

**Domanda di autorizzazione per il rilascio del
parassitoide G1 *Ganaspis* cf. *brasiliensis*
come agente di lotta biologica classica contro
*Drosophila suzukii***



Data: 22.02.2022

Richiedente:
Servizio fitosanitario
Viale Stefano Franscini 17
6501 Bellinzona
Switzerland

Indice

Contesto della domanda	2
Scheda tecnica	6
1. Informazioni generali	6
1.1 Nome e indirizzo del richiedente (impresa o istituto)	6
1.2 Descrizione della natura e della portata degli usi previsti	6
1.3 Descrizione delle regioni geografiche e delle aree ambientali in cui è previsto l'utilizzo degli organismi	6
2 Designazione e caratterizzazione degli organismi	6
2.1 Denominazione scientifica e altri nomi	6
2.2 Dati tassonomici, incluse le sottospecie, il ceppo o il biotipo	6
2.3 Conferma dei dati tassonomici da parte di un'autorità scientifica riconosciuta, nonché nome e indirizzo dell'istituzione che archivia gli animali di riferimento	6
2.4 Marcatori fenotipici e genetici, nonché descrizione delle possibilità per l'identificazione univoca degli organismi nell'ambiente	7
2.5 Metodi di coltura e di produzione degli organismi	9
2.6 Fonte e purezza dei ceppi e dei biotipi selezionati per l'emissione sperimentale, nome e indirizzo dell'organizzazione che alleva gli animali e indicazioni precise sul luogo (longitudine e latitudine, altezza, spazio vitale, ospiti) e sulla stagione della raccolta sul campo	9
2.7 Regioni in cui l'emissione sperimentale degli organismi ha già avuto luogo intenzionalmente o involontariamente, nonché esperienze fatte al riguardo	9
2.8 Biologia ed ecologia	10
2.8.1 Diffusione naturale degli organismi	10
3 Possibili effetti	28
3.1 Effetti sull'uomo e sugli animali, in particolare pericoli per la loro salute (p. es. effetti allergenici o tossici, irritazione cutanea, trasmissione di malattie)	28
3.2 Effets sur l'environnement et la diversité biologique	28
4 Misure di sicurezza	30
4.1 Misure preventive	30
4.2 Smaltimento dei rifiuti	30
4.3 Piani d'emergenza	31
Autorizzazioni e valutazioni delle autorità svizzere ed estere concernenti la diffusione sperimentale e la messa in circolazione	32
Determinazione e valutazione del rischio	33
Piano di monitoraggio	36
Informazioni dell'acquirente e l'eventuale confezionamento degli organismi	38
Conformità all'Ordinanza di Nagoya dell'11 dicembre 2015	39
Bibliografia	40

Contesto della domanda

Il moscerino del ciliegio (SWD, dall'inglese *Spotted-Wing Drosophila*), *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae), è originaria dell'Asia orientale (Kanzawa 1939, Hauser 2011). È stata rilevata per la prima volta in California, Spagna e Italia nel 2008 e da allora si è stabilita nella maggior parte delle regioni frutticole del Nord America e dell'Europa, nonché in alcuni paesi del Sud America (Walsh et al. 2011, Emiljanowicz et al. 2014, NAPIS 2014, Asplen et al. 2015). Più recentemente, è stata trovata anche nell'Africa settentrionale (Marocco; Boughdad et al., 2020), e nell'Africa sub-sahariana continentale (Kenya; Kwadha et al. 2021). Diversamente dalla maggior parte delle specie di *Drosophila* che si nutrono di frutti in decomposizione, *D. suzukii* depone le uova all'interno di frutti in fase di maturazione, perforandone la buccia con il suo particolare ovopositore seghettato (Atallah et al. 2014) e rendendo così i frutti colpiti invendibili. L'alimentazione delle larve di *D. suzukii* provoca la degradazione dei frutti e le lesioni causate dall'ovideposizione possono fornire anche una via d'accesso per delle infezioni batteriche e fungine secondarie (Hamby et al. 2012, Stewart et al. 2014). *Drosophila suzukii* è altamente polifaga, è in grado di svilupparsi in molti piccoli frutti appartenenti a colture economicamente importanti come more, mirtilli, ciliegie, lamponi e fragole, così come in altre 100 e più piante ospiti selvatiche documentate (Lee et al. 2011, Lee et al. 2015, Poyet et al. 2015, Kenis et al. 2016, Leach et al. 2019b, Santoiemma et al. 2019, Bühlmann et al. 2021). Negli Stati Uniti, il valore del danno creato da *D. suzukii* solo nelle cinque colture di frutta sopra citate è stato di 4,37 miliardi di dollari all'anno nel 2012 (USDA-NASS 2013).

La crescita rapida del moscerino (una generazione in 13-14 g a 22°C) e l'alto potenziale riproduttivo (> 600 uova per femmina) possono portare ad aumenti esponenziali della popolazione e a significative perdite economiche alle colture commerciali (Goodhue et al. 2011, Tochen et al. 2014, Wiman et al. 2014, Hamby et al. 2016, Farnsworth et al. 2017). Ad esempio, i coltivatori di lamponi del Minnesota hanno avuto una perdita mediana del 23% del raccolto nel 2017 (DiGiacomo et al. 2019) e i coltivatori di lamponi della California devono applicare insetticidi ripetutamente per produrre un raccolto redditizio (Farnsworth et al. 2017). La perdita del raccolto potenzialmente dovuta unicamente a *D. suzukii* negli Stati Uniti, sulla base dei danni medi del 2014, è stata stimata a oltre 1,27 miliardi di dollari (Burrack 2015). In Europa, i rapporti sulle perdite economiche dovute a *D. suzukii* sono meno comuni, ma ne esistono alcuni. Ad esempio, l'impatto economico complessivo dei danni da *D. suzukii* nel 2010 è stato stimato in 3-4 milioni di euro nella sola provincia italiana di Trento (Ioriatti et al. 2012, De Ros et al. 2015). In un sondaggio svizzero, il 76% dei coltivatori di ciliegie, prugne e uva ha riferito di dover affrontare costi aggiuntivi a causa della *D. suzukii*, con alcuni coltivatori che stimano perdite di reddito superiori al 30% (Knapp et al. 2020).

Sono stati implementati vari metodi di controllo per sopprimere le popolazioni di *D. suzukii* e ridurre i danni alle colture (Haye et al. 2016, Del Fava et al. 2017). Nel recente passato, i programmi si sono basati principalmente su insetticidi chimici che prendono di mira le mosche adulte (ad esempio, Van Timmeren e Isaacs 2013, Shower et al. 2018, Van Timmeren et al. 2018). Gli insetticidi possono essere efficaci (Beers et al. 2011, Van Timmeren e Isaacs 2013), ma c'è un elenco limitato di materiali accettabili e i residui nei frutti presentano problemi per la salute umana (Rodriguez-Saona et al. 2019). Le applicazioni di insetticidi possono anche avere un impatto negativo sugli organismi utili (Biondi et al. 2012), e i coltivatori hanno osservato sempre più focolai secondari di cocciniglie e altri parassiti (Lee et al. 2019). Più preoccupanti, sono le possibili limitazioni future dovute alle resistenze agli insetticidi (Gress e Zalom 2019). I ricercatori hanno sviluppato ulteriori strumenti di gestione

integrata dei parassiti (IPM, dall'inglese *Integrative Pest Management*), tra cui semiochimici (Cloonan et al. 2018), prodotti naturali per la protezione delle colture (Cahenzli et al. 2018), metodi colturali (Rendon et al. 2019, Rendon & Walton 2019, Santoiemma et al. 2020), barriere di esclusione (Leach et al. 2018), trattamento a freddo dei frutti post-raccolta (Aly et al. 2017) e rilascio di maschi sterili (Lanouette et al. 2017). In Svizzera, si è cercato di ridurre l'uso di insetticidi chimici, ma le pratiche colturali proposte, come la cattura massale, le misure sanitarie, le reti antinsetto e la raccolta precoce, richiedono tempo e aumentano notevolmente i costi di produzione (Mazzi et al. 2017, Knapp et al. 2019, 2020).

Anche quando le applicazioni (bio)insetticide e le pratiche colturali riducono le popolazioni nella coltura trattata, le popolazioni di *D. suzukii* possono stabilirsi in habitat vicini non coltivati, che agiscono da serbatoi per la ricolonizzazione della coltura (ad esempio, Klick et al. 2014, Diepenbrock et al. 2016, Wang et al. 2016a, Tonina et al. 2018, Leach et al. 2019b, Santoiemma et al. 2019, Thistlewood et al. 2019). Nessuno degli approcci attualmente utilizzati, da solo o unito ad altri, ha soppresso efficacemente le popolazioni di *D. suzukii* o ha raggiunto una fase di sviluppo tale da essere implementato su larga scala. Pertanto, per questo parassita altamente mobile e polifago, dovrebbero essere sviluppate delle strategie IPM che riducano la densità di popolazione a livello di paesaggio (Wang et al. 2019a). Il controllo biologico deve svolgere un ruolo chiave nei programmi a livello di territorio, riducendo le popolazioni di moscerini anche in habitat non coltivati, diminuendo così il numero d'individui che migrano nelle colture suscettibili e migliorando l'efficacia di altri strumenti di controllo.

I parassitoidi giocano un ruolo importante nella regolazione della popolazione di molte specie di *Drosophila* (Carton et al. 1986). La maggior parte sono parassitoidi larvali appartenenti ai generi di insetti *Asobara* (Braconidae), *Ganaspis* e *Leptopilina* (entrambi Figitidae). Diversi studi hanno censito e valutato i parassitoidi naturalmente associati a *D. suzukii* in Europa (Rossi Stacconi et al. 2013, 2015, Miller et al. 2015, Mazzetto et al. 2016, Knoll et al. 2017) e Nord America (Miller et al. 2015, Wang et al. 2016b, 2016c, Kaçar et al. 2017). Nel complesso, questi studi mostrano che non ci sono parassitoidi indigeni che attaccano efficacemente *D. suzukii* nelle regioni invase. La maggior parte dei parassitoidi larvali comuni in Nord America o in Europa, come *Asobara tabida* Nees, *Leptopilina heterotoma* Thomson e *Leptopilina boulardi* Barb. et al., attaccano drosofilidi che si sviluppano in substrati in fermentazione (esempio, *Drosophila melanogaster* Meigen), e non sono in grado di svilupparsi con *D. suzukii* a causa della sua resistenza immunitaria (Chabert et al. 2012, Kacsoh e Schlenke 2012, Poyet et al. 2013). Solo due parassitoidi pupali cosmopoliti e generalisti, *Trichopria drosophilae* Perkins (Diapriidae) e *Pachycrepoideus vindemiae* (Rondani) (Pteromalidae) attaccano frequentemente e si sviluppano da *D. suzukii* in Europa e nelle Americhe. Sebbene questi parassitoidi pupali possano essere efficaci in condizioni di laboratorio (ad esempio, Kaçar et al. 2017, Rossi Stacconi et al. 2017, Wolf et al. 2020, 2021), il parassitismo in campo delle pupe di *D. suzukii* è generalmente < 5% (Miller et al. 2015).

Alcuni predatori sono stati valutati per la loro capacità di attaccare le larve o le pupe di *D. suzukii*. Riassunti in Haye et al. (2016) e Lee et al. (2019), le prove in campo e in laboratorio suggeriscono che i predatori possono uccidere una quantità sostanziale di *D. suzukii*; per esempio, le infestazioni larvali sono state diminuite del 19-34% nelle fragole e del 28-49% nei mirtilli (Woltz e Lee 2017). Tuttavia, le loro popolazioni sono difficili da manipolare e, senza rilasci aumentativi o alterazione dell'habitat, non ne forniscono una soppressione efficace. Normalmente, i predatori attaccano le pupe di *D. suzukii* al di fuori del frutto: l'80-100% delle pupe di *D. suzukii* sentinella sono state attaccate quando poste sulla superficie del suolo nei campi di mirtilli del Maine (Ballman et al. 2017), e quando erano leggermente

sepolte, i predatori hanno eliminato il 61, 67 e 91% di pupe rispettivamente nei campi di fragole, more e mirtilli dell'Oregon (Woltz e Lee 2017). Forbicine, nabidi, ragni, formiche e antocoridi sono predatori noti; coleotteri carabidi, grilli, larve di crisopidi e stafilinidi sono altri predatori probabili (Walsh et al. 2011, Gabarra et al. 2015, Renkema et al. 2015, Woltz et al. 2015, Wolf et al. 2018). In studi di rilascio aumentativo, in ricerche svolte in laboratorio gli antocoridi hanno ridotto la presenza di *D. suzukii* di una percentuale sostanziale (Renkema e Cuthbertson 2018), ma non sono state osservate differenze nelle prove in campo (Woltz et al. 2015), e i tassi di rilascio necessari per fornire il controllo sarebbero troppo costosi (Lee et al. 2019).

Potrebbe essere possibile manipolare il numero di predatori presenti utilizzando delle "scatole di riproduzione", già testate per i parassitoidi pupali (Rossi Stacconi et al. 2019), o attraverso pratiche di controllo biologico conservativo, anche se nessuno studio ha dimostrato che questo sia efficace per *D. suzukii*. Le aziende biologiche con un'alta presenza di *D. suzukii* utilizzano frequentemente biopesticidi per minimizzare il rischio di infestazione, e anche se alcuni di questi prodotti presentano un basso rischio per gli insetti benefici, molti dei "bioinsetticidi" più efficaci -come le spinosine- sono tossici per questi insetti (Biondi et al. 2012). Sono stati fatti anche dei test con repellenti (per lo più oli essenziali) che, nonostante le grandi speranze, si sono rivelati essere tipicamente non persistenti, poco efficaci e troppo costosi per un'implementazione su larga scala nelle aziende agricole commerciali (ad esempio, Cahenzli et al. 2018) Questi risultati sottolineano che anche nei sistemi biologici esistono sfide significative per integrare agenti di controllo biologico nel sistema delle colture, evidenziando nuovamente la necessità di nemici naturali efficaci che operano a livello di territorio.

Per questi motivi, i membri dell'University of California (USA), dell'Oregon State University (USA), dell'USDA-ARS Beneficial Insects Introduction Research Unit (USA), del CABI (Svizzera), dell'INRAE (Francia) e dell'Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (Italia) hanno cercato di esplorare, importare e identificare degli agenti di controllo biologico efficaci e specifici per *D. suzukii* provenienti dall'Asia orientale. Il team con sede negli Stati Uniti insieme ai colleghi italiani ha condotto l'esplorazione all'estero per cercare i parassitoidi di *D. suzukii* in Corea del Sud e in Cina durante il 2013-2017 e ha scoperto una diversità di 15 specie di parassitoidi, 6 delle quali erano presenti nei frutti raccolti direttamente dalle piante (Daane et al. 2016, Giorgini et al. 2019). Le indagini condotte da CABI, INRAE e colleghi in Cina e Giappone tra il 2015 e il 2017 hanno portato a trovare 8 specie di parassitoidi che attaccano *D. suzukii* nei frutti in maturazione sulle piante (Girod et al. 2018a). I parassitoidi dominanti sono stati sistematicamente valutati in laboratori di quarantena per il loro potenziale come agenti di controllo biologico nelle aree invase da *D. suzukii* (Girod et al. 2018; Giorgini et al. 2019; Wang et al. 2018; 2019b; 2020; Hougardy et al. 2019; Seehausen et al. 2020). Independentemente, i team di ricerca hanno concluso che il parassitoide *Ganaspis brasiliensis* (Hymenoptera: Figitidae) è uno dei parassitoidi più efficienti e specifici dell'ospite di *D. suzukii* e ha un grande potenziale per essere utilizzato come agente di controllo biologico in Europa e Nord America. Contemporaneamente, alcuni ricercatori giapponesi hanno riferito che *G. brasiliensis* è il parassitoide larvale di *D. suzukii* più specializzato (Kasuya et al. 2013, Matsuura et al. 2018).

Tuttavia, sono state osservate importanti differenze tra le popolazioni di *G. brasiliensis* provenienti da diverse località in Cina e Giappone sia nella loro specificità che nel loro comportamento per la ricerca dell'ospite (Girod et al. 2018c). Ulteriori studi hanno mostrato marcate differenze tra queste popolazioni per quanto riguarda le proteine espresse (Reeve & Seehausen 2019) e i geni (Seehausen et al. 2020). Una ricerca approfondita sulle ripercussioni biologiche di queste differenze tra le popolazioni ha dimostrato che esse non si

incrociano e sono quindi probabilmente due specie criptiche. In condizioni di laboratorio, una specie (denominata G3-4) parassita diverse larve di drosophila indipendentemente dalla fonte di cibo di queste ultime, mentre l'altra (G1) è quasi esclusivamente specifica delle larve che si nutrono nei frutti in maturazione (Seehausen et al. 2020). Durante le diverse indagini in Asia, gli individui di *G. cf. brasiliensis* sono sempre stati raccolti unicamente da frutti freschi maturi e non sono mai stati ottenuti da esche di frutta, come per esempio fette di banana (Kasuya et al. 2013; Daane et al. 2016; Giorgini et al. 2019; Girod et al. 2018a), indicando un alto grado di specificità dell'habitat per i frutti freschi anche in condizioni di campo. La scoperta che questo parassitoide è probabilmente un complesso di almeno due specie congeneriche e che una di esse può essere chiaramente associata ad una maggiore specificità di habitat ai frutti freschi, dimostra l'idoneità di G1 *G. cf. brasiliensis* al controllo di *D. suzukii* e ne supporta la selezione per poter sviluppare un programma di controllo biologico classico. In natura, la differenza tra *D. suzukii* e altre specie frugivore di *Drosophila* che si sviluppano rispettivamente nei frutti freschi maturi o nei frutti in decomposizione potrebbe tradurre la specificità dell'habitat di G1 *G. cf. brasiliensis* in una specificità dell'ospite. Se completamente specifiche per i frutti maturi in condizioni naturali, le vespe parassitoidi di G1 parassiteranno solo *D. suzukii* nel suo areale invasivo. Sulla base di questi risultati di laboratorio, dei rilasci di G1 *G. cf. brasiliensis* sono già stati effettuati in Italia durante l'estate del 2021, anche nelle province settentrionali confinanti con la Svizzera.

Tuttavia, in Svizzera, come ultimo passo prima del rilascio in campo, è stato effettuato un test di scelta in grandi gabbie da campo in due cantoni, Jura e Ticino (Seehausen et al., accepted). I parassitoidi rilasciati avevano la possibilità di scegliere se parassitare le larve di *D. suzukii* nella frutta fresca (mirtillo o sambuco) o la specie nativa non bersaglio *D. melanogaster* nella frutta in decomposizione. I risultati sono inequivocabili: il parassitismo apparente delle larve di *D. suzukii* che si nutrivano di frutta fresca era in media del 13%, mentre solo un parassitoide è emerso da *D. melanogaster* che si nutriva di frutta in decomposizione (0,03% di parassitismo). Pertanto, i risultati confermano le conclusioni di precedenti esperimenti di laboratorio, i quali sostengono che G1 *G. cf. brasiliensis* è altamente specifico alle larve di *D. suzukii* che si nutrono di frutta fresca e che il parassitismo di *D. melanogaster*, una specie strettamente legata a *D. suzukii* ma che si nutre di frutta in decomposizione, è molto rara. Questo esperimento ha confermato la biosicurezza di G1 *G. cf. brasiliensis* e permette di concludere che il rilascio in campo del parassitoide non dovrebbe rappresentare dei rischi significativi per le specie non bersaglio.

Sulla base dei risultati degli esperimenti in condizioni di laboratorio e in gabbie di campo a favore dell'utilizzo della specie per il controllo di *D. suzukii*, sottoponiamo qui all'esame una domanda di autorizzazione per il rilascio del parassitoide G1 *G. cf. brasiliensis* al fine di effettuare dei rilasci in pieno campo del parassitoide in Svizzera. Se verrà concessa un'autorizzazione per il rilascio in campo, si suggerisce di rilasciare il parassitoide prima nei cantoni Ticino e Giura. Se l'insediamento è confermato e altri cantoni mostrano interesse, l'agente di lotta biologica potrà essere rilasciato in altre regioni della Svizzera in una fase successiva. Trovate i dettagli sui rilasci previsti nelle informazioni supplementari S1.

Scheda tecnica

Comprende le informazioni dettagliate nell'allegato 3.4 dell'articolo 30 dell'Ordinanza sull'emissione deliberata nell'ambiente ODE.

1. Informazioni generali

1.1 Nome e indirizzo del richiedente (impresa o istituto)

Servizio fitosanitario
Viale Stefano Franscini 17
6501 Bellinzona
Switzerland

1.2 Descrizione della natura e della portata degli usi previsti

È previsto il rilascio del parassitoide G1 *Ganaspis* cf. *brasiliensis* come agente di controllo biologico classico del moscerino del ciliegio invasivo *Drosophila suzukii*. Diverse migliaia d'individui del parassitoide saranno rilasciati per più anni in Svizzera. Si presume e si spera che il parassitoide si stabilisca e si diffonda in tutte le aree infestate da *D. suzukii* o almeno nella maggior parte delle aree climaticamente adatte (vedi cap. 2.8.8). A lungo termine, il parassitoide dovrebbe ridurre le popolazioni di *D. suzukii* in queste aree e quindi contribuire a minimizzare i danni di questa specie invasiva. Si suggerisce di rilasciare il parassitoide dapprima nei cantoni Ticino e Giura e, se l'insediamento è confermato, l'agente di controllo biologico potrà essere rilasciato in altre aree in una fase successiva.

1.3 Descrizione delle regioni geografiche e delle aree ambientali in cui è previsto l'utilizzo degli organismi

I rilasci del parassitoide avverranno nei cantoni Ticino e Giura. In questi cantoni, verranno selezionati dei luoghi strategici in cui è nota la presenza di *D. suzukii*, ad esempio siti di produzione di piccoli frutti, frutteti o bordi di foreste con frutti selvatici. Come menzionato sopra, si presume e si spera che il parassitoide si stabilisca e si diffonda in tutte le aree infestate da *D. suzukii* o almeno nella maggior parte delle aree climaticamente adatte (vedi cap. 2.8.8).

2 Designazione e caratterizzazione degli organismi

2.1 Denominazione scientifica e altri nomi

Ganaspis brasiliensis (Hymenoptera: Figitidae)

2.2 Dati tassonomici, incluse le sottospecie, il ceppo o il biotipo

L'organismo oggetto di questa domanda di rilascio è descritto come *Ganaspis brasiliensis*, gruppo genetico 1 (G1) da Nomano et al. (2017) e come *Ganaspis* cf. *brasiliensis* "extended G1" da Seehausen et al. (2020). Anche se non ancora riconosciuto come una specie separata, Seehausen et al. (2020) presentano forti prove che il G1 esteso è in realtà una specie criptica all'interno del complesso di specie di *G. cf. brasiliensis*.

2.3 Conferma dei dati tassonomici da parte di un'autorità scientifica riconosciuta, nonché nome e indirizzo dell'istituzione che archivia gli animali di riferimento

Il Dr. Matthew Buffington (Systematic Entomology Laboratory, USDA Agricultural Research Service, Washington, D.C., USA), specialista mondiale della famiglia di insetti Figitidae a cui appartiene *Ganaspis brasiliensis*, ha descritto l'organismo oggetto della presente domanda come morfologicamente simile a *Ganaspis brasiliensis* (Girod et al. 2018a). Un'analisi molecolare condotta da CABI (Svizzera) in collaborazione con INRAE (Francia) utilizzando due marcatori molecolari, il gene codificante mitocondriale Cytochrome

Oxidase subunit 1 (COI) e la regione nucleare Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2), ha confermato l'identificazione tassonomica e determinato che tutti gli esemplari che sono stati raccolti nella località di origine (vedi descrizione sotto) appartengono al gruppo genetico 1 (G1) descritto da Nomano et al (2017) e Seehausen et al. (2020).

Gli esemplari di riferimento sono archiviati presso CABI, rue des Grillons 1, 2800 Delémont, Svizzera.

2.4 Marcatori fenotipici e genetici, nonché descrizione delle possibilità per l'identificazione univoca degli organismi nell'ambiente

In passato, *Ganaspis brasiliensis* è stato spesso erroneamente identificato come *G. xanthopoda*, queste due specie sono però chiaramente distinte sia morfologicamente che geneticamente (Nomano et al. 2017). Fenotipicamente, *G. brasiliensis* è descritto da Buffington & Forshage (2016), i quali espongono anche come differenziarlo da altre specie. Dalla strettamente correlata *Leptopilina heterotoma*, presente anche in Svizzera, *G. brasiliensis* può essere distinta come segue: "La specie può essere separata da tutte le *Leptopilina* per la banda continua di setole alla base del metasoma (tipicamente interrotta e incompleta dorsalmente in *Leptopilina*), il margine postero-ventrale del metapleurone è angolare e setoso (arrotondato, obliquo e glabro in *Leptopilina*) e l'antenna maschile con il primo flagellomero nettamente modificato e curvato verso l'esterno (in *Leptopilina* è il secondo flagellomero a essere modificato). L'osservazione casuale di *G. brasiliensis* può causare la confusione di questa specie con *Leptopilina heterotoma* (Thomson), poiché la forma e le dimensioni della piastra scutellare sono notevolmente simili, ma seguire i caratteri di cui sopra che separano *Ganaspis* da *Leptopilina* aiuterà nella corretta identificazione." (Buffington & Forshage 2016; pagina 4).

Geneticamente, *G. brasiliensis* può essere differenziata da altre specie utilizzando diversi marcatori genetici (COI, ITS1, ITS2, RpL37), come descritto in dettaglio da Nomano et al. (2017), Giorgini et al. (2019), e Seehausen et al. (2020), i quali hanno messo a disposizione anche delle *GenBank accessions* per future identificazioni. Geneticamente, *G. brasiliensis* non viene differenziato solo da altre specie, ma esistono 4-5 gruppi genetici distinti che sono descritti all'interno della specie (Figura 1).

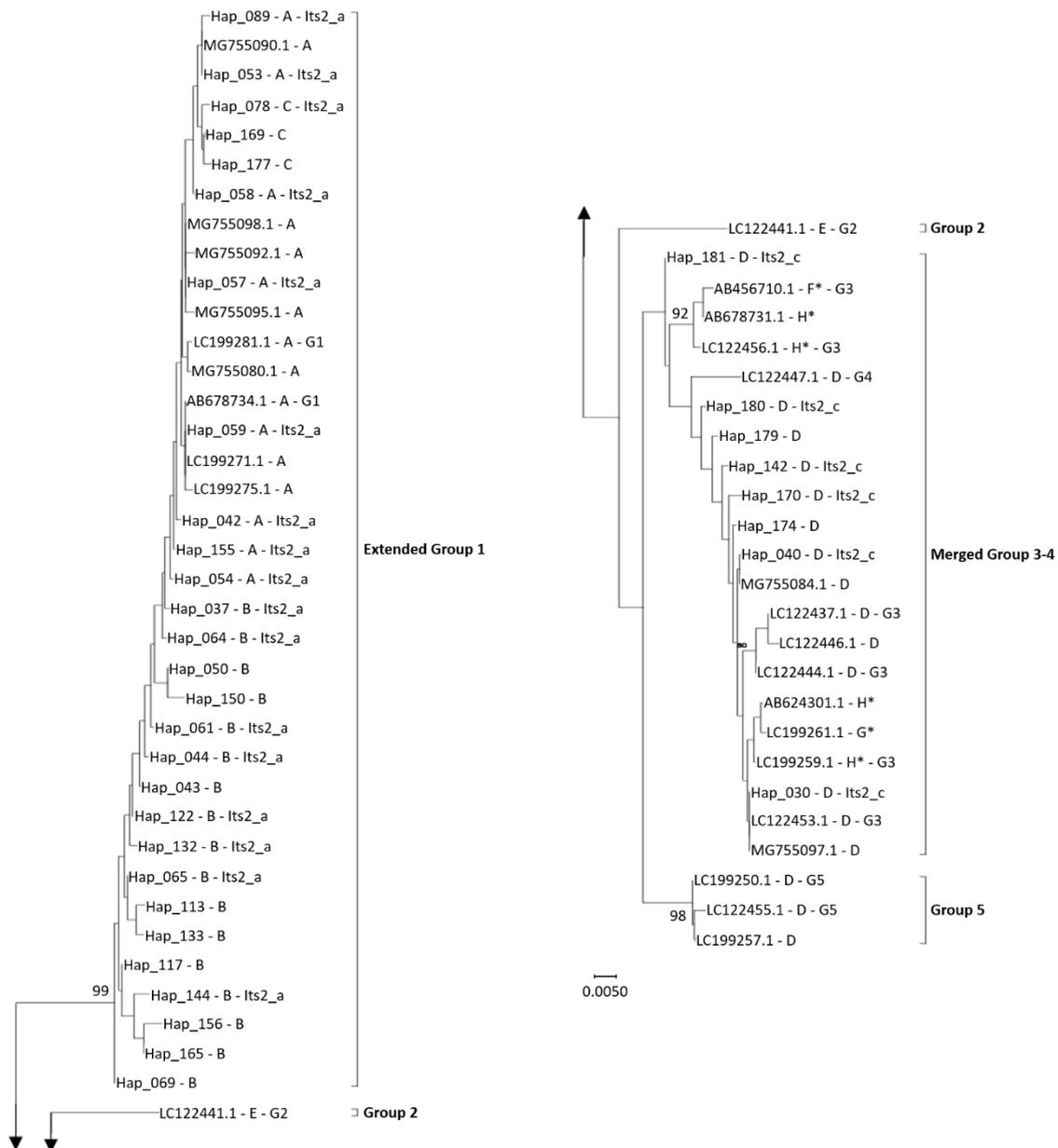


Figura 1: Albero filogenetico *Neighbor-Joining* per COI e corrispondenza con ITS2. Le etichette per gli aplotipi concatenano informazioni separate da trattini come segue (da sinistra a destra): o il *GenBank accession* o un numero di aplotipo che si riferisce agli identificativi interni dell'Istituto Sophia Antipolis; l'aplotipo dell'amminoacido correlato (da A a G) dopo la traduzione utilizzando il codice mitocondriale dell'invertebrato; e quando disponibile, l'aplotipo ITS2 correlato (its2_a, its2_b, o its2_c) (vedi anche tabella S6). Gli aplotipi contrassegnati da un asterisco (*) presentano delle mutazioni associate a un cambiamento della natura biochimica dell'amminoacido corrispondente.

Recentemente, sono state presentate delle prove genetiche e biologiche (esperimenti di incrocio) molto valide che indicano l'esistenza di almeno due specie sorelle criptiche all'interno di questi gruppi genetici, una delle quali (G1) descritta come specifica per *Drosophila suzukii* che si nutre di frutta fresca (Seehausen et al. 2020), si tratta dell'organismo oggetto di questa domanda. L'organismo è d'ora in poi indicato come G1

Ganaspis cf. brasiliensis per indicare che è morfologicamente identico a *G. brasiliensis* ma potrebbe essere una specie sorella criptica. Inoltre, utilizzando il metodo basato su *matrix-assisted laser-desorption and ionization time-of-flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS), *G. brasiliensis* viene differenziato persino a livello di popolazione (Reeve & Seehausen 2019).

2.5 Metodi di coltura e di produzione degli organismi

I metodi di allevamento per G1 *G. cf. brasiliensis* sono descritti da Girod et al. (2018b, 2018c) e Seehausen et al. (2020).

Fino a 50 vespe adulte sono tenute in contenitori di plastica trasparente (9 cm di diametro, 5 cm di altezza) all'interno di una gabbia di garza. Una provetta (Eppendorf) con una carta di cellulosa bagnata è aggiunta come fonte d'acqua e il contenitore viene chiuso con un tappo di spugna su cui viene posta una goccia di miele come fonte di cibo. Sei mirtilli freschi, posti 24 ore prima in una gabbia di allevamento di *Drosophila suzukii* per 24-48 ore per raccogliere le uova, vengono aggiunti ogni 2-3 giorni ad ogni contenitore con gli adulti per permettere il parassitismo delle giovani larve del moscerino. Dopo l'esposizione alle vespe, i frutti infestati vengono rimossi dai contenitori e tenuti in tubi di plastica trasparente (5 cm di diametro, 10 cm di altezza) con una carta filtro sul fondo per assorbire il succo di frutta che si crea. Ogni 2-3 giorni, viene controllata la presenza di vespe appena nate nei tubi di allevamento e le vespe adulte vengono trasferite nei contenitori di ovideposizione.

2.6 Fonte e purezza dei ceppi e dei biotipi selezionati per l'emissione sperimentale, nome e indirizzo dell'organizzazione che alleva gli animali e indicazioni precise sul luogo (longitudine e latitudine, altezza, spazio vitale, ospiti) e sulla stagione della raccolta sul campo

I G1 *G. cf. brasiliensis* da utilizzare negli esperimenti provengono tutti da individui raccolti nella primavera (maggio e giugno) 2015 nel Naganuma Park, Hachioji, Tokyo, Giappone (35°38'12.5 "N 139°21'52.9 "E; 147 m s.l.m.), da larve di *Drosophila suzukii* che si nutrono di frutti in maturazione sulle piante di *Prunus serrulate* e *Morus* sp. (vedi anche Girod et al. 2018a). Dalla raccolta, i parassitoidi sono stati allevati nel laboratorio di quarantena di livello 3 del CABI, rue des Grillons 1, 2800 Delémont, Svizzera. Durante questo periodo, almeno 30 esemplari di questo allevamento sono stati analizzati geneticamente e sono risultati essere solo G1 *G. cf. brasiliensis*.

La colonia di partenza di *D. suzukii* che verrà utilizzata per gli esperimenti in gabbia sul campo è stata raccolta a partire da frutti selvatici come *Rubus* sp. e *Fragaria* sp. in diversi siti in Svizzera nel 2015 (Girod et al. 2018b). I moscerini di questa prima raccolta sono descritte a livello molecolare da Fraimout et al. (2017). Dal 2015, vengono allevati presso il centro CABI di Delémont e sono utilizzati in tutti gli esperimenti con *G. brasiliensis* (ad esempio, Seehausen et al. 2020).

2.7 Regioni in cui l'emissione sperimentale degli organismi ha già avuto luogo intenzionalmente o involontariamente, nonché esperienze fatte al riguardo

A fine estate 2021, il ceppo giapponese G1 *G. cf. brasiliensis* proveniente dall'allevamento in laboratorio al centro CABI di Delémont è stato rilasciato in pieno campo in diverse località italiane. Tuttavia, in questo momento (gennaio 2022), i risultati di questi rilasci non sono disponibili.

Un'importazione accidentale di G1 *G. cf. brasiliensis* è nota solo dalla zona di Vancouver nella Columbia britannica, Canada (Abram et al. 2020). Il parassitoide è stato trovato la prima volta nel 2019 e di nuovo nel 2020 e 2021 (P. Abram, comunicazione personale).

Finora, in Canada, è emerso solo da *D. suzukii* come ospite. Uno studio recente ha dimostrato che con il parassitoide asiatico *Leptopolina japonica*, anch'esso importato accidentalmente in Canada, il parassitismo larvale di *D. suzukii* da parte di G1 *G. cf. brasiliensis* ha raggiunto un livello comparabile a quello osservato in Asia (Abram et al., in revisione).

2.8 Biologia ed ecologia

2.8.1 Diffusione naturale degli organismi

Gli adulti di *Ganaspis brasiliensis* sono alati e possono quindi disperdersi. Tuttavia, a causa delle loro dimensioni relativamente piccole (1,5 - 1,75 mm), la dispersione in volo è probabilmente limitata a poche centinaia di metri per generazione, anche se distanze maggiori possono essere coperte grazie alla dispersione tramite vento. Tuttavia, non sono disponibili dati scientifici per questa specie o per specie affini che permettano di determinare approfonditamente la dispersione potenziale. Come endoparassitoidi delle larve di *Drosophila suzukii* che si nutrono di frutti in maturazione, gli stadi subadulti dei parassitoidi possono anche essere diffusi da altri animali (p. es. uccelli e mammiferi) che raccolgono i frutti e li disperdono nell'ambiente.

2.8.2 Ruolo e importanza degli organismi nell'ecosistema originario

Ganaspis brasiliensis è un parassitoide ripetutamente descritto come uno dei parassitoidi larvali dominanti e più efficaci emersi da *D. suzukii* durante le esplorazioni in Corea del Sud, Cina e Giappone (Daane et al. 2016; Giorigini et al. 2018; Girod et al. 2018a). Ad esempio, in Cina e Giappone, *Ganaspis* è stato il parassitoide più frequentemente emerso da *D. suzukii*, presente in tutti i campioni da cui sono emersi parassitoidi. È anche la specie che ha raggiunto i più alti livelli di parassitismo (fino al 75%) in entrambi i paesi (Girod et al. 2018a). Quindi, nel suo ecosistema di origine, *Ganaspis brasiliensis* svolge un ruolo cruciale come nemico naturale di *Drosophila suzukii*, contribuendo a mantenere la popolazione del suo ospite bassa e non problematica per le colture orticole asiatiche nella maggior parte dei periodi.

2.8.3 Descrizione della biologia, in particolare della riproduzione, del tempo di generazione, delle vie di diffusione biologica, delle esigenze degli organismi in materia di ospiti, spazio vitale e clima nonché della cerchia di ospiti possibile

Ganaspis brasiliensis è un endoparassitoide larvale-pupale di diverse specie di *Drosophila*. È una specie coinobionte, si sviluppa quindi insieme all'ospite in crescita, senza arrestare lo sviluppo dell'ospite. L'adulto del parassitoide attacca le giovani larve di *Drosophila* che si nutrono nei frutti forando la buccia del frutto con l'ovopositore. Predilige ovideporre nelle larve di primo e secondo stadio, ma è anche in grado di parassitare gli stadi larvali più avanzati. Il rischio di incapsulamento attraverso la reazione immunitaria delle larve ospiti più vecchie è tuttavia più alto (Wang et al. 2018). Il parassitoide si impupa nella teca pupale dell'ospite, da cui emerge diversi giorni dopo. Come già accennato, *G. brasiliensis* è un parassitoide coinobionte, permette quindi al suo ospite di continuare a nutrirsi e svilupparsi mentre si nutre di lui. Questo significa anche che il parassitoide non previene direttamente i danni su frutti già infestati (cioè, l'ovideposizione da parte delle femmine di *D. suzukii* rende già un frutto invendibile), ma piuttosto dispiega i suoi effetti benefici a medio o lungo termine, sopprimendo le popolazioni di *D. suzukii* nell'ambiente, anche negli habitat non coltivati dove risiede *D. suzukii* (Kenis et al. 2016; Wolf et al. 2020; Bühlmann et al. 2021). L'accoppiamento può avvenire immediatamente dopo l'emergenza dell'adulto e non c'è un periodo di pre-ovideposizione (Girod et al. 2018; Wang et al. 2018). Le femmine emergono con circa il 45% del loro carico di uova massimo (90 uova), che è stato dimostrato essere raggiunto dopo 8-10 giorni. Questa è anche l'età femminile in cui è stato osservato il più alto numero di progenie al giorno (media=8). Dopo 10 giorni, il numero medio di progenie

diminuisce con l'età della femmina (Wang et al. 2018). Le femmine non accoppiate *Ganaspis brasiliensis* producono solo progenie maschile mentre le femmine accoppiate sono in grado di produrre sia maschi (uova non fecondate) che femmine (uova fecondate).

Sono stati descritti diversi "lignaggi" o "gruppi genetici" di *G. brasiliensis* con differenti specificità per l'ospite e preferenze di habitat (Nomano et al. 2017; Seehausen et al. 2020): Il primo gruppo (G1) è descritto come uno specialista di *D. suzukii* ed è stato finora registrato dal Giappone (Kasuya et al. 2013; Mitsui et al. 2007; Seehausen et al. 2020), dalla Corea del Sud (Buffington & Forshage 2016; Daane et al. 2016; e dalla Cina (Giorgini et al. 2019; Seehausen et al. 2020). Il secondo gruppo (G2) è descritto solo dall'isola Iriomote-jima che si trova all'estremità meridionale dell'arcipelago Ryukyu (Nomano et al. 2017). Il terzo gruppo (G3) è stato inizialmente descritto come un generalista che attacca principalmente *Drosophila lutescens*, *D. rufa* e *D. biauraria* negli altipiani tropicali e nelle pianure temperate del Giappone (Nomano et al. 2017 e relative citazioni). Tuttavia, studi più recenti hanno mostrato che questo gruppo si trova anche in Cina e Corea del Sud e, almeno in condizioni di laboratorio, parassita prontamente *D. suzukii*, *D. melanogaster* e *D. simulans* (Giorgini et al. 2019; Seehausen et al. 2020). Il quarto gruppo (G4), che è geneticamente a volte fuso con un quinto gruppo (G5; Nomano et al. 2017) o con il terzo gruppo (Seehausen et al. 2020), ha una distribuzione mondiale (Asia, Hawaii e Africa) ed è associato a diverse specie di *Drosophila*, compresa *D. suzukii* (Nomano et al. 2017).

Risultati non pubblicati dell'allevamento di G1 e G3-4 *G. cf. brasiliensis* a sei diverse temperature hanno mostrato che (1) i maschi si sviluppano generalmente più velocemente delle femmine (protandria); (2) G1 *G. cf. brasiliensis* è generalmente più adatto a temperature più alte (temperatura ottimale più alta), mentre G3 *G. cf. brasiliensis* è meglio adattato a temperature più basse (temperatura minima per lo sviluppo più bassa); (3) sono necessarie ulteriori informazioni a temperature elevate (ad esempio 32°C) per determinare con precisione la temperatura ottimale di G1 *G. cf. brasiliensis* (Figura 2).

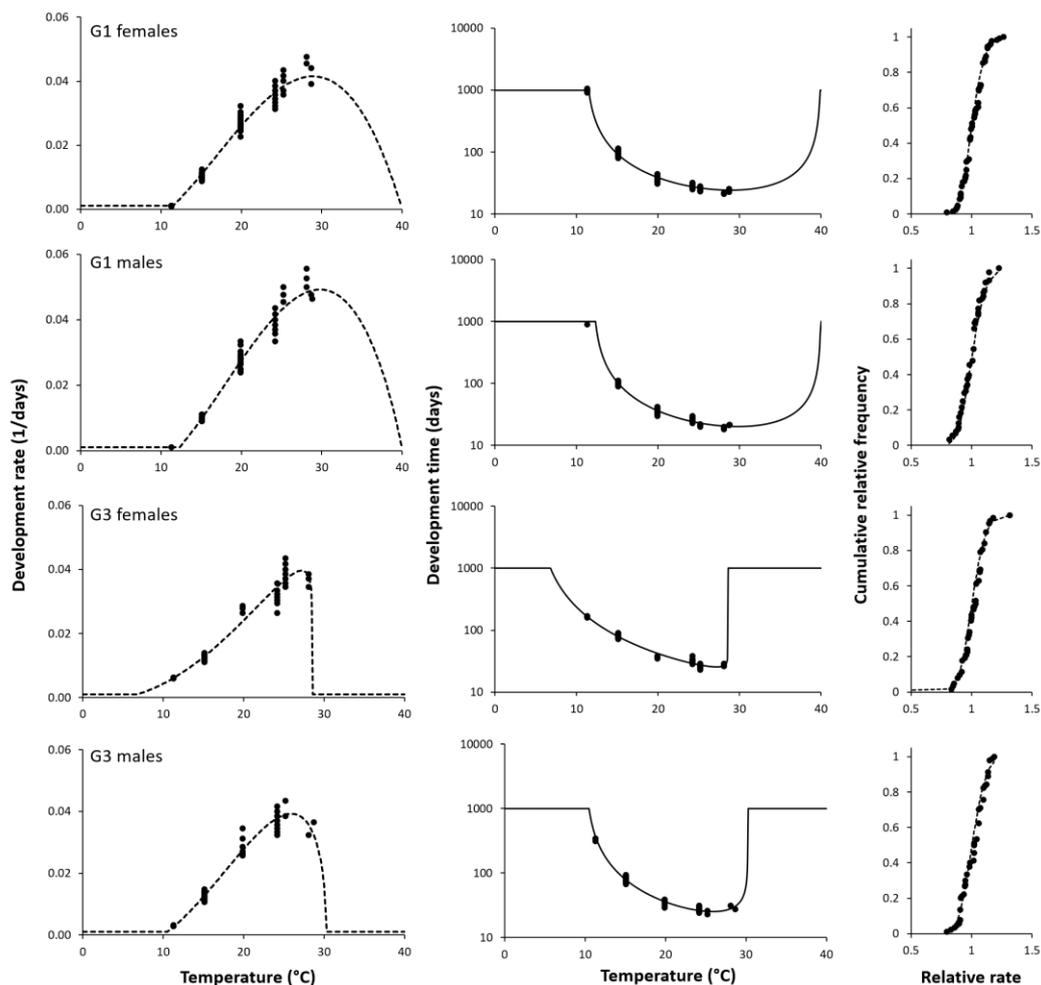


Figura 2. Sviluppo di maschi e femmine di *Ganaspis cf. brasiliensis* in base alla temperatura di due diversi gruppi genetici (G1 e G3). Colonna di sinistra: tasso di sviluppo (1/giorni); colonna centrale: tempo di sviluppo in giorni; colonna di destra: distribuzione della variazione individuale con la corrispondente distribuzione lognormale.

I risultati del test sulla longevità degli adulti dipendente dalla temperatura (Figura 3) hanno mostrato che (1) i maschi di entrambi i gruppi genetici vivono generalmente meno delle femmine; (2) gli individui di G1 *G. cf. brasiliensis* di Tokyo vivono generalmente meno dei quelli di G3 di Hasuike; (3) la temperatura ottimale per i maschi di entrambi i gruppi è di circa 15°C, mentre le femmine G1 vivono più a lungo a 20°C (media=81 giorni) e le femmine G3 a 15°C (media=96 giorni).

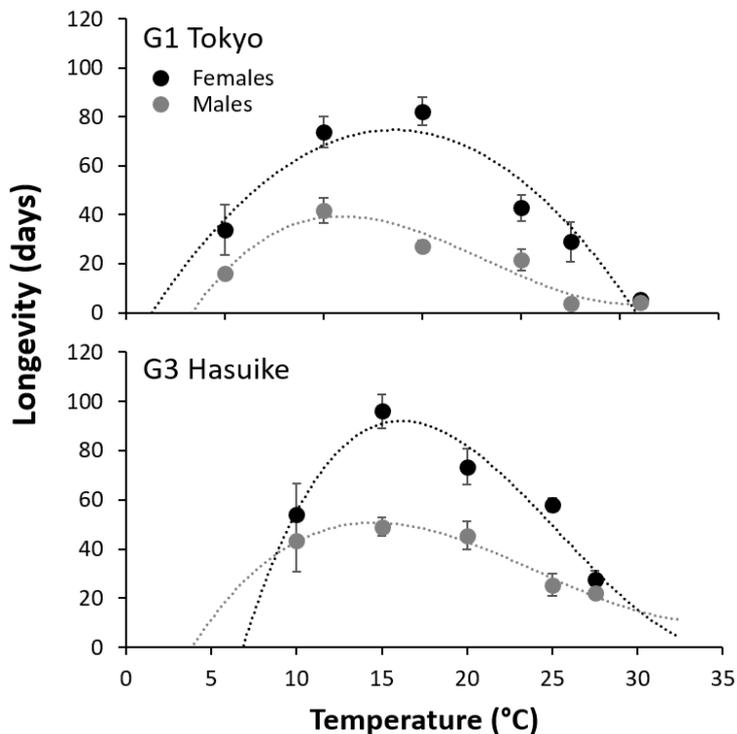


Figura 3. Longevità degli adulti (media \pm ES) di due gruppi genetici (G1 e G3) di *Ganaspis cf. brasiliensis* dal Giappone (vicino a Tokyo e Hasuike).

Per esempio, per G1 *G. cf. brasiliensis* allevato a 20°C, lo sviluppo dalle uova agli adulti dura in media 36-37 giorni, e la longevità è risultata essere di 27 e 81 giorni per maschi e femmine, rispettivamente.

Non è ancora chiaro se i differenti tempi di sviluppo trovati per le diverse temperature siano determinate geneticamente o se siano causate piuttosto da una risposta epigenetica provocata dall'ambiente (biotipi). Tuttavia, le risposte alla temperatura recentemente pubblicate da G3-4 *G. cf. brasiliensis* della Cina subtropicale e della Corea del Sud con clima temperato (Hougardy et al. 2019) sono molto simili ai nostri risultati per le vespe parassitoidi G3-4 di Hasuike, supportando l'ipotesi che le risposte potrebbero essere diverse tra i due gruppi genetici/cryptiche.

Durante gli esperimenti sulle prestazioni termiche di due parassitoidi larvali asiatici di *D. suzukii*, i colleghi americani hanno trovato un arresto dello sviluppo in *G. cf. brasiliensis* quando allevato a temperature costanti di 17,2°C o più basse (Hougardy et al. 2019). Lo stadio dormiente è risultato essere il 5° stadio della larva (prepupale) del parassitoide all'interno delle casse pupali di *D. suzukii*. Quindi, la diapausa di questo parassitoide è indipendente da *D. suzukii*, che sverna come adulto. Il fatto che il parassitoide si sia sviluppato fino allo stadio prepupale a basse temperature suggerisce che la dormienza è probabilmente una diapausa mediata da neuro-ormoni e non una quiescenza spontanea che viene innescata da condizioni ambientali sfavorevoli. È interessante notare che a 17,2°C, la diapausa è stata indotta in tutti gli individui provenienti dalla Corea del Sud, mentre solo una parte degli individui della Cina meridionale è entrata in dormienza. Questo suggerisce differenze tra le popolazioni di *G. cf. brasiliensis* nella temperatura soglia che induce la diapausa.

Anche se non esplicitamente dichiarato nella pubblicazione, attraverso una comunicazione personale con gli autori, sappiamo che tutti i *G. cf. brasiliensis* utilizzati nell'esperimento

appartenevano al cluster genetico G3. È noto che i figitidi parassitoidi delle specie di *Drosophila* possono avere diverse strategie di svernamento (p. es. sotto forma di larva o di adulto nel pupario dell'ospite). Data l'evidenza sopra presentata di specie criptiche all'interno di *G. cf. brasiliensis*, è quindi possibile che le vespe del cluster G1 abbiano una diversa strategia di diapausa rispetto a quelle del cluster G3. Pertanto, sono necessarie ulteriori ricerche per indagare in merito alla strategia di svernamento di G1 *G. cf. brasiliensis*.

2.8.4 Description des organismes testés comme hôtes et méthodes d'examen de la spécificité de l'hôte

Studi di laboratorio (gamma di ospiti fisiologici):

I primi test *no-choice* (una specie di ospite potenziale alla volta) con diversi agenti di biocontrollo potenziali di *D. suzukii* sono stati fatti da Girod et al. (2018c) usando cinque specie di *Drosophila* europee (*D. busckii* Coquillett, *D. hydei* Sturtevant, *D. immigrans* Sturtevant, *D. melanogaster* Meigen e *D. subobscura* Collin) e una specie di Tephritidae [*Ceratitis capitata* (Wiedemann)] come non *target*. Quest'ultima è stata selezionata come specie fuori gruppo poiché, ugualmente a *D. suzukii*, è in grado di deporre le uova nella frutta fresca. I test di specificità sono stati eseguiti in due fasi. Nell'esperimento A, *A. japonica*, *L. japonica* e *L. heterotoma* sono stati testati su *D. suzukii*, *D. melanogaster*, *D. immigrans*, *D. subobscura* e *D. busckii* che si nutrivano di una semplice dieta artificiale (CAROLINA©) invece che di frutta, perché Girod et al. (2018b) hanno dimostrato che queste specie mostrano lo stesso comportamento di parassitismo sia su larve che si nutrono di questa dieta artificiale che su quelle che si sviluppano nei mirtili. Nell'esperimento B, due popolazioni di *Ganaspis cf. brasiliensis* [una da Kunming, Cina, che è stata successivamente determinata essere un mix dei gruppi genetici G1 e G3-4; e l'altra proveniente dalle vicinanze di Tokyo, Giappone, successivamente determinata essere G1 puro (Seehausen et al. 2020)] sono state testate (1) sulle stesse specie ospiti come nell'esperimento A ma che si alimentavano con una dieta modificata contenente mirtili frullati, e (2) su *D. suzukii* e *C. capitata* in mirtili freschi. Infine, nell'esperimento B, *L. japonica* è stata testata anche su *D. hydei* e *C. capitata* (due specie non valutate nell'esperimento A). Tutti gli esperimenti sono stati condotti in condizioni di laboratorio, le femmine di parassitoide appena emerse sono state poste con i maschi per 72 ore per assicurarsi che fossero accoppiate e mature, il tempo di esposizione alle larve consisteva in singole femmine esposte per 48 ore a 10-30 larve di *Drosophila spp.* di 12-20 ore. Dopo un'esposizione di 2 giorni, i parassitoidi sono stati rimossi, dopodiché l'emergenza dei moscerini o dei parassitoidi è stata controllata quotidianamente.

I risultati hanno mostrato che *L. heterotoma* ha ovideposto in tutti gli ospiti testati nella dieta artificiale, tranne *D. busckii*. Essa è stata altamente attratta da *D. suzukii* con il 73,3% delle femmine che deponevano uova nelle sue larve, il tasso di incapsulamento è stato però alto e un solo individuo è riuscito a svilupparsi dalle larve di *D. suzukii*. Le due popolazioni di *L. japonica* (Pechino e Kunming) hanno mostrato risposte simili a ospiti non bersaglio e sono state quindi considerate generaliste (Fig. 4A). *Asobara japonica* ha attaccato con successo tutte le specie di moscerini europei testati e *D. suzukii*, mostrando il più alto tasso di parassitismo andato a buon fine (Fig. 4A). Entrambe le popolazioni di *G. brasiliensis* hanno attaccato a malapena le larve di *D. hydei*, *D. immigrans* e *C. capitata*, e nessuna progenie è emersa da questi ospiti (Fig. 4B). Nessuna emergenza di parassitoidi è stata osservata per la popolazione *G. brasiliensis* di Tokyo (G1) su *D. melanogaster* e *D. subobscura*, e i pochi tentativi di ovideposizione su quest'ultimo ospite sono stati tutti incapsulati. Al contrario, *G. cf. brasiliensis* di Kunming (un mix di G1 e G3-4) ha parassitato *D. melanogaster*, e due esemplari sono emersi da *D. subobscura*. G1 *G. cf. brasiliensis* (popolazione di Tokyo) è emerso raramente dalle larve di *D. suzukii* in dieta mista, mentre la popolazione di Kunming (un mix di G1 e G3-4) ha potuto svilupparsi molto meglio su *D. suzukii* in dieta mista (Fig. 4B).

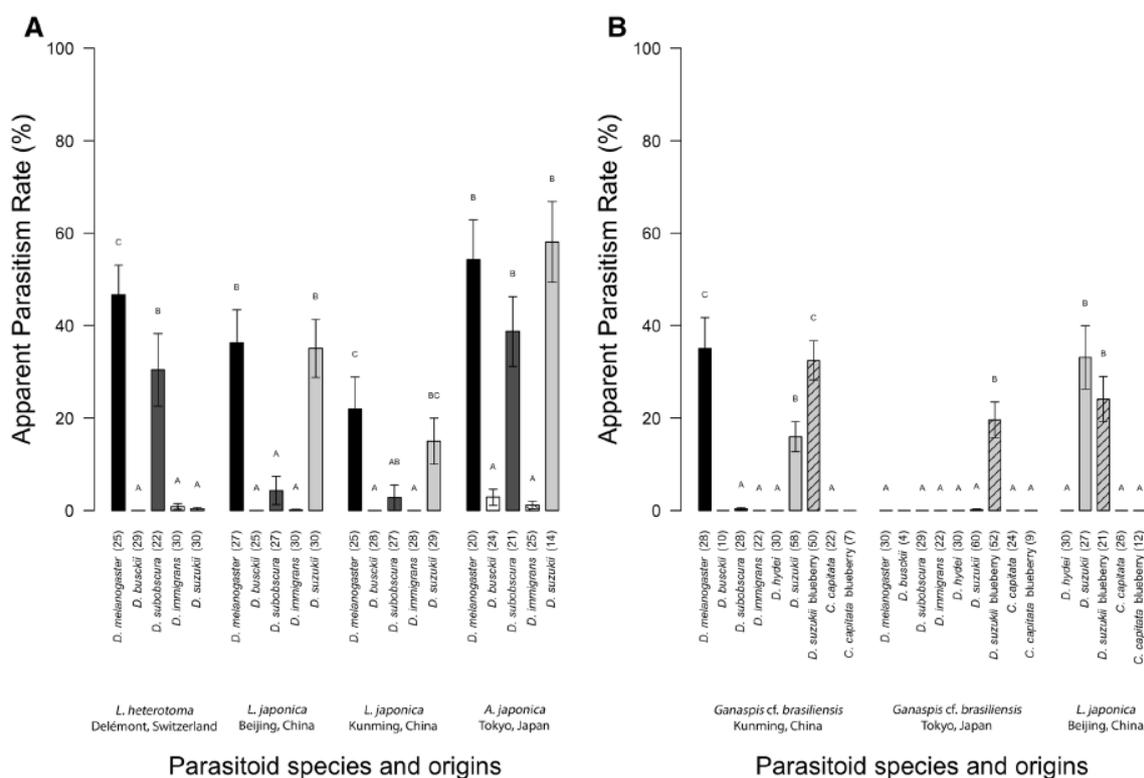


Figura 4: media del parassitismo apparente (\pm ES) causato dai parassitoidi esposti alle larve di vari ospiti in (A) una dieta artificiale e (B) mirtillo o dieta mista. Il parassitismo apparente è stato calcolato come la proporzione dell'emergenza dei parassitoidi sul numero totale di insetti emersi (tra parentesi: numero di replicati = femmine incluse nel calcolo). Per ogni parassitoide ed esperimento, le barre con le stesse lettere indicano nessuna differenza significativa tra i trattamenti (Girod et al. 2018c).

Ulteriori *no-choice* test (Seehausen et al. 2020) sono stati fatti con *G. cf. brasiliensis* provenienti da sette diverse zone dell'Asia usando tre combinazioni di ospiti e mezzi nutritivi: (1) larve di *D. suzukii* che si nutrono di mirtillo, (2) larve di *D. suzukii* che si nutrono di dieta artificiale e (3) larve di *D. melanogaster* che si nutrono di dieta artificiale. Le femmine accoppiate e ingenui (cioè mai esposte agli ospiti per l'ovideposizione) di 3-4 g di età di *G. cf. brasiliensis* sono state poi rilasciate per 48 ore individualmente in tubi di plastica contenenti uno dei tre media. Tutte le femmine sono state poi identificate geneticamente in base al CO1. Il risultato ha mostrato che le femmine delle tre popolazioni G1 (Dali, Tokyo e Xining) hanno prontamente parassitato *D. suzukii* nutrendosi di frutta fresca, ma solo una femmina ha parassitato *D. suzukii* e una l'ospite non bersaglio *D. melanogaster* in dieta artificiale. Le femmine delle popolazioni G3-4 (Hasuike, Fumin, e Shiping), così come la popolazione mista da Kunming, ha parassitato le due *Drosophila* su entrambe le diete proposte (Fig. 5). La probabilità media (\pm ES) di parassitare *D. melanogaster* su dieta artificiale da parte delle femmine parassitoidi (POF) era significativamente inferiore per gli individui di G1 ($2,1 \pm 2,1\%$; $n = 47$) rispetto agli individui di G3 ($72,2 \pm 6,1\%$; $n = 54$; $\chi^2 = 62,13$; $df = 1, 99$; $P < 0,0001$).

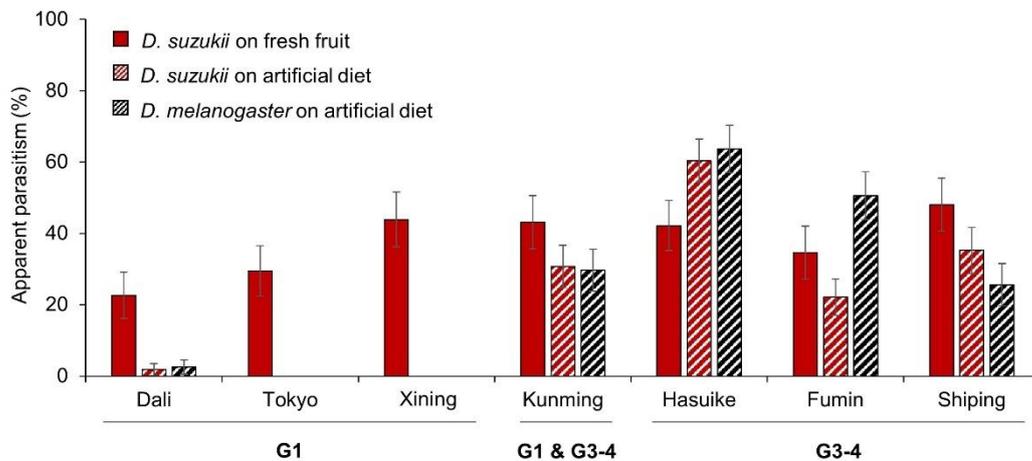


Figura 5: Variazione nel parassitismo apparente di *Ganaspis cf. brasiliensis* provenienti da diverse zone in Asia che parassitano due specie ospiti nutrite con due diverse alimentazioni. Tre condizioni sperimentali sono state testate in questo *no-choice* test: *Drosophila suzukii* su mirtillo (rosso semplice), *D. suzukii* su dieta artificiale (rosso a righe), e *D. melanogaster* su dieta artificiale (nero a righe). La media e l'errore standard sono indicati per ogni condizione sperimentale. I parassitoidi provenienti da diverse località della Cina (Dali, Xining, Kunming, Fumin, e Shiping) e del Giappone (Tokyo e Hasuike) sono raggruppati in base alla loro appartenenza molecolare, gruppo esteso 1 (G1), gruppi fusi 3-4 (G3-4) e gli individui provenienti da Kunming essendo un mix di entrambi i gruppi. Per ogni luogo di origine dei parassitoidi, sono stati testati 20 replicati per ogni combinazione specie ospite-mezzo nutritivo (totale n = 420) (Seehausen et al. 2020).

Un terzo test *no-choice* di laboratorio (Seehausen et al. 2020) è stato condotto includendo due specie non bersaglio, *D. melanogaster* e *Drosophila simulans* Sturtevant, su dieta artificiale o mirtillo per valutare se ci sono differenze tra i due gruppi genetici di parassitoidi per quanto riguarda il parassitismo di specie non bersaglio su diversi supporti nutritivi. Per le due popolazioni G1 (Tokyo e Xining), il parassitismo di entrambe le specie ospiti era significativamente più alto sui frutti rispetto alla dieta artificiale, mentre per la popolazione G3-4 di Hasuike, non vi era alcuna differenza significativa nel parassitismo di entrambe le specie ospiti tra frutta e dieta artificiale (Fig. 6).

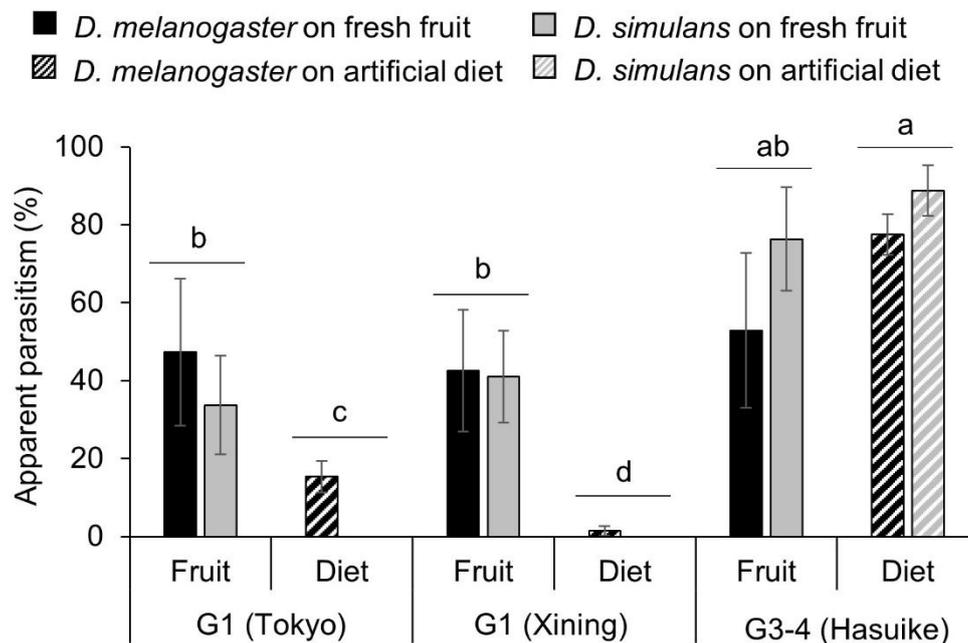


Figura 6: Variazione nel parassitismo apparente di *Ganaspis* cf. *brasiliensis* di due gruppi molecolari che parassitano due specie ospiti non bersaglio che si nutrono di due differenti mezzi nutritivi. Quattro condizioni sperimentali sono state testate in questo *no-choice* test: *Drosophila melanogaster* su mirtillo (nero semplice), *D. simulans* su mirtillo (grigio semplice), *D. melanogaster* su dieta artificiale (nero a righe), e *D. simulans* su dieta artificiale (grigio a righe). Ogni condizione è stata testata con parassitoidi provenienti da diverse località del Giappone (Tokyo e Hasuike) e della Cina (Xining) confrontando due affiliazioni molecolari; gruppo esteso 1 (G1) e gruppi fusi 3-4 (G3-4). La media e l'errore standard sono indicati per ogni condizione sperimentale. Le barre con le stesse lettere minuscole non sono significativamente diverse a $\alpha = 0,05$ secondo il test HSD di Tukey. Per ogni luogo di origine dei parassitoidi, sono stati testati 10 replicati per ogni combinazione di specie ospite e media nutritivo (totale $n = 120$) (Seehausen et al. 2020).

Sono state eseguite delle osservazioni comportamentali sulle ovideposizioni delle femmine parassitoidi (dati non pubblicati). Poste per 10 minuti su *D. suzukii* sia con dieta artificiale che con mirtilli freschi in condizione di non scelta, più del 60% delle femmine delle popolazioni G1 ha attaccato le larve di *D. suzukii* nei mirtilli e nessuna ha attaccato le larve nella dieta artificiale. Al contrario, le femmine G3 hanno attaccato le larve nella dieta e nei mirtilli quasi con la stessa frequenza (Fig. 7).

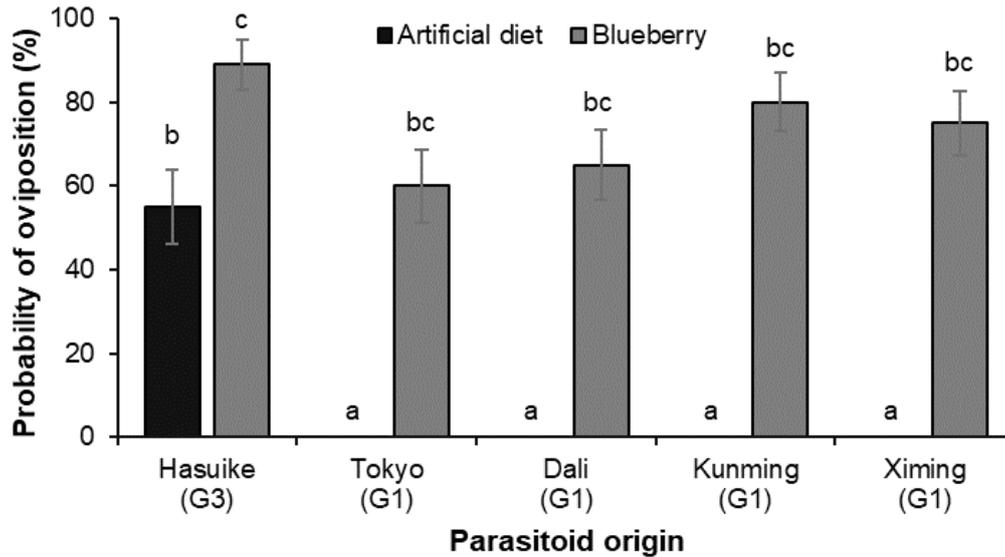


Figura 7: Probabilità media (\pm ES) di parassitismo da parte di *Ganaspis cf. brasiliensis* di diverse origini in Giappone (Hasuike, Tokyo) e Cina (Dali, Kunming, Ximing) esposte per 10 minuti a larve di *Drosophila suzukii* nutrite con dieta artificiale (barre nere) o mirtillo (barre grigie). Lettere diverse sopra le barre indicano una differenza significativa tra origini e trattamento dietetico ($p < 0,05$). G1 e G3 si riferisce al gruppo filogenetico del parassitoide corrispondente basato su CO1 (Nomano et al. 2017).

Per determinare se la differente affinità al mezzo nutritivo dell'ospite tra i due gruppi genetici di parassitoidi vale anche quando viene data la scelta tra diverse specie ospiti e nutrimenti, è stato condotto un *three-choice* test (Seehausen et al. 2020), con la scelta di *D. suzukii* su mirtillo, *D. melanogaster* su mirtillo, e *D. melanogaster* su dieta artificiale. I risultati del biotest hanno mostrato una differenza significativa nel parassitismo tra le scelte per le popolazioni G1 (Tokyo e Xining), ma non per la popolazione G3-4 (Hasuike; Tabella S5). Per entrambe le popolazioni G1, il parassitismo di *D. suzukii* sui frutti è significativamente più alto rispetto a *D. melanogaster* sui frutti o sulla dieta artificiale. Solo una femmina G1 di Tokyo e nessuna di Xining ha attaccato *D. melanogaster* su dieta artificiale (Fig. 8).

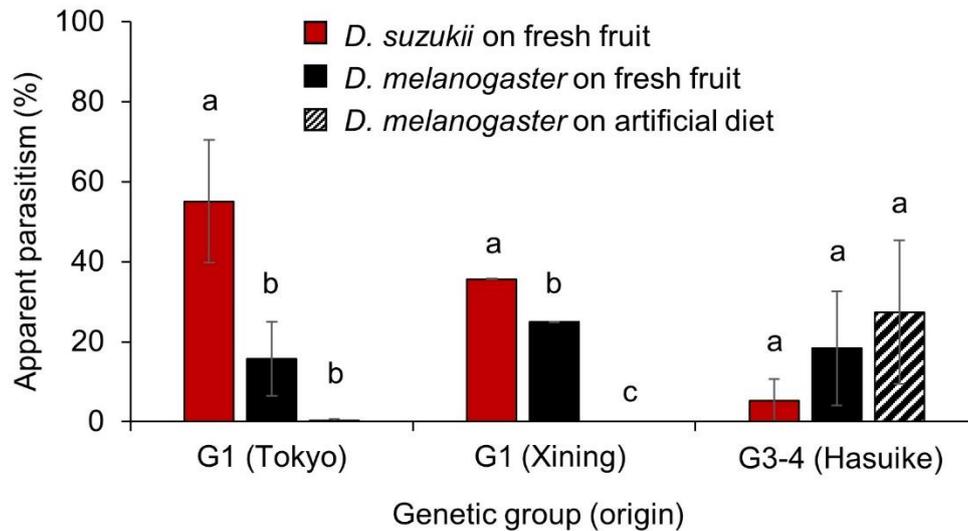


Figura 8: Variazione del parassitismo apparente di *Ganaspis cf. brasiliensis* per due gruppi molecolari che parassitano due specie ospiti in due mezzi nutritivi diversi in un *three-choice* biotest. Tre condizioni sono state testate in questo *choiche* test: *Drosophila suzukii* su mirtillo (rosso semplice), *D. melanogaster* su mirtillo (nero semplice), e *D. melanogaster* su dieta artificiale (nero a righe). I test sono stati fatti con parassitoidi di due gruppi genetici: il gruppo esteso 1 (G1) e i gruppi fusi 3-4 (G3-4) provenienti da diverse località del Giappone (Tokyo e Hasuike) e della Cina (Xining). Per ogni condizione sperimentale sono indicati la media e l'errore standard. Le barre con le stesse lettere minuscole non sono significativamente diverse a $\alpha = 0,05$ secondo il test HSD di Tukey. In totale, sono state testate 68 vespe femmina: 20 provenienti da Hasuike, 24 da Tokyo, e 24 da Xining (Seehausen et al. 2020).

Inoltre, è stato condotto un *four-choice* biotest (Seehausen et al. 2020) per valutare se la specificità dell'habitat di G1 e la generalità di G3-4 *G. cf. brasiliensis* valgono anche quando si offrono le scelte più naturali di frutti freschi e in decomposizione. In questo biotest, le risposte del parassitismo sono risultate opposte tra i gruppi genetici G1 e G3-4. G1 di Tokyo ha parassitato gli ospiti nei frutti freschi molto più spesso che nei frutti in decomposizione, indipendentemente dalla specie ospite testata (*D. suzukii* e *D. melanogaster*). Per G3-4 da Hasuike, tuttavia, c'è stata una significativa interazione tra la specie ospite e lo stato del frutto, con un parassitismo significativamente maggiore di *D. melanogaster* che si nutre di frutti in decomposizione, rispetto ai frutti freschi (Fig. 9).

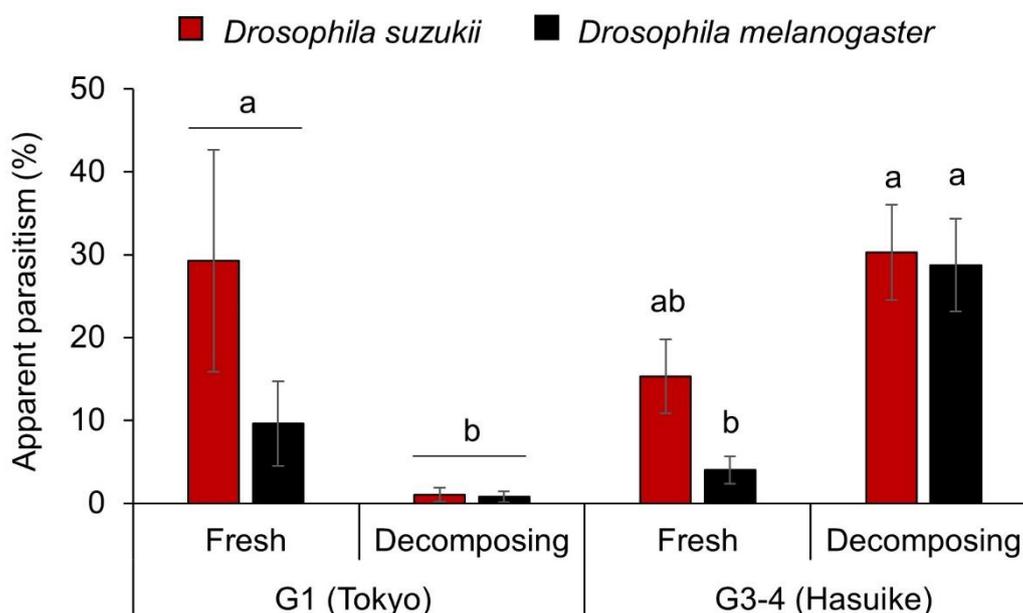


Figura 9: Variazione nel parassitismo apparente di due gruppi molecolari di *Ganaspis* cf. *brasiliensis* che parassitano due specie di ospiti su frutti freschi e in decomposizione durante un *four-choices* biotest. Quattro condizioni sperimentali sono state testate: tutte le combinazioni possibili tra gli ospiti *Drosophila suzukii* (rosso) e *D. melanogaster* (nero) che si nutrono di mirtilli freschi o in decomposizione. I test sono stati fatti con parassitoidi di due gruppi genetici, il gruppo esteso 1 (G1) e i gruppi fusi 3-4 (G3-4), provenienti da due differenti località del Giappone (Tokyo e Hasuike). Per ogni condizione sperimentale sono indicati la media e l'errore standard. Le barre con le stesse lettere minuscole non sono significativamente diverse da $\alpha = 0,05$ secondo il test HSD di Tukey. In totale, sono state testate 27 femmine originarie di Tokyo e 22 di Hasuike (Seehausen et al. 2020).

I risultati di un esperimento non pubblicato con un olfattometro a quattro vie confermano gli esperimenti di scelta sopra descritti. Gli individui di G1. *G. cf. brasiliensis* provenienti dai dintorni di Tokyo, Giappone, sono stati attratti dagli odori di mirtilli freschi ma respinti da quelli in decomposizione (Fig. 10A). Inoltre, gli odori dei mirtilli freschi infestati da *D. suzukii* attiravano i parassitoidi mentre quelli non infestati no (Fig. 10B) e gli odori dei mirtilli infestati erano chiaramente attrattivi mentre quelli della dieta artificiale infestata non lo erano (Fig. 10C).

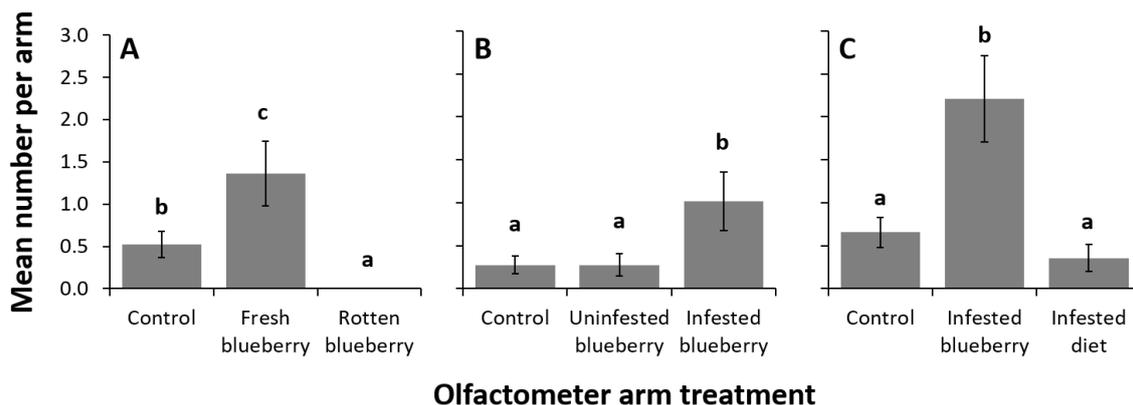


Figura 10: Numero medio (\pm ES) di G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* proveniente dai dintorni di Tokyo, Giappone, per braccio dell'olfattometro a quattro braccia con due braccia vuote quali controlli (raggruppati in questa figura) e due braccia contenenti fonti di odore, che variano per ciascuno dei tre biotest: (A) mirtillo fresco o marcio, (B) mirtillo fresco o mirtillo infestato da larve di *Drosophila suzukii*, e (C) mirtillo infestato e dieta artificiale contenente larve di *D. suzukii*. Per ogni biotest, 20 femmine parassitoidi inesperte sono state rilasciate nella camera principale dell'olfattometro e il numero di parassitoidi per braccio è stato contato dopo 24 ore.

La scoperta che *G. cf. brasiliensis* è probabilmente un complesso di almeno due specie criptiche e che una di esse può essere chiaramente associata a una maggiore specificità di habitat per i frutti freschi, mostra l'idoneità di G1 *G. cf. brasiliensis* per controllare *D. suzukii* e permette di concentrarsi su quella specie per gli sforzi per sviluppare un programma di controllo biologico classico. La differenza di habitat naturale tra *D. suzukii* immaturo che si sviluppa nei frutti freschi maturi e altre specie di *Drosophila* frugivore nei frutti in decomposizione potrebbe tradurre la specificità dell'habitat di G1 *G. cf. brasiliensis* in una specificità dell'ospite. Se è del tutto specifico per i frutti maturi in condizioni naturali, le vespe G1 parassiteranno solo *D. suzukii* nel suo areale invasivo.

Degli studi di laboratorio condotti da gruppi di ricerca all'estero hanno inoltre dimostrato che, rispetto ad altre specie di parassitoidi asiatici, *G. cf. brasiliensis* è la specie più specifica all'ospite, sebbene con gradi di specificità variabili (Daane et al. 2016, Giorgini et al. 2019, Biondi et al. 2021, Daane et al. 2021). Questi risultati possono essere spiegati dal fatto che le popolazioni di laboratorio utilizzate per i test sono poi risultate essere una miscela dei genotipi G1 e G3.

Studio in grandi gabbie da campo (condizioni semi naturali):

Come menzionato nella sezione precedente, i risultati degli esperimenti di laboratorio suggeriscono che il parassitoide G1 *G. cf. brasiliensis* è un agente di controllo biologico sicuro ed efficace. Pertanto, dopo lo studio approfondito in laboratorio di quarantena e prima del rilascio in campo, sono stati effettuati rilasci del parassitoide in grandi gabbie da campo per valutare la sua specificità all'ospite in condizioni semi naturali (Seehausen et al., accettato). Dopo aver ricevuto un permesso per le emissioni sperimentali, degli individui di G1 *G. cf. brasiliensis* sono stati rilasciati nelle gabbie in tre diverse date nell'agosto 2021 in due regioni della Svizzera, i cantoni Giura e Ticino. I parassitoidi rilasciati potevano scegliere se parassitare le larve di *D. suzukii* nella frutta fresca (mirtillo o sambuco) o la specie nativa non bersaglio *D. melanogaster* nella frutta in decomposizione. I risultati sono inequivocabili:

il parassitismo apparente delle larve di *D. suzukii* che si nutrivano di frutta fresca era in media del 15%, mentre solo un parassitoide è emerso da *D. melanogaster* che si nutriva di frutta in decomposizione (0,02% di parassitismo; Figura 11). Pertanto, i risultati confermano le conclusioni dei precedenti esperimenti di laboratorio che G1 *G. cf. brasiliensis* è altamente specifico alle larve di *D. suzukii* che si nutrono di frutta fresca e che il parassitismo di *D. melanogaster*, una specie strettamente imparentata a *D. suzukii* ma che si nutre di frutta in decomposizione, è molto rara. Poiché nell'areale in cui è invasiva, *D. suzukii* è l'unica specie di *Drosophila* che può attaccare e svilupparsi in frutta fresca non danneggiata, questo studio ha confermato la biosicurezza di G1 *G. cf. brasiliensis* e ha concluso che i rilasci in campo del parassitoide non dovrebbe comportare rischi significativi per le specie non bersaglio (Seehausen et al., accettato).

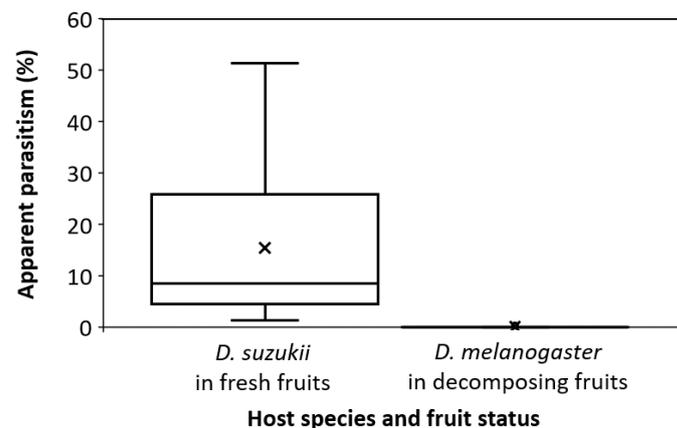


Figura 11: Nella figura si mostrano i risultati di un test a scelta multipla eseguito in gabbie di campo su G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* in termini di percentuale di parassitismo apparente di *Drosophila suzukii* in frutta fresca e *D. melanogaster* in frutta in decomposizione.

Studi in campo (ecologia dell'ospite):

Sulla base dei dati museali e delle analisi del materiale raccolto sul campo, in letteratura G1 *G. cf. brasiliensis* è descritto come specifico per *D. suzukii* (Nomano et al. 2017). Tuttavia, mancano degli esperimenti approfonditi di campo che testino per la specificità dell'ospite di *G. cf. brasiliensis*. Grazie a due studi sulle specie di *Drosophila* che attaccano il ciliegio selvatico in Giappone, è stato trovato che G1 *G. cf. brasiliensis* emerge dalle pupe di *D. suzukii* provenienti dai frutti maturi sulla pianta e dai frutti caduti recentemente, non è chiaro però quando gli ospiti sono stati attaccati e se anche altre specie di *Drosophila* siano state attaccate dal parassitoide (Kasuya et al. 2013; Matsuura et al. 2017).

Durante diverse indagini in Asia, gli individui di *G. cf. brasiliensis* (indipendentemente dal gruppo genetico) sono sempre stati raccolti solo da frutti freschi maturi e non sono mai stati ottenuti da esche di frutta, come ad esempio da fette di banana (Kasuya et al. 2013; Daane et al. 2016; Giorgini et al. 2019; Girod et al. 2018c), indicando un alto grado di specificità dell'habitat ai frutti freschi in condizioni di campo.

In Canada, G1 *G. cf. brasiliensis* è stato finora trovato solo emergente da pupe di *D. suzukii*, tuttavia, i risultati disponibili concernono solo due stagioni di campo (2019 e 2020) e delle nuove indagini sono in corso (P. Abram, comunicazione personale).

Durante il monitoraggio post-rilascio in pieno campo eseguito a fine estate e in autunno 2021 nel nord Italia, G1 *G. cf. brasiliensis* è stato ottenuto solo da *D. suzukii* in frutti freschi sulle piante (M. Valerio Rossi Stacconi, comunicazione personale). Altri studi post-rilascio sono stati e saranno condotti in Italia, ma i loro risultati non sono ancora disponibili.

Questi risultati supportano ulteriormente l'ipotesi che l'ampiezza ecologica dell'ospite G1 *G. cf. brasiliensis* è limitata alle specie di *Drosophila* che si nutrono di frutta fresca. Mentre in Asia questo può includere diverse specie di *Drosophila*, per esempio *D. pulchrella* e *D. subpulchrella*, in Europa e Nord America *D. suzukii* è l'unica specie che attacca i frutti freschi, quindi il parassitoide sarebbe specifico per la specie bersaglio.

2.8.5 Descrizione di possibili organismi associati (nemici naturali, patogeni, commensali) e metodi per eliminarli

Nessun patogeno, predatore o iperparassitoide è stato riscontrato dalla collezione originale di *G. brasiliensis* Proveniente da diverse origini in Cina e Giappone. Le colonie del parassitoide sono state messe in quarantena dal 2015, quindi, qualsiasi organismo associato che può essere dannoso avrebbe già dovuto essere stato rilevato. I materiali di accompagnamento dell'ospite provenienti dalla Cina e sono stati congelati a -80°C per un minimo di 72 h prima della rimozione dal laboratorio di quarantena.

2.8.6 Particolari resistenze e sensibilità (freddo, siccità, prodotti fitosanitari ecc.

Un esperimento non ancora pubblicato, è stato condotto in collaborazione con la Dr Jana Collatz e Nina Häner di Agroscope Zürich-Reckenholz, per testare la tolleranza al freddo di diversi stadi vitali di G1 *G. cf. brasiliensis*. Dei mirtilli sono stati esposti per 24 ore a *D. suzukii* e incubati a 22°C per altre 24 ore per permettere la schiusa delle uova. I mirtilli infestati sono stati poi esposti per 24 ore a G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* per testare il parassitismo. In seguito, le larve di *D. suzukii* parassitate nei mirtilli sono state allevate a 22°C fino a raggiungere lo stadio di sviluppo del parassitoide desiderato. I tempi di allevamento per raggiungere i diversi stadi di vita del parassitoide sono stati i seguenti: uovo: nessuna incubazione; larva del parassitoide nella larva di *D. suzukii*: 3 d; larva parassitoide in pupa di *D. suzukii*: 7 d; prepupa o pupa parassitoide in pupa di *D. suzukii*: 14 d; adulto: circa 30 giorni (in funzione del sesso). Per ogni fase di vita del parassitoide subadulto, 24 mirtilli contenenti *D. suzukii* potenzialmente parassitati sono stati sottoposti al trattamento del freddo, così come 12 maschi adulti, 8 femmine vergini e 8 femmine fecondate. L'esposizione al freddo è iniziata con un periodo di acclimatazione di 7 giorni a 10°C , seguito da 7 giorni a 5°C e 7 giorni a 0°C prima di riacclimatarsi gradualmente (una settimana a 5°C e una a 10°C) a condizioni di allevamento standard (22°C). Altre pupe parassitoidi sono state esposte per 28 giorni a 0°C . Dopo il riacclimatamento, l'emergenza di parassitoidi e moscerini è stata controllata settimanalmente per 3-5 settimane, a seconda dello stadio di sviluppo trattato. Il controllo della sopravvivenza degli adulti è stata effettuato 24 e 48 ore dopo la fine del periodo di riacclimatazione. Per ogni stadio vitale del parassitoide subadulto, 9 mirtilli esposti a *D. suzukii* e *G. cf. brasiliensis* contemporaneamente a quelli sottoposti al trattamento con il freddo sono stati allevati a 22°C in modo costante per valutare il tasso di parassitismo senza trattamento con il freddo (controllo).

I risultati hanno mostrato che (1) nessuno dei parassitoidi adulti è sopravvissuto al trattamento con il freddo; (2) tutte le fasi di vita dei parassitoidi subadulti possono sopravvivere a un periodo di freddo di 7 giorni senza differenze di rilievo rispetto ai controlli; e (3) le pupe dei parassitoidi possono anche sopravvivere a un periodo di freddo di 28 giorni senza differenze di rilievo rispetto ai controlli (Figura 12).

Pertanto, G1 *G. cf. brasiliensis* è in grado di sopravvivere, negli stadi di sviluppo subadulto, a cali di temperatura, come quelli che si verificano nelle primavere o negli autunni svizzeri. Inoltre, i risultati dimostrano che lo stadio prepupale o pupale che si sospetta entri in una diapausa indotta dalle basse temperature (Hougardy et al. 2019), è resistente al freddo e può sopportare 28 d a 0°C.

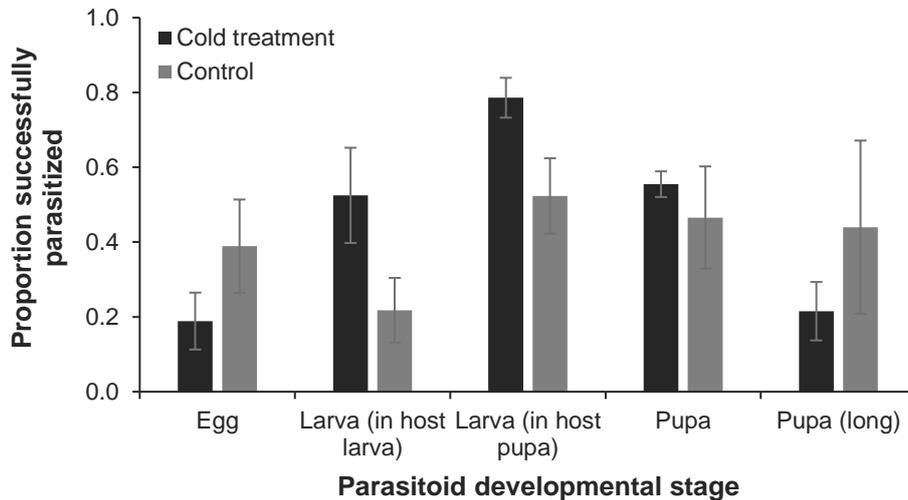


Figura 12: Quota di *Drosophila suzukii* parassitati con successo da G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* quando sottoposti al trattamento con il freddo (barre nere) in diversi stadi di sviluppo per rapporto a quelli allevati a temperatura ambiente come controlli (barre grigie). I trattamenti con il freddo consistevano in un raffreddamento graduale e 7 giorni a 0°C. Solo lo stadio pupale del parassitoide è stato sottoposto a 28 giorni a 0°C (pupa (lungo)).

Altre particolari resistenze o sensibilità (per esempio alla siccità o ai pesticidi) possono essere solo ipotizzate in quanto non sono ancora state studiate. Tuttavia, come endoparassitoide di *D. suzukii*, la sopravvivenza di *G. brasiliensis* è strettamente legata alla sopravvivenza del suo ospite. Pertanto, le sensibilità note per gli stadi giovanili di *D. suzukii*, come le condizioni di estremo caldo e siccità, possono essere considerate valide anche per il parassitoide.

2.8.7 Distribuzione geografica attuale

Tutti i gruppi genetici di *G. brasiliensis* sono presenti in Asia, ma il gruppo G1 è stato registrato solo in Asia orientale (Cina, Giappone e Corea del Sud) e nel 2019 per la prima volta in Canada, British Columbia (punti rossi nella Fig. 13). Diversi esemplari storici di *G. brasiliensis* (trovati nel Museo Nazionale di Storia Naturale, Smithsonian Institution, Washington DC, USA, e nel Museo di Storia Naturale, Parigi, Francia) sono stati raccolti nei Caraibi e a Panama, mentre la maggior parte degli esemplari raccolti di recente sono stati trovati in Giappone, in Corea del Sud e Cina. Un recente riesame della morfologia, ha confermato che alcuni esemplari precedentemente riportati come *G. xanthopoda* o *Ganaspis sp.* nella letteratura in Indonesia, Malesia, Thailandia, Filippine, Hawaii, Uganda, Benin e Brasile sono di fatto *G. brasiliensis* (Carton et al. 1986, Schilthuizen et al. 1998, Kacsoh e Schlenke 2012, Kimura e Suwito 2012, 2015, Buffington e Forshage 2016, Daane et al. 2016, Nomano et al. 2017, Girod et al. 2018c, Giorgini et al. 2019, Seehausen et al. 2020). Le informazioni più recenti sulla distribuzione mondiale di *G. brasiliensis* provengono dal Messico (Gonzalez-Cabrera et al. 2020), il Canada (Abram et al. 2020), l'Argentina (Gallardo et al. 2021), e gli Stati Uniti (P. Abram, comunicazione personale). Poiché i rilasci in campo di G1 *G. cf. brasiliensis* in Italia sono stati

effettuati solo nell'estate del 2021, il suo insediamento in Europa non può ancora essere confermato con certezza.

Dal momento che tutti i lignaggi sono presenti in Asia orientale, e data l'origine asiatica di *D. suzukii* e il fatto che *G. brasiliensis* è uno dei parassitoidi dominanti raccolti direttamente da frutti di ospiti selvatici infestati da *D. suzukii* in varie località dell'Asia orientale, è probabile che l'antenato comune dei diversi lignaggi si trovi in Asia e che la specie potrebbe essere stata introdotta in altri continenti, cioè le Americhe e l'Africa (Buffington & Forshage 2016, Nomano et al. 2017). La Figura 13 indica che le nostre conoscenze sulla distribuzione di G1 *G. cf. brasiliensis* in Asia sono piuttosto scarse e sono necessari più dati, soprattutto dalle regioni temperate dell'Asia.

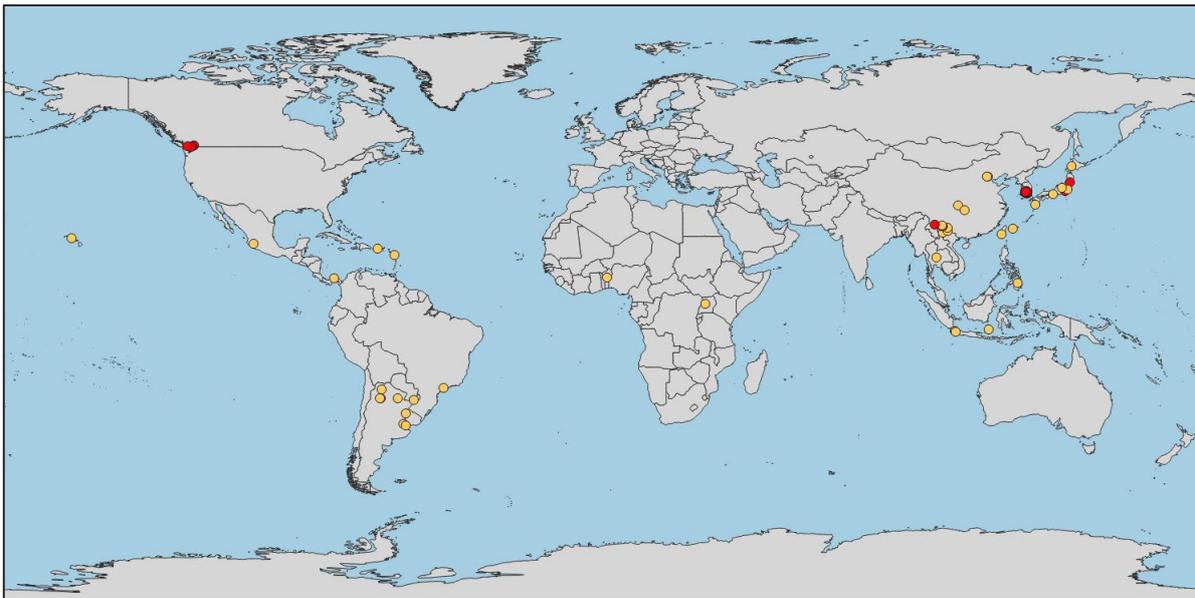


Figura 13: Distribuzione attualmente conosciuta di *Ganaspis brasiliensis*. I punti rossi indicano i luoghi dove è stato trovato il gruppo genetico G1 e quelli gialli dove sono stati trovati altri gruppi genetici o gruppi genetici non ancora identificati.

Drosophila suzukii è originaria del Sud-Est asiatico ed è stata individuata per la prima volta negli Stati Uniti (California) e nell'Europa meridionale (Italia, Spagna) nel 2008 (Asplen et al. 2015). Da allora, la specie si è diffusa rapidamente ed è ora presente nella maggior parte dell'Europa (OPPO 2021). In Svizzera è stata trovata per la prima volta nel luglio 2011 su mirtilli nel Canton Ticino e su lamponi nel Canton Grigioni (Baroffio e Fischer 2011). È ormai diffusa in tutta la Svizzera, tranne che nelle regioni alpine d'alta quota, ed è presente nei cantoni Ticino e Giura (Kenis et al. 2016), dove verranno effettuati i rilasci di G1 *G. cf. brasiliensis*.

2.8.8 Persistenza e riproduzione alle condizioni presenti in Svizzera

I risultati dei dati sulle caratteristiche dipendenti dalla temperatura presentati sopra al punto 2.8.3, qui vengono utilizzati per sviluppare un modello CLIMEX preliminare in grado di prevedere l'adattabilità climatica di G1 *G. cf. brasiliensis* al clima europeo, e specialmente al clima più complesso della Svizzera. Il modello è preliminare perché finora ci sono relativamente pochi dati disponibili sulla distribuzione e su alcuni parametri biologici del parassitoide che possono essere utilizzati in CLIMEX (per esempio la soglia superiore di temperatura per lo sviluppo e la risposta all'umidità devono ancora essere studiati).

CLIMEX usa un indice di crescita annuale (GI) per descrivere il potenziale di crescita della popolazione in funzione della temperatura e dell'umidità del suolo in condizioni favorevoli, e indici di stress (freddo, umido, caldo, secco) per determinare l'effetto dello stress abiotico sulla

sopravvivenza in condizioni sfavorevoli. Gli indici di crescita e di stress sono calcolati settimanalmente e poi combinati in un indice annuale complessivo di adattabilità climatica, l'indice ecoclimatico (EI), che varia da EI = 0 per luoghi in cui la specie non è in grado di persistere a EI = 100 per luoghi che sono ottimali per la specie. Tuttavia, nei climi temperati, il valore massimo dell'EI è piuttosto vicino a 50 e i valori >20 sono già sufficienti per sostenere densità di popolazioni sostanziali (Sutherst et al. 2007)

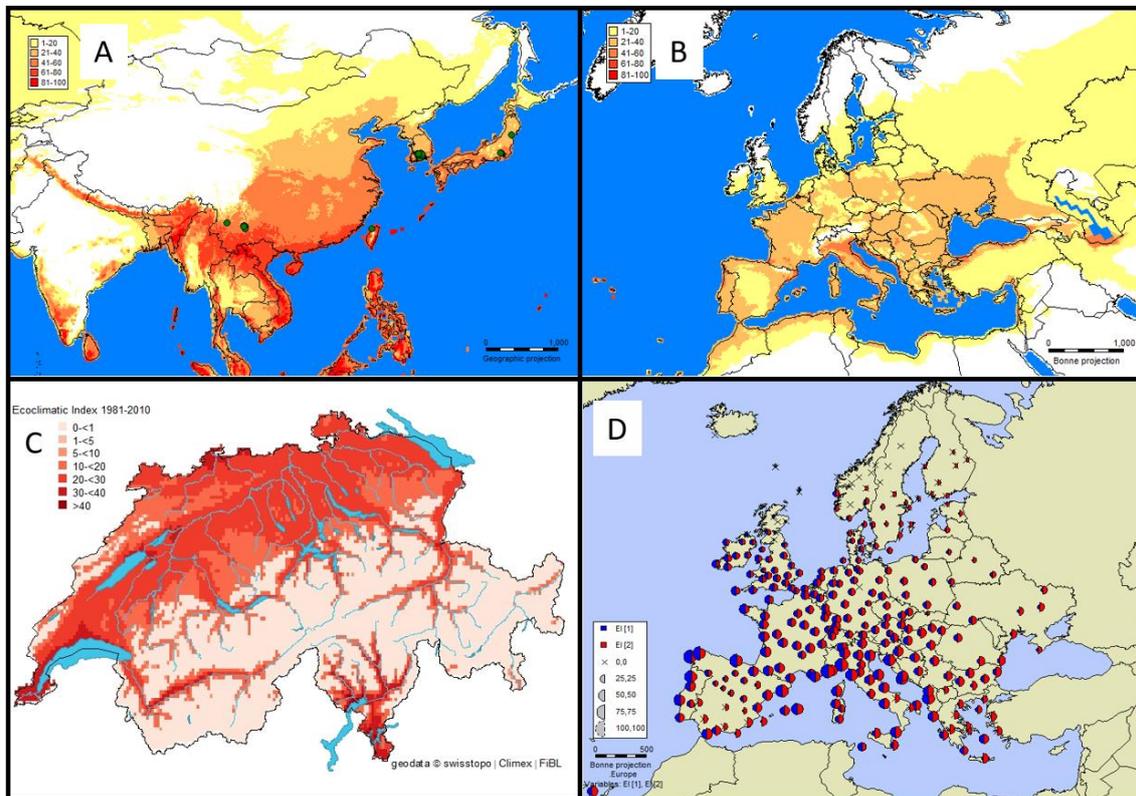


Figura 14: Mappe CLIMEX della distribuzione stimata di G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* e dell'abbondanza relativa (Indice Ecoclimatico) in (A) Asia (i punti verdi rappresentano la distribuzione nativa nota del parassitoide in letteratura), (B) Europa, (C) Svizzera, e (D) distribuzione stimata combinata di *Drosophila suzukii* (blu) e G1 *G. cf. brasiliensis* (rosso) in Europa.

I risultati del modello preliminare CLIMEX mostrano che

- 1) G1 *G. brasiliensis* dovrebbe avere una distribuzione piuttosto ampia nel sud-est asiatico che rimane da verificare (Figura 14A). Un tentativo di indagare più a fondo la distribuzione dei diversi gruppi genetici del parassitoide in Asia (utilizzando ulteriori finanziamenti da altre fonti) è fallito a causa delle restrizioni di viaggio legate al COVID-19;
- 2) Gran parte dell'Europa centrale e meridionale è ritenuta adatta al parassitoide (EI>20), soprattutto l'Italia settentrionale, la costa della Spagna nord-orientale e la costa settentrionale del Portogallo (Figura 14B);
- 3) in Svizzera, le regioni temperate e continentali con estati calde sono considerate adatte al parassitoide (fisio-geograficamente, questo corrisponde soprattutto alle aree di bassa quota del Giura e dell'Altopiano centrale). Le valli più calde, come la valle del Reno e il Rodano,

espandono ulteriormente la potenziale distribuzione nelle Alpi. Inoltre, gran parte del Canton Ticino è indicato come adatto per G1 *G. cf. brasiliensis* (Figura 14C);

- 4) combinando i modelli CLIMEX per *D. suzukii* (metà blu nella Figura 14D; MK, non pubblicato) e G1 *G. cf. brasiliensis* (metà rosse nella Figura 14D), la distribuzione potenziale del parassitoide in Europa supera quella dell'ospite, dimostrando il potenziale per un controllo efficace in tutte le aree invase.

2.8.9 Indicazioni sul comportamento invasivo in altre zone da parte degli stessi organismi o di organismi strettamente imparentati

L'unica introduzione accidentale confermata e l'insediamento di G1 *G. cf. brasiliensis* è stato accertato in Columbia Britannica, Canada (Abram et al. 2020). Finora sono stati fatti solo due anni (2019 e 2020) di raccolte sul campo, ma i dati mostrano che il parassitoide è sicuramente distribuito dalla costa occidentale di Vancouver a Hope, nell'estremità orientale della Fraser Valley e nell'estremità meridionale del Fraser Canyon (P. Abram, comunicazione personale; vedi punti nella Fig. 15). È interessante notare come questi punti di distribuzione accertati si adattino bene alla distribuzione prevista dal modello CLIMEX presentato sopra (Fig. 14).

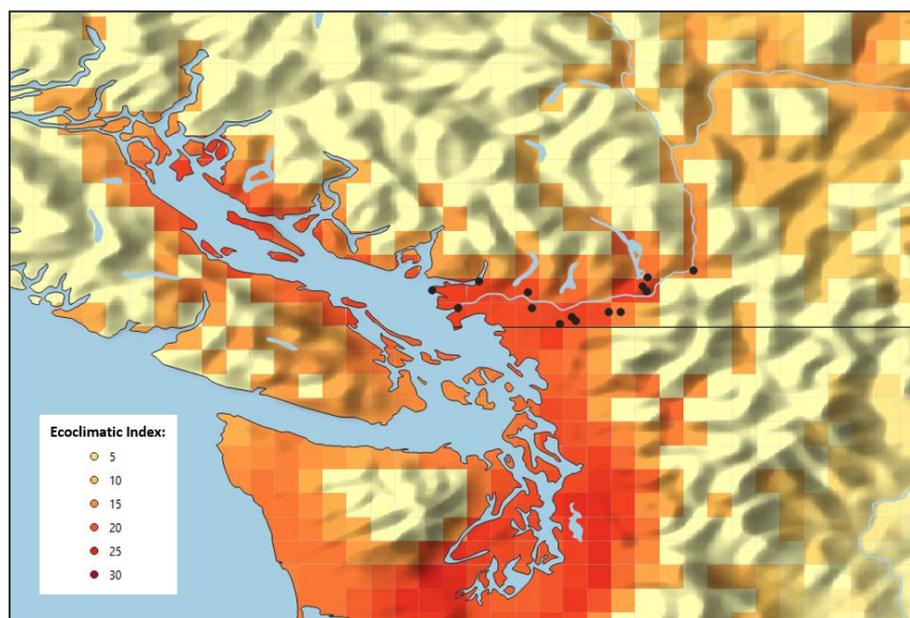


Figura 15: Distribuzione di *Ganaspis brasiliensis* nella Columbia Britannica, Canada, come pronosticata dall'Indice Ecoclimatico in CLIMEX (campi colorati) e rilevata grazie a delle indagini sul campo effettuate nel 2019 e nel 2020 (P. Abram, comunicazione personale).

Anche la specie strettamente correlata *Leptopilina japonica* è stata trovata nella stessa area della British Columbia descritta sopra, con la differenza che viene allevata anche da altri ospiti che *D. suzukii* (Abram et al. 2020). Nel 2020, in una grande regione della Columbia Britannica sud-occidentale, *L. japonica* e *G. brasiliensis* sono state trovate in numero molto elevato nei frutti della maggior parte delle piante ospiti note per ospitare le larve di *D. suzukii*, in una varietà di habitat per tutta la stagione (maggio-ottobre) (Abram et al. 2021). I due parassitoidi erano responsabili di più del 98% del parassitismo delle larve di *D. suzukii* e generalmente coesistevano. Il parassitismo di *D. suzukii* era variabile a dipendenza delle piante ospiti e dei siti (0-66% di parassitismo) e sembrava essere strutturato nel tempo. I risultati di questo studio indicano che la stretta associazione tra i due parassitoidi larvali e *D.*

suzukii che esiste in Asia si è chiaramente ricostituita in Nord America, risultando in livelli di parassitismo di *D. suzukii* più alti mai registrati fuori dalla sua area di origine. Così, l'esempio della Columbia Britannica in Canada dimostra che un controllo efficace di *D. suzukii* da parte dei parassitoidi asiatici è possibile al di fuori della sua area di origine.

La specie di parassitoide più generalista *L. japonica*, è stata recentemente trovata anche in Italia per la prima volta (Puppato et al. 2020). È emersa da campioni di ciliegie raccolti in sei siti distribuiti in tutto il Trentino nel 2019 e 2020, suggerendo che *L. japonica* ha già colonizzato un'area relativamente ampia. Tuttavia, rimane poco chiaro quali specie di *Drosophila* siano state attaccate da *L. japonica* in Italia.

3 Possibili effetti

3.1 Effetti sull'uomo e sugli animali, in particolare pericoli per la loro salute (p. es. effetti allergenici o tossici, irritazione cutanea, trasmissione di malattie)

Il parassitoide di *D. suzukii*, *Ganaspis* cf. *brasiliensis* non causa malattie né agli esseri umani né alle piante, ma c'è la possibilità che il parassitoide attacchi e uccida degli individui appartenenti a specie di *Drosophila* indigene, in particolar modo quelle specie che si trovano occasionalmente su frutti leggermente danneggiati o troppo maturi come *D. melanogaster*. Il rischio di tali attacchi è classificato come basso (i dettagli sono descritti sopra al cap. 2.8.4). Come parassitoide obbligato delle larve di drosophila, in particolare *D. suzukii* e le specie strettamente correlate, *G. cf. brasiliensis* entra raramente in contatto diretto con degli esseri umani o altri vertebrati e, se lo fanno, non sono in grado di pungere o mordere.

3.2 Effets sur l'environnement et la diversité biologique

3.2.1 Effetti sui processi ambientali o su importanti funzioni del suolo

Si suppone che G1 *G. cf. brasiliensis* possa stabilirsi nell'ambiente in Svizzera e attaccare in modo considerevole il moscerino invasivo *Drosophila suzukii* che si sviluppa nei frutti. Il parassitoide dovrebbe agire come un nemico naturale dominante e possibilmente diminuire notevolmente le popolazioni di *D. suzukii* e i danni provocati ai frutti. C'è un rischio relativamente basso (vedi cap. 2.8.4) che il parassitoide attacchi anche specie di *Drosophila* indigene come *D. melanogaster*, che sono principalmente decompositori di materiale organico. Tuttavia, poiché G1 *G. cf. brasiliensis* è specializzata sulle specie di *Drosophila* che attaccano i frutti in via di maturazione, una nicchia che in Europa è occupata solo da *D. suzukii*, non ci si aspetta alcun effetto sui processi di decomposizione.

3.2.2 Potenziale di insediamento e di diffusione nel luogo d'impiego

Come agente di controllo biologico classico contro *D. suzukii*, si desidera l'insediamento e la diffusione del parassitoide. Come descritto al cap. 2.8.8, il clima generale dei siti sperimentali e dei loro dintorni è adatto all'insediamento e alla moltiplicazione del parassitoide e la sua diffusione in Svizzera è quindi probabile.

3.2.3 Ruolo ecologico atteso nel luogo dell'emissione, identificazione e descrizione degli organismi bersaglio, conseguenze degli effetti sugli organismi bersaglio

In qualità di potenziale agente di controllo biologico, G1 *G. cf. brasiliensis* dovrebbe agire come nemico naturale dominante della specie invasiva *Drosophila suzukii* (target) e sopprimerla attaccando le sue larve e uccidendo le pupe. Si suppone che il parassitoide possa stabilirsi nell'ambiente, diffondersi e portare ad un controllo a lungo termine e in tutta l'area delle popolazioni di *D. suzukii*. Si prevede che attraverso questo controllo biologico di *D. suzukii*, i danni ai frutti in maturazione possono essere ridotti al di sotto di una soglia economicamente accettabile. Infatti, uno studio sul parassitismo larvale di *D. suzukii* da parte dei due parassitoidi asiatici *G. cf. brasiliensis* e *L. japonica*, introdotti accidentalmente nella

Colombia Britannica, Canada, mostra che la stretta associazione tra i due parassitoidi larvali e *D. suzukii* che esiste in Asia si è ricostituita in Nord America (Abram et al., 2021). Quindi, i risultati dimostrano che anche al di fuori della loro regione di origine, i parassitoidi sono in grado di svolgere il loro ruolo ecologico come nemici naturali dominanti che contribuiscono notevolmente al controllo del loro ospite.

3.2.4 Nemici indigeni degli organismi bersaglio nel luogo dell'emissione che potrebbero essere indirettamente colpiti dall'effetto

Un'indagine condotta per due anni consecutivi in campo in diverse regioni frutticole della Svizzera, utilizzando *D. melanogaster* come ospite sentinella nelle trappole da campo, ha dimostrato la presenza di otto specie di imenotteri parassitoidi come possibili nemici naturali del bersaglio *D. suzukii*. Successivi test obbligati (*no-choice*) di laboratorio con le specie raccolte sul campo hanno dimostrato che i parassitoidi larvali di *Asobara tabida*, *Leptopilina boulandi*, e *L. heterotoma* non possono utilizzare *D. suzukii* per la riproduzione. Per contro, i parassitoidi pupali *Pachycrepoideus vindemmiae*, *Trichopria drosophilae*, *Vrestovia fidenas* e *Spalangia erythromera* hanno potuto svilupparsi tutti con *D. suzukii* come ospite (Knoll et al. 2017). Esperimenti con parassitoidi asiatici di *D. suzukii* hanno mostrato che gli adulti di *G. cf. brasiliensis* sono in grado di scegliere tra gli ospiti precedentemente parassitati da altri endoparassitoidi larvali come *Leptopilina japonica*, portando a un effetto additivo sulla soppressione dell'ospite (Wang et al. 2019b). Tuttavia, l'esito competitivo tra il parassitoide larvale-pupale *G. cf. brasiliensis* e i parassitoidi pupali rimane da indagare. In ogni caso, ci si aspetta che i nemici naturali indigeni che attaccano *D. suzukii* o specie di *Drosophila* autoctone siano molto poco o per nulla influenzati da *G. cf. brasiliensis*, poiché il parassitoide è molto specifico agli ospiti che si sviluppano in frutti freschi, una nicchia che in Europa è occupata solo da *D. suzukii*.

3.2.5 Possibili effetti diretti e indiretti su organismi non bersaglio

Come menzionato sopra, *G. cf. brasiliensis* potrebbe attaccare alcune specie comuni di drosophila come *D. melanogaster* nei frutti danneggiati o troppo maturi. Tuttavia, *D. melanogaster* è molto competitiva in quanto richiede meno nutrimento e si sviluppa più velocemente di *D. suzukii*; il suo numero è spesso nettamente superiore a quello di *D. suzukii* nei frutti in decomposizione, soprattutto durante le stagioni post-frutto (Wang et al. 2016a). *Drosophila suzukii* sfrutta una nicchia disponibile utilizzando le risorse della frutta in via di maturazione o maturazione avvenuta (Mitsui et al. 2007, Poyet et al. 2014, Poyet et al. 2015), prima quindi che siano disponibili per altre specie di *Drosophila*, che tipicamente infestano frutti sovraturi o in decomposizione. Sebbene *G. cf. brasiliensis* mostri una forte preferenza per le larve di *Drosophila* nei frutti in via di maturazione o maturi, non si può escludere che attacchi *D. melanogaster* o la specie strettamente correlata *D. simulans*. Questo può causare una piccola competizione interspecifica tra *G. cf. brasiliensis* e i parassitoidi indigeni che usano *Drosophila spp.* come ospiti comuni.

3.2.6 Possibili effetti di concorrenza o di sostituzione delle specie indigene

Come detto sopra, è possibile che *G. cf. brasiliensis* entri in competizione con i parassitoidi delle specie di *Drosophila* indigene. Tuttavia, poiché il parassitoide asiatico è altamente specifico per le larve che attaccano i frutti in via di maturazione o maturi e tra le altre specie di *Drosophila* in Europa, solo *D. suzukii* occupa questa nicchia ecologica, si prevede che il parassitismo di specie non bersaglio, così come gli incontri con i parassitoidi autoctoni in ospiti non bersaglio, siano rari o inesistenti e quindi non dovrebbe verificarsi una concorrenza significativa. Per lo stesso motivo, è altamente improbabile che una qualsiasi specie indigena venga rimpiazzata da *G. cf. brasiliensis*.

3.2.7 Potenziale di ibridazione con ceppi o biotipi indigeni

Non ci sono ceppi, biotipi o specie del gruppo di specie *Ganaspis brasiliensis* in Europa. Cinque specie di *Ganaspis* sono state descritte in Europa (Forshage e Nordlander 2008). *Ganaspis mundata* Förster è la specie europea più comune ma è morfologicamente molto diversa da *G. brasiliensis* (Buffington e Forshage 2016) e, quindi, probabilmente geneticamente molto diversa. Delle altre quattro specie si sa molto poco, ma nessuna di esse è stata segnalata in Svizzera (Fauna Europaea 2020) e nessuna è nota per essere associata a Drosophilidae che attaccano frutti freschi o in decomposizione, il che limita fortemente la probabilità di incontrare *G. cf. brasiliensis*. Esperimenti di laboratorio hanno dimostrato l'incompatibilità riproduttiva attraverso un isolamento pre-riproduttivo (nessun accoppiamento ha luogo) tra i gruppi genetici G3-4 e G1 di *G. cf. brasiliensis* (Seehausen et al. 2020). Pertanto, il rischio di ibridazione con specie europee di *Ganaspis* che sono geneticamente più distinte è estremamente improbabile.

3.2.8 Effets sur les plantes

Ganaspis cf. brasiliensis è un parassitoide obbligato di *Drosophila spp.* e come tale non è in grado di attaccare direttamente le piante o di causare danni a delle parti vegetali per garantire il suo sviluppo. Un rilascio del parassitoide in pieno campo può, tuttavia, portare indirettamente a un incremento dello stato di salute delle piante e della sicurezza alimentare: riducendo potenzialmente le popolazioni di *D. suzukii*, il livello complessivo di attacco dei frutti in fase di maturazione dovrebbe diminuire e quindi il deterioramento precoce dei frutti sarà impedito, assicurando la produzione di semi e una fonte di cibo per gli esseri umani e gli animali.

3.2.9 Altri possibili effetti significativi

Nessuno.

4 Misure di sicurezza

4.1 Misure preventive

4.1.1 Metodi e procedure applicate per impedire o ridurre al minimo la diffusione degli organismi al di fuori del luogo di utilizzo

Quale agente di controllo biologico classico contro *D. suzukii*, è auspicato che il parassitoide s'insedi, si riproduca e si disperda dal punto iniziale di rilascio. Solo in questo modo l'agente di controllo biologico potrà raggiungere il suo pieno potenziale quale contributo a lungo termine e su larga scala alla gestione del moscerino del ciliegio. Il fatto che G1 *G. cf. brasiliensis* sia già stato rilasciato nell'Italia settentrionale rende molto probabile che a lungo termine il parassitoide si diffonda in Svizzera e si stabilisca almeno nei cantoni a sud delle Alpi. Per questo motivo, qui non è previsto alcun metodo per evitare o minimizzare la diffusione degli organismi al di fuori del luogo di utilizzo.

4.2 Smaltimento dei rifiuti

4.2.1 Tipologia e quantità di rifiuti prodotti dall'utilizzazione diretta nell'ambiente

Poiché è previsto che la vespa parassitoide venga rilasciata nell'ambiente nel suo stadio di adulto mobile, e siccome ci si aspetta che questa si disperda entro poche ore, solo pochi (<100) contenitori di plastica per il rilascio verranno lasciati per un breve periodo (massimo una settimana) nelle aree di rilascio. Nessun rifiuto pericoloso sarà prodotto nel corso dei rilasci.

4.2.2 Possibili pericoli

Nessun rifiuto pericoloso sarà prodotto nel contesto del rilascio dei parassitoidi.

4.2.3 Smaltimento dei rifiuti in conformità con i regolamenti

I contenitori in plastica utilizzati per il rilascio sono generalmente riutilizzabili e saranno smaltiti nei rifiuti domestici generali destinati all'incenerimento solo quando saranno rotti e quindi non potranno più essere riutilizzati.

4.3 Piani d'emergenza

4.3.1 Metodi e procedure per il controllo degli organismi in caso di diffusione imprevista

L'obiettivo di un programma di controllo biologico classico è l'insediamento e la diffusione dell'agente di lotta biologica per raggiungere il suo obiettivo di controllo a lungo termine e su larga scala del parassita bersaglio. Quindi, non esistono area o habitat infestati dall'ospite bersaglio *D. suzukii* in cui il parassitoide non dovrebbe diffondersi. Dopo i rilasci, l'insediamento e la diffusione nell'ambiente può essere considerato irreversibile e non sono disponibili metodi o procedure per controllare il parassitoide.

4.3.2 Metodi di decontaminazione dei biotopi colpiti

Non è disponibile alcun metodo per decontaminare le aree in cui *G. cf. brasiliensis* si stabilisce.

4.3.3 Metodi di eliminazione o trattamento di piante, animali, suoli ecc. esposti alla diffusione indesiderata degli organismi

Poiché il parassitoide e i suoi ospiti sono molto piccoli e possono diffondersi praticamente ovunque nell'ambiente, non ci sono metodi disponibili per trattare piante, animali, suolo ecc. colpiti dalla diffusione degli organismi.

4.3.4 Piani per la protezione dell'uomo, degli animali, dell'ambiente e della diversità biologica in caso di effetti indesiderati

In qualità di parassitoide obbligato di larve di drosofila, in particolare *D. suzukii* e specie strettamente correlate, *G. cf. brasiliensis* entrerà raramente in contatto diretto con esseri umani o altri vertebrati e, se dovesse essere il caso, è incapace di pungere o mordere. *Ganaspis cf. brasiliensis* inoltre non causerà alcuna malattia negli esseri umani o nelle piante, ma esiste la possibilità che il parassitoide attacchi e uccida specie di *Drosophila* indigene, come *D. melanogaster*. Sulla base degli esperimenti eseguiti in laboratorio e in gabbie di campo di grandi dimensioni, il rischio di tali attacchi è classificato come basso (i dettagli sono descritti sopra nella sezione 2.8.4). Tuttavia, una volta rilasciato nel campo, non è possibile controllare il parassitoide o proteggere qualsiasi specie non bersaglio dai suoi attacchi.

Autorizzazioni e valutazioni delle autorità svizzere ed estere concernenti la diffusione sperimentale e la messa in circolazione

Finora, G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* è stato autorizzato solo per rilasci sperimentali in gabbie di campo in Svizzera e per rilasci in pieno campo in Italia. I dossier per la richiesta e i documenti di autorizzazione sono allegati alla presente domanda (S2-S4). Si prega di notare che i documenti italiani sono disponibili solo in italiano e la lettera di autorizzazione svizzera è disponibile solo in tedesco.

Determinazione e valutazione del rischio

Secondo l'allegato 4 dell'ordinanza sull'emissione deliberata nell'ambiente ODE

Conformemente con l'allegato 4 dell'articolo 30 dell'ordinanza sull'emissione deliberata nell'ambiente, qui di seguito identifichiamo i pericoli, determiniamo i rischi e giustifichiamo l'assunzione di questi rischi associati al rilascio in pieno campo di G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* descritte sopra.

Dal 2014 CABI, insieme ad altre istituzioni di tutto il mondo, ha studiato i nemici naturali di *D. suzukii* dell'Asia per lo sviluppo di un programma di controllo biologico classico. Durante diverse indagini in Asia, l'endoparassitoide primario *Ganaspis brasiliensis* è stato identificato da diversi gruppi di ricerca come possibile agente di controllo biologico a causa della sua elevata abbondanza e importanza come fattore di mortalità di *D. suzukii* in Asia (Daane et al. 2016; Girod et al. 2018a; Giorgini et al. 2019). Per studiare in dettaglio il parassitoide, in particolare il rischio che può rappresentare per le specie non bersaglio in Europa, esso è stato importato in Svizzera in un laboratorio di quarantena di livello 3 nel canton Giura, presso il CABI di Delémont, sotto la sezione 2 dell'ordinanza svizzera di contenimento. In una serie di studi di laboratorio, è stato determinato che *G. cf. brasiliensis* è un complesso di almeno due specie criptiche e che gli individui di un gruppo genetico (chiamato G3-4) parassitano prontamente alcune specie di *Drosophila* indipendentemente dalla loro fonte di cibo, mentre gli individui dell'altro (chiamato G1) sono quasi esclusivamente specifici delle larve che si nutrono nei frutti in maturazione (Seehausen et al. 2020). Poiché solo *D. suzukii* attacca i frutti in maturazione nella sua area di dispersione, le specie non bersaglio hanno un rischio molto basso di essere attaccate dai parassitoidi G1. Inoltre, nel suo areale nativo, gli esemplari di *G. cf. brasiliensis* sono sempre stati prelevati solo da frutti freschi maturi infestati da *D. suzukii* (e dalle specie molto vicine *D. pulchrella* e *D. subpulchrella*) e non sono mai stati ottenuti da esche alimentari di frutta, come porzioni affettate di banana (Daane et al. 2016; Girod et al. 2018a; Giorgini et al. 201; Kasuya et al. 2013), indicando un alto grado di specificità dell'habitat per i frutti freschi in condizioni di campo. Sulla base di queste informazioni, è stato determinato che G1 *G. cf. brasiliensis* sembra essere ben adatto come agente di controllo biologico (Seehausen et al. 2020). Come ultimo passo prima del rilascio in pieno campo, è stato effettuato un test di scelta in grandi gabbie da campo in due cantoni svizzeri, Giura e Ticino (Seehausen et al., in revisione). I parassitoidi rilasciati potevano di scegliere se parassitare le larve di *D. suzukii* nella frutta fresca (mirtilli o sambuco) o la specie nativa non bersaglio *D. melanogaster* nella frutta in decomposizione. I risultati sono inequivocabili: il parassitismo apparente delle larve di *D. suzukii* che si nutrivano di frutta fresca era in media del 13%, mentre solo un parassitoide è emerso da *D. melanogaster* che si nutriva di frutta in decomposizione (0,03% di parassitismo). Pertanto, i risultati confermano le conclusioni dei precedenti esperimenti di laboratorio che affermano che G1 *G. cf. brasiliensis* è altamente specifico per *D. suzukii* larve che si nutrono di frutta fresca e che il parassitismo di *D. melanogaster*, una specie strettamente imparentata a *D. suzukii* ma che si nutre di frutta in decomposizione, è molto rara. Questo esperimento ha confermato la biosicurezza di G1 *G. cf. brasiliensis* e permette di concludere che i rilasci in campo del parassitoide non dovrebbero rappresentare dei rischi significativi per le specie non bersaglio.

In quanto agente di controllo biologico classico, ci si aspetta e si spera che G1 *G. cf. brasiliensis* s'insedi nei punti di rilascio e poi si disperda nell'ambiente per coprire tutte le aree infestate dall'invasore *D. suzukii*. Come descritto nel cap. 2.8.8, in gran parte delle regioni della Svizzera il clima è favorevole all'insediamento e alla moltiplicazione del parassitoide e ci si può quindi aspettare che si diffonda in tutta la Svizzera, ad eccezione delle Alpi. Un tale insediamento e una tale diffusione nell'ambiente possono essere considerati

irreversibili e non sono disponibili o noti metodi o procedure per controllare il parassitoide una volta insediato.

In quanto parassitoide obbligato delle larve di drosofila, il parassitoide entrerà raramente in contatto diretto con l'uomo o altri vertebrati e, anche se ciò avvenisse, è incapace di pungere o mordere. Quindi, nessun essere umano può essere ferito da *G. cf. brasiliensis*. Inoltre non causerà alcun danno o malattia all'uomo, o ad altri vertebrati, piante o invertebrati diversi dai Drosophilidae. Più specificamente, non sono noti effetti del parassitoide su insetti diversi dalle specie che si nutrono allo stadio di larve dell'interno di frutti molli, e questi effetti sono altamente improbabili a causa dell'alta specificità dell'ospite determinata dagli studi di laboratorio sopra descritti. Tuttavia, si prevede che G1 *G. cf. brasiliensis* si stabilisca nell'ambiente e attacchi in modo acuto la *D. suzukii* invasiva che si sviluppa nei frutti. Come mostrato nello studio realizzato in Canada, dove G1 *G. cf. brasiliensis* è stato introdotto accidentalmente, il parassitoide potrebbe agire come nemico naturale dominante e forse diminuire notevolmente le popolazioni di *D. suzukii* e il loro attacco ai frutti. Anche se valutato come relativamente basso (vedi dettagli al cap. 2.8.4), non si può escludere il rischio che il parassitoide attacchi e uccida occasionalmente anche specie di *Drosophila* indigene, come *D. melanogaster*. Le specie di *Drosophila* indigene svolgono importanti ruoli ecologici come decompositori e come parte di complesse reti trofiche (Savage 2002). Un forte parassitismo di questi moscerini della frutta nativi da parte di un agente di controllo biologico generalista importato può avere conseguenze negative sull'ecosistema, ma è altamente improbabile nel caso di G1 *G. cf. brasiliensis* per le seguenti ragioni: come determinato negli esperimenti di scelta eseguiti in laboratorio e in grandi gabbie di terreno, G1 *cf. brasiliensis* attaccano quasi esclusivamente (forse esclusivamente in condizioni di campo aperto) larve di *Drosophila* in frutti in via di maturazione e maturi, una nicchia che in Europa non è sfruttata da nessun Drosophilidae indigeno. Quindi, se si verifica il parassitismo in altri substrati alimentari tipici per le specie di *Drosophila* (ad esempio frutta in decomposizione), ci si può aspettare che sia molto basso e che quindi non porti al declino di una specie. Alcune specie, come *D. melanogaster* o *D. simulans* si nutrono principalmente di materiale in decomposizione ma possono occasionalmente trovarsi in frutti feriti o leggermente marcescenti, nel qual caso possono essere attaccati da G1 *G. cf. brasiliensis*. Tuttavia, la proporzione di individui di questi ospiti non bersaglio che saranno colpiti dal parassitoide sarà minima. Inoltre, *D. melanogaster* e *D. simulans* sono molto competitive perché richiedono meno nutrimento e si sviluppano più velocemente di *D. suzukii*; il loro numero è spesso superiore a quello di *D. suzukii* nella frutta in decomposizione (Wang et al. 2016a).

Un'indagine di campo durata due anni consecutivi in diverse regioni frutticole della Svizzera usando *D. melanogaster* come ospite sentinella in trappole da campo ha dimostrato la presenza di otto specie di imenotteri parassitoidi come possibili nemici naturali del bersaglio *D. suzukii*. Successivi esperimenti di laboratorio obbligati (*no-choice*) con le specie raccolte in campo hanno dimostrato che i parassitoidi larvali *Asobara tabida*, *Leptopilina boulardi* e *L. heterotoma* non possono utilizzare *D. suzukii* per la riproduzione. Per contro, i parassitoidi pupali *Pachycrepoideus vindemniae*, *Trichopria drosophilae*, *Vrestovia fidenas* e *Spalangia erythromera* si sono sviluppati tutti con *D. suzukii* come ospite (Knoll et al. 2017) e quindi la competizione tra questi parassitoidi e *G. cf. brasiliensis* è teoricamente possibile. Esperimenti con parassitoidi asiatici di *D. suzukii* hanno dimostrato che gli adulti di *G. cf. brasiliensis* sono in grado di discriminare gli ospiti precedentemente parassitati da altri endoparassitoidi larvali come *Leptopilina japonica*, portando a un effetto additivo sulla soppressione dell'ospite (Wang et al. 2019b). La coesistenza dei due parassitoidi e gli alti livelli di parassitismo di *D. suzukii* al di fuori del loro areale d'origine sono stati confermati in Canada in condizioni di campo (Abram et al. 2021). Tuttavia, il risultato della competizione tra il

parassitoide larvale-pupale *G. cf. brasiliensis* e i parassitoidi pupali è ancora da indagare. In ogni caso, ci si aspetta che i nemici naturali indigeni che attaccano *D. suzukii* o specie di *Drosophila* indigene siano molto poco o per niente influenzati da *G. cf. brasiliensis* per via della già citata specificità del parassitoide per gli ospiti che si sviluppano in frutti freschi, una nicchia che in Europa è occupata solo da *D. suzukii*.

L'ibridazione con ceppi, biotipi o specie sorelle autoctone è ugualmente molto improbabile poiché non esiste alcun ceppo, biotipo o specie autoctona del complesso di specie *G. brasiliensis* in Europa e le cinque specie di *Ganaspis* europee descritte (Forshage & Nordlander 2008) non riconosciute per essere associate a *Drosophilidae* che attaccano frutti freschi o in decomposizione, il che limita fortemente la probabilità di un incontro con G1 *G. cf. brasiliensis*. Inoltre, esperimenti di laboratorio hanno dimostrato un'incompatibilità riproduttiva grazie a un isolamento riproduttivo (non avviene nessun accoppiamento) tra i gruppi genetici G3-4 e G1 di *G. cf. brasiliensis* (Seehausen et al. 2020). Pertanto, il rischio di ibridazione con specie europee di *Ganaspis*, le quali sono geneticamente più differenziate è estremamente improbabile.

Per quanto ne sappiamo, *G. cf. brasiliensis* è un parassitoide obbligato di *Drosophila spp.* e come tale non è in grado di attaccare direttamente le piante o di nutrirsi a discapito di materiale vegetale per garantire il suo sviluppo. Tuttavia, qualche tempo dopo il rilascio, ci si aspetta che il parassitoide porti indirettamente ad uno stato di salute delle piante migliore, come pure della sicurezza alimentare: come agente di controllo biologico, è probabile che G1 *G. cf. brasiliensis* riduca le popolazioni di *D. suzukii* e quindi il livello complessivo di attacco dei frutti in decomposizione. Si pensa quindi che il degrado precoce dei frutti come conseguenza dell'attacco di *D. suzukii* possa venir ridotto al minimo, assicurando la produzione di semi e fonti di cibo per esseri umani e animali.

Il basso rischio di attacchi minori alle specie di *Drosophila* non bersaglio che potrebbero verificarsi dopo il rilascio di G1 *G. cf. brasiliensis*, oggetto della presente domanda, è giustificato a causa (1) dell'invasione diffusa di *D. suzukii* in Europa e il danno devastante causato da questo parassita alle coltivazioni di piccoli frutti; (2) della necessità di sviluppare strategie di controllo sostenibili su larga scala, come il controllo biologico, che potrebbero sopprimere le popolazioni di *D. suzukii* in habitat coltivati e non; e (3) dall'attuale mancanza di nemici naturali efficaci di *D. suzukii* in tutte le sue regioni invase in Europa e nelle Americhe. Riteniamo che nel complesso, il basso rischio rappresentato dall'attacco occasionale su alcune specie autoctone sia giustificato in relazione ai danni causati da *D. suzukii* al settore della frutta in Europa e nel mondo.

Il fatto che il parassitoide sia già stato rilasciato nell'Italia settentrionale rende molto probabile che G1 *G. cf. brasiliensis* si disperda oltre confine e si stabilisca in Svizzera a medio termine. Quindi, tutti i bassi rischi qui descritti che i rilasci possono causare si verificherebbero comunque a medio termine quando il parassitoide si diffonderà naturalmente in Svizzera. D'altra parte, i benefici evidenti sotto forma di controllo biologico del parassita bersaglio sarebbero ritardati senza i rilasci, soprattutto a nord delle Alpi

Piano di monitoraggio

Introduzione

Il parassitoide *Ganaspis cf. brasiliensis* non possiede sostanze tossiche o allergeni che possano essere pericolosi per l'uomo o gli animali, quindi questo argomento non farà parte del piano di monitoraggio.

In quanto agente di controllo biologico classico, ci si aspetta che il parassitoide si stabilisca, si moltiplichi e si disperda da solo (senza controllo) a partire dai siti di rilascio. Una volta stabilito nell'ambiente, la diffusione del parassitoide può essere considerata irreversibile e nessun metodo o procedura è disponibile o conosciuto per controllarlo o sradicarlo. Oltre a monitorare l'eventuale parassitismo di specie di *Drosophila* non bersaglio, il piano di monitoraggio è quindi impostato per verificare l'insediamento, la moltiplicazione e la dispersione desiderata del parassitoide, nonché per monitorare la comparsa e la frequenza di parassitismo indesiderato di specie non bersaglio.

Insedimento

Proponiamo di liberare G1 *G. cf. brasiliensis* prima nei cantoni Giura e Ticino. In ogni cantone, saranno identificate delle località dove sono presenti frutti freschi infestati da *D. suzukii*. Prima che i rilasci abbiano luogo, diversi frutti saranno raccolti e portati in laboratorio, dove saranno incubati in contenitori di plastica. Identificando e contando tutti gli insetti emergenti, si potrà determinare il tasso di attacco dei frutti da parte di *D. suzukii* e verificare l'assenza del parassitoide prima del rilascio. Circa due settimane dopo il rilascio, dei frutti infestati saranno raccolti nuovamente e portati in laboratorio per determinare la presenza e il tasso apparente di parassitismo di G1 *G. cf. brasiliensis*. Il tasso di parassitismo apparente è la somma dei parassitoidi emergenti divisa per la somma di tutti gli insetti emergenti (mosche ospiti e parassitoidi). Il tipo di frutta da raccogliere per questo piano di monitoraggio dipenderà dalla stagione dell'anno in cui vengono effettuati i rilasci. Inoltre, il monitoraggio sopra descritto sarà ripetuto almeno una volta nella primavera/inizio estate successiva all'anno delle emissioni, per verificare l'insediamento del parassitoide dopo l'inverno svizzero. A questo scopo, si possono utilizzare le colture più precocemente attaccate, come le fragole o le ciliegie.

Specificità dell'ospite

Per verificare se G1 *G. cf. brasiliensis* attacca drosofilidi non bersaglio in condizioni di campo, verranno effettuate anche raccolte di frutta in decomposizione contenente larve di drosofile, negli stessi luoghi e allo stesso tempo della frutta fresca, come descritto sopra. In laboratorio, la frutta in decomposizione sarà controllata regolarmente per individuare le pupe di *Drosophila* spp., che possono essere identificate morfologicamente, almeno per distinguere tra l'ospite bersaglio *D. suzukii* e altre potenziali specie non bersaglio (Abram et al. 2021b). Allevando separatamente le pupe target e quelle non target, è possibile determinare da dove emerge il parassitoide larvale-pupale *G. cf. brasiliensis*. Se nelle aree di rilascio si trovano pochi o nessun frutto in decomposizione, saranno installate trappole sentinella contenenti frutta in decomposizione. Questa frutta potrà essere infestata naturalmente da delle drosofile non bersaglio e raccolta dopo una settimana per essere verificare i parassitoidi emergenti in laboratorio. Come per le raccolte di frutta fresca per monitorare l'insediamento, anche le indagini sulla specificità dell'ospite saranno ripetute almeno una volta in primavera/inizio estate dell'anno seguente al rilascio.

Almeno un sottocampione dei parassitoidi emergenti morfologicamente identificati come *G.cf. brasiliensis* sarà egualmente identificato utilizzando il DNA. Questo aggiungerà

ulteriore certezza all'identificazione e al raggruppamento genetico dei parassitoidi campionati.

Informazioni dell'acquirente e l'eventuale confezionamento degli organismi

Proposta per l'informazione dell'acquirente (art. 5) e l'eventuale confezionamento degli organismi.

Nel caso in cui venga concesso il permesso di rilascio in campo di G1 *G. cf. brasiliensis*, esemplari adulti del parassitoide saranno raccolti dal laboratorio di quarantena del CABI a Delémont, Giura. I parassitoidi adulti saranno trasportati dal laboratorio al sito di rilascio in contenitori di plastica. Questi contenitori rimarranno nei siti di rilascio fino a quando tutti i parassitoidi saranno dispersi, il che richiederà tra 24 ore e 7 giorni, dopo di che saranno recuperati. Ogni contenitore di rilascio sarà etichettato con una breve spiegazione della sua funzione e del suo contenuto, così come il nome e il contatto dell'organizzazione che effettua i rilasci. Per esempio, come segue:

Contenitore di rilascio per il parassitoide G1 <i>Ganaspis cf. brasiliensis</i> per la lotta biologica del moscerino del ciliegio <i>Drosophila suzukii</i> .	Servizio fitosanitario Viale Stefano Franscini 17 6501 Bellinzona Tel. 091 814 35 85 cristina.marazzi@ti.ch
---	---

Sosteniamo che non sia necessario etichettare i contenitori di rilascio più di così, per le seguenti ragioni

- i parassitoidi non saranno commercializzati;
- i parassitoidi nei contenitori di rilascio saranno portati direttamente dal laboratorio di allevamento al sito di rilascio senza stoccaggio intermedio;
- i rilasci saranno effettuati solo dal personale CABI o dalle autorità cantonali/federali;
- i parassitoidi non sono dannosi per gli esseri umani o gli animali diversi da *D. suzukii* e potenzialmente per le *Drosophila* spp. Strettamente imparentate (vedasi cap. 2.8.4);
- nessun rifiuto sarà prodotto dai parassitoidi, tranne che per i contenitori di rilascio;
- i rilasci di parassitoidi possono essere considerati irreversibile e non si conoscono misure per controllare o sradicare l'organismo una volta che si è stabilito.

Conformità all’Ordinanza di Nagoya dell’11 dicembre 2015

I G1 *Ganaspis* cf. *brasiliensis* che sono oggetto di questa domanda di rilascio in campo sono stati originariamente raccolti in Giappone (vedi cap. 2.6 del dossier tecnico). Il Giappone ha aderito al protocollo di Nagoya dal 2017, ma il paese non ha messo in atto misure di accesso. Pertanto, nessun “prior informed consent (PIC)” è richiesto per l'accesso alle risorse genetiche in Giappone e nessun “internationally recognized certificate of compliance (IRCC)” è stato rilasciato per le risorse genetiche acquisite in Giappone.

Bibliografia

- Abram, P.K., Franklin, M.T., Hueppelsheuser, T., Carrillo, J., Grove, E., Eraso, P., Acheampong, S., Keery, L., Girod, P., Tsuruda, M., Clausen, M., Buffington, M.L., Moffat, C.E. (2021a) Adventive larval parasitoids reconstruct their close association with spotted-wing drosophila in the invaded North American range. *Environ. Entomol.*, preprint.
- Abram, P.K., Wang, X., Hueppelsheuser, T., Franklin, M.T., Daane, K.M., Lee, J.C., Lue, C.-H., Girod, P., Carrillo, J., Wong, W.H.L., Kula, R., Gates, M., Hogg, B., Moffat, C.E., Hoelmer, K.A., Sial, A.A., Buffington, M.L. (2021b) A coordinated sampling and identification methodology for larval parasitoids of spotted-wing drosophila. *J. Econ. Entomol.*, in print.
- Abram, P.K., McPherson, A.E., Kula, R., Hueppelsheuser, T., Thiessen, J., Perlman, S.J., Curtis, C.I., Fraser, J.L., Tam, J., Carrillo, J. and Gates, M. (2020) New records of *Leptopilina*, *Ganaspis*, and *Asobara* species associated with *Drosophila suzukii* in North America, including detections of *L. japonica* and *G. brasiliensis*. *Journal of Hymenoptera Research* 78, 1-17.
- Aly, M.F.K., Kraus, D.A., Burrack H.J. (2017) Effects of postharvest cold storage on the development and survival of immature *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in artificial diet and fruit. *J. Econ. Entomol.* 110, 87-93.
- Asplen, M.K., Anfora, G., Biondi, A., Choi, D.S., Chu, D., Daane, K.M., Gibert, P., Gutierrez, A.P., Hoelmer, K.A., Hutchison, W.D., Isaacs, R., Jiang, Z.L., Karpati, Z., Kimura, M.T., Pascual, M., Philips, C.R., Plantamp, C., Ponti, L., Vetek, G., Vogt, H., Walton, V.M., Yu, Y., Zappala, L., Desneux, N. (2015) Invasion biology of spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *J. Pest Sci.* 88, 469-494.
- Atallah, J., Teixeira, L. Salazar, R., Zaragoza, G., Kopp, A. (2014) The making of a pest: the evolution of a fruit-penetrating ovipositor in *Drosophila suzukii* and related species. *Proc. R. Soc. Biol. Sci. Ser. B* 281, 2013-2840.
- Ballman, E.S., Collins, J.A., Drummond F.A. (2017) Pupation behavior and predation on *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) upae in Maine wild blueberry fields. *J. Econ. Entomol.* 110, 2308-2317.
- Baroffio C., Fischer S. (2011) Neue Bedrohung für Obstplantagen und Beerenpflanzen: Die Kirschessigfliege. *UFA-Revue* 11, 46-47.
- Beers, E.H., Van Steenwyk, R.A., Shearer, P.W., Coates, W.W., Grant, J.A. (2011) Developing *Drosophila suzukii* management programs for sweet cherry in the western United States. *Pest Manag. Sci.* 67, 1386-1395.
- Biondi, A., Wang, X., Daane, K.M. (2021) Host preference of three Asian larval parasitoids to closely related *Drosophila* species: implications for biological control of *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 94, 273-283.
- Biondi, A., Mommaerts, V., Smagghe, G., Vinuela, E., Zappala, L., Desneux, N. (2012) The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. *Pest Manag. Sci.* 68, 1523-1536.
- Boughdad, A., Haddi, K., El Bouazzati, A., Nassiri, A., Tahiri, A., El Anbri, C., Eddaya, T., Zaid, A. and Biondi, A. (2020) First record of the invasive spotted wing *Drosophila* infesting berry crops in Africa. *Journal of Pest Science*, pp. 11.
- Buffington, M.L., Forshage, M. (2016) Redescription of *Ganaspis brasiliensis* (Ihering, 1905), new combination, (Hymenoptera: Figitidae) a natural enemy of the invasive *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 118, 1-13.

- Bühlmann, I., Bernath, L., Ziegler, M., Kamm, U., Gossner M.M. (2021) Schädspotenzial der Kirschesigfliege (*Drosophila suzukii*) im Wald. Wald und Holz 102: 19-22.
- Burrack, H.J. (2015) SWD Impacts 2014, North Carolina Extension. <https://swd.ces.ncsu.edu/swd-impacts-2014/>.
- Cahenzli, F., Strack, T., Daniel, C. (2018) Screening of 25 different natural crop protection products against *Drosophila suzukii*. Journal of Applied Entomology 142, 563-577.
- Carton, Y., Boulétreau, M., van Alphen, J.J.M., van Lenteren, J.C. (1986) The *Drosophila* parasitic wasps. In: Ashburner, M., Carson, H.L., Thompson, J.N. (eds) The genetics and biology of *Drosophila*, vol 3. Academic Press, New York, pp. 347–394
- Chabert, S., Allemand, R., Poyet, M., Eslin, P., Gibert, P. (2012) Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. Biol. Control 63, 40-47.
- Cloonan, K.R., Abraham, J., Angeli, S., Syed, Z., Rodriguez-Saona, C. (2018) Advances in the chemical ecology of the spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*) and its applications. J. Chem. Ecol. 44, 922-939.
- Daane, K.M., Wang, X., Hogg, B.N., Biondi, A. (2021) Potential host ranges of three Asian larval parasitoids of *Drosophila suzukii*. J. Pest Sci. 94, 1171–1182.
- Daane, K.M., Wang, X.G., Biondi, A., Miller, B., Miller, J.C., Riedl, H., Shearer, P.W., Guerrieri, E., Giorgini, M., Buffington, M., van Achterberg, K., Song, Y., Kang, T., Yi, H., Jung, C., Lee, D.W., Chung, B.K., Hoelmer, K.A., Walton, V.M. (2016) First exploration of parasitoids of *Drosophila suzukii* in South Korea as potential classical biological agents. J. Pest Sci. 89, 823-835.
- De Ros, G., Conci, S., Pantezzi, T., Savini, G. (2015) The economic impact of the invasive pest *Drosophila suzukii* on berry production in the Province of Trento, Italy. J. Berry Res. 5, 89–96.
- Del Fava, E., Ioriatti, C., Melegaro, A. (2017) Cost-benefit analysis of controlling the spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii* (Matsumura)) spread and infestation of soft fruits in Trentino, Northern Italy. Pest Manag. Sci. 73, 2318-2327.
- Diepenbrock, L.M., Swoboda-Bhattarai, K.A., Burrack, H.J. (2016) Ovipositional preference, fidelity, and fitness of *Drosophila suzukii* in a co-occurring crop and non-crop host system. J. Pest Sci. 89, 761-769.
- DiGiacomo, G., Hadrich, J., Hutchison, W.D., Peterson, H., Rogers, M. (2019) Economic impact of spotted wing drosophila (Diptera: Drosophilidae) yield loss on Minnesota raspberry farms: a grower survey. J. Integ. Pest Manage. 10, 1-6.
- Emiljanowicz, L.M., Ryan, G.D., Langille, A., Newman, J. (2014) Development, reproductive output and population growth of the fruit fly pest *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on artificial diet. J. Econ. Entomol. 107, 1392-1398.
- EPPO Global Database (2021) Online resource: <https://gd.eppo.int/taxon/DROSSU/distribution> (accessed: 02/03/2021)
- Farnsworth, D., Hamby, K.A., Bolda, M., Goodhue, R.E., Williams, J.C., Zalom, F.G. (2017) Economic analysis of revenue losses and control costs associated with the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura), in the California raspberry industry. Pest Manag. Sci. 73, 1083-1090.
- Fauna Europaea (2020) Online source: <https://fauna-eu.org/> (accessed: 26/01/2021).
- Forshage, M., Nordlander, G. (2008) Identification key to European genera of Eucoilinae (Hymenoptera, Cynipoidea, Figitidae). Insect Systematics & Evolution 39, 341-359.
- Fraimout, A., Debat, V., Fellous, S., Hufbauer, R.A., Foucaud, J., Pudlo, P., Marin, J.M., Price, D.K., Cattel, J., Chen, X. and Deprá, M. (2017) Deciphering the routes of invasion of *Drosophila suzukii* by means of ABC random forest. Mol. Biol. Evol. 34, 980-996.

- Gabarra, R., Riudavets, J., Rodríguez, G.A., Pujade-Villar, J., Arnó, J. (2015) Prospects for the biological control of *Drosophila suzukii*. *BioControl* 60, 331-339.
- Gallardo, F.E., Funes, C.F., Reche, V., Kirschbaum, D.S., Ovruski, S.M., Buffington, M.L. (2021) First record and distribution of *Ganaspis brasiliensis* (Hymenoptera: Figitidae: Eucoilinae), a parasitoid of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Argentina. *Neotrop. Entomol.*, 1-6.
- Giorgini, M., Wang, X.G., Wang, Y., Chen, F.S., Hougardy, E., Zhang, H.M., Chen, Z.Q., Chen, H.Y., Liu, C.X., Cascone, P., Formisano, G., Carvalho, G.A., Biondi, A., Buffington, M., Daane, K.M., Hoelmer, K.A., Guerrieri, E. (2019) Exploration for native parasitoids of *Drosophila suzukii* in China reveals a diversity of parasitoid species and narrow host range of the dominant parasitoid. *J. Pest Sci.* 92, 509-522.
- Girod, P., Borowiec, N., Buffington, M., Chen, G.H., Fang, Y., Kimura, M.T., Peris-Felipo, F.J., Ris, N., Wu, H., Xiao, C., Zhang, J.P., Aebi, A., Haye, T., Kenis, M. (2018a) The parasitoid complex of *D. suzukii* and other fruit feeding *Drosophila* species in Asia. *Sci. Rep.* 8, e11839.
- Girod, P., Rossignaud, L., Haye, T., Turlings, T.C.J., Kenis, M. (2018b) Development of Asian parasitoids in larvae of *Drosophila suzukii* feeding on blueberry and artificial diet. *J. Appl. Entomol.* 142, 483-494.
- Girod, P., Lierhmann, O., Urvois, T., Turlings, T.C.J., Kenis, M., Haye, T. (2018c) Host specificity of Asian parasitoids for potential classical biological control of *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 91, 1241-1250.
- Gonzalez-Cabrera, J., Cordoba-Urtiz, E.G., Moreno-Carrillo, G., Sanchez-Gonzalez, J.A., Arredondo-Bernal, H.C. (2020) First report of the Parasitoid *Ganaspis brasiliensis* Ihering (Hymenoptera: Figitidae) in Mexico. *Entomological News*, 129, 67-70.
- Goodhue, R.E., Bolda, M., Farnsworth, D., Williams, J.C., Zalom, F.G. (2011) Spotted wing drosophila infestation of California strawberries and raspberries: economic analysis of potential revenue losses and control costs. *Pest Manag. Sci.* 67, 1396-1402.
- Gress, B.E., Zalom, F.G. (2019) Identification and risk assessment of spinosad resistance in a California population of *Drosophila suzukii*. *Pest Manag. Sci.* 75, 1270-1276.
- Hamby, K.A., Hernandez, A., Boundy-Mills, K., Zalom, F.G. (2012) Associations of yeasts with spotted-wing drosophila (*Drosophila suzukii*; Diptera: Drosophilidae) in cherries and raspberries. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 4869-4873.
- Hamby, K.A., Bellamy, D.E., Chiu, J.C., Lee, J.C., Walton, V.M., Wiman, N.G., York, R.M., Biondi, A. (2016) Biotic and abiotic factors impacting development, behavior, phenology, and reproductive biology of *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 89, 605-619.
- Hauser, M. (2011) A historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. *Pest Manag. Sci.* 67, 1352-1357.
- Haye, T., Girod, P., Cuthbertson, A.G.S., Wang, X.G., Daane, K.M., Hoelmer, K.A., Baroffio, C., Zhang, J.P., Desneux, N. (2016) Current SWD IPM tactics and their practical implementation in fruit crops across different regions around the world. *J. Pest Sci.* 89, 643-651.
- Hougardy, E., Hogg, B.N., Wang, X.-G., Daane, K.M. (2019) Comparison of thermal performances of two Asian larval parasitoids of *Drosophila suzukii*. *Biol. Control* 136, 104000.
- Ioriatti, C., Frontuto, A., Grassi, A., Anfora, G., Simoni, S. (2012) *Drosophila suzukii* (Matsumura), una nuova specie invasiva dannosa alle colture di piccoli frutti. *Atti dell'Accademia dei Georgofili*, VIII, 69–80.
- Ioriatti, C., Walton, V., Dalton, D., Anfora, G., Grassi, A., Maistri, S., Mazzoni, V. (2015) *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) and its potential impact to wine grapes

- during harvest in two cool climate wine grape production regions. *J. Econ. Entomol.* 108, 1148–1155.
- Kaçar, G., Wang, X.G., Biondi, A., Daane, K.M. (2017) Linear functional response by two pupal *Drosophila* parasitoids foraging within single or multiple patch environments. *PLoS One* 12: e0183525.
- Kacsoh, B.Z., Schlenke, T.A. (2012) High hemocyte load is associated with increased resistance against parasitoids in *Drosophila suzukii*, a relative of *D. melanogaster*. *PLoS One* 7, e34721.
- Kanzawa, T. (1939) Studies on *Drosophila suzukii* Mats (in Japanese), Yamanashi Agricultural Experimental Station, Kofu, Japan.
- Karageorgi, M., Brückner, L.B., Lebreton, S., Minervino, C., Cavey, M., Siju, K.P., Kadow, I.C.G., Gompel, N. and Prud'homme, B. (2017) Evolution of multiple sensory systems drives novel egg-laying behavior in the fruit pest *Drosophila suzukii*. *Curr. Biol.* 27, 847–853.
- Kasuya, N., Mitsui, H., Ideo, S., Watada, M., Kimura, M.T. (2013) Ecological, morphological and molecular studies on *Ganaspis* individuals (Hymenoptera: Figitidae) attacking *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Appl. Entomol. Zool.* 48, 87-92.
- Keeseey, I.W., Knaden, M., Hansson, B.S. (2015) Olfactory specialization in *Drosophila suzukii* supports an ecological shift in host preference from rotten to fresh fruit. *J. Chem. Ecol.* 41, 121–128.
- Kenis, M., Tonina, L., Eschen, R., van der Sluis, B., Sancassani, M., Mori, N., Haye, T., Helsen, H. (2016) Non-crop plants used as hosts by *Drosophila suzukii* in Europe. *J. Pest Sci.* 89, 735-748.
- Kimura, M.T., Suwito, A. (2012) Diversity and abundance of frugivorous drosophilids and their parasitoids in Bogor, Indonesia. *J. Nat. Hist.* 46, 1947–1957.
- Kimura, M.T., Suwito, A. (2015) Altitudinal patterns of abundances and parasitism in frugivorous drosophilids in west Java, Indonesia. *J. Nat. Hist.* 49, 1627–1639.
- Knapp, L., Mazzi, D., Finger, R. (2019) Management strategies against *Drosophila suzukii*: insights into Swiss grape growers' choices. *Pest Management Science* 75, 2820-2829.
- Knapp, L., Mazzi, D., Finger, R. (2020) The economic impact of *Drosophila suzukii*: perceived costs and revenue losses of Swiss cherry, plum and grape growers. *Pest Management Science* 77, 978-1000.
- Klick, J., Lee, J.C., Hagler, J.R., Bruck, D.J., Yang, W.Q. (2014) Evaluating *Drosophila suzukii* immunomarking for mark-capture research. *Entomol. Exp. Appl.* 152, 31-41.
- Knoll, V., Ellenbroek, T., Romeis, J., Collatz, J. (2017) Seasonal and regional presence of hymenopteran parasitoids of *Drosophila* in Switzerland and their ability to parasitize the invasive *Drosophila suzukii*. *Sci. Rep.* 7, e40697.
- Kwadha, C.A., Okwaro, L.A., Kleman, I., Rehmann, G., Revadi, S., Ndlela, S., Khamis, F.M., Nderitu, P.W., Kasina, M., George, M.K. and Kithusi, G.G., 2021. Detection of the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, in continental sub-Saharan Africa. *Journal of Pest Science*, pp. 9.
- Lanouette, G., Brodeur, J., Fournier, F., Martel, V., Vreysen, M., Caceres, C., Firlej, A. (2017) The sterile insect technique for the management of the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*: Establishing the optimum irradiation dose. *Plos One* 12, e0180821.
- Leach, H., Moses, J., Hanson, E., Fanning, P., Isaacs, R. (2018) Rapid harvest schedules and fruit removal as non-chemical approaches for managing spotted wing *Drosophila*. *J. Pest Sci.* 91, 219-226.

- Leach, H., Hagler, J.R., Machtley, S.A., Isaacs, R. (2019b) Spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*) utilization and dispersal from the wild host Asian bush honeysuckle (*Lonicera* spp.). *Agricul. Forest Entomol.* 21, 149-158.
- Lee, J.C., Bruck, D.J., Curry, H., Edwards, D., Haviland, D.R., Van Steenwyk, R.A., Yorgey, B.M. (2011) The susceptibility of small fruits and cherries to the spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *Pest Manag. Sci.* 67, 1358-1367.
- Lee, J.C., Dreves, A.J., Cave, A.M., Kawai, S., Isaacs, R., Miller, J.C., Van Timmeren, S., Bruck, D.J. (2015) Infestation of wild and ornamental noncrop fruits by *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108, 117-129.
- Lee, J.C., Wang, X.G., Daane, K.M., Hoelmer, K.A., Isaacs, R., Sial, A.A., Walton, V.M. (2019) Biological control of spotted-wing drosophila (Diptera: Drosophilidae): Current and pending tactics. *J. Integ. Pest Manage.* 10, 1-9.
- Matsuura, A., Mitsui, H., Kimura, M.T. (2018) A preliminary study on distributions and oviposition sites of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) and its parasitoids on wild cherry tree in Tokyo, central Japan. *Appl. Entomol. Zool.* 53, 47-53.
- Mazzetto, F., Marchetti, E., Amiresmaeili, N., Sacco, D., Francati, S., Jucker, C., Dindo, M.L., Lupi, D., Tavella, L. (2016) *Drosophila* parasitoids in northern Italy and their potential to attack the exotic pest *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 89, 837-850.
- Mazzi, D., Bravin, E., Meraner, M., Finger, R., Kuske, S. (2017) Economic impact of the introduction and establishment of *Drosophila suzukii* on sweet cherry production in Switzerland. *Insects* 8, 1-18.
- Miller, B., Anfora, G., Buffington, M., Daane, K.M., Dalton, D.T., Hoelmer, K.M., Stacconi, M.V.R., Grassi, A., Ioriatti, C., Loni, A., Miller, J.C., Ouantar, M., Wang, X.G., Wiman, N.G., Walton, V.M. (2015) Seasonal occurrence of resident parasitoids associated with *Drosophila suzukii* in two small fruit production regions of Italy and the USA. *Bull. Insectology* 68, 255-263.
- Mitsui, H., Van Achterberg, K., Nordlander, G., Kimura, M.T. (2007) Geographical distributions and host associations of larval parasitoids of frugivorous Drosophilidae in Japan. *J. Nat. Hist.* 41, 1731-1738.
- Mitsui, H., Kimura, M.T. (2010) Distribution, abundance and host association of two parasitoid species attacking frugivorous drosophilid larvae in central Japan. *Eur J Entomol* 107, 535–540.
- NAPIS, National Agricultural Pest Information System (2014) Survey status of spotted wing drosophila – *Drosophila suzukii* (2009 to 2013). <http://pest.ceris.purdue.edu/map.php>. date accessed: 0/1/07/2013.
- Nomano, F.Y., Kasuya, N., Matsuura, A., Suwito, A., Mitsui, H., Buffington, M.L., Kimura, M.T. (2017) Genetic differentiation of *Ganaspis brasiliensis* (Hymenoptera: Figitidae) from East and Southeast Asia. *Applied Entomology and Zoology* 52, 429-437.
- Poyet, M., Havard, S., Prévost, G., Chabrierie, O., Doury, G., Gibert, P., Eslin, P. (2013) Resistance of *Drosophila suzukii* to the larval parasitoids *Leptopilina heterotoma* and *Asobara japonica* is related to haemocyte load. *Physiol. Entomol.* 38, 45-53.
- Poyet, M., Eslin, P., Heraude, M., Le Roux, V., Prévost, G., Gibert, P., Chabrierie, O. (2014) Invasive host for invasive pest: when the Asiatic cherry fly (*Drosophila suzukii*) meets the American black cherry (*Prunus serotina*) in Europe. *Agricul. Forest Entomol.* 16, 251-259.
- Poyet, M., Le Roux, V., Gibert, P., Meirland, A., Prevost, G., Eslin, P., Chabrierie, O. (2015) The wide potential trophic niche of the Asiatic fruit fly *Drosophila suzukii*: The key of its invasion success in temperate Europe? *PloS One* 10, e0142785.

- Puppato, S., Grassi, A., Pedrazzoli, F., De Cristofaro, A., Ioriatti, C. (2020) First report of *Leptopilina japonica* in Europe. *Insects*, 11, 611.
- Reeve, M.A., Seehausen, M.L. (2019) Discrimination between Asian populations of the parasitoid wasp *Ganaspis* cf. *brasiliensis* using a simple MALDI-TOF MS-based method for use with insects. *Biology Methods and Protocols*, 4, bpz002.
- Rendon, D., Walton, V.M. (2019) Drip and overhead sprinkler irrigation in blueberry as cultural control for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in northwestern United States. *J. Econ. Entomol.* 112, 745-752.
- Rendon, D., Walton, V., Tait, G., Buser, J., Souza, I.L., Wallingford, A., Loeb, G., Lee, J. (2019) Interactions among morphotype, nutrition, and temperature impact fitness of an invasive fly. *Ecology and Evolution* 9, 2615-2628.
- Renkema, J.M., Cuthbertson, A.G.S. (2018) Impact of multiple natural enemies on immature *Drosophila suzukii* in strawberries and blueberries. *Biocontrol* 63, 719-728.
- Renkema, J.M., Telfer, Z., Garipey, T., Hallett, R.H. (2015) *Dalotia coriaria* as a predator of *Drosophila suzukii*: Functional responses, reduced fruit infestation and molecular diagnostics. *Biol. Control* 89, 1-10.
- Rodriguez-Saona, C., Vincent, C., Isaacs, R. (2019) Blueberry IPM: Past successes and future challenges, pp. 95-114. In: Douglas, A.E. (ed.), *Annual Review of Entomology* 64.
- Rossi Stacconi, M.V., Grassi, A., Dalton, D.T., Miller, B., Ouantar, M., Loni, A., Ioriatti, C., Walton, V.M., Anfora, G. (2013) First field records of *Pachycrepoideus vindemiae* as a parasitoid of *Drosophila suzukii* in European and Oregon small fruit production areas. *Entomologia* 1 (e3), 11-16.
- Rossi Stacconi, M.V., Grassi, A., Ioriatti, C., Anfora, G. (2019) Augmentative releases of *Trichopria drosophilae* for the suppression of early season *Drosophila suzukii* populations. *Biocontrol* 64, 9-19.
- Rossi Stacconi, M.V., Panel, A., Baser, N., Ioriatti, C., Pantezzi, T., Anfora, G. (2017) Comparative life history traits of indigenous Italian parasitoids of *Drosophila suzukii* and their effectiveness at different temperatures. *Biol. Control* 112, 20-27.
- Rossi Stacconi, M.V., Buffington, M., Daane, K.M., Dalton, D.T., Grassi, A., Kaçar, G., Miller, B., Miller, J.C., Baser, N., Ioriatti, C., Walton, V.M., Wiman, N.G., Wang, X., Anfora, G. (2015) Host stage preference, efficacy and fecundity of parasitoids attacking *Drosophila suzukii* in newly invaded areas. *Biol. Control* 84, 28-35.
- Santoemma, G., Trivellato, F., Caloi, V., Mori, N., Marini, L. (2019) Habitat preference of *Drosophila suzukii* across heterogeneous landscapes. *J. Pest Sci.* 92, 485-494.
- Santoemma, G., Tonina, L., Marini, L., Duso, C., Mori, N. (2020) Integrated management of *Drosophila suzukii* in sweet cherry orchards. *Entomologia Generalis* 40, 297-305.
- Savage, J. (2002) Cleaning up the world: Dipteran decomposers. In: Skevington, J.H., Dang, P.T. (eds.) *Exploring the diversity of flies (Diptera)*. *Biodiversity* 3, 12-15.
- Schilthuizen, M., Nordlander, G., Stouthamer, R., van Alphen, J.J.M. (1998) Morphological and molecular phylogenetics in the genus *Leptopilina* (Hymenoptera: Cynipoidea: Eucoilidae). *Syst Entomol* 23, 253-264.
- Seehausen, M.L., Valenti, R., Fontes, J., Meier, M., Marazzi, C., Mazzi, D., Kenis, M. (accepted) Large-arena field cage releases of a candidate classical biological control agent for spotted wing drosophila suggest low risk to non-target species. *J. Pest Sci.*
- Seehausen, M.L., Ris, N., Driss, L., Racca, A., Girod, P., Warot, S., Borowiec, N., Toševski, I., Kenis, M. (2020) Evidence for a cryptic parasitoid species reveals its suitability as a biological control agent. *Scientific Reports* 10, 1-12.
- Shawer, R., Tonina, L., Tirello, P., Duso, C., Mori, N. (2018) Laboratory and field trials to identify effective chemical control strategies for integrated management of *Drosophila suzukii* in European cherry orchards. *Crop Protection* 103, 73-80.

- Stewart, T.J., Wang, X.-G. Molinar, A., Daane, K.M. (2014) Factors limiting peach as a potential host for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *J. Econ. Entomol.* 107, 1771-1779.
- Sutherst, R.W., Maywald, G.F., Bourne, A.S. (2007) Including species interactions in risk assessments for global change. *Global Change Biology* 13, 1843-1859.
- Thistlewood, H.M.A., Gill, P., Beers, E.H., Shearer, P.W., Walsh, D.B., Rozema, B.M., Acheampong, S., Castagnoli, S., Yee, W.L., Smytheman, P., Whitener, A.B. (2018) Spatial analysis of seasonal dynamics and overwintering of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in the Okanagan-Columbia Basin, 2010-2014. *Environ. Entomol.* 47, 221-232.
- Tochen, S., Dalton, D.T., Wiman, N., Hamm, C., Shearer, P.W., Walton, V.M. (2014) Temperature-related development and population parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on cherry and blueberry. *Environ. Entomol.* 43, 501-510.
- Tonina, L., Mori, N., Sancassani, M., Dall'Ara, P., Marini, L. (2018) Spillover of *Drosophila suzukii* between noncrop and crop areas: implications for pest management. *Agricul. Forest Entomol.* 20, 575-581.
- USDA-NASS. (2013) United States Department of Agriculture, National Agricultural Statistics Service U.S. Government Printing Office, Washington D.C.
- Van Timmeren, S., Isaacs, R. (2013) Control of spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, by specific insecticides and by conventional and organic crop protection programs. *Crop Prot.* 54, 126-133.
- Van Timmeren, S, Mota-Sanchez, D., Wise, J.C., Isaacs, R. (2018) Baseline susceptibility of spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*) to four key insecticide classes. *Pest Management Science* 74, 78–87.
- Walsh, D.B., Bolda, M.P., Goodhue, R.E., Dreves, A.J., Lee, J., Bruck, D.J., Walton, V.M., O'Neal, S.D., Zalom, F.G. (2011) *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. *J. Integ. Pest Manage.* 2, G1–G7.
- Wang, X.G., Stewart, T.J., Biondi, A., Chavez, B.A., Ingels, C., Caprile, J., Grant, J.A., Walton, V.M., Daane, K.M. (2016a) Population dynamics and ecology of *Drosophila suzukii* in Central California. *J. Pest Sci.* 89, 701-712.
- Wang, X.G., Kaçar, G., Biondi, A., Daane, K.M. (2016b) Foraging efficiency and outcomes of interactions of two pupal parasitoids attacking the invasive spotted wing drosophila. *Biol. Control* 96, 64-71.
- Wang, X.G., Kaçar, G., Biondi, A., Daane, K.M. (2016c) Life-history and host preference of *Trichopria drosophilae*, a pupal parasitoid of spotted wing drosophila. *BioControl* 61, 387-397.
- Wang, X.G., Nance, A.H., Jones, J.M.L., Hoelmer, K.A., Daane, K.M. (2018) Aspects of the biology and reproductive strategy of two Asian larval parasitoids evaluated for classical biological control of *Drosophila suzukii*. *Biol. Control* 121, 58-65.
- Wang, X.-G., G. Kaçar, Daane, K. M. (2019a) Temporal dynamics of host use by *Drosophila suzukii* in California's San Joaquin Valley: Implications for area-wide pest management. *Insects* 10, 206.
- Wang, X.G., Hogg, B.N., Hougardy, E., Nance, A.H., Daane, K.M. (2019b) Potential competitive outcomes among three solitary larval endoparasitoids as candidate agents for classical biological control of *Drosophila suzukii*. *Biol. Control* 130, 18-26.
- Wang, X., Biondi, A., Daane, K.M. (2020) Functional responses of three candidate Asian larval parasitoids evaluated for classical biological control of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of economic entomology*, 113, 73-80.

- Wiman, N.G., Walton, V.M., Dalton, D.T., Anfora, G., Burrack, H.J., Chiu, J.C., Daane, K.M., Grassi, A., Miller, B., Tochen, S., Wang, X., Ioriatti, C. (2014) Integrating temperature-dependent life table data into a matrix projection model for *Drosophila suzukii* population estimation. PLoS One 9, e106909.
- Wolf, S., Zeisler, C., Sint, D., Romeis, J., Traugott, M., Collatz, J. (2018) A simple and cost-effective molecular method to track predation on *Drosophila suzukii* in the field. J. Pest Sci. 91, 927-935.
- Wolf, S., Boycheva-Woltering, S., Romeis, J., Collatz, J. (2020) *Trichopria drosophilae* parasitizes *Drosophila suzukii* in seven common non-crop fruits. Journal of Pest Science 93, 627-638.
- Wolf, S., Barmettler, E., Eisenring, M., Romeis, J., Collatz, J. (2021) Host searching and host preference of resident pupal parasitoids of *Drosophila suzukii* in the invaded regions. Pest Management Science 77, 243-252.
- Woltz, J.M., Lee, J.C. (2017) Pupation behavior and larval and pupal biocontrol of *Drosophila suzukii* in the field. Biol. Control 110, 62-69.
- Woltz, J.M., Donahue, K.M., Bruck, D.J., Lee, J.C. (2015) Efficacy of commercially available predators, nematodes and fungal entomopathogens for augmentative control of *Drosophila suzukii*. J. Appl. Entomol. 139, 759-770.