



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA
Scienze Agrarie



Curriculum
Monitoraggio e Controllo degli Ecosistemi Agrari e Forestali in
Ambiente Mediterraneo

Ciclo XXIX

Ruolo dei parassitoidi autoctoni e di quello esotico
introdotto nel controllo biologico del cinipide galligeno
del castagno in Sardegna

Dr. Angelo Peddes

<i>Coordinatore del Corso</i>	Prof. Antonello Cannas
<i>Referente di Curriculum</i>	Prof. Alberto Satta
<i>Docente Guida</i>	Prof. Roberto A. Pantaleoni
<i>Tutor</i>	Dott.ssa Laura Loru

Anno accademico 2015- 2016



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA
Scienze Agrarie



Curriculum
Monitoraggio e Controllo degli Ecosistemi Agrari e Forestali in
Ambiente Mediterraneo

Ciclo XXIX

Ruolo dei parassitoidi autoctoni e di quello esotico
introdotto nel controllo biologico del cinipide galligeno
del castagno in Sardegna

Dr. Angelo Peddes

<i>Coordinatore del Corso</i>	Prof. Antonello Cannas
<i>Referente di Curriculum</i>	Prof. Alberto Satta
<i>Docente Guida</i>	Prof. Roberto A. Pantaleoni
<i>Tutor</i>	Dott.ssa Laura Loru

Anno accademico 2015- 2016

Sommario	
RIASSUNTO	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUZIONE.....	3
Scopo della Tesi	8
MATERIALI E METODI.....	9
Area di studio e siti di campionamento.....	9
Campionamento dei rametti	12
Calcolo del tasso di infestazione e dell'indice di danno	12
Campionamento delle galle primaverili e estive.....	13
Campionamento delle galle invernali	15
Identificazione dei parassitoidi	16
Analisi statistica	17
RISULTATI.....	19
Tasso di infestazione.....	19
Indice di danno.....	22
Frequenza tipologie di galle.....	24
Densità galle.....	26
Numero di celle per galla	26
Contenuto delle galle	28
Parassitoidi autoctoni e <i>Torymus sinensis</i>	35
Iperparassitismo	39
Insediamento di <i>Torymus sinensis</i> nei siti di lancio.....	40
DISCUSSIONE.....	43
CONCLUSIONI	47
RINGRAZIAMENTI.....	48
BIBLIOGRAFIA CITATA.....	49

RIASSUNTO

RUOLO DEI PARASSITOIDI AUTOCTONI E DI QUELLO ESOTICO INTRODOTTO NEL CONTROLLO BIOLOGICO DEL CINIPIDE GALLIGENO DEL CASTAGNO IN SARDEGNA

Il cinipide galligeno del castagno *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera, Cynipidae) è considerato uno dei principali fitofagi dannosi del castagno, *Castanea* spp., in tutto il mondo. La lotta biologica classica, mediante l'introduzione del parassitoide esotico *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera, Torymidae) è considerata l'unico metodo efficace di controllo del fitofago invasivo. Nonostante il rapido reclutamento di numerose specie indigene, il tasso di parassitizzazione rilevato, ad esclusione di qualche caso particolare, viene considerato basso non rendendo possibile da parte loro alcun contenimento del fitofago.

In Sardegna è stato effettuato un monitoraggio pluriennale per rilevare 1) l'andamento dell'infestazione di *D. kuriphilus* 2) l'andamento della parassitizzazione dovuta ai parassitoidi autoctoni ed esotico del fitofago invasivo e 3) il grado di insediamento di *T. sinensis* in alcuni fra i primi siti di lancio.

I dati raccolti ed analizzati mostrano chiaramente che l'infestazione di *D. kuriphilus* sta regredendo. In particolare, si è osservata una marcata diminuzione del numero di galle, dei germogli infestati e del numero di celle per galla.

La presenza del parassitoide esotico nelle zone limitrofe a quelle di lancio si è mantenuta estremamente bassa fino al 2014, con valori finanche inferiori a quelli relativi alla parassitizzazione da specie autoctone. Successivamente, ed in due soli anni, *T. sinensis* è divenuto specie dominante raggiungendo in alcune zone dei livelli di parassitizzazione prossimi al 100%.

T. sinensis risulta ben insediato in tutti i siti di lancio con valori di densità molto discordanti rilevati nelle galle raccolte in primavera-estate (larve diapausanti) rispetto agli sfarfallamenti da galle "invernali" raccolte nel medesimo sito facendo supporre una certa mortalità nelle larve svernanti.

ABSTRACT

NATIVE AND INTRODUCED PARASITOIDS IN THE BIOLOGICAL CONTROL OF THE CHESTNUT
GALLWASP IN SARDINIA

The Asian chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera, Cynipidae) (ACGW) is considered as a major pest of *Castanea* species worldwide. The classical biological control based on the release of the parasitoid *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera, Torymidae) is considered to be the only effective method of controlling *D. kuriphilus*.

The parasitism rates of native parasitoids species are typically low (2-10%), thus they cannot control chestnut gallwasp keeping its population below an economic threshold. A multi-year monitoring of exotic and native parasitoids of this pest was carried out in Sardinia by collecting specimens inside the galls. At the same time *D. kuriphilus* infestation and *T. sinensis* settlement in some release sites has been monitored.

The data collected clearly indicate that *D. kuriphilus* is decreasing as demonstrated by the decrease of number of galls, infested shoots and number of cells per gall.

Until 2014, the density of *T. sinensis* has been extremely low in sites different from those of release reaching levels well below those relative to native parasitoids (between 40 and 50%). However, in two years since then *T. sinensis* became the dominant species in some sites parasitizing 99% of gall wasp cells.

T. sinensis is well established in all release sites but some differences were in density values between galls collected in spring-summer (diapausing larvae) and emergences from “winter” galls suggesting some mortality of overwintering larvae.

INTRODUZIONE

Il cinipide galligeno *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera Cinipidae) è uno fra gli insetti maggiormente dannosi al castagno a livello mondiale. Fitofago legato esclusivamente al genere *Castanea*, attacca sia il castagno europeo che gli ibridi eurogiapponesi. Il suo nome comune deriva dalla capacità di indurre la formazione di galle nella pianta ospite. Le galle sono ingrossamenti ipertrofici di tessuto vegetale che assicurano al galligeno nutrimento e protezione (Pellizzari, 1988); nel contempo limitano lo sviluppo dei germogli e di conseguenza la produzione di castagne che può registrare perdite che vanno dal 50 all'80% (EPPO, 2005; Battisti *et al.*, 2014). La perdita di prodotto può essere diretta, a causa della mancata formazione dei fiori e indiretta, a causa della riduzione della superficie fogliare e quindi di quella fotosintetica (Battisti *et al.*, 2014). Ad esclusione del Giappone (Cho & Lee, 1963), non esistono segnalazioni di moria del castagno causata dal cinipide (EFSA, Panel on Plant Health, 2011). Tuttavia, in seguito ad attacchi ripetuti da parte del fitofago, la pianta si indebolisce e diviene più vulnerabile a patologie fungine, in particolare al cancro corticale, che possono provocarne la morte (Ferracini & Alma, 2015).

Originario della Cina (Oho & Umeya, 1975; Murakami, 1980; Li *et al.*, 2004), risulta introdotto da tempo in Giappone, Corea, Nepal (Yasumatsu, 1951; Shiraga, 1951; Cho & Lee, 1963; Abe *et al.*, 2007) e parte orientale degli Stati Uniti d'America (Payne *et al.*, 1975; Cooper & Rieske, 2007), mentre è di più recente introduzione in Canada (Huber & Read, 2012). Nel 2002 è stato rinvenuto per la prima volta in Europa in Piemonte (provincia di Cuneo) (Brussino *et al.*, 2002) ed è stato immediatamente inserito nella Lista A2 della European Plant Protection Organization (EPPO). Secondo il Reporting Service della EPPO il cinipide è attualmente presente (tra parentesi l'anno del suo rinvenimento) in Slovenia (2004), Francia (2005), Croazia (2010), Germania e Spagna (2012), Austria e Ungheria (2013), Portogallo, Grecia e Turchia (2014), Gran Bretagna e Belgio (2015). Il fitofago risulta in corso di eradicazione in Svizzera (2009) e in Repubblica Ceca (2012), mentre è stato nuovamente segnalato in Olanda dopo che nel 2013 era stata dichiarata la sua eradicazione (EPPO, 2005, 2013, 2015, 2016). In Italia è attualmente presente in tutte le regioni castanicole ove cresce o si coltiva il

castagno, nelle quali si è diffuso sia tramite dispersione naturale che mediante commercio di piante infestate (Graziosi & Santi, 2008).

Il cinipide galligeno del castagno è un insetto di piccole dimensioni di colore nero con zampe giallo-brune. Si tratta di una specie univoltina che si riproduce per partenogenesi telitoca, dalle uova nascono quindi solo individui di sesso femminile e perciò, potenzialmente, un solo individuo può dare il via ad una nuova colonizzazione. Gli adulti sfarfallano tra fine maggio e fine luglio. Ogni femmina depone gruppi di 3-5 uova per gemma e può deporre complessivamente fino a un centinaio di uova. In una gemma si possono trovare fino a 30 uova. La schiusa delle uova avviene dopo circa 40 giorni e le larve permangono per tutto l'autunno e l'inverno allo stadio di I età. In questa fase la loro presenza all'interno della gemma è asintomatica. La primavera successiva, alla ripresa vegetativa della pianta, le larve riprendono a nutrirsi inducendo la formazione delle galle. All'interno di una galla c'è un numero variabile di celle, ciascuna contenente una sola larva. Le larve si alimentano per circa 20-30 giorni, per poi impuparsi da metà maggio a metà luglio a seconda dell'altitudine, dell'esposizione e della varietà del castagno.

Le possibilità di lotta diretta contro questo insetto non sono molte e i trattamenti insetticidi servono a ben poco a causa principalmente delle modalità di sviluppo del fitofago che rimane nell'ambiente per un periodo di tempo molto limitato. Il controllo chimico di larve e pupe non è possibile dal momento che esse sono protette all'interno della galla (EFSA, 2010), può essere efficace contro gli adulti (Griffo *et al.*, 2010) se viene individuato con precisione il periodo in cui sfarfallano (Germinara *et al.*, 2011). I trattamenti chimici sono comunque assolutamente improponibili su alberi di grandi dimensioni e negli ambienti boschivi, dove dimora comunemente il castagno, per i gravi rischi ambientali conseguenti all'impiego di prodotti di sintesi (Alma, 2010).

La selezione e l'utilizzo di varietà resistenti al fitofago si è mostrata inizialmente utile in Giappone (Murakami, 1981) impedendo lo sviluppo del cinipide per parecchi anni (Shimura, 1972) fino alla comparsa di un biotipo di *D. kuriphilus* in grado di infestare anche quelle varietà inizialmente resistenti (Murakami, 2010).

La lotta biologica classica, mediante l'introduzione del parassitoide esotico *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera, Torymidae) è considerata l'unico metodo efficace di controllo del fitofago invasivo (Matošević *et al.*, 2014; Radócz *et al.*, 2015). *T. sinensis* è stato utilizzato per la prima volta in Giappone nel 1975 e subito dopo, nel

1977, negli Stati Uniti (Moriya *et al.*, 2003; Cooper & Rieske, 2007). In Europa è stato introdotto per la prima volta in Italia nel 2005, in Francia nel 2011, in Ungheria ed in Croazia nel 2014 ed in Slovenia nel 2015 (Quacchia *et al.*, 2008; Borowiec *et al.*, 2014; Matošević *et al.*, 2014; Kos *et al.*, 2015), mentre la sua introduzione è fortemente auspicata in Romania (Radócz *et al.*, 2015).

In Giappone, dopo 7 anni dalla sua introduzione, la popolazione di *T. sinensis* è cresciuta di un fattore pari a 25 volte. Il tasso di infestazione del cinipide si è ridotto in dieci anni dal 43% (registrato nell'anno del rilascio) a meno dell'1%, quindi ben al di sotto della soglia di tolleranza del danno pari al 30% (Moriya *et al.*, 2003). In Piemonte, dopo una decina di anni dalla sua introduzione, si sono raggiunti valori di parassitizzazione tra l'80 ed il 95%, l'infestazione del galligeno si è drasticamente ridotta e la produzione di castagne è già in crescita dal 2013 (Ferracini & Alma, 2015).

Dalla bibliografia risulta tipicamente che *T. sinensis*, originario della Cina come il cinipide del castagno, è una specie univoltina. Il parassitoide si riproduce sessualmente o, nel caso in cui fallisca l'accoppiamento, mediante partenogenesi arrenotoca. La larva, ectoparassita, fuoriesce dall'uovo che la femmina depone a primavera inoltrata all'interno della cella e si nutre della larva di cinipide. A tal punto, rimane allo stadio larvale fino ad impuparsi a fine inverno per poi sfarfallare in primavera dalle galle secche della generazione precedente. Studi recenti (Ferracini *et al.*, 2015a) hanno invece evidenziato che una piccola parte di individui, larve e in minor misura pupe, del parassitoide manifesta una diapausa prolungata di un anno, con sfarfallamento degli adulti ad inizio primavera, contemporaneamente agli individui della generazione univoltina successiva. Anche la specificità di *T. sinensis* nei confronti del fitofago invasivo è stata messa in dubbio da studi recenti (Ferracini *et al.*, 2015b) condotti in Piemonte. Da galle appartenenti alla specie *Biorhiza pallida*, un cinipide galligeno autoctono infeudato a piante dei generi *Quercus* e *Rosa*, sono sfarfallati infatti alcuni esemplari di *T. sinensis* evidenziando la possibilità da parte del nemico naturale esotico, di parassitizzare galle non target.

I parassitoidi autoctoni del cinipide galligeno del castagno sono specie generaliste già presenti nel territorio in quanto nemici naturali di cinipidi indigeni, che trovano nel fitofago alieno un nuovo ospite su cui svilupparsi. L'importanza di studiare i nemici indigeni è apparsa come un compito urgente per migliorare le strategie per la protezione dei castagni (Addario & Turchetti, 2011; Francati *et al.*, 2015; Guerrieri *et*

al., 2010; Shiga, 1999; Speranza *et al.*, 2009) tenendo conto del fatto che il controllo biologico di emergenza effettuato con l'introduzione di *T. sinensis* poteva non essere esente da rischi (Ferracini *et al.*, 2015b).

Ricerche sono state condotte nella maggior parte dei Paesi interessati dalla presenza del cinipide nel Continente europeo, asiatico e negli Stati Uniti D'America (Bernardinelli *et al.*, 2016; Colombari *et al.*, 2016; Cooper & Rieske, 2007, 2010, 2011; Francati *et al.*, 2015; Guerrieri *et al.*, 2010; Kos *et al.*, 2015; Matošević & Melika, 2013; Palmeri *et al.*, 2014; Panzavolta *et al.*, 2013; Quacchia *et al.*, 2013; Santi & Maini, 2011; Speranza *et al.*, 2009). L'obiettivo di tali indagini è quello di conoscere la composizione in specie del complesso di parassitoidi indigeni e di valutare il loro contributo nel controllo delle infestazioni del fitofago. Dal punto di vista qualitativo, la comunità di parassitoidi indigeni si è arricchita velocemente passando in Italia dal 2004 al 2014 rispettivamente da 4 a 38 specie di imenotteri calcidoidei appartenenti a sei famiglie (Eulophidae, Eupelmidae, Eurytomidae, Ormyridae, Pteromalidae e Torymidae) (Quacchia *et al.*, 2013; Alma *et al.*, 2014). Nonostante il rapido accrescimento del numero di specie indigene, il tasso di parassitizzazione rilevato, ad esclusione di qualche caso particolare (Santi & Maini, 2011; Bernardinelli *et al.*, 2016) viene considerato basso (2-10%) non rendendo possibile da parte dei parassitoidi indigeni, alcun contenimento del fitofago (Matošević *et al.*, 2014; Francati *et al.*, 2015; Kos *et al.*, 2015; Radócz *et al.*, 2015; Moriya *et al.*, 2003).

Il cinipide galligeno del castagno è stato rilevato in Sardegna nel 2007, nel territorio della Barbagia di Belvì (Nuoro) sul versante occidentale del complesso montuoso del Gennargentu, ed in particolare nel territorio di Aritzo da dove è sicuramente partita l'infestazione. Focolai sono stati successivamente rinvenuti anche nei comuni di Belvì, Desulo e Tonara. La sua introduzione sarebbe avvenuta tra il 2003 ed il 2005 da materiale vivaistico proveniente dal Piemonte (Pantaleoni *et al.*, 2007). Attualmente il fitofago esotico ha raggiunto anche le poche aree castanicole dell'Ogliastra. Risulterebbe invece ancora assente in altre piccole ed isolate aree castanicole della Sardegna (Gallura, Monti Ferru, Goceano, etc).

Dopo un primo, quanto inutile, tentativo di eradicazione da parte degli enti tecnici regionali e degli stessi castanicoltori, in Sardegna si è rapidamente optato per la realizzazione di un intervento di controllo biologico "classico" con l'introduzione del limitatore naturale *T. sinensis*. Nell'ambito del progetto "Controllo biologico del

cinipide galligeno del castagno nella Barbagia di Belvì” finanziato dall’Amministrazione Provinciale di Nuoro, nel 2009 i ricercatori dell’Istituto per lo Studio degli Ecosistemi del Consiglio Nazionale delle Ricerche (ISE-CNR) insieme a colleghi dell’Università di Torino, all’Agenzia Laore e ad altri Enti locali hanno eseguito il primo lancio del parassitoide esotico in un castagneto sito in Località Geratzia (Aritzo). Tra il 2010 e il 2011 sono stati effettuati altri 5 lanci sempre con materiale fornito dall’Università di Torino. Nel 2012 è stato possibile effettuare un lancio con insetti sfarfallati in Sardegna da galle raccolte nel primo sito di introduzione. Nello stesso anno, essendosi reso disponibile sul mercato materiale di *T. sinensis*, un’associazione locale di castanicoltori ha effettuato altri 8 lanci nel territorio oggetto dell’infestazione. Tra il 2013 ed il 2016 la Regione Sardegna ha finanziato l’acquisto di decine di lanci nell’ambito del “Programma regionale triennale di lotta al cinipide galligeno del castagno” distribuiti oltre che nel territorio della Barbagia di Belvì anche nella vicina provincia dell’Ogliastra di più recente infestazione. Secondo i dati forniti dall’Agenzia Laore i lanci effettuati nel territorio oggetto di studio nel quadriennio 2013-2016 ammontano a 152.

Nell’ambito di questi progetti sono stati compiuti molti sforzi per verificare quali e quanti parassitoidi indigeni venivano reclutati dal nuovo organismo invasivo. Nel 2010 e nel 2011, a differenza del 2009 in cui furono eseguiti esclusivamente campionamenti qualitativi di “orientamento”, si è proceduto con campionamenti ad hoc di galle per valutare l’abbondanza e la composizione specifica delle comunità di parassitoidi locali. In particolare le galle raccolte venivano poste in allevamento in laboratorio raccogliendo e identificando gli individui mano a mano sfarfallati.

Questo tipo di approccio, per quanto utilissimo ed utilizzatissimo, non risulta però del tutto soddisfacente. Il numero di esemplari sfarfallati veniva infatti rapportato ad una unità di riferimento, la galla, nel cui interno potevano essere presenti un numero variabile di celle e quindi di esemplari del fitofago. Anche se il numero medio di celle può essere stimato, la percentuale di parassitizzazione calcolata sugli sfarfallamenti è per forza di cose molto approssimativa e spesso sovrastimata. Per questi motivi, a partire dal 2012 si è deciso di affiancare all’allevamento delle galle anche l’attività di dissezione di una parte di esse.

Oltre a fornire un valore di parassitizzazione più preciso, la dissezione consente di: 1) avere dati temporalmente assai precisi riguardo gli stadi vitali (larva, pupa, adulto

neofornato) di fitofago e parassitoidi, 2) valutare l'eventuale iper-parassitizzazione, 3) valutare il contributo dei parassitoidi autoctoni e del parassitoide esotico nella parassitizzazione del fitofago, 4) verificare la presenza di *T. sinensis* in siti nei quali non era stato introdotto senza necessità di campionamenti ad hoc nella stagione invernale e senza dover attendere i suoi sfarfallamenti nella primavera successiva.

Scopo della Tesi

In questa tesi sono stati studiati i seguenti aspetti dell'infestazione dovuta a *D. kuriphilus* nei castagneti del territorio della Barbagia di Belvì: 1) l'andamento dell'infestazione; 2) l'andamento del tasso di parassitizzazione discriminando tra contributo delle specie indigene e del parassitoide esotico e 3) il livello di insediamento di *T. sinensis* in alcuni fra i primi siti di introduzione.

Per avere un quadro complessivo di come infestazione, parassitizzazione ed insediamento di *T. sinensis* si sono evoluti nel tempo, in questa Tesi verranno elaborati e discussi anche i dati raccolti prima (2010-2013) dell'inizio del mio Dottorato di Ricerca il cui lavoro in campo ed in laboratorio ha riguardato il periodo 2014-2016.

MATERIALI E METODI

Area di studio e siti di campionamento

L'indagine è stata svolta nel principale comprensorio castanicolo della Sardegna. Si tratta della parte centrale della Barbagia di Belvì ricadente nei territori dei Comuni di Tonara, Desulo, Aritzo e Belvì (fig. 1).

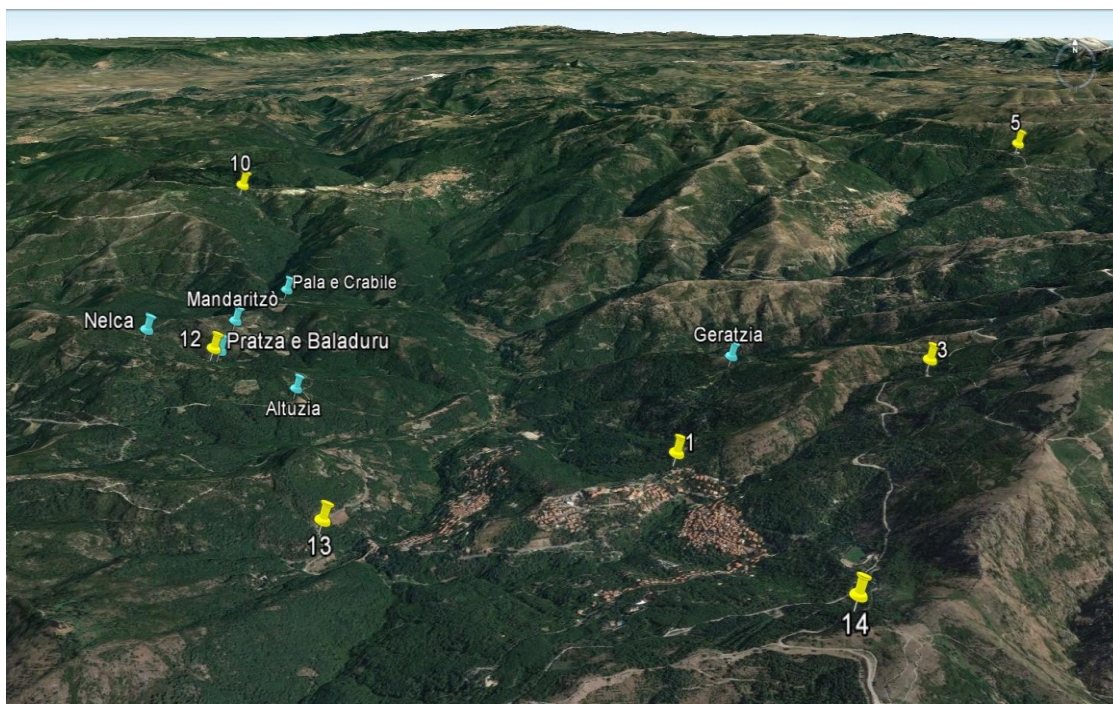


Figura 1 – Barbagia di Belvì, territori comunali di Aritzo, Belvì, Desulo e Tonara, con indicazione dei siti di campionamento. In azzurro con nome di località i siti di rilascio di *Torymus sinensis*, in giallo numerati siti in cui il limitatore esotico non è stato rilasciato.

I siti di campionamento (tabella I) sono complessivamente tredici, sei dei quali vengono identificati col nome della località in cui si trovano (Altuzia, Geratzia, Mandaritzò, Nelca, Pala e Crabile e Pratzà e Baladuru) e rappresentano anche siti di rilascio del parassitoide esotico *T. sinensis*, i rimanenti sette, identificati da numeri (siti 1, 3, 5, 10, 12, 13 e 14), sono invece siti nei quali il parassitoide esotico non è stato direttamente lanciato, ma vi è arrivato per dispersione naturale dalle aree circostanti.

Tabella I – Siti di campionamento. Quelli indicati con il nome della località sono siti di rilascio di *T. sinensis*.

Sito	Comune	Anno rilascio di <i>T.sinensis</i>	Tipologia castagneto	m slm	Coordinate
Altuzia	Belvì	2013	da frutto	747	39°58'14.59" N 9°10'18.01" E
Geratzia	Aritzo	2009	da frutto	920	39°58'11,19" N 9°12'02,68" E
Mandaritzò	Belvì	2012	da frutto	788	39°58'50,84" N 9°09'48,44" E
Nelca	Belvì	2014	da frutto	844	39°58'34.82" N 9° 9'32.71"E
Pale e Crabile	Tonara	2010	da frutto	730	39°59'13,32" N 9°09'58,56" E
Pratza e Baladuru	Belvì	2011	ceduo	818	39°58'25,97" N 9°09'54,69" E
n° 1	Aritzo	-	ceduo	816	39°57'39.50" N 9°11'44.10" E
n° 3	Aritzo	-	piante sparse in un bosco misto di querce	1070	39°57'52.50" N 9°12'39.64" E
n° 5	Desulo	-	da frutto	1207	40°01'57,23" N 9°14'57,23" E
n° 10	Tonara	-	da frutto	914	40° 0'56.94" N 9° 9'4.78" E
n° 12	Belvì	-	da frutto	798	39°58'28.75" N 9° 9'52.57" E
n° 13	Belvì	-	ceduo	682	39°57'28.36" N 9°10'37.37"E
n° 14	Aritzo	-	da frutto	1000	39°56'51.85" N 9°12'0.37" E

Tutti i siti di campionamento risultavano infestati dal cinipide già nell'estate 2009 (ISE-CNR, dati non pubblicati). L'intera area è caratterizzata da un mosaico di castagneti e boschi prevalentemente di leccio e roverella, con macchia mediterranea, corileti per lo più abbandonati e pascoli.

Nella tabella Ia sono riportate per ciascun sito di campionamento non soggetto a rilascio le distanze tra il sito stesso ed i punti di lancio ricompresi in un raggio di 1.500 m, oltre all'anno in cui *T. sinensis* è stato rilasciato.

Tabella Ia – Siti di campionamento non sede di rilascio: punti di lancio in un raggio di 1.500 m da essi e relativi anni di lancio di *T. sinensis*.

Sito di campionamento	Anno di lancio, distanza (m) dal sito di campionamento, nome o codice dei punti di lancio	
n° 1	2009	1004 Geratzia
	2014	358 Gennausù 2, 359 Procurassu, 456 Gennausù, 784 Procurassu 2
	2016	386 Aritzo 20161
n° 3	2013	800 Gebol d'Abba
	2014	840 Procurassu, 1073 Gennausù 2
	2015	580 Sos Tragos
	2016	802 Aritzo 20165
n° 5	2013	650 Genna Is Argiolas
	2014	270 Funtana Perdu, 1000 Perduaccu
	2015	860 Is Tancas
n° 10	2011	420 Terrabatzò
	2013	730 Tonnizò, 1500 Funtana Tia
	2014	800 Nartalè
	2016	137 Terrabatzò 201613, 418 Terrabatzò 20162
n° 12	2012	360 Narbole Asile
	2013	240 Funtana S'Orroma 1, 590 S'Arcu de su Texe
	2015	78 Lagosu 1, 112 Lagosu2
n° 13	2012	1220 Racatia
	2014	560 Pitzu e Pranu, 900 Sa Perda Morta
	2015	485 Addarci
n° 14	2012	340 Pastissu
	2014	960 Parco com. Aritzo, 1000 Innaziu Onano 2
	2015	589 Funtana Orrubia
	2016	965 Aritzo 201612

Campionamento dei rametti

Il prelievo dei rametti è stato eseguito con lo scopo di calcolare il tasso di infestazione e l'indice di danno. I campionamenti sono stati effettuati per due anni consecutivi nel 2015 e nel 2016 nella tarda primavera (fine maggio-inizio giugno) in tutti i siti ad eccezione del sito 10. In ciascun sito sono stati scelti a caso 5 alberi e da ciascuno di essi, con l'ausilio di un potatore ad asta dotato di dispositivo di ritenuta dei rami tagliati, sono stati prelevati casualmente 10 rametti di un anno di età avendo cura di raccogliarli da tutta la chioma e da diverse altezze (non oltre i 3 metri dal suolo).

In laboratorio i rametti sono stati esaminati ed è stato registrato il numero di gemme dell'anno precedente da cui si sono sviluppati germogli. Per semplicità anche la presenza di una sola galla sessile sviluppatasi dalla gemma dell'anno precedente è stata qui definita come "germoglio".

Le galle presenti in ogni germoglio, come precedentemente definito, sono state contate classificandole, secondo lo schema proposto in Aebi *et al.*, (2011) (fig. 2) in 4 tipologie di dannosità decrescente: 1) galla sessile (non permette lo sviluppo del rametto); 2) galla terminale sul rametto in crescita (non permette l'ulteriore accrescimento del rametto); 3) galla laterale sul rametto in crescita (non permette l'ulteriore accrescimento di alcune foglie) e 4) galla fogliare.

Calcolo del tasso di infestazione e dell'indice di danno

Il tasso di infestazione è stato espresso come percentuale di germogli infestati (ospitanti almeno una galla) sul totale di germogli presenti nel rametto.

L'indice di danno è stato elaborato sulla base del danno ipotetico, dg [danno al germoglio], provocato da ciascuna tipologia di galla:

galla tipo 1 (galla sessile) – $dg = 1$ la galla non permette lo sviluppo del germoglio, totale perdita di produzione (senso lato).

galla tipo 2 (galla terminale) – $dg = 0,5$ la galla non permette l'accrescimento del germoglio, perdita indicativa di produzione pari a un mezzo.

galla tipo 3 (galla laterale) – $dg = 0,125$ la galla non permette l'accrescimento di alcune foglie, perdita indicativa di produzione pari a un ottavo.

galla tipo 4 (galla fogliare) – $dg = 0,025$ la galla impedisce parzialmente l'attività fogliare, perdita indicativa di produzione pari a un quarantesimo.

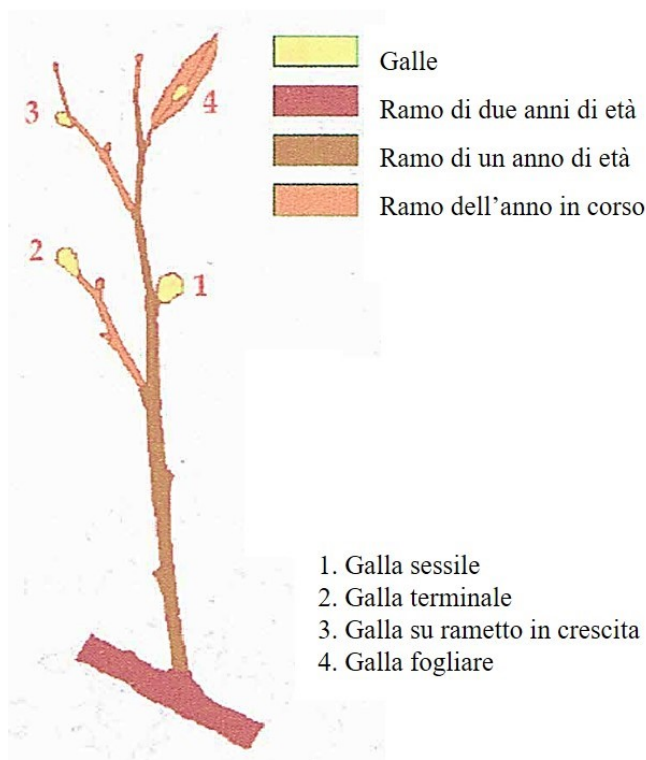


Figura 2 – Classificazione delle galle (da Aebi *et al.*, 2011).

L'indice di danno (ID) è stato calcolato su ogni singolo rametto secondo la formula:

$$ID_{R_i} = \frac{\sum_1^4 (dg_n * G_n)}{N}$$

Dove: dg_n è l'indice di danno per la tipologia n di galla; G_n è il numero di galle di tipologia n presenti nel rametto R_i ; N è il numero di germogli del rametto R_i .

I valori dell'indice di danno ID possono variare tra 0 (nessun danno) e 1 (nessun germoglio sviluppatosi).

Campionamento delle galle primaverili e estive

Con lo scopo di verificare l'andamento del numero di galle nel corso degli anni (densità delle galle) sono stati effettuati campionamenti di rametti infestati. I rilievi sono stati eseguiti dal 2010 al 2016, esclusivamente nei siti non interessati al lancio di *T. sinensis*. In particolare è stato fatto un unico campionamento a fine maggio di tutti i rametti di un anno infestati che si riuscivano a tagliare nell'arco di 5 minuti da un

massimo di 4-5 piante vicine, avendo cura quando possibile, di raccogliarli da tutta la chioma e da diverse altezze (non oltre i 3 metri dal suolo). In laboratorio le galle sono state separate dai rametti e contate.

Con lo scopo di valutare il tasso di parassitizzazione dovuto ai nemici naturali autoctoni e a quello esotico sono stati effettuati campionamenti di galle per cinque anni consecutivi dal 2012 al 2016 secondo il seguente schema.

Dal 2012 al 2014 sono stati campionati i soli 7 siti non interessati direttamente dal lancio di *T. sinensis* (qui identificati da numeri). I campionamenti, di 30 galle, hanno avuto cadenza quindicinale, fra fine maggio e fine luglio (6 campionamenti/anno).

Nel 2015 è stato eseguito un solo campionamento, di 40 galle, a fine maggio, in dodici siti, in pratica tutti ad eccezione del n° 10 nel quale non è stato possibile rilevare più alcuna infestazione.

Nel 2016 i campionamenti sono tornati ad avere cadenza bisettimanale, con un prolungamento dei rilievi da fine maggio a fine agosto (8 campionamenti/anno). Le galle raccolte sono state 30 con l'eccezione del secondo campionamento in cui ne sono state raccolte 40. Oltre al sito n° 10, in cui già dall'anno precedente non era stato possibile rilevare l'infestazione, anche i siti n° 1 e n° 13 sono stati esclusi per lo stesso motivo. Nel sito n° 14 invece l'infestazione si è rilevata talmente bassa che al terzo campionamento non è stato più possibile trovare un adeguato numero di galle campionabili.

In ciascun sito, le galle di cinipide sono state prelevate da 4-5 piante con l'ausilio di un potatore ad asta dotato di dispositivo di ritenuta dei rami tagliati, avendo cura quando possibile, di raccogliere da tutta la chioma e da diverse altezze (non oltre i 3 metri dal suolo). In laboratorio le galle venivano gradualmente sezionate in fette sottili con l'ausilio di un bisturi sotto binoculare ad adeguato ingrandimento. Tale operazione, particolarmente delicata, è stata preferita ad una sezione mediale (molto più rapida) per scongiurare la distruzione degli insetti presenti all'interno della galla.

Per ciascuna galla veniva registrato il numero di celle, e per ciascuna cella il contenuto distinguendo tra: larva, pupa o adulto di cinipide, cinipide e larva di parassitoide presenti contemporaneamente, larva, pupa o adulto di parassitoide, e larva o pupa di parassitoide con iperparassitoide. In calce veniva inoltre eventualmente annotata qualsiasi altra informazione ritenuta utile sul contenuto di ciascuna cella.

L'apertura delle galle veniva fatta entro 48 ore dalla loro raccolta in modo da raccogliere dati che rispecchiassero il più possibile la situazione reale al momento del prelievo del materiale in campo. Le galle in attesa di essere sezionate, venivano tenute in frigorifero alla temperatura di 4-5° C.

Secondo l'annata, tutti od alcuni dei parassitoidi rinvenuti venivano conservati immediatamente e singolarmente in alcool etilico al 95%, entro provette tipo Eppendorf opportunamente etichettate, per essere sottoposti ad identificazione biomolecolare (vedi oltre).

Campionamento delle galle invernali

Il campionamento delle galle cosiddette invernali (vale a dire delle galle formatesi nella stagione vegetativa precedente la loro raccolta) è stato eseguito a partire dal 2010 fino al 2016 secondo lo schema seguente (tabella XV).

Nel 2010 sono state raccolte 10.000 galle nel sito di Geratzia.

Nel 2011 ancora 10.000 galle sia nel sito di Geratzia che in quello di Pale e Crabile.

Nel 2012 sempre 10.000 galle per ciascuno dei siti di Geratzia, di Pale e Crabile e Pratzia e Baladuru.

Nel 2015 sono state raccolte 486 galle nel sito di Geratzia, 500 galle nei siti di Pale e Crabile, Pratzia e Baladuru e Mandaritzó.

Nel 2016 sono state raccolte 500 galle nei siti di Geratzia, Pale e Crabile, Pratzia e Baladuru e Mandaritzó.

I campionamenti sono stati fatti tra il mese di febbraio ed i primi quindici giorni di marzo in modo da prevenire lo sfarfallamento degli insetti in campo; le galle sono state prelevate da 4-5 piante con l'ausilio di un potatore munito di asta dotato di dispositivo di ritenuta dei rami tagliati, avendo cura quando possibile, di raccoglierle da tutta la chioma e da diverse altezze (non oltre i 3 metri dal suolo). In laboratorio il materiale raccolto è stato ripulito da porzioni di rami o di foglie privi di galle ponendo particolare attenzione all'eliminazione di ragni o altri predatori che avrebbero potuto compromettere lo sfarfallamento dei parassitoidi. Le galle sono state poi sistemate in sacchi di tulle preparati artigianalmente e muniti di un'apertura in corrispondenza della quale viene fissato, tramite un elastico, un bicchiere di plastica trasparente. I sacchi sono stati a loro volta sistemati, in un unico strato, su uno scaffale oscurato per mezzo di un telo antialga nero su tutti i suoi lati (fig. 3).



Figura 3 – Scaffale per lo stoccaggio delle galle in laboratorio: aperto per mostrare il suo interno (sn) e pronto all’uso (dx).

Attraverso un numero adeguato di aperture create ad hoc nel telo i bicchieri di plastica fuoriescono dallo stesso e ricevono una illuminazione maggiore. Questo sistema consente una più facile raccolta degli individui che sfarfallano dalle galle i quali attirati dalla luce si radunano entro i bicchieri. Lo scaffale così allestito è stato posizionato in una stanza a temperatura ambiente. I bicchieri sono stati controllati giornalmente fino a quando sono cessati gli sfarfallamenti degli insetti. A tal punto i sacchi sono stati svuotati ed il materiale controllato attentamente per rilevare la presenza di insetti che eventualmente non erano riusciti a raggiungere il bicchiere. Gli individui sfarfallati sono stati conservati in alcool etilico al 95%, entro provette di dimensioni adeguate, opportunamente etichettate, in attesa di essere sottoposti ad identificazione specifica.

Identificazione dei parassitoidi

I parassitoidi estratti dalle galle raccolte tra il 2012 ed il 2014 sono stati sottoposti ad identificazione specifica mediante tecniche di biologia molecolare. In particolare il gene mitocondriale COI, che codifica per la proteina citocromo ossidasi c subunità 1, è stato sequenziato e analizzato (per la metodologia e per la lista delle specie rinvenute si veda Schiaffino, 2016). Le sequenze ottenute sono state confrontate con quelle di riferimento ottenute da adulti campionati in Sardegna e con quelle presenti nelle banche

mondiali GenBank e BOLD (Barcode of Life Database). Questo metodo ha permesso di identificare i parassitoidi in qualunque stadio vitale.

I parassitoidi estratti dalle galle raccolte nel 2015 e nel 2016 sono stati invece solo distinti tra larve di *T. sinensis* e larve delle specie autoctone mediante caratteri morfologici. Ciò è stato possibile grazie alla presenza nella larva matura del parassitoide esotico di caratteristiche strie scure nell'addome (Quacchia *et al.*, 2014). Dal momento che nel periodo in cui sono stati fatti i campionamenti *T. sinensis* si trova esclusivamente come larva all'interno delle galle, gli individui presenti come pupa o adulti neoformati venivano direttamente ascritti a specie autoctone. Nel 2015, essendo la prima volta che effettuavamo l'identificazione morfologica della larva di *T. sinensis*, una buona parte dei parassitoidi (sia esotico che autoctoni) è stata sottoposta ad analisi molecolare per un'ulteriore conferma dell'identificazione.

Gli esemplari di *T. sinensis* sfarfallati dalle galle invernali sono stati identificati morfologicamente mediante confronto con esemplari determinati da specialisti depositati presso i laboratori dell'ISE CNR.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata con il software R (R Development Core Team, 2014).

Numero di galle raccolte per unità di sforzo – Eventuali differenze tra anni in termini di “numero di galle raccolte” sono state valutate attraverso l'adattamento di un modello lineare generalizzato con una distribuzione dell'errore di tipo Poisson (identity=log) e il successivo test dei confronti multipli con la correzione di Tukey ($\alpha=0.05$). I dati non sono stati trasformati se non per l'aggiunta di una unità in modo da evitare i valori nulli e rispettare il dominio di Poisson.

Tasso di infestazione e indice di danno – I valori percentuali d'infestazione e l'indice di danno sono stati trasformati in arcoseno (\sqrt{x}) per soddisfare gli assunti di normalità ed omoschedasticità. Gli effetti dell'anno di campionamento, della stazione di monitoraggio e della loro interazione sul tasso di infestazione e sull'indice di danno sono stati valutati con l'adattamento di un modello lineare generale misto (LMM), in cui il fattore “ramo-*within*-pianta” è stato considerato random. Eventuali differenze tra siti e anni di campionamento sono state successivamente valutate con il test dei confronti multipli di Tukey fissando un livello minimo di significatività al 5% ($\alpha = 0.05$). Il test

del chi quadrato è stato utilizzato per verificare la dipendenza tra percentuale di germogli infestati e anno di campionamento e tra percentuale di ciascuna tipologia di galla e anno di campionamento. I livelli di dipendenza sono stati successivamente evidenziati mediante la comparazione dei residui standardizzati di Pearson. La regressione lineare è stata utilizzata per esplorare, per ciascun sito di campionamento, la relazione tra tasso di parassitizzazione dovuto a *T. sinensis* rilevato nel 2015 e tasso di infestazione dei rametti rilevato nel 2016. Anche le percentuali del tasso di parassitizzazione sono state trasformate in arcoseno (\sqrt{x}) per soddisfare gli assunti di normalità ed omoschedasticità.

Numero di celle per galla – Le galle sono state suddivise in due classi in relazione al numero di celle presenti: 1) contenenti una o due celle; 2) contenenti tre o più celle. Il test del chi quadrato è stato utilizzato per verificare la dipendenza tra la percentuale di galle con una o due celle e l'anno di campionamento. I livelli di dipendenza sono stati successivamente evidenziati mediante la comparazione dei residui standardizzati di Pearson. I valori medi del numero di celle per galla calcolati per ciascun sito e anno sono stati analizzati attraverso l'analisi della varianza (ANOVA), con lo scopo di valutare l'effetto dell'anno di campionamento. Le differenze tra medie sono state quindi rilevate con il test dei confronti multipli di Tukey fissando un livello minimo di significatività al 5% ($\alpha=0.05$).

Occupazione delle galle e percentuale di parassitismo – Ai fini dell'analisi statistica non sono stati considerati l'unico campionamento del 2015, gli ultimi due campionamenti del 2016 e i siti di campionamento in cui è stato introdotto il parassitoide esotico (qui identificati col nome della località). L'incidenza dell'anno, del periodo di campionamento e della loro interazione sulla distribuzione delle percentuali di occupazione entro galla e di parassitismo sono state valutate attraverso l'applicazione dei LMM, considerando l'effetto casuale dovuto alla stazione di monitoraggio. Le differenze tra medie di percentuali sono state quindi rilevate attraverso il test dei confronti multipli di Tukey ($\alpha = 0.05$).

RISULTATI

Tasso di infestazione

Nei due anni di indagine (2015 e 2016) sono stati raccolti ed esaminati complessivamente 1.200 rametti di un anno (50 rametti/sito x 12 siti x 2 anni) sui quali sono stati contati complessivamente 4.624 germogli in accrescimento (media complessiva di 3,853 germogli/rametto). Sul totale, 1.680 germogli (pari al 36,33%) sono risultati infestati dal cinipide.

Il test del chi quadrato di Pearson ha evidenziato valori tali da rifiutare l'ipotesi nulla di indipendenza tra infestazione e anno di campionamento ($\chi^2 = 60,53$, $df = 1$, $P < 0,01$). La successiva comparazione basata sui residui standardizzati di Pearson ha evidenziato livelli di dipendenza diversi tra anno di campionamento e infestazione (tabella II). In particolare la presenza di germogli infestati nel 2016 è risultata significativamente più bassa rispetto al 2015.

Differenze significative in termini di infestazione media per rametto sono state riscontrate a livello di anno di campionamento ($F_{(1, 1127)} = 27,19$; $P < 0,001$), sito di campionamento ($F_{(11, 1127)} = 19,93$; $P < 0,001$) e interazione sito \times anno ($F_{(11, 1127)} = 13,72$; $P < 0,001$). Il tasso di infestazione annuo medio diminuisce passando dal valore di $37,52\% \pm 1,32\%$ nel 2015 al valore di $28,96\% \pm 1,43\%$ nel 2016 (media \pm errore standard).

Considerando ciascun anno singolarmente, nel 2015 il tasso di infestazione dei germogli varia dal $20,17\% \pm 3,76\%$ del sito n° 14 al $55,51\% \pm 4,92\%$ del sito di Mandaritzò, mentre nel 2016 varia dall' $1,40\% \pm 1,07\%$ del sito n° 1 al $67,50\% \pm 4,86\%$ del sito n° 5. Nella tabella III sono esposti i valori del tasso di infestazione dei rametti per ciascun sito nel 2015 e nel 2016 e le differenze significative tra siti entro anno di campionamento.

Dal confronto fra anni entro sito risulta che il tasso di infestazione diminuisce in sette siti ed aumenta in tre, Altuzia, Pratzia e Baladuru e sito n° 5. Nei rimanenti due, Nelca e sito n° 12, non varia in maniera significativa (differenze statisticamente significative sulla base dei confronti multipli di Tukey con $\alpha = 0,05$). Un tasso di infestazione pari o inferiore alla soglia di tolleranza del 30% è stato rilevato in 3 siti nel 2015 e in 6 siti nel 2016 (fig. 4).

Tabella II– Frequenze osservate ed attese nel numero di germogli infestati dal cinipide (tutti i siti di campionamento).

	Stato del rametto			
	Infestato		Indenne	
	Osservato	Atteso	Osservato	Atteso
2015	1029 (+)	902.13	1454 (-)	1580.87
2016	651 (-)	777.87	1490 (+)	1363.12

Tra parentesi i valori di dipendenza sulla base dei residui standardizzati di Pearson.

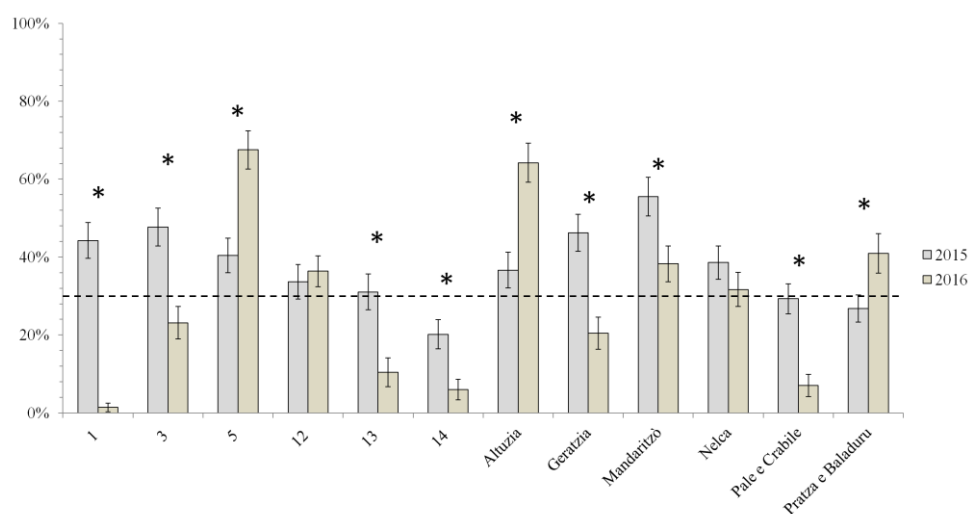


Figura 4 –Tasso di infestazione medio dei rametti da parte di *D. kuriphilus* per ciascun sito nel 2015 e nel 2016. Gli asterischi indicano valori significativamente diversi tra anni entro sito sulla base dei confronti multipli di Tukey ($\alpha = 0,05$). La linea tratteggiata indica la soglia di tolleranza del danno. Le barre indicano l'errore standard.

Ipotizzando che il valore del tasso di infestazione rilevato in un anno dipenda dell'attività di contenimento svolta dai parassitoidi nell'anno precedente, è stata calcolata la retta di regressione tra i valori percentuali del tasso di infestazione rilevati nel 2016 e i valori percentuali del tasso di parassitizzazione di *T. sinensis* rilevati nel 2015 negli stessi siti di campionamento (fig. 5).

Tabella III – Tasso di infestazione dei rametti (media \pm ES) da parte di *D. kuriphilus* per ciascun sito nel 2015 e nel 2016. Lettere diverse indicano valori significativamente diversi tra siti entro anno di campionamento sulla base dei confronti multipli di Tukey ($\alpha = 0,05$).

2015	Media \pm ES	Significatività
Mandaritzò	55,51% \pm 4,92%	a
n° 3	47,71% \pm 4,87%	a b
Geratzia	46,23% \pm 4,71%	a b
n° 1	44,25% \pm 4,57%	a b
n° 5	40,43% \pm 4,46%	a b
Nelca	38,57% \pm 4,31%	a b c
Altuzia	36,63% \pm 4,58%	a b c
n° 12	33,65% \pm 4,39%	b c
n° 13	31,06% \pm 4,61%	b c
Pale e Crabile	29,28% \pm 3,87%	b c
Pratza e Baladuru	26,77% \pm 3,50%	b c
n° 14	20,17% \pm 3,76%	c

2016	Media \pm ES	Significatività
n° 5	67,50% \pm 4,86%	a
Altuzia	64,18% \pm 5,02%	a
Pratza e Baladuru	40,97% \pm 5,05%	b
Mandaritzò	38,29% \pm 4,60%	b c
n° 12	36,37% \pm 3,97%	b c
Nelca	31,70% \pm 4,34%	b c
n° 3	23,13% \pm 4,17%	b c d
Geratzia	20,47% \pm 4,14%	c d
n° 13	10,43% \pm 3,74%	d e
Pale e Crabile	7,06% \pm 2,81%	d e
n° 14	6,00% \pm 2,64%	d e
n° 1	1,40% \pm 1,07%	e

La relazione tra questi due parametri indica una significativa riduzione del tasso di infestazione all'aumentare del tasso di parassitizzazione ($F_{1,10} = 9,951$, $P = 0,01$, $R^2 = 0,6494$).

La retta di regressione intercetta il valore soglia di infestazione del 30% quasi esattamente sul valore del 50%.

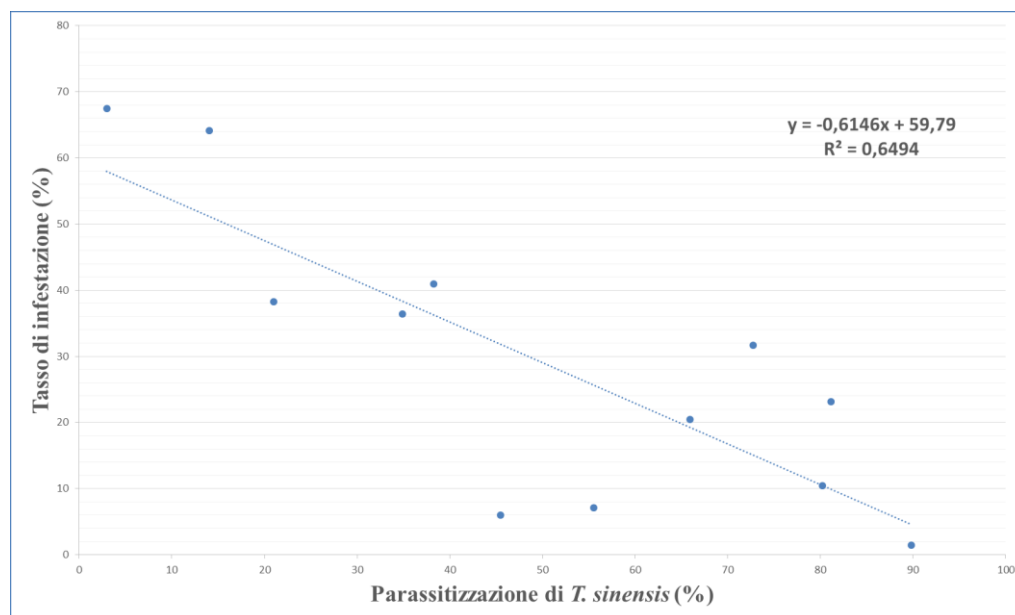


Figura 5 – Relazione lineare tra il tasso di parassitizzazione di *Torymus sinensis* rilevato nel 2015 ed il tasso di infestazione del cinipide rilevato nel 2016.

Indice di danno

Differenze significative in termini di indice di danno medio per rametto sono state riscontrate a livello di anno di campionamento ($F_{(1, 1127)} = 23,99$; $P < 0,001$), sito di campionamento ($F_{(11, 1127)} = 14,41$; $P < 0,001$) e interazione sito \times anno ($F_{(11, 1127)} = 9,11$; $P < 0,001$).

L'indice di danno annuo medio diminuisce passando dal valore di $0,107 \pm 0,007$ nel 2015 al valore di $0,080 \pm 0,007$ nel 2016 (media \pm errore standard).

Il range dell'indice di danno medio per sito entro anno va nel 2015 dallo $0,03 \pm 0,01$ del sito n° 14 allo $0,18 \pm 0,03$ del sito di Mandaritzò, mentre nel 2016 varia dallo $0,00 \pm 0,00$ del sito n° 1 allo $0,27 \pm 0,04$ del sito n° 5. Nella tabella IV sono esposti i valori dell'indice di danno dei rametti per ciascun sito nel 2015 e nel 2016 e le differenze significative tra siti entro anno di campionamento.

Tabella IV – Indice di danno dei rametti ($media \pm ES$) da parte di *D. kuriphilus* per ciascun sito nel 2015 e nel 2016. Lettere diverse indicano valori significativamente diversi tra siti entro anno di campionamento sulla base dei confronti multipli di Tukey ($\alpha = 0,05$).

2015	Media \pm ES	Significatività
Mandaritzò	0,18 \pm 0,03	a
Geratzia	0,16 \pm 0,03	a b
n° 3	0,13 \pm 0,03	a b
n° 5	0,13 \pm 0,02	a b
n° 1	0,11 \pm 0,02	a b
Altuzia	0,11 \pm 0,02	a b c
Nelca	0,11 \pm 0,02	a b c
Pale e Crabile	0,11 \pm 0,02	a b c
n° 13	0,08 \pm 0,02	b c
n° 12	0,07 \pm 0,02	b c
Pratza e Baladuru	0,07 \pm 0,02	b c
n° 14	0,03 \pm 0,01	c

2016	Media \pm ES	Significatività
n°5	0,27 \pm 0,04	a
Altuzia	0,20 \pm 0,03	a b
Pratza e Baladuru	0,11 \pm 0,03	b c
n°12	0,08 \pm 0,02	c d
Mandaritzò	0,08 \pm 0,02	c d
Nelca	0,08 \pm 0,02	c d e
Geratzia	0,05 \pm 0,02	c d e F
n°3	0,04 \pm 0,01	c d e F
n°13	0,02 \pm 0,01	d e F
Pale e Crabile	0,02 \pm 0,01	e F
n°14	0,01 \pm 0,00	F
n°1	0,00 \pm 0,00	F

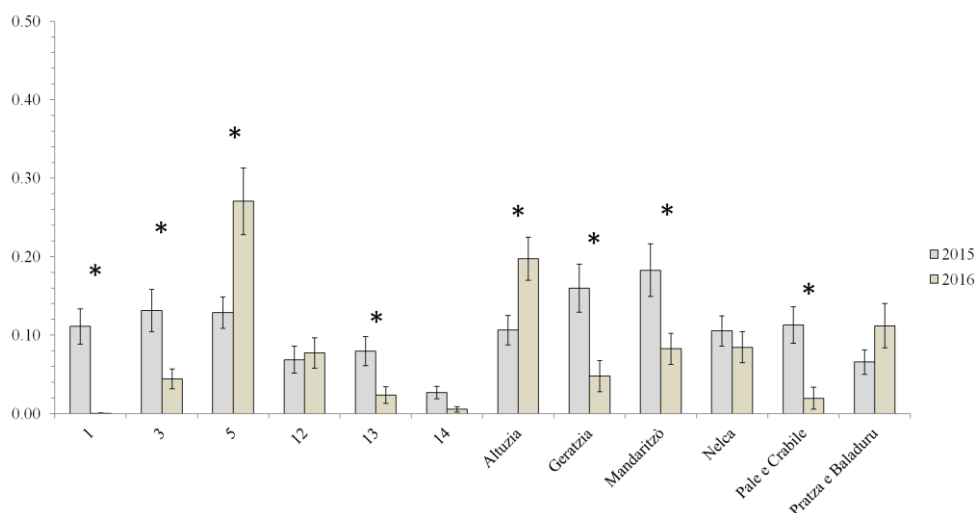


Figura 6 – Indice di danno medio per ciascun sito nel 2015 e nel 2016. Gli asterischi indicano valori significativamente diversi tra anni entro sito sulla base dei confronti multipli di Tukey ($\alpha = 0,05$). Le barre indicano l'errore standard.

Dal confronto fra anni entro sito risulta che l'indice di danno medio diminuisce in sei siti ed aumenta significativamente in due, Altuzia e sito n° 5. Nei rimanenti quattro siti, Nelca, Pratzia e Baladuru, sito n° 12 e sito n° 14, non varia significativamente (differenze statisticamente significative sulla base dei confronti multipli di Tukey con $\alpha = 0,05$) (fig. 6).

Frequenza tipologie di galle

Considerando tutti i siti nel loro complesso, dal conteggio e classificazione nelle quattro tipologie delle galle rinvenute nei rametti dell'anno, la galla fogliare è risultata quella più abbondante in ciascun anno di campionamento rappresentando oltre il 50% di tutte le galle raccolte, in particolare 54,8 e 57,4% rispettivamente nel 2015 e nel 2016 (fig. 7).

Il test del chi quadrato di Pearson ha evidenziato valori tali da rifiutare l'ipotesi nulla di indipendenza tra tipologia di galla e anno di campionamento ($\chi^2 = 29,93$, g.d.l. = 3, $P < 0,01$). La successiva comparazione basata sui residui standardizzati di Pearson ha evidenziato livelli di dipendenza diversi tra tipologia di galla e anno di campionamento (tabella V). In particolare sono state riscontrate frequenze maggiori rispetto a quelle attese di galle di tipo 2 e di galle di tipo 1 rispettivamente nel 2015 e nel 2016 ed una frequenza minore rispetto a quella attesa di galle di tipo 2 nel 2016.

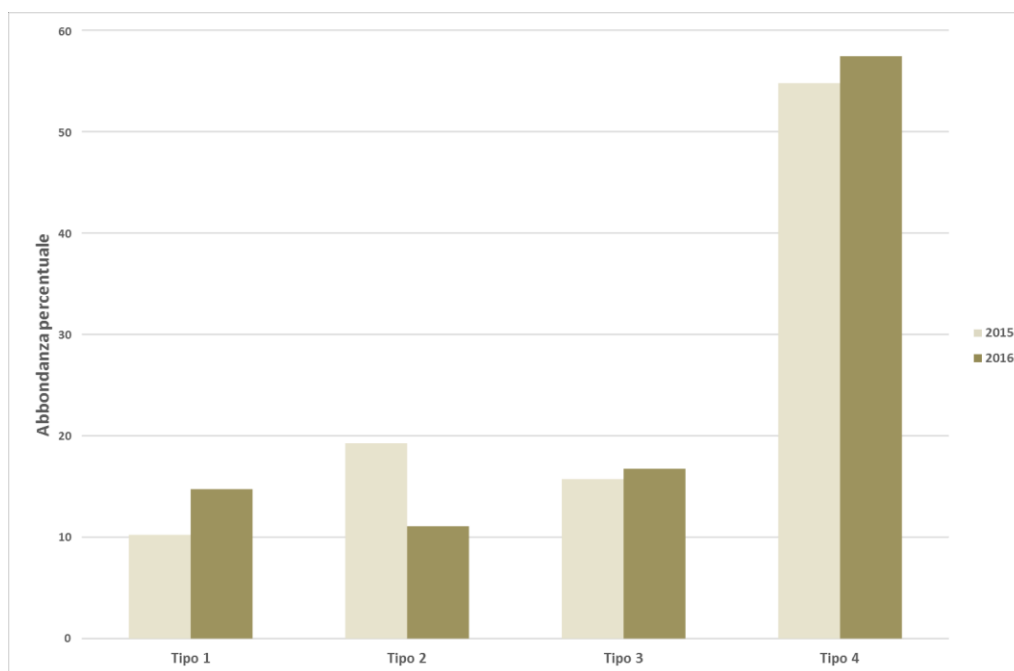


Figura 7 – Distribuzione percentuale delle quattro tipologie di galle raccolte nei 12 siti di campionamento negli anni 2015 e 2016.

Tabella V– Frequenze osservate ed attese nel numero di galle classificate secondo le 4 diverse tipologie di Aebi *et al.* (vedi testo) (tutti i siti di campionamento).

	Tipologia galla			
	Tipo 1		Tipo 2	
	Osservato	Atteso	Osservato	Atteso
2015	136 (nd)	158.38	256 (+)	215.34
2016	117 (+)	94.62	88 (-)	128.66

	Tipologia galla			
	Tipo 3		Tipo 4	
	Osservato	Atteso	Osservato	Atteso
2015	209 (nd)	214.09	728 (nd)	741.19
2016	133 (nd)	127.91	456 (nd)	442.81

Tra parentesi i valori di dipendenza sulla base dei residui standardizzati di Pearson.

Densità galle

Il numero di galle raccolte per “unità di sforzo” (cinque minuti) è stato calcolato per ben 7 anni consecutivi 2010-2016. Complessivamente sono state raccolte 13.248 galle. Il numero di galle raccolte in un tempo di 5 minuti è risultato significativamente differente tra gli anni di osservazione ($\chi^2=4029.2$, $df=6$, $p<0.01$).

Con l’eccezione del 2014, in cui il numero di galle ha avuto un temporaneo incremento, l’infestazione è costantemente e significativamente diminuita fino a stabilizzarsi nell’ultimo biennio su valori significativamente più bassi degli anni precedenti (tabella VI).

Tabella VI – Numero di galle raccolte per unità di sforzo (5 minuti di raccolta visiva) (media* \pm ES) nei sette siti non sede di rilascio di *Torymus sinensis*. *Lettere diverse indicano valori significativamente diversi tra siti entro anno di campionamento sulla base dei confronti multipli di Tukey ($\alpha = 0,05$).

Anno	Media \pm ES
2010	530,43 ^a \pm 130,08
2011	386,57 ^b \pm 84,80
2012	262,86 ^d \pm 42,58
2013	218,43 ^e \pm 26,56
2014	312,71 ^c \pm 37,64
2015	92,00 ^f \pm 31,40
2016	89,57 ^f \pm 30,82

Numero di celle per galla

Per valutare il numero di celle sono state esaminate 6.420 galle, un numero di poco inferiore al totale di quelle raccolte nei 5 anni di indagine. Complessivamente sono state contate poco più di 20.500 celle.

Il numero massimo di celle per galla che è variato tra 11 nel 2014 e 18 nel 2016 (negli altri anni si sono registrati valori massimi intermedi). La percentuale di galle con solo una o due celle è stata rispettivamente del 42,9% (su un totale di 1.144 galle) nel 2012, 37,3% (su un totale di 1.206 galle) nel 2013, 44,3% (su un totale di 1.260 galle)

nel 2014, 50,6% (su un totale di 480 galle) nel 2015 e 48,8% (su un totale di 2.330 galle) nel 2016.

Il test del chi quadrato di Pearson ha evidenziato valori tali da rifiutare l'ipotesi nulla di indipendenza tra la percentuale di galle con 1 o 2 celle e l'anno di campionamento ($\chi^2 = 50,38$, $df = 4$, $P < 0,01$). La successiva comparazione basata sui residui standardizzati di Pearson ha evidenziato livelli di dipendenza diversi tra percentuale di galle con 1 o 2 celle e anno di campionamento. In particolare la frequenza di galle con una o due celle nel 2016 è risultata significativamente più alta rispetto a quella attesa (tabella VII).

Il numero medio di celle per galla ha mostrato differenze significative tra gli anni di osservazione ($F_{4,37}=8.09$, $p<0.001$). In particolare è aumentato (media \pm ES) non significativamente da $3,4\pm 0,13$ nel 2012 a $3,8\pm 0,15$ nel 2013 per poi diminuire in modo significativo a $3,2\pm 0,13$ nel 2014, $2,9\pm 0,15$ nel 2015 e $2,8\pm 0,12$ nel 2016 (fig. 8).

Tabella VII – Frequenze osservate ed attese nel numero di galle con diverso numero di celle (tutti i siti di campionamento).

	Tipo di galla			
	con 1-2 celle		con 3 o più celle	
	Osservato	Atteso	Osservato	Atteso
2012	491 (nd)	513,0	653 (nd)	631,0
2013	450 (-)	540,8	756 (+)	665,2
2014	559 (nd)	565,0	701 (nd)	695,0
2015	243 (nd)	215,3	237 (nd)	264,7
2016	1136 (+)	1044,9	1194 (-)	1285,1

Tra parentesi i valori di dipendenza sulla base dei residui standardizzati di Pearson.

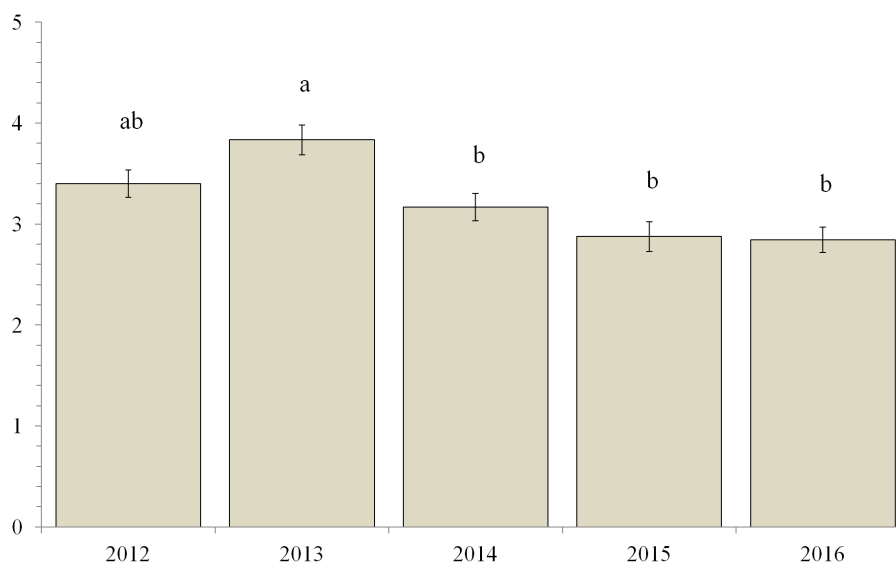


Figura 8 – Andamento del numero medio di celle per galla nei 5 anni di indagine. Lettere diverse indicano valori significativamente diversi sulla base dei confronti multipli di Tukey ($\alpha = 0,05$).

Contenuto delle galle

L'analisi dei dati del contenuto delle celle ha evidenziato differenze significative tra campionamenti, tra anni e nell'interazione campionamento \times anno (tabella VIII).

L'abbondanza, espressa come percentuale media per galla di celle occupate singolarmente da larva, pupa o adulto di *D. kuriphilus* o da larva, pupa o adulto di un parassitoide, per ciascun campionamento nei quattro anni di indagine, è raffigurata in figura 9. I dati relativi ai parassitoidi comprendono sia le specie autoctone che il parassitoide esotico eventualmente arrivato per diffusione naturale dai siti di rilascio. Le celle occupate contemporaneamente dalla larva di un parassitoide e da uno dei tre stadi di sviluppo del fitofago costituiscono una piccolissima frazione e non sono mostrate in figura.

D. kuriphilus è presente nelle galle allo stadio di larva nei primi due campionamenti (primi tre nel 2013), per poi diminuire drasticamente sino a sparire a partire dal quarto o quinto campionamento (fig. 9A).

Tabella VIII – Risultati dei test ANOVA sui modelli LMM relativi al contenuto delle celle di galle raccolte in sei campionamenti tra fine maggio e fine luglio-primi di agosto negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016 nei siti nei quali non è stato introdotto *T. sinensis*.

Contenuto cella	Campionamento	Anno	Campion.xAnno
	F _{5, 4274} (P)	F _{3, 4274} (P)	F _{15, 4274} (P)
Larva di cinipide	1361,0 (<0,01)	469,13 (<0,01)	127,34 (<0,01)
Pupa di cinipide	238,79 (<0,01)	157,16 (<0,01)	88,17 (<0,01)
Adulto di cinipide	170,30(<0,01)	72,48 (<0,01)	51,66 (<0,01)
Larva di parassitoide	6,41 (<0,01)	426,38 (<0,01)	4,47 (<0,01)
Pupa di parassitoide	19,08 (<0,01)	75,36 (<0,01)	9,37 (<0,01)
Adulto di parassitoide	13,82 (<0,01)	51,97 (<0,01)	4,51 (<0,01)
Par. su larva di cinipide ^a	27,80,0 (<0,01)	22,88 (<0,01)	9,54 (<0,01)
Par. su pupa di cinipide ^a	6,49 (<0,01)	5,06 (<0,01)	3,72 (<0,01)
Par. su cinipide adulto ^a	13,23 (<0,01)	12,77 (<0,01)	11,28 (<0,01)
Cinipide ^b	435,90 (<0,01)	1029,87 (<0,01)	48,24 (<0,01)
Parassitoide ^c	15,68 (<0,01)	407,14 (<0,01)	13,19 (<0,01)

^a Parassitoide allo stadio di larva

^b Somma delle celle contenenti il cinipide allo stadio di larva, pupa e adulto

^c Somma delle celle contenenti il parassitoide da solo allo stadio di larva, pupa e adulto e il parassitoide su larva, pupa e adulto di cinipide.

La pupa di *D. kuriphilus* fa registrare il picco di presenza nel terzo campionamento (quarto nel 2013) (fig. 9 B). Il picco di presenza del fitofago allo stato adulto (esemplari prossimi allo sfarfallamento) si registra nel quinto campionamento (quarto nel 2012) (fig. 9 C).

L'andamento della presenza dei diversi stadi vitali dei parassitoidi non mostra picchi di rilievo durante tutto il periodo di campionamento (fig. 9 D, E, F). Evidentemente la contemporanea presenza di diverse specie a diversa fenologia nasconde e compensa i loro diversi cicli.

Nella tabella IX vengono riportati i valori medi di occupazione delle celle per galla da tutti gli stadi del cinipide e dei parassitoidi in ciascun campionamento nei quattro anni di indagine. Sono inoltre evidenziate le differenze significative tra anni entro un campionamento.

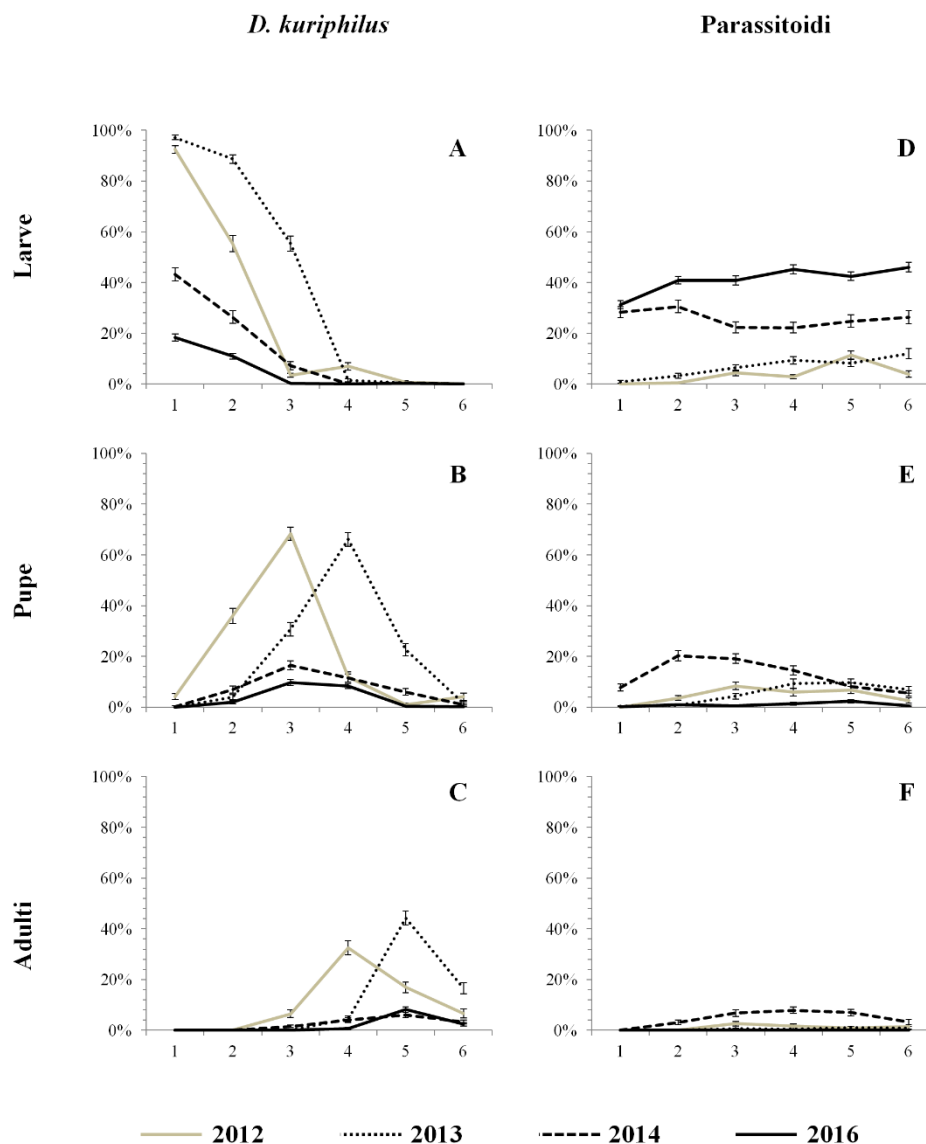


Figura 9 – Abbondanza e andamento del contenuto delle celle di galle raccolte in sei campionamenti negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016. I valori sono espressi come percentuale media per galla di celle occupate singolarmente da larva (A), pupa (B) o adulto (C) di *D. kuriphilus* o da larva (D), pupa (E) o adulto (F) di parassitoidi. [Le barre indicano l'errore standard percentuale.]

Tabella IX – Valori medi per galla e per campionamento di celle occupate singolarmente da larva, pupa o adulto di *D. kuriphilus* o da larva, pupa o adulto di parassitoidi di galle raccolte in sei campionamenti negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016. Media ed Errore standard sono espressi in percentuale, tra parentesi il numero di dati utilizzati. Lettere diverse sulla riga indicano valori significativamente diversi entro campionamento fra anni (test di Tukey $\alpha = 0,05$).

	Campionamento	2012	2013	2014	2016	
		M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	
<i>D. kuriphilus</i>	Larva	1	92,2 \pm 1,5 (210) a	97,1 \pm 0,9 (210) a	43,2 \pm 2,6 (250) b	18,3 \pm 1,4 (300) c
		2	55,4 \pm 3,1 (210) b	88,7 \pm 1,7 (180) a	26,4 \pm 2,5 (210) c	11,0 \pm 1,1 (400) d
		3	3,4 \pm 0,8 (210) b	55,3 \pm 3,0 (210) a	7,2 \pm 1,5 (210) b	0,2 \pm 0,2 (280) c
		4	6,9 \pm 1,5 (210) a	1,5 \pm 0,5 (210) ab	0,2 \pm 0,1 (210) b	0,0 \pm 0,0 (270) b
		5	0,7 \pm 0,5 (181) a	0,4 \pm 0,3 (204) a	0,5 \pm 0,5 (210) a	0,2 \pm 0,2 (270) a
		6	0,0 \pm 0,0 (127) a	0,0 \pm 0,0 (192) a	0,0 \pm 0,0 (210) a	0,0 \pm 0,0 (270) a
	Pupa	1	4,2 \pm 1,2 (210) a	0,0 \pm 0,0 (210) a	0,3 \pm 0,2 (250) a	0,0 \pm 0,0 (300) a
		2	36,0 \pm 3,0 (210) a	4,0 \pm 1,0 (180) b	6,9 \pm 1,4 (210) b	2,0 \pm 0,5 (400) b
		3	68,3 \pm 2,6 (210) a	30,7 \pm 2,7 (210) b	16,5 \pm 1,7 (210) c	9,7 \pm 1,2 (280) c
		4	11,9 \pm 2,0 (210) b	66,1 \pm 2,6 (210) a	11,6 \pm 1,6 (210) b	8,3 \pm 1,0 (270) b
		5	0,9 \pm 0,6 (181) b	22,7 \pm 2,4 (204) a	6,0 \pm 1,3 (210) b	0,5 \pm 0,3 (270) b
		6	4,1 \pm 1,4 (127) a	1,7 \pm 0,7 (192) a	1,0 \pm 0,6 (210) a	0,2 \pm 0,1 (270) a
	Adulto	1	0,0 \pm 0,0 (210) a	0,0 \pm 0,0 (210) a	0,0 \pm 0,0 (250) a	0,0 \pm 0,0 (300) a
		2	0,0 \pm 0,0 (210) a	0,0 \pm 0,0 (180) a	0,1 \pm 0,1 (210) a	0,0 \pm 0,0 (400) a
		3	6,5 \pm 1,5 (210) a	0,1 \pm 0,1 (210) b	1,5 \pm 0,5 (210) b	0,0 \pm 0,0 (280) b
		4	32,5 \pm 2,7 (210) a	4,6 \pm 1,0 (210) b	4,0 \pm 0,9 (210) b	0,7 \pm 0,3 (270) b
		5	17,0 \pm 2,1 (181) b	44,2 \pm 2,8 (204) a	6,1 \pm 1,0 (210) c	8,2 \pm 1,1 (270) b
		6	6,6 \pm 1,8 (127) b	16,6 \pm 2,2 (192) a	3,2 \pm 0,8 (210) b	2,5 \pm 0,7 (270) b
Parassitoidi	Larva	1	0,2 \pm 0,2 (210) c	0,8 \pm 0,5 (210) c	28,3 \pm 2,2 (250) b	31,3 \pm 1,5 (300) a
		2	0,5 \pm 0,2 (210) c	3,3 \pm 1,0 (180) c	30,5 \pm 2,5 (210) b	40,9 \pm 1,5 (400) a
		3	4,4 \pm 1,1 (210) c	6,4 \pm 1,2 (210) c	22,4 \pm 2,2 (210) b	40,8 \pm 1,8 (280) a
		4	2,8 \pm 0,8 (210) c	9,3 \pm 1,5 (210) c	22,2 \pm 2,1 (210) b	45,1 \pm 1,8 (270) a
		5	11,4 \pm 1,7 (181) d	8,3 \pm 1,4 (204) c	24,8 \pm 2,5 (210) b	42,5 \pm 1,7 (270) a
		6	3,9 \pm 1,3 (127) d	12,0 \pm 1,9 (192) c	26,4 \pm 2,6 (210) b	46,1 \pm 1,9 (270) a
	Pupa	1	0,0 \pm 0,0 (210) b	0,3 \pm 0,2 (210) b	7,7 \pm 1,4 (250) a	0,1 \pm 0,1 (300) b
		2	3,6 \pm 0,9 (210) b	0,9 \pm 0,4 (180) b	20,2 \pm 1,9 (210) a	1,0 \pm 0,4 (400) b
		3	8,4 \pm 1,5 (210) b	4,3 \pm 1,2 (210) ab	19,2 \pm 1,9 (210) a	0,7 \pm 0,3 (280) c
		4	5,9 \pm 1,4 (210) b	9,3 \pm 1,7 (210) ab	14,6 \pm 1,8 (210) a	1,3 \pm 0,5 (270) c
		5	6,8 \pm 1,3 (181) a	9,7 \pm 1,5 (204) a	8,2 \pm 1,3 (210) a	2,3 \pm 0,6 (270) a
		6	2,7 \pm 1,1 (127) a	6,9 \pm 1,3 (192) a	5,5 \pm 1,1 (210) a	0,5 \pm 0,3 (270) a
	Adulto	1	0,0 \pm 0,0 (210) a	0,0 \pm 0,0 (210) a	0,0 \pm 0,0 (250) a	0,0 \pm 0,0 (300) a
		2	0,0 \pm 0,0 (210) b	0,0 \pm 0,0 (180) b	3,2 \pm 1,0 (210) a	0,0 \pm 0,0 (400) b
		3	2,6 \pm 0,9 (210) b	0,6 \pm 0,3 (210) b	6,8 \pm 1,3 (210) a	0,0 \pm 0,0 (280) b
		4	1,8 \pm 0,8 (210) b	0,6 \pm 0,5 (210) b	7,9 \pm 1,3 (210) a	0,0 \pm 0,0 (270) b
		5	0,8 \pm 0,4 (181) b	1,1 \pm 0,4 (204) b	7,0 \pm 1,4 (210) a	0,1 \pm 0,1 (270) b
		6	1,5 \pm 0,9 (127) a	1,0 \pm 0,6 (192) a	3,3 \pm 0,9 (210) a	0,0 \pm 0,0 (270) a

Considerando complessivamente tutti i campionamenti di un anno, il cinipide allo stato di larva raggiunge il massimo di presenza, con poco più del 40% di celle occupate per galla, nel 2013, i valori di 2012, 2014 e 2016 risultano ciascuno significativamente minore dei precedenti nell'ordine. Allo stadio di pupa ed adulto invece il fitofago risulta significativamente più abbondante nel primo biennio rispetto al secondo (tabella X).

I parassitoidi nello stadio larvale mostrano invece il minimo di presenza nelle galle nel 2012 con una percentuale di poco inferiore al 4%. I valori degli anni successivi sono risultati significativamente maggiori ciascuno rispetto agli anni precedenti, fino ad arrivare a sfiorare il 41% nel 2016. Negli stadi di pupa e adulto invece, i parassitoidi raggiungono il picco di presenze nel 2014 con valori significativamente maggiori dei rimanenti anni, ed il minimo nel 2016 in cui sono però significativamente minori solo le pupe (tabella X).

Tabella X – Valori medi per galla e per campionamento di celle occupate da *D. kuriphilus* in qualsiasi stadio di sviluppo o da parassitoidi in qualsiasi stadio di sviluppo, di galle raccolte in sei campionamenti negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016. Media ed Errore standard sono espressi in percentuale, tra parentesi il numero di dati utilizzati. Lettere diverse sulla riga indicano valori significativamente diversi entro campionamento fra anni (test di Tukey $\alpha = 0,05$).

		2012	2013	2014	2016
		M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)
<i>D. kuriphilus</i>	Larva	29,1 \pm 1,3 (1148) b	40,1 \pm 1,3 (1206) a	13,8 \pm 0,8 (1300) c	5,6 \pm 0,4 (1790) d
	Pupa	22,6 \pm 1,1 (1148) a	21,6 \pm 1,0 (1206) a	6,8 \pm 0,5 (1300) b	3,3 \pm 0,3 (1790) b
	Adulto	10,5 \pm 0,8 (1148) a	10,9 \pm 0,8 (1206) a	2,4 \pm 0,3 (1300) b	1,7 \pm 0,2 (1790) b
Parassitoidi	Larva	3,7 \pm 0,4 (1148) d	6,7 \pm 0,6 (1206) c	25,8 \pm 0,9(1300) b	40,9 \pm 0,7 (1790) a
	Pupa	4,6 \pm 0,5 (1148) b	5,3 \pm 0,5 (1206) b	12,4 \pm 0,7 (1300) a	1,0 \pm 0,2 (1790) c
	Adulto	1,1 \pm 0,2 (1148) b	0,6 \pm 0,2 (1206) b	4,5 \pm 0,4 (1300) a	0,0 \pm 0,0 (1790) b

Considerando complessivamente tutti gli stadi vitali del fitofago e dei parassitoidi per ciascun campionamento, si ottiene l'andamento mostrato nella figura 10. In tabella XI sono invece riportati i valori puntuali e l'analisi statistica dei dati. In questo caso, nella categoria parassitoidi, vengono prese in considerazione non solo le larve presenti singolarmente nelle celle, ma anche quelle trovate contemporaneamente a larva, pupa o adulto del fitofago.

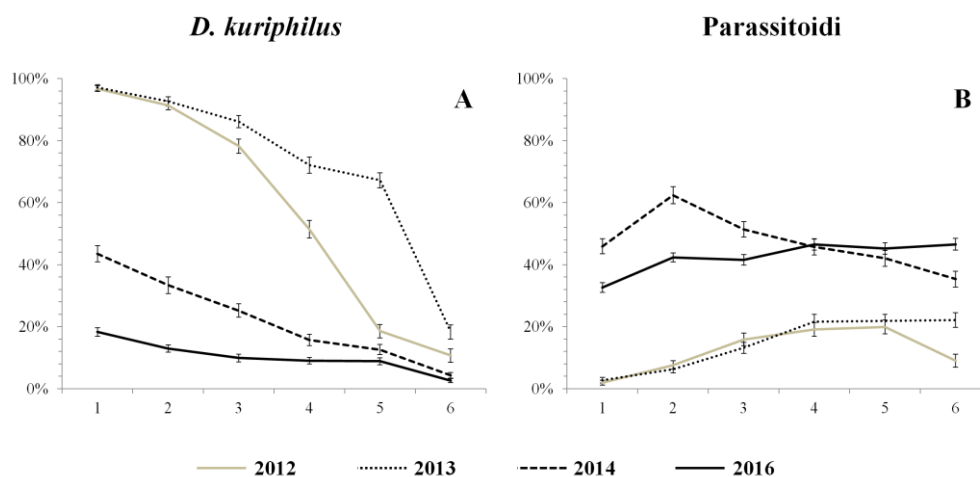


Figura 10 – Abbondanza e andamento del contenuto delle celle di galle raccolte in sei campionamenti negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016. I valori sono espressi come percentuale media per galla e per campionamento di celle occupate da *D. kuriphilus* (A), in qualsiasi stadio di sviluppo, o da parassitoidi (B), in qualsiasi stadio di sviluppo sia soli che su ciascuno dei tre stadi del fitofago. [Le barre indicano l'errore standard percentuale.]

Il massimo di presenza di *D. kuriphilus* si registra in tutti i campionamenti del 2013, con valori significativamente più alti negli ultimi 4. I valori minimi sono invece del 2016 con differenze statisticamente significative nei primi tre campionamenti.

I parassitoidi raggiungono il massimo di occupazione nei primi tre campionamenti del 2014, con valori statisticamente significativi. Negli ultimi tre campionamenti invece i valori maggiori si registrano nel 2016, significativamente maggiore però solo nel sesto ed ultimo campionamento.

Anche considerando i dati aggregati (tabella XII) la percentuale di celle occupate dal fitofago ha raggiunto il valore maggiore, quasi il 73%, nel 2013 ed il valore minore, quasi l'11%, nel 2016. I parassitoidi hanno invece fatto registrare i valori più alto nel 2014, circa il 47%, e nel 2016, circa il 42%, significativamente diversi tra loro e rispetto al primo biennio che ha registrato valori più bassi, tra il 12 ed il 15%, non differenti significativamente tra loro.

Tabella XI – Valori medi per galla e per campionamento di celle occupate da *D. kuriphilus* in qualsiasi stadio di sviluppo o da parassitoidi in qualsiasi stadio di sviluppo sia soli che su ciascuno dei tre stadi del fitofago, di galle raccolte in sei campionamenti negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016. Media ed Errore standard sono espressi in percentuale, tra parentesi il numero di dati utilizzati. Lettere diverse sulla riga indicano valori significativamente diversi entro campionamento fra anni (test di Tukey $\alpha = 0,05$).

	Campione	2012	2013	2014	2016
		M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)
<i>D. kuriphilus</i>	1	96,7 \pm 0,9 (210) a	97,1 \pm 0,9 (210) a	43,5 \pm 2,6 (250) b	18,3 \pm 1,4 (300) c
	2	91,3 \pm 1,4 (210) a	92,7 \pm 1,5 (180) a	33,4 \pm 2,7 (210) b	12,9 \pm 1,2 (400) c
	3	78,2 \pm 2,3 (210) b	86,1 \pm 1,9 (210) a	25,2 \pm 2,1 (210) c	9,9 \pm 1,2 (280) d
	4	51,4 \pm 2,8 (210) b	72,1 \pm 2,6 (210) a	15,7 \pm 1,8 (210) c	9,0 \pm 1,0 (270) c
	5	18,5 \pm 2,2 (181) b	67,2 \pm 2,5 (204) a	12,6 \pm 1,6 (210) b	8,8 \pm 1,1 (270) b
	6	10,7 \pm 2,2 (127) b	18,3 \pm 2,3 (192) a	4,3 \pm 1,0 (210) b	2,6 \pm 0,7 (270) b
Parassitoidi	1	1,9 \pm 0,8 (210) c	2,7 \pm 0,9 (210) c	45,9 \pm 2,4 (250) a	32,7 \pm 1,6 (300) b
	2	7,6 \pm 1,4 (210) c	6,3 \pm 1,3 (180) c	62,4 \pm 2,8 (210) a	42,3 \pm 1,5 (400) b
	3	15,9 \pm 2,0 (210) c	13,2 \pm 1,8 (210) c	51,4 \pm 2,5 (210) a	41,6 \pm 1,8 (280) b
	4	19,2 \pm 2,2(210) b	21,6 \pm 2,4 (210) b	45,7 \pm 2,5 (210) a	46,5 \pm 1,8 (270) a
	5	19,2 \pm 2,2 (181) b	21,9 \pm 2,1 (204) b	42,0 \pm 2,6 (210) a	45,2 \pm 1,8 (270) a
	6	9,1 \pm 2,1 (127) d	22,1 \pm 2,4 (192) c	35,3 \pm 2,6 (210) b	46,6 \pm 1,9 (270) a

Tabella XII – Valori medi per galla e per anno di campionamento di celle occupate da *D. kuriphilus* in qualsiasi stadio di sviluppo o da parassitoidi in qualsiasi stadio di sviluppo sia soli che su ciascuno tre stadi del fitofago, di galle raccolte in sei campionamenti negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016. Media ed Errore standard sono espressi in percentuale, tra parentesi il numero di dati utilizzati. Lettere diverse sulla riga indicano valori significativamente diversi entro campionamento fra anni (test di Tukey $\alpha = 0,05$).

	2012	2013	2014	2016
	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)	M \pm ES (n dati)
<i>D. kuriphilus</i>	62,2 \pm 1,3 (1148) b	72,6 \pm 1,1 (1206) a	23,1 \pm 0,9 (1300) c	10,6 \pm 0,5 (1790) d
Parassitoidi	12,3 \pm 0,8 (1148) c	14,7 \pm 0,8 (1206) c	47,1 \pm 1,1 (1300) a	42,3 \pm 0,7 (1790) b

Parassitoidi autoctoni e *Torymus sinensis*

Nei primi tre anni di indagine sono stati raccolti complessivamente 2.811 esemplari di parassitoidi (410 nel 2012, 567 nel 2013 e 1.834 nel 2014), di questi 2.379, pari al 84,6%, sono stati sottoposti ad identificazione molecolare. La parte rimanente è rappresentata da larve troppo piccole per essere sottoposte alle metodiche di estrazione adottate (171 pari al 6,1% del totale) o da materiale danneggiato o smarrito (261 pari al 9,3% del totale) durante il sezionamento delle galle.

L'analisi biomolecolare completa (estrazione, amplificazione, sequenziamento) è riuscita su 1.539 campioni pari al 64,7% del totale. Le analisi venivano eseguite, in relazione alla strumentazione disponibile, in "batterie" di 12 campioni. La distribuzione degli insuccessi all'interno delle 214 batterie "complete" (con tutti i 12 campioni presenti) corrisponde sufficientemente bene ad una distribuzione di Poisson [quando la media risulta più o meno pari alla varianza, si può ragionevolmente supporre che la distribuzione si riferisca al modello casuale di Poisson (Scossiroli *et al.*, 1974)]. Questo sembra comportare che gli insuccessi siano dovuti ad errori casuali e non sistematici e che quindi i dati non vengano distorti.

Una identificazione specifica è stata possibile per 1.502 delle 1.539 sequenze ottenute. Le rimanenti 37 sono risultate o troppo corte (problemi di sequenziamento dovuti a debole amplificazione) o inquinate da DNA di altri organismi, per lo più Rickettsiaceae del genere *Wolbachia*.

Nell'ultimo anno di indagini (2016) sono stati raccolti 1.896 esemplari di parassitoidi, che sono stati distinti su base morfologica tra appartenenti a *T. sinensis* ed appartenenti ad altre specie autoctone. Solamente per 22 (1,16%) non è stato possibile applicare questa distinzione in quanto si trattava di larve, raccolte nella prima parte della stagione, troppo piccole per poterle attribuire con certezza a specie autoctona o esotica. Questo è valido nel periodo in cui le larve potevano essere ancora piccole o immature. Già ad inizio estate le larve piccole venivano ascritte a specie autoctona in quanto *T. sinensis* risultava ormai presente solo con larve mature in diapausa. Tutte le identificazioni molecolari eseguite su un campione di esemplari per validare l'identificazione morfologica ne hanno confermato l'esattezza.

Tutti i parassitoidi raccolti nei 4 anni di studio, sono stati quindi suddivisi nelle tre seguenti categorie:

1) parassitoidi autoctoni – Le identificazioni specifiche con metodo biomolecolare travalicano gli scopi di questo lavoro e non sono state qui utilizzate. In questa categoria sono quindi ricomprese tutte le specie autoctone.

2) *Torymus sinensis* – Viste le modalità di campionamento e la biologia della specie, questa è stata sempre e solo rilevata allo stadio larvale.

3) parassitoidi non identificati – Sono qui compresi gli esemplari per i quali l'identificazione biomolecolare non è riuscita o non è stata possibile, così come gli esemplari che non è stato possibile attribuire morfologicamente alle due categorie precedenti. In questa categoria possono essere presenti sia specie autoctone che la specie esotica.

L'analisi dei dati ha evidenziato differenze significative in termini di percentuali medie di celle occupate da parassitoidi, appartenenti ad una delle tre categorie (come sopra definite), calcolata sul totale di galle contenenti parassitoidi, tra campionamenti, tra anni e nell'interazione campionamento \times anno (tabella XIII).

Tabella XIII – Risultati dei test ANOVA sui modelli LMM relativi alle percentuali medie di celle occupate da una delle tre categorie di parassitoidi calcolate sul totale di galle contenenti parassitoidi e raccolte in sei campionamenti tra fine maggio e fine luglio-primi di agosto negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016 nei siti nei quali non è stato introdotto *T. sinensis*.

Parassitoide	Campione F 5, 1975 (P)	Anno F 3, 1975 (P)	Campione \times Anno F 15, 1975 (P)
Autoctoni	5,14 (<0,01)	245,14 (<0,01)	10,70 (<0,01)
<i>Torymus sinensis</i>	5,2 (<0,01)	2143,56 (<0,01)	5,06 (<0,01)
Non identificati	3,50 (<0,01)	121,26 (<0,01)	6,56 (<0,01)

Dal confronto delle percentuali medie di celle che contenevano una delle tre categorie di parassitoidi (come sopra definite) sul totale di galle contenenti parassitoidi, tra campionamenti entro anno risulta che i parassitoidi autoctoni fanno registrare i massimi valori negli ultimi campionamenti del 2012 e 2013.

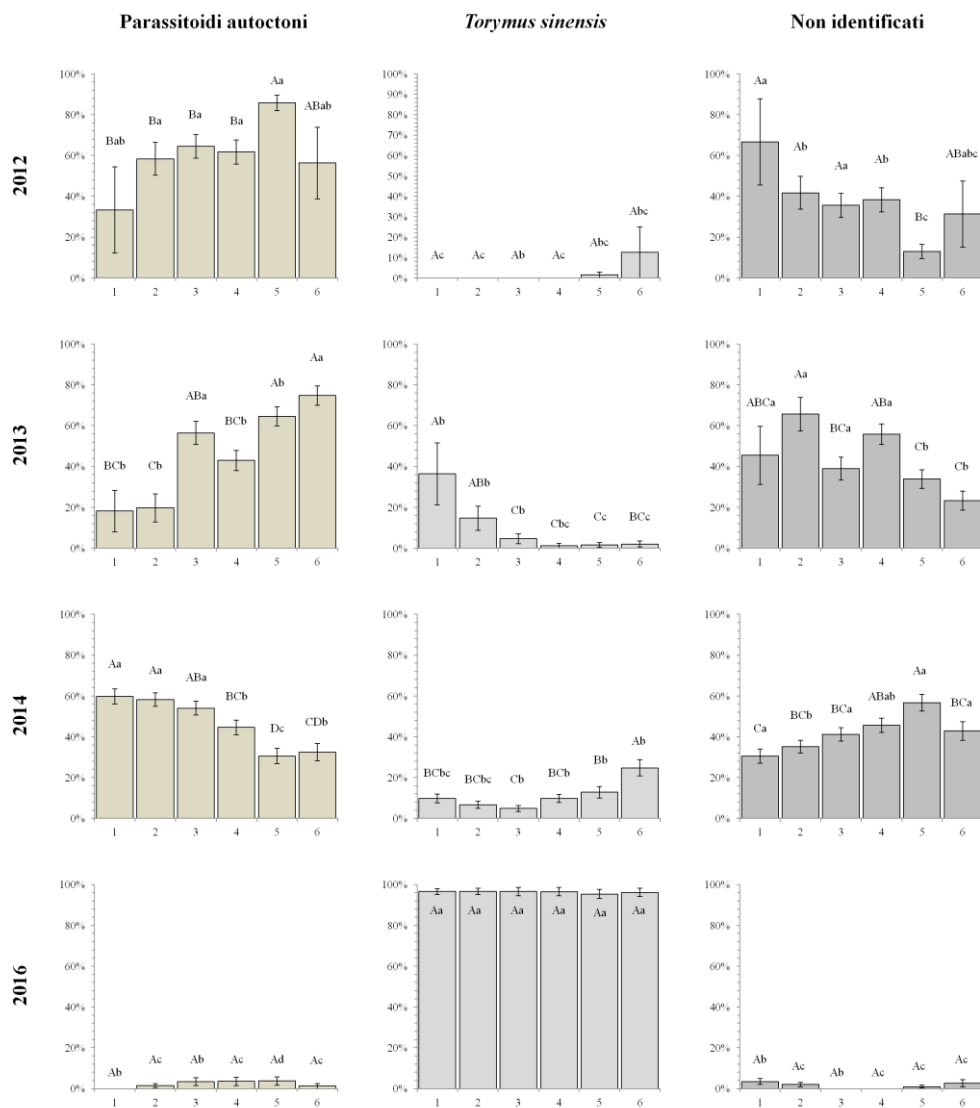


Figura 11 – Andamento delle percentuali medie di celle contenenti una delle tre categorie di parassitoidi calcolato sul totale di galle contenenti parassitoidi e raccolte in sei campionamenti negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016. Per ogni categoria di parassitoide, lettere maiuscole diverse indicano valori significativamente diversi fra campionamenti entro anno mentre lettere minuscole diverse indicano valori significativamente diversi tra anni entro campionamento; test di Tukey ($\alpha=0.05$). [Le barre indicano l'errore standard percentuale.]

Tabella XIV – Percentuali medie di celle contenenti una delle tre categorie di parassitoidi calcolate sul totale di galle contenenti parassitoidi e raccolte in sei campionamenti tra fine maggio e fine luglio-primi di agosto negli anni 2012, 2013, 2014 e 2016 nei siti nei quali non è stato introdotto *T. sinensis*.

Campioni	2012	2013	2014	2016	
	M ± ES (n dati)	M ± ES (n dati)	M ± ES (n dati)	M ± ES (n dati)	
Autoctoni*	1	33,3±21,1 (6)	18,2±10,2 (11)	59,8±3,7 (137)	0,0±0,0 (97)
	2	58,3±8,1 (36)	19,7±6,9 (33)	58,2±3,2 (158)	1,5±1,0 (136)
	3	64,5±5,8 (65)	56,5±5,7 (62)	54,0±3,4 (163)	3,4±2,0 (87)
	4	61,7±5,9 (64)	43,0±5,0 (83)	44,6±3,6 (141)	3,5±2,0 (85)
	5	85,7±3,7 (70)	64,6±4,6 (95)	30,5±3,8 (124)	3,7±2,1 (81)
	6	56,3±17,5 (8)	74,7±4,8 (74)	32,5±4,3 (108)	1,2±1,2 (82)
<i>T. sinensis</i>	1	0,0±0,0 (6)	36,4±15,2 (11)	9,7±2,1 (137)	96,6±1,5 (97)
	2	0,0±0,0 (36)	14,6±5,9 (33)	6,7±1,7 (158)	96,6±1,5 (136)
	3	0,0±0,0 (65)	4,6±2,4 (62)	4,8±1,4 (163)	96,6±2,0 (87)
	4	0,0±0,0 (64)	1,2±1,2 (83)	9,8±1,9 (141)	96,5±2,0 (85)
	5	1,4±1,4 (70)	1,6±1,2 (95)	12,8±2,8 (124)	95,4±2,2 (81)
	6	12,5±12,5 (8)	2,0±1,5 (74)	24,7±4,0 (108)	96,1±2,1 (82)
Non identificati	1	66,7±21,1 (6)	45,5±14,2 (11)	30,5±3,4 (137)	3,4±1,5 (97)
	2	41,7±8,1 (36)	65,7±8,3 (33)	35,1±3,2 (158)	2,0±1,1 (136)
	3	35,5±5,8 (65)	39,0±5,6 (62)	41,2±3,3 (163)	0,0±0,0 (87)
	4	38,3±5,9 (64)	55,8±5,0 (83)	45,6±3,5 (141)	0,0±0,0 (85)
	5	12,9±3,5 (70)	33,8±4,6 (95)	56,7±4,1 (124)	0,9±0,7 (81)
	6	31,3±16,2 (8)	23,3±4,6 (74)	42,8±4,5 (108)	2,6±1,7 (82)

Nel 2014 la parassitizzazione ad opera delle specie indigene è invece massima ad inizio stagione. Nel 2016 non sono state rilevate differenze significative tra i sei campionamenti e il valore massimo registrato è quasi del 4%. Valori puntuali e significatività delle differenze si trovano in figura 11 e tabella XIV.

Nel 2012 *T. sinensis* non mostra differenze significative nelle percentuali di parassitizzazione fra campionamenti; il valore massimo registrato è comunque quello del sesto ed ultimo campionamento. Nel 2013 la percentuale di parassitizzazione è significativamente maggiore nei primi due campionamenti rispetto agli ultimi quattro. Nel 2014 il valore maggiore di parassitizzazione rilevato nel sesto campionamento è risultato significativamente superiore a quelli di tutti gli altri campionamenti. Nel 2016 *T. sinensis* monopolizza le galle del cinipide raggiungendo percentuali medie di

parassitizzazione per galla non differenti fra i sei campionamenti e comunque mai inferiori al 95%.

Il confronto delle percentuali di parassitizzazione tra anni entro campionamento è pure riportato in figura 11 e tabella XIV. Sia relativamente ai parassitoidi autoctoni che a *Torymus sinensis*, pur registrando diverse differenze significative tra gli stessi campionamenti del primo triennio, il risultato di gran lunga più distinto sono le percentuali significativamente più basse e rispettivamente più alte che autoctoni ed esotico registrano per tutti e sei i campionamenti nel 2016.

La parassitizzazione dovuta alle specie autoctone mostra un andamento decrescente nei quattro anni di indagine (fig. 12) con valori pari a $67,8\% \pm 2,8\%$, $54,7\% \pm 2,5\%$, $47,9\% \pm 1,5\%$ e $2,5\% \pm 0,5\%$ rispettivamente nel 2012, 2013, 2014 e 2016. Esattamente opposto è l'andamento della parassitizzazione ascrivibile al parassitoide esotico che passa in quattro anni da occupare lo $0,8\% \pm 0,6\%$ delle celle di una galla (2012) a parassitizzarne il $96,6\% \pm 0,5\%$ (2016).

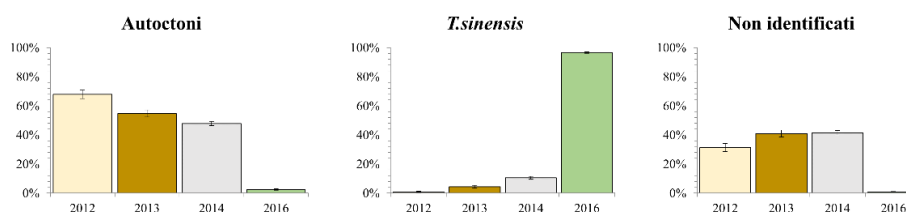


Figura 12 – Andamento del tasso di parassitizzazione di *D. kuriphilus* durante gli anni 2012, 2013, 2014 e 2016. I valori sono espressi come percentuale media per galla di celle occupate da parassitoidi autoctoni, da *T. sinensis* o da parassitoidi non identificati.

Iperparassitismo

L'iperparassitizzazione rilevata nel corso dello studio (tra parentesi il numero di celle esaminate) è stata pari a $0,31\%$ (3872), $0,56\%$ (4622), $0,94\%$ (4022), $0,06\%$ (1546) e $0,05\%$ (5623) rispettivamente nel 2012, 2013, 2014, 2015 e 2016. Nei primi tre anni di indagine è stata esclusivamente a carico di specie autoctone. Nel 2015 l'unico iperparassitoide rilevato stava parassitizzando una larva di *T. sinensis* mentre nel 2016 la parassitizzazione era a carico della specie esotica in due casi sui tre registrati.

Insediamiento di *Torymus sinensis* nei siti di lancio

Nel sito di Geratzia il numero di individui di *T. sinensis* sfarfallati dalle galle invernali poste in allevamento registra un costante aumento fino a raggiungere il valore, rapportato a 100 galle, di poco più di 90 individui nel 2015 (6 anni dopo il lancio) (tabella XV).

L'anno successivo, il numero di individui sfarfallati si riduce di circa due terzi (31,4). La percentuale di celle parassitizzate rilevata grazie al sezionamento delle galle primaverili è in aumento ed è pari al 65,9 % e al 98,4 % rispettivamente nel 2015 e nel 2016.

Il dato derivante dalle galle primaverili del 2015 (sfarfallamenti nel 2016) dovrebbe essere comparabile con quello delle galle invernali 2016.

Nel caso di Geratzia il numero potenziale di individui di *T. sinensis* presenti in 100 galle primaverili raccolte nel 2105 è risultato poco più di 212 mentre il numero di individui effettivamente sfarfallati da 100 galle nel 2016 nel medesimo sito è stato poco più di 31.

Anche il sito di Pala e Crabile mostra inizialmente un trend crescente nel numero di individui di *T. sinensis* sfarfallati dalle galle invernali fino a raggiungere la quota di 48,2 individui (calcolati su cento galle) nel 2015 (a 5 anni dal lancio) (tabella XV). Nel 2016 c'è un notevole crollo nel numero di individui sfarfallati da 100 galle (1,6) nonostante il numero potenziale di individui che sarebbero dovuti sfarfallare ammontasse a poco più di 112 (dati galle primaverili 2015). La percentuale di celle parassitizzate cresce dal 55,6% a 87,5% rispettivamente nel 2015 e nel 2016.

Il sito di Pratzia e Baladuru mostra un trend crescente negli sfarfallamenti fino al 2016 (a cinque anni dal lancio) raggiungendo il valore di 59,2 individui sfarfallati da 100 galle. Anche in tal caso però questo valore è ben inferiore a quello calcolato su 100 galle primaverili sezionate nel 2015. La percentuale di celle occupate da *T. sinensis* cresce notevolmente in un anno, passando dal 38,3% al 90,2% rispettivamente nel 2015 e nel 2016.

Tabella XV – Abbondanza degli individui di *T. sinensis* sfarfallati dalle galle invernali allevate o rilevati allo stadio di larva nelle galle primaverili sezionate raccolte nei primi siti di lancio del parassitoide esotico in Sardegna.

Sito e anno di campionamento	n° galle raccolte fine inverno	n° <i>T. sinensis</i> sfarfallati da 100 galle	n° galle raccolte in primavera (celle trovate)	n° di larve di <i>T. sinensis</i> trovate	larve di <i>T. sinensis</i> rapportati a 100 galle - 100 celle
Geratzia					
2010	10.000	0,19			
2011	10.000	0,43			
2012	10.000	1,99			
2015	486	91,15			
2016	500	31,4			
2015 (2016)*			40 (129)	85	212,5 - 65,9
2016 (2017)*			40 (125)	123	307,5 - 98,4
Pale e Crabile					
2011	10.000	0,47			
2012	10.000	0,13			
2015	500	48,2			
2016	500	1,6			
2015 (2016)*			40 (81)	45	112,50 - 55,6
2016 (2017)*			40 (104)	91	227,5 - 87,5
Pratza e Baladuru					
2012	10.000	0,15			
2015	500	39,4			
2016	500	59,2			
2015 (2016)*			40 (115)	44	110,0 - 38,3
2016 (2017)*			40 (112)	101	252,5 - 90,2
Mandaritzò					
2015	500	10,6			
2016	500	31,6			
2015 (2016)*			40 (109)	25	62,5 - 21,0
2016 (2017)*			40 (108)	68	170,0 - 63,0

* Tra parentesi l'anno in cui il parassitoide dovrebbe sfarfallare.

Il sito di Mandaritzò fa registrare un aumento del numero di individui sfarfallati dalle galle allevate raggiungendo il valore di 31,6 individui (su 100 galle) nel 2016 (a quattro anni dal lancio). Come in tutti gli altri tre siti di lancio studiati, anche in tal caso, il numero di individui sfarfallati nel 2016 è ben inferiore a quello degli individui presenti

entro 100 galle l'anno precedente (62,5). La percentuale di celle occupate da *T. sinensis* triplica passando dal 21% (2015) al 63% (2016).

DISCUSSIONE

Dai dati raccolti finora risulta che l'infestazione di *Dryocosmus kuriphilus* in Sardegna sta regredendo. La serie storica del numero di galle raccolte in cinque minuti mostra un andamento inequivocabile. L'analisi più dettagliata del tasso d'infestazione nel biennio 2015-2016 mostra una significativa diminuzione dei germogli infestati considerando complessivamente tutti i siti d'indagine e, nei dati disaggregati, una loro diminuzione nella maggioranza dei casi. A questo andamento si somma anche una significativa diminuzione del numero di celle per galla.

Il tasso di infestazione di un anno è risultato statisticamente dipendente dalla percentuale di celle occupate da *T. sinensis* rilevata nell'anno precedente. Più è alta la percentuale di parassitizzazione meno sarà alto il tasso di infestazione nella primavera successiva. La retta di regressione calcolata sui nostri dati indica che ad una parassitizzazione del 50% o superiore corrisponde un tasso di infestazione del 30% od inferiore. Il 30% è considerato come il valore soglia di tolleranza del danno (Moriya *et al.*, 2003).

Il danno provocato dal cinipide del castagno può essere calcolato in modo relativamente semplice quando si consideri la sola produzione frutticola. Diviene più complesso quando si considerino invece situazioni di ceduo, legno, o anche di "bosco naturale o ricreativo". In passato sono stati proposti indici talvolta complessi (Maltoni *et al.*, 2012; Sartor *et al.*, 2015) per stabilire i danni provocati dal *D. kuriphilus*, qui si è proposto un indice semplice e facilmente applicabile. I risultati ottenuti non si discostano sostanzialmente da quelli ottenibili utilizzando il tasso di infestazione. Lo sforzo per calcolare un indice di danno anche così semplice non appare in conclusione giustificabile.

Il calcolo dell'indice di danno ha permesso di analizzare quali "tipologie" di galle erano presenti e come queste sono variate nell'ultimo biennio 2015-2016. A differenza di altri autori (Maltoni *et al.*, 2012) si è trovata una decisa maggioranza di galle fogliari (oltre il 50%).

La conoscenza del numero di celle per galla è di fondamentale importanza per valutare adeguatamente l'azione dei parassitoidi, in quanto il tasso di sfarfallamento, che fa riferimento al numero di adulti sfarfallati per galla (Quacchia *et al.*, 2013), dà

un'idea solo approssimativa e spesso sovrastimata dell'impatto dei limitatori naturali sul fitofago.

Nonostante che il numero di celle per galla possa arrivare, come registrato in questi dati, ad un massimo anche di molto superiore a 10 (valori massimi registrati nei singoli anni tra 11 e 18), la media si mantiene entro un range assai ristretto (tra 2,8 e 3,8 in Sardegna in ciascun anno del quinquennio considerato).

I valori medi annuali mostrano sia differenze statisticamente significative (2013 significativamente più elevato del triennio successivo) che un trend ben evidente (diminuzione graduale dal 2013 al 2016). Altri autori hanno evidenziato differenze tra anni di campionamento anche con grandi variabilità (Panzavolta *et al.*, 2012; Bernardo *et al.*, 2013), ma non è ancora stato chiarito se esse siano conseguenza della densità del fitofago adulto, di interazioni con i parassitoidi, di interazioni con la pianta ospite. Si tratta di aspetti importanti che andrebbero approfonditi poichè secondo Cooper & Rieske (2010) la minore dimensione delle galle determinerebbe una maggiore pressione della parassitizzazione per una migliore capacità di raggiungere tutti gli ospiti all'interno di una galla più piccola.

Dalla formazione della galla al suo disseccamento, ed anche oltre, il “contenuto” di ciascuna cella è soggetto ad una modificazione cronologica influenzata dalla fenologia dei singoli occupanti. Così se la cella rimane a disposizione del galligeno che l'ha formata avremo un periodo di presenza della larva del *D. kuriphilus*, seguita dalla pupa e dall'adulto che, infine, abbandonerà la cella. Se il cinipide viene invece parassitizzato ci troveremo di fronte ad un parassitoide che svrapporrà la propria fenologia a quella dell'ospite. Nel caso di parassitoidi autoctoni, per quanto è noto, la quasi assoluta totalità delle specie permarrà all'interno delle galle giusto il tempo del proprio sviluppo da uovo ad adulto e poi le abbandonerà. Nel caso del parassitoide esotico *T. sinensis* invece le larve mature entreranno in diapausa per sfarfallare, di solito, nella primavera successiva.

La modificazione cronologica del “contenuto” delle celle impone da un lato l'esecuzione di una serie di campionamenti successivi ad intervalli regolari di tempo, dall'altra rende estremamente complessa l'analisi dei risultati ottenuti.

Nei nostri dati appare estremamente chiaro l'andamento della presenza di *D. kuriphilus* all'interno delle galle (figura 9A, B, C). Pare chiaro anche che la fenologia varia notevolmente tra anni, qui, ad esempio, il 2013 mostra picchi decisamente in

ritardo rispetto agli altri anni. La “lettura” dei dati riguardanti i parassitoidi risulta invece estremamente confusa. Evidentemente la contemporanea presenza di più specie evolventesi in periodi diversi, con la complicazione del ciclo biologico completamente diverso di *T. sinensis*, oscura i singoli cicli.

Sia pur all’interno di una interpretazione dei dati piuttosto complessa appare evidente un trend: l’aumento della presenza di parassitoidi nel corso degli anni.

In particolare nei siti non interessati al rilascio del nemico naturale esotico, nei quali negli anni *T. sinensis* stesso pian piano si diffondeva naturalmente a partire dai siti circostanti, la percentuale di celle occupate da specie autoctone ha raggiunto valori ragguardevoli (dal 67,8% nel 2012 a quasi il 48% nel 2014). Valori, addirittura, molto probabilmente sottostimati se si considerano gli esemplari che non siamo riusciti ad identificare e che, nel periodo 2012-2014, sono presumibilmente da ascrivere in buona parte alle specie autoctone. La situazione cambia radicalmente nell’ultimo anno di studio (2016) quando *T. sinensis*, ormai ben diffuso nel territorio, va ben oltre il valore del 95% di celle occupate per galla (fino ad allora non superava il 10%) divenendo il limitatore assolutamente predominante del cinipide. Le percentuali di parassitizzazione a carico delle specie autoctone rilevate nel corso di questa indagine sono, ad ogni modo, ben superiori a quelle che risultano in letteratura e che, ad esclusione di qualche caso particolare (Santi & Maini, 2011; Bernardinelli *et al.*, 2016), vengono considerate basse (2-10%) e non sufficienti ad assicurare da parte dei parassitoidi indigeni, alcun contenimento del fitofago (Matošević, 2014; Francati *et al.*, 2015; Kos *et al.*, 2015; Radócz *et al.*, 2015; Moriya *et al.*, 2003). In Piemonte la capacità di contenimento del fitofago da parte delle specie autoctone non è risultata importante fin dai primi anni di diffusione del cinipide del castagno (Quacchia *et al.*, 2013). Ed anche ora, a distanza di oltre 10 anni dall’arrivo del fitofago esotico, quando ormai *T. sinensis* è ben diffuso nel territorio, l’azione delle specie autoctone risulta ancora quasi nulla (Alma *et al.*, 2014). Dai dati raccolti in Sardegna prima e nel corso di questa tesi si vede come, gradualmente, subito dopo l’arrivo del fitofago e in siti non ancora interessati, se non minimamente, dalla presenza di *T. sinensis*, le specie autoctone riescono a raggiungere ragguardevoli percentuali di parassitizzazione e costituire una comunità ricca ben diversificata (Schiaffino, 2016). Successivamente (dopo il 2014), la specificità di *T. sinensis* nei confronti del cinipide del castagno e la sincronia del suo ciclo con quello del fitofago non lascia che poco spazio alle specie autoctone.

Tutti i dati disponibili nei siti in cui *T. sinensis* è stato rilasciato stanno ad indicare che la specie ha cominciato ad insediarsi immediatamente. Il confronto tra presenza di *T. sinensis* nelle galle raccolte in primavera-estate (larve diapausanti) e suoi sfarfallamenti da galle “invernali” raccolte nel medesimo sito mostra però valori molto discordanti ed apre un importante interrogativo su eventuali fattori di mortalità nelle larve svernanti. Questo problema dovrà essere affrontato con apposite future ricerche.

Molti sforzi sono stati fatti durante queste ricerche per valutare la presenza di una significativa iperparassitizzazione. In realtà sono state rilevate sempre percentuali esigue ed assolutamente non influenti nella dinamica di popolazione delle diverse specie coinvolte.

Una situazione del tutto diversa a quella riscontrata ad esempio negli USA. Secondo Cooper & Rieske (2011) il parassitismo esercitato da *T. sinensis* è inibito nei siti in cui il reclutamento di parassitoidi autoctoni (nel loro caso in particolare la specie *Ormyrus labotus*) è elevato. Anzi gli autoctoni stessi a quanto pare si svilupperebbero sul parassitoide esotico. In particolare *O. labotus* parassitizza il cinipide del castagno ad inizio primavera per poi parassitizzare *T. sinensis* prima che sfarfalli. L'azione di una specie autoctona quindi sopprimerebbe la popolazione di *T. sinensis* e ciò spiegherebbe la sua scarsa abbondanza. Quest'ultimo scenario non è ancora stato riscontrato nel nostro ambiente.

CONCLUSIONI

La Regione Sardegna è stata fra le prime regioni italiane ad introdurre nel proprio territorio il parassitoide esotico *Torymus sinensis*; ed è stata anche la prima, probabilmente l'unica, a farlo a spese proprie pur di intervenire tempestivamente contro il fitofago invasivo.

Da questo studio si può quindi affermare che il grado di insediamento del parassitoide esotico nell'area oggetto di studio può ritenersi soddisfacente, ed il suo ruolo nel contenimento dell'infestazione del cinipide galligeno del castagno è confermato dalla diminuzione dell'infestazione.

Il quadro generale attuale prospetterebbe a questo punto uno scenario in cui la larva del parassitoide esotico è ben diffusa nel territorio ed è esposta all'attacco dei parassitoidi autoctoni per un periodo di tempo maggiore rispetto alla larva del fitofago invasivo. Infatti mentre il cinipide si sviluppa all'interno della galla a partire da metà aprile e viene subito dopo attaccata da *T. sinensis* o comunque sfarfalla a partire dai primi giorni di giugno, la larva di *T. sinensis* si sviluppa a partire da metà maggio e rimane a disposizione dei parassitoidi autoctoni fino alla primavera successiva.

A seguito di un ipotetico, ma non ancora rilevato in Sardegna, abbattimento della popolazione di *T. sinensis* ad opera dei parassitoidi autoctoni agenti come iperparassitoidi questi ultimi potrebbero tornare a sfruttare la risorsa cinipide allentando la morsa sul parassitoide esotico che a sua volta, essendo più efficiente di loro, in quanto perfettamente sincrono con l'ospite, tornerebbe ad aumentare e così via. Si prospetterebbero così due futuri scenari: i) un progressivo smorzamento delle fluttuazioni delle popolazioni di cinipide, parassitoidi autoctoni e parassitoide esotico con il raggiungimento di un punto di equilibrio; ii) il mantenimento di un regime di fluttuazioni più o meno regolari.

Risulterebbe veramente necessario comprendere quale meccanismo andrà ad instaurarsi per eventualmente cercare di apportare dei correttivi alle varie dinamiche di popolazione se queste dovessero risultare negative ai fini di un controllo dell'insetto invasivo.

RINGRAZIAMENTI

E' doveroso ricordare tutti coloro che mi hanno aiutato nella stesura della Tesi di Dottorato con suggerimenti, opinioni e riscontri: a loro va la mia gratitudine.

Ringrazio il professor Roberto Antonio Pantaleoni, Docente Guida, e la Dott.ssa Laura Loru, dell'Istituto per lo Studio degli Ecosistemi del Consiglio Nazionale delle Ricerche, Tutor: senza il loro supporto e la loro guida sapiente questa Tesi di ricerca non esisterebbe.

Vorrei ringraziare ancora il personale dell'Istituto per lo Studio degli Ecosistemi di Sassari (ISE-CNR), in particolare le Dott.sse Angela Schiaffino, Xenia Fois e Leonarda Fadda, che hanno saputo ascoltare ed interpretare le mie esigenze, facilitando il mio lavoro. Ringrazio ancora il Dott. Roberto Mannu per il supportato dato nell'analisi statistica dei dati.

Doverosi ringraziamenti vanno ancora ai finanziatori di questa ricerca: l'Amministrazione Provinciale di Nuoro nell'ambito del progetto "Controllo biologico del cinipide galligeno del castagno nella Barbagia di Belvì" e la Regione Autonoma della Sardegna nell'ambito del "Programma triennale di lotta biologica al Cinipide galligeno del castagno (*Dryocosmus kuriphilus*, Yasumatsu) in Sardegna".

Desidero inoltre ringraziare l'Azienda Agricola castanicola dei F.lli Vacca di Belvì e il sig. Michele Paba di Aritzo per la loro disponibilità ed il loro supporto durante i campionamenti.

Ringrazio infine la collega di Corso, Simona Tidu, per la collaborazione, i confronti e le discussioni, anche le più accese ma sempre costruttive, svolte durante il corso della Scuola di Dottorato.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- Abe Y., Melika G., Stone G. N., (2007). The diversity and phylogeography of cynipid gallwasps (Hymenoptera: Cynipidae) of the oriental and eastern palaeartic regions, and their associated communities. *Oriental insects*, 41: 169-212.
- Aebi A., Schoenenberg N., Bigler F., (2011). Evaluating the use of *Torymus sinensis* against the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* in the Canton Ticino, Switzerland. *Agroscope* ISBN 978-3-905733-20-4.
- Addario E., Turchetti T., (2011). Parasitic fungi on *Dryocosmus kuriphilus* in *Castanea sativa* necrotic galls. *Bulletin of insectology*, 64: 269-273.
- Alma A., (2010). Considerazioni sulle attuali conoscenze inerenti il cinipide orientale del castagno. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, 58: 12-23.
- Alma A., Ferracini C., Sartor C., Ferrari E., Botta R., (2014). Il cinipide orientale del castagno: lotta biologica e sensibilità varietale. *Italus Hortus*, 21(3):15-29.
- Battisti A., Benvegnù I., Colombari F., Haack R.A., (2014). Invasion by the chestnut gall wasp in Italy causes significant yield loss in *Castanea sativa* nut production. *Agricultural and Forest Entomology*, 16: 75-79.
- Bernardo U., Iodice L., Sasso R., Tutore V. A., Cascone P., Guerrieri E., (2013). Biology and monitoring of *Dryocosmus kuriphilus* on *Castanea sativa* in Southern Italy. *Agricultural and Forest Entomology*, 15: 65-76.
- Bernardinelli I., Bessega D., Zanolli P., Governatori G., Zandigiaco P., (2016). Survey of indigenous parasitoids affecting the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* in the Friuli Venezia Giulia region (North-East Italy). *Bulletin OEPP/EPPO*, 46(2): 286-289.
- Borowiec N., Thaon M., Brancaccio L., Warot S., Vercken E., Fauvergue X., Ris N., Malausa J.C., (2014). Classical biological control against the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) in France. *Plant Protection Quarterly*, 29(1): 7-10.
- Brussino G., Bosio G., Baudino M., Giordano R., Ramello F., Melika G., (2002). Pericoloso insetto esotico per il castagno europeo. *Informatore Agrario*, 58(37): 59-61.
- Cho D., Lee S., (1963). Ecological studies on the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, and observations of the damage caused to the tree by this insect. *Korean Journal of Plant Protection*, 2: 47-54 (in Korean).
- Colombari F., Battisti A., (2016). Native and introduced parasitoids in the biocontrol of *Dryocosmus kuriphilus* in Veneto (Italy). *Bulletin OEPP/EPPO*, 46(2): 275-285.
- Cooper W.R., Rieske L.K., (2007). Community associates of an exotic gallmaker, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), in Eastern North America. *Annals of the Entomological Society of America*, 100: 236-24.
- Cooper W.R., Rieske L.K., (2010). Gall structure affects ecological associations of *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae). *Environmental Entomology*, 39: 787-797.
- Cooper W.R., Rieske L.K., (2011). A native and an introduced parasitoid utilize an exotic gallmaker host. *BioControl*, 56: 725-734.

- EFSA, (2010). Risk assessment of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. *EFSA Journal*, 8: 1-114.
- EFSA, Panel on Plant Health (PLH), (2011). Guidance on the environmental risk assessment of plant pests. *EFSA Journal* 9(12), 2460: 121 pp.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), (2005). Data sheets on quarantine pests / Fiches informatives sur les organismes de quarantaine: *Dryocosmus kuriphilus*. *Bulletin OEPP/EPPO*, 35: 422-424.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), (2013). First report of *Dryocosmus kuriphilus* in Austria (2013/140), First report of *Dryocosmus kuriphilus* in Germany (2013/141), *Dryocosmus kuriphilus* found in Hungary (2013/142). *Reporting Service*, 7:3-4.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), (2015). First report of *Dryocosmus kuriphilus* in the United Kingdom. *EPPO Reporting Service*, (2015/108) 6: 2.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), (2016). First report of *Dryocosmus kuriphilus* in Belgium (2016/029), *EPPO Reporting Service*, 2:14.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), (2016). First report of *Dryocosmus kuriphilus* in Greece (2016/145), *EPPO Reporting Service*, 8:11.
- Ferracini C., Alma A., (2015). La lotta biologica per il controllo di *Dryocosmus kuriphilus* in Italia. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, 5: 177-182.
- Ferracini C., Gonella E., Ferrari E., Saladini M. A., Picciau L., Tota F., Pontini M., Alma A., (2015a). Novel insight in the life cycle of *Torymus sinensis*, biocontrol agent of the chestnut gall wasp. *BioControl*, 60: 169-177.
- Ferracini C., Ferrari E., Saladini M. A., Pontini M., Corradetti M., Alma A., (2015b). Non-target host risk assessment for the parasitoid *Torymus sinensis* in Italy. *BioControl*, 60: 583-594.
- Francati S., Alma A., Ferracini C., Pollini A., Dindo M.L., (2015). Indigenous parasitoids associated with *Dryocosmus kuriphilus* in a chestnut production area of Emilia Romagna (Italy). *Bulletin of Insectology*, 68(1): 127-134.
- Germinara G. S., De Cristofaro A., Rotundo G., (2011). Chemical cues for host location by the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus*. *Journal of Chemical Ecology*, 37:49-56.
- Graziosi I., Santi F., (2008). Chestnut gall wasp (*Dryocosmus kuriphilus*): spreading in Italy and new records in Bologna province. *Bulletin of Insectology*, 61 (2): 343-34.
- Griffo R., Parillo R., Verderame M., (2010) Castagno, primi risultati della lotta chimica contro il cinipide galligeno. *Terra e Vita*, 3:24-25.
- Guerrieri E., Bernardo U., Iodice L., Gebiola M., (2010). Identificazione morfo biomolecolare ed interazioni trofiche degli antagonisti autoctoni di *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Campania: metodologia e risultati preliminari. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, 58: 115-120.
- Huber J. T., Read J., (2012). First record of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae), in Canada. *JESO*, 143:125-128.

- Kos K., Kriston E., Melika G., (2015). Invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), its native parasitoid community and association with oak gall wasps in Slovenia. *European Journal of Entomology*, 112(4): 698-704.
- Li Y., Yi Y., Zheng Z., Xie Z., (2004). The spatial distribution of chestnut gall wasp and sampling techniques in the chestnut plantation. *Journal of South China Agricultural University*, 25(1): 62-65 (in Chinese).
- Maltoni A., Mariotti B., Tani A., (2012). Case study of a new method for the classification and analysis of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu damage to young chestnut sprouts. *IForest*, 5: 50-59
- Matošević D., Melika G., (2013). Recruitment of native parasitoids to a new invasive host: first results of *Dryocosmus kuriphilus* parasitoid assemblage in Croatia. *Bulletin of Insectology*, 66(2): 231-238.
- Matošević D., Quacchia A., Kriston E., Melika G., (2014). Biological control of the invasive *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) an overview and the first trials in Croatia. *Southeast European Forestry*, 5(1): 3-12.
- Moriya S., Shiga M., Adachi I., (2003). Classical biological control of the chestnut gall wasp in Japan. *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Arthropodes. USDA- Forestry Service, Honolulu, Hawaii*: 407-415.
- Murakami Y., (1980). Recent topics on the chestnut gall wasp, with special reference to a report from China. *Nogyô oyobi Engei, Agriculture and Horticulture*, 55: 249-253 (in Japanese).
- Murakami Y., (1981). Comparison of the adult emergence periods between *Torymus (Syntomaspis) beneficus* a native parasitoid of the chestnut gall wasp and a congeneric parasitoid imported from China (Hymenoptera: Torymidae). *Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushu*, 27: 156-158 (in Japanese).
- Murakami Y., (2010). A global serious pest of chestnut trees, *Dryocosmus kuriphilus*: Yesterday, today and tomorrow. *National Agricultural Research Center (NARO)*:38-40.
- Oho N., Umeya K., (1975). Chestnut gall wasp is found in the People's Republic of China. *Shokubutsu Boeki Plant Protection*, 29: 463-464 (in Japanese).
- Palmeri V., Cascone P., Campolo O., Grande S.B., Laudani F., Malacrino A., Guerrieri E., (2014). Hymenoptera wasps associated with the Asian gall wasp of chestnut (*Dryocosmus kuryphilus*) in Calabria, Italy. *Phytoparasitica*, 42: 699-702.
- Pantaleoni R.A., Loru L., Sassu A., Loddo C., (2007). Il cinipide del castagno in Sardegna: una nuova preoccupante presenza nella Barbagia di Belvì. *Notiziario sulla protezione delle piante*, 21: 203-206.
- Panzavolta, T., Bracalini, M., Croci, F. Campani C., Bartoletti T., Miniati G., Benedettelli S., Tiberi R., (2012). Asian chestnut gall wasp in Tuscany: gall characteristics, egg distribution and chestnut cultivar susceptibility. *Agricultural and Forest Entomology*, 14: 139-145.
- Panzavolta T., Bernardo U., Bracalini M., Cascone P., Croci F., Gebiola, M., Iodice L., Tiberi R., Guerrieri E., (2013). Native parasitoids associated with *Dryocosmus kuriphilus* in Tuscany, Italy. *Bulletin of Insectology*, 66: 195-201.

- Payne J. A., Menke A. S., Schroeder P. M., (1975). *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, (Hymenoptera: Cynipidae), an Oriental chestnut gall wasp in North America. *USDA Cooperative Economic Insect Report*, 25: 903-905.
- Pellizzari Scaltriti G., (1988) – Guida al riconoscimento delle più comuni galle della flora Italiana. *Patron*, EAN: 9788855520546, ISBN: 8855520547
- Quacchia A., Moriya S., Bosio G., Scapin I., Alma A., (2008). Rearing, release and settlement prospect in Italy of *Torymus sinensis*, the biological control agent of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. *BioControl*, 53: 829-839.
- Quacchia A., Ferracini C., Nicholls J.A., Piazza E., Saladini M.A., Tota F., Melika G., Alma A., (2013). Chalcid parasitoid community associated with the invading pest *Dryocosmus kuriphilus* in north-western Italy. *Insect Conservation and Diversity*, 6:114-123.
- Quacchia A., Askew R., Moriya S., Schönrogge K., (2014) *Torymus sinensis*: Biology, Host Range and Hybridization. *Acta Horticulturae* 1043, ISHS
- Radócz L., Szilágyi A., Nagy M., Kovács G., Melika G., (2015). Asian sweet chestnut gallwasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera, Cynipidae): first record for Romania. *Northwestern Journal of Zoology*, 12(1): 201-204.
- Santi F., Maini S., (2011). New association between *Dryocosmus kuriphilus* and *Torymus flavipes* in chestnut trees in the Bologna area (Italy): first results. *Bulletin of Insectology*, 64: 275-278.
- Sartor C., Dini F., Torello Marinoni D., Mellano M.G., Beccaro G.L., Alma A., Quacchia A., Botta R., (2015). Impact of the Asian wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Yasumatsu) on cultivated chestnut: Yield loss and cultivar susceptibility. *Scientia Horticulturae*, G Model HORTI-6096.
- Schiaffino A., (2016). Uso di tecniche di identificazione molecolare nello studio dei parassitoidi del cinipide galligeno del castagno. Tesi di Dottorato di Ricerca
- Scossiroli R. E., Clementel S., Scossiroli S., (1974). Metodi statistici per l'ecologia. Analisi delle distribuzioni di frequenza. Zanichelli, Bologna. 218 pp.
- Shiga M., (1999). Classical biological control of the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus*: present status and interactions between an introduced parasitoid, *Torymus sinensis*, and native parasitoids. In: Biological invasions of ecosystems by pest and beneficial organisms. Ed. Yano E., Matsuo K., Shiyomi M., Andow D.A., National Institute of Agro-Environmental Sciences, Tsukuba, Japan, 175–188.
- Shimura I., (1972). Studies on the breeding of chestnut, *Castanea spp.* II. Parasitic variation in the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu. *Bulletin of the Horticultural Research Station A*, 11: 1-13 (in Japanese).
- Shiraga T., (1951). *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) and its protection. *Nogyo Oyobi Engei, Agriculture and Horticulture*, 26: 167-170 (in Japanese).
- Speranza S., Stacchiotti M., Paparatti B., (2009). Endemic parasitoids of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in Central Italy. *4th International Chestnut Symposium. Acta Horticulturae*, 844: 421-423.
- Yasumatsu K., (1951). A new *Dryocosmus* injurious to chestnut trees in Japan (Hym, Cynipidae). *Mushi*, 22: 89-93.