

**Demande d'autorisation pour une dissémination
expérimentale du parasitoïde
G1 *Ganaspis cf. brasiliensis***



Date : 10.02.2023

Demandeur :
Agroscope
Schwarzenburgstrasse 161
3097 Liebefeld

Table des matières

Contexte de la demande	1
Dossier technique	5
1 Informations générales	5
1.1 Nom et adresse du requérant (entreprise ou institut).....	5
1.2 Nom, qualifications et expérience des chercheurs responsables.....	5
2 Désignation et caractérisation des organismes.....	5
2.1 Désignation scientifique et autres noms	5
2.2 Données taxinomiques, y compris sous-espèce, souche ou biotype	5
2.3 Confirmation des données taxonomiques	6
2.4 Caractéristiques phénotypiques et génétiques	6
2.5 Méthodes de culture et de production des organismes	8
2.6 Source exacte et pureté des souches et biotypes	8
2.7 Régions dans lesquelles les organismes ont déjà été disséminés.....	8
2.8 Biologie et écologie :	9
2.8.1 Propagation naturelle des organismes	9
3 Réalisation de la dissémination expérimentale	27
3.1 Description de la dissémination expérimentale, y compris des méthodes, et indication des quantités d'organismes qui seront disséminés	27
3.2 Calendrier	29
3.3 Interventions sur le site de dissémination avant, pendant et après la dissémination expérimentale	29
3.4 Techniques prévues pour l'inactivation des organismes à la fin de la dissémination	30
4 Site de la dissémination expérimentale.....	30
4.1 Situation géographique, dimensions du site de dissémination et description de l'environnement proche.....	30
4.2 Propriétés climatiques, géologiques et pédologiques du site de dissémination et de l'environnement proche.....	32
4.3 Flore et faune, y compris les plantes et les animaux utiles ainsi que les espèces migratrices	33
4.4 Description de l'écosystème.....	34
5 Effets potentiels	34
5.1 Effets sur l'être humain et les animaux.....	34
5.2 Effets sur l'environnement et la diversité biologique :	35
6 Mesures de sécurité	37
6.1 Mesures préventives :	37
6.2 Élimination des déchets :	37
6.3 Plans d'urgence :	37
Résultats d'essais antérieurs	39
Résultats d'essais préliminaires en milieu confiné.....	39

Données, résultats et évaluations de disséminations expérimentales	40
Étude et évaluation du risque.....	41
Plan de surveillance	44
Information pour le public.....	45
Conformité à l'ordonnance de Nagoya du 11 décembre 2015.....	45
Littérature citée	46

Contexte de la demande

La drosophile à ailes tachetées, *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera : Drosophilidae), est originaire d'Asie de l'Est (Kanzawa 1939, Hauser 2011). Elle a été détectée pour la première fois en Californie, en Espagne et en Italie en 2008 et s'est depuis établie dans la plupart des régions fruitières d'Amérique du Nord et d'Europe ainsi que dans certains pays d'Amérique du Sud (Walsh et al. 2011, Emiljanowicz et al. 2014, NAPIS 2014, Asplen et al. 2015). Plus récemment, elle a également été trouvée en Afrique du Nord (Maroc ; Boughdad et al., 2020), et en Afrique subsaharienne (Kenya ; Kwadha et al. 2021). Contrairement à la majorité des espèces de drosophiles qui se nourrissent de fruits en décomposition, *D. suzukii* pond ses œufs à l'intérieur des fruits en maturation, en perçant la peau du fruit avec son ovipositeur en forme de scie (Atallah et al., 2014), et en rendant ainsi les fruits touchés invendables. L'alimentation des larves de *D. suzukii* entraîne la dégradation des fruits, et les piqûres de ponte peuvent également servir de porte d'entrée pour des infections bactériennes et fongiques secondaires (Hamby et al. 2012, Stewart et al. 2014). *Drosophila suzukii* est très polyphage, pouvant se développer dans de nombreuses cultures de petits fruits économiquement importants comme les mûres, les myrtilles, les cerises, les framboises et les fraises, ainsi que dans plus de 100 plantes hôtes sauvages signalées (Lee et al. 2011, Lee et al. 2015, Poyet et al. 2015, Kenis et al. 2016, Leach et al. 2019b, Santoiemma et al. 2019, Bühlmann et al. 2021). Aux États-Unis, la valeur des cinq cultures fruitières touchées par *D. suzukii* s'élevait à 4,37 milliards de dollars par an en 2012 (USDA-NASS 2013).

Le développement rapide de la mouche (une génération en 13-14 j à 22°C) et son potentiel de reproduction élevé (> 600 œufs par femelle) peuvent entraîner une augmentation explosive de la population et des pertes économiques importantes pour les cultures commerciales (Goodhue et al. 2011, Tochen et al. 2014, Wiman et al. 2014, Hamby et al. 2016, Farnsworth et al. 2017). Par exemple, les producteurs de framboises du Minnesota ont subi une perte de récolte médiane de 23 % en 2017 (DiGiacomo et al. 2019) et les producteurs de framboises de Californie doivent appliquer des insecticides de manière répétée pour produire une culture viable (Farnsworth et al. 2017). La perte potentielle de récolte due à la seule *D. suzukii* aux États-Unis, sur la base des dommages moyens de 2014, a été estimée à plus de 1,27 milliard de dollars (Burrack 2015). En Europe, les rapports sur les pertes économiques dues à *D. suzukii* sont moins fréquents, mais il en existe. Par exemple, l'impact économique global des dommages causés par *D. suzukii* en 2010 a été estimé à 3-4 millions d'euros dans la seule province italienne de Trente (Ioriatti et al. 2012, De Ros et al. 2015). Dans une enquête suisse, 76 % des producteurs de cerises, de prunes et de raisins ont déclaré être confrontés à des coûts supplémentaires dus à *D. suzukii*, certains producteurs estimant des pertes de revenus de plus de 30 % (Knapp et al. 2020).

Diverses approches de lutte ont été mises en œuvre pour supprimer les populations de *D. suzukii* et réduire les dommages causés aux cultures (Haye et al. 2016, Del Fava et al. 2017). Dans un passé récent, les programmes s'appuyaient principalement sur des insecticides chimiques qui ciblent les mouches adultes (par exemple, Van Timmeren et Isaacs 2013, Shower et al. 2018, Van Timmeren et al. 2018). Les insecticides peuvent être efficaces (Beers et al. 2011, Van Timmeren et Isaacs 2013), mais la liste de produits acceptables est restreinte et les résidus dans les fruits présentent des problèmes pour la santé humaine (Rodriguez-Saona et al. 2019). Les applications d'insecticides peuvent également avoir un impact négatif sur les organismes utiles (Biondi et al. 2012), et les producteurs ont de plus en plus observé des pullulations secondaires de cochenilles et d'autres ravageurs (Lee et al. 2019). Plus inquiétantes sont les limitations futures possibles dues à la résistance aux insecticides (Gress

et Zalom 2019). Les chercheurs ont mis au point d'autres outils de lutte intégrée contre les ravageurs, notamment des produits écomones (Cloonan et al. 2018), des produits naturels de protection des cultures (Cahenzli et al. 2018), des méthodes de culture (Rendon et al. 2019, Rendon & Walton 2019, Santoiemma et al. 2020), des barrières d'exclusion (Leach et al. 2018), le traitement au froid des fruits après récolte (Aly et al. 2017) et la libération de mâles stériles (Lanouette et al. 2017). En Suisse, des efforts ont été faits pour réduire l'utilisation d'insecticides chimiques, mais les pratiques culturales proposées, telles que le piégeage de masse, les mesures d'assainissement, les filets de clôture et la récolte précoce, prennent du temps et augmentent considérablement les coûts de production (Mazzi et al. 2017, Knapp et al. 2019, 2020).

Même lorsque les applications de (bio)insecticides et les pratiques culturales réduisent les populations dans la culture traitée, les populations de *D. suzukii* peuvent résider dans des habitats voisins non cultivés qui agissent comme des réservoirs de ravageurs pour la ré-invasion de la culture (par exemple, 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). Aucune des approches actuellement utilisées, seules ou combinées, n'a permis de supprimer efficacement les populations de *D. suzukii* ou d'atteindre un stade de développement permettant une mise en œuvre à grande échelle. Par conséquent, des stratégies de lutte intégrée à l'échelle d'une zone qui réduisent les densités de population au niveau du paysage devraient être développées pour ce ravageur polyphage et très mobile (Wang et al. 2019a). La lutte biologique doit jouer un rôle clé dans les programmes à l'échelle d'une zone en réduisant les populations de mouches dans les habitats non cultivés, réduisant ainsi le nombre de mouches qui migrent vers les cultures sensibles et améliorant l'efficacité des autres outils de lutte.

Les parasitoïdes jouent un rôle important dans la régulation des populations de la plupart des espèces de drosophiles (Carton et al. 1986). La majorité sont des parasitoïdes larvaires appartenant aux genres d'insectes *Asobara* (Braconidae), *Ganaspis*, et *Leptopilina* (tous deux Figitidae). Plusieurs études ont recensé et évalué les parasitoïdes naturellement associés à *D. suzukii* en Europe (Rossi Stacconi et al. 2013, 2015, Miller et al. 2015, Mazzetto et al. 2016, Knoll et al. 2017) et en Amérique du Nord (Miller et al. 2015, Wang et al. 2016b, 2016c, Kaçar et al. 2017). Dans l'ensemble, ces études montrent qu'il n'y a pas de parasitoïde indigène qui attaque efficacement *D. suzukii* dans ses régions envahies. La plupart des parasitoïdes larvaires communs en Amérique du Nord ou en Europe, tels que *Asobara tabida* Nees, *Leptopilina heterotoma* Thomson, et *Leptopilina bouvardi* Barb. et al. attaquent des drosophiles hôtes se reproduisant dans des substrats en fermentation (par ex, *Drosophila melanogaster* Meigen), et ne peuvent se développer à partir de *D. suzukii* en raison de la résistance immunitaire de la mouche (Chabert et al. 2012, Kacsoh et Schlenke 2012, Poyet et al. 2013). Seulement deux parasitoïdes larvaires cosmopolites et généralistes, *Trichopria drosophilae* Perkins (Diapriidae) et *Pachycrepoideus vindemiae* (Rondani) (Pteromalidae) attaquent et se développent fréquemment sur *D. suzukii* en Europe et en Amérique. Bien que ces parasitoïdes larvaires puissent être efficaces dans des conditions de laboratoire (par exemple, Kaçar et al. 2017, Rossi Stacconi et al. 2017, Wolf et al. 2020, 2021), le parasitisme des larves de *D. suzukii* sur le terrain est généralement < 5% (Miller et al. 2015).

Un certain nombre de prédateurs ont été évalués pour leur capacité à attaquer les larves ou les pupes de *D. suzukii*. Résumés dans Haye et al. (2016) et Lee et al. (2019), les essais sur le terrain et en laboratoire suggèrent que les prédateurs peuvent tuer une quantité substantielle de *D. suzukii* ; par exemple, les infestations larvaires ont été réduites de 19-34% dans les fraises, et de 28-49% dans les myrtilles (Woltz et Lee 2017). Cependant, leurs populations sont difficiles à manipuler et, sans lâcher(s) supplémentaire(s) ou manipulation de l'habitat,

elles ne permettent pas une suppression efficace. Le plus souvent, les prédateurs s'attaquent aux pupes de *D. suzukii* en dehors du fruit : 80 à 100 % des pupes sentinelles de *D. suzukii* ont été détruites lorsqu'elles ont été placées à la surface du sol dans les champs de myrtilles du Maine (Ballman et al. 2017), et lorsque les pupes ont été légèrement enterrées, les prédateurs en ont détruit 61, 67 et 91 % dans les champs de fraises, de mûres et de myrtilles de l'Oregon, respectivement (Woltz et Lee 2017). Les perce-oreilles, les punaises (Anthocoridae, Nabidae, etc.), les araignées et les fourmis sont des prédateurs avérés dans les champs ; les carabes, les grillons, les chrysopes et les staphylins sont d'autres prédateurs probables (Walsh et al. 2011, Gabarra et al. 2015, Renkema et al. 2015, Woltz et al. 2015, Wolf et al. 2018). Dans les études de dissémination augmentative, les anthocorides ont réduit une proportion importante de *D. suzukii* dans les essais en laboratoire (Renkema et Cuthbertson 2018), mais aucune différence n'a été observée dans les essais en plein champ (Woltz et al. 2015), et les taux de dissémination nécessaires pour assurer la lutte étaient trop coûteux (Lee et al. 2019).

Il peut être possible de manipuler le nombre de prédateurs en fournissant des "boîtes de reproduction", qui ont été testées pour les parasitoïdes des pupes (Rossi Stacconi et al. 2019), ou par des pratiques de contrôle biologique de conservation, bien qu'aucune étude n'ait prouvé leur efficacité pour *D. suzukii*. Les fermes biologiques où la pression de *D. suzukii* est élevée utilisent fréquemment des biopesticides pour minimiser le risque d'infestation, et si certains de ces produits présentent un risque moindre pour les insectes utiles, beaucoup des "bio-insecticides" les plus efficaces, comme le spinosad, sont toxiques pour les insectes utiles (Biondi et al. 2012). Des tests ont également été réalisés avec des répulsifs (principalement des huiles essentielles) qui, malgré de grands espoirs, se sont révélés généralement non persistants, peu efficaces et trop coûteux pour une application à grande échelle dans les exploitations commerciales (par exemple, Cahenzli et al. 2018). Ces résultats soulignent que même dans les systèmes biologiques, l'intégration des agents de lutte biologique dans le système de culture pose des problèmes importants, ce qui met une nouvelle fois en évidence la nécessité de disposer d'ennemis naturels efficaces qui opèrent à l'échelle de la zone.

Pour ces raisons, des membres de l'Université de Californie (États-Unis), de l'Université de l'État de l'Oregon (États-Unis), de l'Unité de recherche sur l'introduction des insectes bénéfiques de l'USDA-ARS (États-Unis), du CABI (Suisse), de l'INRAE (France) et de l'Institut pour la protection durable des plantes (Italie) ont cherché à explorer, identifier et importer d'Asie de l'Est des agents de lutte biologique efficaces et spécifiques à l'hôte pour *D. suzukii*. L'équipe basée aux États-Unis et ses collègues italiens ont mené des recherches à l'étranger sur les parasitoïdes de *D. suzukii* en Corée du Sud et en Chine entre 2013 et 2017 et ont découvert une riche diversité de 15 espèces de parasitoïdes, dont 6 étaient présentes dans des fruits prélevés directement sur les plantes (Daane et al. 2016, Giorgini et al. 2019). Les enquêtes menées par le CABI, l'INRAE et des collègues en Chine et au Japon entre 2015 et 2017 ont permis de découvrir 8 espèces de parasitoïdes attaquant *D. suzukii* dans les fruits en cours de maturation sur les plantes (Girod et al. 2018a). Les parasitoïdes dominants ont été systématiquement évalués dans les laboratoires de quarantaine pour leur potentiel à être utilisés comme agents de lutte biologique dans les zones envahies par *D. suzukii* (Girod et al. 2018 ; Giorgini et al. 2019 ; Wang et al. 2018 ; 2019b ; 2020 ; Hougardy et al. 2019 ; Seehausen et al. 2020). Indépendamment, les équipes de recherche ont conclu que le parasitoïde *Ganaspis brasiliensis* (Hymenoptera : Figitidae) est l'un des parasitoïdes de *D. suzukii* les plus efficaces et les plus spécifiques à l'hôte et qu'il a un grand potentiel pour être utilisé comme agent de contrôle biologique en Europe et en Amérique du Nord. Parallèlement, des chercheurs japonais ont également signalé que *G. brasiliensis* était le parasitoïde larvaire le plus spécialisé de *D. suzukii* (Kasuya et al. 2013, Matsuura et al. 2018).

Cependant, des différences importantes dans la spécificité de l'hôte et le comportement de recherche de l'hôte ont été observées entre les populations de *G. brasiliensis* de différents endroits en Chine et au Japon (Girod et al. 2018c). D'autres études ont montré des différences marquées entre ces populations en termes de protéines exprimées (Reeve & Seehausen 2019) et de gènes (Seehausen et al. 2020). Une étude approfondie sur les conséquences biologiques de cette différence entre les populations a montré qu'elles ne se croisent pas et qu'il s'agit donc probablement de deux espèces cryptiques. Dans des conditions de laboratoire, une espèce (appelée G3-4) parasite facilement plusieurs espèces de drosophiles quelle que soit leur source de nourriture, tandis que l'autre (G1) est presque exclusivement spécifique aux larves qui se nourrissent dans les fruits en cours de maturation (Seehausen et al. 2020). Au cours de plusieurs enquêtes en Asie, les *G. cf. brasiliensis* ont toujours été prélevés uniquement sur des fruits frais mûrs et n'ont jamais été obtenus à partir d'appâts à base de fruits, comme les tranches de banane (Kasuya et al. 2013 ; Daane et al. 2016 ; Giorgini et al. 2019 ; Girod et al. 2018a), ce qui indique un degré élevé de spécificité de l'habitat aux fruits frais, même dans des conditions de terrain. La découverte que ce parasitoïde est probablement un complexe d'au moins deux espèces sœurs et que l'une d'entre elles peut clairement être associée à une plus grande spécificité d'habitat pour les fruits frais, montre l'aptitude de G1 *G. cf. brasiliensis* à contrôler *D. suzukii* et permet de se concentrer sur cette espèce pour les efforts de développement d'un programme de lutte biologique classique. La différence d'habitats naturels entre *D. suzukii* immature se développant dans les fruits frais mûrs et les autres espèces de drosophiles frugivores dans les fruits en décomposition pourrait traduire la spécificité d'habitat de G1 *G. cf. brasiliensis* en une spécificité d'hôte. Si elles sont entièrement spécifiques aux fruits mûrs dans des conditions naturelles, les guêpes G1 ne parasiteront que *D. suzukii* dans son aire de répartition envahie.

Sur la base de ces résultats de laboratoire, des lâchers de G1 *G. cf. brasiliensis* ont déjà été effectués en Italie au cours de l'été 2021, y compris dans les provinces du nord limitrophes de la Suisse (Lisi et al. 2022 ; Fellin et al. 2023). Cependant, en Suisse, un test de choix dans de grandes cages de terrain a été effectué dans deux cantons, le Jura et le Tessin (Seehausen et al. 2022). Les parasitoïdes relâchés avaient le choix de parasiter soit les larves de *D. suzukii* dans les fruits frais (myrtilles ou baies de sureau), soit l'espèce indigène non ciblée *D. melanogaster* dans les fruits en décomposition. Les résultats ont été sans équivoque : le parasitisme apparent des larves de *D. suzukii* se nourrissant de fruits frais était en moyenne de 13%, alors qu'un seul parasitoïde a émergé de *D. melanogaster* se nourrissant de fruits en décomposition (0,03% de parasitisme). Ainsi, les résultats confirment les conclusions de précédentes expériences de laboratoire selon lesquelles G1 *G. cf. brasiliensis* est hautement spécifique aux larves de *D. suzukii* se nourrissant de fruits frais et le parasitisme de *D. melanogaster*, espèce étroitement apparentée à *D. suzukii* mais se nourrissant de fruits en décomposition, est très rare. Cette expérience a confirmé la biosécurité de G1 *G. cf. brasiliensis* et permet de conclure que les lâchers en plein champ du parasitoïde ne devraient pas poser de risques significatifs pour les espèces non-cibles.

Compte tenu des résultats des expériences en conditions laboratoires et cages de terrain en faveur de l'utilisation de l'espèce pour lutter contre *D. suzukii*, nous soumettons ici à l'examen une demande d'autorisation pour une dissémination expérimentale du parasitoïde G1 *G. cf. brasiliensis* afin d'étudier dans quelles circonstances l'agent de lutte biologique s'établit dans les différentes régions de la Suisse.

Dossier technique

Comprenant les indications détaillées à l'annexe 3.3, fondée sur l'article 21 de l'ordonnance sur la dissémination dans l'environnement ODE

1 Informations générales

1.1 Nom et adresse du requérant (entreprise ou institut)

Agroscope
Schwarzenburgstrasse 161
3097 Liebefeld

Agroscope est une station de recherche agronomique et agroalimentaire exploitée par la Confédération. Elle compte parmi ses tâches de droit public la recherche et le développement au profit du secteur agricole et de la filière agroalimentaire (voir art. 3 ss de l'ordonnance du 23 mai 2012 sur la recherche agronomique [ORAgr] en lien avec les art. 114 ss de la loi fédérale sur l'agriculture [LAgr]). Il est reconnu qu'elle a la légitimité pour déposer une demande d'autorisation pour une dissémination expérimentale.

1.2 Nom, qualifications et expérience des chercheurs responsables

Dr. phil. nat. Dominique Mazzi, responsable suppléante du groupe de recherche Néobiotes, domaine stratégique de recherche Protection des végétaux, chez Agroscope à Cadenazzo. Elle a obtenu son doctorat à l'Université de Berne en 2001 et depuis 2014, elle travaille chez Agroscope. Elle est experte en néobiotes et était la directrice scientifique de la Task Force *Drosophila suzukii* (2015-2020). En 2021, elle a participé dans la dissémination expérimentale de G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* en grandes cages de terrain en Suisse. Dr. Mazzi va collaborer avec Dr. Cristina Marazzi, cheffe du Service phytosanitaire du canton du Tessin (experte en organismes nuisibles et de quarantaine) ainsi que des chercheurs scientifiques Dr. Marc Kenis et Dr. Lukas Seehausen du Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI) à Delémont, Jura (spécialistes des espèces invasives et de la lutte biologique).

2 Désignation et caractérisation des organismes

2.1 Désignation scientifique et autres noms

Ganaspis brasiliensis (Hymenoptera: Figitidae)

2.2 Données taxinomiques, y compris sous-espèce, souche ou biotype

L'organisme qui fait l'objet de cette demande de dissémination est décrit comme *Ganaspis brasiliensis*, groupe génétique 1 (G1) par Nomano et al. (2017) et comme *Ganaspis cf. brasiliensis* « extended G1 » par Seehausen et al. (2020). Bien qu'elle ne soit pas encore reconnue comme une espèce distincte, Seehausen et al. (2020) présentent des fortes preuves que le « extended G1 » est en fait une espèce cryptique au sein du complexe d'espèces de *G. cf. brasiliensis*.

2.3 Confirmation des données taxonomiques par une autorité scientifique reconnue, ainsi que nom et adresse de l'institution où les animaux de référence sont archivés

Le Dr Matthew Buffington (Systematic Entomology Laboratory, USDA Agricultural Research Service, Washington, D.C., USA), spécialiste mondial de la famille d'insectes Figitidae à laquelle appartient *Ganaspis brasiliensis*, a décrit l'organisme qui fait l'objet de cette demande comme morphologiquement similaire à *Ganaspis brasiliensis* (Girod et al. 2018a). Une analyse moléculaire menée par CABI (Suisse) en collaboration avec l'INRAE (France) à l'aide de deux marqueurs moléculaires, le gène codant la mitochondrie Cytochrome Oxidase subunit 1 (COI) et la région nucléaire Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2), a confirmé l'identification taxonomique et a déterminé que tous les spécimens qui ont été collectés à l'emplacement de la source (voir description ci-dessous) appartiennent au groupe génétique 1 (G1) décrit par Nomano et al (2017) et Seehausen et al (2020).

Les spécimens de référence sont archivés au CABI, rue des Grillons 1, 2800 Delémont, Suisse.

2.4 Caractéristiques phénotypiques et génétiques, ainsi que description des possibilités d'identification sans équivoque des organismes dans l'environnement

Dans le passé, *Ganaspis brasiliensis* a souvent été mal identifié comme étant *G. xanthopoda*, mais ces deux espèces sont clairement distinctes non seulement morphologiquement mais aussi génétiquement (Nomano et al. 2017). Sur le plan phénotypique, *G. brasiliensis* est décrit par Buffington & Forshage (2016), qui décrivent également sa différenciation par rapport aux autres espèces. De *Leptopilina heterotoma*, espèce étroitement apparentée, qui est également présente en Suisse, *G. brasiliensis* peut être séparée comme suit : « L'espèce peut être séparée de toutes les *Leptopilina* par la bande continue de soies à la base du metasoma (typiquement interrompue et incomplète dorsalement chez les *Leptopilina*), le bord postéro-ventral du métapleuron est anguleux et soyeux (arrondi, oblique et glabre chez les *Leptopilina*) et l'antenne mâle avec le premier flagellomère nettement modifié et s'incurvant vers l'extérieur (le second flagellomère est modifié chez les *Leptopilina*). L'observation occasionnelle de *G. brasiliensis* peut permettre de confondre cette espèce avec *Leptopilina heterotoma* (Thomson), car la forme et la taille de la plaque scutellaire sont remarquablement similaires, mais suivre les caractères ci-dessus qui séparent *Ganaspis* de *Leptopilina* aidera à une identification correcte. » (Buffington & Forshage 2016 ; page 4).

Génétiquement, *G. brasiliensis* peut être différencié des autres espèces en utilisant plusieurs marqueurs génétiques (*COI*, *ITS1*, *ITS2*, *RpL37*), qui sont décrits en détail par Nomano et al. (2017), Giorgini et al. (2019), et Seehausen et al. (2020), dont les accessions à la GenBank sont également disponibles pour de futures identifications. Génétiquement, *G. brasiliensis* ne se différencie pas seulement des autres espèces, mais 4-5 groupes génétiques distincts sont décrits au sein de l'espèce (Figure 1).

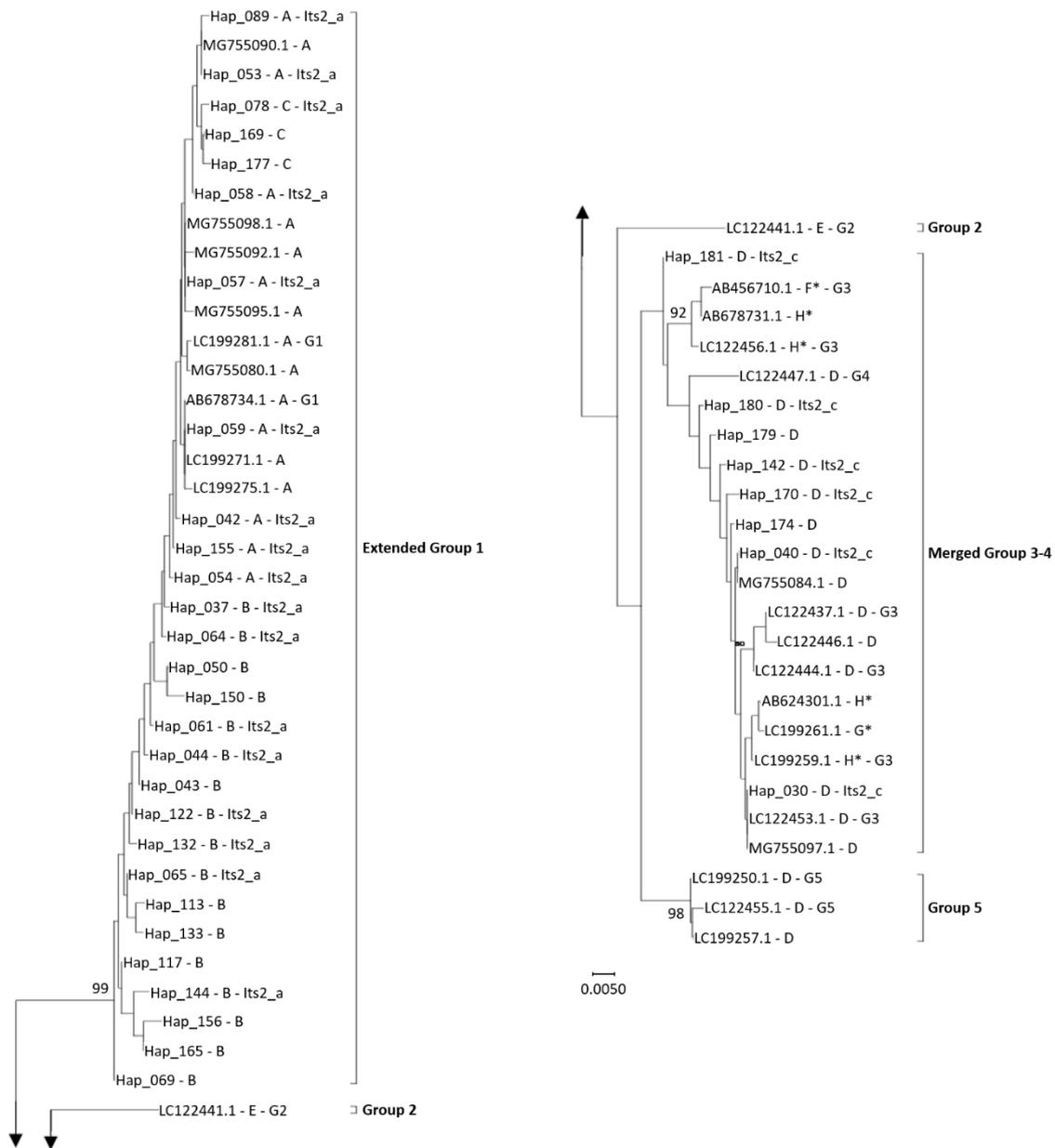


Figure 1: Neighbor-Joining tree pour *COI* et la correspondance avec *ITS2*. Les étiquettes des haplotypes concatènent les informations séparées par des traits d'union comme suit (de gauche à droite) : Soit le numéro d'accèsion à la GenBank, soit un numéro d'haplotype faisant référence aux identifiants internes de l'Institut Sophia Antipolis ; l'haplotype d'acide aminé correspondant (de A à G) après traduction à l'aide du code mitochondrial des invertébrés ; et, lorsqu'il est disponible, l'haplotype *ITS2* correspondant (its2_a, its2_b ou its2_c). Les haplotypes marqués d'un astérisque (*) présentent des mutations associées à un changement de la nature biochimique de l'acide aminé correspondant.

Récemment, de fortes preuves génétiques et biologiques (c'est-à-dire des expériences de croisement) ont été présentées selon lesquelles il existe au moins deux espèces sœurs cryptiques au sein de ces groupes génétiques, dont l'une (G1) est décrite comme spécifique à *Drosophila suzukii* se nourrissant de fruits frais (Seehausen et al. 2020) et est donc l'organisme qui fait l'objet de la présente demande. L'organisme est désormais appelé G1

Ganaspis cf. brasiliensis pour indiquer qu'il est morphologiquement identique à *G. brasiliensis* mais pourrait être une espèce sœur cryptique. En outre, grâce à une méthode basée sur la spectrométrie de masse à temps de vol par désorption laser et ionisation assistée par matrice (MALDI-TOF MS), *G. brasiliensis* peut même être différencié au niveau de la population (Reeve & Seehausen 2019).

2.5 Méthodes de culture et de production des organismes

Les méthodes d'élevage pour le G1 *G. cf. brasiliensis* sont décrites par Girod et al. (2018b, 2018c) et Seehausen et al. (2020).

Jusqu'à 50 guêpes adultes sont conservées dans des boîtes en plastique transparent (9 cm de diamètre, 5 cm de hauteur) à l'intérieur d'une cage en gaze. Un tube Eppendorf avec un papier de cellulose humide est ajouté comme source d'eau et la boîte est fermée avec un bouchon en mousse sur lequel une goutte de miel est placée comme source de nourriture. Six myrtilles fraîches, qui ont été placées 24 h auparavant dans une cage d'élevage de *Drosophila suzukii* pendant 24-48 h pour recueillir les œufs, sont ajoutées tous les 2-3 jours à chaque récipient avec les adultes pour permettre le parasitisme des jeunes larves de mouches. Après l'exposition aux guêpes, les fruits infestés sont retirés des boîtes et conservés dans des tubes en plastique transparent (5 cm de diamètre, 10 cm de hauteur) avec un papier filtre au fond pour absorber les fuites de jus de fruits. Tous les 2 ou 3 jours, la présence de guêpes nouvellement écloses est vérifiée dans les tubes d'élevage et les guêpes adultes sont transférées dans les boîtes de ponte.

2.6 Source exacte et pureté des souches et biotypes prévus pour la dissémination ; en outre, nom et adresse de l'organisation qui élève les animaux et indication exacte du lieu (longitude et latitude, altitude, habitat, hôtes) et de la saison de leur prélèvement

Les G1 *G. cf. brasiliensis* à utiliser dans les expériences ont tous été prélevés au printemps (mai et juin) 2015 dans le parc de Naganuma, Hachioji, Tokyo, Japon (35°38'12.5 "N 139°21'52.9 "E ; 147 m au-dessus du niveau de la mer), sur des larves de *Drosophila suzukii* se nourrissant de fruits en maturation sur les plantes de *Prunus serrulata* et *Morus sp.* (voir aussi Girod et al. 2018a). Depuis leur collecte, les parasitoïdes sont élevés dans le laboratoire de quarantaine de niveau 3 du CABI, rue des Grillons 1, 2800 Delémont, Suisse. Pendant cette période, au moins 30 spécimens issus de cet élevage ont été analysés génétiquement et se sont révélés être des G1 *G. cf. brasiliensis* uniquement.

La colonie de départ de *D. suzukii* qui sera utilisée pour les libérations a été collectée à partir de fruits sauvages tels que *Rubus sp.* et *Fragaria sp.* dans différents sites en Suisse en 2015 (Girod et al. 2018b). Les mouches de cette première collecte sont décrites au niveau moléculaire par Fraimout et al. (2017). Depuis 2015, elles sont élevées à CABI à Delémont et sont utilisées dans toutes les expériences avec *G. brasiliensis* (par exemple, Seehausen et al. 2020).

2.7 Régions dans lesquelles les organismes ont déjà été disséminés volontairement ou involontairement et expériences faites dans ce contexte

À la fin de l'été 2021, la souche japonaise de G1 *G. cf. brasiliensis* provenant de l'élevage en laboratoire au CABI à Delémont a été libérée la première fois en conditions de plein champ dans plusieurs endroits en Italie (Lisi et al. 2022). L'année des lâchers, *G. brasiliensis* a été retrouvé dans 50% des sites où le parasitoïde a été lâché dans le nord de l'Italie. Plusieurs spécimens ont également été trouvés l'année suivante (2022), prouvant le succès de l'hivernage dans les sites de lâchers. Le parasitoïde exotique n'a émergé que de *D. suzukii* et principalement de fruits frais qui étaient encore sur la plante (Fellin et al. 2023).

En plus, la même la souche japonaise de G1 *G. cf. brasiliensis* provenant de l'élevage en laboratoire au CABI à Delémont a aussi été lâchée dans plusieurs états des États-Unis en 2022. Cependant, à ce stade (février 2023), aucun résultat de ces lâchers n'est disponible.

La France a également approuvé des libérations de G1 *G. cf. brasiliensis* en 2022, qui commenceront probablement en 2023 (Nicolas Borowiec, communication personnelle).

Une importation accidentelle de G1 *G. cf. brasiliensis* n'est connue que dans la région de Vancouver en Colombie Britannique, Canada (Abram et al. 2020) et dans le nord-ouest de l'État de Washington, États-Unis (Beers et al. 2022). Le parasitoïde a été trouvé une première fois en 2019 et ensuite de nouveau en 2020 et 2021 (P. Abram, communication personnelle). Jusqu'à présent, il n'a été élevé qu'à partir de *D. suzukii* comme hôte. Une étude récente a montré qu'avec le parasitoïde asiatique *Leptopolina japonica*, également accidentellement importé au Canada et États-Unis, le parasitisme larvaire de *D. suzukii* par G1 *G. cf. brasiliensis* a atteint un niveau comparable à celui observé en Asie (Abram et al., 2022).

2.8 Biologie et écologie :

2.8.1 Propagation naturelle des organismes

Les adultes de *Ganaspis brasiliensis* sont ailés et peuvent donc se disperser. Cependant, en raison de leur taille relativement petite (1,5 - 1,75 mm), la dispersion par le vol est probablement limitée à quelques centaines de mètres par génération, bien que des distances plus importantes puissent être couvertes par la dispersion par le vent. Cependant, aucune donnée scientifique n'est disponible pour cette espèce ou des espèces apparentées permettant de déterminer avec précision la dispersion. En tant qu'endoparasitoïdes des larves de *Drosophila suzukii* qui se nourrissent des fruits en cours de maturation, les stades subadultes des parasitoïdes peuvent également être disséminés par d'autres animaux (par exemple les oiseaux et les mammifères) qui collectent les fruits et les dispersent dans l'environnement.

2.8.2 Rôle et importance des organismes dans leur écosystème d'origine

Ganaspis brasiliensis est un parasitoïde qui a été décrit à plusieurs reprises comme l'un des parasitoïdes larvaires dominants et les plus efficaces élevés de *D. suzukii* lors d'explorations en Corée du Sud, en Chine et au Japon (Daane et al. 2016 ; Giorigini et al. 2018 ; Girod et al. 2018a). Par exemple, en Chine et au Japon, *Ganaspis brasiliensis* était le parasitoïde de *D. suzukii* le plus fréquemment élevé, étant présent dans tous les échantillons dont les parasitoïdes sont sortis. C'est également l'espèce qui a atteint les plus hauts niveaux de parasitisme (jusqu'à 75%) dans les deux pays (Girod et al. 2018a). Ainsi, dans son écosystème d'origine, *Ganaspis brasiliensis* joue un rôle crucial en tant qu'ennemi naturel de *Drosophila suzukii*, contribuant à maintenir la population de son hôte à un niveau bas et la plupart du temps non dommageable pour les cultures horticoles en Asie.

2.8.3 Description de leur biologie, notamment reproduction, temps de génération, modes de propagation biologique, exigences concernant les hôtes, l'habitat et le climat ainsi que gamme d'hôtes potentielle

Ganaspis brasiliensis est un endoparasitoïde larvaire-pupal de plusieurs *Drosophila* spp. Le parasitoïde adulte s'attaque aux jeunes larves de *Drosophila* qui se nourrissent de fruits en perçant son ovipositeur à travers la peau du fruit. Il préfère pondre dans les larves du premier et du deuxième stade, mais il est également capable de parasiter des stades larvaires plus avancés. Toutefois, le risque d'encapsulation par la réaction immunitaire des larves d'hôtes plus âgés est plus élevé (Wang et al. 2018). Le parasitoïde forme une nymphe dans le puparium de l'hôte, d'où l'adulte émerge plusieurs jours plus tard. Ainsi, *G. brasiliensis* est un parasitoïde koinobionte, c'est-à-dire qu'il permet à son hôte de continuer à se nourrir et à se développer tout en se nourrissant de lui. Cela signifie également que le parasitoïde n'empêche

pas directement les dégâts sur les fruits déjà infestés (la ponte par les femelles de *D. suzukii* rend déjà un fruit invendable), mais déploie plutôt ses effets bénéfiques à moyen ou long terme, en faisant baisser les populations de *D. suzukii* dans l'environnement, y compris dans les habitats non cultivés de *D. suzukii* (Kenis et al. 2016 ; Wolf et al. 2020 ; Bühlmann et al. 2021). L'accouplement peut avoir lieu immédiatement après l'émergence des adultes et il n'y a pas de période de préoviposition (Girod et al. 2018 ; Wang et al. 2018). Les femelles émergent avec environ 45 % de leur charge maximale d'œufs (90 œufs), qui est atteinte au bout de 8-10 jours. C'est également à cet âge que l'on a observé le plus grand nombre de pontes par jour (moyenne = 8). Après 10 jours, le nombre moyen de pontes diminue avec l'âge des femelles (Wang et al. 2018). *Ganaspis brasiliensis* est arrhénotoque, les femelles non accouplées ne produisent que des descendants mâles tandis que les femelles accouplées sont capables de produire à la fois des mâles (œufs non fécondés) et des femelles (œufs fécondés).

Plusieurs "lignées" ou "groupes génétiques" de *G. brasiliensis* ont été décrits avec des spécificités d'hôtes et des préférences d'habitat différentes (Nomano et al. 2017 ; Seehausen et al. 2020) : Le premier groupe (G1) est décrit comme un spécialiste de *D. suzukii* et a été jusqu'à présent enregistré au Japon (Kasuya et al. 2013 ; Mitsui et al. 2007 ; Seehausen et al. 2020), en Corée du Sud (Buffington & Forshage 2016 ; Daane et al. 2016 ; et en Chine (Giorgini et al. 2019 ; Seehausen et al. 2020). Le deuxième groupe (G2) n'est décrit que pour l'île d'Iriomote-jima, située à l'extrémité sud de l'archipel des Ryukyu (Nomano et al. 2017). Le troisième groupe (G3) a été initialement décrit comme un généraliste qui s'attaque principalement à *Drosophila lutescens*, *D. rufa* et *D. biauraria* dans les hautes terres tropicales et les basses terres tempérées du Japon (Nomano et al. 2017 et citations qui y figurent). Cependant, des études plus récentes ont montré que ce groupe est également présent en Chine et en Corée du Sud et, au moins dans des conditions de laboratoire, il parasite facilement *D. suzukii*, *D. melanogaster* et *D. simulans* (Giorgini et al. 2019 ; Seehausen et al. 2020). Le quatrième groupe (G4), qui est génétiquement parfois fusionné avec un cinquième groupe (G5 ; Nomano et al. 2017) ou avec le troisième groupe (Seehausen et al. 2020), a une distribution mondiale (Asie, Hawaï et Afrique) et est associé à plusieurs espèces de drosophiles, dont *D. suzukii* (Nomano et al. 2017).

Des résultats non publiés de l'élevage de G1 et G3-4 *G. cf. brasiliensis* à six températures différentes ont montré que (1) les mâles se développent généralement plus rapidement que les femelles (protandry) ; (2) G1 *G. brasiliensis* est généralement mieux adaptée à des températures plus élevées (température optimale plus élevée), tandis que G3 *G. brasiliensis* est mieux adaptée à des températures plus basses (température minimale de développement plus basse) ; (3) des informations supplémentaires sont nécessaires à des températures élevées (par exemple 32°C) pour déterminer avec précision la température optimale de G1 *G. brasiliensis* (figure 2).

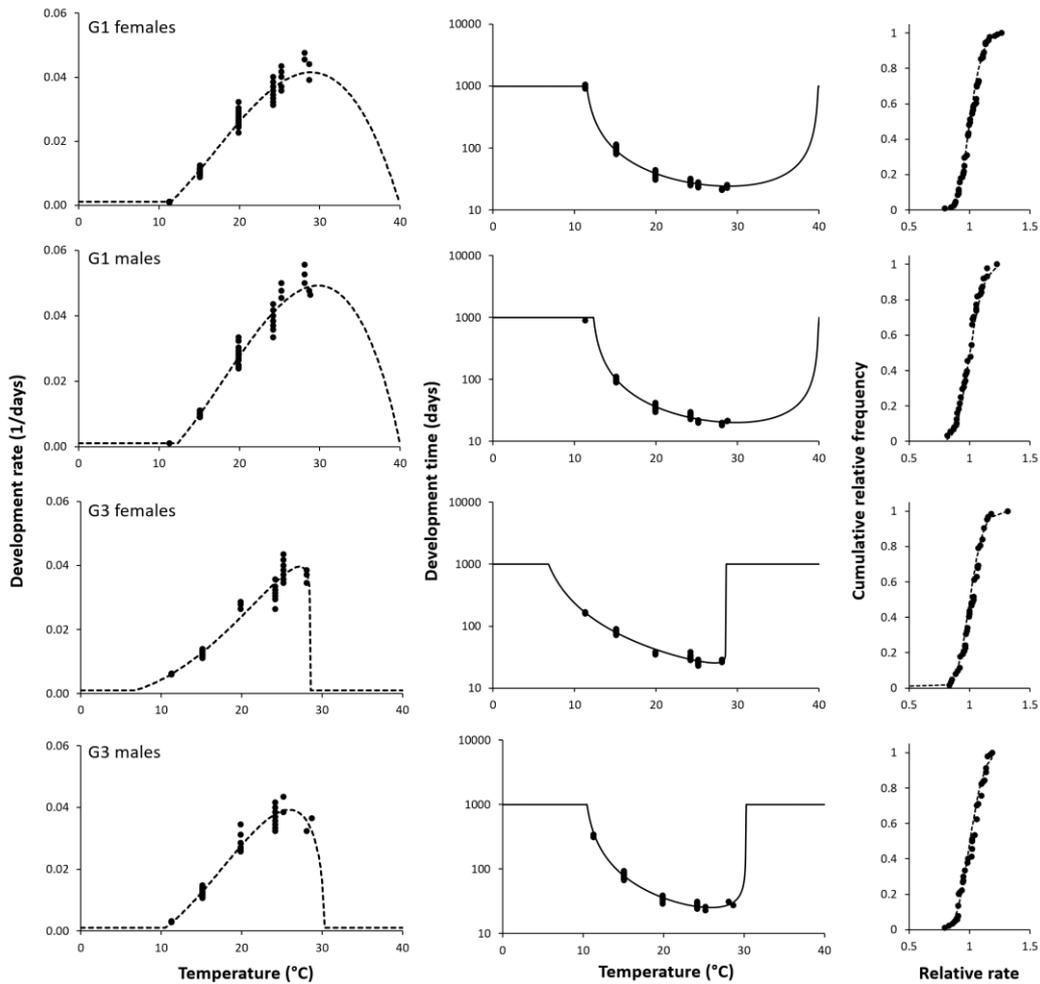


Figure 2 : Développement dépendant de la température de femelles et mâles de *Ganaspis* cf. *brasiliensis* des deux groupes génétiques différents (G1 et G3). Colonne de gauche : taux de développement (1/jours) ; colonne du milieu : temps de développement en jours ; colonne de droite : distribution de la variation individuelle avec la distribution lognormale correspondante.

Les résultats concernant la longévité des adultes en fonction de la température (figure 3) ont montré que (1) les mâles des deux groupes génétiques vivent généralement moins longtemps que les femelles ; (2) les G1 *G. cf. brasiliensis* de Tokyo vivent généralement moins longtemps que les G3 de Hasuike ; (3) les températures optimales pour les mâles des deux groupes sont similaires à environ 15°C, tandis que les femelles G1 vivent le plus longtemps à 20°C (moyenne=81 jours) et les femelles G3 à 15°C (moyenne=96 jours).

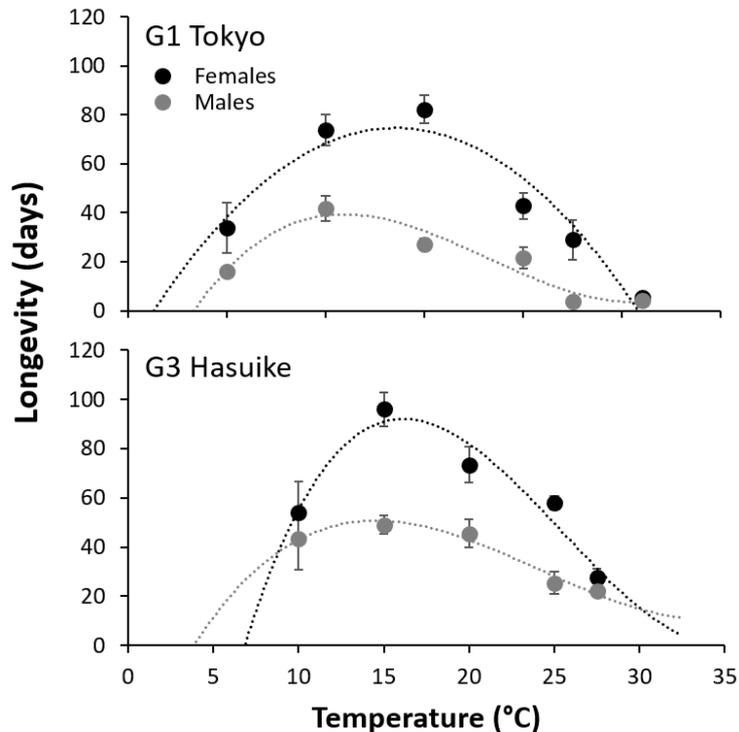


Figure 3 : Longévité adulte (moyenne \pm SE) de deux groupes génétiques (G1 et G3) de *Ganaspis cf. brasiliensis* du Japon (près de Tokyo et Hasuike).

À titre d'exemple pour G1 *G. cf. brasiliensis* élevé à 20°C, le temps de développement de l'œuf à l'émergence de l'adulte est en moyenne de 36 et 37 jours, et la longévité de 27 et 81 jours pour les mâles et les femelles, respectivement.

Il n'est pas encore clair si les différences dans les réponses du développement à la température sont déterminées génétiquement ou plutôt épigénétiquement en réponse à l'environnement (c'est-à-dire des biotypes). Cependant, les réponses à la température récemment publiées par le G3-4 *G. cf. brasiliensis* de la Chine subtropicale et de la Corée du Sud plutôt tempérée (Hougardy et al. 2019) sont très similaires à nos résultats pour les guêpes G3-4 de Hasuike, ce qui soutient l'hypothèse que les réponses pourraient être différentes entre les deux groupes génétiques/espèces cryptiques.

Au cours d'expériences sur les performances thermiques de deux parasitoïdes asiatiques de *D. sukukii*, des collègues américains ont constaté un arrêt du développement de *G. cf. brasiliensis* lorsqu'il est élevé à des températures constantes de 17,2°C ou moins (Hougardy et al. 2019). Il a été déterminé que le stade dormant du parasitoïde est le 5^{ème} stade larvaire (prénymph) à l'intérieur des chrysalides de *D. sukukii*. Ainsi, la diapause de ce parasitoïde est indépendante de celle de *D. sukukii*, qui passe l'hiver à l'état adulte. Le fait que le parasitoïde se soit développé jusqu'au stade prénymph à basse température suggère que la dormance est probablement une diapause à médiation neurohormonale et non une quiescence spontanée déclenchée par des conditions environnementales défavorables. Il est intéressant de noter qu'à 17,2°C, la diapause a été induite chez tous les individus originaires de Corée du Sud, alors que seule une partie des individus du sud de la Chine est entrée en dormance. Cela suggère des différences entre les populations de *G. cf. brasiliensis* en ce qui concerne la température seuil induisant la diapause.

Bien que cela ne soit pas explicitement mentionné dans la publication, nous savons, grâce à une communication personnelle avec les auteurs, que tous les *G. cf. brasiliensis* utilisés dans l'expérience appartenaient au groupe génétique G3. On sait que les parasitoïdes de la famille Figitidae qui parasitent *Drosophila* spp. peuvent avoir différentes stratégies d'hivernage (par exemple sous forme de larves dans la chrysalide de l'hôte ou sous forme d'adultes). Étant donné les preuves présentées ci-dessus pour les espèces cryptiques au sein de *G. cf. brasiliensis*, il est donc possible que les guêpes du groupe G1 aient une stratégie de diapause différente de celles du groupe G3. Des recherches supplémentaires sont donc nécessaires pour étudier la stratégie d'hivernage de G1 *G. cf. brasiliensis*.

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

Études de laboratoire (gamme d'hôtes physiologiques) :

Les premiers tests non-choix (c'est-à-dire une espèce d'hôte potentielle à la fois) avec plusieurs agents de lutte biologique potentiels de *D. suzukii* ont été effectués par Girod et al. (2018c) en utilisant cinq *Drosophila* spp. européennes (*D. busckii* Coquillett, *D. hydei* Sturtevant, *D. immigrans* Sturtevant, *D. melanogaster* Meigen et *D. subobscura* Collin) et une espèce de Tephritidae [*Ceratitis capitata* (Wiedemann)] comme non cibles. Cette dernière a été choisie comme espèce hors groupe car, comme *D. suzukii*, elle est également capable de pondre dans des fruits frais. Des tests de spécificité ont été réalisés en deux étapes. Dans l'expérience A, *A. japonica*, *L. japonica* et *L. heterotoma* ont été testés sur *D. suzukii*, *D. melanogaster*, *D. immigrans*, *D. subobscura* et *D. busckii* se nourrissant dans un milieu nutritif artificiel ordinaire (CAROLINA[®]) au lieu de fruits, car Girod et al. (2018b) ont démontré que ces espèces présenteraient le même comportement de parasitisme avec les larves dans ce milieu artificiel et les myrtilles. Dans l'expérience B, deux populations de *Ganaspis cf. brasiliensis* [une de Kunming, en Chine, dont on a déterminé par la suite qu'elle était un mélange des groupes génétiques G1 et G3-4 ; et l'autre de près de Tokyo, au Japon, dont on a déterminé par la suite qu'elle était purement G1 (Seehausen et al. 2020)] ont été testées (1) sur la même espèce hôte que dans l'expérience A mais en se nourrissant d'un milieu nutritif modifié contenant des myrtilles mélangées, et (2) sur *D. suzukii* et *C. capitata* dans des myrtilles fraîches. Enfin, dans l'expérience B, *L. japonica* a également été testé sur *D. hydei* et *C. capitata* (deux espèces qui n'ont pas été évaluées dans l'expérience A). Toutes les expériences ont été menées dans des conditions de laboratoire, les parasitoïdes femelles nouvellement apparues ont été maintenues avec les mâles pendant 72 h pour s'assurer qu'ils s'accouplent et atteignent la maturité, et les périodes d'exposition consistaient en une seule femelle exposée pendant 48 h à 10 à 30 larves de *Drosophila* spp. âgées de 12 à 20 h. Après une exposition de 2 jours, les parasitoïdes ont été retirés, et l'émergence des mouches adultes et des parasitoïdes a été vérifiée quotidiennement par la suite.

Les résultats ont montré que *L. heterotoma* attaquait tous les hôtes testés en régime artificiel, à l'exception de *D. busckii*. Bien qu'il ait été fortement attiré par *D. suzukii* avec 73,3% des femelles qui pondent, le taux d'encapsulation était élevé et une seule progéniture de *D. suzukii* a été produite. Les deux populations de *L. japonica* (Beijing et Kunming) ont montré des réponses similaires aux hôtes non ciblés et ont donc été considérées comme généralistes (Fig. 4A). *Asobara japonica* a attaqué avec succès toutes les espèces de mouches européennes testées et *D. suzukii* (Fig. 4A). Les deux populations de *G. brasiliensis* ont à peine attaqué les larves de *D. hydei*, *D. immigrans* et *C. capitata*, et aucune descendance n'a émergé de ces hôtes (Fig. 4B). Aucune émergence de parasitoïdes n'a été observée pour la population de *G. brasiliensis* de Tokyo (G1) sur *D. melanogaster* et *D. subobscura*, et les quelques tentatives de ponte sur le dernier hôte ont toutes été encapsulées. En revanche, *G. brasiliensis* de Kunming (un mélange de G1 et G3-4) a parasité *D. melanogaster*, et deux

spécimens ont émergé de *D. subobscura*. Même sur *D. suzukii*, G1 *G. cf. brasiliensis* (population de Tokyo) s'est rarement développée à partir de la diète mixte, alors que la population mixte de Kunming a obtenu de bien meilleurs résultats sur *D. suzukii* en diète mixte (Fig. 4B).

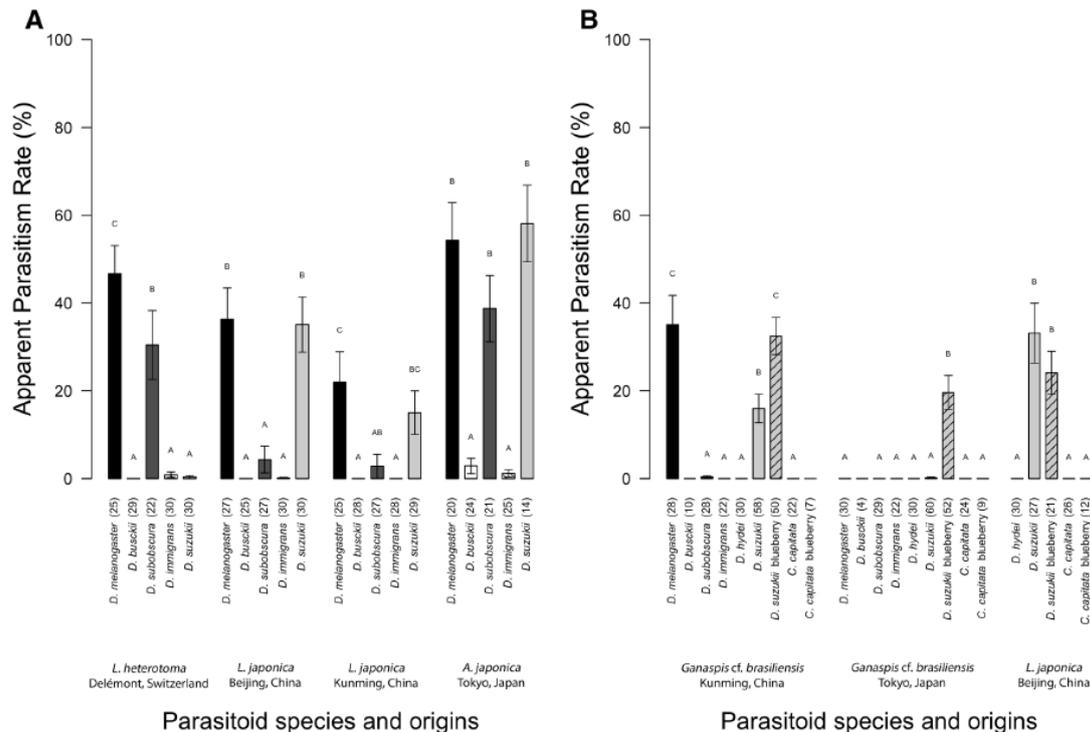


Figure 4 : Parasitisme apparent moyen (\pm SE) causé par des parasitoïdes exposés à des larves de divers hôtes dans (A) une diète artificielle et (B) des myrtilles ou une diète mixte. Le parasitisme apparent a été calculé comme la proportion d'émergence de parasitoïdes par rapport au nombre total d'insectes qui ont émergé (entre parenthèses : nombre de réplicats = femelles incluses dans le calcul). Pour chaque parasitoïde et chaque expérience, les barres avec les mêmes lettres indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements (Girod et al. 2018c).

Des tests supplémentaires en condition de non-choix (Seehausen et al. 2020) ont été effectués avec des *G. cf. brasiliensis* de sept origines différentes en Asie en utilisant trois combinaisons d'hôtes et de milieux nutritifs : (1) larves de *D. suzukii* se nourrissant de myrtilles, (2) larves de *D. suzukii* se nourrissant d'une diète artificielle, et (3) larves de *D. melanogaster* se nourrissant d'une diète artificielle. Des femelles de *G. cf. brasiliensis* accouplées et naïves (c'est-à-dire jamais exposées à des hôtes pour la ponte) de 3-4 j ont ensuite été libérées pendant 48 h individuellement dans des tubes en plastique contenant l'un des trois milieux. Toutes les femelles ont ensuite été génétiquement identifiées sur la base du *COI*. Le résultat a montré que les femelles des trois populations de G1 (Dali, Tokyo et Xining) parasitaient facilement *D. suzukii* en se nourrissant de fruits frais, mais qu'une seule femelle parasitait *D. suzukii* et une autre l'hôte non ciblé *D. melanogaster* en se nourrissant d'un régime artificiel. Les femelles des populations du G3-4 (Hasuike, Fumin et Shiping), ainsi que la population mixte de Kunming, parasitent couramment la drosophile en se nourrissant des deux milieux (Fig. 5). La probabilité moyenne (\pm SE) que des femelles parasitoïdes (POF) parasitent *D. melanogaster* se nourrissent d'un régime artificiel était significativement plus faible pour les individus G1 ($2,1 \pm 2,1$ % ; $n = 47$) que pour les individus G3 ($72,2 \pm 6,1$ % ; $n = 54$; $\chi^2 = 62,13$; $df = 1, 99$; $P < 0,0001$).

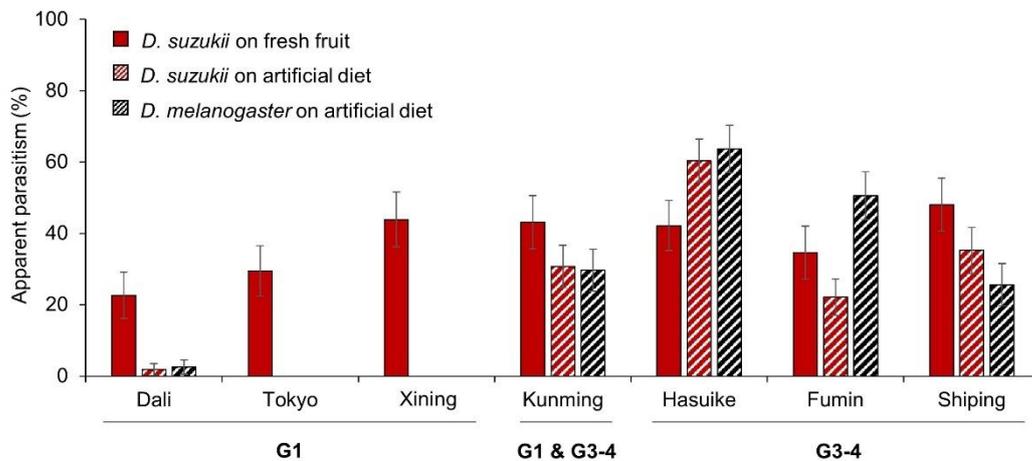


Figure 5 : Variation du parasitisme apparent par *Ganaspis cf. brasiliensis* de différentes origines en Asie parasitant deux espèces hôtes se nourrissant de deux milieux nutritifs. Trois conditions expérimentales ont été testées dans ce test sans choix : *Drosophila suzukii* sur myrtille (rouge uni), *D. suzukii* sur diète artificiel (rouge rayé), et *D. melanogaster* sur diète artificiel (noir rayé). La moyenne et l'erreur standard sont indiquées pour chaque condition expérimentale. Les parasitoïdes provenant de différents endroits en Chine (Dali, Xining, Kunming, Fumin et Shiping) et au Japon (Tokyo et Hasuike) sont regroupés selon leur affiliation moléculaire, le groupe étendu 1 (G1) et les groupes fusionnés 3-4 (G3-4), les individus de Kunming étant un mélange des deux groupes. Pour chaque origine de parasitoïde, 20 répliques par combinaison espèce-hôte-milieu nutritif ont été testés (n total = 420) (Seehausen et al. 2020).

Un troisième test de laboratoire non-choix (Seehausen et al. 2020) a été effectué sur deux espèces non cibles, *D. melanogaster* et *Drosophila simulans* Sturtevant, sur soit une diète artificielle, soit des myrtilles, afin d'évaluer s'il existe des différences entre les deux groupes génétiques de parasitoïdes en ce qui concerne le parasitisme des espèces non ciblées sur différents milieux nutritifs. Pour les deux populations G1 (Tokyo et Xining), le parasitisme des deux espèces hôtes était significativement plus élevé sur les fruits par rapport à la diète artificielle, alors que pour la population G3-4 de Hasuike, il n'y avait pas de différence significative de parasitisme des deux espèces hôtes entre les fruits et la diète artificielle (Fig. 6).

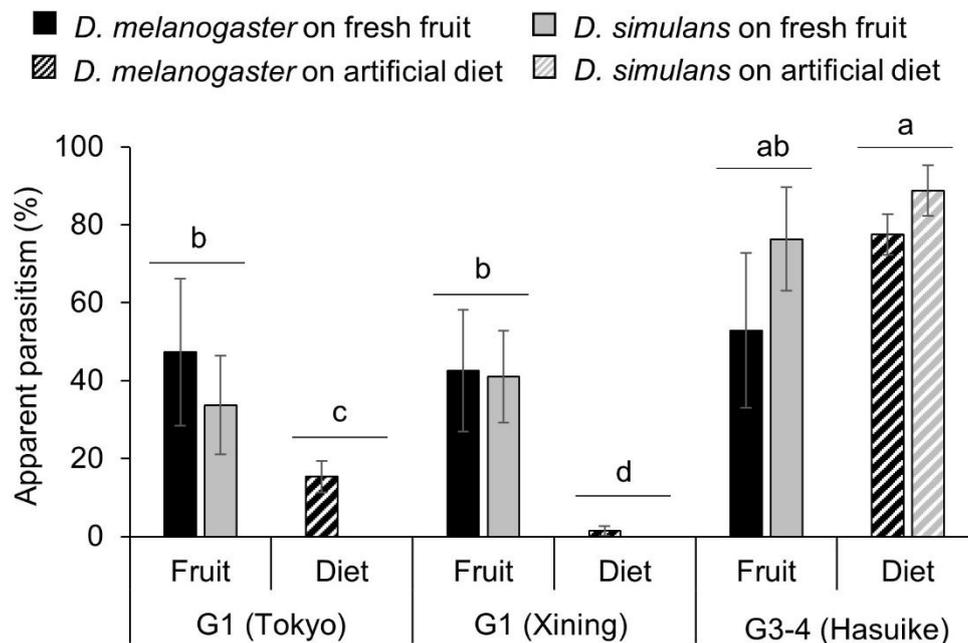


Figure 6 : Variation du parasitisme apparent de *Ganaspis cf. brasiliensis* à partir de deux groupes moléculaires parasitant deux espèces hôtes non cibles se nourrissant de deux milieux nutritifs. Quatre conditions expérimentales ont été testées dans ce test sans choix : *Drosophila melanogaster* sur myrtille (noir uni), *D. simulans* sur myrtille (gris uni), *D. melanogaster* sur diète artificielle (noir rayé), et *D. simulans* sur diète artificielle (gris rayé). Chaque condition a été testée avec des parasitoïdes provenant de différents endroits au Japon (Tokyo et Hasuike) et de Chine (Xining), en comparant deux affiliations moléculaires : le groupe 1 élargi (G1) et les groupes 3-4 fusionnés (G3-4). La moyenne et l'erreur standard sont indiquées pour chaque condition expérimentale. Les barres avec les mêmes lettres minuscules ne sont pas significativement différentes à $\alpha = 0,05$ selon le test HSD de Tukey. Pour chaque origine de parasitoïde, 10 répliques par combinaison espèce-hôte-milieu nutritif ont été testés (n total = 120) (Seehausen et al. 2020).

Dans des observations non publiées de 10 minutes de femelles parasitoïdes placées sur des *D. sukukii* se nourrissant soit de diète artificielle soit de myrtilles fraîches dans des conditions de non-choix, plus de 60% des femelles des populations G1 ont attaqué des larves de *D. sukukii* dans des myrtilles et aucune n'a attaqué de larves dans la diète artificielle. En revanche, les femelles des populations G3 ont attaqué les larves presque aussi fréquemment dans la diète que dans les myrtilles (Fig. 7).

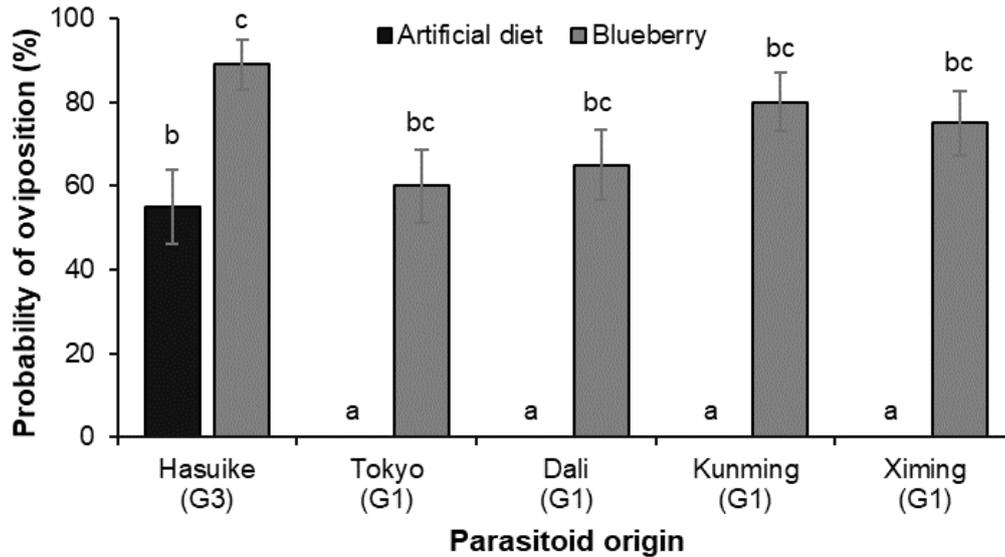


Figure 7 : Probabilité moyenne (\pm SE) de parasitisme par *Ganaspis cf. brasiliensis* de différentes origines au Japon (Hasuike, Tokyo) et en Chine (Dali, Kunming, Ximing) exposés pendant 10 minutes à des larves de *Drosophila suzukii* se nourrissant soit de (barres noires) diète artificielle, soit de (barres grises) myrtilles. Les différentes lettres au-dessus des barres indiquent une différence significative entre l'origine et le traitement alimentaire ($p < 0,05$). G1 et G3 font référence au groupe phylogénétique correspondant du parasitoïde basé sur le *COI* (Nomano et al. 2017).

Pour déterminer si la différence entre les deux groupes génétiques de parasitoïdes dans leur affinité au milieu nutritif de l'hôte est également vraie lorsqu'on a le choix entre différentes espèces d'hôtes et différents milieux, un essai à trois choix a été réalisé (Seehausen et al. 2020), les choix étant *D. suzukii* sur myrtille, *D. melanogaster* sur myrtille et *D. melanogaster* sur milieu artificiel. Les résultats de l'essai ont montré une différence significative de parasitisme entre les choix pour les populations G1 (Tokyo et Xining), mais pas pour la population G3-4 (Hasuike). Pour les deux populations G1, le parasitisme de *D. suzukii* sur les fruits était significativement plus élevé que celui de *D. melanogaster* sur les fruits ou la diète artificielle. Une seule femelle du G1 de Tokyo et aucune de Xining ont attaqué *D. melanogaster* sur diète artificielle (Fig. 8).

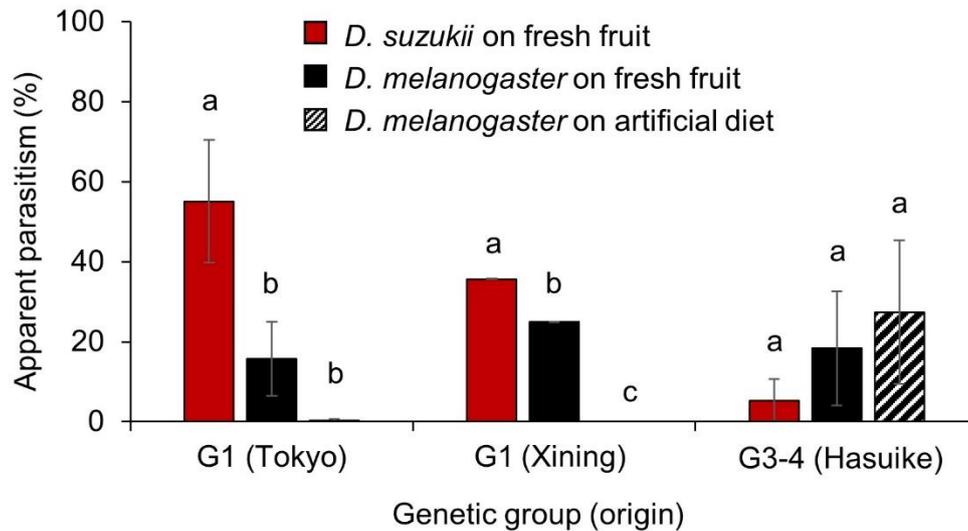


Figure 8 : Variation du parasitisme apparent de *Ganaspis cf. brasiliensis* à partir de deux groupes moléculaires parasitant deux espèces hôtes et deux milieux nutritifs dans des tests à trois choix. Trois conditions expérimentales ont été testées dans ce test de choix : *Drosophila suzukii* sur myrtille (rouge uni), *D. melanogaster* sur myrtille (noir uni), et *D. melanogaster* sur diète artificielle (noir rayé). Les tests ont été effectués avec des parasitoïdes de deux groupes génétiques, le groupe 1 étendu (G1) et les groupes 3-4 fusionnés (G3-4), originaires de différents endroits du Japon (Tokyo et Hasuike) et de Chine (Xining). La moyenne et l'erreur standard sont indiquées pour chaque condition expérimentale. Les barres avec les mêmes lettres minuscules ne sont pas significativement différentes à $\alpha = 0,05$ selon le test HSD de Tukey. Au total, 68 guêpes femelles ont été testées : 20 provenant de Hasuike, 24 de Tokyo et 24 de Xining (Seehausen et al. 2020).

En outre, un essai biologique à quatre choix a été réalisé (Seehausen et al. 2020) pour évaluer si la spécificité de l'habitat de G1 et la généralité de G3-4 *G. cf. brasiliensis* sont également valables lorsqu'on offre des choix plus naturels de fruits frais et en décomposition. Dans ce test biologique, des réponses opposées en matière de parasitisme entre les groupes génétiques G1 et G3-4 ont été enregistrées : G1 de Tokyo a parasité des hôtes dans les fruits frais nettement plus souvent que dans les fruits en décomposition, indépendamment de l'espèce d'hôte testée (*D. suzukii* et *D. melanogaster*). Pour le G3-4 de Hasuike, cependant, il y a eu une interaction significative entre les espèces hôtes et le statut du fruit, avec un parasitisme significativement plus élevé de *D. melanogaster* se nourrissant de fruits en décomposition, par rapport aux fruits frais (Fig. 9).

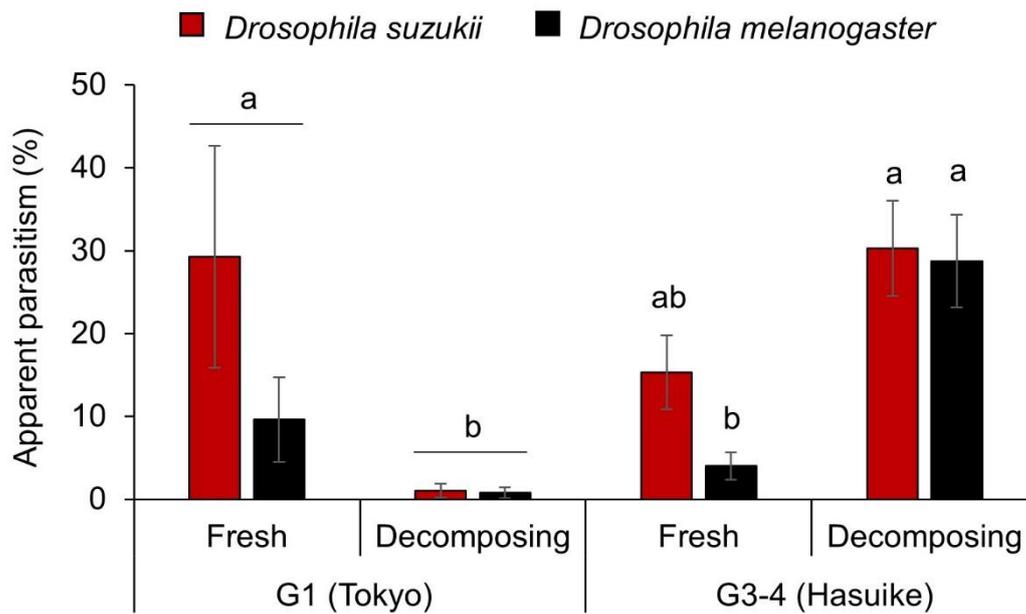


Figure 9 : Variation du parasitisme apparent de *Ganaspis cf. brasiliensis* à partir de deux groupes moléculaires parasitant deux espèces hôtes sur des fruits frais et en décomposition dans des tests à quatre choix. Quatre conditions expérimentales ont été testées dans les tests de choix : toutes les combinaisons des hôtes *Drosophila suzukii* (rouge) et *D. melanogaster* (noir) se nourrissant de myrtilles fraîches et en décomposition. Les tests ont été effectués avec des parasitoïdes de deux groupes génétiques, le groupe 1 étendu (G1) et les groupes fusionnés 3-4 (G3-4), originaires de deux endroits au Japon (Tokyo et Hasuike). La moyenne et l'erreur type sont indiquées pour chaque condition expérimentale. Les barres avec les mêmes lettres minuscules ne sont pas significativement différentes à $\alpha = 0,05$ selon le test HSD de Tukey. Au total, 27 et 22 femelles originaires de Tokyo et de Hasuike ont été testées, respectivement (Seehausen et al. 2020).

Les résultats d'une expérience non publiée avec un olfactomètre à quatre bras confirment les choix décrits ci-dessus. G1. *G. cf. brasiliensis* de près de Tokyo, au Japon, étaient attirés par les odeurs de myrtilles fraîches mais repoussés par celles en décomposition (Fig. 10A). De plus, les odeurs de myrtilles fraîches infestées par *D. suzukii* ont attiré les parasitoïdes alors que celles des myrtilles non infestées ne l'ont pas fait (Fig. 10B) et les odeurs des myrtilles infestées étaient clairement attirantes alors que celles des myrtilles infestées par la diète artificielle ne l'étaient pas (Fig. 10C).

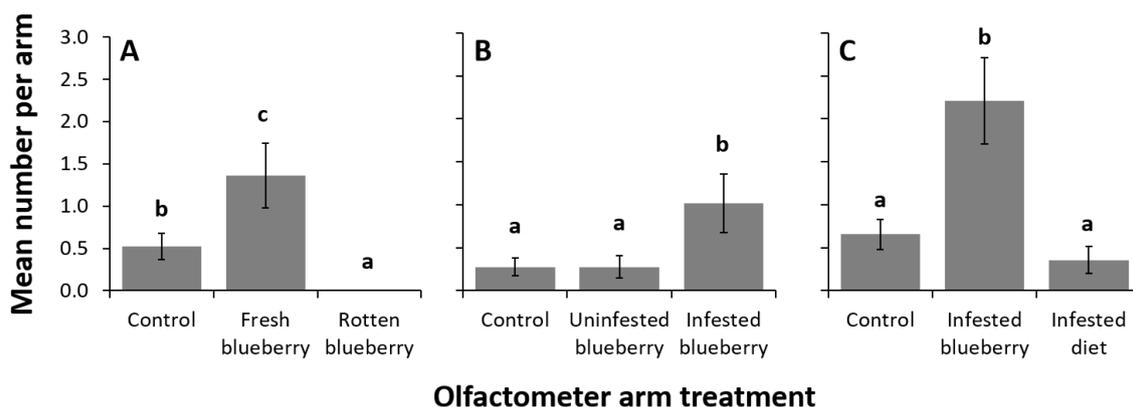


Figure 10 : Nombre moyen (\pm SE) de G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* de près de Tokyo, Japon, par bras d'un olfactomètre à quatre bras avec deux bras vides comme témoins (regroupés dans cette figure) et deux bras contenant des sources d'odeur, qui ont varié pour chacun des trois essais : (A) myrtille fraîche et pourrie, (B) myrtille fraîche et myrtille infestée par des larves de *Drosophila suzukii*, et (C) myrtille infestée et diète artificielle contenant des larves de *D. suzukii*. Pour chaque essai biologique, 20 femelles parasitoïdes inexpérimentées ont été relâchées dans la chambre principale de l'olfactomètre et le nombre de parasitoïdes par bras a été compté après 24 h.

La découverte que *G. cf. brasiliensis* est probablement un complexe d'au moins deux espèces sœurs et que l'une d'entre elles peut clairement être associée à une plus grande spécificité d'habitat pour les fruits frais, montre l'aptitude de G1 *G. cf. brasiliensis* à contrôler *D. suzukii* et permet de se concentrer sur cette espèce pour les efforts de développement d'un programme de lutte biologique classique. La différence d'habitat naturel entre *D. suzukii* immatures se développant dans les fruits frais mûrs et les autres espèces de drosophiles frugivores dans les fruits en décomposition pourrait traduire la spécificité d'habitat de G1 *G. cf. brasiliensis* en une spécificité d'hôte. Si elles sont entièrement spécifiques aux fruits mûrs dans des conditions naturelles, les guêpes G1 ne parasiteront que *D. suzukii* dans son aire de répartition envahissante.

Des études de laboratoire menées par des groupes de recherche à l'étranger ont également montré que, par rapport aux autres espèces de parasitoïdes asiatiques, *G. cf. brasiliensis* est l'espèce la plus spécifique à l'hôte, avec toutefois des degrés de spécificité variables (Daane et al. 2016, Giorgini et al. 2019, Biondi et al. 2021, Daane et al. 2021). Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que les populations de laboratoire utilisées pour les tests se sont avérées par la suite être un mélange de génotypes G1 et G3.

Étude dans des grandes cages de terrain (conditions quasi-naturelles) :

Comme indiqué dans la section ci-dessus, les résultats d'expériences en laboratoire suggèrent que le parasitoïde G1 *G. cf. brasiliensis* est un agent de lutte biologique sûr et efficace. Donc, après l'étude approfondie en laboratoire de quarantaine et avant la libération en plein champ, des libérations du parasitoïde dans des grandes cages de terrain ont été effectuées pour évaluer sa spécificité de l'hôte dans des conditions quasi-naturelles (Seehausen et al., 2022). Après avoir reçu un permis pour des disséminations expérimentales, des G1 *G. cf. brasiliensis* ont été libérés dans des cages à trois dates en août 2021 dans deux régions de Suisse, les cantons du Jura et du Tessin. Les parasitoïdes relâchés avaient le choix de parasiter soit les larves de *D. suzukii* dans les fruits frais (myrtilles ou baies de sureau), soit l'espèce indigène non ciblée *D. melanogaster* dans les fruits en décomposition. Les résultats

ont été sans équivoque : le parasitisme apparent des larves de *D. suzukii* se nourrissant de fruits frais était en moyenne de 13%, alors qu'un seul parasitoïde a émergé de *D. melanogaster* se nourrissant de fruits en décomposition (0,03% de parasitisme ; Figure 11). Ainsi, les résultats confirment les conclusions de précédentes expériences de laboratoire selon lesquelles G1 *G. cf. brasiliensis* est hautement spécifique aux larves de *D. suzukii* se nourrissant de fruits frais et le parasitisme de *D. melanogaster*, espèce étroitement apparentée à *D. suzukii* mais se nourrissant de fruits en décomposition, est très rare. Parce que dans son aire de répartition envahie, *D. suzukii* est la seule espèce de drosophile qui peut attaquer et se développer dans des fruits frais non endommagés, cette étude a confirmé la biosécurité de G1 *G. cf. brasiliensis* et conclut que les lâchers en plein champ du parasitoïde ne devraient pas poser de risques significatifs pour les espèces non cibles (Seehausen et al., 2022).

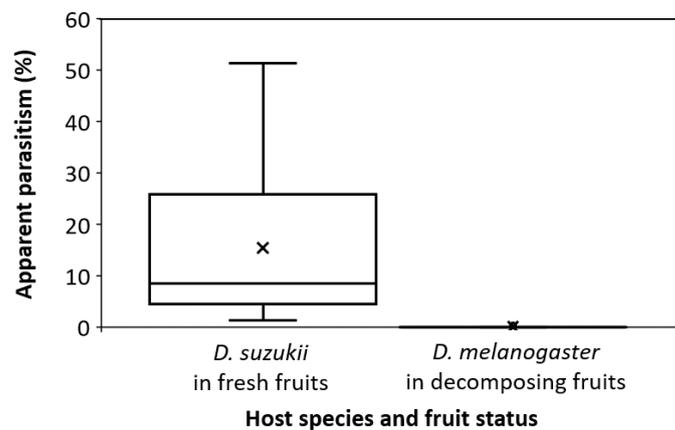


Figure 11 : Résultats d'un test de choix avec G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* dans des cages de grande taille en termes de pourcentage de parasitisme apparent de *Drosophila suzukii* dans les fruits frais et de *D. melanogaster* dans les fruits en décomposition.

Études sur le terrain (gamme d'hôtes écologiques) :

Sur la base des spécimens de musées et de l'analyse de matériel collecté sur le terrain, G1 *G. cf. brasiliensis* est décrit dans la littérature comme spécifique à *D. suzukii* (Nomano et al. 2017). Cependant, des expériences approfondies sur le terrain concernant la spécificité d'hôte de *G. cf. brasiliensis* font défaut. Deux études sur les *Drosophila* spp. attaquant le cerisier sauvage au Japon ont trouvé des G1 *G. cf. brasiliensis* émergeant de pupes de *D. suzukii* provenant de fruits mûrs sur la plante et de fruits récemment tombés, mais on ne sait toujours pas quand les hôtes ont été attaqués et si d'autres espèces de *Drosophila* ont également été attaquées (Kasuya et al. 2013 ; Matsuura et al. 2017).

Au cours de plusieurs enquêtes en Asie, les *G. cf. brasiliensis* (quel que soit leur groupe génétique) n'ont toujours été collectées qu'à partir de fruits frais mûrs et n'ont jamais été obtenues à partir d'appâts à fruits, tels que des tranches de banane (Kasuya et al. 2013 ; Daane et al. 2016 ; Giorgini et al. 2019 ; Girod et al. 2018c), ce qui indique un degré élevé de spécificité de l'habitat pour les fruits frais dans les conditions de terrain.

Au Canada, le G1 *G. cf. brasiliensis* n'a été trouvé jusqu'à présent qu'émergeant de pupes de *D. suzukii*, cependant, les résultats disponibles ne concernent que deux saisons de plein champ (2019 et 2020) et des nouvelles études sont en cours (P. Abram, communication personnelle).

Pendant le suivi post-lâcher à la fin de l'été et à l'automne après les lâchers en plein champ en 2021 dans le nord de l'Italie, G1 *G. cf. brasiliensis* n'a été obtenu qu'à partir de *D. suzukii* dans des fruits frais sur des plantes (Fellin et al. 2023). D'autres études post-lâchers ont été et seront menées en Italie, mais leurs résultats ne sont pas encore disponibles.

Ces résultats confirment l'hypothèse selon laquelle la gamme d'hôtes écologiques de G1 *G. cf. brasiliensis* est limitée aux espèces de drosophiles se nourrissant de fruits frais. Alors qu'en Asie, cela peut inclure quelques autres espèces de drosophiles, par exemple *D. pulchrella* et *D. subpulchrella*, en Europe et en Amérique du Nord, *D. suzukii* est la seule espèce qui attaque les fruits frais et donc, le parasitoïde serait spécifique à l'espèce cible.

2.8.5 Description des organismes associés potentiels (ennemis naturels, pathogènes, commensaux) et méthodes visant à les éliminer

Aucun agent pathogène, prédateur ou hyperparasitoïde n'a été retrouvé dans la collection originale de *G. brasiliensis* provenant de différentes origines en Chine et au Japon. Les colonies du parasitoïde sont en quarantaine depuis 2015, donc tout organisme associé qui pourrait être nuisible devrait avoir été détecté à ce jour. Les matériaux hôtes accompagnant le parasitoïde proviennent de Chine et ont été congelés à -80°C pendant au moins 72 heures avant d'être retirés du laboratoire de quarantaine.

2.8.6 Résistances et sensibilités particulières (froid, sécheresse, produits phytosanitaires, etc.)

Une expérience qui n'a pas encore été publiée a été menée en collaboration avec le Dr Jana Collatz et Nina Häner de l'Agroscope Zürich-Reckenholz, pour tester la tolérance au froid de différents stades de vie de G1 *G. cf. brasiliensis*. Des myrtilles ont été exposées pendant 24 h à *D. suzukii* et incubées à 22°C pendant 24 h supplémentaires pour permettre l'éclosion des oeufs. Les myrtilles infestées ont ensuite été exposées pendant 24 h à G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* pour le parasitisme. Les larves de *D. suzukii* parasitées dans les myrtilles ont ensuite été élevées à 22°C jusqu'à ce que le stade de développement souhaité du parasitoïde soit atteint. Le temps d'élevage pour atteindre les différents stades de vie du parasitoïde était le suivant : œuf : pas d'incubation ; larve de parasitoïde dans la larve de *D. suzukii* : 3 j ; larve de parasitoïde dans le puparium de *D. suzukii* : 7 j ; prénymphe ou nymphe de parasitoïde dans le puparium de *D. suzukii* : 14 j ; adulte : environ 30 jours (selon le sexe). Pour chaque stade parasitoïde subadulte, 24 myrtilles contenant des *D. suzukii* potentiellement parasités ont été soumises à un traitement par le froid, ainsi que 12 mâles adultes, 8 femelles vierges et 8 femelles accouplées. L'exposition au froid a commencé par une période d'acclimatation de 7 jours à 10°C, suivie de 7 jours à 5°C. L'exposition était de 7 jours à 0°C et ensuite une ré-acclimatation progressive (une semaine à 5°C et 10°C) aux conditions d'élevage standard (22°C). D'autres nymphes de parasitoïdes ont également été exposées pendant 28 jours à 0°C. Après la ré-acclimatation, l'émergence des parasitoïdes et des mouches a été contrôlée chaque semaine pendant 3 à 5 semaines, en fonction du stade de développement traité. La survie des adultes a été évaluée 24 et 48 h après la fin de la période de ré-acclimatation. Pour chaque stade de vie des parasitoïdes subadultes, 9 myrtilles qui ont été exposées à *D. suzukii* et *G. cf. brasiliensis* en même temps que celles soumises au traitement par le froid ont été élevées à 22°C en continu pour évaluer le succès du parasitisme sans traitement par le froid (contrôle).

Les résultats ont montré que (1) aucun des parasitoïdes adultes n'a survécu au traitement par le froid ; (2) tous les stades de vie des parasitoïdes subadultes peuvent survivre à une période de froid de 7 jours sans différences substantielles par rapport aux témoins ; et (3) les pupes des parasitoïdes peuvent également survivre à une période de froid de 28 jours sans différences substantielles par rapport aux témoins (Figure 12).

Ainsi, G1 *G. cf. brasiliensis* est capable de survivre, aux stades de développement subadultes, aux chutes de température, comme celles qui se produisent au printemps ou à l'automne en Suisse. En outre, les résultats montrent que le stade prénympgal ou nympgal qui est soupçonné d'entrer en diapause induite par les basses températures (Hougardy et al. 2019) est dans une certaine mesure résistant au froid et peut supporter 28 j à 0°C.

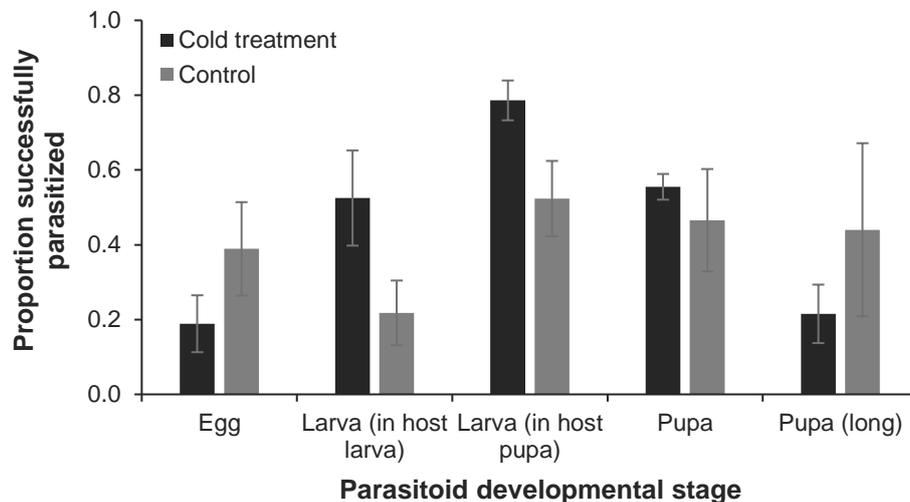


Figure 12 : Proportion de *Drosophila suzukii* parasitée avec succès par G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* lorsque (barres noires) soumise au traitement par le froid à différents stades de développement ou (barres grises) élevée à température ambiante comme témoin. Les traitements au froid consistaient en un refroidissement progressif et en 7 jours à 0°C. Seul le stade nympgal du parasitoïde a également été soumis à 28 jours à 0°C (Pupa (long)).

D'autres résistances ou sensibilités particulières (par exemple à la sécheresse ou aux pesticides) peuvent être supposées mais n'ont pas encore été étudiées. Cependant, en tant qu'endoparasitoïde de *D. suzukii*, la survie de *G. brasiliensis* est étroitement liée à la survie de son hôte. Par conséquent, on peut supposer que les sensibilités connues pour les stades immatures de *D. suzukii*, telles que les conditions de chaleur et de sécheresse extrêmes, s'appliquent également au parasitoïde.

2.8.7 Répartition géographique actuelle

Tous les groupes génétiques de *G. brasiliensis* sont présents en Asie, mais le groupe G1 n'a été enregistré qu'en Asie de l'Est (Chine, Japon et Corée du Sud) et en 2019, pour la première fois au Canada, en Colombie-Britannique (points rouges sur la figure 13). D'autres spécimens historiques de *G. brasiliensis* (trouvés au Musée national d'histoire naturelle, Smithsonian Institution, Washington DC, USA, et au Musée d'histoire naturelle, Paris, France) ont tous été collectés dans les Caraïbes et au Panama, tandis que la plupart des spécimens récemment collectés ont tous été trouvés au Japon, en Corée du Sud et en Chine. Un récent réexamen de la morphologie a confirmé que certains spécimens précédemment signalés comme *G. xanthopoda* ou *Ganaspis* sp. dans la littérature en Indonésie, en Malaisie, en Thaïlande, aux Philippines, à Hawaï, en Ouganda, au Bénin et au Brésil sont *G. brasiliensis* (Carton et al. 1986, Schilthuizen et al. 1998, Kacsoh et Schlenke 2012, Kimura et Suwito 2012, 2015, Buffington et Forshage 2016, Daane et al. 2016, Nomano et al. 2017, Girod et al. 2018c, Giorgini et al. 2019, Seehausen et al. 2020). Les informations les plus récentes sur la répartition mondiale de *G. brasiliensis* ont été ajoutées pour le Mexique (Gonzalez-Cabrera et al. 2020), le Canada (Abram et al. 2020), l'Argentine (Gallardo et al. 2021), et les États-Unis (Beers et

al. 2022). Comme les lâchers en plein champ de G1 *G. cf. brasiliensis* en Italie n'ont été effectués qu'au cours de l'été 2021, on ne peut pas encore confirmer avec certitude son établissement en Europe.

Étant donné que toutes les lignées sont présentes en Asie de l'Est et compte tenu de l'origine asiatique du *D. suzukii* et du fait que *G. brasiliensis* était l'un des parasitoïdes dominants directement prélevé sur les fruits d'hôtes sauvages infestés par le *D. suzukii* en divers endroits d'Asie de l'Est, l'ancêtre commun des différentes lignées se trouve probablement en Asie et l'espèce pourrait avoir été introduite sur les autres continents, à savoir les Amériques et l'Afrique (Buffington & Forshage 2016, Nomano et al. 2017). La figure 13 indique que nos connaissances sur la répartition de G1 *G. cf. brasiliensis* en Asie sont plutôt limitées et que davantage de données sont nécessaires, en particulier dans les régions tempérées d'Asie.

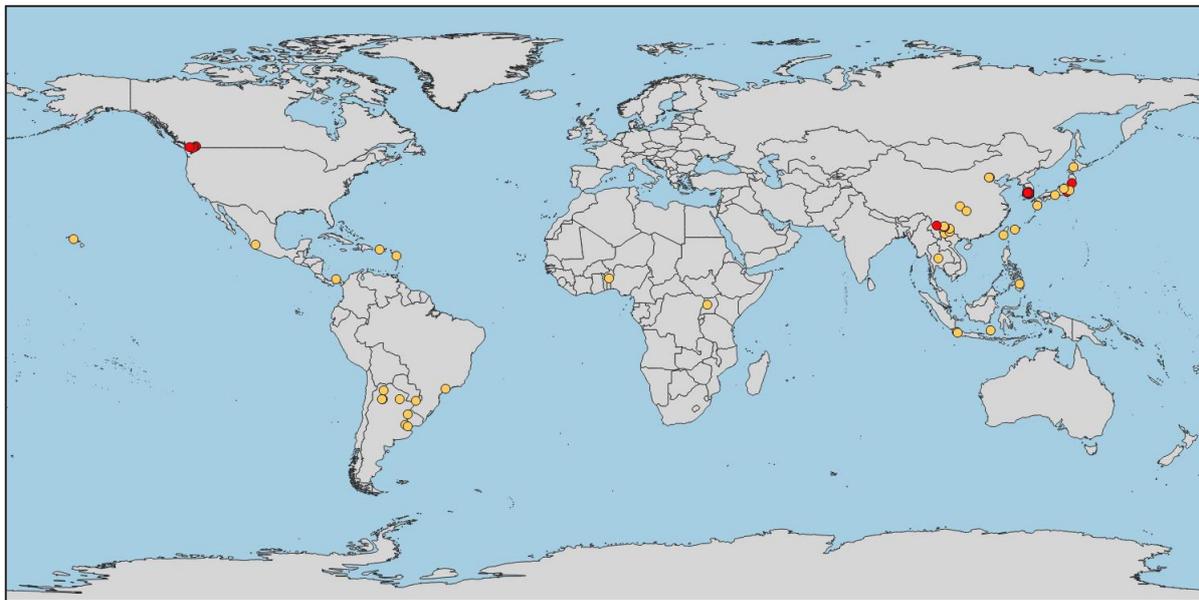


Figure 13 : Distribution actuelle connue de *Ganaspis brasiliensis*. Les points rouges indiquent les endroits où le groupe génétique G1 a été trouvé et les points jaunes ceux où d'autres groupes génétiques ont été trouvés ou n'ont pas encore été identifiés.

Drosophila suzukii est originaire d'Asie du Sud-Est et a été détectée pour la première fois aux États-Unis (Californie) et en Europe du Sud (Italie, Espagne) en 2008 (Asplen et al. 2015). Depuis lors, l'espèce s'est rapidement développée et est maintenant présente dans la majeure partie de l'Europe (EPPO 2021). En Suisse, elle a été trouvée pour la première fois en juillet 2011 sur des myrtilles dans le canton du Tessin et sur des framboises dans le canton des Grisons (Baroffio et Fischer 2011). Elle est maintenant largement répandue dans toute la Suisse sauf dans les régions alpines à haute altitude, et est présente dans les cantons du Tessin et du Jura (Kenis et al. 2016), où les libérations de G1 *G. cf. brasiliensis* seront effectués.

2.8.8 Persistance et multiplication dans les conditions suisses

Les résultats des données de performance en fonction de la température présentés ci-dessus au point 2.8.3 sont utilisés ici pour développer un modèle CLIMEX préliminaire afin de prévoir l'adéquation climatique de G1 *G. cf. brasiliensis* pour le climat européen, et en particulier pour le climat plus complexe de la Suisse. Le modèle est préliminaire car jusqu'à présent, relativement peu de données de distribution sont disponibles et certains des paramètres biologiques du parasitoïde qui peuvent être utilisés dans CLIMEX (c'est-à-dire le seuil supérieur de température pour le développement et la réaction à l'humidité) restent à étudier.

CLIMEX utilise un indice de croissance annuel (=Growth Index ; IG) pour décrire le potentiel de croissance de la population en fonction de la température et de l'humidité du sol dans des conditions favorables, et des indices de stress (froid, humidité, chaleur, sécheresse) pour déterminer l'effet du stress abiotique sur la survie dans des conditions défavorables. Les indices de croissance et de stress sont calculés chaque semaine, puis combinés en un indice annuel global d'adéquation climatique, l'indice écoclimatique (Ecoclimatic Index ; EI), qui va de EI=0 pour les endroits où l'espèce n'est pas capable de persister à EI = 100 pour les endroits qui sont optimaux pour l'espèce. Toutefois, dans les climats tempérés, la valeur maximale de l'IE est plutôt proche de 50 et des valeurs >20 sont suffisantes pour supporter des densités de population importantes (Sutherst et al. 2007).

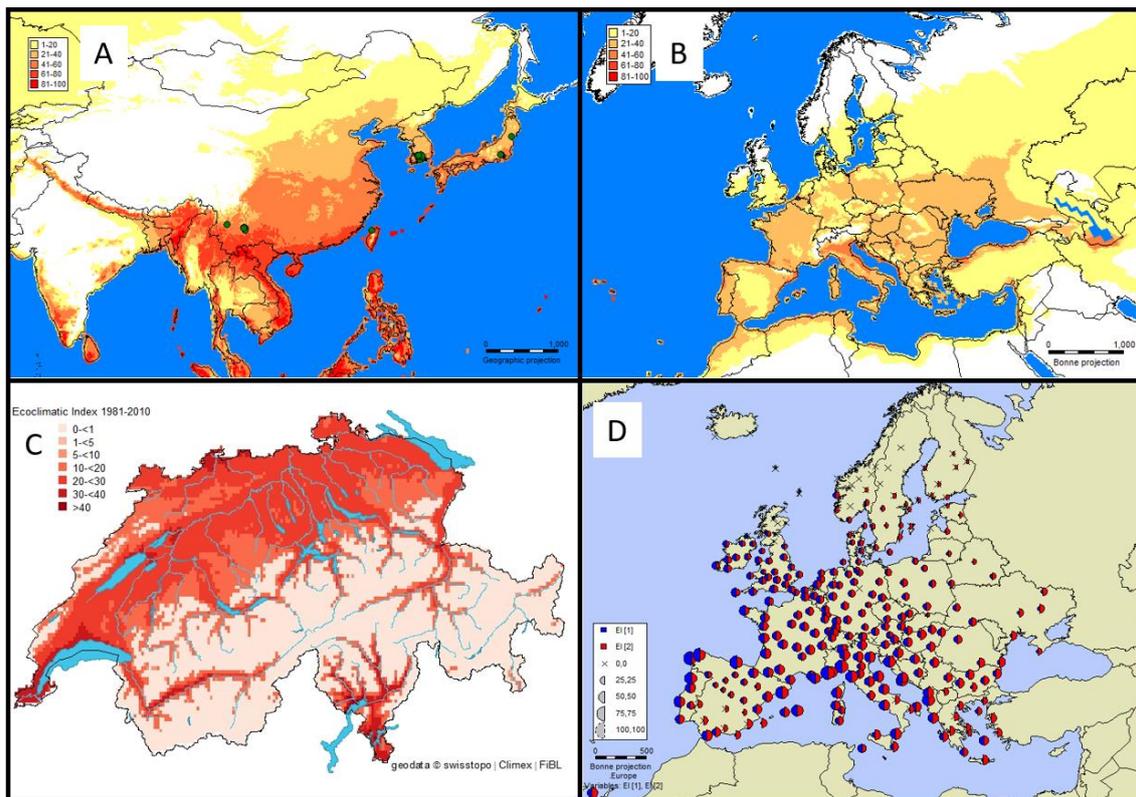


Figure 14 : Cartes CLIMEX de la distribution prévue du G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* et de l'abondance relative (indice écoclimatique) en (A) Asie (les points verts représentent la distribution indigène connue du parasitoïde dans la littérature), (B) Europe, (C) Suisse, et (D) distribution prévue combinée de *Drosophila suzukii* (bleu) et G1 *G. cf. brasiliensis* (rouge) en Europe.

Les résultats du modèle préliminaire CLIMEX montrent que

- 1) G1 *G. brasiliensis* devrait avoir une répartition assez large en Asie du Sud-Est qui reste à vérifier (figure 14A). Une tentative d'étude plus approfondie de la répartition des différents groupes génétiques du parasitoïde en Asie en 2020 a échoué en raison des restrictions de voyage liées à COVID-19 ;
- 2) une grande partie de l'Europe centrale et méridionale devrait convenir au parasitoïde (EI>20), en particulier le nord de l'Italie, la côte du nord-est de l'Espagne et la côte nord du Portugal (figure 14B) ;

- 3) en Suisse, les régions tempérées et continentales aux étés chauds devraient être propices au parasitoïde (physiogéographiquement, cela correspond principalement aux zones de faible altitude du Jura et du Plateau central). Les vallées plus chaudes, telles que la vallée du Rhin et le Rhône, élargissent encore la répartition potentielle dans les Alpes. En outre, une grande partie du canton du Tessin devrait également convenir au G1 *G. cf. brasiliensis* (figure 14C) ;
- 4) en combinant les modèles CLIMEX pour *D. suzukii* (moitiés bleues dans la figure 14D ; Marc Kenis, non publié) et G1 *G. cf. brasiliensis* (moitiés rouges dans la figure 14D), la distribution potentielle du parasitoïde en Europe dépasse celle de l'hôte, ce qui démontre le potentiel d'un contrôle réussi dans toutes les zones envahies.

2.8.9 Indications concernant un comportement envahissant des organismes devant être disséminés ou d'organismes voisins dans d'autres régions

La seule introduction et l'établissement accidentel confirmé de G1 *G. cf. brasiliensis* est connu de la Colombie-Britannique, Canada (Abram et al. 2020). Seules deux années (2019 et 2020) de collectes sur le terrain ont été effectuées jusqu'à présent, mais les données montrent que le parasitoïde est sûrement distribué de la côte ouest de Vancouver à Hope, à l'extrémité est de la vallée du Fraser et à l'extrémité sud du canyon du Fraser (P. Abram, communication personnelle ; voir les points de la Fig. 15). Il est intéressant de noter que ces points de distribution connus correspondent bien à la distribution prédite par le même modèle CLIMEX que celui présenté ci-dessus (Fig. 14).

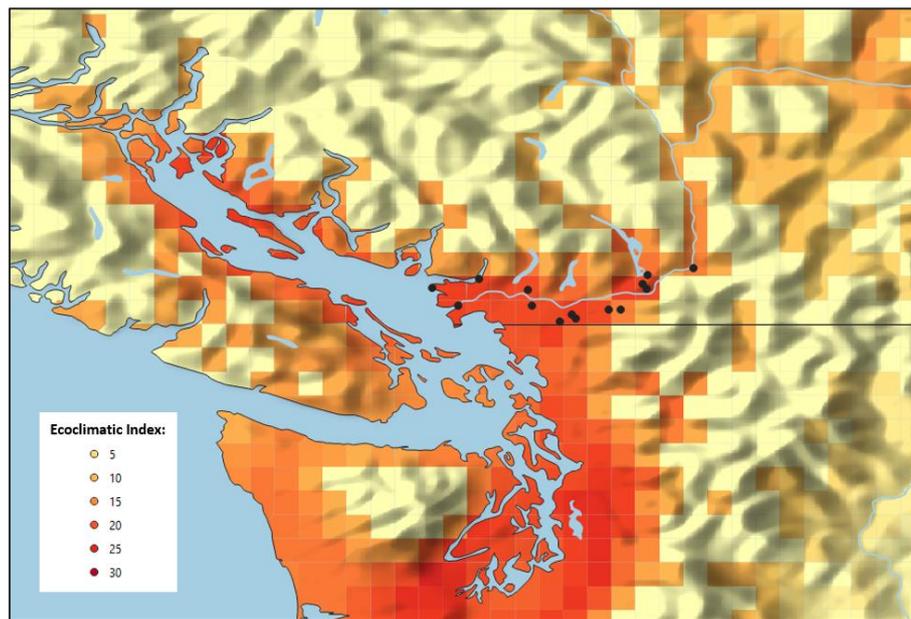


Figure 15 : Distribution de *Ganaspis brasiliensis* en Colombie britannique, Canada, telle que prédite par l'indice écoclimatique dans CLIMEX (champs colorés) et observée par des enquêtes de terrain effectuées en 2019 et 2020 (P. Abram, communication personnelle).

Un autre parasitoïde asiatique de *D. suzukii*, espèce *Leptopilina japonica*, également Figitidae, a été trouvée dans la même zone de Colombie-Britannique décrite ci-dessus, à la différence qu'elle est également obtenue d'autres drosophiles que *D. suzukii* (Abram et al. 2020). En 2020, dans une grande région du sud-ouest de la Colombie-Britannique, *L. japonica* et *G. brasiliensis* ont été trouvés en très grand nombre dans les fruits de la plupart des plantes hôtes connues pour héberger les larves de *D. suzukii*, dans une variété d'habitats

pendant toute la saison (mai-octobre) (Abram et al. 2021). Les deux parasitoïdes étaient responsables de plus de 98% du parasitisme des larves de *D. suzukii* et coexistaient généralement. Le parasitisme de *D. suzukii* était variable selon les plantes hôtes et les sites (0-66% de parasitisme) et semblait être structuré dans le temps. Les résultats de cette étude indiquent que l'association étroite entre les deux parasitoïdes larvaires et *D. suzukii* qui existe en Asie s'est manifestement reconstituée en Amérique du Nord, ce qui se traduit par les plus hauts niveaux de parasitisme de *D. suzukii* jamais enregistrés en dehors de sa zone d'origine. Ainsi, l'exemple de la Colombie britannique au Canada montre qu'un contrôle efficace de *D. suzukii* par des parasitoïdes asiatiques est possible en dehors de leur zone d'origine.

L'espèce de parasitoïde plus généraliste, *L. japonica*, a également été récemment trouvée pour la première fois en Italie (Puppato et al. 2020). Elle est apparue à partir d'échantillons de cerises collectés sur six sites dans la région du Trentin en 2019 et 2020, ce qui suggère que *L. japonica* a déjà colonisé une zone relativement étendue. Cependant, on ne sait toujours pas quelles espèces de drosophiles ont été attaquées par *L. japonica* en Italie.

3 Réalisation de la dissémination expérimentale

3.1 Description de la dissémination expérimentale, y compris des méthodes, et indication des quantités d'organismes qui seront disséminés

L'objectif de cette dissémination expérimentale est de développer des stratégies de libérations du parasitoïde en Suisse qui augmentent l'efficacité et les chances d'établissement. Les objectifs spécifiques sont (1) de corroborer les prédictions des distributions potentielles du parasitoïde en le relâchant dans deux régions climatiques de la Suisse, (2) de déterminer la quantité de parasitoïdes relâchés nécessaire pour un établissement réussi, (3) de tester l'hypothèse que les parasitoïdes qui n'ont été élevés que pendant une courte période dans des conditions de laboratoire s'établissent plus facilement que ceux qui ont été élevés pendant plusieurs années dans des conditions de laboratoire constantes, et (4) d'étudier l'hivernage du parasitoïde dans des conditions naturelles en Suisse.

(1) Libération de G1 *G. cf. brasiliensis* dans différentes zones de la Suisse

Selon un modèle écoclimatique (CLIMEX) qui a été développé pour G1 *G. cf. brasiliensis*, en Suisse, les régions tempérées et continentales avec des étés chauds sont prédites comme étant appropriées pour le parasitoïde (voir section 2.8.8 en haut). Physio-géographiquement, cela correspond principalement aux zones de basse altitude du Jura et du Plateau. Les vallées plus chaudes, telles que la vallée du Rhin et le Rhône, étendent encore la distribution potentielle jusque dans les Alpes. En outre, une grande partie du canton du Tessin devrait également convenir au G1 *G. cf. brasiliensis*. Pour corroborer la précision de modèle CLIMEX, nous proposons de libérer le parasitoïde dans deux régions de Suisse climatiquement et géographiquement différentes : au sud des Alpes dans le canton du Tessin et au nord des Alpes dans le canton du Jura. En fonction du résultat de la présente demande, il est proposé de procéder à des lâchers au début de l'été 2023 et 2024, avec une vérification de l'établissement à la fin de l'été de ces deux années, ainsi qu'avant les lâchers de 2024.

(2) Libération de différentes quantités de parasitoïdes

Contrairement à la lutte biologique augmentative, pour laquelle des agents sont libérés chaque année en grandes quantités, la lutte biologique classique ne nécessite que des libérations inoculatives d'agents. S'il est libéré dans des conditions favorables, dans la bonne région climatique où suffisamment d'hôtes sont disponibles, l'agent devrait s'établir et se reproduire jusqu'à atteindre une taille de population stable à long terme. Toutefois, pour que l'établissement initial soit réussi, l'agent de lutte biologique classique doit être libéré en quantités suffisantes. La littérature scientifique nous apprend que cette quantité est différente

pour chaque espèce et peut se situer entre <10 et plusieurs milliers d'individus (Hopper & Roush 1993 ; Fauvergue et al. 2012). Afin d'étudier la quantité nécessaire à l'établissement réussi de G1 *G. cf. brasiliensis* en Suisse et donc de mener des lâchers efficaces à l'avenir, nous proposons de libérer différentes quantités de parasitoïdes (par exemple 10, 100 et 1'000 femelles), chacune avec trois répliques, dans le canton du Jura, ainsi que dans le canton du Tessin (totale de 6'660). Les quantités exactes de parasitoïdes à libérer dépendront du succès de l'élevage, et de la décision nationale concernant l'autorisation de libérer. Cette expérience sera menée au début de l'été 2023, avec des vérifications d'établissement entreprises à la fin de l'été/début de l'automne de la même année, ainsi qu'au début de l'été 2024.

(3) Libération de nouveaux spécimens du Japon

Lorsque, au cours d'enquêtes, des collectes d'ennemis naturels sont effectuées dans la zone d'origine du ravageur, généralement très peu (<100) d'individus sont amenés au laboratoire de quarantaine pour la recherche. Afin d'effectuer les expériences nécessaires aux analyses de risque et d'efficacité, ces espèces sont ensuite élevées dans des conditions de laboratoire constantes pendant de nombreuses générations. Si cette approche est rentable et nécessaire pour la recherche, on sait maintenant qu'elle présente certains inconvénients pour les libérations. Par exemple, la faible diversité génétique initiale peut devenir encore plus faible pendant les goulots d'étranglement de l'élevage en laboratoire et conduire à peu de possibilités d'adaptation aux conditions sur le terrain et à une reproduction efficace. En outre, l'élevage à long terme en laboratoire peut entraîner une sélection involontaire des individus les mieux adaptés aux conditions stables du laboratoire, mais plutôt mal adaptés aux conditions difficiles du terrain. Ainsi, la libération d'ennemis naturels génétiquement diversifiés, qui n'ont été élevés en laboratoire que pendant une courte période, augmente les chances d'établissement et de croissance stable des populations dans de nouveaux environnements. Nous proposons de nous rendre au Japon en 2023 (si les restrictions de COVID-19 le permettent) et de collecter de nouveaux *G. cf. brasiliensis* à partir de *D. suzukii* attaquant des fruits frais, comme indiqué par Girod et al. (2018a). Les parasitoïdes seront amenés dans les installations de quarantaine de niveau 3 du CABI à Delémont et des lignées de femelles uniques (élevage séparé de la descendance par femelle collectée) seront établies. Cette méthode permet de tester la composition génétique de chaque lignée individuelle, en s'assurant que seuls les G1 *G. cf. brasiliensis* sont sélectionnés pour les libérations. L'hiver 2023/2024 sera utilisé pour augmenter les populations de laboratoire jusqu'à un nombre suffisant qui pourra être libéré au début de l'été 2024. En fonction du succès de l'élevage, il est prévu de libérer un maximum de 500 femelles adultes de G1 *G. cf. brasiliensis* dans chacun des trois sites par canton (Jura et Tessin), soit un total de 3'000 femelles. Des lâchers dans des zones différentes de celles des parasitoïdes élevés à long terme en laboratoire (mais dans les deux cantons, Jura et Tessin) seront effectués et le succès de l'établissement entre les deux groupes sera comparé lors des enquêtes de la fin de l'été/début de l'automne 2024 et du printemps 2025.

(4) Étudier l'hivernage du parasitoïde dans des conditions de terrain en Suisse

Il a été suggéré que *G. cf. brasiliensis* a une diapause facultative induite par les basses températures et passe l'hiver au stade pré-imago à l'intérieur de la caisse nymphale de son hôte (Hougardy et al. 2019). Cependant, jusqu'à présent, cette hypothèse est basée sur des individus élevés en laboratoire seulement et dans le cadre des disséminations expérimentales de G1 *G. cf. brasiliensis* en grandes cages de terrain en Suisse (Seehausen et al. 2022), il a été constaté que le parasitoïde passe l'hiver sous forme de petite larve dans des pupes de *D. suzukii* (Lukas Seehausen, communication personnelle). À notre connaissance, aucune observation n'a été faite dans des conditions de terrain. Pour étudier la survie et le stade de développement du parasitoïde pendant l'hiver, nous aimerions ici profiter de l'occasion pour

étudier l'hivernage du parasitoïde dans des conditions naturelles en Suisse. Pour ne pas perturber les expériences décrites ci-dessus, des lâchers supplémentaires de jusqu'à 1'000 femelles adultes de G1 *G. cf. brasiliensis* dans chaque de trois sites par endroit (Jura et Tessin) pourraient être nécessaires (total de 6'000 parasitoïdes femelles). Le stade d'hivernage du parasitoïde sera déterminé en collectant des pupes de drosophile pendant les hivers 2023/2024 et 2024/2025 et en les disséquant au laboratoire sous un stéréomicroscope. Une analyse supplémentaire de l'ADN des parasitoïdes hivernants peut être nécessaire pour une identification concluante.

3.2 Calendrier

Calendrier des activités proposées pour la dissémination expérimentale du parasitoïde G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* dans les trimestres (T) des années 2023-2025 :

Activité	2023				2024				2025		
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3
1) Climat		L	M			L	M			M	
2) Quantités		L	M			M					
3) Japon		V				L	M			M	
4) Hivernation											

L=Libération ; M=Monitoring ; V=Voyage ; RI= Rapport Intermédiaire ; RF=Rapport Final

3.3 Interventions sur le site de dissémination avant, pendant et après la dissémination expérimentale

Nous proposons de libérer G1 *G. cf. brasiliensis* dans les deux cantons du Jura et du Tessin. Dans chaque canton et communes nommées en bas, des lieux seront identifiés dans lesquels des fruits frais infestés par *D. suzukii* sont présents. Avant que les lâchers n'aient lieu, plusieurs fruits seront collectés et apportés au laboratoire, où ils seront incubés dans des récipients en plastique. En identifiant et en comptant tous les insectes émergents, cela permettra de déterminer le taux d'attaque du fruit par *D. suzukii* et de vérifier l'absence du parasitoïde avant les lâchers. Environ deux semaines après les lâchers, les fruits infestés seront à nouveau collectés et apportés au laboratoire pour déterminer la présence et le taux apparent de parasitisme par G1 *G. cf. brasiliensis*. Le taux de parasitisme apparent est la somme des parasitoïdes émergents, divisée par la somme de tous les insectes émergents (mouches hôtes et parasitoïdes). De plus, la collecte des fruits décrite ci-dessus sera répétée au moins une fois au printemps/début de l'été suivant l'année des lâchers, afin de vérifier l'établissement du parasitoïde après l'hiver. Pour cela, des cultures les plus tôt attaquées peuvent être utilisées.

Pour vérifier si G1 *G. cf. brasiliensis* attaque des *Drosophila* spp. non ciblées dans des conditions de terrain, des collectes de fruits en décomposition contenant des larves de drosophiles seront également effectués, aux mêmes endroits et à la même période que les fruits frais, comme décrit ci-dessus. Au laboratoire, les fruits en décomposition seront régulièrement vérifiés pour détecter les pupes de *Drosophila* spp., qui peuvent être identifiées morphologiquement, au moins pour distinguer entre l'hôte cible *D. suzukii* et d'autres espèces potentielles non ciblées (Abram et al. 2021). En élevant séparément les pupes cibles et les pupes non cibles, il est alors possible de déterminer d'où émerge le parasitoïde larval-pupal *G. cf. brasiliensis*. Si peu ou pas de fruits en décomposition sont trouvés dans les zones de lâcher, des pièges sentinelles contenant des fruits en décomposition seront mis en place. Ces fruits peuvent alors être infestés naturellement par des *Drosophila* spp. non ciblées, et collectés après une semaine pour être vérifiés en laboratoire pour les parasitoïdes émergents. Comme pour les collectes de fruits frais pour surveiller l'établissement, les enquêtes sur la

spécificité des hôtes seront également répétées au moins une fois au printemps/début de l'été suivant l'année des lâchers.

3.4 Techniques prévues pour l'inactivation des organismes à la fin de la dissémination

Aucune.

4 Site de la dissémination expérimentale

4.1 Situation géographique, dimensions du site de dissémination et description de l'environnement proche

Les libérations sont prévues dans quatre communes du canton du Jura (Delémont, Courtételle, Fontenais et Courgenay) et dans quatre du canton du Tessin (Tresa, Novazzano, Bellinzona et Giornico). La situation géographique des communes en Suisse est illustrée dans la figure 16 ci-dessous.

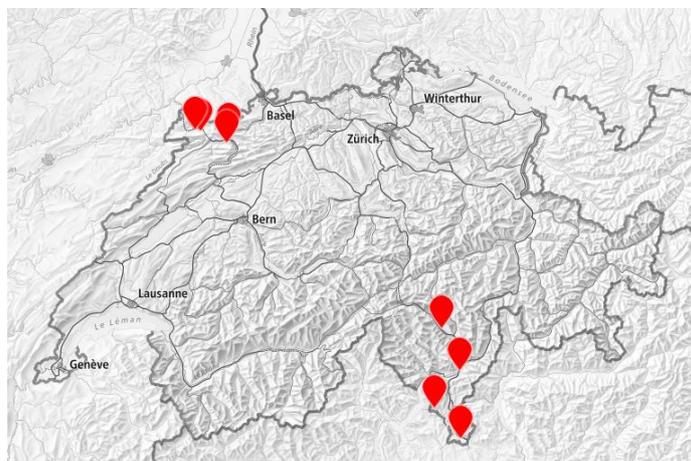


Figure 16 : Situation géographique des 8 communes des cantons du Jura et du Tessin dans lesquelles les lâchers de G1 *G. cf. brasiliensis* sont prévus.

Les libérations sont prévues dans des habitats où l'on trouve des fruits sauvages et ornementaux potentiellement infestés par l'hôte du parasitoïde et l'espèce cible *D. sukuzii*. Ces habitats peuvent par exemple se trouver en lisière de forêt, dans les haies et les ravins. Le fait qu'en Suisse, les plantes fruitières sauvages et les haies ne sont généralement pas traitées avec des insecticides, rend les libérations expérimentales possibles dans ces habitats. Pour une vue plus détaillée d'exemples de lieux de lâchers prévus dans les municipalités susmentionnées, veuillez consulter les figures 17 et 18.

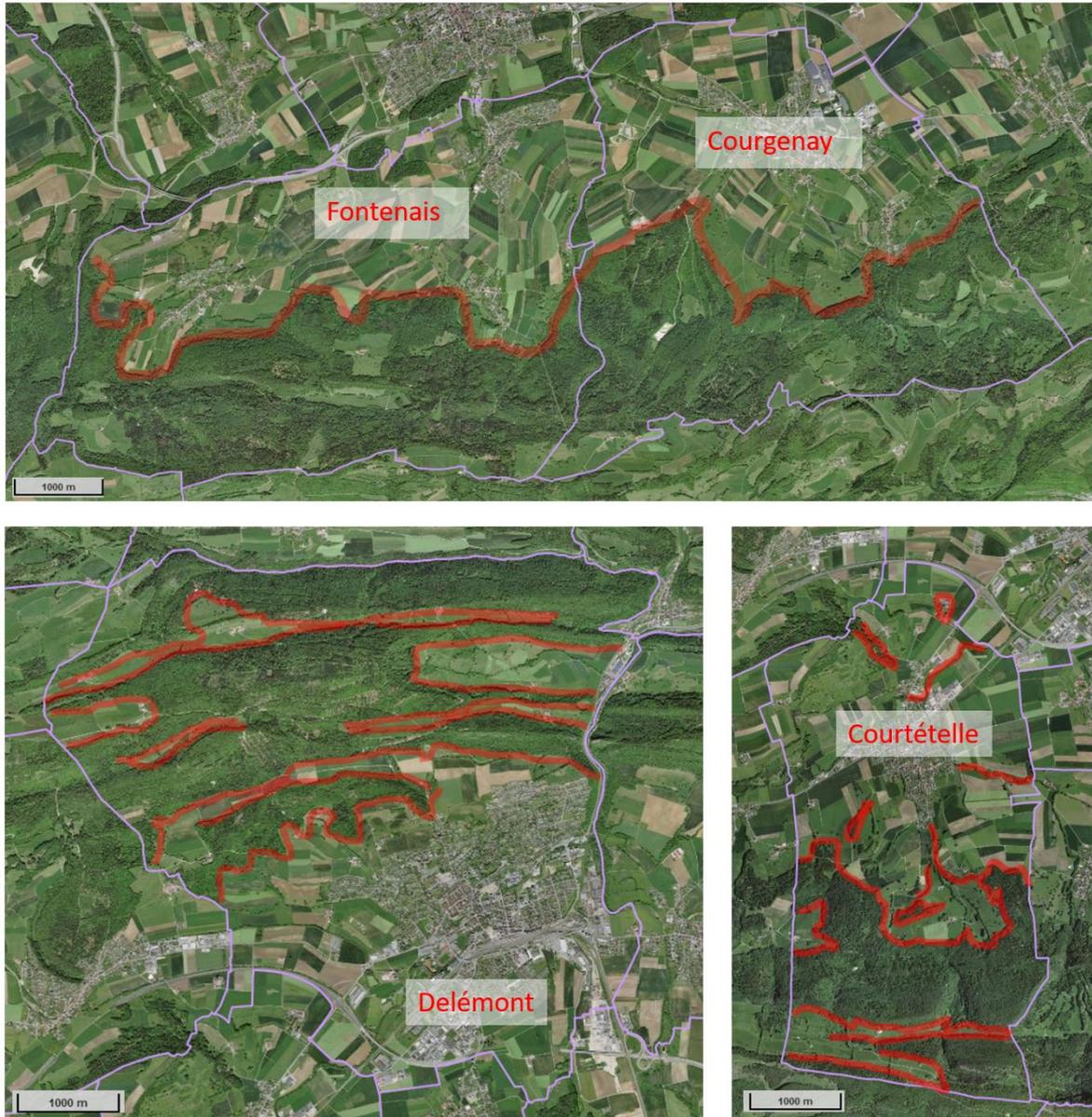


Figure 17 : Exemples de lieux de libération (lignes rouges) de G1 *G. cf. brasiliensis* dans des habitats où l'on trouve des fruits sauvages potentiellement infestés par *D. suzukii*, par exemple en lisières de forêts, dans des ravins et des haies, dans quatre communes du canton du Jura : Fontenais, Courgenay, Delémont et Courtételle.

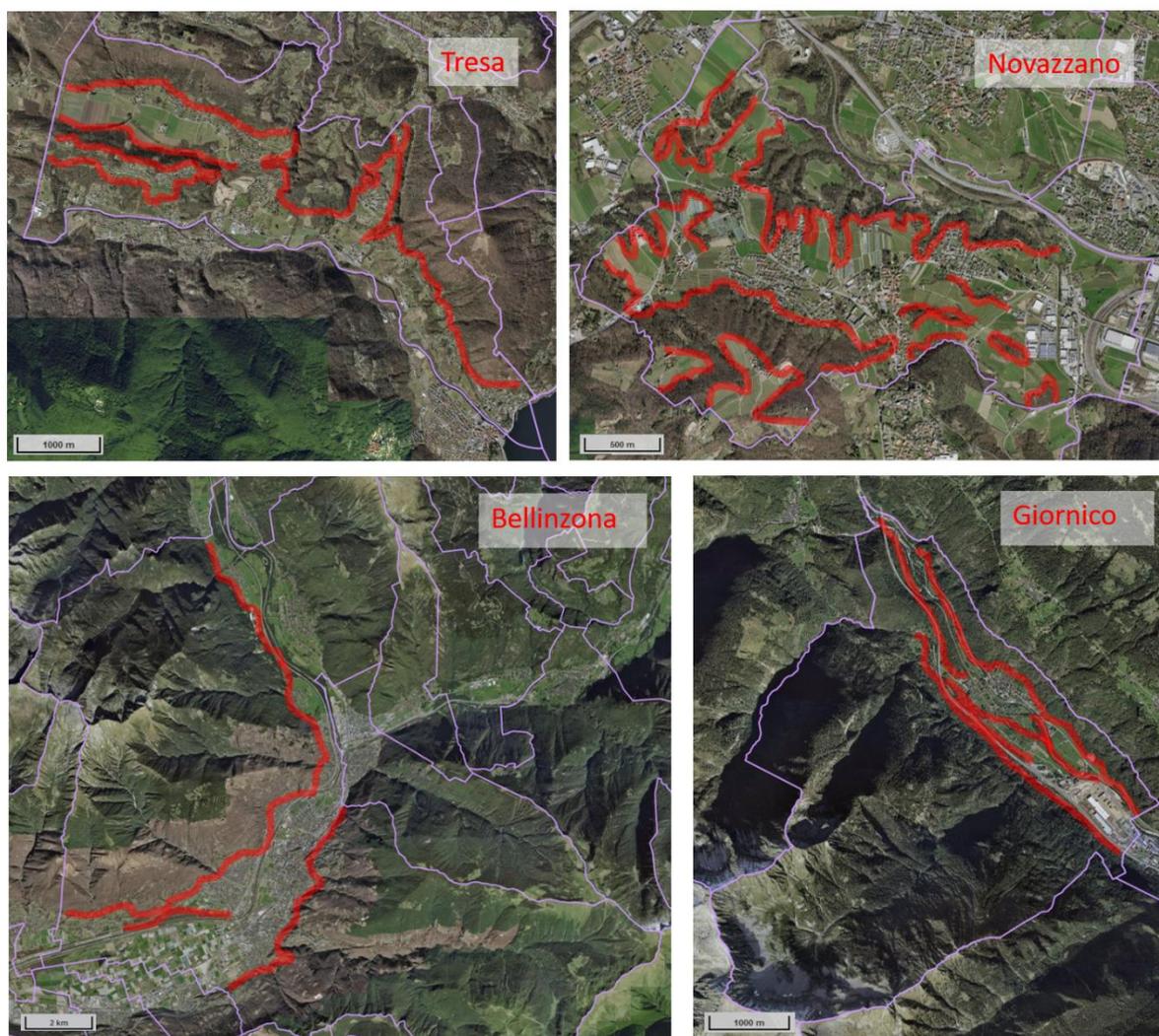


Figure 18 : Exemples de lieux de libération (lignes rouges) de G1 *G. cf. brasiliensis* dans des habitats où l'on trouve des fruits sauvages potentiellement infestés par *D. suzukii*, par exemple en lisières de forêts, dans des ravins et des haies, dans quatre communes du canton du Tessin : Tresa, Novazzano, Bellinzona, and Giornico.

4.2 Propriétés climatiques, géologiques et pédologiques du site de dissémination et de l'environnement proche

Les communes du canton du Jura où les libérations sont prévues sont situées dans la vallée de Delémont, une large dépression des montagnes du Jura (Delémont et Courtételle) et dans le district de Porrentruy, près de la frontière française (Fontenais et Courgenay). Les montagnes du Jura sont la première région à être touchée par des fronts qui atteignent la Suisse depuis l'ouest. Les précipitations moyennes y sont donc plus importantes que sur le Plateau suisse. Le nombre moyen de jours de précipitations est d'environ 10 par mois et les précipitations annuelles moyennes s'élèvent à environ 950 mm, les mois de mai à août étant les plus humides (96-105 mm de précipitations moyennes par mois). Les orages sont fréquents en été et dans les hautes vallées du Jura, des mares d'air froid caractéristiques peuvent se former en hiver avec des jours de neige fréquents entre décembre et février (chute de neige moyenne de 8 à 12 cm). À Delémont, les températures moyennes quotidiennes varient de 0,4°C (moyenne basse = -2,5°C) en janvier à 18,8°C (moyenne haute = 25,1°C) en juillet.

Dans le canton du Tessin, les sites sélectionnés dans les quatre communes sont tous situés dans des plaines et des vallées afin d'éviter les climats extrêmes que l'on peut rencontrer dans les hautes altitudes du canton. En général, le climat du Tessin est surtout influencé par la mer Méditerranée. En raison de sa situation au sud des Alpes, le canton est généralement abrité des vents froids du nord et les plaines ont des étés chauds et humides, et des hivers doux. Le climat est nettement plus chaud et humide que dans le reste de la Suisse et bénéficie également d'un ensoleillement plus important (>2300 heures d'ensoleillement par an). En été, le canton peut subir des orages et des pluies particulièrement intenses, mais les sécheresses sévères sont également fréquentes, tant en été qu'en hiver. Par exemple, à Bellinzona les températures moyennes vont d'environ 2°C (moyenne basse = -1°C) en janvier à 21°C (moyenne haute = 26°C) en juillet. Le climat est assez pluvieux, surtout à la fin du printemps et en été (précipitations moyennes en juin = 150 mm) en raison des orages de l'après-midi et en automne (précipitations moyennes en septembre = 120 mm) lorsque les pluies sont dues à des masses d'air chaud provenant de la mer Ligurienne. Les précipitations annuelles moyennes s'élèvent à environ 1300 mm.

4.3 Flore et faune, y compris les plantes et les animaux utiles ainsi que les espèces migratrices

Les libérations sont prévues le long des lisières forestières, des haies et des ravins, qui sont généralement riches en plantes fruitières telles que les *Rubus* spp. ou *Sambucus* spp. qui sont connues pour être attaquées par *D. suzukii* (Kenis et al. 2016). Kenis et al. (2016) qui ont collecté des échantillons de fruits de 39 espèces de plantes non cultivées au Tessin et dans le Jura, ont constaté que 24 d'entre elles étaient attaquées par *D. suzukii* à différents degrés (Figure 19). On peut donc s'attendre à ce que G1 *G. cf. brasiliensis* attaque son hôte *D. suzukii* dans ces plantes non cultivées, si elles sont présentes dans les sites de libération.

Lorsque les fruits sauvages et non cultivés mentionnés ci-dessus sont présents dans les sites de libération, on peut supposer que des espèces de drosophiles frugivores sont également présentes, qui sont nombreuses en Suisse (Bächli 1972). Parmi ces espèces, dont aucune ne peut attaquer les fruits frais non endommagés, seules *D. melanogaster* et *D. simulans* sont connues pour se trouver dans la gamme d'hôtes physiologiques de G1 *G. cf. brasiliensis* (Seehausen et al. 2020), mais il est très peu probable qu'elles soient effectivement attaquées par le parasitoïde en présence de *D. suzukii* dans les fruits frais (Seehausen et al. 2022).

À notre connaissance, aucun animal utile ni espèce migratrice présentant un intérêt pour les libérations faisant l'objet de la demande n'est présente dans ces zones.

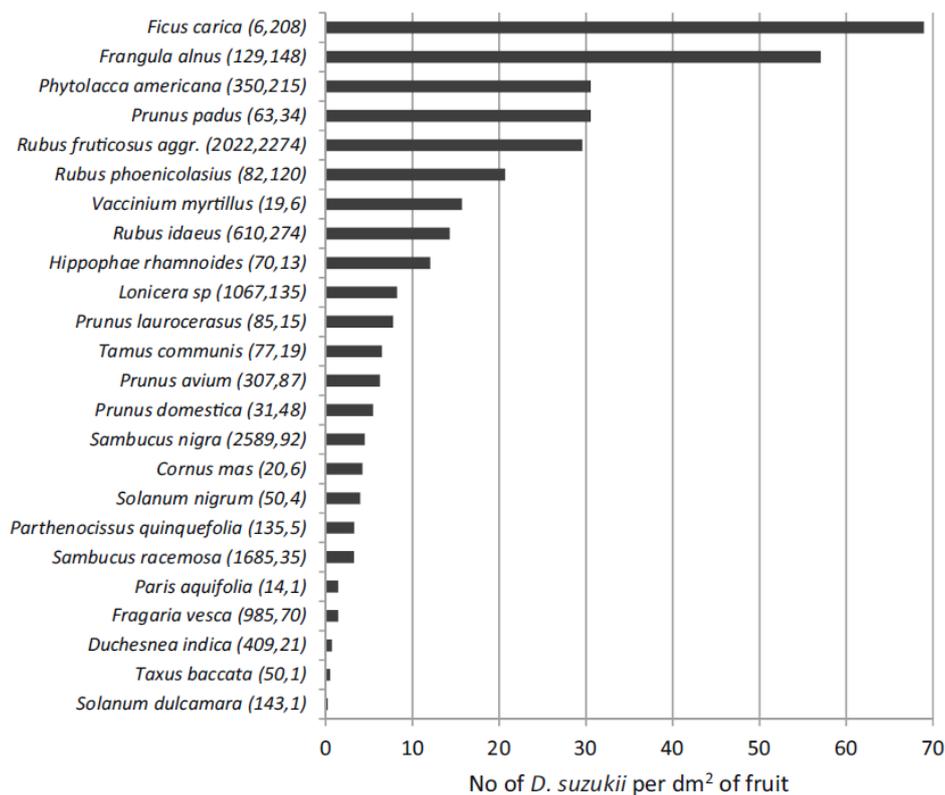


Figure 19 : Nombre de *D. suzukii* émergés par dm² de fruits collectés en 2014 au Tessin, Suisse. Les chiffres entre parenthèses après le nom des fruits indiquent le nombre total de fruits collectés et le nombre total d'adultes de *D. suzukii* ayant émergé de ces fruits, respectivement. Seuls les fruits desquels *D. suzukii* a émergé sont présentés.

4.4 Description de l'écosystème

Il est prévu que *G. cf. brasiliensis* soit relâché le long des lisières de forêts, des ravins et des haies, dans lesquels on trouve habituellement une multitude de plantes fruitières sauvages et non cultivées, qui sont couramment attaquées par la cible *D. suzukii* (Kenis et al. 2016). Comme ces habitats sont généralement non gérés et non traités avec des insecticides, ils présentent des écosystèmes très appropriés pour les lâchers de lutte biologique. En plus de l'espèce cible, ils contiennent également une grande variété de structures qui peuvent fournir un abri et des sources de nourriture pour le parasitoïde.

5 Effets potentiels

5.1 Effets sur l'être humain et les animaux, en particulier risques pour leur santé (p. ex. effet allergène ou toxique, irritation de la peau, transmission de maladies)

Le parasitoïde *Ganaspis cf. brasiliensis* ne provoque aucune maladie chez les humains ou les plantes, mais il est possible que le parasitoïde attaque et tue des individus appartenant à des espèces de drosophiles indigènes, en particulier les espèces que l'on trouve occasionnellement sur des fruits légèrement endommagés ou trop mûrs comme *D. melanogaster*. Le risque de telles attaques est classé comme faible (les détails sont décrits ci-dessus au point 2.8.4). En tant que parasitoïdes obligatoires des larves de drosophiles, en particulier *D. suzukii* et les espèces étroitement apparentées, *G. cf. brasiliensis* n'entrent que rarement en contact direct avec les humains ou d'autres vertébrés et, si tel est le cas, sont incapables de piquer ou de mordre.

5.2 Effets sur l'environnement et la diversité biologique :

5.2.1 Effets sur les processus environnementaux ou sur des fonctions importantes du sol

Il est supposé que G1 *G. cf. brasiliensis* peut s'établir dans l'environnement en Suisse et attaquer fortement la mouche envahissante *Drosophila suzukii* qui se développe dans les fruits. Le parasitoïde devrait agir comme un ennemi naturel dominant et éventuellement diminuer fortement les populations de *D. suzukii* et leur attaque des fruits. Il existe un faible risque (voir section 2.8.4) que le parasitoïde attaque également des espèces de drosophiles indigènes telles que *D. melanogaster*, qui sont principalement des décomposeurs de matières organiques. Cependant, comme G1 *G. cf. brasiliensis* est spécialisé dans les espèces de drosophiles qui s'attaquent aux fruits en cours de maturation, une niche qui, en Europe, n'est occupé que par *D. suzukii*, on ne s'attend à aucun effet sur les processus de décomposition.

5.2.2 Potentiel de fixation et de propagation sur le lieu de dissémination

Comme décrit au point 2.8.8, le climat général des sites d'expérimentation et de leurs environs est propice à l'établissement et à la multiplication du parasitoïde et on peut donc s'attendre à ce qu'il se propage en Suisse.

5.2.3 Rôle écologique attendu sur le lieu de dissémination ; identification et description des organismes cibles ; conséquences des effets sur les organismes cibles

En tant qu'agent de contrôle biologique, G1 *G. cf. brasiliensis* devrait agir comme un ennemi naturel dominant de l'envahissante *D. suzukii* (cible) et supprimer cette espèce en attaquant ses larves et en tuant les pupes. Il est supposé que le parasitoïde peut s'établir dans l'environnement, se propager et entraîner une suppression à long terme et à l'échelle de la zone des populations de *D. suzukii*. Il est prévu que grâce à cette lutte biologique contre *D. suzukii*, les dommages causés aux fruits en cours de maturation puissent être réduits en dessous d'un seuil économiquement tolérable. En fait, une étude du parasitisme larvaire de *D. suzukii* par les deux parasitoïdes asiatiques *G. cf. brasiliensis* et *L. japonica*, qui ont été introduits accidentellement en Colombie britannique, Canada, montre que l'association étroite entre les deux parasitoïdes larvaires et *D. suzukii* qui existe en Asie s'est reconstituée en Amérique du Nord (Abram et al., 2022). Ainsi, les résultats prouvent qu'aussi en dehors de leur région d'origine, les parasitoïdes sont capables de jouer leur rôle écologique d'ennemis naturels dominants qui contribuent grandement au contrôle de leur hôte.

5.2.4 Ennemis indigènes des organismes cibles sur le lieu de dissémination susceptibles d'être indirectement touchés par les effets

Une enquête de terrain menée dans plusieurs régions fruitières de Suisse pendant deux années consécutives, utilisant *D. melanogaster* comme hôte sentinelle dans des pièges de terrain, a démontré la présence de huit espèces de parasitoïdes hyménoptères qui sont des ennemis naturels possibles de la cible *D. suzukii*. Des essais ultérieurs en laboratoire sans choix avec les espèces collectées sur le terrain ont démontré que les parasitoïdes larvaires *Asobara tabida*, *Leptopilina bouvardi* et *L. heterotoma* ne pouvaient pas utiliser *D. suzukii* pour se reproduire. En revanche, les parasitoïdes nymphaux *Pachycrepoideus vindemmiae*, *Trichopria drosophilae*, *Vrestovia fidenas* et *Spalangia erythromera* se sont tous développés avec *D. suzukii* comme hôtes (Knoll et al. 2017). Des expériences avec des parasitoïdes asiatiques de *D. suzukii* ont montré que les adultes de *G. cf. brasiliensis* sont capables de discriminer des hôtes précédemment parasités par d'autres endoparasitoïdes larvaires tels que *Leptopilina japonica*, ce qui entraîne un effet additif sur la suppression de l'hôte (Wang et al. 2019b). Cependant, le résultat de la compétition entre le parasitoïde larvo-pupal *G. cf. brasiliensis* et les parasitoïdes nymphaux reste à étudier. Dans tous les cas, les ennemis

naturels indigènes qui attaquent *D. suzukii* ou des espèces indigènes de drosophiles devraient être très peu ou pas du tout affectés par *G. cf. brasiliensis*, car le parasitoïde est très spécifique aux hôtes se développant dans les fruits frais, une niche qui en Europe n'est occupée que par *D. suzukii*.

5.2.5 Effets directs et indirects potentiels sur les organismes non cibles

Comme mentionné ci-dessus, *G. cf. brasiliensis* peut attaquer certaines espèces communes de drosophiles telles que *D. melanogaster* dans les fruits endommagés ou trop mûrs. Cependant, *D. melanogaster* est très compétitif car il nécessite moins de nutrition et se développe plus rapidement que *D. suzukii* ; ses effectifs sont souvent très supérieurs à ceux de *D. suzukii* sur les fruits en décomposition, surtout pendant les saisons post-fruits (Wang et al. 2016a). *Drosophila suzukii* exploite une niche disponible en utilisant des ressources fruitières au stade de la maturité ou du mûrissement (Mitsui et al. 2007, Poyet et al. 2014, Poyet et al. 2015), avant qu'elles ne soient disponibles pour d'autres espèces de *Drosophila*, qui infestent généralement les fruits trop mûrs ou en putréfaction. Bien que *G. cf. brasiliensis* ait une forte préférence pour les larves de drosophile dans les fruits mûrs ou en cours de maturation, on ne peut pas exclure qu'il s'attaque à *D. melanogaster* ou à son proche parent *D. simulans*. Cela peut entraîner une concurrence interspécifique mineure entre *G. cf. brasiliensis* et les parasitoïdes résidents qui utilisent des *Drosophila* spp. indigènes comme hôtes communs.

5.2.6 Concurrence potentielle avec les espèces indigènes ou éviction de ces espèces

Comme mentionné ci-dessus, il est possible que *G. cf. brasiliensis* soit en concurrence avec les parasitoïdes indigènes de la drosophile. Cependant, comme le parasitoïde asiatique est très spécifique des larves qui attaquent les fruits mûrs ou en cours de maturation et des autres espèces de drosophiles en Europe, seul *D. suzukii* occupant cette niche écologique, le parasitisme des espèces non ciblées et donc les rencontres avec des parasitoïdes indigènes chez des hôtes non ciblés devraient être rares ou inexistantes et donc aucune compétition significative ne devrait avoir lieu. Pour la même raison, il est très peu probable qu'une espèce indigène soit affectée par *G. cf. brasiliensis*.

5.2.7 Potentiel d'hybridation avec des souches ou des biotypes indigènes

Il n'existe pas de souche, de biotype ou d'espèce du complexe d'espèces de *Ganaspis brasiliensis* en Europe. Cinq espèces de *Ganaspis* ont été décrites en Europe (Forshage et Nordlander 2008). *Ganaspis mundata* Förster est l'espèce européenne la plus commune mais elle est morphologiquement très différente de *G. brasiliensis* (Buffington et Forshage 2016) et, donc probablement génétiquement très distincte. On sait très peu de choses sur les quatre autres espèces, mais aucune d'entre elles n'a été signalée en Suisse (Fauna Europaea 2020) et aucune n'est connue comme étant associée à des Drosophilidae attaquant les fruits frais ou pourris, ce qui limite fortement la probabilité de rencontre avec *G. cf. brasiliensis*. Des expériences de laboratoire ont démontré l'incompatibilité reproductive par un isolement pré-accouplement (aucun accouplement n'a lieu) entre les groupes génétiques G3-4 et G1 de *G. cf. brasiliensis* (Seehausen et al. 2020). Ainsi, le risque d'hybridation avec les espèces européennes de *Ganaspis* qui sont génétiquement plus distinctes est extrêmement improbable.

5.2.8 Effets sur les plantes

Ganaspis cf. brasiliensis est un parasitoïde obligatoire des *Drosophila* spp. et en tant que tel, il est incapable d'attaquer directement les plantes ou de se nourrir de manière destructrice de matériel végétal pour son développement. Une libération du parasitoïde en plein champ peut cependant conduire indirectement à une augmentation de la santé des plantes et de la sécurité alimentaire : en réduisant potentiellement les populations de *D. suzukii*, le niveau global

d'attaque des fruits mûrissants devrait diminuer et donc la décomposition précoce des fruits sera empêchée, sécurisant la production de la nourriture et les sources de nourriture pour les humains et les animaux.

5.2.9 Autres effets potentiellement significatifs

Aucun.

6 Mesures de sécurité

6.1 Mesures préventives :

6.1.1 Méthodes et procédures appliquées pour éviter ou réduire au minimum la propagation des organismes en dehors du site de dissémination

Compte tenu de la biologie du parasitoïde (cf 2.8.8) , il faut s'attendre à ce qu'il s'établisse, se reproduise et se disperse en Suisse à partir du point initial de libération. Le fait que *G1 G. cf. brasiliensis* ait déjà été libéré dans le nord de l'Italie, rend très probable qu'à long terme, le parasitoïde se répandra en Suisse et s'établira au moins dans les cantons au sud des Alpes. Pour cette raison, aucune méthode n'est prévue ici pour éviter ou réduire au minimum la propagation des organismes en dehors du lieu de l'emploi.

6.1.2 Méthodes et procédures appliquées pour empêcher les personnes non autorisées d'accéder au site

Aucune.

6.1.3 Méthodes et procédures appliquées pour empêcher d'autres organismes de pénétrer dans le site

Aucune.

6.2 Élimination des déchets :

6.2.1 Type et quantité de déchets produits

Comme il est prévu de libérer la guêpe parasitoïde dans l'environnement à son stade adulte mobile et qu'elle est donc supposée se disperser en quelques heures, seuls quelques (<100) conteneurs de libération en plastique seront laissés pour une courte période (maximum une semaine) dans les zones de libération. Aucun déchet dangereux ne sera produit dans le cadre des libérations.

6.2.2 Dangers éventuels

Aucun déchet dangereux ne sera produit dans le cadre des libérations des parasitoïdes.

6.2.3 Description de la procédure prévue pour l'élimination des déchets

Les conteneurs de libération en plastique sont généralement réutilisables et ne seront éliminés dans les ordures ménagères générales destinées à l'incinération que lorsqu'ils seront cassés et ne pourront donc plus être réutilisés.

6.3 Plans d'urgence :

6.3.1 Méthodes et procédures de contrôle des organismes au cas où ils se propageraient de manière inattendue

Comme décrit au point 2.8.8, dans de vastes régions de la Suisse, le climat est propice à l'établissement et à la multiplication du parasitoïde et on peut donc s'attendre à ce qu'il se propage dans l'ensemble de la Suisse, à l'exception des Alpes. Un tel établissement et une

telle propagation dans l'environnement peuvent être considérés comme irréversibles et aucune méthode ou procédure n'est disponible ou connue pour contrôler le parasitoïde une fois qu'il est établi

6.3.2 Méthodes de décontamination des zones touchées du site

Aucune méthode n'est disponible pour décontaminer les zones où *G. cf. brasiliensis* s'établit.

6.3.3 Méthodes d'élimination ou de traitement des plantes, des animaux, des sols, etc., affectés par la propagation des organismes

Comme le parasitoïde et ses hôtes sont très petits et présents pratiquement partout dans l'environnement, il n'existe aucune méthode pour traiter les plantes, les animaux, le sol, etc. affectés par la propagation des organismes.

6.3.4 Plans de protection de l'être humain et des animaux ainsi que de l'environnement et de la diversité biologique en cas d'effets indésirables

En tant que parasitoïde obligatoire des larves de drosophiles, en particulier de *D. suzukii* et des espèces proches, *G. cf. brasiliensis* n'entre que rarement en contact direct avec les humains ou d'autres vertébrés, et s'il le fait, il est incapable de piquer ou de mordre. *Ganaspis cf. brasiliensis* ne provoque pas non plus de maladie chez les humains ou les plantes, mais il est possible que le parasitoïde attaque et tue les espèces de drosophiles indigènes, comme *D. melanogaster*. Sur la base d'expériences en laboratoire et en grandes cages de terrain, le risque de telles attaques est classé comme étant faible (les détails sont décrits ci-dessus dans la section 2.8.4). Toutefois, une fois libéré en plein champ, il n'est pas possible de contrôler le parasitoïde ou de protéger toute espèce non visée contre ses attaques.

Résultats d'essais antérieurs

Résultats d'essais préliminaires en milieu confiné pour déterminer la sécurité biologique

Les résultats des expériences de laboratoire visant à déterminer la sécurité biologique du lâcher de *G. cf. brasiliensis* dans l'environnement (en particulier sa spécificité pour les espèces cibles) sont décrits en détail ci-dessus (voir section 2.8.4) et ne seront donc résumés qu'ici.

En raison de la grande abondance de *G. brasiliensis* et de son importance comme facteur de mortalité de *D. suzukii* en Asie (Daane et al. 2016 ; Girod et al. 2018a ; Giorgini et al. 2019), ainsi que dans des conditions de laboratoire (Girod et al. 2018b ; 2018c ; Wang et al. 2018 ; 2019b ; 2020), ce parasitoïde a été suggéré à plusieurs reprises comme agent de lutte biologique contre *D. suzukii*. Cependant, les incertitudes concernant son statut taxonomique et son degré de spécificité par rapport à *D. suzukii* ont longtemps jeté le doute sur sa pertinence comme agent de lutte biologique classique.

Des études moléculaires ont révélé une différenciation génétique des souches asiatiques de *G. brasiliensis*, divisant l'espèce en quatre à cinq groupes génétiques (appelés G1-G5), cette structuration moléculaire étant confortée par différentes spécificités d'hôtes (Nomano et al. 2017), ainsi que par d'autres différences de biologie et de comportement de populations d'origines diverses en Asie (Girod et al. 2018b ; 2018c ; Hougardy et al. 2019).

En utilisant une combinaison d'analyses moléculaires et d'expériences de croisement, Seehausen et al. (2020) ont recueilli des preuves que *G. cf. brasiliensis* est un complexe d'au moins deux espèces cryptiques (appelées désormais G1 et G3-4 ; sensu Seehausen et al. 2020). D'autres expériences de choix et de non-choix avec différentes espèces de drosophiles et leurs substrats alimentaires ont montré que les femelles de ces deux groupes génétiques présentaient des différences en termes d'espèces hôtes et de spécificité de l'habitat : les individus du groupe G3-4 parasitaient facilement quelques espèces de drosophiles quelle que soit leur source de nourriture, tandis que les individus du groupe G1 sont presque exclusivement spécifiques aux larves qui se nourrissent dans les fruits en cours de maturation.

Drosophila suzukii est connue pour pondre et se développer dans les fruits frais et en décomposition, mais a sa niche écologique principale dans les fruits frais (Keeseey et al. 2015). Contrairement aux espèces de drosophiles sympatriques des zones envahies (y compris en Europe), les femelles de *D. suzukii* sont capables de pondre des œufs à l'intérieur des fruits mûrs non blessés grâce à leur ovipositeur dentelé sclérosé (Karageorgi et al. 2017). Il est suggéré que la différence d'habitat naturel entre les larves de *D. suzukii* se développant dans des fruits frais et mûrs et les larves d'autres espèces de drosophiles frugivores dans des fruits en décomposition (Karageorgi et al. 2017) convertit la spécificité d'habitat de G1 *G. cf. brasiliensis* en une spécificité d'hôte. Si elles sont entièrement spécifiques aux fruits mûrs dans des conditions naturelles, les guêpes G1 ne parasiteront que *D. suzukii* dans son aire de répartition envahissante. Au cours de plusieurs études en Asie, les *G. cf. brasiliensis* ont toujours été collectées uniquement sur des fruits frais mûrs et n'ont jamais été obtenues à partir d'appâts à base de fruits, tels que des tranches de banane (Kasuya et al. 2013 ; Daane et al. 2016 ; Girod et al. 2018a ; Giorgini et al. 2019), ce qui indique un degré élevé de spécificité d'habitat pour les fruits frais, même dans des conditions de terrain.

Ainsi, la découverte que *G. cf. brasiliensis* est un complexe d'au moins deux espèces congénères et que l'une d'entre elles peut clairement être associée à une plus grande spécificité d'habitat pour les fruits frais (Seehausen et al. 2020), démontre la sécurité

biologique et donc la pertinence de G1 *G. cf. brasiliensis* comme moyen de lutte contre *D. suzukii*.

Données, résultats et évaluations de disséminations expérimentales réalisées avec les mêmes organismes dans des conditions climatiques et dans un environnement de faune et de flore comparables

Sur la base de ces résultats en milieu confiné, un test de choix en grandes cages de terrain a été effectué dans deux cantons en Suisse, le Jura et le Tessin (Seehausen et al., 2022). Comme décrit sous le point 2.8.4 Description des organismes testés comme hôtes et méthodes d'examen de la spécificité de l'hôte ci-dessus, les parasitoïdes relâchés avaient le choix de parasiter soit les larves de *D. suzukii* dans les fruits frais (myrtilles ou baies de sureau), soit l'espèce indigène non ciblée *D. melanogaster* dans les fruits en décomposition. Les résultats ont été sans équivoque : le parasitisme apparent des larves de *D. suzukii* se nourrissant de fruits frais était en moyenne de 13%, alors qu'un seul parasitoïde a émergé de *Drosophila* se nourrissant de fruits en décomposition (0,03% de parasitisme). Ainsi, les résultats confirment les conclusions de précédentes expériences de laboratoire selon lesquelles G1 *G. cf. brasiliensis* est hautement spécifique aux larves de *D. suzukii* se nourrissant de fruits frais et le parasitisme de *D. melanogaster*, espèce étroitement apparentée à *D. suzukii* mais se nourrissant de fruits en décomposition, est très rare. Cette expérience a confirmé la biosécurité de G1 *G. cf. brasiliensis* et permet de conclure que les lâchers en plein champ du parasitoïde ne devraient pas poser de risques significatifs pour les espèces non-cibles.

Comme déjà décrit sous le point 2.7 Régions dans lesquelles les organismes ont déjà été disséminés ci-dessus, G1 *G. cf. brasiliensis* a été libérée en conditions de plein champ dans plusieurs endroits en Italie en 2021 et 2022 (Lisi et al. 2022). L'année des premiers lâchers, *G. brasiliensis* a été retrouvé dans 50% des sites où le parasitoïde a été lâché dans le nord de l'Italie. Plusieurs spécimens ont également été trouvés l'année suivante (2022), prouvant le succès de l'hivernage dans les sites de lâchers. Le parasitoïde exotique n'a émergé que de *D. suzukii* et principalement de fruits frais qui étaient encore sur la plante (Fellin et al. 2023).

En plus, G1 *G. cf. brasiliensis* a aussi été lâchée dans plusieurs états des États-Unis en 2022. Cependant, à ce stade (février 2023), aucun résultat de ces lâchers n'est disponible.

La France a également approuvé des libérations de G1 *G. cf. brasiliensis* en 2022, qui commenceront probablement en 2023 (Nicolas Borowiec, communication personnelle).

Étude et évaluation du risque

Au sens de l'annexe 4 de l'ordonnance sur la dissémination dans l'environnement ODE.

Conformément à l'annexe 4, à laquelle renvoie l'article 21 de l'Ordonnance sur la dissémination dans l'environnement, nous identifions ici les dangers, déterminons les risques et justifions la prise de ces risques liés aux libérations en plein champ de G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* décrits ci-dessus.

Depuis 2014, le CABI, avec d'autres institutions dans le monde, a étudié les ennemis naturels de *D. suzukii* en Asie pour le développement d'un programme de lutte biologique classique. Au cours de plusieurs études en Asie, l'endoparasitoïde primaire *Ganaspis brasiliensis* a été identifié par plusieurs groupes de recherche comme un agent de lutte biologique possible en raison de sa grande abondance et de son importance comme facteur de mortalité de *D. suzukii* en Asie (Daane et al. 2016 ; Girod et al. 2018a ; Giorgini et al. 2019). Pour étudier le parasitoïde en détail, en particulier le risque qu'il peut représenter pour les espèces non cibles en Europe, il a été importé en Suisse dans un laboratoire de quarantaine de niveau 3 de CABI à Delémont, Jura, en vertu de l'article 2 de l'ordonnance sur l'utilisation confinée. Dans une série d'études en laboratoire, il a été déterminé que *G. cf. brasiliensis* est un complexe d'au moins deux espèces cryptiques et que les individus d'un groupe génétique (appelé G3-4) parasitent facilement quelques espèces de drosophiles quelle que soit leur source de nourriture alors que les individus de l'autre groupe (appelé G1) sont presque exclusivement spécifiques aux larves qui se nourrissent dans les fruits en cours de maturation (Seehausen et al. 2020). Comme, parmi les drosophiles, seule *D. suzukii* attaque les fruits en cours de maturation dans sa zone d'invasion, les espèces non cibles ont un très faible risque d'être attaquées par les parasitoïdes G1. En outre, dans son aire de répartition d'origine, *G. cf. brasiliensis* n'a toujours été prélevé que sur des fruits frais mûrs infestés par *D. suzukii* (et ses proches parents *D. pulchrella* et *D. subpulchrella*, absents en Europe) et n'a jamais été obtenu à partir d'appâts à base de fruits, tels que des tranches de banane (Daane et al. 2016 ; Girod et al. 2018a ; Giorgini et al. 2019 ; Kasuya et al. 2013), ce qui indique un degré élevé de spécificité de l'habitat pour les fruits frais dans les conditions de terrain. Sur la base de ces informations, il a été déterminé que G1 *G. cf. brasiliensis* semble être bien approprié comme agent de lutte biologique (Seehausen et al. 2020). Comme dernière étape avant les lâchers en plein champ, un test de choix dans de grandes cages de terrain a été effectué dans deux cantons de Suisse, le Jura et le Tessin (Seehausen et al., 2022). Les parasitoïdes relâchés avaient le choix de parasiter soit les larves de *D. suzukii* dans les fruits frais (myrtilles ou baies de sureau), soit l'espèce indigène non ciblée *D. melanogaster* dans les fruits en décomposition. Les résultats ont été sans équivoque : le parasitisme apparent des larves de *D. suzukii* se nourrissant de fruits frais était en moyenne de 13%, alors qu'un seul parasitoïde a émergé de *D. melanogaster* se nourrissant de fruits en décomposition (0,03% de parasitisme). Ainsi, les résultats confirment les conclusions de précédentes expériences de laboratoire selon lesquelles G1 *G. cf. brasiliensis* est hautement spécifique aux larves de *D. suzukii* se nourrissant de fruits frais et le parasitisme de *D. melanogaster*, espèce étroitement apparentée à *D. suzukii* mais se nourrissant de fruits en décomposition, est très rare. Cette expérience a confirmé la biosécurité de G1 *G. cf. brasiliensis* et permis de conclure que les lâchers en plein champ du parasitoïde ne devraient pas poser de risques significatifs pour les espèces non cibles.

Comme décrit au point 2.8.8, dans de vastes régions de la Suisse, le climat est propice à l'établissement et à la multiplication du parasitoïde et on peut donc s'attendre à ce qu'il se propage dans l'ensemble de la Suisse, à l'exception des Alpes. Un tel établissement et une

telle propagation dans l'environnement peuvent être considérés comme irréversibles et aucune méthode ou procédure n'est disponible ou connue pour contrôler le parasitoïde une fois qu'il est établi.

Comme parasitoïde obligatoire des larves de drosophiles, le parasitoïde entre rarement en contact direct avec l'homme ou d'autres vertébrés, et s'il le fait, il est incapable de piquer ou de mordre. Donc, aucun humain ne peut être blessé par *G. cf. brasiliensis*. Il ne causera pas non plus de dommages ou de maladies chez les humains, les autres vertébrés, les plantes ou les invertébrés autres que les drosophiles. Plus précisément, on ne connaît aucun effet du parasitoïde sur les insectes autres que les espèces dont les larves se nourrissent de fruits, et il est très peu probable qu'il en soit ainsi en raison de la grande spécificité de l'hôte déterminée par les études de laboratoire décrites ci-dessus. Cependant, on prévoit que G1 *G. cf. brasiliensis* s'établit dans l'environnement et attaque fortement *D. suzukii*, espèce exotique envahissante qui se développe dans les fruits. Comme le montre l'étude réalisée au Canada, où G1 *G. cf. brasiliensis* a été introduit accidentellement, le parasitoïde pourrait agir comme un ennemi naturel dominant et éventuellement diminuer fortement les populations de *D. suzukii* et leur attaque des fruits. Même s'il est évalué comme étant relativement faible (voir détails dans la section 2.8.4), le risque que le parasitoïde attaque et tue aussi occasionnellement des espèces de drosophiles indigènes, comme *D. melanogaster*, ne peut être exclu. Les espèces de drosophiles indigènes jouent un rôle écologique important en tant que décomposeurs et en tant que participants de réseaux trophiques complexes (Savage 2002). Un parasitisme important de ces mouches des fruits indigènes par un agent de lutte biologique généraliste importé peut avoir des conséquences négatives sur l'écosystème, mais il est très peu probable qu'il se produise dans le cas de G1 *G. cf. brasiliensis* pour les raisons suivantes : Comme l'ont déterminé les tests de choix en laboratoire et en grande cage de terrain, les G1 *G. cf. brasiliensis* s'attaquent presque exclusivement (peut-être même exclusivement en plein champ) aux larves de drosophiles dans les fruits mûrs et en maturation, une niche qui, en Europe, n'est exploitée par aucun drosophile indigène. Ainsi, si un parasitisme se produit dans d'autres substrats alimentaires typiques des espèces de drosophiles (par exemple les fruits en décomposition), on peut s'attendre à ce qu'il soit très faible et donc qu'il n'entraîne pas le déclin d'une espèce. Certaines espèces, telles que *D. melanogaster* ou *D. simulans* se nourrissent principalement de matériel en décomposition mais peuvent occasionnellement être trouvées dans des fruits blessés ou légèrement pourris, auquel cas elles peuvent être attaquées par G1 *G. cf. brasiliensis*. Cependant, la proportion d'individus de ces hôtes non ciblés qui seront affectés par le parasitoïde sera minime. En outre, *D. melanogaster* et *D. simulans* sont très compétitifs car ils nécessitent moins de nutrition et se développent plus rapidement que *D. suzukii* ; leur nombre est souvent très supérieur à celui de *D. suzukii* sur les fruits pourris (Wang et al. 2016a).

Une enquête de terrain menée dans plusieurs régions fruitières de Suisse pendant deux années consécutives, utilisant *D. melanogaster* comme hôte sentinelle dans des pièges de terrain, a démontré la présence de huit espèces de parasitoïdes hyménoptères qui sont des ennemis naturels possibles de *D. suzukii*. Ensuite, des essais non-choix en laboratoire avec les espèces collectées sur le terrain ont démontré que les parasitoïdes larvaires *Asobara tabida*, *Leptopilina bouvardi* et *L. heterotoma* ne pouvaient pas utiliser *D. suzukii* pour se reproduire. En revanche, les parasitoïdes nymphaux *Pachycrepoideus vindemmiae*, *Trichopria drosophilae*, *Vrestovia fidenas* et *Spalangia erythromera* se sont tous développés avec *D. suzukii* comme hôtes (Knoll et al. 2017), et donc, la compétition entre ces parasitoïdes et *G. cf. brasiliensis* est théoriquement possible. Des expériences avec des parasitoïdes asiatiques de *D. suzukii* ont montré que les adultes de *G. cf. brasiliensis* sont capables de discriminer des hôtes précédemment parasités par d'autres endoparasitoïdes larvaires tels que *Leptopilina*

japonica, ce qui entraîne un effet additif sur la suppression de l'hôte (Wang et al. 2019b). La coexistence des deux parasitoïdes et des niveaux élevés de parasitisme de *D. suzukii* en dehors de leur aire d'origine ont été confirmées au Canada dans des conditions de terrain (Abram et al. 2022). Cependant, le résultat de la compétition entre le parasitoïde larval-pupal *G. cf. brasiliensis* et les parasitoïdes des pupes reste à étudier. Dans tous les cas, les ennemis naturels indigènes qui attaquent *D. suzukii* ou des espèces indigènes de drosophiles devraient être très peu ou pas du tout affectés par *G. cf. brasiliensis* en raison de la spécificité mentionnée précédemment du parasitoïde pour les hôtes se développant dans les fruits frais, une niche qui en Europe n'est occupée que par *D. suzukii*.

L'hybridation avec des souches indigènes, des biotypes ou des espèces sœurs est également très peu probable, car il n'existe pas de souche, de biotype ou d'espèce indigène du complexe d'espèces de *G. brasiliensis* en Europe et les cinq espèces européennes de *Ganaspis* décrites (Forshage & Nordlander 2008) ne sont pas connues pour être associées à des drosophiles attaquant des fruits frais ou en décomposition, ce qui limite fortement la probabilité de rencontrer G1 *G. cf. brasiliensis*. En outre, des expériences de laboratoire ont démontré une incompatibilité reproductrice par un isolement pré-accouplement (aucun accouplement n'a lieu) entre les groupes génétiques G3-4 et G1 de *G. cf. brasiliensis* (Seehausen et al. 2020). Ainsi, le risque d'hybridation avec les espèces européennes de *Ganaspis* qui sont génétiquement plus distinctes est extrêmement improbable.

À notre connaissance, *G. cf. brasiliensis* est un parasitoïde obligatoire de *Drosophila* spp. et, en tant que tel, il est incapable d'attaquer directement les plantes ou de se nourrir de manière destructrice du matériel végétal pour son développement. Toutefois, quelque temps après les libérations, on s'attend à ce que le parasitoïde entraîne indirectement une amélioration de la santé des plantes et de la sécurité alimentaire : en tant qu'agent de lutte biologique, G1 *G. cf. brasiliensis* devrait réduire les populations de *D. suzukii* et donc le niveau global d'attaque des fruits à repousse. Ainsi, on pense que la décomposition précoce des fruits suite à l'attaque par *D. suzukii* est minimisée, ce qui sécurise la production et les sources de nourriture pour les humains et les animaux.

Le faible risque d'attaques mineures d'espèces de drosophiles non ciblées qui pourrait survenir après les lâchers de G1 *G. cf. brasiliensis* qui fait l'objet de cette demande est justifié en raison (1) de l'invasion généralisée de *D. suzukii* en Europe et des dégâts dévastateurs causés par ce ravageur aux cultures de petits fruits ; (2) de la nécessité de développer des stratégies de lutte durables à grande échelle, telles que la lutte biologique, qui pourraient faire baisser les populations de *D. suzukii* dans les habitats cultivés et non cultivés ; et (3) de l'absence actuelle d'ennemis naturels efficaces de *D. suzukii* dans toutes ses régions envahies en Europe et en Amérique. Nous pensons que globalement, le faible risque représenté par l'attaque occasionnelle de certaines espèces indigènes est justifié par rapport aux dégâts causés par *D. suzukii* au secteur fruitier en Europe et dans le monde.

Le fait que le parasitoïde ait déjà été relâché dans le nord de l'Italie, rend très probable la dispersion de G1 *G. cf. brasiliensis* au-delà de la frontière et son établissement en Suisse à moyen terme. Ainsi, tous les risques faibles décrits ici que les libérations peuvent causer, se produiraient de toute façon à moyen terme lorsque le parasitoïde se disperserait naturellement en Suisse. Par contre, les avantages évidents sous forme de contrôle biologique du ravageur cible seraient retardés sans les libérations, en particulier au nord des Alpes.

Plan de surveillance

Introduction

Le parasitoïde *Ganaspis* cf. *brasiliensis* ne possède pas de substances toxiques ou allergènes qui peuvent être dangereuses pour les humains ou les animaux, par conséquent, ce sujet ne fera pas partie du plan de surveillance.

En tant qu'agent de lutte biologique classique, le parasitoïde est censé s'établir, se multiplier et se disperser par lui-même (de manière incontrôlée) à partir des sites de lâcher. Une fois établi dans l'environnement, la propagation du parasitoïde peut être considérée comme irréversible et aucune méthode ou procédure n'est disponible ou connue pour le contrôler ou éradiquer. En plus de surveiller le parasitisme éventuel des espèces de drosophiles non ciblées, le plan de surveillance est donc mis en place pour vérifier l'établissement, la multiplication et la dispersion voulus du parasitoïde, ainsi que pour surveiller l'occurrence et la fréquence du parasitisme indésirable des espèces non ciblées.

Établissement

Nous proposons de libérer d'abord G1 *G. cf. brasiliensis* dans les deux cantons du Jura et du Tessin. Dans chaque canton, des lieux seront identifiés dans lesquels des fruits frais infestés par *D. suzukii* sont présents. Avant que les lâchers n'aient lieu, plusieurs fruits seront collectés et apportés au laboratoire, où ils seront incubés dans des récipients en plastique. En identifiant et en comptant tous les insectes émergents, cela permettra de déterminer le taux d'attaque du fruit par *D. suzukii* et de vérifier l'absence du parasitoïde avant les lâchers. Environ deux semaines après les lâchers, les fruits infestés seront à nouveau collectés et apportés au laboratoire pour déterminer la présence et le taux apparent de parasitisme par G1 *G. cf. brasiliensis*. Le taux de parasitisme apparent est la somme des parasitoïdes émergents, divisée par la somme de tous les insectes émergents (mouches hôtes et parasitoïdes). Le type de fruits à collecter pour ce plan de surveillance dépendra de la saison de l'année à laquelle les lâchers seront effectués. De plus, la surveillance décrite ci-dessus sera répétée au moins une fois au printemps/début de l'été suivant l'année des lâchers, afin de vérifier l'établissement du parasitoïde après l'hiver suisse. Pour cela, des cultures les plus tôt attaquées, comme les fraises ou les cerises, peuvent être utilisées.

Spécificité de l'hôte

Pour vérifier si G1 *G. cf. brasiliensis* attaque des *Drosophila* spp. non ciblées dans des conditions de terrain, des collectes de fruits en décomposition contenant des larves de drosophiles seront également effectués, aux mêmes endroits et à la même période que les fruits frais, comme décrit ci-dessus. Au laboratoire, les fruits en décomposition seront régulièrement vérifiés pour détecter les pupes de *Drosophila* spp., qui peuvent être identifiées morphologiquement, au moins pour distinguer entre l'hôte cible *D. suzukii* et d'autres espèces potentielles non ciblées (Abram et al. 2021). En élevant séparément les pupes cibles et les pupes non cibles, il est alors possible de déterminer d'où émerge le parasitoïde larval-pupal *G. cf. brasiliensis*. Si peu ou pas de fruits en décomposition sont trouvés dans les zones de lâcher, des pièges sentinelles contenant des fruits en décomposition seront mis en place. Ces fruits peuvent alors être infestés naturellement par des *Drosophila* spp. non ciblées, et collectés après une semaine pour être vérifiés en laboratoire pour les parasitoïdes émergents. Comme pour les collectes de fruits frais pour surveiller l'établissement, les enquêtes sur la spécificité des hôtes seront également répétées au moins une fois au printemps/début de l'été suivant l'année des lâchers.

Au moins un sous-échantillon de parasitoïdes émergents qui ont été identifiés morphologiquement comme étant *G.cf. brasiliensis*, sera également identifié à l'aide de codes-barres ADN. Ceci ajoutera une certitude supplémentaire sur l'identification et le groupe génétique des parasitoïdes échantillonnés.

Information pour le public

Nous ne sommes pas opposés à informer le public du fait que des disséminations expérimentales de G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* seront effectués pour lutter contre le ravageur invasif *Drosophila suzukii*.

Conformité à l'ordonnance de Nagoya du 11 décembre 2015

Les G1 *Ganaspis cf. brasiliensis* qui font l'objet de cette demande de libération en plein champ ont été initialement collectés au Japon (voir section 2.6 du dossier technique). Le Japon est partie au Protocole de Nagoya depuis 2017, cependant, le pays n'a pas mis en place de mesures d'accès. Par conséquent, aucun « prior informed consent (PIC) » n'est requis pour l'accès aux ressources génétiques au Japon et aucun « internationally recognized certificate of compliance (IRCC) » n'est délivré pour les ressources génétiques acquises au Japon.

Littérature citée

- Abram, P.K., Franklin, M.T., Hueppelsheuser, T., Carrillo, J., Grove, E., Eraso, P., Acheampong, S., Keery, L., Girod, P., Tsuruda, M., Clausen, M., Buffington, M.L., Moffat, C.E. (2022) Adventive larval parasitoids reconstruct their close association with spotted-wing drosophila in the invaded North American range. *Environ. Entomol.* 51, 670-678.
- Abram, P.K., Wang, X., Hueppelsheuser, T., Franklin, M.T., Daane, K.M., Lee, J.C., Lue, C.-H., Girod, P., Carrillo, J., Wong, W.H.L., Kula, R., Gates, M., Hogg, B., Moffat, C.E., Hoelmer, K.A., Sial, A.A., Buffington, M.L. (2021) A coordinated sampling and identification methodology for larval parasitoids of spotted-wing drosophila. *J. Econ. Entomol.* 115, 922-942.
- 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.
- Bächli, G. (1972) Faunistische und ökologische Untersuchungen an Drosophiliden-arten (Diptera) der Schweiz. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* 45-48.
- 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., Beal, D., Smytheman, P., Abram, P.K., Schmidt-Jeffris, R., Moretti, E., Daane, K.M., Looney, C., Lue, C.H., Buffington, M. (2022) First records of adventive populations of the parasitoids *Ganaspis brasiliensis* and *Leptopilina japonica* in the United States. *Journal of Hymenoptera Research* 91, 11-25.
- Beers, E.H., Van Steenwyk, R.A., Shearer, P.W., Coates, W.W., Grant, J.A. (2011) Developing *Drosophila suzukii* management programs for sweet cherry in the western United States. *Pest Manag. Sci.* 67, 1386-1395.
- Biondi, A., Wang, X., Daane, K.M. (2021) Host preference of three Asian larval parasitoids to closely related *Drosophila* species: implications for biological control of *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 94, 273-283.
- Biondi, A., Mommaerts, V., Smagghe, G., Vinuela, E., Zappala, L., Desneux, N. (2012) The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. *Pest Manag. Sci.* 68, 1523-1536.

- Boughdad, A., Haddi, K., El Bouazzati, A., Nassiri, A., Tahiri, A., El Anbri, C., Eddaya, T., Zaid, A. and Biondi, A. (2020) First record of the invasive spotted wing *Drosophila* infesting berry crops in Africa. *Journal of Pest Science*, pp. 11.
- Buffington, M.L., Forshage, M. (2016) Redescription of *Ganaspis brasiliensis* (Ihering, 1905), new combination, (Hymenoptera: Figitidae) a natural enemy of the invasive *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 118, 1-13.
- Bühlmann, I., Bernath, L., Ziegler, M., Kamm, U., Gossner M.M. (2021) Schadpotenzial der Kirschessigfliege (*Drosophila suzukii*) im Wald. *Wald und Holz* 102: 19-22.
- Burrack, H.J. (2015) SWD Impacts 2014, North Carolina Extension. <https://swd.ces.ncsu.edu/swd-impacts-2014/>.
- Cahenzli, F., Strack, T., Daniel, C. (2018) Screening of 25 different natural crop protection products against *Drosophila suzukii*. *Journal of Applied Entomology* 142, 563-577.
- Carton, Y., Boulétreau, M., van Alphen, J.J.M., van Lenteren, J.C. (1986) The *Drosophila* parasitic wasps. In: Ashburner, M., Carson, H.L., Thompson, J.N. (eds) *The genetics and biology of Drosophila*, vol 3. Academic Press, New York, pp. 347–394
- Chabert, S., Allemand, R., Poyet, M., Eslin, P., Gibert, P. (2012) Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. *Biol. Control* 63, 40-47.
- Cloonan, K.R., Abraham, J., Angeli, S., Syed, Z., Rodriguez-Saona, C. (2018) Advances in the chemical ecology of the spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*) and its applications. *J. Chem. Ecol.* 44, 922-939.
- Daane, K.M., Wang, X., Hogg, B.N., Biondi, A. (2021) Potential host ranges of three Asian larval parasitoids of *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 94, 1171–1182.
- Daane, K.M., Wang, X.G., Biondi, A., Miller, B., Miller, J.C., Riedl, H., Shearer, P.W., Guerrieri, E., Giorgini, M., Buffington, M., van Achterberg, K., Song, Y., Kang, T., Yi, H., Jung, C., Lee, D.W., Chung, B.K., Hoelmer, K.A., Walton, V.M. (2016) First exploration of parasitoids of *Drosophila suzukii* in South Korea as potential classical biological agents. *J. Pest Sci.* 89, 823-835.
- De Ros, G., Conci, S., Pantezzi, T., Savini, G. (2015) The economic impact of the invasive pest *Drosophila suzukii* on berry production in the Province of Trento, Italy. *J. Berry Res.* 5, 89–96.
- Del Fava, E., Ioriatti, C., Melegaro, A. (2017) Cost-benefit analysis of controlling the spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii* (Matsumura)) spread and infestation of soft fruits in Trentino, Northern Italy. *Pest Manag. Sci.* 73, 2318-2327.
- Diepenbrock, L.M., Swoboda-Bhattarai, K.A., Burrack, H.J. (2016) Ovipositional preference, fidelity, and fitness of *Drosophila suzukii* in a co-occurring crop and non-crop host system. *J. Pest Sci.* 89, 761-769.
- DiGiacomo, G., Hadrich, J., Hutchison, W.D., Peterson, H., Rogers, M. (2019) Economic impact of spotted wing drosophila (Diptera: Drosophilidae) yield loss on Minnesota raspberry farms: a grower survey. *J. Integ. Pest Manage.* 10, 1-6.
- Emiljanowicz, L.M., Ryan, G.D., Langille, A., Newman, J. (2014) Development, reproductive output and population growth of the fruit fly pest *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on artificial diet. *J. Econ. Entomol.* 107, 1392-1398.
- EPPO Global Database (2021) Online resource: <https://gd.eppo.int/taxon/DROSSU/distribution> (accessed: 02/03/2021)
- Farnsworth, D., Hamby, K.A., Bolda, M., Goodhue, R.E., Williams, J.C., Zalom, F.G. (2017) Economic analysis of revenue losses and control costs associated with the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura), in the California raspberry industry. *Pest Manag. Sci.* 73, 1083-1090.

- Fauna Europaea (2020) Online source: <https://fauna-eu.org/> (accessed: 26/01/2021).
- Fauvergue, X., Vercken, E., Malausa, T., Hufbauer, R.A. (2012) The biology of small, introduced populations, with special reference to biological control. *Evolutionary Applications* 5, 424-443.
- Fellin, L., Grassi, A., Puppato, S., Saggi, A., Anfora, G., Ioriatti, C., Rossi-Stacconi, M.V. (2023) First report on classical biological control releases of the larval parasitoid *Ganaspis brasiliensis* against *Drosophila suzukii* in northern Italy. *BioControl*, 1-12.
- Forshage, M., Nordlander, G. (2008) Identification key to European genera of Eucoilinae (Hymenoptera, Cynipoidea, Figitidae). *Insect Systematics & Evolution* 39, 341-359.
- Fraimout, A., Debat, V., Fellous, S., Hufbauer, R.A., Foucaud, J., Pudlo, P., Marin, J.M., Price, D.K., Cattel, J., Chen, X. and Deprá, M. (2017) Deciphering the routes of invasion of *Drosophila suzukii* by means of ABC random forest. *Mol. Biol. Evol.* 34, 980-996.
- Gabarra, R., Riudavets, J., Rodríguez, G.A., Pujade-Villar, J., Arnó, J. (2015) Prospects for the biological control of *Drosophila suzukii*. *BioControl* 60, 331-339.
- Gallardo, F.E., Funes, C.F., Reche, V., Kirschbaum, D.S., Ovruski, S.M., Buffington, M.L. (2021) First record and distribution of *Ganaspis brasiliensis* (Hymenoptera: Figitidae: Eucoilinae), a parasitoid of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Argentina. *Neotrop. Entomol.*, 1-6.
- Giorgini, M., Wang, X.G., Wang, Y., Chen, F.S., Hougardy, E., Zhang, H.M., Chen, Z.Q., Chen, H.Y., Liu, C.X., Cascone, P., Formisano, G., Carvalho, G.A., Biondi, A., Buffington, M., Daane, K.M., Hoelmer, K.A., Guerrieri, E. (2019) Exploration for native parasitoids of *Drosophila suzukii* in China reveals a diversity of parasitoid species and narrow host range of the dominant parasitoid. *J. Pest Sci.* 92, 509-522.
- Girod, P., Borowiec, N., Buffington, M., Chen, G.H., Fang, Y., Kimura, M.T., Peris-Felipo, F.J., Ris, N., Wu, H., Xiao, C., Zhang, J.P., Aebi, A., Haye, T., Kenis, M. (2018a) The parasitoid complex of *D. suzukii* and other fruit feeding *Drosophila* species in Asia. *Sci. Rep.* 8, e11839.
- Girod, P., Rossignaud, L., Haye, T., Turlings, T.C.J., Kenis, M. (2018b) Development of Asian parasitoids in larvae of *Drosophila suzukii* feeding on blueberry and artificial diet. *J. Appl. Entomol.* 142, 483-494.
- Girod, P., Lierhmann, O., Urvois, T., Turlings, T.C.J., Kenis, M., Haye, T. (2018c) Host specificity of Asian parasitoids for potential classical biological control of *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 91, 1241-1250.
- Gonzalez-Cabrera, J., Cordoba-Urtiz, E.G., Moreno-Carrillo, G., Sanchez-Gonzalez, J.A., Arredondo-Bernal, H.C. (2020) First report of the Parasitoid *Ganaspis brasiliensis* Ihering (Hymenoptera: Figitidae) in Mexico. *Entomological News*, 129, 67-70.
- Goodhue, R.E., Bolda, M., Farnsworth, D., Williams, J.C., Zalom, F.G. (2011) Spotted wing drosophila infestation of California strawberries and raspberries: economic analysis of potential revenue losses and control costs. *Pest Manag. Sci.* 67, 1396-1402.
- Gress, B.E., Zalom, F.G. (2019) Identification and risk assessment of spinosad resistance in a California population of *Drosophila suzukii*. *Pest Manag. Sci.* 75, 1270-1276.
- Hamby, K.A., Hernandez, A., Boundy-Mills, K., Zalom, F.G. (2012) Associations of yeasts with spotted-wing drosophila (*Drosophila suzukii*; Diptera: Drosophilidae) in cherries and raspberries. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 4869-4873.
- Hamby, K.A., Bellamy, D.E., Chiu, J.C., Lee, J.C., Walton, V.M., Wiman, N.G., York, R.M., Biondi, A. (2016) Biotic and abiotic factors impacting development, behavior, phenology, and reproductive biology of *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 89, 605-619.

- Hauser, M. (2011) A historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. *Pest Manag. Sci.* 67, 1352-1357.
- Haye, T., Girod, P., Cuthbertson, A.G.S., Wang, X.G., Daane, K.M., Hoelmer, K.A., Baroffio, C., Zhang, J.P., Desneux, N. (2016) Current SWD IPM tactics and their practical implementation in fruit crops across different regions around the world. *J. Pest Sci.* 89, 643-651.
- Hopper, K.R., Roush, R.T. (1993) Mate finding, dispersal, number released, and the success of biological control introductions. *Ecological Entomology* 18, 321-331.
- Hougardy, E., Hogg, B.N., Wang, X.-G., Daane, K.M. (2019) Comparison of thermal performances of two Asian larval parasitoids of *Drosophila suzukii*. *Biol. Control* 136, 104000.
- Ioriatti, C., Frontuto, A., Grassi, A., Anfora, G., Simoni, S. (2012) *Drosophila suzukii* (Matsumura), una nuova specie invasiva dannosa alle colture di piccoli frutti. *Atti dell'Accademia dei Georgofili*, VIII, 69–80.
- Ioriatti, C., Walton, V., Dalton, D., Anfora, G., Grassi, A., Maistri, S., Mazzoni, V. (2015) *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) and its potential impact to wine grapes during harvest in two cool climate wine grape production regions. *J. Econ. Entomol.* 108, 1148–1155.
- Kaçar, G., Wang, X.G., Biondi, A., Daane, K.M. (2017) Linear functional response by two pupal *Drosophila* parasitoids foraging within single or multiple patch environments. *PLoS One* 12: e0183525.
- Kacsoh, B.Z., Schlenke, T.A. (2012) High hemocyte load is associated with increased resistance against parasitoids in *Drosophila suzukii*, a relative of *D. melanogaster*. *PLoS One* 7, e34721.
- Kanzawa, T. (1939) Studies on *Drosophila suzukii* Mats (in Japanese), Yamanashi Agricultural Experimental Station, Kofu, Japan.
- Karageorgi, M., 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.
- Keesey, 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., Rehermann, 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.
- F. Lisi, A. Biondi, C. Cavallaro, L. Zappalà, G. Campo, P.F. Roversi, G. Sabbatini Peverieri, L. Giovannini, L. Tavella, F. Tortorici, S. Bardella, C. Carli, G. Bosio, N. Mori, L. Tonina, G. Zanini, S. Caruso, G. Vaccari, A. Masetti, B. Bittau, M. Bariselli, S. Schmidt, M. Falagiarda, L. Bertignono, R. Bonfanti, M. Giorgini, E. Guerrieri, F.G. Tropiano, V. Verrastro, N. Baser, A. Ibn Amor, S. Endrizzi, L. Tessari, S. Puppato, C. Ioriatti, A. Grassi, G. Anfora, L. Fellin and M.V. Rossi Stacconi (2022) Current status of *Drosophila suzukii* classical biological control in Italy. III International Organic Fruit Symposium and I International Organic Vegetable Symposium, ISHS Acta Horticulturae 1354.
- 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.
- Santoiemma, G., Trivellato, F., Caloi, V., Mori, N., Marini, L. (2019) Habitat preference of *Drosophila suzukii* across heterogeneous landscapes. *J. Pest Sci.* 92, 485-494.
- Santoiemma, G., Tonina, L., Marini, L., Duso, C., Mori, N. (2020) Integrated management of *Drosophila suzukii* in sweet cherry orchards. *Entomologia Generalis* 40, 297-305.
- Savage, J. (2002) Cleaning up the world: Dipteran decomposers. In: Skevington, J.H., Dang, P.T. (eds.) *Exploring the diversity of flies (Diptera)*. *Biodiversity* 3, 12–15.
- Schilthuizen, M., Nordlander, G., Stouthamer, R., van Alphen, J.J.M. (1998) Morphological and molecular phylogenetics in the genus *Leptopilina* (Hymenoptera: Cynipoidea: Eucoilidae). *Syst Entomol* 23, 253–264.
- Seehausen, M.L., Valenti, R., Fontes, J., Meier, M., Marazzi, C., Mazzi, D., Kenis, M. (2022) Large-arena field cage releases of a candidate classical biological control agent for spotted wing drosophila suggest low risk to non-target species. *J. Pest Sci.* 95, 1057-1065.
- 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.