

Francesco Vitali *dottore in Scienze Naturali*

membro della Società Entomologica Italiana e di Monaco di Baviera

via Roma 7/12 I-16121 Genova (Italia) Tel.:+(39)010541262 e-Mail: vitalfranz@yahoo.de

**Impiego di Crostacei Copepodi Ciclopidi
nella lotta biologica
contro la Zanzara Tigre, *Aedes albopictus* (Skuse, 1894)**

Francesco VITALI

31 dicembre 2002, consegnata 31 maggio 2003

SOMMARIO

SOMMARIO.....	2
1. INTRODUZIONE.....	3
1. 1. AREA DI STUDIO	4
1.2. PROGETTO PILOTA	4
1.3. STRATEGIA E STRUMENTI.....	4
1.4. INCOGNITE.....	7
1.5. TEMPI.....	7
2. CAMPIONAMENTI SULLA PRESENZA DI ZANZARA TIGRE.....	9
2.1. INTRODUZIONE.....	9
2.2. MONITORAGGI	9
2.3. CONCLUSIONI.....	10
2.4. GRAFICI	11
2.4.1. Settore 1A (campo dei religiosi).....	11
2.4.2. Settore 2D (ponte).....	12
2.4.3. Settore 3B (campo dei Protestanti).....	12
2.4.4. Settore 4C (Valletta Pontasso)	13
2.4.5. Settore 5B (Veilino alto).....	13
2.4.6. Riepilogo	14
2.4.7. Considerazioni conclusive ai grafici.....	15
3.1. COLTURA DI PROTOZOI	17
3.2. ALLEVAMENTO DEI COPEPODI	20
3.2.1. Introduzione.....	20
3.2.2. Generalità su <i>Macrocyclops albidus</i> (Jurine, 1820)	20
3.2.3. Allevamento in laboratorio.....	22
3.3. PROBLEMATICHE RICONTRATE E CONCLUSIONI.....	23
4. BIBLIOGRAFIA	25

1. INTRODUZIONE

La Zanzara Tigre (*Aedes albopictus* Skuse, 1894), importata a Genova nel 1990, si è ormai stabilmente acclimatata, colonizzando in modo massiccio molte aree cittadine.

Come dimostrò lo studio effettuato per l'Ufficio Gestione Fauna Urbana del Comune di Genova presso l'area del Cimitero di Staglieno, questa specie è in grado di svilupparsi in tempi ridottissimi in quantità d'acqua caratterizzate da condizioni variabilissime di quantità, temperatura e pH e che, a causa delle semplificate condizioni ecologiche, non permettono la comparsa spontanea di alcun tipo di predatore.

Il sopracitato studio evidenziò come il metodo di lotta biologica che dette risultati migliori e di più lunga durata, sperimentato in svariate regioni del mondo, soprattutto quelle tropicali, fosse l'impiego di Crostacei Copepodi Ciclopidi.

Rispetto al *Bacillus thuringensis*, che può essere comunque impiegato in contemporanea per incrementarne temporaneamente l'effetto, i Copepodi Ciclopidi non sono fotosensibili (cioè non muoiono in presenza di luce), resistono alla siccità attraverso forme di resistenza, si nutrono di piccole organismi acquatici (larve di zanzara, chironomidi, protozoi, piccoli vermi) e quindi permangono nell'ambiente anche dopo la scomparsa delle zanzare, inoltre il loro impiego non richiede precauzioni particolari da parte dell'operatore che li sta trattando.

Poiché esistono molte specie autoctone italiane (due di queste sono state già impiegate con successo in Florida) il loro impiego risulta ecologicamente corretto.

L'impiego in zone tropicali, effettuato da tecnici statunitensi con la collaborazione della popolazione per la riduzione dei possibili habitat, dimostrarono una riduzione della popolazione locale di Zanzara Tigre dell'80%.

L'impiego in Italia non è mai stato affrontato, nonostante ve ne siano tutte le condizioni, perciò è stato proposto il progetto per lo studio dell'allevamento e dell'utilizzo in un'area campione.

Di seguito sono indicati area di studio, obiettivi, strategia e strumenti, tempi e costi della proposta.

1.1. Area di studio

L'area oggetto della presente proposta è rappresentata dal Cimitero monumentale di Staglieno, in cui è stata da tempo rilevata una consistente popolazione di Zanzara Tigre.

È stato proposto l'impiego di Copepodi Ciclopidi all'interno della rete idrica affluente, attraverso l'introduzione nei serbatoi d'acqua non potabile che riforniscono il Cimitero.

Verranno quindi individuate e delimitate alcune zone campione in cui verranno forati tutti i contenitori per fiori, al fine di realizzare una lotta biologica integrata alla riduzione effettiva degli habitat di sviluppo della Zanzara Tigre.

Contestualmente verrà realizzata ad opera del Comune una campagna informativa per i fruitori del Cimitero sul progetto in corso in tali zone campione.

1.2. Progetto Pilota

Gli obiettivi del Progetto Pilota possono essere così riassunti:

1. introdurre una popolazione stabile di Copepodi Ciclopidi nella rete idrica del Cimitero di Staglieno e diffonderla nell'area in questione.
2. studiare l'impatto dei Copepodi Ciclopidi sulla popolazione di Zanzara Tigre in alcune zone campione sottoposte a limitazione degli habitat, attraverso foratura dei contenitori per fiori.
3. studiare i risultati dell'impatto dei Copepodi sulla popolazione generale di Zanzara Tigre nell'area restante.
4. fornire i risultati del primo impiego di Copepodi sul territorio italiano per la lotta biologica alla Zanzara Tigre al fine di un eventuale impiego futuro su larga scala.

1.3. Strategia e strumenti

Devono considerarsi propedeutiche e necessarie al Progetto:

1. la conoscenza della rete idrica dell'area in questione (per sapere quale zona del Cimitero è effettivamente raggiungibile dall'acqua trattata).

2. la manutenzione e la pulizia di tombini e fontane (per permettere il regolare deflusso delle acque in tutta l'area e la limitazione degli habitat per lo sviluppo della Zanzara Tigre).
3. la verifica statistica dell'efficienza dei Copepodi nel contesto italiano ed europeo (attraverso una fase sperimentale di laboratorio su campioni d'acqua infestati da zanzare a partire dallo stadio di uovo).

Il progetto si articolerà su sei fasi: Nel frattempo verrà eseguito un monitoraggio della popolazione adulta di Zanzara Tigre nelle aree delimitate e in alcune zone campione del Cimitero. I monitoraggi verificheranno gli effetti dalla dispersione dei Copepodi nell'ambiente, oltre a quelli derivanti dall'immissione delle Gambusie nelle pozze d'acqua e dalla manutenzione delle rete idrica.

1. Acquisizione ed allevamento in laboratorio di una coltura di Parameci, al fine di fornire il nutrimento base (*pabulum*) per l'allevamento dei Copepodi Ciclopidi.
 - Si impiegano per l'allevamento protozoi del genere *Paramecium*.
 - L'allevamento iniziale si compie all'interno di un barattolo di vetro nel quale vengono inseriti:
 - fieno secco compresso per una quantità pari a metà dell'altezza del barattolo
 - qualche ml di acqua d'acquario
 - una spugna da acquario nella metà superiore per comprimere il fieno
 - acqua del rubinetto e acqua osmotica al 50% che copra anche la spugna
 - Si ottiene intorbidimento dell'acqua per lo sviluppo dei batteri, poi, dopo 10-15 giorni l'acqua torna limpida e i parameci sono visibili a occhio nudo come una polverina in movimento sull'acqua sopra la spugna, dove sono venuti per respirare.
 - I parameci vengono aspirati con una pipetta e trasportati in un altro contenitore per il mantenimento della coltura. Qui vengono nutriti con farina di grano fornita ogni due settimane
2. Acquisizione ed allevamento in laboratorio di una coltura di Copepodi fino al raggiungimento di una consistente popolazione adulta.

- Si impiegano per l'allevamento Ciclopidi dei generi *Macrocylops* o *Mesocyclops*. Sono state sperimentate diverse specie, ma solo *Macrocylops albidus* e *Mesocyclops leuckarti* sono tra quelle presenti anche in Italia
- L'allevamento iniziale viene compiuto all'interno di vasche di plastica
 - dotate di 2 aeratori
 - riempite di circa 80 litri di acqua del rubinetto
- L'acqua viene lasciata decantare 4 giorni affinché si depositi il cloro contenuto
- Dopo 4 giorni si aggiunge
 - 100 grammi di farina
 - 1 litro di coltura di parameci.
 - l'acqua viene mantenuta tra i 14 e i 31°C (l'allevamento può essere compiuto all'aperto)
 - il monitoraggio avviene quotidianamente
- Dopo la prima settimana
 - si preleva ½ litro di acqua per il controllo
 - si aggiunge ½ litro di coltura di parameci
 - il monitoraggio avviene quotidianamente
- Dopo la seconda settimana
(vedi punto precedente)
- Dopo la terza settimana
 - la vecchia farina viene filtrata
 - ne viene aggiunta di nuova.
 - il monitoraggio avviene 2 volte la settimana.
- Procedura di mantenimento
 - 2 volte alla settimana si esegue il monitoraggio
 - ogni settimana si toglie ½ litro di acqua e si aggiunge ½ litro di coltura di parameci
 - ogni due settimane si ricambia la farina

3. Sperimentazione in laboratorio di lotta biologica su alcuni recipienti campione infestati da zanzare (allevate a partire dallo stadio di uovo), alcuni dei quali contenenti anche Copepodi ed altri privi, per il confronto dei risultati.

Tale confronto avverrà sul monitoraggio del numero degli adulti di Zanzara fuoriusciti.

4. Determinazione e delimitazione di alcune zone campione del Cimitero e successiva foratura di tutti i contenitori per fiori (questo ultimo compito spetterà a tecnici specializzati forniti dal Comune).
5. Introduzione di una coltura di Copepodi all'interno della rete idrica afferente del Cimitero, attraverso l'introduzione nei serbatoi di rifornimento.
 - Propedeutico deve essere lo studio delle condizioni ambientali (temperatura dell'acqua, pH, presenza di sali disciolti, presenza di microrganismi, etc.), per appurarne l'idoneità.
 - Si introduce nell'ambiente una colonia di Copepodi e se necessario anche una colonia di protozoi, qualora non sia stata accertata la presenza di possibili prede per i primi.
 - Si esegue periodicamente un monitoraggio e un controllo della popolazione, ovviando alla situazione via via occorrente (variazione delle popolazioni dei protozoi, dei Copepodi, etc.)
6. Controllo che la coltura dei Copepodi raggiunga effettivamente tutte le fontane del Cimitero.

1.4. Incognite

1. Temperatura: i Copepodi subiranno diversi sbalzi di temperatura dal momento in cui verranno introdotti nelle cisterne (temperatura stazionaria), percorrendo le tubazioni (basse temperature), fino a giungere nei fontanili e nei vasi da fiori esposti al sole (alte temperature).
2. Verifica della tollerabilità alla variazione del pH e della durezza dell'acqua.

1.5. Tempi

La durata del progetto prevede una durata di mesi 21, a partire da Aprile, di cui

il primo anno per realizzare le colture dei Parameci e dei Copepodi, il monitoraggio della presenza della Zanzara Tigre nel Cimitero di Staglieno (per disporre di dati equiparabili) ed un'eventuale prima introduzione dei Copepodi nella rete idrica a fine estate,

il secondo anno per l'introduzione dei Copepodi nella rete idrica, il monitoraggio della popolazione di Zanzara Tigre e il successivo confronto dei dati.

Operazioni	Cronologia																				
	2002						2003														
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Gambusia</i> nei pozzi	■	■																			
Pulizia tombini	■	■	■	■								■	■	■	■						
Allestimento allevamento	■																				
Allevamento <i>Paramecium</i>		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Allevamento Copepodi				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Prova di laboratorio					?	■	?														
Inserimento Copepodi						?						■	■		?	?	?	?	?		
Scelta zone campione	■																				
Foramento vasetti												■	■	■							
Monitoraggio <i>Aedes</i>		■	■	■	■	■	■					■	■	■	■	■	■				
Monitoraggio Copepodi						■	■		■		■	■	■	■	■	■	■				
Riordino dati							■	■											■	■	
Relazione e proposta																					■

2. CAMPIONAMENTI SULLA PRESENZA DI ZANZARA TIGRE

2.1. Introduzione

Durante i mesi di luglio, agosto e settembre sono stati eseguiti una serie di campionamenti per monitorare la consistenza di *Aedes albopictus* presso il Cimitero Monumentale di Staglieno, al fine di poter conseguire, l'anno prossimo, dati confrontabili per valutare l'impatto dell'introduzione dei Copepodi.

Poiché il metodo seguito l'anno passato (2001) dall'Ufficio Tutela Animali non dette risultati soddisfacenti, sono state riproposte le modalità condotte l'anno scorso dal sottoscritto, in collaborazione con il dottor Claudio Aristarchi, durante la ricerca, presso il medesimo Cimitero, dei competitori biologici di *Aedes albopictus*.

Tale scelta ha permesso di estendere il monitoraggio anche ai dati ricavati l'anno passato. Va tuttavia aggiunto che tali dati non avevano lo scopo di monitorare l'andamento della popolazione di Zanzara Tigre, quanto piuttosto la sua semplice presenza all'interno dell'area cimiteriale. A tal fine, si è dovuto tenere presente e compensare, nel corso dei rilevamenti di quest'anno, alcune anomalie del numero dei rilevamenti.



Fig. 9

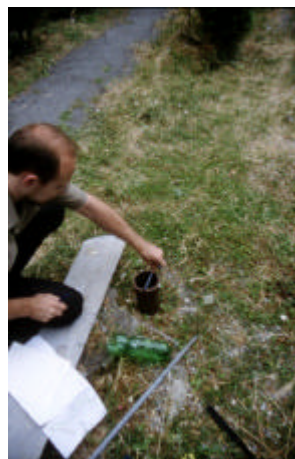


Fig. 10

2.2. Monitoraggi

Si è provveduto al campionamento dei vasetti da fiori (Fig. 9, Fig. 10) localizzati in cinque aree campione, scelte per differente tipologia di habitat, al fine di rilevare la presenza di

eventuali stadi larvali della Zanzara. Tali aree corrispondono per nome e ubicazione a quelle indicate nel lavoro testé citato.

Per ogni area sono stati monitorati 20 vasetti (tenendo conto delle anomalie dell'anno precedente), per ognuno dei quali è stato segnato: presenza o meno di stadi preimaginali di zanzara, loro stadio di sviluppo (uova, larve, ninfe), presenza di individui adulti nei paraggi, presenza ed identificazione di altre specie di insetti acquatici (Ceratopogonidi, Chironomidi, Psicodidi, etc.).

I monitoraggi (per un totale di circa 100 campioni) sono stati effettuati una volta al mese (luglio, agosto e settembre), tenendo conto delle condizioni atmosferiche.

2.3. Conclusioni

Il primo monitoraggio (luglio) ha fornito risultati analoghi a quelli espressi l'anno passato (in verità si deve rilevare un leggero aumento percentuale per tutti i settori, ma all'interno del margine di errore), tranne che per il settore del Veilino Alto (il campo più settentrionale del Cimitero), dove si è registrata una diminuzione di recipienti infestati del 40%. Questo risultato appare tuttavia dubbioso, al di là dell'evidente discordanza con gli altri settori, poiché il monitoraggio dell'anno passato fu eseguito in una stagione differente.

Alla fine del mese di settembre è stato possibile trarre qualche conclusione dallo studio dei grafici sulla presenza e la consistenza della fauna presente all'interno dei contenitori per fiori.

Tuttavia a causa della disparità dei dati (un prelievo per l'anno passato contro tre di quest'anno), le conclusioni vanno ritenute come linee tendenziali piuttosto che come risultati statisticamente significativi.

Riguardo l'anno in corso (2002) , è possibile affermare un aumento della consistenza delle larve di Zanzara durante il periodo di osservazione, con un minimo al principio di luglio e un massimo a settembre.

Già l'anno passato si era notato che la presenza di larve nei settori 1-4 (monitorata a luglio) era minore che nel settore 5B (monitorata a settembre). Ciò aveva fatto inizialmente pensare ad una peggiore condizione di quest'ultimo settore (cfr. La Zanzara Tigre (*Aedes albopictus* Skuse, 1894) presso il Cimitero monumentale di Staglieno e zone limitrofe, pag. 17).

Il monitoraggio del luglio di quest'anno aveva grosso modo confermato i risultati nei settori 1-4, ma, al contrario, aveva fornito un dato molto minore (-40% di presenze) nel settore 5B.

Ciò aveva fatto pensare ad un inspiegabile miglioramento in questo settore, fatto che era stato tuttavia considerato dubbioso e già posto in relazione al differente periodo di monitoraggio (cfr. Relazione bimestrale giugno-luglio 2002, pag. 3). Se infatti si confrontano i risultati del settore 5B per lo stesso periodo dell'anno (settembre), si ottengono valori simili.

Pertanto l'aumento di consistenza della popolazione di larve durante il corso dei mesi estivi, con un massimo in autunno, risulta confermato anche per l'anno passato.

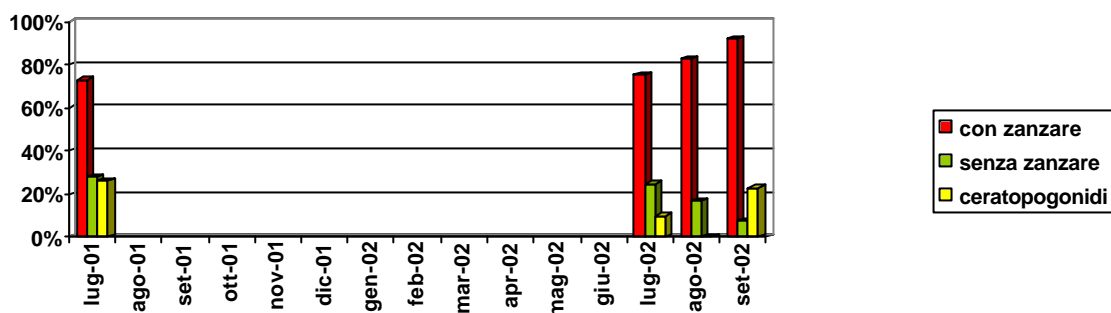
2.4. Grafici

Vengono di seguito riportati i grafici ottenuti dal rilevamento di ogni singolo settore.

Sono stati eseguiti grafici anche sulla consistenza delle popolazioni di Ditteri Chironomidi e Ceratopogonidi che vengono qui riportate, nonostante non si tratti di specie correlate significativamente alla Zanzara Tigre (cfr.: "La Zanzara Tigre (*Aedes albopictus* Skuse, 1894) presso il Cimitero monumentale di Staglieno e zone limitrofe", pagg. 22-23).

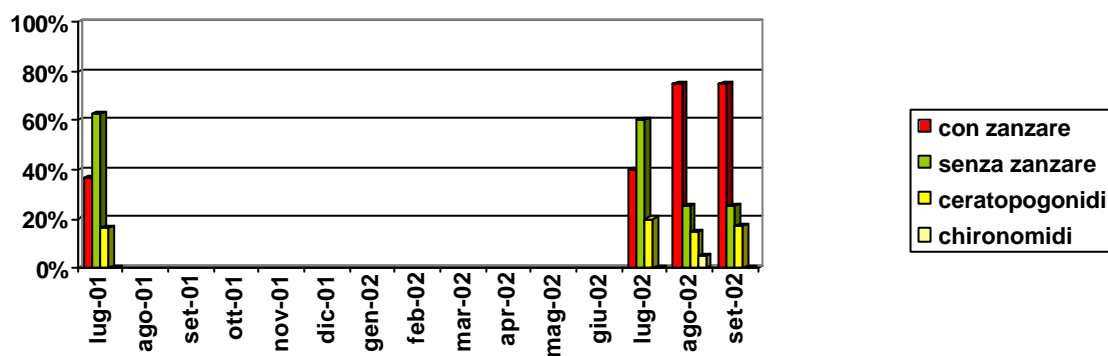
2.4.1. Settore 1A (campo dei religiosi)

	08/07/01	01/07/02	13/08/02	12/09/02
con zanzare	73%	75%	83%	92%
senza zanzare	28%	25%	17%	8%
ceratopogonidi	26%	10%	0%	23%
chironomidi	0%	0%	0%	0%



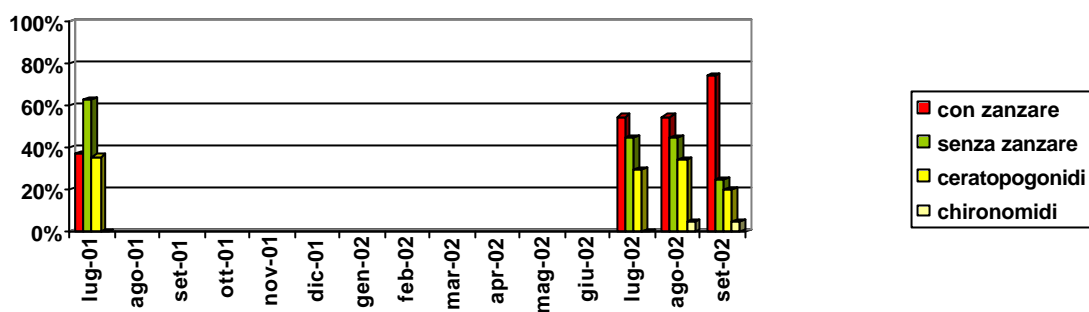
2.4.2. Settore 2D (ponte)

	16/07/01	01/07/02	13/08/02	12/09/02
con zanzare	37%	40%	75%	75%
senza zanzare	63%	60%	25%	25%
ceratopogonidi	16%	20%	15%	17%
chironomidi	0%	0%	5%	0%



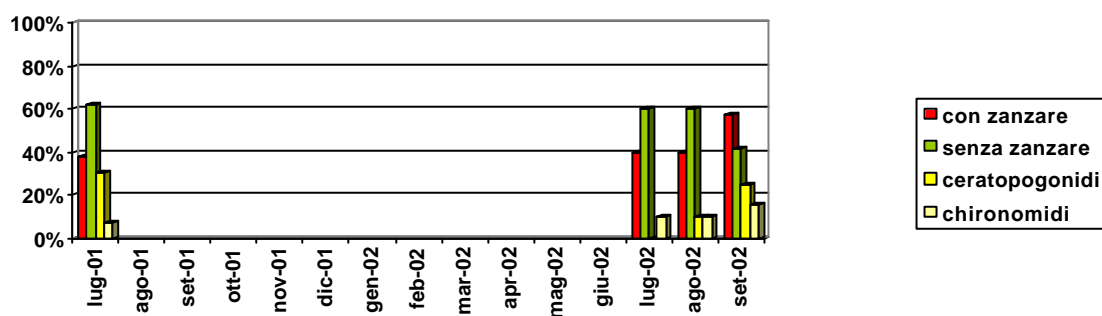
2.4.3. Settore 3B (campo dei Protestanti)

	01/07/01	01/07/02	13/08/02	12/09/02
con zanzare	37%	55%	55%	75%
senza zanzare	63%	45%	45%	25%
ceratopogonidi	36%	30%	35%	20%
chironomidi	0%	0%	5%	5%



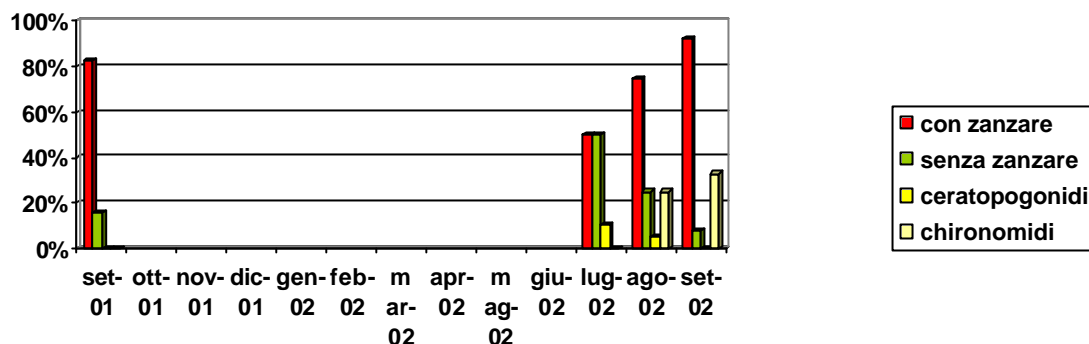
2.4.4. Settore 4C (Valletta Pontasso)

	28/07/01	01/07/02	13/08/02	12/09/02
con zanzare	38%	40%	40%	58%
senza zanzare	62%	60%	60%	42%
ceratopogonidi	31%	0%	10%	25%
chironomidi	8%	10%	10%	16%



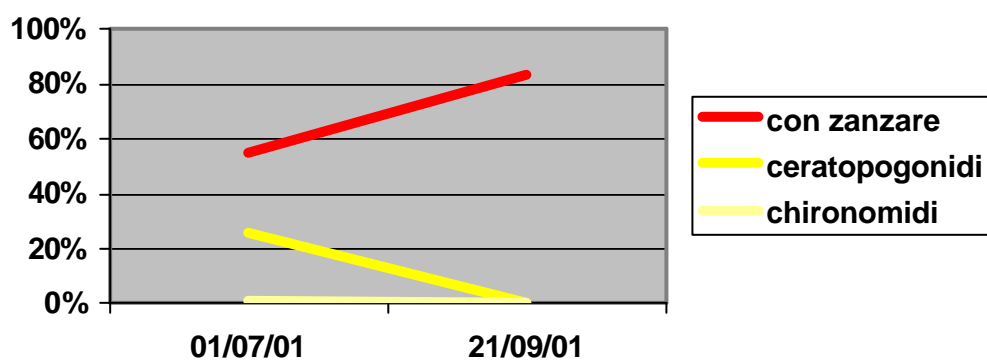
2.4.5. Settore 5B (Veilino alto)

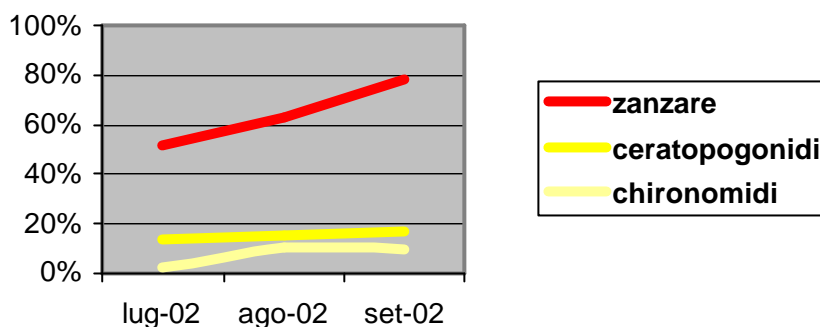
	21/09/01	01/07/02	13/08/02	12/09/02
con zanzare	83%	50%	75%	92%
senza zanzare	16%	50%	25%	8%
ceratopogonidi	0%	10%	5%	0%
chironomidi	0%	0%	25%	33%



2.4.6. Riepilogo

	01/07/01	21/09/01	01/07/02	13/08/02	12/09/02
nr. vasetti	86	12	100	86	69
con zanzare	55%	83%	52%	63%	78%
senza zanzare	45%	16%	48%	37%	22%
ceratopogonidi	26%	0%	14%	15%	17%
chironomidi	1%	0%	2%	10%	10%





I grafici di riepilogo sulla presenza della Zanzara Tigre all'interno dell'area cimiteriale di Staglieno non hanno valore statistico, data la disparità di rilevamento dei dati, ma vanno piuttosto interpretati come un andamento tendenziale, a carattere prevalentemente faunistico.

Il dato più saliente è la concordanza, nel corso dei due anni monitorati, all'aumento della presenza di stadi preimaginali di zanzare nel corso dell'estate, con un aumento di presenze nel periodo tardo estivo-autunnale. Viceversa, la presenza di altri ordini di Ditteri appare costante nel corso del periodo considerato.

Va tuttavia tenuto presente che l'elevato numero di stadi preimaginali di zanzare non è in relazione con un aumento del numero degli individui nello stesso periodo dell'anno.

Tali forme raggiungeranno lo stadio immaginale via via, nel corso della stagione invernale, se il tempo lo consentirà, altrimenti andranno incontro a diapausa. Comunque, data la ridotta capacità riproduttiva della Zanzara Tigre nel corso della stagione invernale, tale numero di forme preimaginali andrà a costituire, a tutti gli effetti, la stragrande maggioranza degli individui adulti nel corso della successiva stagione primaverile.

Di ciò sarà bene tenere presente, al fine di un'efficace intervento contro tale specie.

2.4.7. Considerazioni conclusive ai grafici

Se si paragona la presenza di zanzare nei singoli settori, nei mesi corrispondenti, si osserva una variazione percentuale congiunturale rispettivamente del +2,7% (1A), del +8,1% (2D), del +48,6% (3B), del +5,3% (4C) e del +11,8% (5B).

Oltre alla presenza, è stata anche valutata la consistenza del numero delle larve, attraverso una stima grossolana (poche: meno di 10, medie: 10-50, tante: oltre 50) che tuttavia ha fornito risultati di difficile e dubbia interpretazione.

Nonostante la consistenza dei prelievi risulti poco significativa rispetto allo numero totale di vasetti presenti nell'area (circa 100 prelievi mensili su oltre 12.000 vasetti stimati), appare tuttavia evidente riscontrare un aumento della presenza di Zanzara Tigre nel corso del 2002 per tutti i settori esaminati del Cimitero di Staglieno.

3. ALLEVAMENTO DEI COPEPODI

3.1. Coltura di Protozoi

La prima fase del progetto (vedi: Progetto Pilota, Strategia e strumenti) è stata finalizzata all'acquisizione di una coltura di Parameci al fine di fornire il nutrimento base (*pabulum*) per l'allevamento dei Copepodi.

A tal fine sono stati ricercati, tramite Internet, rivenditori specializzati nel settore che potessero fornire una coltura di base. Nonostante siano stati reperiti rivenditori negli Stati Uniti ed in Europa (Olanda: Carolina.com), le richieste di informazioni, inviate in data 5.IV.2002, non hanno sortito alcuna risposta.

Sono state quindi ricercate, nell'ambito del territorio genovese e nella vicina Toscana, pozze d'acqua contenenti specie di tal genere, ma anche questa ricerca si è rivelata infruttuosa, poiché tali specie (come altri protozoi di grosse dimensioni) sono raramente abbondanti allo stato naturale.

Si è allora ricorso al metodo classico di far macerare in acqua vegetali rinvenuti presso corsi d'acqua naturali ed a tal scopo sono state impiegate foglie e erbe rinvenute presso un ruscello dell'immediato entroterra genovese. In tal modo è stato anche possibile ottenere specie indigene del Genovesato, così da non introdurre specie non autoctone nei corsi d'acqua che verranno in futuro trattati.

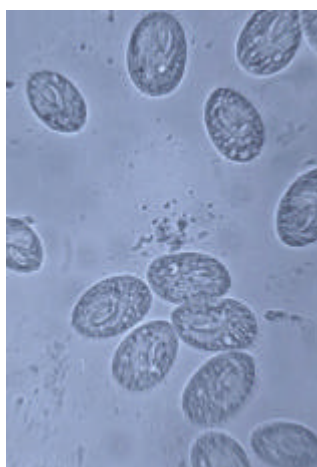


Fig. 1



Fig. 2

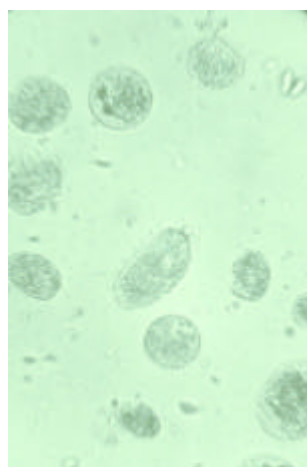


Fig. 3



Fig. 4

Tramite questo processo è stato possibile ottenere i Protozoi Ciliati *Paramecium aurelia* (Fig. 1), *Vorticella* sp. (Fig. 2), *Colpidium* sp. (Fig. 3, al centro), oltre ad una specie di Rotifero Ploimo (Fig. 4), di dimensioni analoghe (100 μ) ai sopracitati Protozoi ed alcune specie di Protozoi Flagellati e di Tecamebe (Fig. 3, in alto), non determinati, di dimensioni inferiori.

Un punto dolente si è purtroppo rivelato il mantenimento di tali colture, per la tendenza all'ipertrofia (Fig. 5) ed al successivo autoesaurimento, qualora si lasciassero semplicemente macerare i vegetali immersi, o per la tendenza a sviluppare lieviti e funghi unicellulari, a discapito dei Protozoi, qualora si fosse impiegato come nutrimento farina di grano (come previsto dal Progetto Pilota).

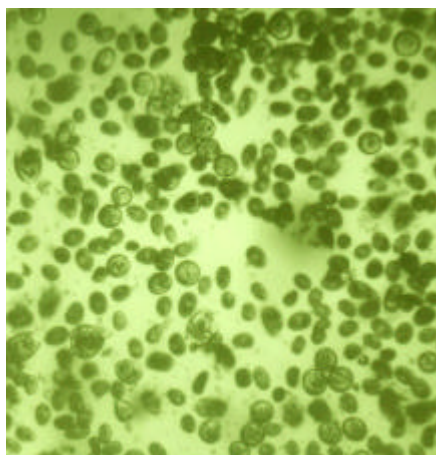


Fig. 5

Sotto questo punto, nonostante fosse attiva la coltura, non si ottenne nei primi mesi un risultato soddisfacente sotto il profilo del mantenimento di una popolazione costante di Protozoi.

Oltre a questo punto è stata approfondita la bibliografia riguardante la coltura dei Protozoi, la loro identificazione tramite coloritura chimica e la bibliografia sui Copepodi impiegabili nella lotta biologica (*Macrocyclus albidus* e *Mesocyclops leuckarti*), tramite la consultazione della biblioteca specializzata del Museo Civico di Storia Naturale di Genova e di Internet.

Sono state inoltre eseguite osservazioni microscopiche periodiche sulle colture di Protozoi ed alcune micrografie dei preparati eseguiti (Fig. 1-5).

Nel mese di giugno il Progetto Pilota (Strategie e strumenti) prevedeva il consolidamento della coltura di Parameci, al fine di fornire il nutrimento base per l'allevamento dei Copepodi.

Il mantenimento della coltura ha tuttavia presentato molteplici problemi, la cui soluzione è risultata dubbiosa.

La fornitura di farina di grano come *pabulum* per i Protozoi (come suggerito dalla Letteratura), seppure nella quantità stabilita (vedi Progetto Pilota, Strategie e strumenti, fase 2) ed in seguito anche in dosi molto più ridotte, ha sempre provocato uno sviluppo massiccio di funghi e l'ipertrofia della coltura stessa.

Si è infatti registrato, in repentina e incontrollabile successione, un massiccio sviluppo di Protozoi ed una scomparsa quasi totale di tutte le specie viventi della coltura.

I Protozoi del genere *Paramecium* e *Vorticella* si sono dimostrati più sensibili, mentre i Flagellati, i *Colpidium* ed i Rotiferi Ploimi si sono mantenuti, seppur in numero molto ridotto, anche alla fine del processo.

Come suggerito da altri Autori, si è provveduto quindi ad un ulteriore tentativo, con l'accortezza di sterilizzare la farina impiegata, attraverso previa bollitura; tuttavia anche questo secondo tentativo non si è dimostrato riuscito, per l'impossibilità pratica di mantenere sterili le colture, tenute scoperte all'aria, al fine di disperdere i cataboliti ivi prodottisi.

In ogni caso, la presenza di farina (sterilizzata o meno, in quantità standard o meno) ha sempre portato la coltura all'ipertrofia.

Va tuttavia notato che una coltura a *Paramecium* non costituisce un *climax*, e ciò è ben noto da tempo, dal momento che *Paramecium* è sempre raro da osservarsi in natura, a meno che si ricorra ad espedienti, come la macerazione di vegetali raccolti in vicinanza delle acque. A dimostrazione di ciò, *Paramecium* compare numeroso durante lo stadio della macerazione, per poi essere sostituito da altre specie più specializzate, quali ad esempio i Rotiferi, con l'evolversi dell'ambiente.

Il mantenimento di tale coltura risulta perciò artificioso e, nel corso del bimestre giugno-luglio, si è sempre dovuti a ricorrere a successive macerazioni di vegetali, per ripristinarne la popolazione.

3.2. Allevamento dei Copepodi

3.2.1. Introduzione

Nel mese di luglio, il Progetto Pilota, prevedeva lo sviluppo ed il mantenimento di una coltura di Crostacei Copepodi Ciclopidi.

Alcuni esemplari di *Macrocyclus albidus* (Jurine, 1820) (Cyclopoida, Cyclopidae, Eucyclopinae) (Figg. 1-3, adulto e particolari anatomici) sono stati rinvenuti in un corso d'acqua corrente nell'immediato entroterra di Genova. Poiché tale specie risulta essere una delle due già impiegate in letteratura nella lotta biologica e presenti nel contempo in Italia come specie indigene, si è provveduto al successivo allevamento.

Un esemplare di tale specie è stato sacrificato, al fine di realizzare un preparato microscopico che ne consentisse lo studio scientifico e la sua identificazione sistematica. A tal fine sono state anche realizzate alcune micrografie d'insieme e dei dettagli anatomici.

3.2.2. Generalità su *Macrocyclus albidus* (Jurine, 1820) (Fig. 7)

Inquadramento sistematico: ordine Cyclopoida, famiglia Cyclopidae, sottofamiglia Eucyclopinae

La famiglia Cyclopidae si caratterizza per forme non marine, la sottofamiglia Eucyclopinae per l'articolo terminale della zampa V (Fig. 7, frecce rosse) con 3 setole o spine (le altre sottofamiglie ne possiedono 4 o 2), il genere *Macrocyclus* per la zampa V biarticolata (negli altri generi monoarticolata), la specie *albidus* per la furca non setolosa al lato interno (Fig. 8).



Fig. 6

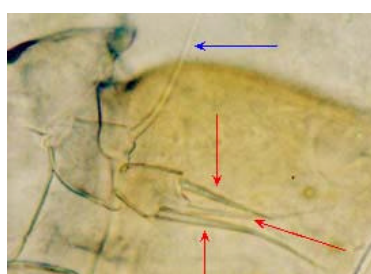


Fig. 7



Fig. 8

Descrizione: Lunghezza: maschio: 1-1,3 mm, femmina: 1,7-2,5 mm. Colore grigiastro con bande più scure sul carapace e articoli antennali anellati da colore più scuro. Sacchi ovigeri (2) con 20-25 uova ciascuno.

Sviluppo: Specie di- o monociclica, sviluppo totale in 19-24 giorni, a secondo della quantità di cibo disponibile (KLEOKOWSI & SHUSHKINA, 1966); cinque stadi naupliari e cinque di copepodite, massimo periodo di attività in estate.

Ecologia: Specie di pianura e montagna, litorale, abita pozze, acque calme o sotterranee, di preferenza chiare, che si rinnovano lentamente ed a vegetazione abbondante. Psicrostenoterma, a bassa temperatura (meno di 23°C) le femmine sono più numerose dei maschi, ad alte temperature l'inverso (MONAKOV, 1965). Si adatta a vivere a pH tra 4,4 e 9,8; le femmine sono più numerose a pH neutro, i maschi agli estremi. I raggi ultravioletti favoriscono lo sviluppo dei maschi.

Non resiste al disseccamento, a differenza di *Mesocyclops leuckarti* (Claus, 1857) (MARTEN, 1990).

Risulta tra le specie più resistenti alla presenza di inquinanti come potassio e nitrato di potassio (KALINKINA, VLASOVA & KHASOV, 1997).

É ospite intermedio di numerose specie di Nematodi Spiruridi (*Camallanus*, *Spirocamallanus*, *Philometra*, *Philometroides*, *Angullicola*), parassiti di pesci, e Ascaridi (*Contraecum*), parassiti di uccelli acquatici (ANDERSON, 2000).

Distribuzione: Cosmopolita, Nord e Sud America, Europa, Africa, Asia, Oceania, Hawaii (DUSSART, 1969). Presente in tutta Italia (PESCE, 1995).

Allevamento: La specie è stata citata come predatrice vorace di *Chlamydomonas* sp. (Flagellati), *Colpidium campilum*, *Paramecium caudatum* e *Euplotes eurystomus* (Ciliati), *Alona costata* e *Daphnia* sp. (Cladocera), planarie e oligocheti (DUSSART, 1967; DUSSART, 1969).

La specie è stata allevata in laboratorio dagli anni '60 con *Paramecium aurellia* da KLEOKOWSI & SHUSHKINA (1966) e con *Eoplotes patella* (Ciliati) e *Alona elegans* (Cladocera) da DUSSART, (1969).

Impiegata nella lotta biologica da MARTEN (1990), in Louisiana (Usa) contro gli stadi larvali iniziali di *Aedes albopictus* Skuse in pneumatici (200 trattati contro 100 non trattati), non risultò attaccare *Culex*, *Orthopodomia* e *Toxorhynchites* sul campo, mentre *Aedes* fu eliminata in uno (adulti) e due mesi (larve). Tuttavia si dimostrò efficace contro *Culex quinquefasciatus* in

Louisiana (MARTEN, NGUYEN, MASON & NGO, 2000), riuscendo a distruggere 27 larve I al giorno (prove di laboratorio) mentre ridusse la presenza di larve al 2,6 % in 4 giorni.

Fu anche registrata la vicarianza tra questa specie (frequente in primavera, autunno ed inverno) e *Gambusia affinis* (più frequente in estate), causata dall'aumento di temperatura dell'acqua.

3.2.3. Allevamento in laboratorio

L'approfondimento della letteratura riguardante *Macrocyclus albidus*, ha evidenziato che trattasi di specie cosmopolita, diffusa dal piano ai monti e molto resistente agli agenti inquinanti. A differenza di *Mesocyclops leuckarti* (l'altra specie presente in Italia impiegata nella lotta biologica), non presenta tuttavia forme di resistenza al disseccamento. Risulta inoltre già allevata in laboratorio dagli anni '60 ed utilizzata con successo in Louisiana (Usa) nella lotta biologica contro *Aedes albopictus* (MARTEN, 1990).

Il primo mese di allevamento (fine maggio-giugno) ha fornito un incremento del numero degli esemplari (qualche decina), tuttavia verso la fine del mese si è notato una stasi e poi un leggero declino, in linea con quanto già osservato da MARTEN, NGUYEN, MASON & NGO (2000) che notavano un calo di individui in relazione al periodo estivo (impiego in lotta biologica contro *Culex quinquefasciatus*, Louisiana).

Nel mese di luglio sono stati anche utilizzati tre esemplari adulti per alcune riprese cinematografiche a carattere didattico.

Durante i mesi di agosto e settembre il Progetto Pilota (Strategie e strumenti) prevedeva il consolidamento e l'ampliamento della coltura dei Copepodi *Macrocyclus albidus*.

La coltura è stata pertanto trasportata presso la sede della Gestione Fauna Urbana, Settore Affari Generali, dove è stata immessa all'interno di una vasca contenente circa 40 litri d'acqua e dotata di un ossigenatore per acquari. Ogni 15 giorni circa è stato somministrato 1 litro circa di coltura di Protozoi.

La presenza dell'ossigenatore ha impedito lo sviluppo di funghi unicellulari e l'ipertrofia, tuttavia la grande quantità d'acqua e l'impossibilità di analizzare la coltura lateralmente (i Copepodi spesso giacciono immobili sul fondo e sono molto mimetici) non ha permesso un'agevole osservazione dell'andamento dell'allevamento.

3.3. Problematiche riscontrate e conclusioni

Durante il primo anno di esperienze sono emerse le seguenti problematiche:

Risulta abbastanza semplice procacciarsi in natura, attraverso macerazione di sostanze vegetali, una popolazione iniziale di Parameci ed altri microrganismi adatti a costituire il *pabulum* per i Copepodi.

Risulta invece assai difficoltoso mantenere tale popolazione in modo consistente e costante per i seguenti motivi:

- presenza di altri microrganismi (già presenti al momento della macerazione) più evoluti e tendenti a prendere il sopravvento sui Parameci (soprattutto Rotiferi Ploimi).
- presenza di funghi unicellulari e lieviti (sempre presenti nell'aria), tendenti a portare la coltura all'ipertrofia, in relazione ad una scarsa ossigenazione della stessa.

Poiché la coltura a Parameci non rappresenta un *climax* e va perciò mantenuta artificialmente, si potrebbe ovviare al primo punto acquistando una coltura *pura* di Parameci, ed al secondo punto ricorrendo a ionizzatori dell'acqua e ad una maggiore protezione dell'allevamento.

Risulta abbastanza difficoltoso reperire specie di Copepodi adatte alla lotta biologica (le specie italiane impiegate in lotta biologica sono solo due), soprattutto a causa della scarsa quantità di acque interne in buono stato di purezza.

Il loro allevamento risulta ancora dubbioso, a causa anche della difficoltà a selezionare un *pabulum* puro, in quantità sufficiente ed esente da microrganismi dannosi ai Copepodi.

Risulta sconsigliabile un loro utilizzo nella rete idrica afferente del Cimitero, a causa dello scarso numero di esemplari ottenibili in allevamento, della scarsa possibilità di sopravvivenza nelle vasche di distribuzione (senza luce, con poco ossigeno e con scarso *pabulum*), della loro estrema dispersione attraverso la rete e della probabile difficoltà di sopravvivenza nei tubi (senza luce, ossigenazione e a temperatura troppo variabile).

Il loro utilizzo può essere invece possibile all'interno della rete idrica defluente (fontane, tombini, pozzi), ovunque non sia possibile, a causa delle ridotte dimensioni del sito, l'utilizzo delle Gambusie.

Il loro impiego sarebbe quindi complementare a quello delle Gambusie e *del Bacillium thuringensis*. In particolare, la naturale rarefazione degli individui di *Macrocyclops albidus* in

estate ed il contemporaneo aumento di attività delle Gambusie (MARTEN,1990) consiglia un loro impiego contemporaneo.

Il loro utilizzo all'interno dei vasetti portafiori appare invece sconsigliabile, a causa delle variabilissime condizioni di temperatura e di pH degli stessi, che porterebbero a sacrificare un gran numero di esemplari. Va tenuto inoltre presente che un gran numero di vasetti non è riempito d'acqua artificialmente dall'uomo, ma naturalmente, per azione delle piogge. Tale numero di vasetti, colonizzabili da parte della Zanzara Tigre ancor più che gli altri (a causa delle più tranquille condizioni), risulterebbe irraggiungibile dai Copepodi.

Per tali vasetti urge l'attuazione di una soluzione drastica (eliminazione, foramento, introduzione di spugne), che riduca o, meglio, elimini realmente la presenza dell'acqua. Altre soluzioni, come l'introduzione di barrette di rame o l'impiego di *Bacillum thuringensis*, sono solo palliative.

Nel caso si volesse iniziare uno studio di una ristretta area del Cimitero di Staglieno, in cui introdurre i Copepodi e le altre forme di lotta integrata (Gambusie, *Bacillum thuringensis*, ricondizionamento dei vasetti), lo studio dell'area ha permesso di individuare la zona 3B (Campo dei Protestanti) come adatta allo scopo.

Tale zona presenta infatti un grosso pozzo (nel Cimitero Militare Inglese sovrastante), in cui introdurre le Gambusie, alcuni vasetti da ricondizionare ed alcune fontane con tombini, in cui introdurre i Copepodi.

Tale area risulta inoltre facilmente raggiungibile dei mezzi meccanizzati per la disinfestazione col *Bacillum* ed è facilmente limitabile e definita all'interno del Cimitero, nel caso si dovessero impiegare cartelli illustrativi dell'esperimento, al fine di una più stretta collaborazione con gli utenti.

4. BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON R. C., 2000 - Nematodes parasites of vertebrates: their development and transmission
- Department of Zoology, University of Guelph, 672 pp.
- DUSSART B., 1967 - Les Copépodes des eaux continentales d'Europe Occidentale. Tome I:
Calanoides et Harpacticoides - Ed. N. Boubée & Cie, Paris, 500 pp.
- DUSSART B., 1969 - Les Copépodes des eaux continentales d'Europe Occidentale. Tome II:
Cyclopoïdes et Biologie - Ed. N. Boubée & Cie, Paris, 292 pp.
- KALINKINA N. M., VLASOVA L. I. & KHASOV A. R., 1997 - The decreasing of biodiversity in
zooplankton communities of Karelia northern lakes on the influence of mineral pollution
- Workshop Biodiversity of Fennoscandia, Petrozavodsk, Karelian Research Center,
Russian Academy of Sciences 17-20 November 1997
- MARTEN G. G., 1990 - Elimination of *Aedes albopictus* from tire piles by introducing
Macrocyclus albidus (Copepoda, Cyclopidae) – J. Amer. Mosq. Contr. Assoc. 6: 689-
693.
- MARTEN, G. G., NGUYEN M., MASON B. J. & NGO G., 2000 - Natural control of *Culex*
quinquefasciatus larvae in residential ditches by the copepod *Macrocyclus albidus* - J.
Vector Ecology 25 (1): 7-15.
- PESCE G. L., 1995 - Famiglia Cyclopidae (generi 077-094) – Checklist delle specie della fauna
italiana, 28: 19-22, Ed. Calderini, Bologna.