

**Domanda di autorizzazione per
il rilascio sperimentale di
G1 *Ganaspis* cf. *brasiliensis*
in grandi gabbie di campo**



Data: 02.03.2021

Richiedente:
Servizio fitosanitario
Viale Stefano Franscini 17
6501 Bellinzona
Switzerland

Indice

A. Descrizione degli obiettivi e contesto dell'esperimento	3
Introduzione	3
Obiettivi	6
Esperimenti proposti.....	6
Esperimento 1: specificità dell'ospite e dell'habitat.....	6
Esperimento 2: fenologia e sincronia con l'ospite.....	7
Esperimento 3: sopravvivenza durante lo svernamento	7
B. Domanda di autorizzazione per l'emissione sperimentale di piccoli invertebrati alloctoni (allegato 3.3 dell'Art. 21 dell'Ordinanza sull'emissione deliberata nell'ambiente)	8
1 Informazioni generali	8
1.1 Nome e indirizzo del richiedente (impresa o istituto)	8
1.2 Nome, qualifica ed esperienza dei responsabili scientifici	8
2 Designazione ed etichettatura degli organismi.....	8
2.1 Denominazione scientifica e altri nomi	8
2.2 Dati tassonomici, incluse le sottospecie, il ceppo o il biotipo	8
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	8
2.4 Marcatori fenotipici e genetici, nonché descrizione delle possibilità per l'identificazione univoca degli organismi nell'ambiente.....	9
2.5 Metodi di coltura e di produzione degli organismi.....	11
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	11
2.7 Regioni in cui l'emissione sperimentale degli organismi ha già avuto luogo intenzionalmente o involontariamente, nonché esperienze fatte al riguardo.....	11
2.8 Biologia ed ecologia.....	12
3 Realizzazione dell'emissione sperimentale.....	29
3.1 Descrizione dell'emissione sperimentale, inclusi i metodi e la quantità degli organismi da emettere	29
3.2 Scadenario dell'emissione sperimentale.....	29
3.3 Interventi nel terreno destinato alla sperimentazione, prima, durante e dopo l'emissione sperimentale.....	30
3.4 Procedure per l'inattivazione degli organismi alla fine della sperimentazione	30
4 Luogo dell'emissione sperimentale.....	31
4.1 Posizione geografica, superficie del terreno destinato alla sperimentazione e descrizione delle immediate vicinanze	31
4.2 Caratteristiche climatiche, geologiche e pedologiche del terreno destinato alla sperimentazione e dei dintorni	32
4.3 Flora e fauna, comprese le piante utili, gli animali da reddito e le specie migratrici	33
4.4 Descrizione dell'ecosistema	33

5 Possibili effetti	33
5.1 Effetti sull'uomo e sugli animali, in particolare pericoli per la loro salute (p. es. effetti allergenici o tossici, irritazione cutanea, trasmissione di malattie).....	33
5.2 Effetti sull'ambiente e sulla diversità biologica.....	33
6 Misure di sicurezza.....	35
6.1 Misure preventive.....	35
6.2 Smaltimento dei rifiuti.....	36
6.3 Piani d'emergenza	37
C. Risultati degli esperimenti precedenti	38
1. Risultati di esperimenti preliminari in sistemi chiusi per determinare la sicurezza biologica	38
2. Dati, risultati e valutazioni di rilasci sperimentali effettuati con gli stessi organismi in condizioni climatiche comparabili e con fauna e flora comparabili	39
D. Determinazione e valutazione del rischio (allegato 4 dell'art. 21 dell'ordinanza sull'emissione deliberata)	40
E. Piano di monitoraggio	43
F. Divulgazione.....	43
Bibliografia	44

A. Descrizione degli obiettivi e contesto dell'esperimento

Introduzione

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). 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.

I test in laboratorio per valutare l'idoneità di G1 *G. cf. brasiliensis* come agente di controllo biologico classico possono considerarsi conclusi. Visto il risultato a favore dell'utilizzo della specie per il controllo biologico di *D. suzukii*, presentiamo qui per la valutazione una domanda per condurre test finali in grandi gabbie di campo in Svizzera per studiare il parassitoide in condizioni quasi naturali. Gli esperimenti proposti mirano a determinare ulteriormente l'idoneità del parassitoide per il rilascio in campo.

Obiettivi

Gli obiettivi di questo progetto sono valutare (1) la specificità dell'ospite e dell'habitat di *G. cf. brasiliensis*, (2) la fenologia e la sincronia, così come (3) lo sviluppo dello svernamento e la sopravvivenza in condizioni quasi naturali in diversi climi svizzeri (Jura e Ticino).

Esperimenti proposti

Tutti gli esperimenti sotto descritti vengono presentati per essere replicati in due aree della Svizzera, una nel canton Jura e una nel canton Ticino.

Esperimento 1: specificità dell'ospite e dell'habitat

Con questo esperimento s'intende verificare se la specificità dimostrata in test di laboratorio di G1 *G. cf. brasiliensis* per le larve di *Drosophila* che si nutrono di frutti maturi e in via di maturazione, e non di frutti in decomposizione, sia vera anche in condizioni quasi naturali. Almeno tre grandi gabbie da campo con una maglia molto fine (ad esempio BioQuip, 1,8x1,8x1,8 m; 32x32 Screen Mesh) saranno installate in un luogo ombreggiato. I bordi inferiori delle pareti saranno interrati per una maggiore stabilità e per evitare la fuga degli insetti. Inoltre, il suolo interno alla gabbia sarà ricoperto di sabbia come ulteriore misura di sicurezza. I frutti in maturazione su piante in vaso (per esempio arbusti di mirtillo commerciali) saranno esposti a *D. suzukii* per 24 ore in una gabbia separata in condizioni di laboratorio. Allo stesso tempo, i frutti in decomposizione (es. mirtillo in decomposizione) saranno esposti a *D. melanogaster* per 24 ore in una gabbia separata in laboratorio. Le piante in vaso saranno poi messe nelle gabbie da campo (almeno 3 piante per gabbia) e i mirtillo in decomposizione saranno piazzati in contenitori aperti (a prova di formiche) appoggiati a terra nella gabbia. Circa 20 femmine G1 *G. cf. brasiliensis* fecondate, saranno rilasciate nella gabbia per 2-3 giorni. I frutti in decomposizione sul terreno potranno essere spruzzati con

acqua se le condizioni climatiche saranno troppo secche (per esempio in Ticino). Poi, tutti i frutti saranno raccolti e lasciati in contenitori di plastica ventilati in laboratorio per contare i moscerini e i parassitoidi emergenti per determinare (1) la specificità dell'ospite e dell'habitat del parassitoide, e (2) l'efficacia del parassitismo nelle gabbie di campo attraverso il parassitismo apparente. L'esperimento sarà ripetuto 2-3 volte durante la stagione, a seconda della disponibilità di parassitoidi e di piante con frutti in maturazione. L'esperimento verrà quindi replicato in due aree della Svizzera (Ticino e Giura), in tre gabbie per ogni sito, e 2-3 volte durante la stagione.

Esperimento 2: fenologia e sincronia con l'ospite

Lo scopo di questo esperimento è quello di determinare il numero di generazioni che il parassitoide G1 *G. cf. brasiliensis* e il suo ospite bersaglio *D. suzukii* compiono nei cantoni Jura e Ticino, per verificare la sincronia del sistema ospite-parassitoide (soprattutto all'inizio e alla fine della stagione) in condizioni quasi naturali. All'interno delle grandi gabbie di campo saranno allestite gabbie più piccole contenenti mirtilli commerciali (non su piante) infestati da larve di *D. suzukii*. Degli adulti di G1 *G. cf. brasiliensis* appena emersi saranno rilasciati in queste gabbie più piccole per parassitare *D. suzukii*. I mirtilli infestati saranno rinnovati una volta alla settimana e trasferiti in una gabbia vuota per determinare i tempi di emergenza del moscerino e del suo parassitoide. Gli adulti emersi verranno utilizzati per un allevamento continuo nello stesso modo, per determinare il numero di generazioni possibili e la sincronia del sistema ospite-parassitoide nel clima svizzero, soprattutto alla fine della stagione (autunno 2021) e all'inizio della stagione successiva (primavera 2022).

Esperimento 3: sopravvivenza durante lo svernamento

G1 *G. cf. brasiliensis* può essere un agente di controllo biologico classico efficiente solo se può stabilirsi nell'ambiente e sopravvivere alle condizioni invernali europee. Pertanto, l'obiettivo di questo esperimento è di valutare la capacità del parassitoide di sopravvivere alle diverse condizioni invernali nei cantoni Jura e Ticino. Alla fine del 2021, gli ultimi stadi di parassitoide dell'esperimento fenologico sopra descritto saranno posti in contenitori sigillati e ventilati e lasciati al suolo, in un luogo ombreggiato in condizioni naturali fino alla primavera del 2022 per misurare la sopravvivenza durante lo svernamento. Se sarà disponibile un numero sufficiente di individui svernanti, alcuni di essi saranno prelevati dalla gabbia ogni mese a partire da gennaio per valutarne la sopravvivenza. Altri potrebbero essere dissezionati durante l'inverno per confermare lo stadio di sviluppo svernante del parassitoide.

B. Domanda di autorizzazione per l'emissione sperimentale di piccoli invertebrati alloctoni (allegato 3.3 dell'Art. 21 dell'Ordinanza sull'emissione deliberata nell'ambiente)

1 Informazioni generali

1.1 Nome e indirizzo del richiedente (impresa o istituto)

Servizio fitosanitario
Viale Stefano Franscini 17
6501 Bellinzona
Switzerland

1.2 Nome, qualifica ed esperienza dei responsabili scientifici

Dr. Phil. Nat. Cristina Marazzi è l'attuale responsabile del Servizio fitosanitario del Canton Ticino. Ha conseguito il dottorato all'Università di Basilea nel 2003 e dal 2004 lavora presso il Servizio fitosanitario del Canton Ticino. Esperta di organismi nocivi e di quarantena, ha iniziato a collaborare con il Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI) nel 2015.

2 Designazione ed etichettatura 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).

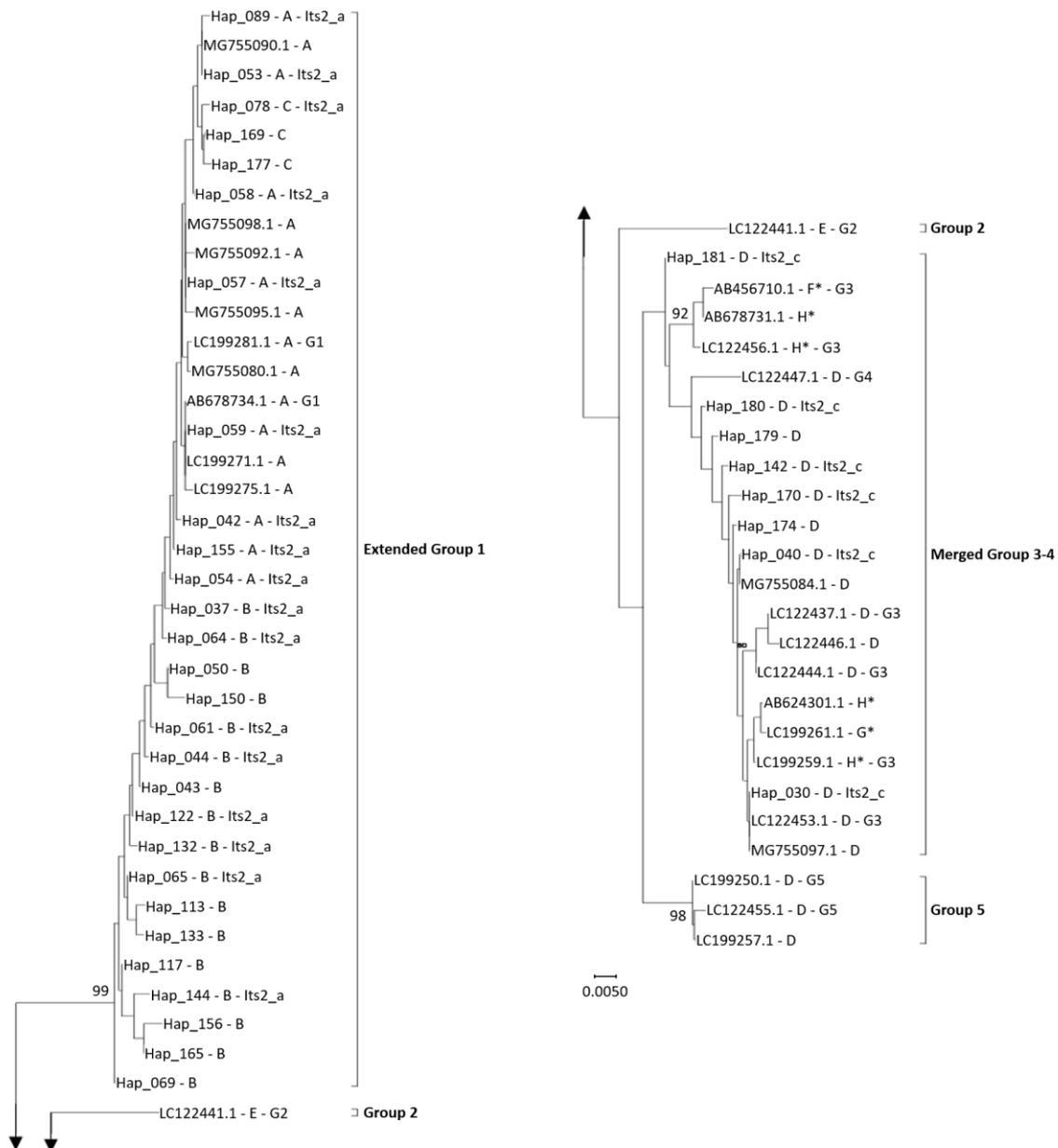


Figura 1: Albero filogenetico *Neighbor-Joining* per COI e corrispondenza con ITS2. Le etichette per gli aplotipi concatenano informazioni separate da trattini come segue (da sinistra a destra): o il *GenBank accession* o un numero di aplotipo che si riferisce agli identificativi interni dell'Istituto 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

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 (P. Abram, comunicazione personale). Finora, in Canada, è emerso solo da *D. suzukii* come ospite.

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). 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).

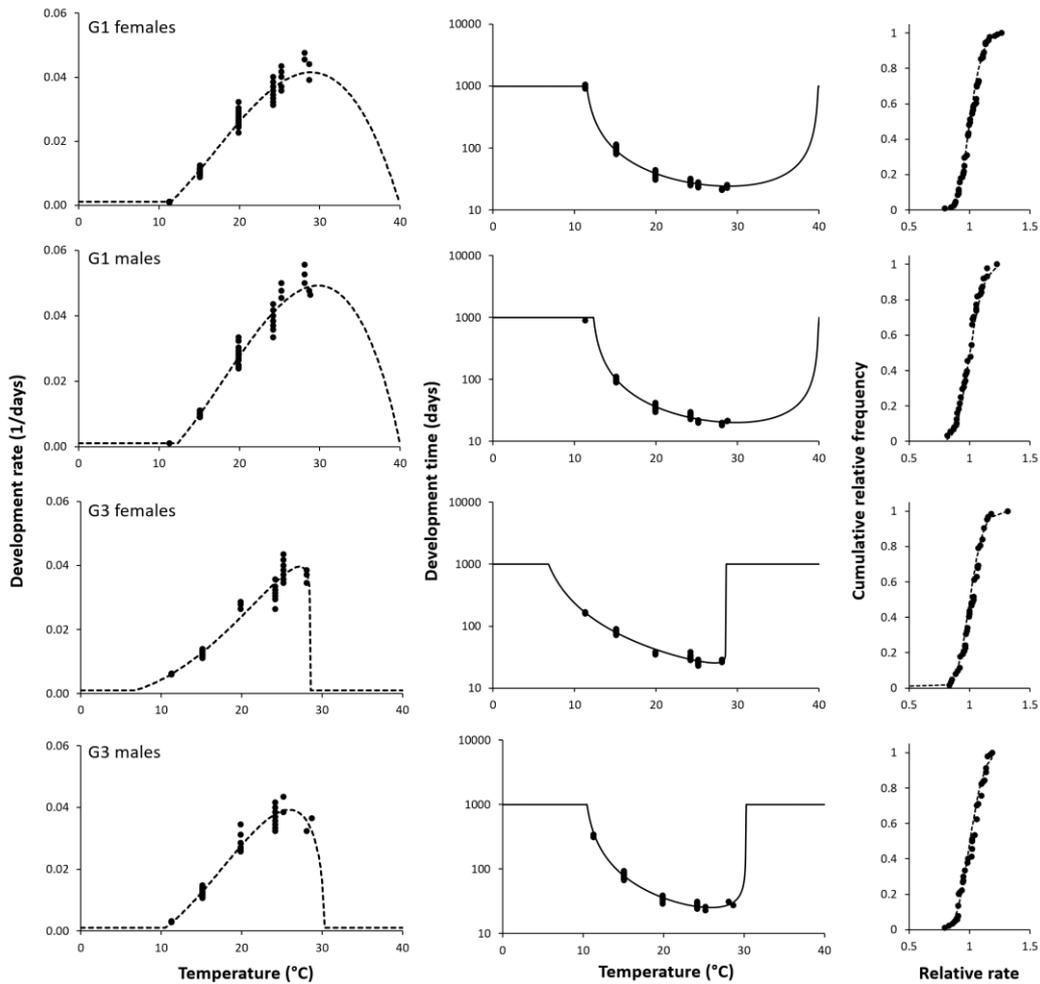


Figura 2. Sviluppo di maschi e femmine di *Ganaspis* cf. *brasiliensis* in base alla temperatura di due diversi gruppi genetici (G1 e G3). Colonna di sinistra: tasso di sviluppo (1/giorni); colonna centrale: tempo di sviluppo in giorni; colonna di destra: distribuzione della variazione individuale con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

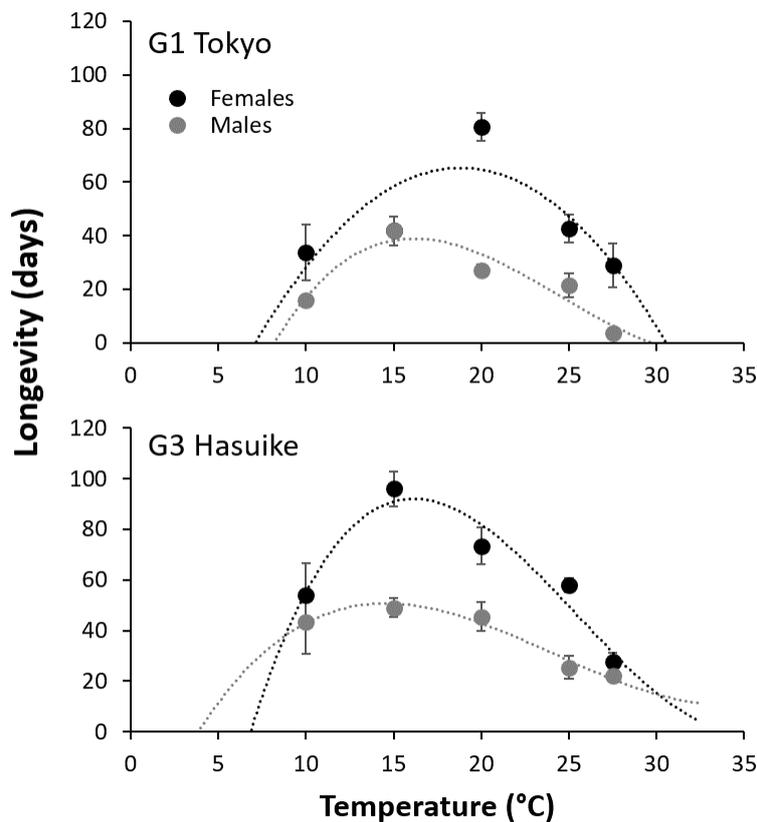


Figura 3. Longevità degli adulti (media \pm ES) di due gruppi genetici (G1 e G3) di *Ganaspis cf. brasiliensis* dal Giappone (vicino a Tokyo e Hasuike).

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/criptiche.

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 Descrizione degli organismi testati quali ospiti e metodi di analisi della specificità dell'ospite

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 mirtilli. 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 mirtilli frullati, e (2) su *D. suzukii* e *C. capitata* in mirtilli 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 parassitoidi 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).

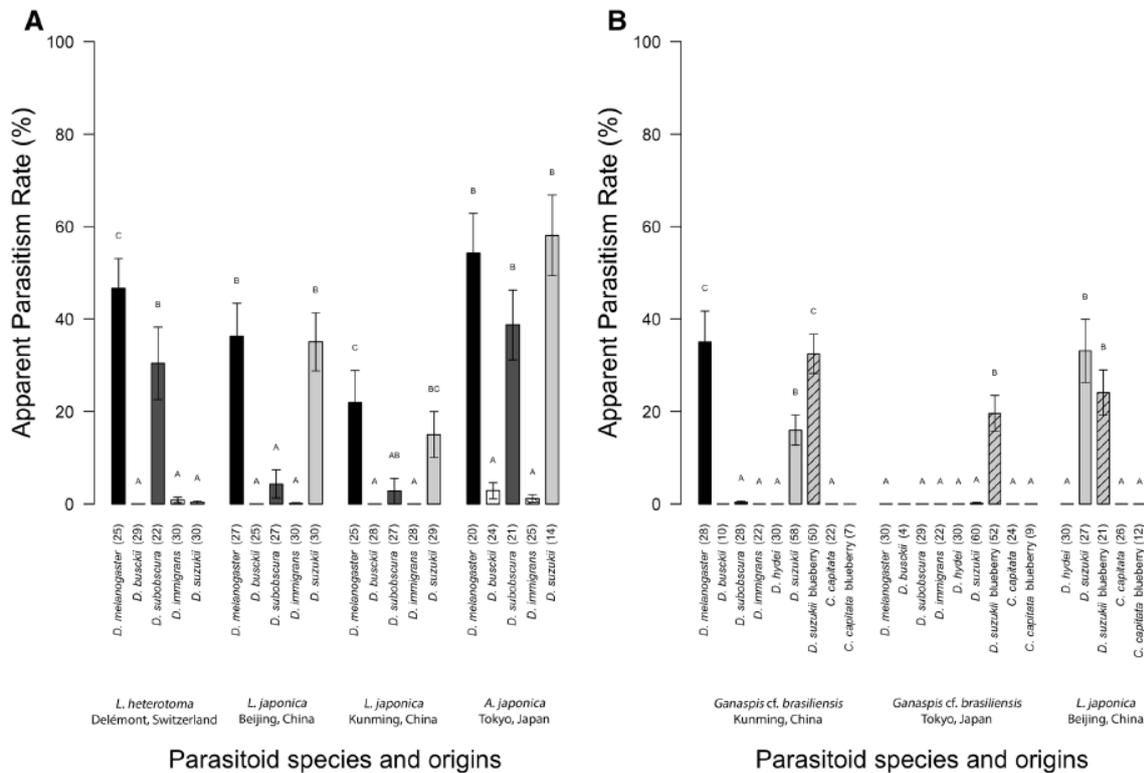


Figure 4: media del parassitismo apparente (\pm ES) causato dai parassitoidi esposti alle larve di vari ospiti in (A) una dieta artificiale e (B) mirtilli o dieta mista. Il parassitismo apparente è stato calcolato come la proporzione dell'emergenza dei parassitoidi sul numero totale di insetti emersi (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 mirtilli, (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 ingenuie (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 ; $P < 0,0001$).

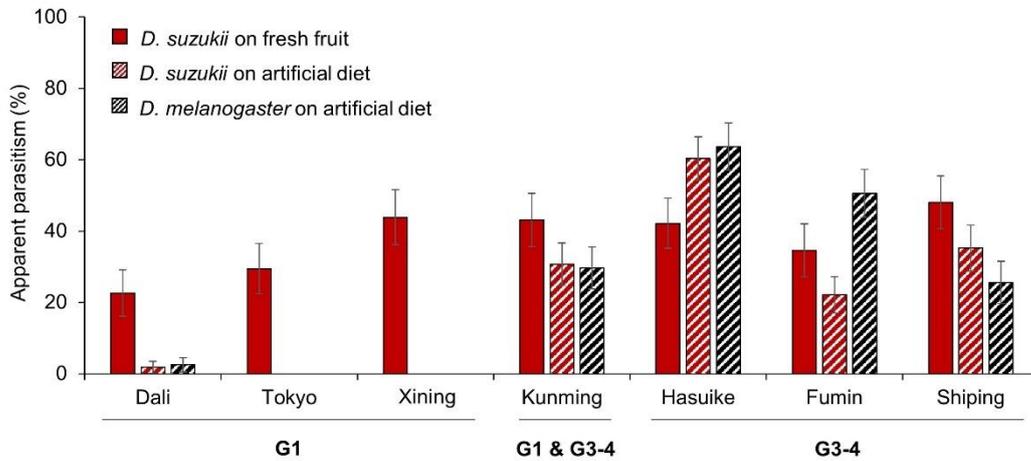


Figura 5: Variazione nel parassitismo apparente di *Ganaspis* cf. *brasiliensis* provenienti da diverse zone in Asia che parassitano due specie ospiti nutrite con due diverse alimentazioni. Tre condizioni sperimentali sono state testate in questo *no-choice* test: *Drosophila suzukii* su mirtillo (rosso 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).

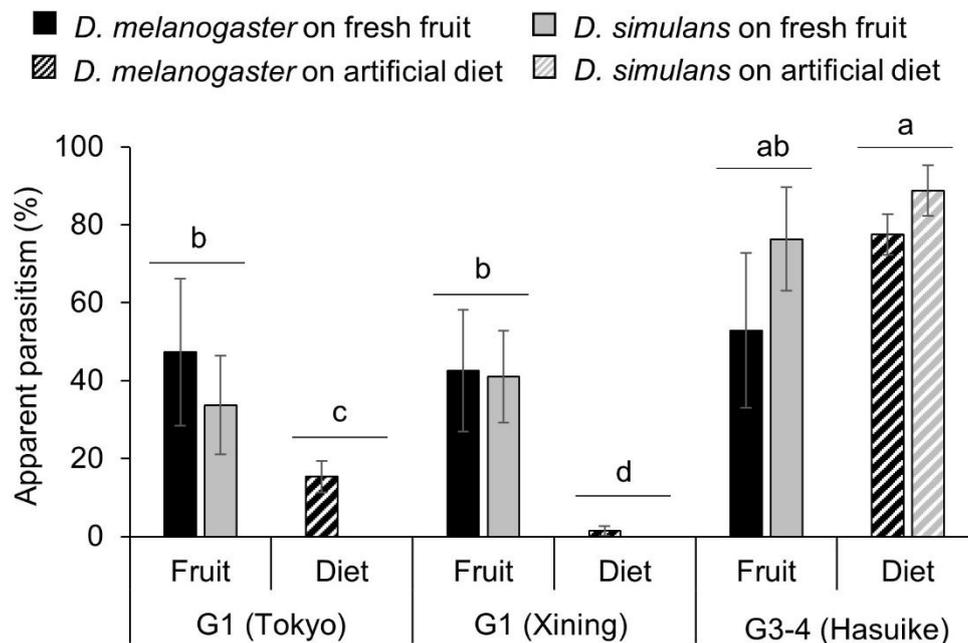


Figura 6: Variazione nel parassitismo apparente di *Ganaspis* cf. *brasiliensis* di due gruppi molecolari che parassitano due specie ospiti non bersaglio che si nutrono di due differenti mezzi nutritivi. Quattro condizioni sperimentali sono state testate in questo *no-choice* test: *Drosophila melanogaster* 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).

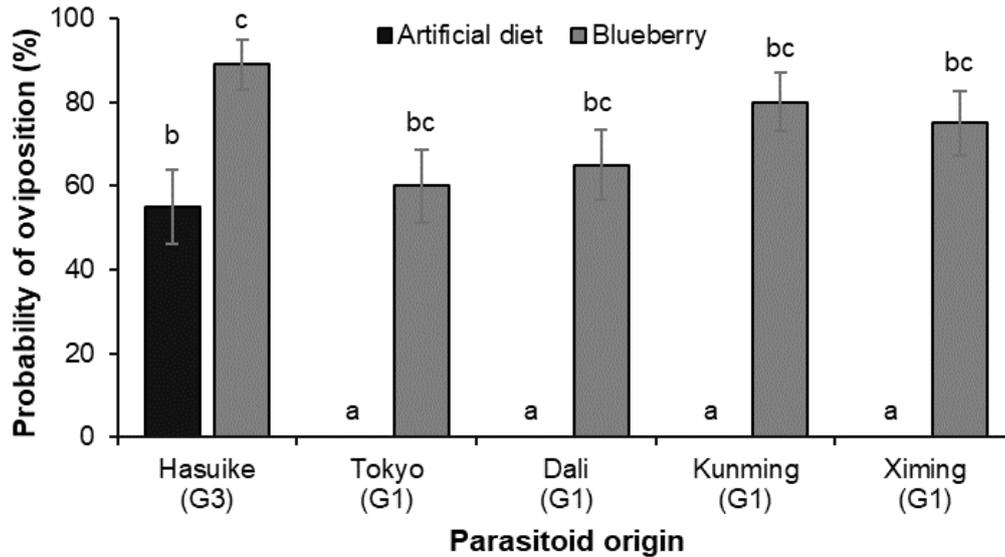


Figure 7: Probabilità media (\pm ES) di parassitismo da parte di *Ganaspis cf. brasiliensis* di diverse origini in Giappone (Hasuike, Tokyo) e Cina (Dali, Kunming, Ximing) esposte per 10 minuti a larve di *Drosophila suzukii* nutrite con dieta artificiale (barre nere) o mirtillo (barre grigie). Lettere 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).

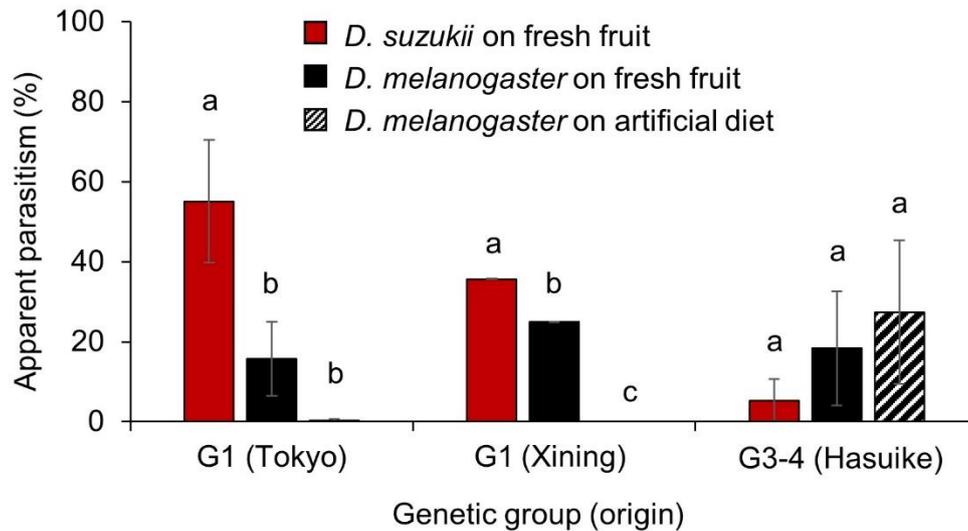


Figure 8: Variazione del parassitismo apparente di *Ganaspis cf. brasiliensis* per due gruppi molecolari che parassitano due specie ospiti in due mezzi nutritivi diversi in un *three-choice* biotest. Tre condizioni sono state testate in questo *choiche* test: *Drosophila suzukii* su mirtillo (rosso semplice), *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).

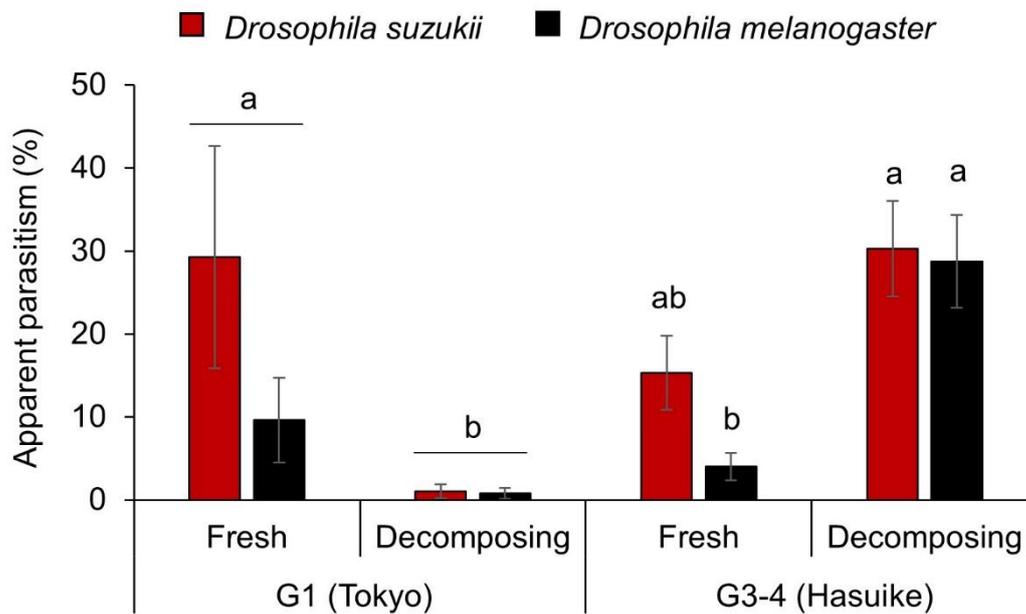


Figura 9: Variazione nel parassitismo apparente di due gruppi molecolari di *Ganaspis cf. brasiliensis* che parassitano due specie di ospiti su frutti freschi e in decomposizione durante un *four-choices* biotest. Quattro condizioni sperimentali sono state testate: tutte le combinazioni possibili tra 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).

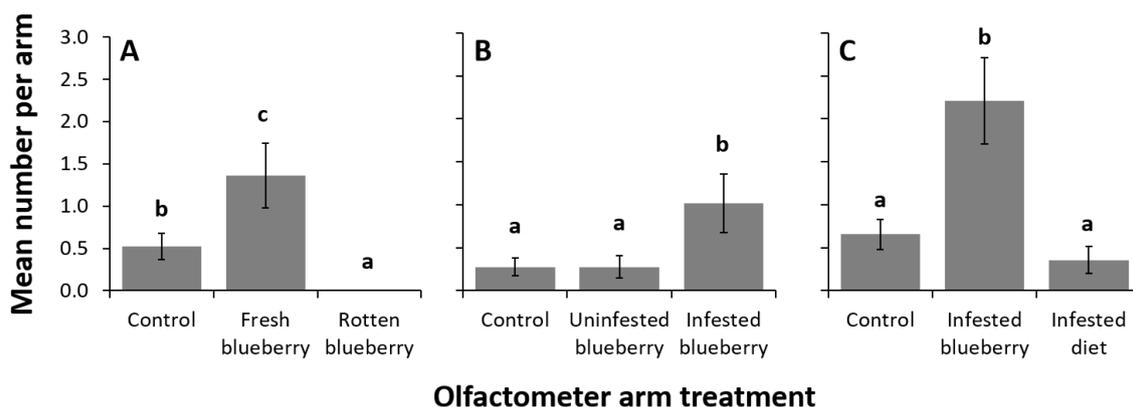


Figura 10: Numero medio (\pm ES) di G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* proveniente dai dintorni di Tokyo, Giappone, per braccio dell'olfattometro a quattro braccia con due braccia vuote quali controlli (raggruppati in questa figura) e due braccia contenenti fonti di odore, che variano per ciascuno dei tre 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.

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 pupae 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 pupae di *D. suzukii*, tuttavia, i risultati disponibili sono di una sola stagione di campo (2019) e l'indagine è in corso (P. Abram, comunicazione personale).

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 11).

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.

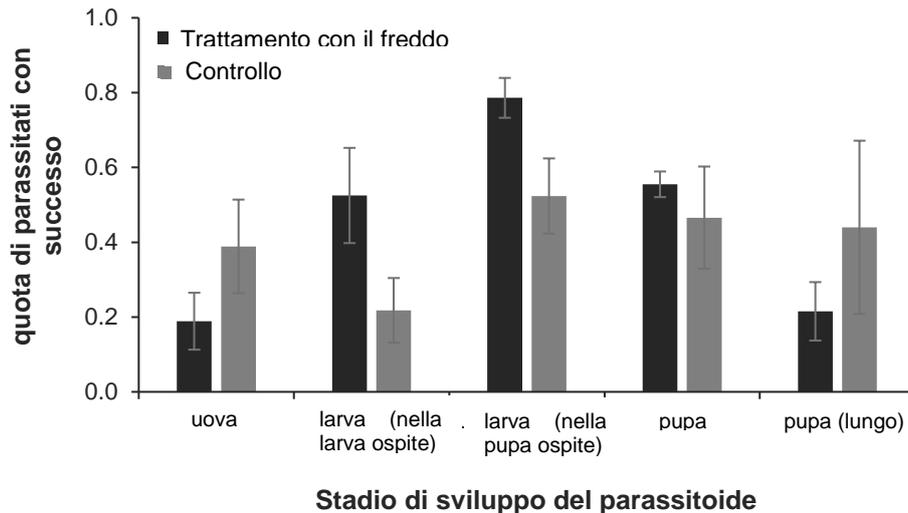


Figura 11. Quota di *Drosophila suzukii* parassitati con successo da G1 *Ganaspis* cf. *brasiliensis* quando sottoposti al trattamento con il freddo (barre nere) in diversi stadi di sviluppo per rapporto a quelli allevati a temperatura ambiente come controlli (barre grigie). I trattamenti con il freddo 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. 12). 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) e dal Canada (Abram et al. 2020). Dal momento che tutti i lignaggi hanno luogo in Asia orientale e data l'origine asiatica di SWD e poiché *G. brasiliensis* è uno dei parassitoidi dominanti raccolti direttamente da frutti selvatici ospiti infestati da SWD in varie località dell'Asia orientale, l'antenato comune dei diversi lignaggi ha origine probabilmente in Asia e la specie potrebbe essere stata introdotta in altri continenti, cioè Nord America, Neotropici e Africa (Buffington & Forshage 2016, Nomano et al. 2017). La Figura 12 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.

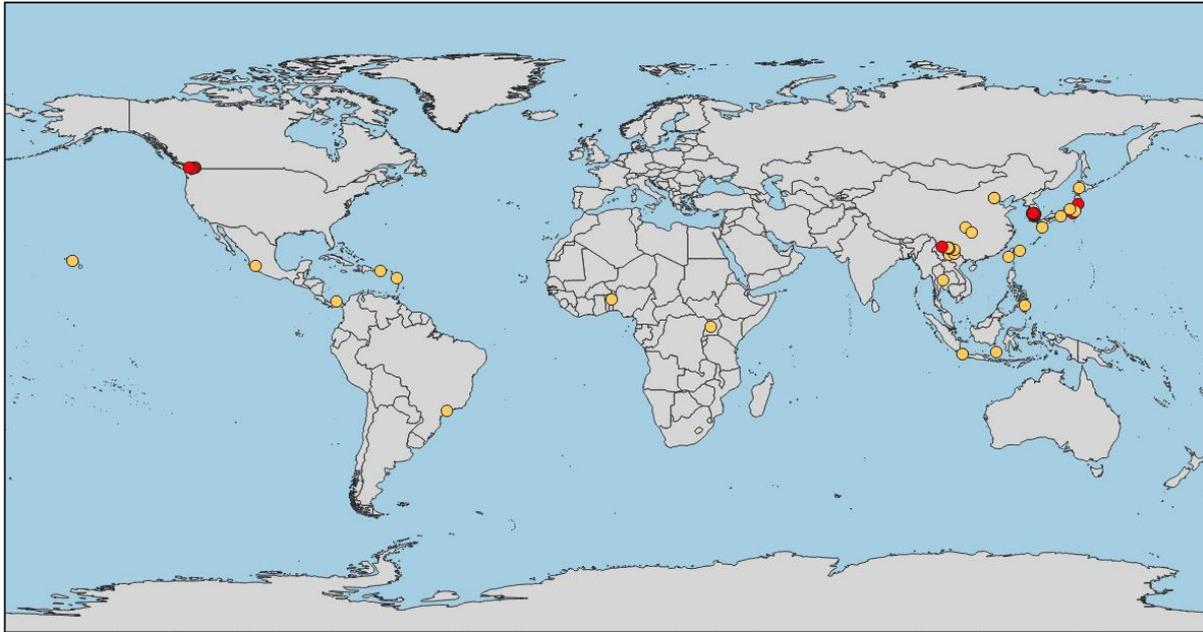


Figura 12: Distribuzione attualmente conosciuta di *Ganaspis brasiliensis*. I punti rossi indicano i luoghi dove è stato trovato il gruppo genetico G1 e quelli gialli dove sono stati trovati altri gruppi genetici o gruppi genetici non ancora identificati.

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, dove verranno effettuati i rilasci sperimentali in gabbia di G1 *G. cf. brasiliensis* (Kenis et al. 2016).

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)

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 12A). 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 12B);
- 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 12C);
- 4) combinando i modelli CLIMEX per *D. suzukii* (metà blu nella Figura 12D; MK, non pubblicato) e G1 *G. cf. brasiliensis* (metà rosse nella Figura 12D), la distribuzione potenziale del parassitoide in Europa supera quella dell'ospite, dimostrando il potenziale per un controllo efficace in tutte le aree invase.

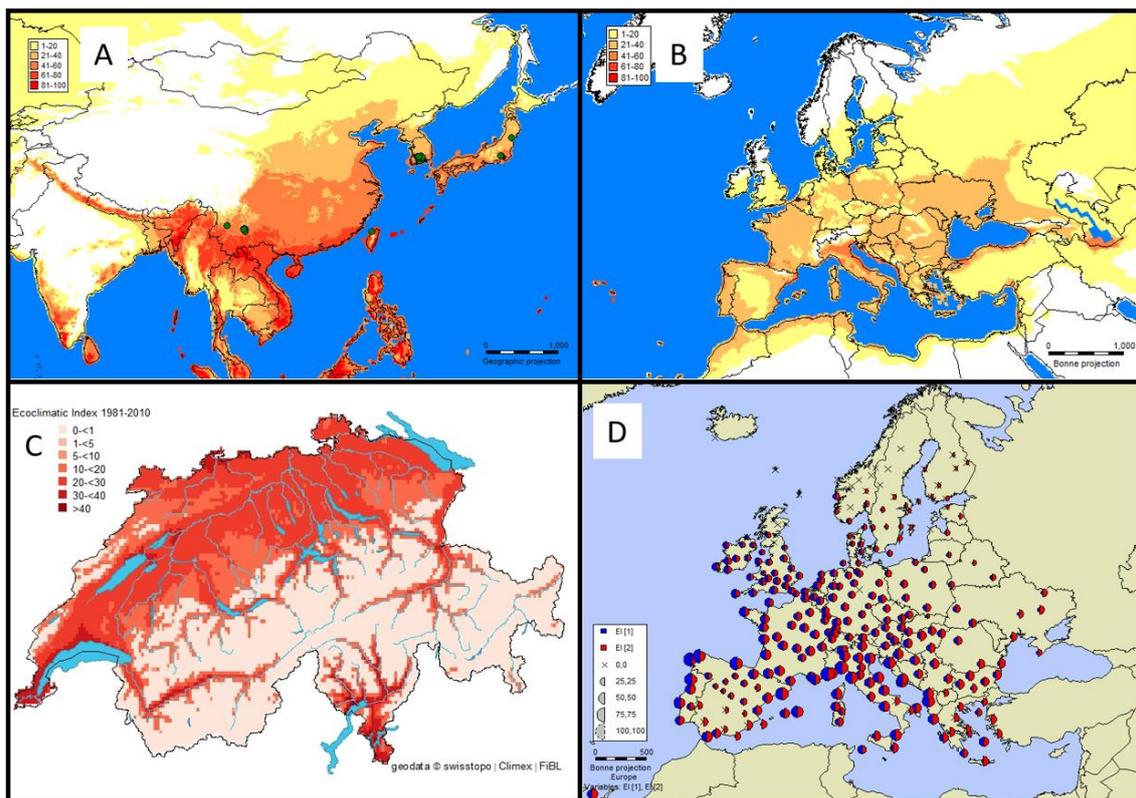


Figura 12. Mappe CLIMEX della distribuzione stimata di G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* e dell'abbondanza relativa (Indice Ecoclimatico) in (A) Asia (i punti verdi rappresentano la distribuzione nativa nota del parassitoide in letteratura), (B) Europa, (C) Svizzera, e (D) distribuzione stimata combinata di *Drosophila suzukii* (blu) e G1 *G. cf. brasiliensis* (rosso) in Europa.

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. 13). È interessante notare come questi punti di distribuzione accertati si adattino bene alla distribuzione prevista dal modello CLIMEX presentato sopra (Fig. 13).

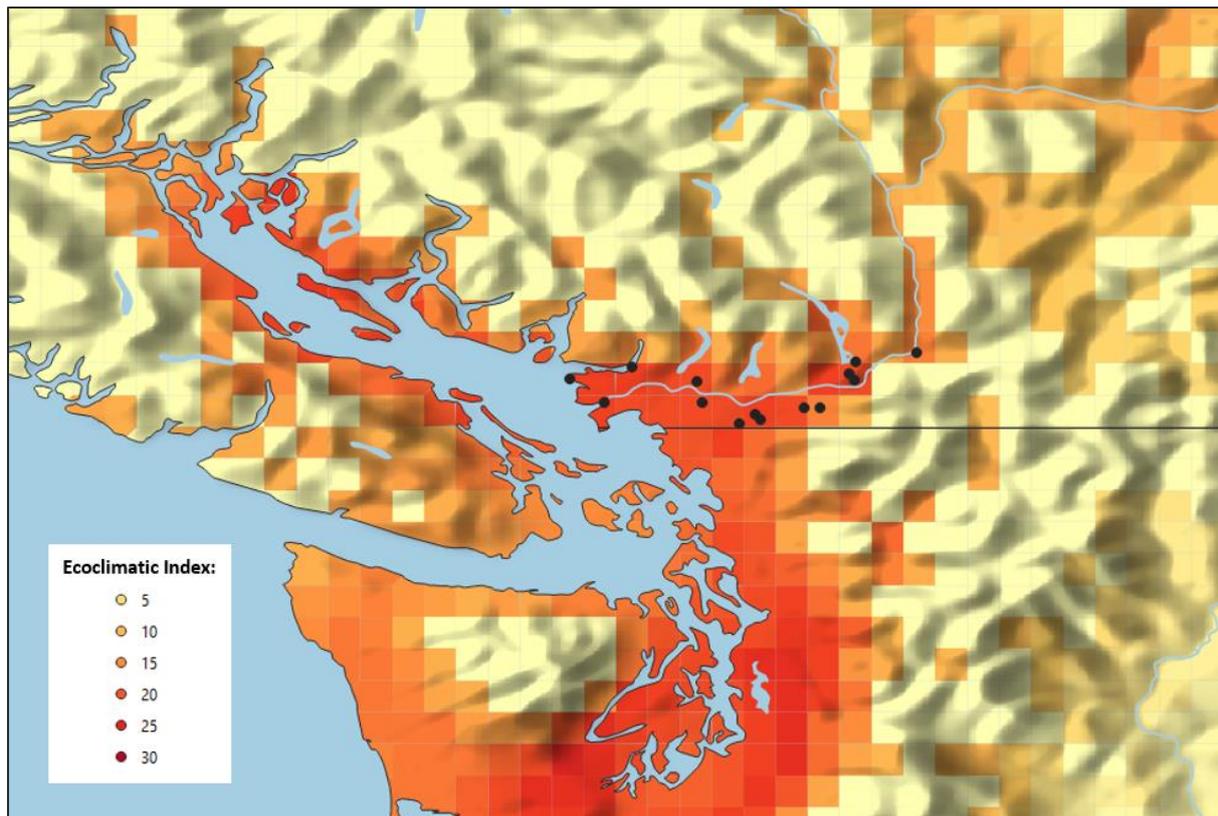


Figura 13: Distribuzione di *Ganaspis brasiliensis* nella Columbia Britannica, Canada, come pronosticata dall'Indice Ecoclimatico in CLIMEX (campi colorati) e rilevata grazie a delle indagini sul campo effettuate nel 2019 e nel 2020 (P. Abram, comunicazione personale).

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). Questa specie più generalista 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 Realizzazione dell'emissione sperimentale

3.1 Descrizione dell'emissione sperimentale, inclusi i metodi e la quantità degli organismi da emettere

Esperimento 1: Specificità dell'ospite e dell'habitat

Verranno installate almeno tre grandi gabbie, sottoforma di arene da campo, chiuse da una maglia molto fine (ad esempio BioQuip, 1,8×1,8×1,8 m; 32×32 schermi di protezione), poste in un luogo ombreggiato. I bordi inferiori degli schermi saranno scavati nel terreno per una maggiore stabilità e per evitare la fuga degli insetti. Inoltre, il pavimento della gabbia sarà riempito di sabbia come ulteriore misura di sicurezza. I frutti in maturazione nelle piante in vaso (per esempio cespugli di mirtili) saranno esposti a *D. suzukii* per 24 ore in una gabbia separata, in condizioni di laboratorio. Allo stesso tempo, dei frutti in decomposizione (es. mirtili in decomposizione) saranno esposti a *D. melanogaster* per 24 ore in una gabbia separata, in laboratorio. Le piante in vaso saranno poi messe nelle gabbie da campo (almeno 3 piante per gabbia) e i mirtili in decomposizione saranno messi in contenitori aperti (a prova di formiche) sul terreno. Circa 20 femmine G1 *G. cf. brasiliensis* fecondate saranno rilasciate nella gabbia per 2-3 giorni. I frutti in decomposizione sul terreno potranno venir spruzzati con acqua in caso di condizioni troppo secche (per esempio in Ticino). Poi, tutti i frutti saranno raccolti e allevati in contenitori di plastica ventilati in laboratorio per contare i moscerini emergenti e i parassitoidi per una determinazione di (1) specificità dell'ospite e dell'habitat del parassitoide, e (2) efficacia del parassitismo nelle gabbie di campo attraverso il parassitismo manifesto. L'esperimento sarà ripetuto 2-3 volte durante la stagione, a seconda della disponibilità di parassitoidi e di piante con frutti in maturazione. In riassunto quest'esperimento verrà replicato in due regioni della Svizzera (Ticino e Giura), in tre gabbie per ogni regione, e 2-3 volte durante la stagione.

Esperimento 2: Fenologia e sincronia con il target

All'interno delle sopracitate grandi gabbie da campo, saranno installate gabbie più piccole contenenti mirtili commerciali (non su piante) infestati da larve di *D. suzukii*. Gli adulti G1 *G. cf. brasiliensis* appena emersi saranno rilasciati in queste gabbie più piccole per parassitare *D. suzukii*. I mirtili infestati saranno cambiati una volta alla settimana e trasferiti in una gabbia vuota per determinare i tempi di sviluppo fino all'emergenza del moscerino e del suo parassitoide. Gli adulti emersi saranno utilizzati per un allevamento continuo, così pure per determinare il numero di generazioni possibili e la sincronia del sistema ospite-parassitoide in un clima svizzero, soprattutto alla fine della stagione (autunno 2021) e all'inizio della stagione successiva (primavera 2022).

Esperimento 3: sopravvivenza allo svernamento

Alla fine del 2021, gli ultimi stadi dei parassitoidi dell'esperimento fenologico descritto sopra, saranno messi in contenitori sigillati e ventilati e lasciati fino alla primavera del 2022 in condizioni naturali in un luogo ombreggiato a livello del suolo per misurare la loro sopravvivenza allo svernamento. Se sono disponibili sufficienti individui svernanti, a partire da gennaio alcuni di loro saranno estratti dai contenitori ogni mese per valutarne la sopravvivenza. Altri potranno essere sezionati durante l'inverno per confermare lo stadio di sviluppo svernante del parassitoide.

3.2 Scadenario dell'emissione sperimentale

Gli esperimenti sono pianificati per venir condotti tra giugno 2021 e giugno 2022 (vedi tabella qui sotto). Se la presente petizione verrà autorizzata e la risposta arriverà per tempo, le gabbie di campo (grandi arene) e le gabbie più piccole al loro interno saranno installate a giugno o luglio 2021 in entrambi i cantoni, Giura e Ticino. L'esperimento A sulla specificità del parassitoide sarà condotto tre volte tra metà giugno e metà ottobre, a seconda della

disponibilità di frutti maturi e delle condizioni meteorologiche. L'esperimento B sulla fenologia del parassitoide all'interno delle gabbie più piccole inizierà appena possibile dopo l'autorizzazione (ad esempio a giugno) e sfocerà nell'esperimento C sulla sopravvivenza del parassitoide allo svernamento con l'inizio delle basse temperature. Per quest'ultimo esperimento le dissezioni saranno effettuate ogni mese e la sopravvivenza sarà valutata in aprile o maggio, a seconda delle condizioni meteorologiche. I parassitoidi svernanti sopravvissuti saranno poi utilizzati per valutare la fenologia e la sincronia con *D. suzukii* nella primavera del 2022.

Tabella 1: Tempistica degli esperimenti proposti su (A) specificità dell'ospite, (B) fenologia e (C) sopravvivenza allo svernamento di G1 *Ganaspis* cf. *brasiliensis* in gabbie di campo (grandi arene) tra giugno 2021 e giugno 2022.

Exp.	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun
A		E1	E2	E3									
B	Start												End
C							Start					End	

3.3 Interventi nel terreno destinato alla sperimentazione, prima, durante e dopo l'emissione sperimentale

Prima dell'inizio degli esperimenti, saranno installate delle gabbie da campo a forma di grande arena (1,8x1,8x1,8 m) con una rete a maglia fine (32x32). I bordi inferiori degli schermi saranno scavati nel terreno per una maggiore stabilità e per evitare la fuga degli insetti. Inoltre, il pavimento della gabbia sarà riempito di sabbia come ulteriore misura di sicurezza. Intorno alle gabbie, saranno collocate piante di frutta e trappole adesive gialle per monitorare la fuga di eventuali insetti ed evitare la loro possibile dispersione. All'interno delle gabbie grandi, saranno installate due gabbie più piccole in cui i parassitoidi saranno rilasciati per l'esperimento di fenologia (B) e controllati una volta alla settimana tra giugno e novembre 2021. Per l'esperimento di specificità (A), i parassitoidi, con piante infestate da *D. suzukii* e *D. melanogaster* e frutti in decomposizione saranno messi direttamente nelle gabbie 2-3 volte tra giugno e ottobre. Dopo 2-3 giorni, tutti i frutti nelle gabbie saranno raccolti e tutti i resti delle piante saranno rimossi dalle gabbie in sacchetti di plastica che saranno congelati a -20°C per eliminare tutti i parassitoidi nascosti. In novembre o dicembre 2021, gli esemplari svernanti dell'esperimento B saranno prelevati, posti in contenitori sigillati e ventilati, e lasciati fino alla primavera 2022 in condizioni naturali in un luogo ombreggiato a livello del suolo per misurarne la sopravvivenza allo svernamento. Da gennaio a maggio 2022, gli esemplari saranno raccolti da questi contenitori e portati in laboratorio per determinarne lo stadio di svernamento e la sopravvivenza. Gli individui svernanti saranno utilizzati anche per la continuazione dell'esperimento fenologico (B) per valutare la sincronia del sistema parassitoide-ospite nella primavera del 2022. Dopo gli esperimenti, lo strato di sabbia sul fondo delle gabbie sarà raccolto in sacchetti di plastica e congelato a -20°C.

3.4 Procedure per l'inattivazione degli organismi alla fine della sperimentazione

All'inizio degli esperimenti, le piante da frutta (ad esempio di fragole e/o di mirtillo) infestate da *D. suzukii* saranno piantate intorno alle gabbie per attirare eventuali parassitoidi scappati verso queste piante (piante sentinella). Queste piante saranno monitorate e periodicamente sostituite con altre. I frutti di queste piante saranno raccolti e tutti gli individui al loro interno saranno allevati in laboratorio per valutare il possibile parassitismo da parte di *G. cf. brasiliensis* fuggiti. Anche se lo scopo principale è quello del monitoraggio, ma l'azione

attrattiva delle piante sentinella scoraggerà anche gli individui fuggiti ad allontanarsi ulteriormente in quanto daranno la precedenza alla deposizione della possibile prole nei frutti. Inoltre, le trappole adesive gialle saranno posizionate intorno alle gabbie e monitorate periodicamente. Alla fine dell'esperimento sulla specificità ospite-parassitoide, le piante e i resti dei frutti saranno tolti dalle gabbie di campo a forma di grande arena avvolgendoli in sacchetti di plastica e immediatamente portati in un congelatore a -20°C per un minimo di 72 ore per uccidere eventuali parassitoidi che possono trovarsi all'interno del materiale vegetale. Di conseguenza, tutti i possibili ospiti del parassitoide saranno eliminati dalla gabbia e i parassitoidi adulti rimasti moriranno di fame o verranno congelati alla fine dell'anno. Nella primavera del 2022, lo strato di sabbia sul fondo delle gabbie sarà raccolto in sacchetti di plastica e congelato per almeno 72 ore a -20°C .

4 Luogo dell'emissione sperimentale

4.1 Posizione geografica, superficie del terreno destinato alla sperimentazione e descrizione delle immediate vicinanze

I rilasci in gabbia sono previsti in due località della Svizzera, un sito nel Canton Ticino e l'altro nel Canton Giura. La prima località è situata nel campo sperimentale accanto all'edificio di Agroscope, A Ramél 18, 6593 Cadenazzo, Ticino, Svizzera. Il sito è di circa 2 ettari, a 1,5 km dal centro del paese di Cadenazzo e recintato. È circondato da campi, le coltivazioni commerciali di frutta sotto tunnel sono a circa 300 m di distanza (Fig. 14).



Figura 14: Il sito di Agroscope a Cadenazzo, Ticino, e gli immediati dintorni in cui potrebbero essere collocate gabbie da campo a forma di grande arena per il rilascio di *G1 Ganaspis cf. brasiliensis*.

La seconda ubicazione è situata nel sito del campo sperimentale accanto all'edificio del CABI, rue des Grillons 1, 2800 Delémont, Jura, Svizzera. Il sito è di circa 1,2 ettari e si trova sulle colline sul versante meridionale sopra Delémont, a circa 1,5 km di distanza lineare dal centro della città (Fig. 15). È un po' isolato perché la strada conduce solo ad alcuni piccoli allevamenti di bestiame e a un ristorante in cima alla collina. A nord, est e ovest, il sito è circondato da una foresta mista (dominata da faggi e abeti) e a sud è adiacente a un campo che solitamente coltiva cereali. Nessun campo con coltivazioni di frutta commerciale è noto in un raggio di almeno 2 km intorno al sito.



Figura 15: Il sito del CABI a Delémont, Giura e immediati dintorni dove si potrebbero collocare le gabbie di campo a forma di grande arena per i rilasci di G1 *Ganaspis* cf. *brasiliensis*.

4.2 Caratteristiche climatiche, geologiche e pedologiche del terreno destinato alla sperimentazione e dei dintorni

Il sito di Cadenazzo site, in Ticino, è situato a sud delle Alpi, a 200 m di altitudine sul piano di Magadino tra il Monte Ceneri a sud e il monte Sassariente a nord. Inoltre, si trova 5 km a est dell'estremità settentrionale del Lago Maggiore e a un km a sud del fiume Ticino. Grazie alla sua posizione a sud delle Alpi, il sito è generalmente riparato dai venti freddi del nord e il vicino Lago Maggiore gli fornisce un clima relativamente mite in inverno, dove le nevicate e le gelate sono in effetti abbastanza rare, mentre è caldo ma non opprimente in estate. Le temperature medie vanno da circa 1°C (minima media = -3,4°C) in gennaio a 22°C (massima media = 27,6°C) in luglio. Il clima è abbastanza piovoso, soprattutto in tarda primavera ed estate (precipitazioni medie in maggio = 227 mm) a causa dei temporali pomeridiani e in autunno (precipitazioni medie in settembre = 220 mm), dove le piogge sono dovute a masse d'aria calda provenienti dal Mar Ligure. Le precipitazioni medie annuali arrivano a circa 1800 mm a Cadenazzo.

Il sito di Delémont, nel Giura, si trova al margine settentrionale della valle di Delémont, un'ampia depressione nelle montagne del Giura. Si trova a circa 540 m sul livello del mare su un pendio meridionale, e a circa 1 km a nord del torrente La Golatte, che sfocia dopo circa un altro chilometro a est nel fiume Sorne. Le montagne del Giura sono la prima regione ad essere colpita dai fronti che raggiungono la Svizzera da ovest. Di conseguenza, le precipitazioni medie sono maggiori che nell'altopiano centrale svizzero. Il numero medio di giorni di precipitazione è di circa 10 in ogni mese e le precipitazioni medie annuali ammontano a circa 950 mm, con maggio-agosto come i mesi più piovosi (96-105 mm di precipitazione media al mese). I temporali sono frequenti in estate e nelle alte valli del Giura, in inverno si possono formare dei caratteristici fronti di aria fredda con frequenti giorni di neve tra dicembre e febbraio (nevicate medie di 8-12 cm). A Delémont, le temperature medie giornaliere variano da 0,4°C (minima media = -2,5°C) in gennaio a 18,8°C (massima media = 25,1°C) in luglio.

4.3 Flora e fauna, comprese le piante utili, gli animali da reddito e le specie migratrici

Cadenazzo ha una superficie di circa 8,4 km², di cui il 30% è utilizzato a scopi agricoli. La maggior parte del terreno agricolo è coltivato a cereali, tuttavia, circa il 5% è utilizzato per pascoli alpini e il 4% per frutteti (ad esempio, mele) o colture di vite sui pendii. Circa il 25% dell'area totale è coperto da foreste, principalmente un mix di diverse specie di latifoglie sui pendii delle montagne. All'interno e intorno a queste foreste, ci sono diverse specie non coltivate note per essere piante ospiti di *Drosophila suzukii* (Kenis et al. 2016). Il resto del terreno è occupato da edifici o strade, acque di superficie e terreni improduttivi.

Della superficie totale di Delémont (22 km²), il 37% è utilizzato per scopi agricoli, la maggior parte dei quali sono campi di erba invernale, mais o colza. Si possono trovare solo raggruppamenti sparsi di alberi da frutta o bacche, per lo più in giardini privati. Ci sono anche pascoli per mucche da latte o da carne. Circa il 42% dell'area è coperto da foreste, dominate da faggi e abeti. All'interno di queste foreste e ai loro margini, si trovano frequentemente frutti selvatici (come *Rubus spp.* o *Sambucus spp.*) che sono noti per essere attaccati da *Drosophila suzukii* (Kenis et al. 2016). Circa il 20% dell'area è abitata, il restante 1% è costituito da fiumi, laghi o terreni improduttivi.

A nostra conoscenza, nessuna specie migratoria di rilievo per i rilasci in gabbia oggetto della presente richiesta è presente nelle aree in oggetto.

4.4 Descrizione dell'ecosistema

Entrambi i siti possono essere descritti come ecosistemi agricoli circondati da foreste. Il sito di Cadenazzo è piuttosto in mezzo alla valle, l'ambiente circostante è costituito da campi con varie colture. Il sito di Delémont, invece, si trova su un prato vicino a un bordo di foresta a nord e un campo coltivato con erba invernale.

5 Possibili effetti

5.1 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*, *Gnaspis cf. brasiliensis* non causa malattie né agli esseri umani né alle piante, ma c'è la possibilità che in caso di fuga dalla gabbia nella prova in campo, il parassitoide attacchi e sopprima 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 nella sezione B 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.

5.2 Effetti sull'ambiente e sulla diversità biologica

5.2.1 Effetti sui processi ambientali o su importanti funzioni del suolo

In caso di fuga dalle gabbie di campo, G1 *G. cf. brasiliensis* può stabilirsi nell'ambiente e attaccare in modo considerevole il moscerino invasivo *Drosophila suzukii* che si sviluppa nei frutti. Il parassitoide potrebbe 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 sezione B 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.

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

Anche se gli esperimenti sopra descritti saranno condotti in gabbie da campo di grandi dimensioni, non si può escludere che i parassitoidi, a causa delle loro dimensioni relativamente ridotte, possano uscire dalle gabbie e diffondersi nell'ambiente. Come descritto al punto B 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.

5.2.3 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. In caso di una possibile fuga dalle gabbie di campo, il parassitoide può 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.

5.2.4 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 bouhardi*, 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 dal fatto che *G. cf. brasiliensis* potrebbe fuggire dalle gabbie di campo, perché il parassitoide è molto specifico per gli ospiti che si sviluppano in frutti freschi, una nicchia che in Europa è occupata solo da *D. suzukii*.

5.2.5 Possibili effetti diretti e indiretti su organismi non bersaglio (nemici, prede)

Come menzionato sopra, se *G. cf. brasiliensis* dovesse scappare, potrebbe attaccare alcune specie comuni di drosofila 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.

5.2.6 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*.

5.2.7 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.

5.2.8 Effetti sulle piante

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. Una fuga accidentale del parassitoide dalle gabbie di 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.

5.2.9 Altri possibili effetti significativi

Nessuno

6 Misure di sicurezza

6.1 Misure preventive

6.1.1 Metodi e procedure per impedire o ridurre al minimo la diffusione degli organismi al di fuori del terreno destinato alla sperimentazione

Come descritto in dettaglio sopra, i parassitoidi e i loro ospiti saranno rilasciati all'interno di gabbie da campo a forma di grande arena, riducendo così, per mezzo di una barriera fisica, la possibilità di diffusione nell'ambiente. A causa delle piccole dimensioni dei parassitoidi, non si può tuttavia garantire la prevenzione della fuga e della diffusione di *G. cf. brasiliensis*, per

questo motivo trappole cromotropiche gialle e piante sentinella (ad esempio con bacche infestate da *D. suzukii* che possano attirare gli individui sfuggiti) saranno collocate intorno alle gabbie da campo. È importante notare che queste misure hanno come scopo principale il monitoraggio e possono ridurre le possibilità ma non possono prevenire la diffusione del parassitoide fuori dal sito di rilascio sperimentale.

6.1.2 metodi e procedure di protezione del terreno dall'ingresso di persone non autorizzate

Gli esperimenti si svolgeranno in gabbie da campo, sono quindi generalmente protetti, se si escludono eventuali episodi di vandalismo. Entrambi i siti sperimentali sono situati in aree piuttosto remote, con la zona residenziale della città più vicina distante almeno 1 km. Entrambi i siti si trovano inoltre su proprietà istituzionali che, in generale, non sono accessibili al pubblico. Nel caso di Cadenazzo, il sito, proprietà di Agroscope, è recintato e accessibile solo attraverso cancelli che sono generalmente chiusi quando il personale dell'istituto è assente. Il sito di Delémont non è recintato ma è accessibile solo passando attraverso un campo.

6.1.3 Metodi e procedure per impedire l'intrusione di altri organismi

Dato che gli esperimenti si svolgeranno in gabbie da campo di grandi dimensioni, viene implicitamente impedito l'ingresso anche di altri organismi rispetto ai piccoli mammiferi o artropodi che passano attraverso il terreno. La recinzione del sito di Cadenazzo costituirà un'ulteriore barriera di protezione.

6.2 Smaltimento dei rifiuti

6.2.1 Tipo e quantità di rifiuti prodotti nell'utilizzazione diretta nell'ambiente

I materiali di scarto prodotti durante gli esperimenti sono costituiti da materiale vegetale, terriccio e insetti morti ma possono anche includere contenitori per l'allevamento e materiale per la pulizia (ad esempio salviette di carta). La quantità di materiali di scarto prodotti varia a seconda dell'esperimento che viene condotto. Per l'esperimento 1 "Ospite e specificità dell'habitat", saranno utilizzate tre piante per gabbia per 2/3 volte durante la stagione; quindi, in ciascuno dei due siti, dovrà venir smaltito, contemporaneamente per ogni ripetizione dell'esperimento, un massimo di nove piante con il loro terriccio. Le quantità di rifiuti dell'esperimento 2 "Fenologia e sincronia con il bersaglio" e 3 "Sopravvivenza allo svernamento" sono costituiti da frutti (in particolare mirtili), contenenti potenzialmente insetti morti ma in numero ridotto (circa 10-20 unità) e contenitori di plastica per l'allevamento (prodotti con cadenza settimanale).

6.2.2 Possibili pericoli

Il materiale vegetale, il terriccio e i contenitori di allevamento contengono potenzialmente individui vivi di *G. cf. brasiliensis*: nel caso in cui non siano smaltiti adeguatamente al momento della rimozione dalle gabbie da campo, il pericolo è che il parassitoide venga rilasciato nell'ambiente dove può stabilirsi e diffondersi ulteriormente; tuttavia, essendo un parassitoide obbligato di *Drosophila spp.*, *G. cf. brasiliensis* non costituisce un pericolo né per gli esseri umani, né per altri animali o piante.

6.2.3 Descrizione del metodo di smaltimento previsto

Tutto il materiale di scarto derivante dagli esperimenti nelle gabbie da campo sarà smaltito in sacchetti di plastica all'interno delle gabbie da campo e conservato direttamente per un minimo di tre giorni a -20°C in congelatori all'interno dell'edificio dell'istituto di ricerca

(Agroscope a Cadenazzo o CABI a Delémont). Dopo il congelamento, i prodotti di scarto saranno smaltiti nei rifiuti solidi urbani destinati all'incenerimento.

6.3 Piani d'emergenza

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

In caso di fuga accidentale dalle gabbie da campo, il successivo insediamento e diffusione nell'ambiente può essere considerato irreversibile e non sono disponibili metodi o procedure per controllare il parassitoide.

6.3.2 Metodi la decontaminazione delle aree colpite

Non sono disponibili metodi per decontaminare le aree in cui *G. cf. brasiliensis* si dovesse stabilire in caso di fuga accidentale dalle gabbie da campo.

6.3.3 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.

6.3.4 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 drososofila, 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 in caso di fuga dalla gabbia del campo, il parassitoide attacchi e uccida specie di *Drosophila* indigene, come *D. melanogaster*. In base agli esperimenti di laboratorio, il rischio di tali attacchi è classificato come basso (i dettagli sono descritti sopra nella sezione B 2.8.4) e gli esperimenti con le gabbie da campo sono progettati per valutare la specificità del parassitoide anche in condizioni più naturali. Tuttavia, in caso di fuga dalle gabbie di campo, non è possibile controllare il parassitoide o proteggere qualsiasi specie non bersaglio dai suoi attacchi.

C. Risultati degli esperimenti precedenti

1. Risultati di esperimenti preliminari in sistemi chiusi per determinare la sicurezza biologica

I risultati degli esperimenti di laboratorio per determinare la sicurezza biologica del rilascio di *G. cf. brasiliensis* nell'ambiente (in particolare la sua specificità per le specie bersaglio) sono descritti in dettaglio nei paragrafi precedenti (vedi sezione B 2.8.4) e saranno quindi solo riassunti qui di seguito.

A causa dell'elevata abbondanza e dell'importanza di *G. brasiliensis* come fattore di mortalità di *D. suzukii* in Asia (Daane et al. 2016; Girod et al. 2018a; Giorgini et al. 2019), così come in condizioni di laboratorio (Girod et al. 2018b; 2018c; Wang et al. 2018; 2019b; 2020), questo parassitoide è stato ripetutamente proposto come agente di controllo biologico contro *D. suzukii*, tuttavia, le incertezze riguardanti il suo livello tassonomico e il grado di specificità per *D. suzukii* hanno a lungo messo in dubbio la sua idoneità nel controllo biologico classico.

Gli studi molecolari hanno rivelato una differenziazione genetica dei ceppi asiatici di *G. brasiliensis*, dividendo la specie in quattro o cinque gruppi genetici (chiamati G1-G5), essendo questa strutturazione molecolare confortata da diverse specificità dell'ospite (Nomano et al. 2017), così come da altre differenze nella biologia e nel comportamento delle popolazioni di origini diverse in Asia (Girod et al. 2018b; 2018c; Hougardy et al. 2019).

Utilizzando una combinazione di analisi molecolare ed esperimenti di incrocio, Seehausen et al. (2020) hanno raccolto prove che *G. cf. brasiliensis* è un complesso di almeno due specie criptiche (d'ora in poi chiamate G1 e G3-4; sensu Seehausen et al. 2020). Ulteriori esperimenti di «choice/no-choice» con diverse specie di *Drosophila* e i loro substrati di alimentazione hanno mostrato che le femmine di questi due gruppi genetici evidenziano differenze nelle specie ospiti e nella specificità dell'habitat: gli individui del gruppo G3-4 parassitano prontamente alcune specie di drosophila, indipendentemente dalla loro fonte di cibo, mentre gli individui del gruppo G1 sono quasi esclusivamente specifici delle larve che si nutrono nei frutti in maturazione.

Drosophila suzukii è nota per ovideporre e svilupparsi sia nei frutti freschi che in quelli in decomposizione, ma ha la sua nicchia piuttosto distintiva nei frutti freschi (Keeseey et al. 2015). A differenza delle specie simpatriche di *Drosophila* nelle aree occupate (compresa l'Europa), solo le femmine di *D. suzukii* sono in grado di deporre le uova all'interno di frutti in via di maturazione non in disfacimento a causa del loro ovodepositore dentellato sclerotizzato (Karageorgi et al. 2017). Si pensa che le differenze di habitat naturale tra gli stadi giovanili di *D. suzukii* che si sviluppano nei frutti freschi maturi e altre specie di *Drosophila* frugivore in frutti in decomposizione (Karageorgi et al. 2017) si traducano la specificità dell'habitat di G1 *G. cf. brasiliensis* in una specificità dell'ospite. Se è completamente specifico per i frutti maturi in condizioni naturali, le piccole vespe G1 parassiteranno *D. suzukii* solo nella sua zona di diffusione. Durante diverse indagini in Asia, *G. cf. brasiliensis* sono sempre state raccolte solo da frutti freschi maturi e non sono mai state ottenute da esche alimentari a base di frutta, come porzioni affettate di banana (Kasuya et al. 2013; Daane et al. 2016; Girod et al. 2018a; Giorgini et al. 2019), indicando un alto grado di specificità dell'habitat per i frutti freschi anche in condizioni di campo.

Quindi, la scoperta che *G. cf. brasiliensis* è un complesso di specie composto da almeno due specie congeneriche e che una di esse può essere chiaramente associata ad una maggiore specificità di habitat per i frutti freschi (Seehausen et al. 2020), dimostra la sicurezza biologica e quindi l'idoneità di G1 *G. cf. brasiliensis* al controllo di *D. suzukii*.

2. Dati, risultati e valutazioni di rilasci sperimentali effettuati con gli stessi organismi in condizioni climatiche comparabili e con fauna e flora comparabili

Oltre alla sopra descritta introduzione accidentale in Canada di G1 *G. cf. brasiliensis* (vedi sezione B 2.8.9), non sono ancora stati effettuati rilasci sperimentali con questa specie.

Tuttavia, la decisione di una richiesta per il rilascio di questo parassitoide in California, USA, è in sospeso.

D. Determinazione e valutazione del rischio (allegato 4 dell'art. 21 dell'ordinanza sull'emissione deliberata)

Conformemente con l'allegato 4 dell'articolo 21 dell'ordinanza sull'emissione deliberata nell'ambiente, qui di seguito identifichiamo i pericoli, determiniamo i rischi e giustifichiamo l'assunzione di questi rischi associati agli abbondanti rilasci nelle gabbie in campo a forma di arena di G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* descritte prima nella sezione A.

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. 2019; 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 campo aperto, si prevede di utilizzare questo parassitoide nei rilasci sperimentali in gabbia che sono l'oggetto di questa domanda, per determinare se la specificità dell'ospite che è stata valutata in condizioni di laboratorio vale anche in condizioni quasi naturali in Svizzera e in Europa.

Per gli esperimenti previsti, la G1 *G. cf. brasiliensis* e i suoi (potenziali) ospiti *D. suzukii* (target) e *D. melanogaster* (non-target) saranno rilasciati in gabbie da campo a maglie fini a forma di grande arena, riducendo così il rischio di diffusione nell'ambiente per mezzo di una barriera fisica. Tuttavia, a causa delle piccole dimensioni dei parassitoidi e della capacità degli adulti di volare, la prevenzione della fuga accidentale e della conseguente diffusione di *G. cf. brasiliensis* non può essere garantita e il rischio di fuga dalle gabbie non è trascurabile. Anche il posizionamento di trappole e piante trappola intorno alle gabbie da campo è utile sia per il monitoraggio di una possibile fuga più che per la prevenzione della diffusione. Come descritto al punto B 2.8.8, il clima generale dei siti sperimentali e dei loro dintorni è adatto all'insediamento e alla moltiplicazione del parassitoide e quindi una sua diffusione in Svizzera è probabile. Tale possibile insediamento e diffusione nell'ambiente può essere considerato irreversibile e non sono disponibili o noti metodi o procedure per controllare il parassitoide una volta fuggito.

In caso di fuga accidentale dalle gabbie di campo, nessun uomo può essere attaccato da *G. cf. brasiliensis*. Come 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. 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, in caso di fuga dalle gabbie di campo, 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. 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 nella sezione B 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 testato negli esperimenti di laboratorio, 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 vindemmiae*, *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). Tuttavia, il risultato 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* indigene siano molto poco o per niente influenzati dal fatto che *G. cf. brasiliensis* possa sfuggire dalle gabbie di campo, a causa 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. In caso di fuga accidentale del parassitoide dalle gabbie di campo, tuttavia, 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.

Come dettagliato nell'introduzione, questo rilascio è giustificato a causa di (1) l'invasione diffusa di *D. suzukii* in Europa e il danno devastante causato da questo parassita alle coltivazioni di piccoli frutti; (2) la necessità di sviluppare strategie di controllo sostenibili e regionali, come il controllo biologico, che potrebbero sopprimere le popolazioni di *D. suzukii* in habitat coltivati e non; e (3) l'attuale mancanza di nemici naturali efficaci di *D. suzukii* in tutte le sue regioni invase in Europa e nelle Americhe. Crediamo che nel complesso il basso rischio (ovvero l'attacco occasionale di alcune specie indigene di *Drosophila* in caso di fuga) di rilasciare G1 *G. cf. brasiliensis* in gabbie da campo di grandi dimensioni per un'ultima verifica della sua specificità rispetto a *D. suzukii* prima del rilascio in campo aperto, sia giustificato se paragonato alla minaccia esistenziale che *D. suzukii* rappresenta per l'industria della frutta in Europa e nel mondo.

E. Piano di monitoraggio

Gli sforzi per monitorare la possibile fuga di G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* dalle gabbie di campo a forma di grande arena saranno fatti durante gli esperimenti e nella stagione di sviluppo nell'anno successivo agli esperimenti. Descriveremo qui i metodi specifici di questo piano di monitoraggio.

1) Monitoraggio durante gli esperimenti

All'inizio degli esperimenti, le coltivazioni di frutta (ad esempio fragole e/o mirtilli) infestate da *D. suzukii* saranno piantate intorno alle gabbie per attirare i parassitoidi eventualmente fuggiti verso queste piante (piante sentinella). Queste piante saranno monitorate e periodicamente sostituite con altre. I frutti di queste piante saranno raccolti e tutti gli individui al loro interno saranno allevati in laboratorio per valutare il possibile parassitismo da parte di *G. cf. brasiliensis* accidentalmente fuggita. Anche se principalmente a scopo di monitoraggio, le piante sentinella rappresenteranno per gli individui fuggiti un deterrente a disperdersi ulteriormente in quanto saranno più attratte a deporre la possibile prole nei frutti a disposizione. Inoltre, i frutti che crescono all'interno di 500 m dai siti sperimentali saranno raccolti e allevati in laboratorio per monitorare l'eventuale fuga del parassitoide. Infine verranno piazzate delle trappole adesive gialle intorno alle gabbie e monitorate periodicamente per controllare la presenza di *G. cf. brasiliensis*.

2) Monitoraggio dopo gli esperimenti

Durante il periodo vegetativo (maggio-settembre) dopo il rilascio nelle gabbie, i frutti che crescono entro 500 m dai siti sperimentali saranno nuovamente raccolti e allevati in laboratorio per monitorare l'eventuale fuga del parassitoide.

Diverse indagini in Asia dove *G. cf. brasiliensis* è presente naturalmente hanno dimostrato che la raccolta di frutti in maturazione dalle piante è un metodo valido ed efficace per rilevare la presenza del parassitoide nell'ambiente naturale (Daane et al. 2016; Girod et al. 2018a; Giorgini et al. 2019).

F. Divulgazione

Non prevediamo particolari problemi nell'informare il pubblico del fatto che i rilasci sperimentali di G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* saranno condotti in gabbie da campo in Svizzera come ultimo passo prima del rilascio in campo aperto per valutare la specificità del parassitoide con *Drosophila suzukii* in condizioni quasi naturali. Tuttavia, consigliamo di non rivelare i dettagli dei siti (per esempio indirizzi o coordinate) al pubblico per evitare violazioni e vandalismi.

Bibliografia

- 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., 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.
- 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.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 Eucolilinae (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., Cattell, 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.
- 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.
- Hougaard, 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., Brücker, 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., Amiresmaeli, 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: Eucolidae). *Syst Entomol* 23, 253–264.
- 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.