o milliQ

- **Dilution des librairies (1/50e) au 1/50e pour une dil finale au 1/2.500e :**
  2µl de lib (1/50e) + 98µl d'h2o milliQ

> Décongeler le master mix Kapa (à l'abri de la lumière) ainsi que les tubes de gammes.

> Allumer le LC480, lancer le logiciel et vérifier que le bloc 96 soit bien en place.

- **<u>Dilution des librairies (1/2.500^{e}) au 1/10^{e} pour une dil finale au 1/25.000^{e} :</u>**
  10µl de lib (1/2.500^{e}) + 90µl d'h2o milliQ

2-Préparation de la plaque de qPCR

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Lib 1 25.000e	Lib 2 25.000e	Lib 3 25.000e	Lib 4 25.000e	Lib 5 25.000e	Lib 6 25.000e						
B	Lib 1 25.000e	Lib 2 25.000e	Lib 3 25.000e	Lib 4 25.000e	Lib 5 25.000e	Lib 6 25.000e						
C	Lib 1 25.000e	Lib 2 25.000e	Lib 3 25.000e	Lib 4 25.000e	Lib 5 25.000e	Lib 6 25.000e						
D	Lib 1 250.000e	Lib 2 250.000e	Lib 3 250.000e	Lib 4 250.000e	Lib 5 250.000e	Lib 6 250.000e						
E	Lib 1 250.000e	Lib 2 250.000e	Lib 3 250.000e	Lib 4 250.000e	Lib 5 250.000e	Lib 6 250.000e						
F	Lib 1 250.000e	Lib 2 250.000e	Lib 3 250.000e	Lib 4 250.000e	Lib 5 250.000e	Lib 6 250.000e						
G		Tmix	Std 1	Std 2	Std 3	Std 4	Std 5	Std 6	Th2o			
H		Tmix	Std 1	Std 2	Std 3	Std 4	Std 5	Std 6	Th2o			

On va doser les lib diluées au 1/25.000^{e} et au 1/250.000^{e} en triplicat soit 6 points de dosage par librairie à doser.
Il faut aussi compter 6 points de gammes en duplicat soit 12 points de dosage pour la gamme. Enfin, compter 2 Tmix (Mix seul) et 2 Th2o (Mix + 2µl d'h2o) et 1 point de plus pour le volume mort.

- En salle de préparation de mix, distribuer **8µl** de Mix par puits dans une plaque allant au LC480.

Mix qPCR Kapa :	X 1	X53
Master mix Kapa	6µL	318
H2O up	2µL	106

- En salle robot, distribuer **2µl** des 6 points de gamme (fourni avec le kit et prêts à l'emploi) en duplicat
- En salle post-NGS, distribuer **2µl** de librairies diluées au 25.000^{e} et 250.000^{e} dans de l'h2o milliQ en duplicat
- Fermer la plaque avec un film autocollant (alu ou transparent). Vortexer et centrifuger
- Fermer la plaque avec un film spécial pour LC480

3-Lancement du run sur LC480

- Ouvrir le logiciel pilotant le LC480
- Dans « Overview », cliquer sur « New experiment »
- Dans « Apply Template », aller dans CBGP/Template/Run template/Dosage Kapa NGS Helene.

					Analysis method	
Denaturation	95°C	5min	4,4°C/s	1 cycle	Aucune analyse de fluorescence	
Amplification	95°C	30s	4,4°C/s	35 cycles	Aucune analyse de fluorescence	
	60°C	45s	2,2°C/s		Quantification	Single
Dissociation	95°C	15s	4,4°C/s	1 cycle	Aucune analyse de fluorescence	
	60°C	1min	2,2°C/s		Aucune analyse de fluorescence	
	95°C	continous	0,11/5acq/°C		Analyse continue	
Refroidissement	40°C	30s	2,2°C/s	1 cycle	Aucune analyse de fluorescence	

- Vérifier les paramètres de run :
  Detection format : Sybr green
  Block size : 96
  Reaction volume : 10µl
- Insérer la plaque dans le LC480 et faire « Start Run »
- Enregistrer sous : experiment/…
- Une fois le run lancé, dans l'onglet « Sample editor » (Step 1 Abs. Quantification), renseigner les noms des échantillons en indiquant qu'il s'agit de replicats (sélectionner les puits/make replicates), renseigner les points de gamme (select/standard, dire que c'est des réplicats puis rentrer les concentrations) avec les concentrations adéquates et renseigner les T-

4-Récupération des données

- Dans l'onglet « Analysis », choisir « absolute quantification / 2nd derivée max (double clic)
- Choisir l'option High Sensitivity
- Vérifier les duplicats de gammes et de librairies (retirer les points aberrants)
- Cliquer sur « Calculate »
- Faire un clic-droit sur le tableau « Replicate Statistics » et exporter la table dans U:\commun\LightCycler480

Dans un fichier excel :

- Calculer les concentrations en fonction des dilutions effectuées pour le dosage :

Conc. Lib 25.000e (nM) = (Mean conc x 50 x 500)/1000
Conc. Lib 250.000e (nM) = (Mean conc x 50 x 500*10)/1000

- Pondérer ensuite les résultats obtenus par la taille des fragments :

Conc. Lib pondérée par la taille (nM) = Conc. Lib 25.000e ou 250.000e x (452/Taille lib agilent -120pb*)
*120pb = taille des adaptateurs

9- Pools des librairies pour passage sur séquenceur Illumina MiSeq (run 2*300pb) (matin)

A partir des résultats obtenus lors du dosage Kapa, pooler les librairies de façon équimolaire de manière à obtenir un pool final de 10-20µl à 4nM.

3 Sélection des spécimens pour les expérimentations XYL01 et XYL02

3.1 Insectes sélectionnés pour l'expérimentation XYL01

Specimen_ID	Espèce	Stade	Plante d'élevage
XMES00005_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus monspeliensis
XMES00005_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus monspeliensis
XMES00005_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus monspeliensis
XMES00005_0104	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus monspeliensis
XMES00012_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Pistacia lentiscus
XMES00012_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Pistacia lentiscus
XMES00012_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Pistacia lentiscus
XMES00012_0104	Philaenus spumarius	Adulte	Pistacia lentiscus
XMES00016_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Arbutus unedo
XMES00016_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Arbutus unedo
XMES00016_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Arbutus unedo
XMES00016_0104	Philaenus spumarius	Adulte	Arbutus unedo
XMES00021_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus creticus
XMES00021_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus creticus
XMES00021_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus creticus
XMES00021_0104	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus creticus
MCHA00499_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Olea europaea
MCHA00499_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Olea europaea
MCHA00499_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Olea europaea
MCHA00499_0104	Philaenus spumarius	Adulte	Olea europaea
MCHA00501_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Vitis vinifera
MCHA00501_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Vitis vinifera
MCHA00501_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Vitis vinifera
MCHA00501_0104	Philaenus spumarius	Adulte	Vitis vinifera
MCHA00504_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Quercus robur
MCHA00504_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Quercus robur

Specimen_ID	Espèce	Stade	Plante d'élevage
MCHA00504_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Quercus robur
MCHA00504_0104	Philaenus spumarius	Adulte	Quercus robur
JSTR01610_0101	Graphocephala atropunctata	Adulte	NA
JSTR01610_0102	Graphocephala atropunctata	Adulte	NA
JSTR06479_0101	Punaise	Adulte	NA
PPL4	Processionnaire	Larvaire (L4)	NA

3.2 Insectes sélectionnés pour l'expérimentation XYL02

Specimen_ID	Espèce	Dissection
MCHA00354_0102	Philaenus spumarius	tête
MCHA00488_0102_I	Philaenus spumarius	tête
MCHA00354_0103_I	Philaenus spumarius	adulte entier
MCHA00395_0104	Philaenus spumarius	adulte entier
XMES00367_0101_I	Philaenus spumarius	larve
XMES00392_0102_I	Philaenus spumarius	larve
JRAS03236_0101_I	Graphocephala atropunctata	adulte entier
XMES000016_0101	Philaenus spumarius	adulte entier
MCHA00488_0102_P	Philaenus spumarius	tête
XMES00367_0101_P	Philaenus spumarius	larve
JRAS03236_0102	Graphocephala atropunctata	adulte entier
MCHA00354_0103_P	Philaenus spumarius	adulte entier
XMES00392_0102_P	Philaenus spumarius	larve
JRAS03236_0101_P	Graphocephala atropunctata	adulte entier
JRAS03236_0103	Graphocephala atropunctata	adulte entier

L'ensemble des *Philaenus spumarius* ont été prélevés sur *Cistus monspelliensis* en Corse, le _I indique qu'un évènement de capture a été utilisé pour un seul échantillon et le _P indique que l'ADN a été capturé par pool de 4 échantillons.

4 Résultats des BLASTs pour les expérimentations XYL01 et XYL02

4.1 Résultat du BLAST des reads de l'expérimentation XYL01 sur la base de données *rbcL*

	Cistus	Vitis	Quercus	Olea	Arbutus	Pistacia	Autres	Total
MCHA00499_0101	0	0	0	0	0	0	1	1
MCHA00499_0102	0	0	2	0	0	0	4	6
MCHA00499_0103	0	0	0	0	0	0	3	3
MCHA00499_0104	0	0	0	0	0	0	10	10
MCHA00501_0101	0	0	0	0	0	0	1	1
MCHA00501_0102	0	0	0	0	0	0	1	1
MCHA00501_0103	0	2	0	0	0	0	0	2
MCHA00501_0104	0	0	0	0	0	0	0	0
MCHA00504_0101	0	0	0	0	0	0	1	1
MCHA00504_0102	0	0	0	0	0	0	4	4
MCHA00504_0103	0	0	0	0	0	0	2	2
MCHA00504_0104	0	0	0	0	0	0	4	4
XMES00005_0101	0	0	0	0	0	0	3	3
XMES00005_0102	0	0	0	0	0	0	1	1
XMES00005_0103	0	0	0	0	0	0	2	2
XMES00005_0104	0	0	0	0	0	0	2	2
XMES00012_0101	0	0	0	0	0	0	3	3
XMES00012_0102	0	0	0	0	0	0	0	0
XMES00012_0103	0	0	0	0	0	0	0	0
XMES00012_0104	0	0	0	0	0	0	2	2
XMES00016_0101	0	0	0	0	0	0	1	1
XMES00016_0102	0	0	0	0	0	0	0	0
XMES00016_0103	0	1	0	0	1	0	86	88
XMES00016_0104	0	0	0	0	0	0	2	2
XMES00021_0101	0	0	0	0	0	0	5	5

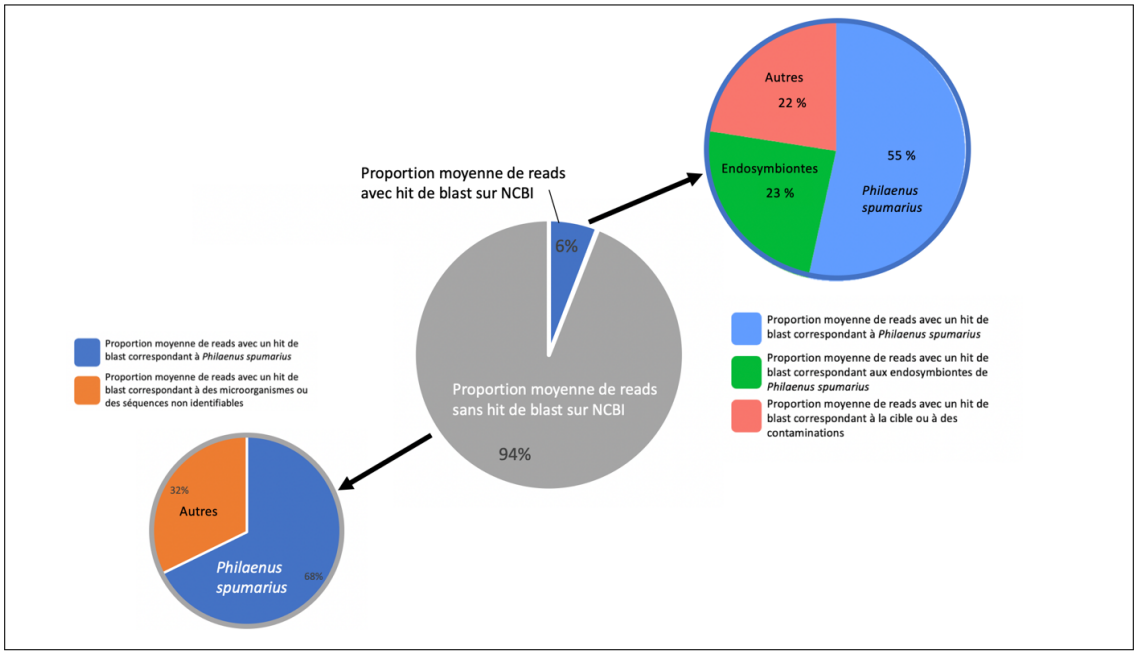
	Cistus	Vitis	Quercus	Olea	Arbutus	Pistacia	Autres	Total
XMES00021_0102	0	0	0	0	0	0	4	4
XMES00021_0103	0	0	0	0	0	0	5	5
XMES00021_0104	**2**	0	0	0	0	0	28	30

Le nombre de reads de plantes correspondant aux plantes d'élevage est dans les cellules colorées en vert (cf tableau D.3.1 page D14)

4.2 Résultat du BLAST des reads de l'expérimentation XYL02 sur la base de données *rbcL*

	Cistus	Total
MCHA00354_0102	0	0
MCHA00354_0103I	6	10
MCHA00354_0103P	8	9
MCHA00395_0104	0	3
MCHA00488_0102I	0	1
MCHA00488_0102P	0	0
XMES00367_0101I	1	3
XMES00367_0101P	55	76
XMES00392_0102I	0	0
XMES00392_0102P	0	0

5 Composition moyenne d'un échantillon d'ADN de *Philaenus spumarius* suite aux différents BLASTs pour l'expérimentation XYL02



6 Sélection des spécimens pour les expérimentations XYL03 et XYL04

6.1 Insectes sélectionnés pour l'expérimentation XYL03

Specimen ID	Espèce	Stade	Type d'extraction d'ADN
MCHA00354_0103	Philaenus spumarius	adulte entier	Extraction classique et purification KingFisher
MCHA00395_0104	Philaenus spumarius	adulte entier	Extraction classique et purification KingFisher
XMES00367_0101	Philaenus spumarius	larve	Extraction classique et purification KingFisher
XMES000392_0102	Philaenus spumarius	larve	Extraction classique et purification KingFisher

Specimen ID	Espèce	Stade	Type d'extraction d'ADN
JRAS03236_0104	Graphocephala atropunctata	adulte entier	Extraction Qiagen
MCHA00350_0101	Philaenus spumarius	adulte entier femelle	Extraction Qiagen
MCHA00376_0101	Philaenus spumarius	adulte entier femelle	Extraction Qiagen
XMES00326_0101	Philaenus spumarius	larve taille +++	Extraction Qiagen
MCHA00395_0103	Philaenus spumarius	adulte entier	Extraction classique et purification KingFisher
MCHA00488_0103	Philaenus spumarius	adulte entier	Extraction classique et purification KingFisher
XMES00336_0101	Philaenus spumarius	larve	Extraction classique et purification KingFisher
XMES00392_0101	Philaenus spumarius	larve	Extraction classique et purification KingFisher
JRAS03236_0106	Graphocephala atropunctata	adulte entier	Extraction Qiagen
MCHA00427_0101	Philaenus spumarius	adulte entier femelle	Extraction Qiagen
XMES00326_0105	Philaenus spumarius	larve taille -	Extraction Qiagen
XMES00336_0107	Philaenus spumarius	larve taille -	Extraction Qiagen

L'ensemble des *Philaenus spumarius* ont été prélevés sur *Cistus monspeliensis* en Corse. Le terme « Extraction classique et purification KingFisher » correspond au protocole d'extraction (annexe B.2 page B17) et le terme « Extraction Qiagen » correspond à l'utilisation du kit DNeasy Blood & Tissue Kits, Qiagen®.

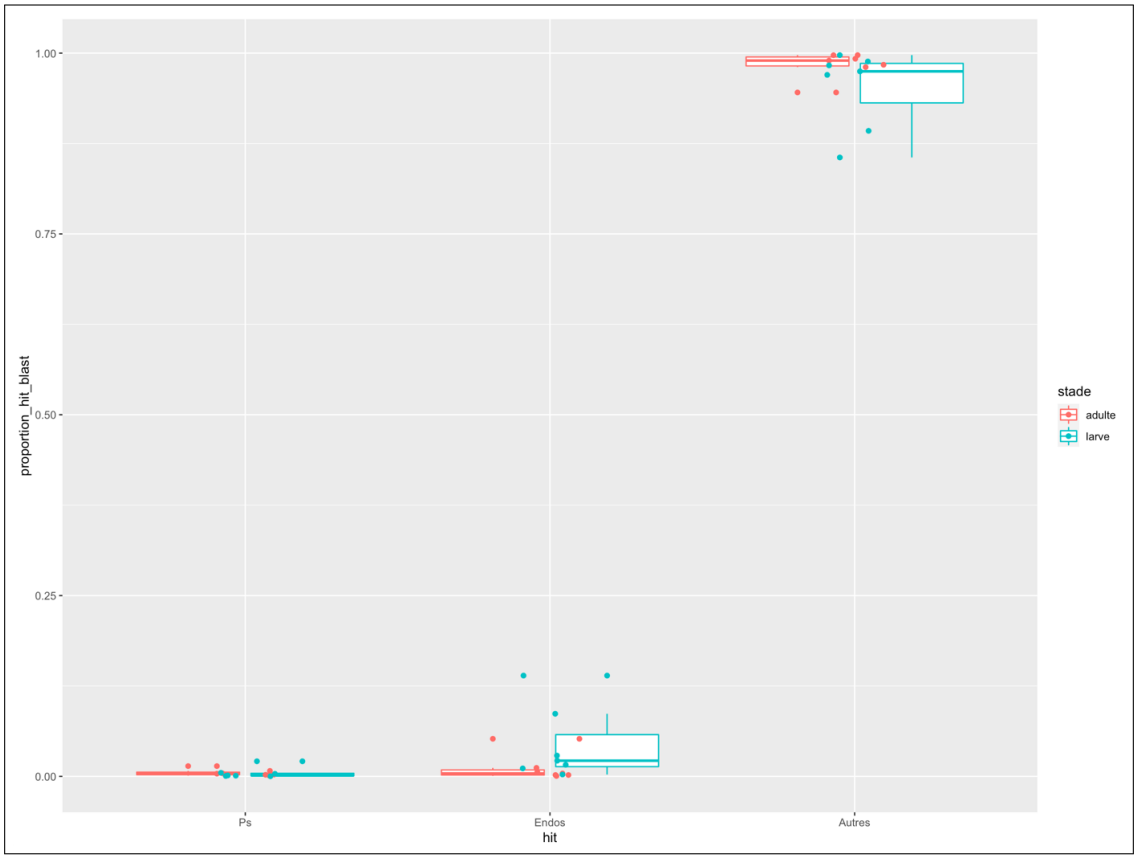
6.2 Insectes sélectionnés pour l'expérimentation XYL04

Echantillons	Espèce	Stade	Plante hôte
MCHA00051_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus monspeliensis
MCHA00501_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Vitis vinifera
MCHA00065_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Quercus ilex
MCHA00499_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Olea europaea
XMES00402_0101	Philaenus spumarius	Larve	Arbustus Unedo
MCHA00501_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Vitis vinifera
XMES01000_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Arbustus Unedo
MCHA00047_0102	Philaenus spumarius	Larve	Quercus ilex
MCHA00500_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Avena sativa
XMES00425_0102	Philaenus spumarius	Larve	Arbustus Unedo
XMES00021_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus creticus
MCHA00059_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Pistacia lentiscus
MCHA00047_0101	Philaenus spumarius	Larve	Quercus ilex
MCHA00059_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Pistacia lentiscus
XMES00370_0101	Philaenus spumarius	Larve	Cistus Monspelliensis
MCHA00055_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Olea europaea
RKRU00001_0101	Graphocephala atropunctata	Adulte	NA
XMES00424_0101	Philaenus spumarius	Larve	Arbustus Unedo
RKRU00001_0103	Graphocephala atropunctata	Adulte	NA
MCHA00051_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus monspeliensis
MCHA00043_0103	Philaenus spumarius	Larve	Olea europaea
XMES00424_0102	Philaenus spumarius	Larve	Arbustus Unedo
MCHA00502_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Vicia faba
MCHA00055_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Olea europaea
XMES00021_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus creticus
MCHA00504_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Quercus robur
MCHA00498_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Medicago sativa
MCHA00061_0102	Philaenus spumarius	Larve	Pistacia lentiscus

Echantillons	**Espèce**	**Stade**	**Plante hôte**
MCHA00497_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Taraxacum officinale
MCHA00504_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Quercus robur
MCHA00065_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Quercus ilex
MCHA00031_0103	Philaenus spumarius	Larve	Erodium moschatum
MCHA00500_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Avena sativa
MCHA00497_0101	Philaenus spumarius	Adulte	Taraxacum officinale
XMES00402_0103	Philaenus spumarius	Larve	Arbustus Unedo
MCHA00498_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Medicago sativa
MCHA00502_0102	Philaenus spumarius	Adulte	Vicia faba
MCHA00028_0103	Philaenus spumarius	Larve	Calendula arvensis
MCHA00395_0104	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus Monspelliensis
MCHA00028_0102	Philaenus spumarius	Larve	Calendula arvensis
MCHA00395_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Cistus Monspelliensis
XMES00370_0103	Philaenus spumarius	Larve	Cistus Monspelliensis
MCHA00061_0101	Philaenus spumarius	Larve	Pistacia lentiscus
MCHA00043_0101	Philaenus spumarius	Larve	Olea europaea
XMES01000_0103	Philaenus spumarius	Adulte	Arbustus Unedo
MCHA00031_0102	Philaenus spumarius	Larve	Erodium moschatum
XMES00425_0101	Philaenus spumarius	Larve	Arbustus Unedo

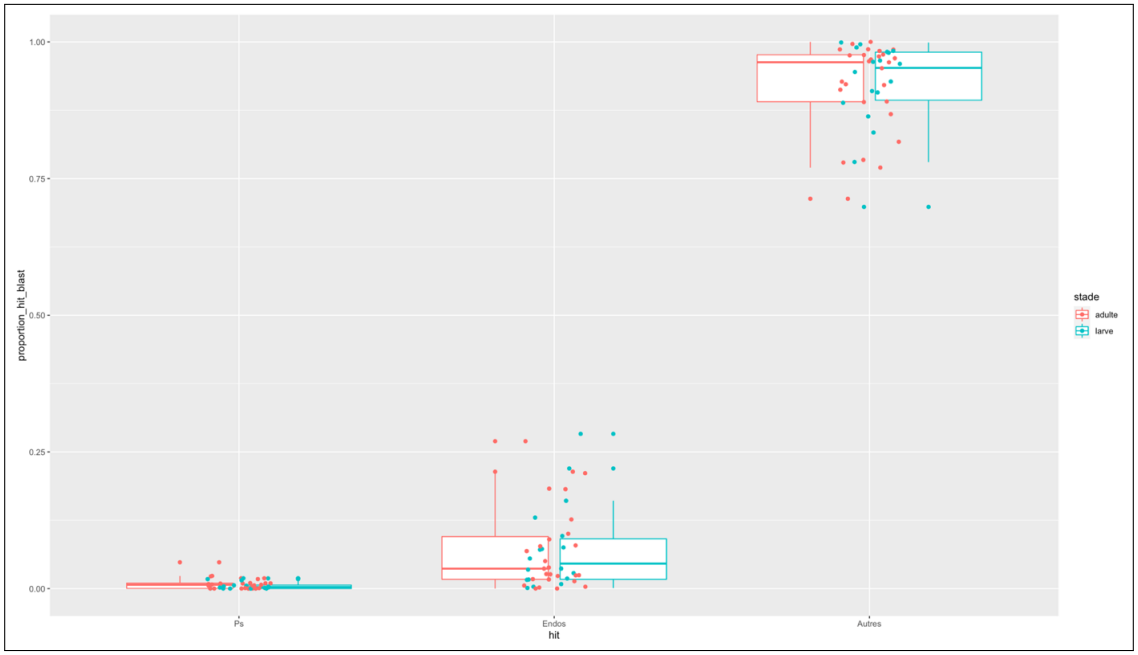
7 Résultats des BLASTs sur la base de données NCBI pour les expérimentations XYL03 et XYL04

7.1 Correspondances des reads des échantillons de l'expérimentation XYL03 lors du BLAST sur la base de données NCBI



- Ps : *Philaenus spumarius*
- Endos : endosymbionte de *Philaenus spumarius*

7.2 Correspondances des reads des échantillons de l'expérimentation XYL04 lors du BLAST sur la base de données NCBI



- Ps : *Philaenus spumarius*
- Endos : endosymbionte de *Philaenus spumarius*

8 Résultats des BLASTs sur la base de données *rbcL* pour les expérimentations XYL03 et XYL04

8.1 Résultat du BLAST des reads de l'expérimentation XYL03 sur la base de données *rbcL*

	Cistus	**Total**
MCHA00350_0101	2086	3174
MCHA00353_0103	1143	1774
MCHA00376_0101	502	1099
MCHA00395_0103	1147	2761
MCHA00395_0104	23	1013
MCHA00427_0101	963	2663
MCHA00488_0103	0	1176

	Cistus	**Total**
XMES00326_0101	1472	2156
XMES00326_0105	6041	7565
XMES00336_0101	1614	3005
XMES00336_0107	16017	17919
XMES00367_0101	11897	14174
XMES00392_0101	150	640
XMES00392_0102	80	228

8.2 Résultat du BLAST des reads de l'expérimentation XYL04 sur la base de données *rbcL*

BLAST	Cistus	Vitis	Quercus	Olea	Arbutus	Avena	Pistacia	Vicia	Medicago	Taraxacum	Erodium	Calendula	Autres	Total
MCHA00028_0102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**21**	101	122
MCHA00028_0103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	116	116
MCHA00031_0102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**10**	0	90	100
MCHA00031_0103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**12794**	0	76	12870
MCHA00043_0101	0	0	836	0	0	0	6	0	0	0	0	0	3572	4414
MCHA00043_0103	0	0	282	0	0	0	0	0	0	0	0	0	600	882
MCHA00047_0101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	84	84
MCHA00047_0102	0	0	**216**	44	0	0	0	0	0	0	0	0	162	422
MCHA00051_0102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	17
MCHA00051_0103	**9**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	93	102
MCHA00055_0101	0	0	115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	730	845
MCHA00055_0102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	498	498
MCHA00059_0101	0	0	256	0	0	0	0	0	0	0	0	0	131	387
MCHA00059_0102	0	0	62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	128	190
MCHA00061_0101	0	0	91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	114
MCHA00061_0102	0	0	139	0	0	0	0	0	0	0	0	0	355	494
MCHA00065_0101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	27

BLAST	Cistus	Vitis	Quercus	Olea	Arbutus	Avena	Pistacia	Vicia	Medicago	Taraxacum	Erodium	Calendula	Autres	Total
MCHA00065_0102	10	0	**13**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	108	131
MCHA00395_0103	**131**	0	59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	133	323
MCHA00395_0104	**21**	0	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	54	104
MCHA00497_0101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**18**	0	0	155	173
MCHA00497_0103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	286	286
MCHA00498_0101	0	0	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	125	154
MCHA00498_0102	62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	62
MCHA00499_0102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	68	68
MCHA00500_0101	0	0	27	0	0	0	0	0	0	2	0	0	213	242
MCHA00500_0102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1317	1317
MCHA00501_0102	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	215	235
MCHA00501_0103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	77	77
MCHA00502_0102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	305	305
MCHA00502_0103	0	0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	449	488
MCHA00504_0102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
MCHA00504_0103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	124	124
XMES00021_0101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	42	42
XMES00021_0103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	268	268
XMES00370_0101	0	0	31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	44

BLAST	Cistus	Vitis	Quercus	Olea	Arbutus	Avena	Pistacia	Vicia	Medicago	Taraxacum	Erodium	Calendula	Autres	Total
XMES00370_0103	0	0	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95
XMES00402_0101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1361	1361
XMES00402_0103	0	0	0	0	**3**	0	0	0	0	0	0	0	417	420
XMES00424_0101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	283	283
XMES00424_0102	0	0	121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	342	463
XMES00425_0101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	59	59
XMES00425_0102	0	0	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	716	818
XMES01000_0101	0	0	71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	234	305
XMES01000_0103	47	0	0	0	**73**	0	0	0	0	0	0	0	155	275

Le nombre de reads de plantes correspond aux plantes d'élevage est dans les cellules colorées en vert (cf tableau D.6.2 page D20)

Annexe E

Entretiens sociologiques

1 Liste des entretiens et guides d'entretiens utilisés

1.1 Liste des entretiens

Date de l'entretien	**Institut - organisation**	**Guide d'entretien utilisé**	**Mode entretien**
03/07/2020	MAA - SRAL	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT adapté	Visioconférence
27/01/2021	Exploitation viticole	Viticulteurs	Téléphonique
28/01/2021	Exploitation viticole	Viticulteurs	Présentiel
03/02/2021	Exploitation viticole	Viticulteurs	Présentiel
08/02/2021	Exploitation viticole	Viticulteurs	Présentiel
09/07/2021	INRAE	Production de connaissances	Présentiel
12/07/2021	INRAE	Production de connaissances	Présentiel
21/07/2021	INRAE	Production de connaissances	Présentiel
27/07/2021	INRAE	Production de connaissances	Présentiel
05/08/2021	INRAE	Production de connaissances	Présentiel

Date de l'entretien	**Institut - organisation**	**Guide d'entretien utilisé**	**Mode entretien**
31/08/2021	INRAE	Format hybride : Production de connaissances et Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
01/09/2021	Anses	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
01/09/2021	Anses	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
01/09/2021	Anses	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
06/09/2021	INRAE	Production de connaissances	Présentiel
10/09/2021	Interpofession	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Visioconférence
13/09/2021	INRAE	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
16/09/2021	MAA	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
17/09/2021	MAA	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
17/09/2021	INRAE	Format hybride : Production de connaissances et Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
22/09/2021	FREDON	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
22/10/2021	MAA - SRAL	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
25/10/2021	INRAE	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
25/10/2021	MAA	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
29/10/2021	FREDON	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
02/11/2021	Anses	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
03/11/2021	Plateforme ESV	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
03/11/2021	Plateforme ESV	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
03/11/2021	Plateforme ESV	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
08/11/2021	MAA	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
18/11/2021	Plateforme ESV	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
18/11/2021	Plateforme ESV	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
07/12/2021	INRAE	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
13/12/2021	Interpofession	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Visioconférence
15/12/2021	Interpofession	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Visioconférence

Date de l'entretien	Institut - organisation	Guide d'entretien utilisé	Mode entretien
17/12/2021	Collaborateur Maison Hennessy	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Visioconférence
14/01/2022	MAA	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Visioconférence
19/01/2022	Exploitation viticole	Viticulteurs	Téléphonique
24/01/2022	Interpofession	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Visioconférence
25/01/2022	Exploitation viticole	Viticulteurs	Téléphonique
26/01/2022	Exploitation viticole	Viticulteurs	Téléphonique
28/01/2022	INRAE	Production de connaissances	Présentiel
07/02/2022	MAA	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
07/02/2022	INRAE	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Présentiel
15/02/2022	Collaborateur Maison Hennessy	Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT	Visioconférence
15/04/2022	Exploitation viticole	Viticulteurs	Téléphonique

1.2 Guide d'entretien « Production de connaissances »

Thèmes abordés	Questions
Parcours professionnel	• Pourriez-vous me parler de votre parcours professionnel ? • Pourquoi avez-vous choisi de faire de la recherche ? • En quoi la recherche est importante selon vous ?

Thèmes abordés	**Questions**
Le début des travaux sur la bactérie	• Vous vous souvenez de la première fois où vous avez entendu parlé de *Xylella fastidiosa* ? ? Est-ce lié à votre activité professionnelle ? (Circonstances) • Pouvez-vous me parler du début de vos travaux de recherche sur la bactérie ? Dans quel contexte se situait-il ? • Quelle est la place de ce projet de recherche ? (Avant *Xylella fastidiosa* c'était comment ? Quels projets ? Quelle charge de travail ? Et maintenant ?) • Pourriez-vous me parler du montage du projet ? (d'où vient la demande, quels sont les financements, la mise en place concrète du projet et les personnes impliquées) • Ce projet a-t-il nécessité la mise en place de nouvelles procédures de travail, de nouveaux protocoles ou d'acheter du matériel ? Le statut de la bactérie a-t-il impliqué des conditions de travail particulières ? • Comment ce projet s'est-il intégré aux problématiques du laboratoire ? (positionnement de la recherche dans le contexte plus large du laboratoire)

Thèmes abordés	**Questions**

La mise en œuvre des travaux (description fine des étapes mises en œuvre)	• Discussion autour des expérimentations/recherches mises en œuvre au laboratoire
	  ◦ Stockage et traçabilité
	  ◦ Opérations délicates avec des conditions particulières de sécurité pour les personnes et/ou les informations sensibles ?
	  ◦ Le statut d'organisme de quarantaine de la bactérie avec ses implications biosécuritaires et régaliennes a-t-il des effets sur la mise en œuvre des travaux, sur la responsabilité des personnes ?
	• Existe-t-il une collaboration entre les laboratoires pour faire avancer la recherche ? Avec les professionnels ? Avec l'Anses ? Avec la DGAl et les SRAL ?

La poursuite des travaux sur la bactérie	• Êtes-vous impliqué dans d'autres projets de recherche concernant la bactérie ? (explicitation des projets : objectifs, place de la bactérie parmi les autres projets, différences entre les projets) • Est-ce qu'il y a une recherche de continuité entre les projets ? Est-ce que c'est « négocié », avant ou après la signature du projet ? • Est-ce que vous avez refusé des projets sur *Xylella fastidiosa* ? Pourquoi ? • Après ces projets, quel investissement (en temps, humain) pensez-vous accorder aux projets sur la bactérie ?

Thèmes abordés	Questions
Élargissement de la discussion sur la bactérie en dehors du laboratoire (contexte médiatique, législatif, etc.)	• Comment avez-vous perçu l'émergence de *Xylella fastidiosa* en Italie ? Que savez-vous de la judiciarisation des activités scientifiques en Italie ? En avez-vous discuté avec d'autres scientifiques ? • La détection de la bactérie aux Baléares a-t-elle eu des effets sur votre recherche ? Et en PACA ? Et en Occitanie ? • Constatez-vous une évolution de l'impact de la législation sur les recherches depuis le début des recherches ? Et des attentions politiques locales ou nationales ? • Quelle est la place de votre recherche vis-à-vis des protocoles officiels développés en LNR ? • *Xylella fastidiosa* est un sujet politique et polémique ? Comment se placer vis-à-vis de cela lorsqu'on mène des recherches sur la bactérie ? *Quelle différence cela fait de travailler sur les insectes ?

1.3 Guide d'entretien « Acteurs de l'épidémio-surveillance - GT »

Thèmes abordés	Questions
Parcours professionnel	• Pourriez-vous me parler de votre parcours professionnel ?

Thèmes abordés	**Questions**
Maladies émergentes et crises sanitaires	• Pourriez-vous me citer des exemples de crises sanitaires en France ? Dans le domaine de la santé des végétaux ? • D'après les exemples que vous venez de me citer, pour vous quelle est la définition d'une crise sanitaire ? • Qu'en est-il de la bactérie *Xylella fastidiosa* ? (En Italie, en Espagne, en Corse, en PACA, en Occitanie)
Xylella fastidiosa	• Quelles sont vos missions professionnelles qui concernent *Xylella fastidiosa* ? dans le cadre de ces missions, quelles sont vos interactions avec d'autres acteurs de l'épidémio-surveillance ? (institutions, professionnels etc.) • Vous vous souvenez de la première fois où vous avez entendu parlé de *Xylella fastidiosa* ? Est-ce lié à votre activité professionnelle ? (Circonstances) • Si *Xylella fastidiosa* se propageait sur le territoire / devenait une crise sanitaire, est-ce que vous pensez que vos missions évolueraient ? Comment ? Selon vous, comment se préparer à ce type de situation ?

Thèmes abordés	**Questions**
La plateforme ESV et le GT *Xylella fastidiosa*	• *Depuis combien de temps êtes-vous impliqué dans la plateforme d'épidémio-surveillance du végétal ? Quelles y sont vos missions ? • *Depuis combien de temps êtes-vous impliqué dans le groupe de travail *Xylella fastidiosa* de la plateforme ? • Pourriez-vous me parler de la création de la plateforme ? De son fonctionnement aujourd'hui ? • Pourriez-vous me parler du GT *Xylella fastidiosa* ? Pour vous, quel(s) est/sont le(s) lien(s) entre la plateforme et le GT ? • Si *Xylella fastidiosa* se propageait sur le territoire / devenait une crise sanitaire, qu'est-ce que cette situation changerait pour le GT et/ou la plateforme ?

1.4 Guide d'entretien « Viticulteurs »

Thèmes abordés	**Questions**
Le domaine viticole Lutte, prophylaxie actuelles : verrous et challenges ?	• Pourriez-vous me parler de votre exploitation ? • Plus particulièrement, pouvez-vous m'expliquer votre itinéraire technique concernant la prophylaxie et la lutte contre des ravageurs et des organismes pathogènes ? Mesures mises en place contre quel(s) pathogène(s) ? ◦ Comment gérez-vous/entretenez-vous les bordures de parcelles au sein de votre exploitation ? ◦ Que pensez-vous des cultures et espaces naturels à proximité de vos parcelles vis-à-vis du risque sanitaire ? Par exemple, est-ce qu'il y a des vignes abandonnées ? • Auprès de qui trouvez-vous des conseils pour la gestion des problèmes sanitaires de votre exploitation ? En cas de l'arrivée d'un nouveau problème sanitaire ? • Quelles sont les mesures de prophylaxie qui sont compliquées à mettre en place ? pourquoi ? • Quelle nouvelle technique vous aimeriez essayer mais qui semble difficile à mettre en place ? Pourquoi ?
La bactérie *Xylella fastidiosa*	• Vous vous souvenez de la première fois où vous avez entendu parlé de *Xylella fastidiosa* ? Est-ce que vous en avez discuté autour de vous ? • Aujourd'hui, que pensez-vous de cette bactérie ? Représente-t-elle une menace pour vous ? • Pourriez-vous me dire quelles sont vos sources d'informations à ce sujet ?

Thèmes abordés	**Questions**

La préparation en cas de crise	• Est-ce que vous avez entendu parlé de la situation en Italie, aux Baléares, en Corse, en PACA, en Occitanie ? Comment ou par qui ? Que pensez-vous de cette « épidémie » ?
	• Si *Xylella fastidiosa* arrivait sur votre territoire :
	  ◦ Quelles seraient les personnes ressources contactées, quelles mesures pourriez-vous mettre en place pour renforcer la prophylaxie sur votre exploitation ?
	  ◦ Plus largement comment une action à l'échelle régionale pourrait être envisagée (quels seraient les rôles de chaque acteur) ?
	  ◦ Est-ce que vous pourriez participer à un programme d'épidémio-surveillance ?
	• Et si la bactérie était détectée à proximité de votre exploitation ? Pensez-vous que votre exploitation serait à risques ? Pourquoi ? Vers qui/quel organisme vous tourneriez-vous ? Quelles actions pourraient être mises en place ?

Résumé - La bactérie *Xylella fastidiosa* est l'organisme de quarantaine avec une incidence socio-économique et environnementale potentielle considérée comme la plus grave en Europe. Elle est transmise par des insectes vecteurs polyphages. La compréhension des réseaux d'interactions écologiques est un prérequis indispensable à la mise en place de mesures de prophylaxie et de lutte. Cette thèse propose une approche transdisciplinaire avec l'étude des insectes vecteurs et une analyse des enjeux autour de la mobilisation de ces connaissances pour la préparation à une éventuelle crise. En écologie, l'étude des insectes vecteurs est menée à la fois en zone contaminée (Corse) et en zone indemne (principalement la Nouvelle-Aquitaine). En zone contaminée, les travaux de recherche permettent de mettre en évidence la bactérie dans les insectes vecteurs, avec une détection de *Xylella fastidiosa* à l'échelle du territoire Corse. En zone indemne, les insectes vecteurs potentiels et avérés de la bactérie et les interactions trophiques plantes-insectes dans les parcelles cultivées (principalement la vigne) et les milieux semi-naturels adjacents sont étudiés. Enfin, la mobilisation d'outils sociologiques (observation participante et entretiens semi-directifs) dans le champ des STS apportera un éclairage sur la production des connaissances scientifiques et leur mobilisation ou non dans des dispositifs réglementaires et de surveillance de la maladie. L'étude de la bactérie en zone contaminée a conduit à la mise au point d'une méthode à haut débit pour détecter *Xylella fastidiosa* dans ses insectes vecteurs et son application sur des insectes collectés en Corse entre 2016 et 2020 permet de mettre en évidence que la bactérie est présente sur l'ensemble de l'île. De plus, les résultats de modèles statistiques montrent l'influence de la température sur les populations de bactérie avec une prévalence plus importante lorsque les températures hivernales sont plus douces. Dans une perspective de changements globaux, des projections climatiques jusqu'en 2100 ont été utilisées et ont montré que les aires favorables à la bactérie et son principal insecte vecteur resteraient importantes en Corse et largement superposées avec des déplacements possibles du pathosystème en altitude. Les études en zones indemnes ont montré que *Philaenus spumarius, Neophilaenus capestris, Neophilaenus lineatus* et *Cicadella viridis,* sont les quatre espèces d'insectes vecteurs principalement retrouvées sur le continent en France. Ces espèces sont majoritairement collectées en strates herbacées de prairies et en bordures de parcelles cultivées (vigne) par rapport aux inter-rangs. Ces observations mettent en évidence que les milieux semi-naturels et les bordures de parcelles sont plus favorables à la propagation de la bactérie et le risque de transmission de la bactérie aux plantes cultivées semble plus modéré car peu d'insectes ont été collectés dans les parcelles. Les résultats issus de la recherche académique sont mobilisés dans d'autres contextes dont le contexte réglementaire. Dans le cas de *Xylella fastidiosa*, les résultats montrent que les recherches mondiales sont partagées par l'ensemble de la communauté scientifique bien qu'elles soient regroupées selon la discipline et la maladie étudiées. En France, ces recherches sont dissociées selon les disciplines et les instituts et sont également impactées par la médiatisation de cette bactérie de quarantaine à lutte obligatoire. Enfin, le dispositif d'épidémio-surveillance concernant *Xylella fastidiosa* en France et appuyé sur la plateforme d'épidémio-surveillance en santé du végétal résulte d'arrangements entre la recherche et le gestionnaire du risque. Ainsi, cette thèse propose une démarche transdisciplinaire afin d'éclairer la gestion intégrée des organismes pathogènes dans le cadre de la *preparedness* avec la production de résultats en écologie et l'analyse du système d'épidémio-surveillance de la bactérie en France.

Mots clés : *Xylella fastidiosa*, insectes vecteurs, xylème, *preparedness*, socio-pathosystème

Abstract - The bacterium *Xylella fastidiosa* is the quarantine pest with potential socio-economic and environmental impact considered to be the most serious in Europe. It is transmitted by polyphagous insect vectors. Understanding host plant – insect vector – bacterium interaction networks is an essential prerequisite to implement prophylactic and control measures. This thesis proposes a transdisciplinary approach with the study of insect vectors in ecology and an analysis of the issues around the mobilization of this knowledge for the preparation for a possible crisis. In ecology, the study of insect vectors of the bacterium is carried out both in contaminated areas (Corsica) and in unscathed areas (mainly New Aquitaine). In contaminated areas, research work will make it possible to highlight the bacterium in insect vectors, with the detection of *Xylella fastidiosa* across the Corsican territory. In free areas, the objective is to study potential and proven insect vectors of the bacterium and plant-insect trophic interactions in crops (mainly vines) and adjacent semi-natural environments. Finally, the mobilization of sociological tools (participant observation and semi-structured interviews) in the field of the study of science and methods will shed light on the production of scientific knowledge and its mobilization or not in regulatory and monitoring systems of the disease. The study of the bacterium in contaminated areas has led to the development of a high-throughput method to detect *Xylella fastidiosa* in its insect vectors. The application of this method on insects collected in Corsica between 2016 and 2020 makes it possible to demonstrate that the bacterium is present throughout the island. In addition, the results of statistical models show the influence of temperature on bacterial populations with a significant prevalence when winter temperatures are milder. From the perspective of global changes, climate projections up to 2100 were used and showed that the areas favorable to the bacterium and its main insect vector would remain significant in Corsica and largely superimposed with possible movements of the pathosystem at altitude and therefore that the risk of an epidemic would remain present. Studies in free areas have shown that *Philaenus spumarius, Neophilaenus capestris, Neophilaenus lineatus* and *Cicadella viridis* are the four vector insect species mainly found on the mainland in France. These species are mainly collected in herbaceous strata of meadows and on the edges of crops (vineyards) in relation to the inter-rows. These observations show that semi-natural environments and the edges of plots are more favorable to the spread of the bacterium and the risk of transmission of the bacterium to cultivated plants seems more moderate because few insects were collected in the plots. The results from academic research are used in other contexts, including the regulatory context. In the case of the bacterium *Xylella fastidiosa*, the results show that global research is shared by the entire scientific community although it is grouped according to the discipline and the disease studied. In France, this research is dissociated according to the disciplines and the institutes and it is also impacted by the media coverage of this quarantine bacterium which must be controlled. Finally, the epidemio-surveillance system concerning *Xylella fastidiosa* in France and supported by the plant health epidemio-surveillance platform results from arrangements between research and the risk manager. Thus, this thesis proposes a transdisciplinary approach in order to shed light on the integrated management of pathogenic organisms within the framework of preparedness with the production of results in ecology and the analysis of the epidemio-surveillance system of the bacterium in France.

Key words : *Xylella fastidiosa*, xylem, insects vectors, preparedness, socio-pathosystem