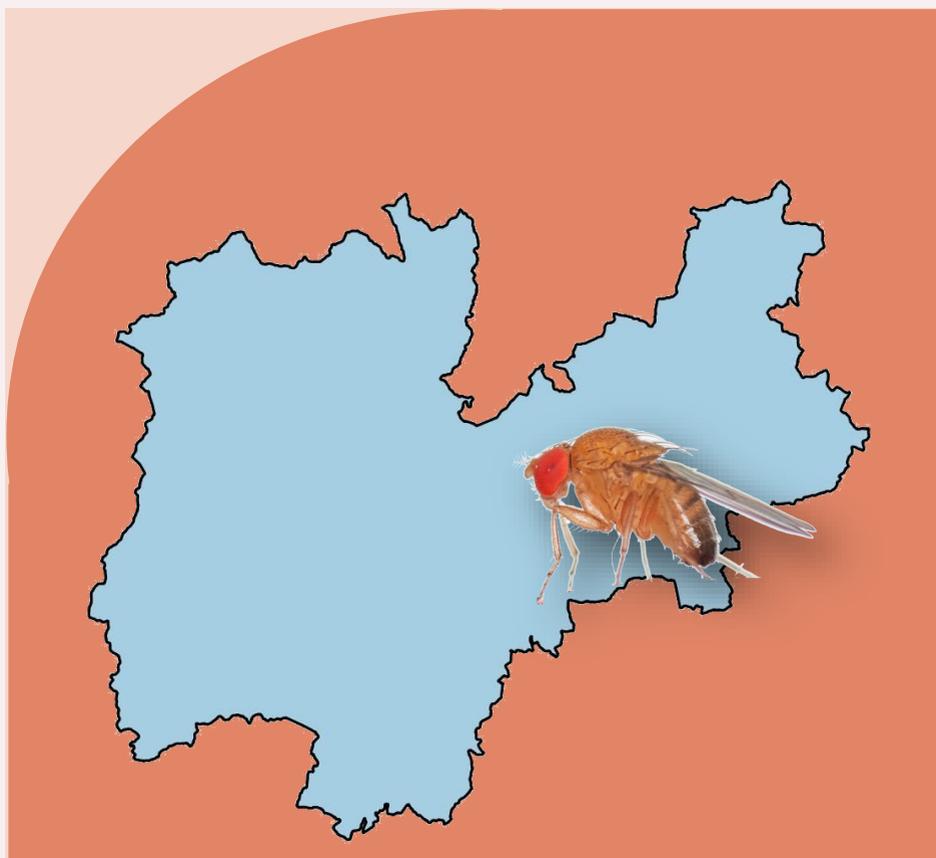


***DROSOPHILA SUZUKII*, UNA SPECIE ALIENA DANNOSA ALLE COLTURE DI PICCOLI FRUTTI IN TRENTINO: RICERCHE IN CORSO E LINEE GUIDA PER IL CONTROLLO**



Con il contributo scientifico di



DONDENA
Centro "Carlo F. Dondena"
per la Ricerca sulle Dinamiche Sociali
e Politiche Pubbliche

Testi a cura di

Gianfranco Anfora

Autori

Gianfranco Anfora, Omar Rota Stabelli, Gabriella Tait* – Fondazione Edmund Mach, Centro Ricerche e Innovazione

Angela Gottardello, Alberto Grassi, Claudio Ioriatti, Marco Valerio Rossi Stacconi – Fondazione Edmund Mach, Centro Trasferimento Tecnologico

Andrea Pugliese – Università di Trento, Dipartimento di Matematica

*Università di Udine

Si Ringraziano

La Provincia Autonoma di Trento

Il Consorzio dei Comuni Trentini

I Comuni della Provincia Autonoma di Trento che hanno attivamente collaborato alla realizzazione delle attività sperimentali ed in particolare i Comuni di Mezzocorona, Mezzolombardo, Roverè della Luna, San Michele all'Adige e Zambana.

Il MUSE

La Comunità Alto Garda e Ledro

Raul Bergamini

L'Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari della Provincia Autonoma di Trento

I Dipartimenti di Prevenzione delle Aziende Sanitarie ULSS 1 e 2 della provincia di Belluno (ora ULSS 1 Dolomiti)

Sommario

Prefazione	5
Introduzione	6
Monitoraggio e controllo integrato di <i>Drosophila suzukii</i> in provincia di Trento	12
Il monitoraggio territoriale	12
Lo svernamento	15
La ripresa dello sviluppo.....	18
La fase estiva, di stabilizzazione delle popolazioni	21
La lotta integrata a <i>Drosophila suzukii</i> in provincia di Trento	22
Il ricorso agli insetticidi registrati.....	29
Il controllo biologico della <i>Drosophila suzukii</i> : situazione attuale e prospettive	31
Il panorama mondiale.....	32
Il controllo biologico nel progetto LExEM	32
Gli studi di laboratorio	33
Le prove in serra	34
La sperimentazione in pieno campo	35
Applicabilità, problematiche e prospettive future	37
Le prospettive di utilizzo delle biotecnologie: genomica, genetica, interferenza riproduttiva	38
Il genoma e le dinamiche di popolazione	38
Marcatori molecolari per migliorare strategie di difesa	40
L'utilità della chemiogenomica per il monitoraggio e la cattura massale.....	41

Controllo delle popolazioni tramite manipolazioni genetiche.....	41
Interferenza riproduttiva con insetto sterile ed incompatibile	43
Lo sviluppo e l'utilizzo dei modelli previsionali per la gestione di <i>Drosophila</i> <i>suzukii</i>	44
Conclusioni	47
Bibliografia	49



Prefazione

Il Progetto LExEM (Laboratorio di Eccellenza per l'Epidemiologia e la Modellistica, (<https://ricercapubblica.provincia.tn.it/PROGETTI-REALIZZATI-FONDO-RICERCA/LexEM>) è un progetto finanziato dalla Provincia Autonoma di Trento sul fondo per i Grandi Progetti di Ricerca.



Esso ha permesso la creazione di un laboratorio virtuale di eccellenza, un hub di produzione di innovazione e nuova conoscenza con rapido trasferimento della stessa, su tematiche di forte rilevanza per il territorio e per la società con particolare riferimento ai comparti dell'agricoltura e della salute in un'ottica di One Health. Nel contempo, ha favorito una maggior integrazione e sinergia tra gli attori dello STAR (Sistema Trentino dell'Alta Formazione e della Ricerca), ed in particolare di Fondazione Edmund Mach, Fondazione Bruno Kessler, Università di Trento, Muse e Istituto Zooprofilattico delle Venezie. Al progetto ha inoltre collaborato, come istituto esterno, l'Università Bocconi di Milano.

Più precisamente, lo scopo del progetto LExEM era quello di riuscire a definire le migliori strategie di mitigazione e controllo di artropodi alieni di interesse agronomico e medico-veterinario di recente introduzione in Italia. Di fatto, le specie target considerate nel progetto sono la zanzara tigre (*Aedes albopictus*), vettore di malattie infettive emergenti come il virus Zika, la zanzara coreana (*Aedes koreicus*), specie di recente introduzione in Europa, ed il moscerino della frutta *Drosophila suzukii*. Grazie al progetto LExEM sono state ottenute nuove conoscenze sulla loro biologia, ecologia e comportamento in relazione alla realtà territoriale, urbanistica e climatica trentina. Contemporaneamente, sono stati sviluppati dei modelli matematici predittivi ed effettuate, in base ad essi, delle attività sperimentali mirate alla definizione delle migliori strategie di controllo. Le informazioni prodotte sono state riassunte in questa pubblicazione per poterle così mettere a disposizione degli stakeholders e di tutti gli operatori impegnati nel controllo di queste specie e nella prevenzione delle malattie da esse trasmesse.

Annapaola Rizzoli
Dirigente del
Centro Ricerca e Innovazione
Fondazione Edmund Mach
San Michele all'Adige (TN)

Michele Pontalti
Dirigente del
Centro di Trasferimento Tecnologico
Fondazione Edmund Mach
San Michele all'Adige (TN)

Introduzione

Gianfranco Anfora, Claudio Ioriatti

I meccanismi dell'economia globale espongono sempre più le comunità locali al rischio di invasione da parte di nuovi parassiti e patogeni. Questo fenomeno è uno dei maggiori fattori di rischio per l'agricoltura e l'ambiente e pone seri problemi in particolare in frutticoltura. Insetti e patogeni sono spesso introdotti in nuove zone attraverso gli scambi commerciali e turistici ed il loro insediamento è facilitato dai cambiamenti climatici in atto. Alcuni organismi non sono ancora presenti in Europa, ma costituiscono una seria minaccia: se è probabilmente impossibile evitarne l'ingresso, sarebbe comunque fondamentale mettere in atto programmi per la diagnosi precoce, per la valutazione del potenziale di diffusione e per l'identificazione delle strategie di controllo più adatte. Queste azioni richiedono un approccio multidisciplinare, la cooperazione nello scambio di esperienze tra le zone colpite, nonché la condivisione di risorse e competenze importanti che dovrebbero essere emesse a disposizione in tempi rapidi. L'esempio più recente d'invasione devastante nei nostri territori è quello della *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae), un moscerino endemico del Sud-Est asiatico.

Le specie appartenenti al genere *Drosophila*, comunemente definite mosche/moscerini dell'aceto o della frutta, sono circa 1500. Fra queste *D. suzukii* è una delle poche specie (la altre sono *Drosophila pulchrella* e *Drosophila subpulchrella*), che sono conosciute essere in grado di ovideporre su frutti sani prima che questi ultimi giungano a completa maturazione. *D. suzukii*, comunemente chiamata dagli americani Spotted Wing *Drosophila* riferendosi alla macchia scura ben evidente sulle ali dei maschi, è stata segnalata per la prima volta nel 1916 in Giappone, dove negli anni trenta vennero riportate elevate infestazioni a carico di ciliegie. La presenza di *D. suzukii* è stata in seguito rilevata in Cina, Corea e Russia e, a partire dagli anni ottanta, sono documentate infestazioni anche nelle isole Hawaii senza che ciò abbia destato o desti tuttora particolare allarme.



La sua presenza inizia a creare preoccupazione a partire dal 2008 quando vengono rinvenute infestazioni su fragola e su diverse specie del genere *Rubus* in California. Dall'anno successivo le segnalazioni di infestazioni si susseguirono rapidamente in diversi stati nord-americani. Anche l'Europa non è rimasta immune: alle prime catture realizzate nel 2008, sono immediatamente seguite nel 2009 le prime importanti infestazioni in diverse regioni italiane, francesi e spagnole (Cini et al., 2012; Ioriatti et al., 2012; Vitagliano et al., 2013; CABI, 2014). Nell'autunno 2009 a seguito delle prime segnalazioni di danni su fragola, lampone e mirtillo in Trentino ad opera di Alberto Grassi, è stata data comunicazione ufficiale del primo ritrovamento al Servizio fitosanitario centrale. I monitoraggi realizzati nel corso del 2010 hanno rivelato la presenza degli adulti anche in altre regioni italiane (Piemonte, Toscana e Campania), confermata nel 2011 dalle ripetute segnalazioni di gravi infestazioni sulla frutta anche in Emilia Romagna. In un incontro tra i Servizi fitosanitari regionali di Piemonte, Lombardia, Veneto, Trento ed Emilia-Romagna tenutosi a luglio 2011 a Bologna si è constatato che le infestazioni di *D. suzukii* coinvolgevano ormai interamente il nord d'Italia. Nel 2012 è stata segnalata anche in Sicilia ed attualmente la specie è presente praticamente su tutto il territorio nazionale.

Il danno economico in Provincia di Trento è apparso rilevante fin dal 2010 in particolare sui piccoli frutti dove si è stimato inizialmente un minor conferimento di prodotto variabile tra il 25 e il 35% della produzione attesa in funzione della coltura (maggiore per mirtillo e lampone). A questo dato deve essere aggiunto l'elevato scarto di prodotto nella cernita in magazzino e le perdite economiche dovute alla scarsa conservabilità del prodotto e alla conseguente necessità di vendere rapidamente il prodotto conferito. Le prime stime portarono a collocare l'impatto economico complessivo del danno di *D. suzukii* per le produzioni della sola Provincia di Trento attorno ai 3-4 milioni di euro. Negli anni successivi, la maggior consapevolezza del problema e la conoscenza della biologia dell'insetto hanno portato all'adozione di strategie di lotta integrata che hanno permesso quanto meno di ridurre l'impatto di questo fitofago. L'impatto economico complessivo nel biennio 2012-2013 (perdita di prodotto sommata al costo delle strategie di controllo) ammonterebbe a circa 1 milione di euro corrispondenti al 7% del valore della produzione (De Ros et al., 2015).

La *Drosophila suzukii*: principali caratteristiche

Gli adulti di *D. suzukii* misurano dai 2-3 mm e presentano occhi rossi; il maschio si riconosce agevolmente per le due macchie scure sulle ali, mentre la femmina si distingue per la presenza di un robusto ovopositoro denticolato che permette l'inserimento delle uova nei frutti sani in pianta ancora prima della maturazione.



L'ovideposizione inizia ad aprile e si protrae fino a novembre attraverso generazioni successive. Si è osservato che su mora, mirtillo, ciliegio, lampone, e fragola, lo stadio di sviluppo coincidente con il cambio di colore (invaiaitura) è quello preferito per l'ovideposizione rispetto allo stadio verde o alla sovramaturazione. Le femmine fecondate possono deporre da 1 a 3 uova per frutto e da 7 a 16 uova per giorno, deponendo fino a 300-600 uova nel corso della loro vita in funzione della coltura e della varietà e dello stato di maturazione del frutto. Le uova sono difficilmente visibili ad occhio nudo tramite gli spiracoli respiratori che emergono all'esterno del substrato di ovideposizione.



Le larve sono apode di colore bianco e misurano 3-4 mm nell'ultimo stadio di sviluppo. L'insetto si sviluppa attraverso tre stadi larvali e lo sviluppo dall'uovo all'adulto si svolge in 8-10 giorni circa a 25°C, e in 21-25 giorni a temperature di 15°C. I pupari sono inizialmente giallo-grigiastri e diventano marrone con l'indurimento della cuticola (Figura 5). L'impupamento può avvenire sia all'interno del frutto (più comunemente) che all'esterno dello stesso o sul terreno.



Il danno diretto causato da *D. suzukii* è provocato dall'attività trofica delle larve nella polpa dei frutti in maturazione; questo facilita anche lo sviluppo di infezioni secondarie a carico di funghi, lieviti e batteri che accelerano il deterioramento dei frutti e provocano ulteriori danni (Figura 6).



Come accennato precedentemente, oltre alle perdite in fase di raccolta vi è un incremento dei costi di produzione (monitoraggio, trattamenti insetticidi, incremento del lavoro per la selezione dei frutti, riduzione della conservabilità e di competitività). L'adulto emerge al mattino e ha la sua maggiore attività attorno ai 20°C, mentre temperature superiori ai 30° ne limitano l'attività e sterilizzano i maschi.

L'ovideposizione avviene fra 10 e 32°C. Lo svernamento è assicurato dagli adulti nel terreno o nelle foglie, prevalentemente dalle femmine, la cui mortalità comincia a temperature inferiori a 5 °C e raggiunge il 75% a -2 °C. Gli adulti raccolti in autunno sarebbero sessualmente immaturi e pertanto si ipotizza una diapausa riproduttiva durante l'inverno in una forma invernale più resistente al freddo (Rossi Stacconi *et al.*, 2016). Persistendo l'insetto per anni anche in regioni caratterizzate da inverni particolarmente rigidi si conferma l'ipotesi che la sopravvivenza invernale in tali contesti sia connessa alla possibilità che *D. suzukii* trovi rifugio in ambienti antropizzati e che da qui si disperda e incrementi la densità di popolazione nel corso della stagione estiva e autunnale. Per questa sua plasticità rispetto alle diverse condizioni di temperatura l'insetto appare straordinariamente adattabile ai diversi contesti climatici.

Numerose sono le specie frutticole di rilevanza economica annoverate fra i potenziali ospiti di *D. suzukii*; fra queste le più comuni sono ciliegio, susine, albicocche, pesche, fragola, lampone, mirtillo, mora, fichi, kiwi. Anche la vite è annoverata tra gli ospiti di questo fitofago. Studi condotti in LExEM dimostrano però che solo alcune varietà, a causa delle loro caratteristiche chimico-fisiche, sono suscettibili alle ovideposizioni in fase di maturazione (ad esempio la varietà "Schiava") (Ioriatti *et al.*, 2015). *D. suzukii* infatti preferisce soprattutto varietà a colore rosso, a raccolta tardiva e frutti di minor fermezza. È probabile che altri fattori, come precedenti danni da grandine ed attività trofica di altri fitofagi, facilitino gli attacchi del moscerino.



È in fase di valutazione anche un suo possibile ruolo come vettore di microrganismi responsabili del marciume acido della vite. Oltre a queste specie *D. suzukii* può svilupparsi a spese di un'ampia gamma di piante ospiti selvatiche (*Lonicera spp.*, *rubus selvatici*, *Sambucus nigra*, *Frangula alnus*, *Hedera helix* ecc.) che in funzione dell'epoca di maturazione dei frutti offrono all'insetto una costante fonte alimentare nel corso della stagione.

L'elevato potenziale riproduttivo, la capacità di diffondersi rapidamente, la costante presenza di frutta suscettibile all'attacco, la potenzialità e l'adattabilità biologica alle diverse condizioni spazio-temporali rendono difficoltoso il contenimento e praticamente impossibile l'eradicazione. Date queste limitate conoscenze relative a questa nuova specie nel nostro ambiente, il centro di ricerca FEM si è immediatamente attivato conducendo ricerche a medio e lungo termine finalizzate alla messa a punto di strategie di controllo sostitutive o integrative della tradizionale difesa chimica.



Il progetto LEXEM in particolare ha permesso di coordinare il lavoro di ricercatori con diverse competenze e provenienze da diverse istituzioni scientifiche della Provincia di Trento e nazionali, con il contributo anche di consulenti di prestigiosi enti internazionali e la partecipazione dei portatori di interesse locali. I ricercatori coinvolti nel progetto si sono occupati di studiare la biologia e l'ecologia di questa nuova specie invasiva allo scopo di produrre strumenti di valutazione del rischio e di mettere a punto strategie di controllo integrato sostenibili dal punto di vista ambientale ed economico. L'obiettivo concreto finale è stato fornire modelli di supporto alle decisioni e metodi di difesa per la razionalizzazione e riduzione dell'uso dei prodotti fitosanitari.

Nei capitoli successivi sono descritti i principali risultati ottenuti nell'ambito del progetto LEXEM organizzati in modo da fornire informazioni chiare ma dettagliate sul comportamento di questo insetto nei nostri ambienti e costituire anche una sorta di linea guida sullo stato dell'arte delle strategie di controllo integrato nei nostri agroecosistemi.

Monitoraggio e controllo integrato di *Drosophila suzukii* in provincia di Trento

Alberto Grassi, Gabriella Tait, Angela Gottardello



Il monitoraggio territoriale

Tra le principali difficoltà che un ricercatore può incontrare quando un nuovo insetto fa la sua comparsa in un determinato territorio, sicuramente si deve considerare la possibile carenza di informazioni circa la sua biologia ed il comportamento.

Nel caso di *D. suzukii*, all'epoca del suo 1° rinvenimento in Trentino (avvenuto nel settembre 2009) le uniche informazioni bibliografiche piuttosto complete sull'argomento erano alcune traduzioni in inglese di lavori di entomologi giapponesi risalenti ai primi decenni del 1900 (fondamentali ad esempio gli scritti del 1936 di Kanzawa) e informazioni reperibili sul web grazie alle prime attività di ricercatori americani, alle prese con l'insetto già dall'anno precedente. Pochi altri lavori erano stati pubblicati sempre da ricercatori asiatici (es. il giapponese Kimura) negli anni tra il 1970 ed il 2000.

La sua rapida diffusione a livello mondiale avvenuta dopo il 2010, non è stata accompagnata da un altrettanto veloce sviluppo della conoscenza sulla sua biologia ed ecologia, fondamentale elemento per la messa in atto di strumenti di controllo. È stato proprio nel tentativo di cercare di riempire al più presto questo vuoto di conoscenza che nel 2010, tra le altre attività intraprese presso FEM, in collaborazione con l'Ufficio Fitosanitario Provinciale abbiamo predisposto ed avviato il primo piano di monitoraggio territoriale. Obiettivo principale di questa attività era quello di definire l'areale di diffusione dell'insetto sul territorio, con particolare riferimento alle principali zone di produzione dei piccoli frutti, cercando nel contempo di ricostruirne la dinamica di popolazione durante l'intera stagione. Per ricostruire l'attività di volo dell'insetto vennero impiegati all'epoca circa 80 flaconi bianchi della capacità di 1000 ml, caricati con 200 ml di aceto di mela e posizionati in altrettanti siti posti a differenti altitudini (impianti di ciliegio, piccoli frutti, albicocco, vite, melo e boschi). A partire dalla stagione successiva, al monitoraggio degli adulti, esteso anche al periodo invernale, è stato affiancato anche quello relativo alle ovodeposizioni sui frutti.

Questo tipo di indagine, piuttosto gravoso ed impegnativo, oltre a consentire la raccolta di informazioni relative alla sensibilità delle diverse specie spontanee e coltivate (sia in termini di epoca fenologica, che di consistenza degli attacchi), avrebbe permesso di creare un sistema di allerta per i produttori informandoli circa la reale situazione di rischio e necessità di interventi insetticidi mirati, stabilendo possibilmente delle soglie di intervento incrociando i dati con quelli ottenuti dalle trappole. Inoltre poteva permettere la valutazione della efficacia degli interventi insetticidi stessi e fornire informazioni di natura pratica (es. pratiche di prevenzione per il contenimento dei danni attraverso una corretta tempistica della raccolta e gestione dei frutti) circa il contributo di eventuali fattori di controllo naturale (es. parassitoidi). Vennero così ispezionati uno ad uno poco più di 45000 frutti nel 2011.



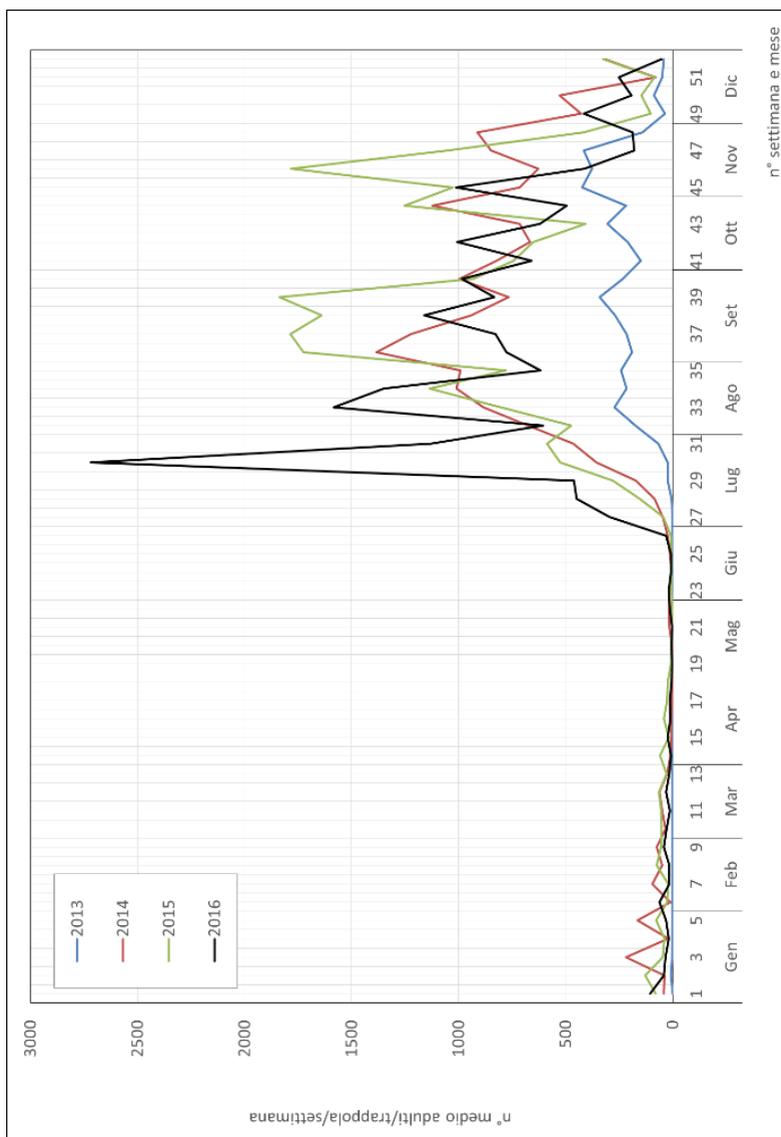
Trappola Drosophila Trap di Biobest
(<https://www.rebbau-spiez.ch/produkte-shop/drosophila-falle/>)

Nel corso delle successive stagioni il monitoraggio territoriale è stato migliorato grazie alla progressiva messa a punto di trappole ed esche sempre più efficaci, fino ad arrivare all'attuale soluzione tecnica che prevede l'impiego in combinazione della trappola Drosophila Trap® di Biobest (Figura 7) con la miscela attrattiva denominata Droskidrink (composta al 75% di aceto di mela poco pastorizzato, 25% di vino rosso e 20 grammi litro di zucchero di canna non raffinato) (Grassi et al., 2015).

Il protocollo usato per il monitoraggio è rimasto praticamente invariato negli anni successivi, che hanno visto semmai una razionalizzazione per quanto riguarda il numero e la tipologia dei siti sorvegliati. Altre attività collaterali hanno permesso invece di raccogliere ulteriori informazioni a completamento di quelle fornite dal monitoraggio. Di particolare rilievo è certamente l'analisi della maturazione riproduttiva delle femmine adulte catturate durante l'intera stagione, attività di laboratorio piuttosto impegnativa che consiste nel dissezionare alla luce di un binoculare gli addomi delle femmine per cercare al loro interno gli ovari e classificarli sulla base di uno schema di riconoscimento di 5 stadi di sviluppo. Allo stato attuale, sono stati ispezionati con questo sistema più di 75.000 individui raccolti dal 2012 in poi.

La Figura 8 riporta le dinamiche di cattura degli adulti realizzate negli ultimi 4 anni durante il monitoraggio sul territorio provinciale con trappole Droso Trap® caricate con Droskidrink.

Figura 8: dinamica delle catture di *Drosophila suzukii* sul territorio provinciale negli ultimi 4 anni



La Figura 9 indica invece la % di frutti infestati da uova rilevati durante tutta la stagione. Aiutandoci con questi grafici, cercheremo ora di spiegare il comportamento tipico di *D. suzukii* sul territorio trentino.

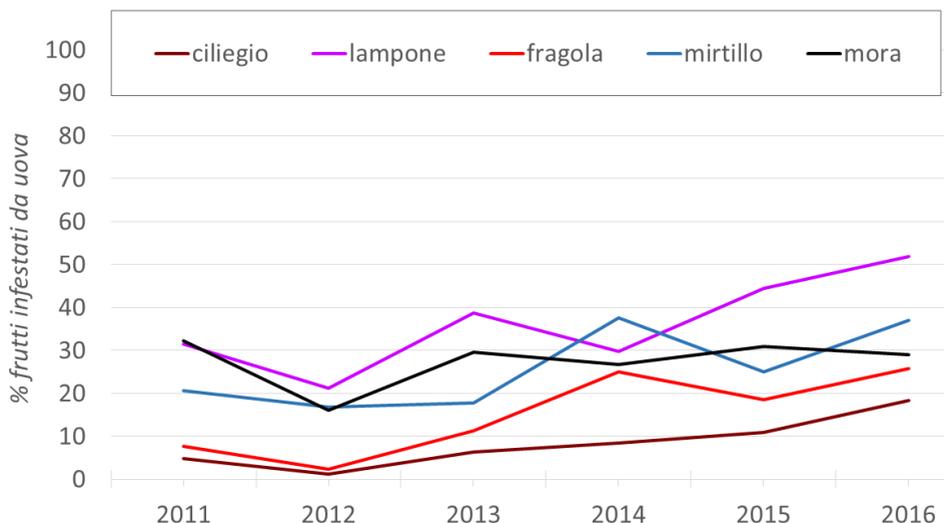


Figura 9: dinamica della infestazione su campioni di frutti ispezionati in provincia di Trento

Lo svernamento

Come documentato anche dal monitoraggio, *D. suzukii* trascorre l'inverno sul nostro territorio nello stadio adulto (maschi e soprattutto femmine). Si tratta di popolazioni di gran lunga inferiori rispetto a quelle che si sviluppano nel resto della stagione, per effetto della mortalità naturale dovuta alle condizioni climatiche invernali. Non è noto dove trovino riparo durante l'inverno, ma i nostri rilievi sembrano indicare una predilezione per i margini boschivi, anziché per le coltivazioni in campo aperto. È probabile che nel bosco l'insetto adulto possa trovare ambienti dai microclimi più favorevoli, maggiori opportunità di riparo dal vento e dalle temperature rigide, una umidità relativa (fattore cruciale per la sopravvivenza) mediamente più alta e stabile, la presenza di vegetazione folta garantita da specie sempreverdi (cespugli di edera e rovo, conifere, ecc.) nella quale ripararsi.

Altri siti dove si rinvencono solitamente aggregazioni di adulti più consistenti, e quindi probabili punti favoriti di svernamento, sembrano essere gli impianti di compostaggio, dove i processi fermentativi nelle masse di compost possono garantire non solo un micro-ambiente dalle temperature più miti, ma anche substrati temporanei per la nutrizione. Adulti si rinvencono nei fori dei muretti a secco che spesso stanno al limitare di prati e boschi e le cui pietre possono accumulare il calore di giorno per rilasciarlo gradualmente. Pochi adulti, in prevalenza maschi, sono stati rinvenuti occasionalmente in inverno anche sotto corteccia in alcuni vigneti.

L'insetto sembra in grado di selezionare con attenzione sul territorio i siti più propizi per lo svernamento, non solo in funzione dei micro-habitats che offrono, ma anche della loro esposizione rispetto alla luce solare, in particolare per quanto riguarda la prima parte della giornata. Si è inoltre dimostrato recentemente tramite prove di marcatura e ricattura che gli individui che si sviluppano a fine stagione nelle zone a quote superiori migrano verso il fondovalle alla ricerca di condizioni climatiche più favorevoli, dove infatti si riscontrano abitualmente raggruppamenti di adulti più consistenti durante l'inverno.

Sovente, nelle vicinanze delle postazioni di maggiore cattura invernale figura la presenza di corsi d'acqua, tanto che si ipotizza che ciò non sia del tutto casuale, ma che questi rivi possano garantire oltre a maggiori tassi di umidità relativa dell'aria, la possibilità di idratazione per gli adulti stessi durante l'inverno.

Le catture realizzate nel periodo invernale ci dicono che questo insetto non affronta in questo periodo dell'anno una vera e propria diapausa, con interruzione dell'attività motoria e alimentare. Gli adulti infatti possono lasciare temporaneamente i loro rifugi in occasione di giornate particolarmente favorevoli. Obiettivo di questi movimenti è quasi certamente la nutrizione e l'idratazione, al fine di mantenersi vitali e proteggere adeguatamente gli organi riproduttivi.



Una vera e propria diapausa invece sembra intervenire in *D. suzukii* durante l'inverno per quanto riguarda l'attività riproduttiva (Rossi Stacconi *et al.*, 2016). L'analisi degli ovari delle femmine catturate (i cui risultati sono riassunti nella Figura 10) evidenzia infatti l'assenza di femmine con uova mature libere nell'addome e potenzialmente quindi in grado di ovideporre. Questo comportamento può trovare la sua logica nel fatto che in questo periodo della stagione sarebbe comunque molto difficile reperire frutti suscettibili nei nostri ambienti e che pertanto, mancando le condizioni che possano garantire uno sviluppo minimo della progenie, per non correre il rischio di estinguersi l'insetto blocchi l'oogenesi in attesa di tempi migliori.

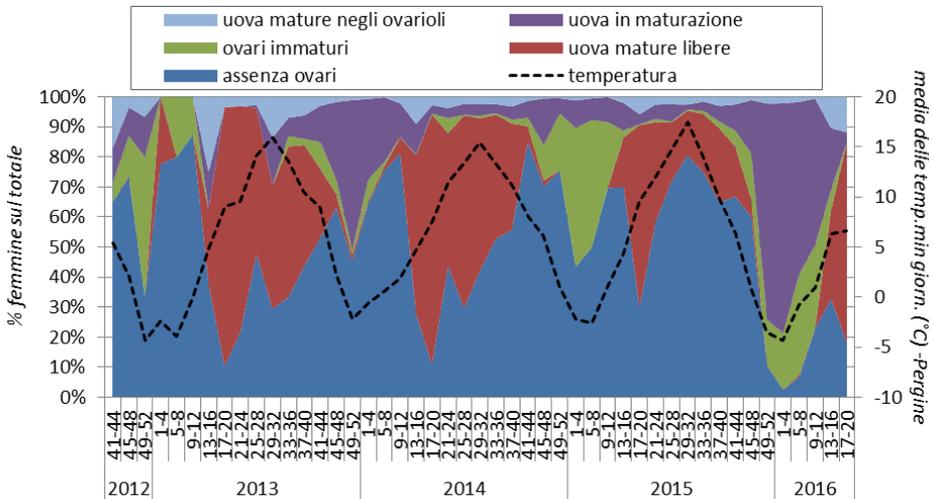


Figura 10: dinamica della maturazione ovarica delle femmine di *Drosophila suzukii* catturate in provincia di Trento

È piuttosto evidente invece come, sul finire della stagione, i cambiamenti climatico-ambientali (calo delle temperature e riduzione del fotoperiodo) inducano nelle ultime femmine un blocco della oogenesi, in qualsiasi situazione di sviluppo riproduttivo esse si trovino. Abbiamo così ogni anno una popolazione femminile composta da individui in diversi stadi precoci di maturazione riproduttiva, accanto ad altri che non presentano organi riproduttivi sviluppati (individui vecchi, che hanno esaurito o riassorbito le loro uova, o individui che non sono riusciti a proteggere i loro organi riproduttivi durante l'inverno). Questi ultimi chiaramente non daranno origine ad alcuna generazione alla ripresa della stagione.

La composizione percentuale della popolazione femminile nei diversi stadi riproduttivi durante la fase invernale non è costante, bensì sembra variare anche notevolmente di anno in anno, in funzione probabilmente sia dell'incidenza sulla loro sopravvivenza delle condizioni climatiche (T e UR), ma anche della composizione esistente al momento dell'intervento dei fattori predisponenti la diapausa. Questa combinazione sembrerebbe in grado di influenzare anche lo sviluppo dell'insetto nella prima parte della stagione successiva, tanto da avere così ripercussioni sull'intero sviluppo stagionale.

La ripresa dello sviluppo

Come abbiamo già accennato, il ritorno a condizioni climatico-ambientali favorevoli (aumento della T e del fotoperiodo), riattiva l'oogenesi nelle femmine. L'analisi della maturazione ovarica consente di stabilire il momento in cui fanno la loro prima comparsa le femmine con uova mature fertili e pronte per essere deposte, ovvero il momento in cui l'insetto è potenzialmente in grado di riprendere lo sviluppo demografico dopo la pausa invernale. Si tratta di un evento importantissimo nella bioecologia dell'insetto nello specifico del nostro territorio, che consente di stabilire l'inizio della fase di rischio reale di infestazione.

Questo momento può essere determinato con una eccellente approssimazione anche grazie ad un modello di sviluppo previsionale messo a punto in collaborazione con i ricercatori della Oregon State University, USA (Wiman *et al.*, 2014 e 2016). I due metodi di analisi hanno fornito in alcuni casi addirittura lo stesso periodo di comparsa di questo tipo di femmine, rivelandosi quindi altamente affidabili per questo proposito.



L'epoca della comparsa delle prime femmine mature con uova libere nell'addome sembra essere strettamente dipendente dalle temperature registrate durante l'inverno. Affinché si manifesti questo evento biologico, sembra necessario un accumulo di almeno 500 gradi giorno di temperature al di sopra di 7,2°C a partire dal 1° gennaio. Cosicché più rigido è l'inverno, più lento è l'accumulo di gradi giorno e più tardiva sarà la comparsa di queste femmine. Fatta eccezione per la primavera 2013, quando le prime femmine mature sono state rilevate attorno alla metà di aprile, nelle stagioni successive i primi rinvenimenti sono stati fatti già a marzo (addirittura tra il 10 e 16 marzo nel 2014).

Qual è il destino di queste uova dal momento che sul nostro territorio a quell'epoca non sono potenzialmente presenti frutti suscettibili in grado di ospitare queste uova e consentirne lo sviluppo?

Tutte le ipotesi che volevano un riassorbimento delle stesse o una conservazione in stand-by nell'addome fino alla comparsa dei frutti suscettibili, sono state smentite dai risultati di alcune indagini ulteriori condotte durante il monitoraggio territoriale nel 2016. Uova di *D. suzukii* sono state infatti ritrovate su campioni di bacche di edera (*Hedera helix*) raccolti in alcune postazioni. Dopo conservazione in condizioni di laboratorio, adulti di nuova generazione sono emersi da alcuni di questi campioni, confermando



pertanto che lo sviluppo delle primissime generazioni è possibile su questo ospite estremamente diffuso. Infine, adulti sono stati ottenuti in seguito ad ovodeposizione su compost domestico da parte di alcune femmine svernanti catturate vive a metà febbraio in un sito a Trento e lasciate a contatto per 7 giorni in laboratorio con il substrato.

È evidente pertanto come l'insetto possa rapidamente avviare lo sviluppo demografico sfruttando queste opportunità.

Le femmine all'uscita dallo svernamento possono inoltre contare in questo periodo su un altro fattore ambientale di estrema importanza nella loro biologia, ovvero le fioriture. Prove di laboratorio hanno infatti dimostrato come la sopravvivenza di femmine di allevamento che avevano potuto alimentarsi anche del nettare abbondante nei fiori di ciliegio (e del gen. *Prunus* in generale) fosse aumentata mediamente di 8 giorni rispetto a femmine alle quali era stata fornita solo dell'acqua.

Il nettare apporterebbe anche effetti migliorativi sul loro potenziale riproduttivo.

Sono proprio le fioriture che contribuiscono alla diluizione sul territorio degli adulti presenti. Con la maturazione delle prime ciliegie, solitamente su piante incolte e isolate di vecchie varietà precoci, prende avvio in modo deciso, a partire dai fondovalle, lo sviluppo demografico stagionale. La preferenza di *D.suzukii* per questi frutti è notevole e la loro sensibilità è massima. L'assenza di trattamenti insetticidi ed il fatto che tali frutti non presentano interesse economico e generalmente non sono raccolti, favorisce il completo sviluppo delle uova, che spesso vengono deposte già su frutti appena rosati. L'intensità degli attacchi sui primi frutti di ciliegio spontaneo e il sincronismo tra il volo dell'insetto e la maturazione di questo importante ospite, sono determinanti per stabilire la gravità delle prime infestazioni sul ciliegio coltivato e sulle successive produzioni di frutta suscettibile.



Fenomeni metereologici tipici in primavera (marzo/aprile) quali le gelate e le piogge insistenti, possono incidere in misura importante sulle infestazioni, sia per un'azione indiretta (forte riduzione dei fiori e dei frutti, con conseguente riduzione dei siti di alimentazione e di sviluppo per le uova), che diretta (ritorni di temperature rigide possono interferire con i movimenti degli adulti, molto attivi in queste fasi per cercare di nutrirsi dopo la pausa invernale, causandone mortalità).

Nelle popolazioni iniziano pertanto a sovrapporsi adulti che hanno svernato (la cui longevità può arrivare anche fino a 300 giorni) e, a partire circa dalla metà-fine maggio, anche individui nuovi, riconoscibili per la colorazione del corpo più chiara.

Con il progredire della maturazione, a partire solitamente da fine maggio, l'infestazione si estende anche al ciliegio coltivato, interessando gradualmente anche gli areali di produzione a quote superiori.

Durante il periodo della maturazione del ciliegio (giugno) il clima è solitamente ancora piuttosto instabile e spesso ancora piovoso. Nelle situazioni di piante o coltivazioni non protette con teli antipioggia in nylon, la produzione può subire notevoli danni a seguito della spaccatura dei frutti.

Questi vanno incontro a marcescenza e spesso i produttori abbandonano la gestione e la raccolta. Questo comportamento consente lo sviluppo di forti popolazioni di adulti, con aumento dell'inoculo per le colture a maturazione successiva (piccoli frutti, in particolare).

La fase estiva, di stabilizzazione delle popolazioni

Dalla seconda metà di giugno, come evidente anche nella Figura 8, prende avvio quella che si può definire come la fase di stabilizzazione delle popolazioni, che vede lo sviluppo dei picchi demografici stagionali. Le temperature e l'umidità sono ora favorevoli per una maggiore fertilità delle femmine e per un più rapido sviluppo del ciclo vitale uovo-adulto. La disponibilità di frutti suscettibili aumenta in modo progressivo a tutte le altitudini.

È la fase più critica della stagione per le produzioni, dove l'insetto esprime la sua massima capacità di sviluppo. Controllare efficacemente l'insetto in questa fase con l'applicazione di mezzi di difesa può essere molto problematico, specie se la pressione demografica (variabile non solo a seconda della stagione, ma anche da sito a sito) risulta particolarmente consistente. Per esempio, la capacità di attrarre gli adulti da parte dei frutti è superiore a qualsiasi esca disponibile. Anche il controllo naturale ad opera di parassitoidi e predatori indigeni non pare in grado per ora di contrastare sufficientemente *D. suzukii* in questa fase dello sviluppo.

Tra i fattori di controllo naturale probabilmente più efficaci, possono esserci le temperature elevate (superiori a 30°C), specie se accompagnate da bassi tenori di umidità relativa. L'insetto infatti non ama questo tipo di condizioni, che possono avere una maggiore frequenza ed incidenza nei fondovalle, su impianti ben esposti e privi di zone rifugio marginali. Questo fenomeno è stato apprezzato ad esempio in occasione dei periodi più caldi di luglio e agosto 2015.

Sia le dinamiche di volo documentate dal monitoraggio territoriale, che le prove di marcatura e ricattura di adulti condotte durante il periodo estivo, dimostrano che gli adulti, agevolati da correnti ascensionali, possono compiere lunghi tragitti da siti ad altitudini inferiori verso quote superiori, probabilmente nel tentativo proprio di trovare condizioni climatiche più favorevoli, oltre che per reperire nuovi frutti suscettibili la cui maturazione risulta scalare in funzione dell'altitudine. A fine stagione, con l'arrivo delle condizioni autunnali, si innescherà il trasferimento inverso, ovvero in discesa verso il fondovalle, alla ricerca di luoghi e ambienti più favorevoli dove tornare a svernare.

L'attività riproduttiva di *D. suzukii* può continuare fino a novembre inoltrato sostenuta, come sempre più frequentemente accade negli ultimi anni, da situazioni climatiche ancora estremamente miti.

La Figura 9 riporta la dinamica della percentuale di frutti infestati da uova di *D. suzukii* dal 2011 in poi, così come risultato dai nostri rilievi di laboratorio su campioni di frutti prelevati in pieno campo prevalentemente da impianti gestiti dai produttori e non protetti con rete anti-insetto. Il dato, accostato a quello delle catture, rafforza l'immagine della pressione esercitata ogni stagione dall'insetto sulle colture, ma non è direttamente traducibile in una percentuale di danno dal momento che, specialmente per il ciliegio, parte di queste uova (stimabile attorno al 20-30%) non schiudono per effetto soprattutto dei trattamenti insetticidi. Entrambi i grafici testimoniano comunque come vi sia stata una tendenza all'aumento delle infestazioni nelle ultime stagioni, nonostante siano state messe in campo tutte le tecniche di controllo più efficaci attualmente a disposizione.

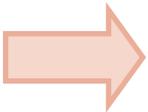
È evidente pertanto che abbiamo a che fare con un organismo tanto piccolo, quanto estremamente pericoloso nel suo potenziale biologico e di adattamento, che ha trovato nei nostri ambienti i suoi luoghi elettivi di sviluppo, facilitato da un cambiamento climatico in corso che coinvolge inevitabilmente anche il nostro territorio. La sfida è tutt'altro che semplice e coinvolge i ricercatori di tutto il mondo.

La lotta integrata a *D. suzukii* in provincia di Trento

Il quadro delle possibilità di difesa da *D. suzukii* su ciliegio e piccoli frutti è aggravato da un complesso di fattori che fanno riferimento non solo alla biologia dell'insetto, ma anche alle caratteristiche agronomiche delle produzioni più sensibili, ed in particolare a quelle dei piccoli frutti, la cui coltivazione è altamente concentrata sul nostro piccolo territorio. Tra le caratteristiche biologiche, determinante è quella di deporre le uova ben protette all'interno dei frutti sani durante le fasi finali della loro maturazione. Le larve svolgono il loro ciclo quindi completamente riparate nella polpa del frutto. Questa singolarità limita di fatto enormemente la lotta ai soli metodi che possono contrastare prevalentemente gli adulti, siano essi insetticidi, che prodotti o tecniche di altra natura e modalità di azione.

Di altrettanta importanza sono la rapidità del ciclo di sviluppo, che può essere completato su una innumerevole quantità di ospiti anche spontanei molto frequenti nei nostri ambienti, e l'elevato numero di generazioni possibili. Relativamente alle caratteristiche agronomiche delle coltivazioni di piccoli frutti, che sono destinate esclusivamente ad un consumo fresco, sicuramente la loro maturazione scalare e una lunga raccolta a più stacchi a distanza anche di pochi giorni l'uno dall'altro, rappresentano un elemento di ulteriore complicazione.

Con questi presupposti, FEM ha cercato sin dai primi anni di mettere a punto delle tecniche di lotta di approccio classico che inevitabilmente non rappresentano un punto di arrivo, bensì sono in costante evoluzione perché aperte alle acquisizioni sulla biologia e comportamento che arrivano dal mondo della ricerca.



L'applicazione combinata delle tecniche all'interno di un piano di difesa integrata su una zona più vasta possibile, sono la regola per cercare di ottenere il massimo beneficio.

Pratiche agronomiche: si tratta di una serie di misure dalla valenza prettamente preventiva, ovvero che mirano a creare nell'ambiente di coltivazione condizioni sfavorevoli alle infestazioni attraverso la modificazione dell'habitat. I primi anni di indagine e le osservazioni dei produttori stessi, hanno consentito di individuare alcuni punti chiave della biologia e tradurli in azioni concrete che, se applicate con attenzione e costanza, danno un importante contributo alla riduzione del danno. Oltre a preferire condizioni di clima mite (20-22°C), *D. suzukii* dimostra grandi capacità riproduttive in situazioni di elevata umidità. I microclimi, così variabili da zona a zona in una regione montuosa come quella del Trentino, possono giocare un ruolo fondamentale anche all'interno dello stesso appezzamento: tratti in ombra o adiacenti a corsi d'acqua risultano sempre più infestati rispetto al resto dell'impianto. Pertanto, tutte quelle pratiche o azioni volte a ridurre la presenza di condizioni di elevata umidità nel proprio impianto, hanno indirettamente una ricaduta anche sulle infestazioni di *D. suzukii*. La vegetazione non dovrà quindi essere molto sviluppata (sfoltire piante e cespugli con adeguate potature, sin dalla fase invernale: adottare basse densità di impianto e togliere i polloni, ecc.), al fine di favorire l'arieggiamento e l'esposizione dei frutti al sole. Nel contempo, questa prassi consente una raccolta più completa e facile della frutta e, nel caso di interventi insetticidi, permette una migliore penetrazione della miscela nella vegetazione.

Negli impianti è fondamentale mantenere basso l'inerbimento mediante frequenti sfalci ed evitare i ristagni idrici. Forme di irrigazione sovra-chioma e di nebulizzazione dell'acqua possono creare condizioni molto favorevoli agli attacchi. Danni assai più contenuti sono stati registrati in un impianto di mirtillo completamente pacciamato con tessuto nero



rispetto ad un impianto ad interfila inerbito nella stessa zona: questa pratica, negli impianti di una certa dimensione, può contribuire ad aumentare la temperatura e ridurre l'umidità relativa, creando condizioni più difficili per lo sviluppo del moscerino. Infine, la copertura anti-pioggia in nylon, sia su ciliegio che su piccoli frutti, oltre a ridurre l'umidità sulla coltura e scongiurare gli effetti negativi della pioggia (es. spaccatura dei frutti su ciliegio), evita il dilavamento degli insetticidi, garantendo maggiori probabilità di efficacia. In caso di nuovi impianti, laddove possibile è bene preferire varietà precoci per cercare di concentrare le produzioni nelle prime fasi della stagione (maggio/inizio luglio), epoche in cui *D. suzukii* è presente solitamente con popolazioni ancora in via di sviluppo. I danni possono essere più contenuti ed il controllo può risultare più semplice.

Tra gli accorgimenti ad azione preventiva, figurano anche le pratiche sanitarie.

È noto che la sensibilità dei frutti all'attacco è massima nel momento di maturazione completa: quanto più a lungo essi rimangono in campo, tanto maggiore è quindi la probabilità che vengano infestati. È fondamentale pertanto nel caso dei piccoli frutti cercare di effettuare stacchi ad intervalli molto brevi, raccogliendo completamente la produzione, possibilmente in stadi di maturazione più precoci. Per la stessa ragione, anche su ciliegio sarebbe preferibile raccogliere il prodotto in un unico stacco. Si deve considerare inoltre che la persistenza d'azione dei residui di insetticidi eventualmente impiegati per il controllo di *D. suzukii* diminuisce rapidamente dopo il trattamento, specie in seguito a piogge in situazioni di assenza di copertura.

La gestione dei frutti caduti sul suolo e dello scarto alla raccolta è altrettanto importante al fine di contenere gli attacchi nel proprio impianto e la diffusione delle popolazioni sul territorio. A questo proposito, vale la pena ricordare che mentre la presenza delle larve si riconosce facilmente al tatto, consentendo di eliminare la bacca colpita durante la raccolta, un frutto infestato da uova non si può distinguere altrettanto facilmente. Lasciandolo in campo quindi, si consente il completamento del ciclo di sviluppo e lo sfarfallamento di nuovi individui adulti. Sono certamente da preferire tutti gli accorgimenti preventivi per limitare la cascola (es. su mirtillo, cespugli di dimensioni contenute, ben sfoltiti e densità di allevamento ridotte consentono di passare tra le file senza urtare eccessivamente le piante e far cadere le bacche): una volta al suolo infatti, la rimozione dei frutti è molto complicata e la loro distruzione (schiacciamento e seppellimento), oltre che laboriosa e non sempre realizzabile, non sembra essere sufficiente. Su piccole superfici di mirtillo, mediante teli di nylon da sistemare sotto i cespugli, si possono raccogliere e allontanare i frutti che cadono durante le operazioni di raccolta. Va da sé che è assolutamente da evitare il comportamento di gettare a terra lo scarto alla raccolta, che risulti o meno infestato dalle larve. I frutti attaccati da *D. suzukii* vanno distrutti. Un ottimo sistema, molto pratico ed efficace, consiste nel sistemare lo scarto in sacchi di nylon trasparente ed esporli ben chiusi in pieno sole, appoggiandoli preferibilmente su tessuto nero al fine di favorire l'accumulo termico. Le elevate temperature che si sviluppano all'interno del sacco, in pochi giorni devitalizzano uova e larve presenti nei frutti, che possono poi essere gestiti come un normale rifiuto organico (compostaggio domestico o conferimento). Altre importanti norme di tipo preventivo sono l'eliminazione di ospiti spontanei o incolti nelle immediate vicinanze degli impianti (da farsi prima della maturazione dei frutti) e la completa asportazione della produzione anche in caso di ravvisata infestazione.

Cattura massale: questa tecnica, che viene suggerita unicamente per i piccoli frutti, mira al contenimento del danno mediante la riduzione della popolazione di adulti migranti da fonti esterne verso gli impianti da proteggere. A questo scopo, si suggerisce di disporre attorno alle colture numerose trappole alimentari, (DrosoTrap® di Biobest), ciascuna caricata con 200 ml di Droskidrink, 4 grammi di zucchero di canna non raffinato e 1 goccia di tensioattivo inodore.

La disposizione avviene per fasi, sistemando già nei mesi autunnali (ottobre/novembre) alcune trappole nei boschi o margini rifugio eventualmente presenti attorno agli impianti.

Queste trappole rimarranno sul posto fino a poco prima della invaiatura dei frutti, quando si provvederà ad infoltirne la densità negli ambienti marginali e a disporre lungo i bordi della coltura, ad una distanza minima di 3-4 metri dalle piante, almeno 1 trappola/2 m ed 1 trappola "spia" a centro impianto. Nel momento in cui la trappola spia dovesse iniziare a catturare, indicando così il superamento della barriera di trappole sui



bordi, o si dovessero riscontrare danni sui frutti nella parte interna della parcella, si disporranno anche le trappole sulle file interne, con una densità di 1 ogni 4-5 m circa.

Si raccomanda la sostituzione dell'esca (che dovrà essere allontanata dall'impianto) ad intervalli di 7-10 giorni durante la fase estiva, e di 15 giorni durante il periodo invernale.

Riteniamo che soprattutto la cattura massale in fase invernale, specie se applicata su vasta scala, possa dare un importantissimo contributo al controllo delle infestazioni stagionali. Oltre infatti ad esprimere la sua massima efficacia in questo periodo grazie alla mancanza della competizione con la frutta nell'attrazione degli adulti, agisce nel periodo di più bassa consistenza demografica dell'insetto e sfruttando a fine inverno la notevole attività di volo dei pochi adulti sopravvissuti allo svernamento per l'impellente necessità di nutrirsi, può contribuire a decimare la frazione di femmine "fondatrici". Queste, deponendo le prime uova sui primi frutti o sui frutti residui dall'autunno, sono quelle che innescheranno lo sviluppo demografico stagionale.

Va precisato che la cattura massale in fase produttiva della coltura va necessariamente affiancata ad altri metodi di controllo all'interno di un piano di gestione integrata, nel quale può dare un contributo variabile in funzione soprattutto della pressione dell'insetto, che è a sua volta dipendente non solo dalla stagione, ma anche dalle condizioni locali.

Reti anti-insetto: Le reti antinsetto costituiscono il mezzo di difesa da *D. suzukii* attualmente più efficace tra quelli saggiati in Trentino. Anche nel corso del 2016, stagione caratterizzata da una eccezionale pressione demografica, impiegate in una strategia di gestione integrata hanno fatto registrare una efficacia media nel contenimento della ovodeposizione su ciliegie tra maggio e luglio del 75% e su piccoli frutti del 76% tra luglio e ottobre (dato riferito alla % di frutti con uova).

Le reti antinsetto possono consentire anche una importante riduzione degli interventi insetticidi (l'efficacia dei quali, se necessari, risulta spesso superiore a quella ottenuta dai trattamenti in pieno campo/tunnel) e fornire protezione contro i danni alla produzione, spesso non trascurabili, dovuti a volatili. Considerate le dimensioni ridotte dell'insetto (mediamente 2,5-3 mm di lunghezza), l'apertura delle maglie dev'essere necessariamente molto piccola. Prove di laboratorio hanno dimostrato che solo fori inferiori o uguali ad 1 mm² e con sezione rettangolare garantiscono il blocco completo degli adulti. In esperienze applicative in pieno campo però, anche reti di maglie leggermente superiori (es. 1,6 mm²) si sono rivelate ugualmente efficaci, consentendo probabilmente anche una migliore circolazione dell'aria nell'impianto.



Sulla base delle nostre esperienze le strutture di protezione cosiddette "a gabbia", dove fasce di rete anti-insetto vengono disposte unicamente lungo i fianchi e alle aperture, possono consentire ingressi di adulti, seppur minimi, dalle aperture tra i teli antipioggia sulle parti superiori.

Questo rischio si ritiene particolarmente elevato su specie sensibili ad alto fusto (ciliegio, albicocco, ecc.), dove probabilmente per la presenza di frutti anche nelle zone alte della chioma vi può essere un richiamo di adulti anche a questi livelli, in tutte quelle situazioni di coltivazione che possono favorire l'immigrazione di adulti dall'esterno: condizioni di forte pressione del fitofago (stagionale o in relazione alle caratteristiche della zona) - vicinanza a boschi, incolti o impianti poco trattati, forte presenza di ciliegio selvatico - terreno su forte pendenza.

In tutti questi casi, suggeriamo l'adozione di sistemi di protezione a gabbia integrali (ovvero che prevedano l'applicazione di fasce di rete antinsetto anche sulle aperture al colmo) o, preferibilmente, monofilare.

Le reti anti-insetto risultano efficaci a condizione però che sia garantita una scrupolosa e rigida gestione, indipendentemente dal sistema di protezione adottato. Fondamentale è il tempestivo posizionamento, che deve avvenire con largo anticipo rispetto ai primissimi segni di invaiatura dei frutti. Il monitoraggio del volo e delle ovodeposizioni sui frutti deve proseguire anche una volta posizionate le reti, al fine di documentare eventuali ingressi di adulti e ricorrere tempestivamente all'uso giustificato di insetticidi consentiti. Specialmente in situazioni di forte pressione demografica, devono essere ridotti al minimo i passaggi per le operazioni colturali (trattamenti, raccolta, ecc.), che dovrebbero avvenire rapidamente attraverso un unico ingresso, evitando il completo sollevamento di porzioni della protezione. Così come si dovrà porre costante attenzione affinché non vi siano fori o aperture in special modo a livello del suolo, dove si ritiene si muova il maggior numero di adulti. A tal fine è importante assicurare la rete al terreno, mantenere rasata l'erba nel punto di contatto con il suolo o, in alternativa, predisporre una fascia di pacciamatura in tessuto.

I danni alle coperture anti pioggia o alla barriera protettiva in rete in occasione di importanti eventi atmosferici, possono favorire l'ingresso di adulti: è essenziale ispezionare con regolarità le strutture per accertarne la costante tenuta ermetica.

Va tenuto presente che tutti i sistemi di protezione con rete antinsetto, in particolare quelli con chiusura integrale, in combinazione con le coperture anti pioggia possono dar luogo a pericolosi innalzamenti della temperatura durante le fasi più calde della stagione, con possibili effetti negativi sulla produzione e sulla coltura. Esperienze sperimentali su lampone sotto tunnel hanno dimostrato che è possibile contenere in misura significativa sia il danno da *D. suzukii*, sia il surriscaldamento del microclima sulla coltura evitando danni alla produzione, lasciando delle aperture di circa 50 cm tra la copertura in nylon e la fascia di rete alle aperture e azionando dei sistemi di micro-irrigazione climatizzante.

Per quanto riguarda la qualità intrinseca dei frutti prodotti sotto rete, aspetto che dev'essere ancora indagato più approfonditamente, le nostre sperimentazioni su mirtillo hanno evidenziato variazioni significative sulla colorazione degli stessi, che risulta mediamente più pallida e meno brillante rispetto a quella di frutti prodotti senza protezione, e sul contenuto di zuccheri (sotto rete si ottengono frutti più dolci). Non sono stati registrati effetti invece sulla durezza del frutto.



Il ricorso agli insetticidi registrati

La biologia dell'insetto e le caratteristiche fenologiche delle colture sensibili (in particolare dei piccoli frutti) complicano la lotta con insetticidi, la quale deve necessariamente puntare al contenimento dell'attacco (ovo-deposizione) sui frutti attraverso un'azione diretta di controllo degli adulti. Volendo indicare uno dei fattori più ostici, possiamo citare la necessità di interventi ripetuti, al fine di contrastare efficacemente durante un periodo di maturazione e raccolta molto lungo e scalare, le ondate infestanti di adulti. Un secondo aspetto chiave è la necessità di rispetto dei tempi di carenza, obiettivo estremamente difficile da raggiungere con una dotazione di principi attivi ristretta come quella di cui si dispone su piccoli frutti e per via degli intervalli di raccolta notevolmente ravvicinati.



Dopo sei anni dal 1° ritrovamento, l'attuale strategia di controllo di *D. suzukii*, fa ancora perno purtroppo prevalentemente sull'uso degli insetticidi.

Oltre a problematiche di tipo diretto, che possono contemplare soprattutto un aumento dei rischi di residui sui frutti, dei rischi per la salute del produttore e del consumatore, dei costi di coltivazione, degli effetti negativi sugli equilibri negli agro-ecosistemi e negli ambienti circostanti, l'arrivo di questo insetto rischia di compromettere molti piani di intervento integrato che faticosamente sono stati sperimentati, costruiti e proposti ai produttori nel corso degli ultimi 20 anni. Si pensi, ad esempio, alle forme di controllo biologico, l'impiego di predatori per la lotta a fitofagi tipici dei piccoli frutti, come può essere *Tetranychus urticae* (acaro giallo). Preme sottolineare infine che l'esperienza di questi primi anni di indagini ci insegna che l'efficacia che possiamo ottenere dall'uso di insetticidi registrati è molto variabile, non solo di anno in anno, ma anche da impianto ad impianto.

Essa dipende infatti da molti fattori, primo tra tutti la pressione dell'insetto, che è essa stessa molto eterogenea. I livelli di efficacia non sono mai comunque del tutto soddisfacenti, specialmente su piccoli frutti. Questo per ribadire che anche il ricorso agli insetticidi dev'essere visto in un piano di azione integrata, che veda l'applicazione congiunta di altre forme di controllo.

In questa sede non descriveremo le capacità dei singoli principi attivi, ma ci limiteremo solamente ad affermare che, in linea generale e sulla base di test fino ad ora condotti sia da colleghi del Centro di Saggio FEM, che da ricercatori degli USA e altri centri europei, gli insetticidi appartenenti alla classe dei piretroidi, degli esteri fosforici e delle spinosine sono quelli che dimostrano maggiore efficacia. Essi hanno mediamente una buona capacità abbattente e persistenza di azione sugli adulti, obiettivo primario dei trattamenti per cercare di limitarne l'ovodeposizione nei frutti. Gli esteri fosforici (es. phosmet) ed in minor misura anche le spinosine, possono interferire significativamente anche sulla schiusa delle uova.

È chiaro che i trattamenti sono giustificati solamente a seguito del ritrovamento di adulti, per il quale è necessario organizzarsi per effettuare un monitoraggio o affidarsi alle indicazioni dei tecnici sulla base del monitoraggio territoriale. Va ricordato inoltre che, a meno di autorizzazioni all'uso eccezionale da parte del Ministero della Salute, è possibile solamente sfruttare l'azione collaterale di quei principi attivi registrati su piccoli frutti, ma non specificatamente impiegabili contro *D. suzukii*.

Allo scopo di ridurre le probabilità di sviluppo di resistenza all'interno delle popolazioni è fondamentale cercare di alternare, per quanto possibile all'interno di una lista così ristretta, le sostanze registrate impiegate scegliendo non solo principi attivi diversi, ma anche classi di insetticidi differenti (es. alternare spinosine con piretroidi).

Mettere in atto infine tutti gli accorgimenti per ottimizzare il trattamento, ovvero impiegare attrezzature tarate, effettuare una buona copertura della vegetazione, aggiungere bagnanti alla miscela insetticida, effettuare l'intervento al mattino (gli adulti volano soprattutto nelle prime ore del giorno) o alla sera, dirigere il getto anche sul terreno e alla base delle piante, ecc.

Nei capitoli successivi saranno illustrati anche i risultati finora ottenuti circa l'applicazione del controllo biologico con imenotteri parassitoidi, l'utilizzo dei modelli previsionali a supporto delle decisioni e le prospettive di trasferimento nella pratica delle nuove biotecnologie. Come già accennato, l'implementazione di tutte queste strategie di controllo integrato ha dimezzato il potenziale valore monetario delle perdite di produzione, da un 13% stimato prima dell'adozione della difesa integrata all'attuale 7% considerato quale somma del valore delle perdite e dei costi della difesa. Tuttavia, non sembra ancora sufficiente per intaccare la capacità di sviluppo demografico di questo organismo, che mostra un trend in costante ascesa negli anni e mantiene elevati i tassi di danno sulle colture sensibili.



Le informazioni raccolte sul territorio in questi anni, anche nell'ambito del progetto LEXEM, stanno creando tra i ricercatori non solo della FEM, ma anche di altri centri internazionali, una nuova filosofia di approccio alla lotta verso *D. suzukii*. Vi è la prospettiva infatti che si possano sortire probabilmente maggiori effetti concentrando i sistemi di controllo nelle fasi precedenti l'esplosione demografica che caratterizza il periodo estivo-autunnale. Su questa linea probabilmente si muoverà la ricerca e sperimentazione nei prossimi anni.

Il controllo biologico della *Drosophila suzukii*: situazione attuale e prospettive

Marco Valerio Rossi Stacconi, Claudio Ioriatti, Gianfranco Anfora

In un ecosistema consolidato si instaurano delle relazioni tra i vari livelli trofici in grado di mantenere in equilibrio le popolazioni delle specie viventi che lo caratterizzano. L'introduzione di una specie estranea (alloctona), in grado di adattarsi al nuovo ambiente e proliferare, può alterare tale equilibrio a scapito delle specie residenti (autoctone). Tale meccanismo è valido non solo per i sistemi naturali, ma anche per quelli antropizzati (es. agroecosistemi), nei quali gli squilibri causati all'arrivo di specie invasive risultano amplificati della scarsa capacità tampone del sistema, dovuta alla ridotta biodiversità. Il caso di *D. suzukii* ne è un esempio emblematico. Come sappiamo, a partire dal 2008, questa specie invasiva si è diffusa in Europa e negli Stati Uniti adattandosi rapidamente agli ambienti invasi e riuscendo ad aumentare le sue popolazioni a livelli tali da compromettere le produzioni agricole attaccate. Le cause di questo sviluppo demografico incontrollato possono essere riassunte in quattro punti: tolleranza a climi molto variabili, polifagia, assenza di competitori ed assenza di nemici naturali specializzati. L'ultimo punto in particolare è alla base delle ricerche sullo sviluppo di mezzi di lotta biologica contro il fitofago. I nemici naturali o agenti di biocontrollo, comprendono organismi predatori e parassitoidi in grado di attaccare le specie bersaglio riducendone le popolazioni. I primi cacciano attivamente, consumando un numero elevato di prede, spesso senza discriminare la specie attaccata. I parassitoidi al contrario, sono più selettivi e di conseguenza consentono di calibrare maggiormente l'intervento biologico su dei bersagli specifici.

Il panorama mondiale

Il controllo biologico classico (propagativo) prevede l'importazione dalle zone di provenienza della specie dannosa dei suoi antagonisti, con l'obiettivo di farli acclimatare e quindi riprodurre le condizioni che nell'areale di origine consentono la naturale regolazione della dinamica di popolazione del fitofago. Nella pratica però la scelta di tale approccio è limitata da numerosi vincoli legislativi, imposti sia a livello internazionale (Executive Order 13112/99 e revisioni; Regolamento UE n. 1143/14) che nazionale (Legge n. 157/92, DPR n. 357/97 e 120/03), che rendono di fatto impossibile attualmente l'introduzione di specie alloctone, anche se utili al controllo biologico. Conseguentemente, molte sperimentazioni si sono concentrate sul ricercare e selezionare i potenziali nemici naturali di *D. suzukii* direttamente nelle zone invase dall'insetto dannoso (Miller et al., 2015). Questo approccio da una parte lascia via libera alle sperimentazioni di campo, dall'altra risulta sicuramente meno efficace in quanto gli antagonisti presenti nelle zone invase sono meno efficaci rispetto a quelli degli areali di origine, non avendo avuto modo di evolversi con il fitofago ed adattarsi ad esso. Al momento esistono pochi studi giapponesi e americani che si sono occupati di ricercare i parassitoidi di *D. suzukii* nelle sue aree di provenienza (Cina, Giappone e Sud Corea). Inoltre questi studi sono ancora in fase preliminare, identificando alcune specie di parassitoidi, senza però riportare dati precisi sulla loro efficacia.

Il controllo biologico nel progetto LExEM

All'interno del progetto Lexem ampio spazio è stato dato allo sviluppo delle tecniche di biocontrollo per *D. suzukii*, con l'obiettivo di affiancarle ai mezzi di lotta già utilizzati (insetticidi, reti anti-insetto e cattura massale), nell'ambito di una più ampia strategia di controllo integrato. Attraverso una costante attività di monitoraggio sul territorio, fatta esponendo trappole sentinella innescate con gli stadi giovanili di *D. suzukii*, sono state individuate tre specie di nemici naturali in grado di svilupparsi a carico del fitofago (Rossi Stacconi *et al.*, 2015).



Figura 11. Parassitoidi autoctoni di *Drosophila suzukii*: A) *Leptopilina heterotoma* B) *Pachycrepoideus vindemiae* C) *Trichopria drosophilae*.

Si tratta di imenotteri parassitoidi, piccole vespe che attaccano le larve o le pupe di *D. suzukii*, deponendo le loro uova all'interno dell'ospite e portandolo a morte prima che si sviluppi l'adulto.

Le specie individuate sono il parassitoide larvale *Leptopilina heterotoma* (Thomson), ed i parassitoidi pupali *Pachycrepoideus vindemiae* (Rondani) e *Trichopria drosophilae* (Perkins) (Figura 11).

Gli studi di laboratorio

In un primo momento l'efficacia di questi nemici naturali nei confronti di *D. suzukii* è stata valutata in condizioni di laboratorio, attraverso prove di parassitizzazione in gabbia. I risultati ottenuti sono stati molto variabili. A seconda della specie analizzata, si sono osservate percentuali di parassitizzazione dal 5% al 79%. Il parassitoide larvale, *L. heterotoma*, si è dimostrato meno efficace rispetto alle altre due specie, in quanto soggetto alle difese fisiologiche dell'ospite. Infatti, molte specie di drosfila sono in grado di difendersi dall'attacco dei parassitoidi sopprimendone l'uovo deposto all'interno del loro corpo, attraverso un processo di isolamento chiamato melanizzazione. In *D. suzukii*, questa reazione immunitaria risulta particolarmente efficace nei confronti dei parassitoidi larvali autoctoni, riuscendo a bloccarne la maggior parte degli attacchi. Ciò non si verifica nel caso dei parassitoidi pupali, in quanto i cambiamenti fisiologici che avvengono nell'ospite allo stadio di pupa ne inibiscono le difese. Per tale motivo *P. vindemiae* e *T. drosophilae* si sono rivelate le specie più efficaci nelle prove di parassitizzazione, abbassando gli sfarfallamenti di *D. suzukii* anche sotto il 30%. Altri studi di laboratorio hanno riguardato parametri fisiologici dei tre parassitoidi, quali longevità, fecondità e performance a diversi regimi di temperatura. Tali prove risultano fondamentali al fine di definire le modalità per un loro futuro utilizzo in campo, come ad esempio il periodo di rilascio, l'entità e la cadenza dei lanci. I risultati hanno evidenziato che, tra le specie testate, *T. drosophilae* è quella più longeva, con la maggiore rapidità di azione e con la maggiore efficacia a temperature inferiori a 20°C. Per questo parassitoide sono state quindi verificate eventuali preferenze nei confronti degli ospiti, attraverso delle prove comparative di parassitizzazione tra *D. suzukii* e le quattro specie di drosfile autoctone più abbondanti: *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. suboscuro* e *D. immigrans*. Lo scopo di questo studio è stato quello di verificare se, in condizioni di scelta, il parassitoide fosse più attratto dai suoi ospiti abituali rispetto a *D. suzukii*, venendo in tal modo distratto dalla ricerca della specie bersaglio e diluendo il suo potenziale di parassitizzazione su altri ospiti.

I risultati non hanno messo in luce nessuna preferenza in tal senso. In alcuni casi si è addirittura osservata un maggiore livello di parassitizzazione nei confronti di *D. suzukii*, probabilmente imputabile alle maggiori dimensioni rispetto alle altre drosofile, che la rendono un ospite più appetibile. L'insieme dei risultati delle prove di laboratorio ha evidenziato come, tra le specie autoctone disponibili, il parassitoide pupale *T. drosophilae* sia il miglior candidato ad essere impiegato nel controllo di *D. suzukii*. Naturalmente tali prove sono state condotte in condizioni artificiali e sono lontane dal rispecchiare la reale efficacia ottenibile in serra o in pieno campo, dove la riuscita dell'intervento biologico dipende da numerosi fattori ambientali e si articola su un'attenta valutazione preliminare della situazione aziendale. Per tale motivo, nel corso dell'ultimo anno del progetto LExEM sono state avviate delle sperimentazioni in serra e in pieno campo.

Le prove in serra

Le prove in serra hanno avuto l'obiettivo di valutare la capacità di *T. drosophilae* di contenere l'infestazione di *D. suzukii*. All'interno di un tunnel contenente due file di lamponi (cv. Tulameen e Heritage) e completamente isolato dall'esterno da una rete antinsetto a maglia fine (20/10, 135 g/mq), sono state create tre sezioni di superficie identica applicando dei divisori. In ciascuna sezione è stata fatta un'infestazione artificiale di *D. suzukii* in prossimità della piena maturazione dei frutti. La prima sezione è stata utilizzata come controllo per verificare il danno in assenza di controllo biologico. Nelle restanti due sezioni sono stati fatti dei lanci programmati di *T. drosophilae* (1 femmina/m²). Inoltre nella terza sezione, oltre al parassitoide è stata sperimentata la tecnica dell'augmentorium, una tecnica di biocontrollo aumentativo che ha già dato ottimi risultati nella lotta contro altri fitofagi come la mosca della frutta. Nello specifico, questa tecnica consiste nell'accumulare i frutti caduti a terra e quelli infestati sulla pianta in dei contenitori (gli augmentorium) posti all'interno della coltivazione stessa. I contenitori vengono costruiti con una rete a maglia abbastanza fine da trattenere al loro interno le drosofile che sfarfallano dai frutti, lasciando però passare gli eventuali parassitoidi che le attaccano. In questo modo si trasforma una parte delle drosofile presenti in campo da insetto dannoso a fonte di cibo per i suoi nemici naturali, ottenendo il doppio risultato di abbassare l'inoculo di *D. suzukii* e potenziare ("aumentare") le popolazioni di parassitoidi in campo.



Questa strategia oltre ad essersi già dimostrata efficace in altri contesti, è semplice, relativamente poco dispendiosa, applicabile su larga scala e gestibile facilmente dagli stessi agricoltori o tecnici del settore, i quali dovrebbero comunque provvedere all'asportazione e distruzione dei frutti infestati. Per valutare l'azione del parassitoide in serra sono stati effettuati campionamenti sia dalla frutta sulla pianta che da quella a terra. I risultati hanno mostrato che i rilasci di *T. drosophilae* non influenzano direttamente l'infestazione della frutta sulla pianta, in quanto il parassitoide non attacca le larve, ma è in grado di ridurre gli sfarfallamenti di *D. suzukii* dalla frutta a terra, abbassando in questo modo l'inoculo in campo (Figura 12a). L'utilizzo dell'augmentorium in combinazione con il parassitoide si è rivelato in grado di potenziarne l'azione, aumentandone l'efficacia fino al 50%.

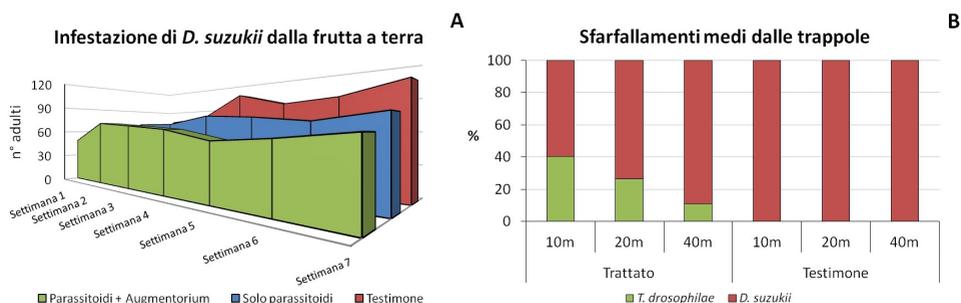


Figura 12. Efficacia di *Trichopria drosophilae* nel contenere l'infestazione di *Drosophila suzukii*: A) Andamento settimanale degli sfarfallamenti di *D. suzukii* dalla frutta a terra per ciascuna delle tre sezioni della prova in serra. B) Sfarfallamenti dell'ospite e del parassitoide dalle trappole esposte nell'appezzamento trattato e nel testimone durante le sperimentazioni di campo. I dati sono valori medi di tutte le stazioni in cui si è svolto lo studio.

La sperimentazione in pieno campo

Attraverso una rete di collaborazioni con varie università italiane e con la biofabbrica italiana BIOPLANET, sono state portate avanti sperimentazioni di campo in nove siti sparsi sull'intero territorio nazionale. Lo scopo è stato quello di valutare la capacità di *T. drosophilae* di intercettare *D. suzukii* in epoca precoce, attraverso rilasci nelle cosiddette zone tampone.

Le zone tampone sono rappresentate dalle bordure dei campi e da altre aree con vegetazione selvatica, dove fioriture e fruttificazioni di specie non coltivate sono in grado di sostenere *D. suzukii* fino alla maturazione della frutta in campo. Osservazioni derivanti dalle attività di monitoraggio e dalle simulazioni con i modelli matematici, indicano che durante il periodo compreso tra l'uscita dallo svernamento e la maturazione del ciliegio precoce, la prima pianta ospite ad entrare in produzione, le popolazioni di *D. suzukii* si mantengono basse, probabilmente a causa della scarsità di risorse alimentari offerte dall'ambiente. Questa finestra temporale sembra quindi essere l'epoca migliore per l'eventuale intervento biologico con *T. drosophilae*. Nella pratica le sperimentazioni sono state fatte individuando, in ciascuno dei siti selezionati, due appezzamenti simili per estensione, altitudine, esposizione, destinazione colturale, pratiche agronomiche e storicità di abbondante presenza di *D. suzukii*. Uno dei due appezzamenti è stato trattato effettuando dei lanci di *T. drosophilae* in corrispondenza di un singolo punto di rilascio, mentre l'altro è servito da testimone. Per valutare l'efficacia ed il raggio d'azione del parassitoide, nell'appezzamento trattato sono state poste delle trappole sentinella, infestate con un numero noto di pupe di *D. suzukii*, a distanze fisse dal punto di rilascio (10, 20 e 40m).

Le stesse trappole sono state posizionate nell'appezzamento testimone per verificare lo sfarfallamento del fitofago in assenza del trattamento e l'eventuale azione di parassitoidi pupali naturalmente presenti in campo. I risultati hanno messo in evidenza la capacità di *T. drosophilae* di ridurre in maniera significativa gli sfarfallamenti di *D. suzukii* nelle trappole. Inoltre l'azione del parassitoide si è diluita all'aumentare della distanza dal punto di rilascio, passando dal 41% a 10m fino al 13% a 40m (Figura 12b). È importante considerare che i dati presentati derivano dalla media dei nove siti dove sono state condotte le sperimentazioni e che, caso per caso, esiste una quantità di variabili (clima, coltura, gestione agronomica ecc.) che influenza l'esito del trattamento rendendolo più o meno efficace.



Applicabilità, problematiche e prospettive future

Per gestione ambientale si intende la gestione dei contenitori che potrebbero favorire il ristagno di acqua. Il controllo in questo caso consiste semplicemente nell'evitare che si depositi acqua in contenitori abbandonati come secchi, vasche, ecc. avendo cura di capovolgerli o coprirli (Figura 10).

Nonostante i risultati promettenti, al momento il controllo biologico non è in grado di garantire da solo la salvaguardia delle produzioni. L'individuazione di parassitoidi locali in grado di attaccare *D. suzukii* è stato senza dubbio un passo avanti nella definizione di un programma di lotta integrata, nonostante ciò esistono ancora una serie di problematiche che devono essere superate. Ad esempio il fatto di utilizzare un parassitoide pupale, che quindi attacca il fitofago ad uno stadio di sviluppo avanzato, fa sì che l'azione del nemico naturale si espliciti ad infestazione già avviata. Inoltre il ritmo riproduttivo di *D. suzukii* è maggiore rispetto a quello di *T. drosophilae* e ciò diluisce l'azione del parassitoide quando viene lanciato sulle abbondanti popolazioni del fitofago che si sviluppano a seguito dell'entrata in produzione del ciliegio. Al contrario il rilascio precoce del parassitoide nelle zone limitrofe ai campi, soprattutto se applicato collettivamente da più aziende confinanti, in modo da coprire la più ampia superficie possibile, contribuisce ad abbassare il livello di infestazione prima dell'attacco. Il duplice beneficio che si ottiene da questo approccio è sia quello di ritardare lo sviluppo demografico di *D. suzukii*, permettendo a molte produzioni di sfuggire al danno fino alla raccolta, sia quello di potenziare l'efficacia di tutti gli altri mezzi di controllo che si mettono in campo, potendo in seguito applicarli a popolazioni più basse del fitofago. Anche l'utilizzo della tecnica dell'augmentorium dovrebbe essere presa seriamente in considerazione, in quanto il costo ridotto e la facilità di applicazione ne fanno un valido strumento nella lotta al moscerino asiatico della frutta. Nell'ambito del controllo biologico di *D. suzukii*, le prospettive a breve termine sono quelle di lavorare sulle popolazioni di parassitoidi locali al fine di migliorarne l'efficacia. Nello specifico, per i parassitoidi larvali l'obiettivo è quello di selezionare ceppi in grado di superare le difese immunitarie dell'ospite, mentre per i pupali quello di renderli più specifici. Nel lungo periodo invece, la speranza è di poter superare le barriere normative che impediscono l'introduzione di nemici naturali provenienti dalle zone di origine del fitofago. Infatti, gli studi avviati su questi organismi da laboratori di ricerca esteri, lasciano presupporre che un loro acclimatemento possa fortemente favorire la regolazione delle popolazioni del fitofago, contribuendo a riportare l'economicità delle produzioni attaccate ai livelli precedenti la sua introduzione.

Le prospettive di utilizzo delle biotecnologie: genomica, genetica, interferenza riproduttiva

Omar Rota Stabelli

Un controllo efficace ed integrato di *D. sukuzii* può essere attuato solo attraverso una conoscenza completa della biologia ed ecologia dell'insetto e ad una sinergia tra diverse discipline di studio. In questo contesto interdisciplinare, le biotecnologie rivestono un ruolo chiave in quanto possono fornire sia informazioni vitali ad altre linee di ricerca, sia produrre nuove tecniche di controllo sul lungo periodo. In questo capitolo vengono descritti vari aspetti delle biotecnologie, studiate anche nell'ambito del progetto LExEM, che hanno contribuito a migliorare la conoscenza di *D. sukuzii* ed hanno gettato le basi di nuove tecniche di controllo. Il sequenziamento genomico ha permesso di chiarire alcuni aspetti della biologia dell'insetto come il suo pre-adattamento a climi temperati, ha fornito le basi per studi di chemiogenomica atti ad individuare attrattivi e repellenti ed il materiale genetico per sviluppare metodi diagnostici e di studio delle dinamiche di popolazione. Le biotecnologie hanno anche dettato l'agenda per metodi di controlli basati sull'interferenza riproduttiva come il rilascio di insetti sterili o incompatibili.

Il genoma e le dinamiche di popolazione

Il sequenziamento del genoma di due popolazioni distinte di *D. sukuzii* da parte di FEM e dell'Università di California nel 2013 ha dato il via a numerose linee di ricerca applicata. Innanzitutto è stato possibile chiarire alcuni aspetti della biologia dell'insetto come il suo pre-adattamento a zone temperate tipiche del continente Europeo e Nord Americano. A differenza degli altri moscerini del genere *Drosophila*, *D. sukuzii* è caratterizzata da un genoma che accumula meno mutazioni: questo è compatibile con un ridotto numero di generazioni causato da forzati periodi di diapausa sessuale durante gli inverni; stime di divergenza suggeriscono infatti che *D. sukuzii* si sia specziata in adattamento ad un clima più freddo e montano nel suo areale asiatico di origine, una peculiarità abbastanza rara tra le Drosophile (Figura 13a, Ometto *et al.*, 2013).



Queste evidenze hanno trovato riscontro nelle catture sul campo effettuate in Trentino: mentre le *Drosophile* locali come *D. melanogaster* abbondano a basse quote nel fondovalle, *D. suzukii* stanzia preferibilmente ad altitudini maggiori soprattutto nel periodo estivo (Figura 13b); inoltre, *D. suzukii* ha dimostrato ottime capacità di adattamento al freddo tanto da essere catturata costantemente in pieno inverno (Rossi-Stacconi *et al.*, 2016). Tale predisposizione a climi temperati-freddi è anche supportata dall'alternanza di una forma estiva, più piccola e chiara, e una forma invernale, più larga, scura e resistente al freddo; queste variazioni sono determinate dall'ambiente ed hanno una chiara base genetica (Shearer *et al.*, 2016). L'indicazione generale che ne emerge è quella di una specie caratterizzata da una predisposizione ai climi temperati e da una forte resistenza al freddo, un'informazione utile per caratterizzare le dinamiche di popolazione e prevedere i relativi danni sul campo.

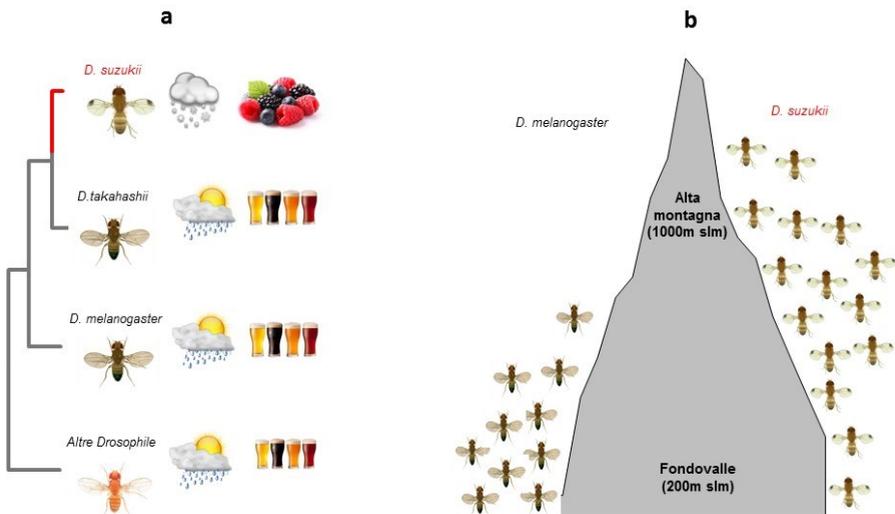


Figura 13. il diverso adattamento a climi temperati e ad una ovideposizione su frutti freschi è una peculiarità di *Drosophila suzukii* e trova riscontri molecolari nel genoma (a). Catture sul campo confermano una forte tolleranza e una predisposizione per climi più freddi e altitudini elevate rispetto alle altre drosophile (b).

La genomica ha inoltre evidenziato un certo grado di differenza tra le popolazioni europee e americane, che si sarebbero quindi originate in seguito a invasioni indipendenti da zone diverse dell'Asia. In particolare, studi LEXEM confermano che i due genomi di riferimento (americano e trentino) provengono da popolazioni che si sono evolute in ambienti differenti e hanno sviluppato diversi livelli di resistenza ai parassitoidi e diverse capacità riproduttive: questo è rilevante in quanto ci allerta di possibili diversi comportamenti nei diversi continenti, una nozione che deve essere presa in considerazione quando si applicano protocolli di monitoraggio e controllo sviluppati in un altro continente.

Marcatori molecolari per migliorare strategie di difesa

Il genoma è stato scansionato per identificare marcatori molecolari in grado di determinare la presenza di *D. suzukii* e prevedere lo sviluppo di resistenze ai pesticidi.

Innanzitutto sono stati sviluppati marcatori genetici per discriminare in modo univoco *D. suzukii* da altre drosofile utilizzando una semplice PCR, una rapida procedura molto utile ad esempio per diagnosticare la presenza di uova o larve durante l'ispezione di carichi di frutta alle dogane (Murphy *et al.*, 2015). Utilizzando la stessa tecnica è stato anche trovato un polimorfismo in un recettore olfattivo che è in grado di discriminare popolazioni americane da quelle europee (Ramasamy *et al.*, 2016). FEM ha anche utilizzato alcuni marcatori genomici (microsatelliti) per studiare il movimento dell'insetto in natura con prove di marcatura e ricattura, dimostrando che esso può spostarsi fino a molti km di distanza lungo le valli trentine, un risultato importante per comprendere le dinamiche di popolazione e migliorarne il controllo sul campo. È inoltre in corso uno screening genetico delle resistenze agli insetticidi. Esistono varie evidenze entomologiche che mutazioni nei geni target di alcuni insetticidi (come recettori neuronali) oppure nei geni che regolano il loro metabolismo (enzimi detossificanti) possano indurre resistenze più o meno marcate. Uno screening di eventuali mutazioni in questi geni e/o di livelli alterati della loro espressione potrebbero segnalare in anticipo lo sviluppo di resistenze in popolazioni soggette a trattamenti intensivi (Murphy *et al.*, 2016a): questo permetterebbe di pianificare per tempo eventuali modifiche ai protocolli di trattamento.



L'utilità della chemiogenomica per il monitoraggio e la cattura massale

Diversi studi anche in ambito LExEM hanno mostrato che *D. sukuzii* ha un olfatto peculiare rispetto a quello delle altre *Drosophile* (Revadi *et al.*, 2015), una caratteristica che permette all'insetto di riconoscere e ovideporre in frutta fresca e sana piuttosto che in substrati in fermentazione (Figura 13a). Questo comportamento ha trovato riscontro in un set peculiare di recettori olfattivi e gustativi estratti dal genoma e caratterizzati tramite il confronto genomico con altre specie (Ramamamy *et al.*, 2016; Crava *et al.*, 2016). I recettori più promettenti (ad esempio quelli duplicati o sotto selezione) sono attualmente oggetto di studi di chemiogenomica, che prevedono uno screening sistematico attraverso librerie di composti chimici per caratterizzarne la funzione, un processo noto come de-orfanizzazione del recettore. Siccome questi recettori mediano il riconoscimento del frutto o dei lieviti presenti sul frutto, individuare le molecole che li attivano (o li bloccano) significa poter controllare con più efficacia l'insetto: l'obiettivo finale è individuare molecole agoniste (o antagoniste) che attivino (o blocchino) i recettori chiave per innescare trappole o diffusori utili ad esempio per migliorare il monitoraggio e la cattura massale.

Controllo delle popolazioni tramite manipolazioni genetiche

Sono in corso di sperimentazione alcune tecniche di manipolazione genetica; anche in questo caso il genoma si è rivelato un elemento chiave in quanto tali tecniche devono essere disegnate specificatamente sui geni dell'insetto. Una tecnica recentemente sperimentata è quella dell'interferenza dell'RNA (RNA-interference) che consiste nel bloccare l'attività di un gene vitale dell'insetto tramite assunzione di un doppio filamento di RNA complementare. Due studi indipendenti (Murphy *et al.*, 2016b; Taning *et al.*, 2016) hanno dimostrato che la tecnica funziona, anche se ci sono ancora problemi di applicabilità: il limite principale è garantire da parte dell'insetto un'assunzione di RNA sufficiente e continuata nel tempo, tramite frutti modificati geneticamente o in alternativa vettori transgenici come batteri o lieviti modificati, un'esigenza che pone ovvii problemi logistici e legislativi soprattutto in Europa.

Un'altra tecnica in sperimentazione è quella del rilascio di individui manipolati geneticamente. La tecnica fa uso di mutagenesi mirate, ad esempio usando il sistema CRISPR-editing, in genere su geni target che regolano il sistema riproduttivo della femmina (Li e Scott, 2016); in questo modo il maschio diventa portatore asintomatico di questa mutazione e può essere introdotto in natura attraverso rilasci massali col risultato di abbassare la popolazione naturale attraverso un sistema del tipo tecnica del maschio sterile (Figura 14a); in realtà il maschio non è propriamente sterile, ma produrrà una progenie femminile sterile. Anche in questo caso vi sono problemi legislativi, anche se il metodo CRISPR, non producendo organismi transgenesi, lascia spazio a possibili permessi anche in Europa. Lo stesso CRISPR-editing è comunque un sistema estremamente utile per silenziare geni di interesse per comprendere in modo più approfondito la biologia di *D. sukuzii*.

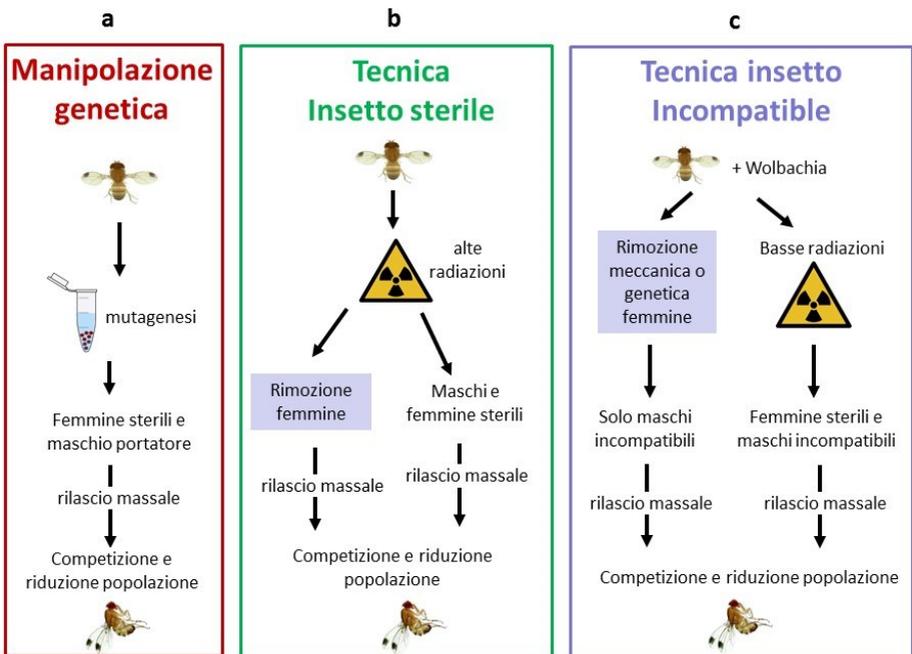


Figura 14. Passaggi principali di diverse tecniche di interferenza riproduttiva usando manipolazione genetica (a), insetto sterile (SIT) (b) e insetto incompatibile (IIT) (c).



Interferenza riproduttiva con insetto sterile ed incompatibile

La tecnica dell'insetto sterile (SIT) consiste nel rilasciare nell'ambiente enormi quantità di individui resi sterili da radiazioni (raggi gamma o X) in modo che gli insetti sterili competano con gli insetti selvatici portando ad una riduzione della popolazione in natura (Figura 14b). La tecnica è stata usata con successo su insetti come la mosca mediterranea della frutta, ed è in corso di studio in vari laboratori la possibilità di estenderla a *D. suzukii*. Un problema tecnico è la necessità di rilasciare solo maschi sterili, per evitare che le femmine sterili che danneggino ulteriormente la frutta depositando uova sterili, e che si verifichino accoppiamenti preferenziali tra maschi e femmine sterili. Gli studi attuali stanno determinando le quantità minime di radiazioni necessarie a sterilizzare selettivamente ognuno dei due sessi garantendo però una buona competitività, in quanto una dose eccessiva di radiazioni potrebbe compromettere la fitness dell'insetto. La selezione di soli individui maschi potrebbe essere raggiunta sia meccanicamente, sia accoppiando la SIT con modificazioni genetiche letali per le femmine. Un chiaro problema di tipo pratico è la produzione su vasta scala di individui sterili, una necessità che accomuna la SIT ad altri sistemi di interferenza riproduttiva e che si basa su un forte investimento iniziale per la costruzione di biofabbriche dedicate all'allevamento massale degli insetti.

La tecnica dell'insetto incompatibile (IIT) si basa invece sul rilascio massale di maschi che portano una variante del batterio simbionte *Wolbachia* in grado di creare incompatibilità embrionale con le femmine selvatiche che non ne sono portatrici. I laboratori della FEM hanno individuato attraverso screening genomico una *Wolbachia* specifica di *D. suzukii*, denominata wSuz (Siozios et al., 2013) che è presente in proporzione variabile in diverse popolazioni mondiali. Il ceppo wSuz non è in grado di promuovere incompatibilità citoplasmatica (Cattel et al., 2015), ma recenti studi hanno individuato ceppi esogeni di *Wolbachia* provenienti da altre Drosophile in grado di farlo. La ricerca si sta ora indirizzando verso prove di semicampo e di campo in zone circoscritte come piccole isole o valli isolate. La difficoltà di questa tecnica è che il rilascio anche di una sola femmina (su un rilascio dell'ordine di milioni di maschi) renderebbe l'uso di un ceppo incompatibile di *Wolbachia* inutilizzabile nel giro di pochi anni. Per cui è necessario ricorrere o a radiazioni che sterilizzino solo le femmine (mantenendo i maschi attivi e in grado di competere con quelli in campo) oppure ad altre tecniche genetiche o meccaniche per eliminare le femmine (Figura 14c).

In ogni caso, per rendere attuabile ed efficace l'utilizzo sia di IIT che di SIT sarà necessario conoscere in modo approfondito la variabilità genetica inter-

specifica dell'insetto. Per questo motivo gli studi futuri dovranno concentrarsi sull'analisi genomica di diverse popolazioni di *D. suzukii* per determinare la variabilità di *Wolbachia* e dei vari geni target.

Lo sviluppo e l'utilizzo dei modelli previsionali per la gestione di *Drosophila suzukii*

Andrea Pugliese

In entomologia agraria i modelli di simulazione e previsione di crescita delle popolazioni sono uno strumento in grado di trasformare in equazioni matematiche i rapporti che intercorrono tra l'insetto oggetto di studio e l'ambiente circostante. Il punto di partenza di un modello è quindi sempre lo studio del ciclo biologico del fitofago che è regolato dalle condizioni climatiche; per gli insetti la variabile più importante riguarda la variazione di temperatura. Nel corso degli ultimi anni diversi studi in laboratorio ed in campo hanno permesso di caratterizzare l'influenza della temperatura sul ciclo biologico di *D. suzukii*.

Sulla base di queste informazioni il gruppo di lavoro del progetto LExEM ha messo a punto direttamente o in collaborazione con altri gruppi diversi modelli matematici di sviluppo di *D. suzukii*.

L'uso di modelli matematici per descrivere la dinamica della popolazione di *D. suzukii* ha tre scopi principali:

- Capire quali sono i fattori ambientali principali che regolano lo sviluppo della popolazione;
- Ottenere proiezioni a breve termine sulla base del campionamento e delle previsioni meteo e, di conseguenza, fornire un supporto alle decisioni nella gestione degli agroecosistemi;
- Effettuare analisi di scenario sull'applicazione di possibili metodi di controllo, per esempio valutando le strategie più efficaci di rilascio di nemici naturali come i parassitoidi.

Nella prima fase del progetto, in collaborazione con prestigiose istituzioni accademiche negli Stati Uniti, i dati di fecondità e di sopravvivenza in funzione della temperatura, rilevati in diversi ambienti, sono stati integrati in un modello di popolazione cosiddetto "a matrice" (Wiman *et al.*, 2014). Il perfezionamento di questo modello previsionale con i dati relativi allo sviluppo fisiologico in funzione della temperatura ha consentito di stimare



con maggiore precisione la sopravvivenza e il potenziale riproduttivo delle femmine svernanti. Il modello così come concepito ora, può essere utilizzato per indicare i periodi chiave nei quali la struttura della popolazione del fitofago si può meglio prestare per essere controllata mediante la difesa integrata (Wiman et al., 2016).

In seguito è stata sviluppata una nuova versione del modello più adatta a prendere in considerazione specifiche condizioni del Trentino.

Applicando tale modello ai dati di temperatura registrati in varie stazioni di rilevamento in Provincia di Trento nel 2014 e 2015 (estate del 2014 insolitamente fresca e piovosa; estate del 2015 la più calda dopo il 2003) si trovano i risultati mostrati nei grafici della parte superiore di Figura 15: si può notare che, a partire da luglio, le densità di popolazione previste nei siti a quote più basse (Trento e San Michele all'Adige, indicati come Rotaliana) sono molto minori nel 2015 che nel 2014, considerando anche il fatto che la scala è logaritmica. Per il sito a quota maggiore (Sant'Orsola) invece vengono previsti livelli di popolazione sistema-ti-camente maggiori nel 2015 che nel 2014.

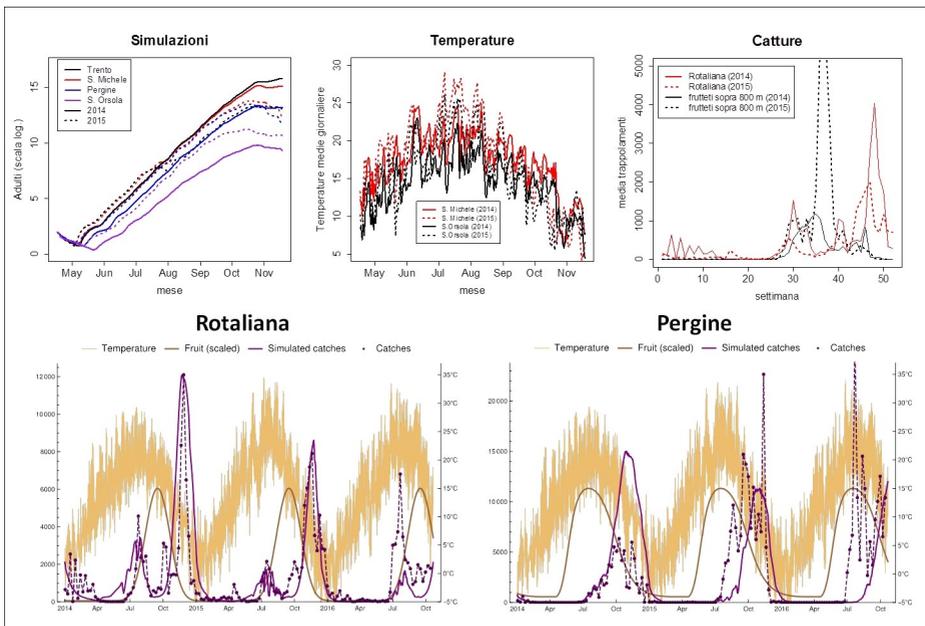


Figura 15. Risultati del modello matematico di previsione di sviluppo delle popolazioni di *Drosophila suzukii* in diverse stagioni e località della Provincia di Trento

I dati del monitoraggio confermano la previsione: le trappole collocate intorno a San Michele all'Adige mostrano un netto calo delle catture nella parte centrale dell'estate 2015 rispetto al 2014; quelle ad alta quota (Val dei Mocheni e Val Malene) mostrano invece un picco molto più alto durante l'estate 2015 rispetto al 2014; quelle intorno a Pergine Valsugana (non mostrate in figura) sono invece intermedie.

Questo modello basato esclusivamente sulle fluttuazioni di temperatura fornisce solo delle previsioni qualitative, poiché mancano ancora fattori fondamentali come la disponibilità di frutta in maturazione ed una stima della capacità di spostamento delle *Drosophile*, aspetti sui quali stiamo elaborando dati quantitativi. Al momento, abbiamo inserito nel modello funzioni che appaiono ragionevoli, ma non sono del tutto validate, e abbiamo cercato di descrivere l'andamento delle catture degli ultimi anni nell'area intorno a San Michele all'Adige (Rotaliana) e in quella intorno a Pergine Valsugana. I risultati (parte bassa di Figura 15) mostrano una corrispondenza incoraggiante, anche se certamente imperfetta, con le osservazioni reali.

Un aspetto importante che non viene catturato dal modello è il notevole aumento dell'infestazione dal 2014 al 2016 nella zona di Pergine. Un'ipotesi è che ciò sia collegato alla particolare mitezza dell'inverno 2015-16; date le temperature decisamente più basse dell'inverno 2016-17 sarà possibile verificare la rilevanza di questo fattore nel determinare la densità di *Drosophile* in primavera-estate, così come ipotizzato in lavori precedenti (Rossi Stacconi et al., 2016).

L'analisi dei dati raccolti finora conferma che modelli basati sulle temperature giornaliere e sulla disponibilità di frutti generano previsioni sull'abbondanza dell'insetto in accordo qualitativo con i dati reali di campo. Sembra ragionevole poter arrivare, su questa base, a previsioni a breve termine attendibili, almeno come ordine di grandezza.

Un altro aspetto che può essere affrontato tramite modelli matematici è la possibilità di controllo biologico con il rilascio di parassitoidi di *D. suzukii*. Le simulazioni ottenute utilizzando approcci modellistici preliminari mostrano che i risultati del biocontrollo potrebbero essere estremamente diversi, a seconda del momento del rilascio dei nemici naturali. L'analisi dei dati raccolti recentemente in esperimenti di controllo biologico in serra ed in pieno campo (vedi capitolo in questa pubblicazione) dovrebbe aiutare a validare gli output del modello, valutare il potenziale del controllo biologico e, di conseguenza, stabilire le strategie migliori di rilascio dei parassitoidi.



In conclusione, l'obiettivo finale di questo lavoro è quello di fornire uno strumento di valutazione del rischio posto da *D. suzukii* connesso all'andamento climatico registrato in una determinata zona, e quindi mettere in atto le misure più opportune per il contenimento e la difesa a livello territoriale. Tali modelli sono ampliamenti utilizzati anche per altre avversità e forniscono un contributo cruciale come supporto alle decisioni e per la razionalizzazione nell'uso dei prodotti fitosanitari nell'ambito dei principi della gestione integrata.

Conclusioni

L'introduzione di questa nuova specie dannosa, al pari di altre specie aliene e di nuove emergenze fitosanitarie, è da ricondurre all'intensificazione degli scambi commerciali, ai cambiamenti climatici e alla difficoltà di mettere in atto degli efficaci sistemi di controllo fitosanitari sui prodotti importati. Come abbiamo visto, le caratteristiche di *D. suzukii* e delle colture da essa attaccate hanno impedito ogni possibilità di eradicazione, favorito il rapido incremento delle popolazioni e la loro diffusione in tutti gli areali favorevoli. In assenza di misure di controllo efficaci *D. suzukii* è stata in grado nelle prime fasi dell'invasione di determinare una notevole perdita di produzione nonostante spesso numerosi trattamenti insetticidi. A ciò si deve aggiungere che la reiterazione dei trattamenti, necessaria per garantire una costante copertura dei frutti in prossimità della raccolta, comporta un incremento dei residui e una difficile gestione dei tempi di carenza soprattutto per quelle colture a maturazione scalare come è il caso dei piccoli frutti. Infine la ridotta disponibilità di principi attivi registrati per queste colture complica ulteriormente la gestione della problematica mettendo a repentaglio innanzitutto i successi conseguiti con l'adozione dei disciplinari di produzione integrata e in prospettiva la stessa sopravvivenza delle aziende produttrici. In tale contesto, la soluzione di questa problematica non può prescindere dalla collaborazione tra enti ed istituzioni che mettano a disposizione risorse e diverse competenze con un approccio multidisciplinare, dal controllo biologico alle nuove biotecnologie. Fondamentale è anche il coinvolgimento diretto di tutti gli attori ed i portatori di interessi della filiera produttiva, nonché enti locali e comuni cittadini. Il progetto LExEM in questo senso è un esempio positivo ed un punto di riferimento per le nostre future attività.

Le conoscenze di base prodotte durante il progetto ed i metodi di controllo sperimentati, pur non potendo essere considerati risolutivi, stanno contribuendo alla gestione di questa importante emergenza nei nostri territori. Questa specie è ormai presente a livello globale e causa danni ingenti nella maggior parte delle aree frutticole a clima temperato del pianeta. Decine sono i gruppi di tecnici e scienziati in tutto il mondo impegnati nella ricerca di metodi di controllo efficaci e sostenibili. Appare chiaro però, anche dall'esperienza di LExEM, che nessun singolo metodo potrà garantire una soluzione totale del problema ma che sarà necessario adottare strategie di controllo integrate in cui mettere in campo tutti i mezzi a nostra disposizione.



Bibliografia

- CABI, 2014. *Drosophila suzukii* [original text by Ioriatti C, Rossi Stacconi M.V., Anfora G.]. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. <http://www.cabi.org/isc>.
- Cattel J., Kaur R., Gibert P., Martinez J., Fraimout A., Jiggins F., Andrieux T., Siozios S., Anfora G., Miller W., Rota-Stabelli O., Mouton L., 2016. *Wolbachia* in European populations of the invasive pest *Drosophila suzukii*: regional variation in infection frequencies. *PLoS ONE* 11(1): e0147766
- Cini A., Anfora G., Escudero-Colomar L.A., Grassi A., Santosuosso U., Seljak G., Papini A., 2014. Tracking the invasion of the alien fruit pest *Drosophila suzukii* in Europe. *Journal of Pest Science* 87: 559-566.
- Cini A., Ioriatti C., Anfora G., 2012. A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for Integrated Pest Management. *Bulletin of Insectology* 65 (1): 149-160.
- Crava M.C., Ramasamy S., Ometto L., Anfora G., Rota Stabelli O., 2016. Evolutionary insights into taste perception of the invasive pest *Drosophila suzukii*. *G3*: 6: 4185-4196.
- De Ros G., Conci S., Pantezzi T., Savini G., 2015. The economic impact of invasive pest *Drosophila suzukii* on berry production in the Province of Trento, Italy. *Journal of Berry Research* 5(2): 89-96.
- Grassi A., Anfora G., Maistri S., Gottardello A., Maddalena G., De Cristofaro A., Savini G., Ioriatti C., 2015. Development and efficacy of Droskidrink, a food bait for trapping *Drosophila suzukii*. *IOBC-WPRS Bulletin*, 109: 197-204.
- Ioriatti C., Frontuto A., Grassi A., Anfora G., Simoni S., 2012. *Drosophila suzukii* (Matsumura), una nuova specie invasiva dannosa alle colture di piccoli frutti. In: *Criticità e prospettive delle emergenze fitosanitarie*, Accademia dei Georgofili. Quaderno VIII 2011: pp. 69-80. Firenze, Polistampa.
- Ioriatti C., Walton V.M., 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. *Journal of Economic Entomology* 108(3): 1148-1155.
- Kanzawa T., 1936. Studies on *Drosophila suzukii* Mats. *Journal of Plant Protection* (Tokyo) 23: 66-70, 127-132, 183-191.

- Li F.L., Scott M.J., 2016. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the white and Sex lethal loci in the invasive pest, *Drosophila suzukii*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 469(4): 911-916.
- Miller B., Anfora G., Buffington M., Daane K.M., Dalton D.T., Hoelmer K.M., Rossi Stacconi M.V., Grassi A., Ioriatti C., Loni A., Miller J.C., Ouantar M., Wang X., 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. *Bulletin of Insectology* 68 (2): 255-263.
- Murphy K.A., Tabuloc C.A., Cervantes K.R., Chiu J.C., 2016b. Ingestion of genetically modified yeast symbiont reduces fitness of an insect pest via RNA interference. *Scientific Reports* 6: 22587.
- Murphy K.A., West J.D., Kwok R.S., Chiu J.C., 2016a. Accelerating research on Spotted Wing *Drosophila* management using genomic technologies. *Journal of Pest Science* 89(3): 631-641.
- Ramasamy S., Revadi S., Ometto L., Horner D., Pisani D., Dekker T., Anfora G., Rota Stabelli O., 2016. The evolution of olfactory gene families in *Drosophila* and the genomic basis of chemical-ecological adaptation in *Drosophila suzukii*. *Genome Biology and Evolution* 8 (8): 2297-2311
- Revadi S., Vitagliano S., Rossi Stacconi M.V., Ramasamy S., Mansurian S., Carlin S., Vrhovsek U., Becher P.G., Mazzoni V., Rota-Stabelli O., Angeli S., Dekker T., Anfora G., 2015. Olfactory responses of *Drosophila suzukii* females to host plant volatiles. *Physiological Entomology* 40: 54-64
- Rossi Stacconi M.V., Buffington M., Daane K.M., Dalton D.T., Grassi A., Kaçar G., Miller B., Baser N., Ioriatti C., Walton V.M., Wiman N., Wang X., Anfora G., 2015. Host stage preference, efficacy and fecundity of parasitoids attacking *Drosophila suzukii* in newly invaded areas. *Biological Control* 84: 28-35.
- Rossi-Stacconi V., Kaur R., Mazzoni V., Ometto L., Grassi A., Gottardello A., Rota-Stabelli O., Anfora G., 2016. Multiple lines of evidence for reproductive winter diapause in the invasive pest *Drosophila suzukii*: useful clues for control strategies. *Journal of Pest Science* 89: 689-700.
- Shearer P.W., West J.D., Walton V.M., Brown P.H., Svetec N., Chiu J.C., 2016. Seasonal cues induce phenotypic plasticity of *Drosophila suzukii* to enhance winter survival. *BMC Ecology* 16:11.
- Siozios S., Cestaro A., Kaur R., Pertot I., Rota-Stabelli O., Anfora G., 2013. Draft genome of the *Wolbachia* endosymbiont of *Drosophila suzukii*. *Genome Announcements* 1 (1): e00032-13.

- Taning C.N.T., Christiaens O., Berkvens N., Casteels H., Maes M., Smagghe G., 2016. Oral RNAi to control *Drosophila suzukii*: laboratory testing against larval and adult stages. *Journal of Pest Science* 89(3): 803-814.
- Vitagliano S., Grassi A., Anfora G., Angeli S., 2013. L'insetto esotico *Drosophila suzukii*: ecologia e linee di difesa. *Italus Hortus* 20 (3): 1-21
- 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(9): e106909.
- Wiman N.G., Dalton D.T., Anfora G., Biondi A., Chiu J.C., Daane K.M., Gerde-man B., Gottardello A., Hamby K.A., Isaacs R., Grassi A., Ioriatti C., Lee J.C., Miller B., Rossi Stacconi M.V., Shearer P.W., Tanigoshi L., Wang X., Walton V.M., 2016. *Drosophila suzukii* population response to environment and management strategies. *Journal of Pest Science* 89: 653-665

Pubblicazione realizzata nell'ambito del progetto LExEM
WWW.LEXEM.EU

.....

 LEXEM	 Provincia Autonoma di Trento	 FONDAZIONE EDMUND MACH	 Con il contributo scientifico di
 FONDAZIONE BRUNO KESSLER	 Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie	 UNIVERSITY OF TRENTO - Italy	 Università Commerciale Luigi Bocconi DONDENA Centro "Carlo F. Dondena" per la Ricerca sulle Dinamiche Sociali e Politiche Pubbliche