



## RUOLO DI *Gambusia holbrooki* NEL CONTENIMENTO DEI CULICIDI E SUO IMPATTO SULLE BIOCENOSI ACQUATICHE

Veronesi Rodolfo<sup>1</sup>, Bellini Romeo<sup>1</sup>, Celli Giorgio<sup>2</sup>

### RIASSUNTO

*Gambusia holbrooki* Baird è un pesce di piccole dimensioni originario dell'area Sud Orientale degli Stati Uniti, introdotto in Europa a partire dagli anni '20, come agente biologico in grado di contribuire alla lotta contro i vettori di malaria.

Alla luce delle esperienze accumulate in tutto il mondo, il suo ruolo nel contenimento delle popolazioni larvali di Culicidi molesti in particolari ambienti può essere riconsiderato nell'ambito di progetti territoriali di lotta.

### Cenno storico

L'utilizzo di pesci larvivori per il contenimento dei vettori della malaria risale a quasi un secolo fa (MEISCH, 1985). Un'indagine condotta, tra gli Stati membri, dall'Organizzazione Mondiale della Sanità nel 1974, mise in evidenza che *G. affinis* (BAIRD & GIRARD) è stata la specie più utilizzata e tutt'oggi è largamente impiegata nella lotta biologica alle zanzare (HAAS e PAL, 1984).

I primi tentativi di sfruttamento delle sue doti predatorie risalgono al 1901 nell'areale originario (HAWARD, 1901 - cit. in RONCHETTI, 1968); al 1905 nelle Hawaii e nelle Filippine; al 1913 a Formosa; di nuovo negli Stati Uniti nel 1918, nella zona del Mississippi; e tra 1921 e 1924, in Georgia. A partire dal 1920 venne introdotta in Spagna. Grassi nel 1922 la introdusse in Italia in alcune zone del Lazio (RONCHETTI, 1968).

Nel 1924 dall'Italia venne importata nella regione transcaucasica da dove fu progressivamente diffusa in

<sup>1</sup> Centro Agricoltura e Ambiente - Crevalcore, Bologna

<sup>2</sup> Istituto di Entomologia "Guido Grandi", Università di Bologna

altre zone meridionali e centrali dell'ex URSS. Sempre nel 1924, venne introdotta in Corsica e da qui nella Francia meridionale; in Algeria nel 1926, in Marocco nel '28, in Libia nel '31 e successivamente in molte altre zone malariche del mondo come Germania, Dalmazia, Albania, Grecia, Cipro, Siria, Egitto, Tunisia, Sudan, Africa orientale, Madagascar, Iran, India, Indocina, Cina, Giappone, Australia, Nuova Zelanda, Canada, Messico, Argentina. Grazie alla sua plasticità biologica e rusticità *Gambusia* si è così ambientata in un gran numero di Paesi delle zone temperate, subtropicali e tropicali (RONCHETTI, 1968).

Nel nostro Paese il "pesce antimalarico" conquistò rapidamente larga fama e sollevò entusiasmi sul fronte della lotta alla malaria. Così, a partire dal 1922, l'Istituto Nazionale per il Risanamento Pontino, la Direzione di Sanità, il Governatorato e la Direzione della Pesca si prestarono attivamente alla diffusione del pesce a partire dall'Agro Romano e Pontino interessando tutta la Penisola, oltre a Sardegna, Sicilia ed Istria. In molte zone, l'azione antianofelica risultò efficace durante l'intera stagione; in altre, dove le basse temperature primaverili ne ritardavano la ripresa dell'attività di predazione e della riproduzione, efficace soltanto in piena estate (SELLA, 1928). L'ambientazione fu, ad esempio, difficile nel Veneto dove l'inverno lungo e rigido decimava le popolazioni rallentandone l'azione alla ripresa primaverile (RONCHETTI, 1968).

Nel decennio 1930-1940 si continuò con l'utilizzo del pesce, sia col rafforzamento delle popolazioni ormai acclimatate, sia con nuove introduzioni.

L'azione del pesce nel controllo delle popolazioni anofeliche era legata alle condizioni degli habitats che, quando favorevoli, ne consentivano la piena espressione con risultati durevoli e a bassissimi costi. In Italia complessivamente, il giudizio relativo alla sua efficacia risultò assai positivo (GRASSI, 1923; ZAVATTARI, 1934; PALADINO-BALDINI, 1933 - cit. in RONCHETTI, 1968).

Dagli anni '40 il grande interesse sollevato dalla chimica di sintesi nella lotta agli insetti ha fatto sì che diminuisse in quasi tutto il mondo l'utilizzo di questo metodo biologico di lotta. Nuova attenzione si è registrata a partire dagli anni '70 nell'ambito dell'accresciuto interesse per la lotta biologica.

### **Inquadramento tassonomico e distribuzione in Italia**

Appartenente all'ordine *Ciprinodontiformes* e alla famiglia *Poeciliidae*, *Gambusia affinis* (BAIRD & GIRARD) veniva suddivisa in due sottospecie, *G. a. affinis* e *G. a. holbrooki*. Nella gran parte dei casi, fino a qualche tempo fa, la letteratura prendeva in considerazione in modo generico *G. affinis*. Solo recentemente *G. holbrooki* Baird è stata riconosciuta come specie separata da *G. affinis* (BLACK e HOWELL 1979; WOOTEN *et al.*, 1988). Le due specie sono molto simili, distinguibili solo dal numero di raggi della pinna dorsale, in numero di 8 nella prima e di 7 nella seconda. *G. affinis* ha come areale originario di distribuzione la zona meridionale degli Stati Uniti compresa dal Texas all'Alabama, mentre *G. holbrooki* occupa la regione compresa tra l'Alabama e il Delaware (WOOTEN *et al.*, 1988).

In Italia a oltre 70 anni dalla sua introduzione è considerata specie acclimatata, stabilmente insediata nelle acque ferme o a scorrimento lento e inserita nella checklist delle specie della fauna italiana presente su tutto il territorio nazionale incluse le piccole isole (AMORI *et al.*, 1993).

NATALI (1989) l'annovera tra la fauna ittica del lago Trasimeno e ne osserva una forte diminuzione, fin quasi alla scomparsa negli anni 1987 e 1988, probabilmente da imputare alla predazione esercitata dal persico reale (*Perca fluviatilis* L.) considerato da GANDOLFI e ZERUNIAN (1987) l'unico percide autoctono delle acque interne italiane.

MALESANI la segnala nel Lago di Garda per la prima volta nel 1973.

Nel Delta padano è indicata come presenza costante in ambienti laterali del fiume Po (lanche ed acque golenali), nei canali e nelle pozze di barena caratterizzati da forti variazioni di salinità, lungo le sponde delle sacche dove l'ambiente salmastro è influenzato da apporti di acqua dolce, e nelle valli di pesca in diretto contatto con i canali di acqua dolce che alimentano le valli stesse (GANDOLFI, 1973).

In Emilia-Romagna è segnalata in diverse provincie: in canali e in alcuni fiumi del ravennate; in provincia di Bologna nel basso corso del Reno, negli stagni e negli allevamenti ittici di pianura; nella provincia di Ferrara è diffusa nei canali irrigui, negli

stagni e negli allevamenti ittici ed infine nei canali di bonifica delle provincie di Modena e Reggio Emilia (REGIONE EMILIA-ROMAGNA, 1988).

### Biologia

*Gambusia* è caratterizzata da un evidente dimorfismo sessuale. La femmina raggiunge una dimensione di 5-6 cm, circa doppia quella del maschio. Il colore in entrambi i sessi è grigio-olivastro con la regione ventrale bianca. Nella femmina, in vicinanza della pinna anale, è caratteristica una macchia nera, più evidente durante la gravidanza. Nel maschio è tipico il gonopodio, una modificazione stiliforme della pinna anale utilizzata durante l'accoppiamento.

Specie ovovivipara, può partorire fino a 100 avannotti per parto in rapporto di 1:1 tra i sessi (GEISER, 1924; DULZETTO, 1934 - cit. in BISAZZA *et al.*, 1990) portando a termine negli ambienti temperati 4-5 gravidanze per stagione. Esiste una correlazione tra peso, lunghezza, luogo di origine delle femmine e il numero di embrioni prodotti (NAAMA e AL-HASSAN, 1989). La temperatura ottimale per la crescita degli avannotti, nel caso di buona disponibilità di cibo, è compresa tra 25 e 35°C; ma in condizioni alimentari limitate, scende a 25°C (WURTSBAUGH e CECH Jr., 1983). Nell'Italia Nord-orientale BISAZZA *et al.* (1990) hanno studiato la biologia riproduttiva di *G. holbrooki* confrontando popolazioni presenti in biotopi con diverse caratteristiche. Nelle stazioni alimentate con acqua termale, dove in inverno la temperatura dell'acqua non scende al di sotto dei 15°C, le gambusie restano in attività tutto l'anno ed entrano in riproduzione tra i mesi di febbraio e marzo. Negli ambienti dove la temperatura dell'acqua si abbassa fino al congelamento, trascorrono un periodo di quiescenza invernale e la riproduzione inizia nel mese di maggio. In tutti gli ambienti considerati, l'attività riproduttiva termina in ottobre. Il fotoperiodo e la temperatura sono fattori che influenzano lo sviluppo delle gonadi e l'inizio del periodo riproduttivo anche se il fotoperiodo, da solo, sembra avere un peso maggiore. Un altro fattore che influenza la fertilità è la disponibilità alimentare (VONDRACECK *et al.*, 1988 - cit. in BISAZZA, 1990). In prove di laboratorio, alla temperatura costante di 25°C e in condizioni di elevata disponibilità di cibo, il fotoperiodo che consente la minore mortalità di femmine mature e la maggiore prolificità è di 13

ore di luce e 11 di buio oppure, 15 ore di luce e 9 di buio (CECH *et al.*, 1989).

Degna di nota è la naturale adattabilità di *Gambusia* alle varie condizioni ambientali quali la temperatura dell'acqua, il tenore di ossigeno disciolto, la salinità e i possibili inquinanti chimici, verso i quali dimostra sopportare valori elevati.

Nei confronti della temperatura dell'acqua *Gambusia* tollera temperature anche superiori a 35°C (ma entro i 40°C) mentre, come limite inferiore non tollera valori al di sotto dei 6-7°C (CASTLEBERRY e CECH, 1987). Nei climi temperati può sopportare temperature invernali anche di diversi gradi sotto zero purchè il fondo sia melmoso da consentire l'affondamento nel fango (RONCHETTI, 1968; SELLA, 1928).

Sorprendente è la capacità di resistenza a bassi livelli di ossigeno disciolto fino a tensioni di circa 7 mmHg (CASTLEBERRY e CECH, 1987) e per aumentare gli scambi gassosi con l'aria, quando il livello è molto basso, è in grado di "schiumare" il pelo dell'acqua.

Risulta essere in grado di tollerare bene variazioni di salinità dell'acqua, specie se gradualmente. Sperimentazioni di laboratorio hanno dimostrato che una mortalità del 10% si verifica quando la salinità varia in modo brusco da 0,05% a 1,95%; mentre elevata sopravvivenza si riscontra anche a valori di salinità del 3,9% (acqua di mare) nel caso di un aumento progressivo (CHERVINSKI, 1983).

Nei confronti di ammoniaca e nitrati dimostra resistenza a livelli che risultano essere tossici per altre specie (BEESLEY *et al.*, 1986).

### Dieta

*G. holbrooki* non può essere considerato un predatore specifico di larve di zanzare. L'azione predatoria nei confronti di molte specie di organismi acquatici è alla base delle preoccupazioni espresse da diversi autori circa l'impatto negativo del pesce sulle biocenosi. La dieta è infatti costituita per lo più da crostacei e insetti, predati in proporzione variabile a seconda degli ambienti e della densità relativa di ogni gruppo tassonomico (BENCE e MURDOCH, 1986; LINDEN e CECH Jr., 1990). Tra i Crostacei, frequente è la predazione a carico di Cladoceri, (BLAUSTEIN e KARBAN, 1990), Ostracodi e Copepodi (KRAMER *et al.*, 1987). Tra gli insetti, oltre a larve di Culicidi e Chironomidi, preda stadi preimmaginali di Notonecti-

di, Corixidi, Omotteri, Odonati, Coleotteri Idrofilidi, Ditiscidi, ed Efemerotteri (FARLEY e YOUNCE, 1977b; KRAMER *et al.*, 1987; WALTERS e LEGNER, 1980).

SATO (1989), analizzando il contenuto stomacale di *G. affinis* raccolte in una palude ed in una risaia incolta, riscontrò la presenza di Cianofitee, Diatomee, Clorofitee, Protozoi, Trochelminti, Asplanchnidi, Dafnidi, Centropagidi, Euplotidi, Culicidi (larve e adulti), Chironomidi (larve e adulti), Formicidi, Odonati, Coleotteri, Lepidotteri, scaglie di pesci, crostacei, antere con polline, fibre vegetali.

In risaia non mostra preferenze verso le larve di zanzara rispetto ad altre prede (BENCE, 1985; KRAMER *et al.*, 1987).

In un esperimento svolto da CECH *et al.* (1982) in condizioni di semi-campo e di laboratorio le gambusie hanno predato tutte le specie di invertebrati messe a disposizione preferendo *Culex* e *Daphnia* a Corixidi ed Anfipodi. La preferenza è sembrata essere individuale con un comportamento di scelta verso una certa preda per un determinato periodo di tempo. Tra larve di *Culex* e *Anopheles* non sono emerse preferenze.

Il fenomeno del cannibalismo è rilevante in condizione di digiuno prolungato quando si può verificare la predazione degli adulti verso gli avannotti e, in un secondo tempo, delle femmine verso i maschi (RONCHETTI, 1968).

La dieta di *G. affinis* è stata considerata in ambienti naturali nel Sud della Francia (CRIVELLI e BOY, 1987). Nel periodo non riproduttivo (ottobre-maggio) sono risultati preferiti Copepodi e Cladoceri (*Chyrodidae* e *Daphnidae*), mentre nella stagione riproduttiva gli insetti terrestri e acquatici hanno rappresentato circa l'80% del cibo assunto. Le larve di zanzara sono risultate praticamente assenti dai contenuti stomacali ma non è chiaro quale fosse la loro distribuzione e la densità nell'ambiente studiato.

Altre osservazioni, condotte su una popolazione di gambusie presente stabilmente da 20 anni in piccoli stagni nella Riserva di Castel Porziano nel Lazio, confermano l'elevata polifagia verso organismi acquatici e terrestri. Quest'ultimi, evidentemente caduti in modo accidentale in acqua, rappresentavano una quota dal 10 al 50% dell'intero contenuto stomacale (STELLA *et al.*, 1984). Tra gli organismi acquatici prevalevano le larve di Chironomidi, tra i terrestri

Aracnidi, Coleotteri, Afidi e Neurotteri). Dalle osservazioni risulta l'assenza completa di larve di Culicidi nei bacini in cui era presente *Gambusia*.

La tabella 1 (A e B) riporta alcuni lavori inerenti l'analisi del contenuto stomacale di gambusie provenienti da diversi ambienti, confermando l'ampio spettro alimentare di *Gambusia* spp..

### Impatto sulle biocenosi acquatiche

La polifagia, l'intensa attività predatoria e in particolari casi, il contributo a fenomeni di eutrofia sono alla base dei problemi evidenziati in biocenosi in cui *Gambusia* era stata introdotta. In questo senso, sono diversi gli studi volti alla verifica degli effetti sugli equilibri biologici.

In un famoso esperimento realizzato da HURLBERT *et al.* (1972), in vasche di plastica, vennero ridotte le popolazioni di *Daphnia pulex* Leydig, Culicidi e Chironomidi fino a completa scomparsa, permettendo il temporaneo incremento numerico e varietale dei Rotiferi. In seguito alla mancanza delle prede preferite, *Gambusia* si adattò a cibarsi di Rotiferi provocando anche un loro crollo. La pressione sullo zooplancton determinò un elevato sviluppo di alghe unicellulari verdi e azzurre che, intorbidando l'acqua, ridussero la penetrazione della luce e provocarono l'innalzamento della temperatura. Il ciclo del fosforo e probabilmente di altri nutrienti venne, inoltre, alterato.

In un esperimento successivo (HURLBERT e MULLA, 1981), effettuato in pozze artificiali (4 x 6 m), *Gambusia* eliminò le popolazioni zooplanctoniche di *D. pulex* e *Ceriodaphnia* sp., ridusse fortemente *Diatomus pallidus* Herrick e *Keratella quadrata* (O.F. Müller), mentre ebbe un impatto ridotto su *Cyclops vernalis* Fischer. All'opposto causò un forte incremento dei Rotiferi (*K. colearis* [Ehrb.], *Polyarthra* sp., *Synchaeta* sp., e *Trichocerca* spp.) e di tutto il fitoplancton (alghe verdi, blu, e flagellate). Da ispezioni visive, Emitteri –quali *Microvelia* sp., *Buenoa* sp., *Notonecta* sp.– e girini dell'anuro *Hyla regilla* non si riscontrarono nelle vasche in cui era presente il pesce. Inoltre rispetto alle pozze di controllo si osservò un aumento del pH e del livello di ossigeno da mettere in correlazione con l'abbondanza del fitoplancton.

Non mancano recenti osservazioni sull'argomento. In piccoli bacini sperimentali in terra (36 m<sup>2</sup>),

Tabella 1. Dieta di *Gambusia* dall'analisi del contenuto stomacale

## A. Frequenza delle prede nel campione di pesci esaminati

N. individui esaminati	Organismi rinvenuti / % sui pesci esaminati	Ambiente	Autori
120	stomaco vuoto / 39% zooplankton / 42% zooplankton + insetti o molluschi / 28% Alghe / ? Insetti / 11% Culicidi [larve] / 7,5% Chironomidi [larve] / 16,7% Coleotteri Idrofilidi [larve] / 6,7% molluschi ( <i>Physa</i> ) / 7,5% Cestodi / 4,2% <i>G. affinis</i> / 0,8% Anisotteri, Zigotteri, Cercopidi, Corixidi, Omotteri, Tisanotteri, Cecidomidi, Stratiomidi, / < 1%	California, risaia	KRAMER <i>et al.</i> , 1988
1.343	<u>periodo non riproduttivo (ottobre-maggio)</u> Copepodi Ciclopoidi, Cladoceri Chirodidi e Dafnidi / 85% Ditteri (Chironomidi ed Empididi) [larve] / ?  <u>periodo riproduttivo (giugno-settembre)</u> Crostacei, Insetti (Ditteri [larve], Coleotteri [adulti e larve], Emitteri, Odonati, Efemerotteri) / 80% Hydracarina, Rotiferi / 11% Molluschi / 11,5% Alghe, frammenti di macrofite, detriti solidi / 25%	Francia meridionale, canali di drenaggio	CRIVELLI & BOY, 1987
110	stomaco vuoto / 17% zooplankton / 55% zooplankton + insetti o molluschi / 27% insetti / 1%	California, risaia (zizania acquatica, <i>Zizania palustris</i> L.)	KRAMER <i>et al.</i> , 1987

<p>54 (immaturi) <i>G. patruelis</i> Baird e Girard</p> <p>219 (adulti) <i>G. patruelis</i> Baird e Girard</p>	<p>Cladoceri / 40,6% Acari / 22,2% Coleotteri [adulti e larve] / 42,6% Efemerotteri [larve] / 16,6% Tricotteri [larve] / 1,8% Chironomidi / 18,5% Rotiferi / 40,7% Culicidi: <i>Anopheles</i> / 64,8% Alghe / 12,9%</p> <p>Copepodi / 4,1% Cladoceri / 10% Molluschi / 2,3% Acari / 8,7% Rincoti [adulti] / 21,5% Coleotteri [adulti e larve] / 16,9% Efemerotteri [larve] / 21,9% Tricotteri [larve] / 3,6% Chironomidi / 16,9% Rotiferi / 8,7% Culicidi: <i>Culex</i> / 20% <i>Anopheles</i> / 32,8%</p>	<p>Turkestan, risaia</p>	<p>SOKOLOV, 1936</p>
<p>400</p>	<p>fibre vegetali / 13% Alghe / 2% Copepodi / 60% Decapodi / 12% Emitteri / 16% Culicidi / 54% Coleotteri / 12% Imenotteri / 12% Acarina / 11% Pesci / 3%</p>	<p>Florida, palude salmastra subtropicale</p>	<p>HARRINGTON &amp; HARRINGTON, 1961</p>
<p>80</p>	<p>Cladoceri / 14,3% Copepodi / 7% Ostracodi / 12,7% Coleotteri [larve] / 2,9% Odonati [ninfe] / 1,7% Emitteri Corixidi / 3,7% Efemerotteri [ninfe] / 2,3% Chironomidi [larve] / 35% Culicidi [larve] / 1,6% Molluschi / 28% fibre vegetali / 14%</p>	<p>California, stagni artificiali</p>	<p>WALTERS &amp; LEGNER, 1980</p>

**B. Composizione volumetrica del contenuto stomacale**

<b>N. individui esaminati</b>	<b>Organismi rinvenuti/volume % del contenuto stomacale</b>	<b>Ambiente</b>	<b>Autori</b>
?	Cladoceri / 82%	California, stagni	MIURA et al, 1979
?	Culicidi [larve] / 5,08% Chirononidi [larve] / 13,31 % Altro / 81,61%	California, zona paludosa	FLEMING <i>et al.</i> , 1984
90 (30 maschi, 60femmine)	Copepodi / 50% Chironomidi / 30% altro ( non classific.) / 20%	Italia settentrio- nale, lago	MALESANI, 1985
?	Afidi / 2,6% Chironomidi / 54,5% Coleotteri / 8,4% Ditteri [adulti] / 3,4% Emitteri / 5,8% Imenotteri / 2,8% Molluschi / 1,3% Cladoceri / 16,1%	Italia centrale, stagni artificiali	STELLA <i>et al.</i> , 1984
400	fibre vegetali / 8% Copepodi / 9% Gammaridi / 1% Decapodi / 1% Ortotteri / 3% Emitteri / 5% Culicidi [larve e pupe] / 50% Culicidi [adulti] / 2% Coleotteri / 2% Imenotteri Formicoidei / 1% Aracnidi / 2% Uova di invertebrati / 1% Pesci	Florida, palude salmastra subtropicale	HARRINGTON & HARRINGTON, 1961

*Gambusia* ha ridotto le popolazioni di larve di Ditiscidi e Chaoboridi, nonché di neanidi di Odonati e Notonectidi (WALTON e MULLA, 1991). Mentre, in vasche sperimentali, ha determinato fioriture di Diatomee, Cianobatteri filamentosi ed alghe verdi, incremento della popolazione di Rotiferi, ed ha soppresso le popolazioni di Copepodi, Cladoceri e Chironomidi (LANCASTER e DRENNER, 1990).

In Sudan, in canali di irrigazione, ha ridotto le popolazioni degli invertebrati predatori ad esclusione dei Notonectidi. Anche il pesce *Oreochromis niloticus* subì un impatto negativo (EL-SAFI *et al.*, 1985).

In Italia, a pochi anni dalla sua introduzione, PARENZAN nel 1929, descrisse un notevole peggioramento delle caratteristiche fisiche e biologiche di alcuni bacini di piccole dimensioni nell'Istria meridionale, rispetto agli anni precedenti, quando si presentavano con acque di migliore aspetto, con fitoplancton ricco e svariato ed abbondanza di Crostacei (Cladoceri, Copepodi, Ostracodi). Tale peggioramento era legato al sovraffollamento di gambusie che avevano provocato la scomparsa dei Crostacei, la decomposizione del fitoplancton e lo sviluppo di Protozoi Infusori e Rotiferi. L'acqua era torbida e il fondo si presentava ricoperto da un detrito costituito per lo più da escrementi di gambusie. Lo stesso autore sottolineava che l'uso delle gambusie non deve essere generalizzato ma valutato sulla base delle caratteristiche delle raccolte d'acqua. Ad esempio, ne consigliava l'impiego nei bacini temporanei dove potevano controllare le larve di anofele e col prosciugamento si estinguevano esse stesse.

L'impoverimento e l'alterazione delle biocenosi appare, quindi, senz'altro un fenomeno da attribuire a *Gambusia* nel caso di ambienti acquatici instabili per le ridotte dimensioni e la variabilità stagionale del loro regime idrico.

Osservazioni recenti (STELLA *et al.*, 1984; MARGARITORA, 1990) condotte nelle "piscine" della tenuta di Castel Porziano hanno rilevato un forte impoverimento delle zoocenosi dovuto alla predazione soprattutto a carico di Cladoceri e Copepodi e la comparsa di fenomeni eutrofici favoriti oltre che dalla predazione, dalla notevole quantità di escrementi che, incentivando la crescita algale, riducevano la disponibilità di ossigeno provocando la scomparsa di tutti gli organismi più sensibili.

In ambienti umidi temporanei quali le risaie, *Gambusia* ha ridotto in modo significativo le popolazioni non bersaglio di insetti (Odonati, Corixidi, Belostomatidi, Notonectidi, Ditiscidi) e crostacei (Copepodi, Ostracodi, Cladoceri) (KRAMER *et al.*, 1988). Lo stesso effetto sullo zooplacton è stato osservato nelle lagune per la fitodepurazione delle acque reflue (CASTLEBERRY e CECH, 1990).

Uno studio condotto in risaie della California ha messo in luce gli effetti indiretti prodotti da *G. affinis* che, oltre a ridurre la densità di *Cx. tarsalis* Coquillet, ha ridotto le popolazioni di Copepodi Ciclopoidi, Cladoceri, Ostracodi ed insetti predatori di Culicidi (specialmente stadi preimmaginali di Coleotteri e Odonati) (BENCE, 1988).

L'azione predatoria nei confronti di altri predatori di zanzare può avere come risultato l'aumento del tasso di sopravvivenza larvale con il temporaneo incremento delle densità delle larve di zanzara. Questa circostanza è stata osservata in diversi lavori (HOY *et al.*, 1971; FARLEY e YOUNCE, 1977a, b) in contrasto con osservazioni compiute da WALTERS e LEGNER (1980) che in piccoli bacini di terra, con una dose di immissione di 8.957 pesci/ha, riscontrarono predazione su larve di coleotteri predatori e sullo zooplancton senza incremento delle zanzare e nemmeno fioriture di fitoplancton.

La comparsa di effetti collaterali appare largamente dipendente dalla dose di immissione. MIURA *et al.* (1984) in California hanno studiato l'impatto di *G. affinis* sull'ecosistema risaia. Immissioni di 0,22 Kg di pesce/ha non hanno prodotto effetti sulle densità di Copepodi, Ostracodi, Corixidi, Odonati, Belostomatidi, mentre hanno ridotto in modo significativo la popolazione di Cladoceri, Efemerotteri, Notonectidi e Chironomidi. BLAUSTEIN (1992) in risaia con immissioni di 2.318 gambusie/ha ha osservato riduzione significativa, rispetto alle parcelle di controllo, dei Notonectidi, mentre gli stadi preimmaginali di Efemerotteri, Coleotteri, Chironomidi e le popolazioni di microcrostacei (Copepodi, Cladoceri, Ostracodi) non hanno subito riduzioni significative.

L'analisi del possibile impatto a carico di specie ittiche è stata condotta in diversi studi. Eclatanti le osservazioni condotte da MILLER che, nel 1961, affermava come *G. affinis* fosse responsabile della scomparsa del pesce *Gasterosteus* sp. L. da molti corsi

d'acqua del Sud California (GERBERICH e LAIRD, 1985). Attribuita a *G. affinis* (DEACON *et al.*, 1964) anche la scomparsa del pesce *Rhynchtylus osculus* nella zona del lago Meaad in Nevada e di un'altra specie ittica, *Poeciliopsis occidentalis*, nella parte meridionale del fiume Colorado (MINCKLEY e DEACON, 1968). D'altra parte i fenomeni di interazioni negative interspecifiche sono sempre possibili quando si introducono specie esotiche: nell'areale di origine lo sviluppo di *G. affinis* è contrastato dalla voracità di un pecilide esotico per quell'area, *Belonesox belizanus*, la cui voracità porta a predare piccoli pesci tra cui appunto la gambusia (LACHNER, 1970 - cit. in VAINI, 1985).

Nell'ambiente del Delta del Po, *G. holbrooki* sembra avere instaurato un rapporto di concorrenza con il nono (*Aphanius fasciatus* Nardo) affermandosi numericamente e aumentando progressivamente l'area di distribuzione a scapito di questa specie autoctona la quale impiega più tempo a raggiungere la maturità sessuale, depone sulla vegetazione acquatica, una sola volta all'anno, uova facilmente predabili, ha una minore adattabilità alimentare ed è più soggetta ad attacchi parassitari (GANDOLFI, 1973).

L'impatto di *G. affinis* ha destato preoccupazioni anche nei confronti degli anfibi anuri. Sono state eseguite specifiche prove di laboratorio allo scopo di evidenziare se *G. affinis* si alimentasse preferibilmente di girini della specie *Rana aurora draytonii* rispetto a prede alternative e se quest'ultimi diminuissero il livello di attività in presenza del pesce. I risultati dell'indagine hanno evidenziato che *Gambusia* preferiva cibarsi di larve di *Cx. tarsalis* e di *Daphnia* spp. rispetto ai girini che raramente erano attaccati e consumati. Comunque la presenza di *Gambusia* provocava una diminuzione del tasso di crescita dei girini per ferimento o per danneggiamento dell'attività di foraggiamento, effetto che non si osservava più negli stadi finali. Lo stesso rischio di ferimento era ridotto in presenza di prede alternative (LAWLER e DRITZ, 1995).

### **Efficacia nei confronti delle popolazioni di zanzare moleste**

A partire dalla fine degli anni '60, numerosissime sono state le prove di campo per verificare le potenzialità di varie specie ittiche nel contenimento delle zanzare. *Gambusia* spp. è stata certamente al centro dell'interesse (LACEY e LACEY, 1990). La tipo-

logia delle raccolte d'acqua in cui le zanzare trovano condizioni idonee allo sviluppo è molto variabile e diversi sono i casi che si prestano all'impiego di questa specie. Ad esempio l'utilizzo di *Gambusia* risulta efficace in canali di scolo sotterranei (Fresno, California) nei quali per l'inaccessibilità sono ostacolati altri tipi di trattamento (MIURA e MULLIGAN, 1982; FARLEY e CATON, 1982), oppure in bacini per la fitodepurazione di acque di scolo dove risulta importante la sua tolleranza a condizioni ambientali scadenti (CASTLEBERRY e CECHE Jr., 1990).

*G. affinis* viene considerata con favore in ambiente urbano in combinazione con larvicidi piretroidi da MOHSEN *et al.* (1995). L'autore valuta l'efficacia del pesce contro *Cx. quinquefasciatus* Say, insieme e a confronto, con un larvicida piretroide, lambda-cyhalothrin, in focolai larvali artificiali costituiti da contenitori di cemento di pochi metri quadrati di superficie. Con una immissione di 50 individui/m<sup>2</sup> ottiene una riduzione di larve e pupe del 21% fino ad arrivare progressivamente al 99% dopo 24 giorni. Un'aggiunta pari a 100 individui/m<sup>2</sup> mantiene l'assenza completa di larve e pupe dal 38esimo giorno di post-trattamento fino alla fine dell'esperimento (57esimo giorno). Parallelamente, alla dose di 8 mg p.a./m<sup>2</sup> di lambda-cyhalothrin in combinazione con 50 gambusie/m<sup>2</sup>, non si osservano effetti dannosi sul pesce e si ottiene una riduzione del 100% a partire dal primo giorno di post-trattamento.

Non è mancato l'interesse nella verifica della capacità predatoria di *Gambusia* nei confronti delle zanzare rispetto ad altre specie ittiche autoctone. In Colorado è stata valutata la capacità predatoria di *G. affinis* e di un ciprinide indigeno *Fundulus zebrinus*, in stagni di ridotta dimensione colonizzati da *Cx. tarsalis*. Entrambe le specie sono risultate efficaci, durante tutta la stagione, rispetto alle pozze non trattate. *F. zebrinus* è però valutato più interessante perchè riesce a resistere ai rigori dell'inverno (NELSON e KEENAN, 1992). In California, WALTERS e LEGNER (1980) hanno studiato gli effetti dovuti all'introduzione di *G. affinis* e di *Cyprinodon macularius* Baird e Girard, sui principali elementi biotici in piccoli bacini in cui sono stati riprodotti un ambiente palustre naturale e l'ecosistema risaia. Entrambe le specie hanno ridotto le popolazioni di *Cx. tarsalis* ma *G. affinis* si è dimostrato più efficace di *C. macularius* in presenza

di riso. Gli autori concludono, comunque, che *C. macularius* può essere un sostituto di *G. affinis* nella lotta alle zanzare negli Stati Sud-Ovest degli Stati Uniti, specialmente in habitat che presentano altre specie ittiche e dove l'acqua ha oscillazioni ampie di temperatura e di salinità.

In un areale deltizio giapponese, SATO (1989) ha compiuto osservazioni di carattere ecologico sulla colonizzazione e distribuzione di *G. affinis*, a cinque anni dalla sua introduzione, e sulle relazioni competitive con un'altra specie di pesce, *Oryzias latipes*. *Gambusia* si è diffusa rapidamente colonizzando nuovi ambienti dove non si rinvenivano più larve di zanzara. La maggiore capacità di predare larve di zanzara e di espandere rapidamente le sue popolazioni, rendono *G. affinis* specie più adatta, rispetto a *O. latipes*, per il controllo culicidico.

Negli Stati Uniti, *Gambusia* è ampiamente utilizzata nei programmi integrati di lotta alle zanzare in molte aree (GARCIA e ROCHERS, 1986; JONES, 1988; HARAMIS e DOMINICK, 1990).

In tutto il mondo l'ambiente nel quale l'utilizzo di *Gambusia* ha trovato maggiore impiego è sicuramente la risaia. La presenza di acqua per diversi mesi e i movimenti cui è sottoposta per ragioni agronomiche creano un ambiente idoneo allo sviluppo culicidico. Negli Stati Uniti, è utilizzata su larga scala nelle risaie della California (MEISH, 1985; GARCIA e ROCHERS, 1986). La tabella 2 riassume gran parte delle esperienze condotte e mette in evidenza i risultati raggiunti in termini di riduzione delle densità culicidiche.

A condizionare l'efficacia, oltre alla quantità di individui introdotti, è anche l'età dei pesci. Immissioni di 6.458 individui giovani per ettaro, dal peso medio di 0,6 gr e della lunghezza media di 3,2 cm, in parcelle di risaie nell'Arkansas, a 48 ore danno luogo ad una predazione larvale molto bassa (0,6%) rispetto ad una riduzione del 100% ottenuta con individui adulti di peso medio di 1,5 gr e della lunghezza di 3,9 cm. (DAVEY et al, 1974).

A specifici lavori mirati a verificare l'efficacia di *Gambusia* nel controllo dei Culicidi negli ambienti dove era stata immessa, ne sono seguiti molti altri mirati a mettere in luce gli effetti indiretti e i limiti come agente di controllo anticulicidico.

BLAUSTEIN e KARBAN (1987) in prove sperimentali

eseguite in risaia in parcelle ricavate all'interno dell'appezzamento, hanno osservato che lo sviluppo larvale di *Cx. tarsalis*, fino allo stadio di pupa, è più veloce in presenza del pesce, così come il tasso di sopravvivenza per la maggiore disponibilità di cibo (fitoplancton, protozoi, batteri, detriti organici) mancando la competizione esercitata dallo zooplancton che è ridotto in densità dalla predazione esercitata da *Gambusia*.

I risultati ottenuti in ambienti simili non sono univoci a dimostrazione della complessità dei fattori che interagiscono sullo sviluppo culicidico e sull'attività di predazione.

BLAUSTEIN di recente (1992) utilizzando dosi elevate di immissione del pesce (2.318 individui/ha) in parcelle all'interno di risaie non ha ottenuto differenze significative rispetto alle parcelle di controllo.

In risaie coltivate a riso selvatico (*Zizania palustris* L.) non si è ottenuto un controllo larvale sufficiente con immissioni di 0,6 e 1,7 Kg/ha di gambusie (in questo caso si è stimato che un Kg di gambusie era costituito da 1.000 individui) (KRAMER et al., 1987). Gli stessi ricercatori, in esperimenti eseguiti successivamente negli stessi ambienti hanno riscontrato invece buoni risultati a diverse dosi di immissione del pesce (1,1 e 3,4 Kg/ha) con o senza l'ausilio di trattamenti a base di *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* De Barjac (KRAMER et al., 1988).

In aree delle regioni paleartiche, dove in un recente passato si sono verificate epidemie malariche, il ruolo di *Gambusia* è stato considerato importante per la riduzione delle densità di *Anopheles*. Esperienze in cui sono stati ottenuti risultati positivi a seguito dell'introduzione di *G. affinis* sono riportate da HADJINICOLAOU e BETZIOS in Grecia, TABIBZADEH et al. in Iran (cit. in MEISCH, 1985), INCI et al. in Turchia (1992), MARUASHVILLI (1990) in Georgia.

#### **Attuale utilizzo in Italia**

Dopo le campagne coordinate di introduzione del pesce, condotte fino agli anni '40, l'avvento del D.D.T. ha relegato in secondo piano il suo ruolo. L'uso delle gambusie interessò situazioni isolate di anofelismo come nel caso della tenuta di Castel Porziano nel 1963 contro *An. melanoon* Hackett ed *An. maculipennis* s.s. Hackett e Missiroli che colonizzavano piccoli stagni e dove l'efficacia del controllo fu

**Tabella 2. *Gambusia affinis* come agente di controllo biologico nei confronti di larve di Culicidi** (Tratto da *Journal of the American Mosquito Control Association* - Supplement # 2, June 1990, modificata e integrata).

Quantità immessa individui/ha	Ambiente	Specie bersaglio	Riduzione% densità larve - periodo di controllo	Autori
13.500 27.000 54.000	Louisiana - risaia	<i>Ps. confinnis</i>	86 - 2 sett. 87 96	CRAVEN & STEELMAN, 1968
500 2.500	California - risaia	<i>Cx. tarsalis</i>	95 - 11 sett. 99	HOY & REED, 1970
250 500	California - risaia -	<i>Cx. tarsalis</i>	82 - 12 sett. 82	HOY & REED, 1971
2.200 6.700	Arkansas - risaia	<i>Ps. confinnis</i>	72 - 36 ore 100 - 48 ore	DAVEY <i>et al.</i> , 1974
100-50.000	Uzbekistan - risaia	<i>An. hyrcanus</i> <i>An. pulcherrimus</i> <i>Cx. pusillus</i> <i>Cx. pipiens</i> <i>Un. unguiculata</i>	96,4 - 100 -	ZAIÑIEV & MUMINOV, 1983
1.600	California - parcelle di riso -	<i>An. freeborni</i>	72 - 120 giorni	BLAUSTEIN & KARBAN, 1985
280	California - risaia	<i>Cx. tarsalis</i>	49 - 7 sett.	STEWART <i>et al.</i> , 1983
930 2.800	California - parcelle di riso	<i>An. freeborni</i> <i>Cx. tarsalis</i>	+53 (a) - 18 -	CECH Jr. & LINDEN, 1987
600 1.700	California - parcelle di riso selvatico	<i>Cx. tarsalis</i> <i>An. freeborni</i> <i>An. franciscanus</i>	0	KRAMER <i>et al.</i> , 1987
225	California - risaia	<i>Cx. tarsalis</i>	42 - 11 sett.	MIURA <i>et al.</i> , 1984
1.100 3.400	California - parcelle di riso selvatico	<i>Cx. tarsalis</i> <i>An. freeborni</i> <i>An. franciscanus</i>	89 - 10 sett. 90	KRAMER <i>et al.</i> , 1988

1.600 <i>G. affinis</i> 1.600 <i>Lepomis</i> <i>cyaneus</i>	California - risaia	<i>An. freeborni</i>	86 - 120 giorni	BLAUSTEIN & KARBAN, 1985
0,75 Kg	California - risaia	<i>Cx. tarsalis</i> <i>An. freeborni</i> <i>An. franciscanus</i>	80	GARCIA <i>et al.</i> 1990
1.100 3.400	California - parcelle di riso selvatico	<i>Cx. tarsalis</i> <i>An. freeborni</i> <i>An. franciscanus</i>	89 - 10 sett. 90	KRAMER <i>et al.</i> , 1988
50.000	India - risaia	?	significativa - 42 gg.	DAS & PRASAD, 1991
?	India - risaia	<i>An. annularis</i> <i>An. subpictus</i> <i>An. nigerrimus</i> <i>An. barbirostris</i> <i>An. aconitus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> <i>Cx. bitaeniorhynchus</i> <i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>Aedes</i> sp.	87,8 - 150 gg.	PRASAD & PRASAD, 1993

(a) incremento nel numero di larve di zanzara

completa (VALENTI, 1964).

Soltanto di recente sono riportate esperienze localizzate di utilizzo del pesce contro le specie di Culicidi moleste, come l'introduzione in stagni alla periferia di Lodi (BARLASSINA e GOBBO, 1985), in canali di irrigazione in provincia di Ravenna (FERRARI e ARGNANI, 1993). Nel 1986 un nucleo di 2.000 esemplari fu introdotto nel Lago Grande e nel canale che attraversa la palude nei Laghi di Avigliana in Piemonte (ROLANDO e PALESTRINI, 1989) ma non si hanno dati relativi all'acclimatemento.

Viene inoltre impiegata, con speciale deroga alla L.R. n.11 del 22/02/93, che ne vieta l'immissione nelle acque interne della regione Emilia-Romagna, nel Progetto regionale di lotta ai Culicidi nelle zone turistiche costiere del delta del Po, esclusivamente in risaia e bacini chiusi (BELLINI e VERONESI, 1994;

VERONESI *et al.*, 1995).

### Conclusioni

Nonostante non manchino esempi di scarsa efficacia, resta indubbia l'azione che *Gambusia* può svolgere come mezzo di controllo anticulicidico all'interno di progetti di lotta integrata alle zanzare.

La delicatezza dei rapporti che sostengono le biocenosi acquatiche e l'osservazione di effetti collaterali negativi in seguito alla sua immissione in alcuni ambienti hanno richiesto approfondite verifiche del suo comportamento.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità la eliminò dall'elenco delle specie larvivore raccomandate nel 1980 per poi riabilitarla due anni dopo (WHO, 1982 - cit. in GERBERICH e LAIRD, 1985).

L'argomento continua ad essere oggetto di di-

battuto all'interno della comunità scientifica. Di recente, entomologi e ittiologi hanno messo a confronto diversi punti di vista in un dibattito che ha confermato quanto lontano sia una visione unanime sull'argomento (RUPP, 1996).

Su posizioni di cautela prudentiale sono le normative della Regione Piemonte (L.R. n°7 del 18/02/81) e della Regione Emilia-Romagna (L.R. n°11 del 22/02/93) in materia di fauna ittica e pesca che, viste le finalità di salvaguardia del patrimonio ittico, ne vietano l'immissione nelle acque interne.

Gli effetti di destabilizzazione osservati in alcuni ambienti messi a contatto con *Gambusia* riguardano biotopi particolarmente vulnerabili per le piccole dimensioni e la conseguente fragilità delle biocenosi presenti. Il fenomeno limite della "sovrasaturazione" è legato in particolar modo a bacini piccoli e completamente isolati. In genere l'aumento della concentrazione del pesce, porta al contenimento naturale delle popolazioni di *Gambusia* per effetto feed back, in seguito alla diminuzione delle risorse alimentari, nonché per l'instaurarsi di fenomeni di cannibalismo.

Elevate densità di larve di Culicidi si riscontrano frequentemente in ambienti con biocenosi assai semplificate selezionate dalla qualità scadente dell'acqua o immature, dove le popolazioni non sono sottoposte, o lo sono in misura lieve, a pressione predatoria. È questo il caso di ambienti allagati temporaneamente per l'azione di attività produttive come le vasche di decantazione delle acque di lavorazione dell'industria agro-alimentare (ad es. vasche degli stabilimenti saccariferi) o le risaie che possono essere definite un agroecosistema umido temporaneo, distrutto alla fine di ogni ciclo colturale. In questi ambienti l'introduzione di *Gambusia* fornisce risultati apprezzabili senza provocare, per contro, effetti ecologicamente negativi. La sua azione è comunque sempre da considerare ausiliaria in un contesto di lotta biologica integrata e può avere efficacia alterna durante la stagione qualora vengano modificate le condizioni ambientali (ad es. variazioni del livello d'acqua, l'aumento della vegetazione acquatica che può offrire riparo alle larve).

In genere l'utilizzo di *Gambusia* risulta più adatto nella lotta contro *Culex* ed *Anopheles* mentre non garantisce risultati sufficienti contro le specie che ovidepongono sul terreno umido soggetto ad inonda-

zioni per svilupparsi rapidamente in modo sincrono in seguito all'allagamento. Questo è quanto verificato nelle risaie dell'Arkansas dove la coltura del riso prevede, per tutto il ciclo, asciutte e successive sommersioni e quindi la gambusia non si presta al controllo di *Psorophora columbiae* (Dyar & Knab) (DAVEY e MEISCH, 1977a). Ciò vale anche per le risaie della pianura Padana nei confronti di *Ae. caspius* (Pallas) (BELLINI *et al.*, 1994). Nel periodo iniziale della coltura prima dell'allagamento definitivo, si susseguono 2-3 periodi di asciutta e sommersione che permettono alle uova di questa specie deposte sul suolo di schiudere ad ogni allagamento del bacino e dare origine a popolazioni larvali spesso numericamente molto elevate che richiederebbero quantità di pesce insostenibili.

Nel caso delle risaie, l'epoca di immissione è condizionata anche dalla forte pressione chimica cui è sottoposta la coltura. Le gambusie introdotte fin dall'inizio con il primo allagamento, potrebbero concentrarsi e mantenersi durante le fasi di asciutta nelle canalette perimetrali, dove spesso permane acqua, se la stessa sopravvivenza non fosse compromessa dalla tossicità dei prodotti fitosanitari. L'integrazione tra pesce e trattamenti larvicidi a base di *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* sembra al momento la strategia di lotta da preferire. Se necessario ed in presenza di forti infestazioni larvali un trattamento larvicida è a volte necessario anche subito dopo l'introduzione del pesce prima che la sua azione si esplichia appieno.

Infine, uno dei possibili problemi da affrontare riguarda l'approvvigionamento del pesce. Per piccole quantità il problema si supera effettuando raccolte direttamente nei luoghi accessibili in cui è presente. In questi casi l'operazione è il più delle volte poco impegnativa se si adotta un retino a maglia sufficientemente fine con manico allungabile. Altra fonte di approvvigionamento è rappresentata dagli allevamenti ittici che essendo spesso infestati da *Gambusia* dispongono a fine ciclo di buone quantità di materiale. Tuttavia in questi casi, il reperimento è legato al ciclo di allevamento delle specie pregiate e quindi non sempre la disponibilità coincide con le esigenze del programma di lotta anticulicidico. Nel caso di introduzioni su larga scala che richiedono un numero elevato di individui in gran parte in età riproduttiva all'inizio della stagione primaverile, la strada può essere quella della

raccolta autunnale, stabulazione invernale in appositi ambienti e riutilizzo nella primavera successiva. Ricorrere ad allevamenti razionali, come avviene negli Stati Uniti dove si sono realizzate forme intensive di allevamento (DAVEY e MEISCH, 1977b; DOWNS, 1986; FONTAINE *et al.*, 1984; GALL *et al.*, 1980; HOY, 1985), sembra al momento fuori luogo per il nostro Paese.

#### BIBLIOGRAFIA

- AMORI G., ANGELICI F.M., FRUGIS S., GANDOLFI G., GROPPALE R., LANZA B., RELINI G., VICINI G., 1993. - Checklist delle specie della fauna d'Italia. Vertebrata. - In: S., (Eds.). Checklist delle specie della fauna italiana, Minelli A., Ruffo S., La Posta. Calderini, Bologna, pp.110.
- BARLASSINA C., GOBBO C. 1985. *Gambusia affinis* (Baird et Girard): un tentativo di lotta biologica alle larve di zanzara in provincia di Milano. *Disinfestazione*, **3** (2): 10.
- BEESELY C., DOWNS C., FONTAINE R.E., CECH J.J. Jr. 1986. Influence on flow rate on *Gambusia affinis* growth rate and water quality. *Proc. & Papers Ann. Conf. Calif. Mosq. Vector Control Assoc.*, **53**: 107-110.
- BELLINI R., VERONESI R., 1994. Il programma di lotta ai Culicidi nelle località costiere della regione Emilia-Romagna inserite nel Parco del Delta del Po. *Atti XVII Congresso nazionale italiano di Entomologia, Udine 13-18 giugno 1994*, pp. 795-798.
- BELLINI R., VERONESI R., RIZZOLI M., 1994. Efficacy of various fish species (*Carassius auratus* [L.], *Cyprinus carpio* [L.], *Gambusia affinis* [Baird and Girard]) in the control of rice field mosquitoes in Northern Italy. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, **19** (2): 87-99.
- BENCE J. 1985. Behavioral responses of predators to prey abundance: learning and population dynamic consequences. *Bull. Ecol. Soc. Amer.*, **66**: 140.
- BENCE J.R., 1988. Indirect effects and biological control of mosquitoes by mosquitofish. *J. Appl. Ecol.*, **25**: 505-521.
- BENCE J.R., MURDOCH W.W. 1986. Prey size selection by the mosquitofish: relation to optimal diet theory. *Ecology*, **67** (2): 324-336.
- BISAZZA A., ZULIAN E., MERLIN E. 1990. Note sulla biologia riproduttiva di *Gambusia holbrooki* nell'Italia Nord-orientale. *Riv. Idrobiol.*, **29** (1): 151-162.
- BLACK D.A., HOWELL W.H. 1979. The North American mosquitofish, *Gambusia affinis*: a unique case in sex chromosome evolution. *Copeia*, 509-513.
- BLAUSTEIN L. 1992. Larvivorous fishes fail to control mosquitoes in experimental rice plots. *Hydrobiologia*, **232**: 219-232.
- BLAUSTEIN L., KARBAN R. 1985. Effects of mosquitofish on mosquito abundance in rice fields. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp.57-58.
- BLAUSTEIN L., KARBAN R. 1987. Larvivorous predators and zooplankton: indirect effects on mosquitoes in rice fields. *Proc. & Papers Ann. Conf. Calif. Mosq. Vector Control Assoc.*, 55, 120.
- BLAUSTEIN L., KARBAN R. 1990. Indirect effects of the mosquitofish *Gambusia affinis* on the mosquito *Culex tarsalis*. *Limnol. Oceanogr.*, **35** (3): 767-771.
- CASTLEBERRY D.T., CECH Jr.J.J. 1987. Selected larvivorous fish for mosquito control in wastewater. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp.30-32.

- CASTLEBERRY D.T., CECH Jr. J.J. 1990. Mosquito control in wastewater: a controlled and quantitative comparison of pupfish (*Cyprinodon nevadensis amargosae*), mosquitofish (*Gambusia affinis*) and guppies (*Poecilia reticulata*) in sago pondweed marshes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **6** (2): 223-228.
- CECH JR. J.J., BOTSFORD L.W., VONDRACEK B., LINDEN A.L., WAINWRIGHT T., KOPE R. 1982. Bioenergetic model of mosquitofish predation on mosquito larvae. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp. 52-54.
- CECH Jr. J.J., LINDEN A.L. 1987. Comparative larvivorious performances of mosquitofish, *Gambusia affinis*, and juvenile sacramento blackfish, *Orthodon microlepidotus*, in experimental paddies. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **3** (1): 35-41.
- CECH JR. J.J., SCHWAB R.G., COLES W.C., BRIDGES B.B. 1989. Dietary and fotoperiodic effects on mosquitofish reproduction. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp. 29-31.
- CHEVINSKI J., 1983. Salinity tolerance of the mosquito fish, *Gambusia affinis* (Baird and Girard). *J. Fish Biol.*, **22**: 9-11.
- CRAVEN B.R., STEELMAN C.D. 1968. Studies on a biological and chemical method of controlling the dark rice field in Louisiana. *J. Econ. Entomol.*, **61**: 1333-1336.
- CRIVELLI A.J., BOY V. 1987. The diet of mosquitofish *Gambusia affinis* (Baird & Girard) in Mediterranean France. *Rev. Ecol. Terre Vie*, **42**: 421-435.
- DAS M.K., PRASAD R.N. 1991. Evaluation of mosquito fish *Gambusia affinis* in the control of mosquito breeding in rice fields. *Indian J. Malariol.*, **28** (3): 171-178.
- DAVEY R.B., MEISCH M.V., GRAY D.L., MARTIN J.M., SNEED K.E., WILLIAMS F.J. 1974. Various fish species as biological control agents of the dark rice field mosquito in Arkansas rice fields. *Environ. Entomol.*, **3**: 823-826.
- DAVEY R.B., MEISCH M.V. 1977a. Control of dark ricefield mosquito larvae, *Psorophora columbiae* by mosquitofish, *Gambusia affinis* and green sunfish, *Lepomis cyanellus*, in Arkansas ricefields. *Mosq. News*, **37**: 258-262.
- DAVEY R.B., MEISCH M.V. 1977b. Low maintenance production studies of mosquitofish, *Gambusia affinis* in Arkansas. *Mosq. News*, **37**: 760-763.
- DAVEY R.B., MEISCH M.V., GRAY D.L., MARTIN J.M., SNEED K.E., WILLIAMS F.J. 1974. Various fish species as biological control agents for the dark ricefield mosquito in Arkansas ricefields. *Environ. Entomol.*, **3**: 823-831.
- DEACON J.E., HUBBS C., ZAHURANEC B.J. 1964. Some effects of introduced fishes on the native fish fauna of Southern Nevada. *Copeia*, **2**: 384-388.
- DOWNES C.W., BEESLEY C., FONTAINE R.E., CECH Jr. J.J. 1986. Operational mosquitofish production: brood stock management. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp. 86-88.
- EL-SAFI S.H., HARIDI A.A.M., EL RABAA F.M.A. 1985. The impact of the exotic fish *Gambusia affinis* (Baird and Girard) on some natural predators of immature mosquitoes. *J. Trop. Med. & Hyg.*, **88**: 175-178.
- FARLEY D.G., CATON J.R. 1982. A preliminary report on the use of mosquitofish to control mosquitoes in an urban storm drain system. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp.57-58.
- FARLEY D.G., YOUNCE L.C. 1977a. Stocking date versus efficacy of *Gambusia affinis* in Fresno County rice fields. *Proc. Cal. Mosq. Vector Control Assoc.*, **45**: 83-86.
- FARLEY D.G., YOUNCE L.C. 1977b. Effect of *Gambusia affinis* (Baird & Girard) on selected non-target organism in Fresno County rice fields. *Proc. Calif. Mosq. Vector Control Assoc.*, **45**: 87-94.
- FERRARI R., ARGNANI C. 1993. Utilizzo di *Gambusia holbrooki* nella lotta biologica alle larve di zanzara in Romagna. *Disinfe-stazione*, **10** (2): 31-34.
- FLEMING K.J., SCHOOLEY J.K., GRANT C.D., COMBS J.C., COYKENDALL R.L., LUSK E.E., WASHINO R.K. 1984. Foraging patterns and prey selection by marsh fish. *Proc. & Papers fifty-second Ann. Conf. Calif. Mosq. Control Assoc., Inc., January 29 thru February 1, 1984, Long Beach, California*
- FONTAINE R.E., CECH J.J., BEESLEY C. 1984. Progress in intensive culture of mosquitofish. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp. 69-70.
- GALL A.E., DAWNS C., MONACO G. 1980. Technology for mass production of *Gambusia*. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, p.78.
- GANDOLFI, G. 1973. Primi dati sul popolamento ittico nelle acque interne del Delta padano. *Acta Natur.*, **9**: 409-417.
- GANDOLFI G., ZERUNIAN S. 1987. I pesci delle acque interne italiane: aggiornamento e considerazioni critiche sulla sistematica e la distribuzione. *Atti Soc. It. Sc. Nat. Mus. civ. St. Nat. Milano*, **128** (1-2): 3-56.
- GARCIA R., ROCHERS B. 1986. Studies of the development of an integrated mosquito control strategy for the Foll River Mills Area. *Proc. & Papers Ann. Conf. Calif. Mosq. Vector Control Assoc.*, **53**: 57-62.
- GARCIA R., VOIGT W.G., HAYES A., COLWELL A.E., WOODWARD D.V., ANDERSON N.L. 1990. Integrated control of mosquitoes. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp. 51-53.
- GERBERICH J.B., LAIRD M. 1985. Larvivorous fish in the biocontrol of mosquitoes, with a selected bibliography of recent literature. In: *Integrated Mosquito Control Methodologies, (Vol. 2). Biocontrol and other innovative components and future directions. M. Laird and J.W. Miles, (Eds.) Academic Press, London*, pp. 47-76.
- HAAS R., PAL R. 1984. Mosquito larvivorous fishes. *Bull. Ent. Soc. Am.*, **30**: 17-25.
- HARAMIS L.D., DOMINICK H.J. 1990. Pesticide use by Illinois

- abatement districts. *Proc. Illinois Mosq. Vector Control Assoc.*, **1**: 31-36.
- HARRINGTON JR. R.W., HARRINGTON E.S. 1961. Food selection among fishes invading a high subtropical salt marsh: from onset of flooding through the progress of a mosquito brood. *Ecology*, **42** (4): 646-666.
- HOY J.B. 1985. Experimental mass-rearing of the mosquitofish, *Gambusia affinis*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **1** (3): 295-298.
- HOY J.B., REED D.E. 1970. Biological control of *Culex tarsalis* in a California rice field. *Mosq. News*, **30** (2): 222-230.
- HOY J.B., REED D.E. 1971. The efficacy of mosquitofish for control of *Culex tarsalis* in California rice fields. *Mosq. News*, **31** (4): 567-572.
- HOY J.B., O'BERG A.G., KOUFFMAN E.E. 1971. The mosquitofish as a biological control agent against *Culex tarsalis* and *Anopheles freeborni* in Sacramento Valley rice field. *Mosq. News*, **31**: 146-152.
- HURLBERT S.H., MULLA S. 1981. Impact of mosquitofish (*Gambusia affinis*) predation on plankton communities. *Hydrobiologia*, **83**: 125-151.
- HURLBERT S.H., ZEDLER J., FAIRBANKS D. 1972. Ecosystem alteration by mosquitofish (*Gambusia affinis*) predation. *Science*, **175**: 639-641
- INCI R., YLDIRIM M., BAGCI N., INCI S. 1992. Biological control of mosquito larvae by mosquitofish (*Gambusia affinis*) in the Batman-Siirt area. *Turkiye Paraz. Dergisi*, **16** (2): 60-66.
- JONES C.J. 1988. A survey of the use of biological control of mosquitoes by Mosquito Control Districts in Florida, with comments on mosquito and other pest arthropod prevalence. *J. Fl. Anti Mosq. Assoc.*, **59** (1): 22-27.
- KRAMER V.L., GARCIA R., COLWELL A.E. 1987. An evaluation of the mosquitofish, *Gambusia affinis*, and the inland silverside, *Menidia beryllina*, as mosquito control agents in California wild rice fields. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **3**: 626-632.
- KRAMER V.L., GARCIA R., COLWELL A.E. 1988. An evaluation of *Gambusia affinis* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as mosquito control agents in California wild rice fields. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **4**: 470-478.
- LANCASTER H.F., DRENNER R.W. 1990. Experimental mesocosms study of the separate and interaction effects of phosphorus and mosquitofish (*Gambusia affinis*) on plankton community structure. *Can. J. Fish. & Aquat. Sc.*, **47**: 471-479.
- LACEY L.A., LACEY C.M. 1990. The medical importance of riceland mosquitoes and their control using alternatives to chemical insecticides. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* - Supplement # 2, pp. 93
- LAWLER S.P., DRITZ D.A. 1995. Assessing the direct and indirect effects of the mosquitofish (*Gambusia affinis*) on the tadpoles of a declining species of amphibian, the red-legged frog (*Rana aurora draytonii*). In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp. 50-52.
- LINDEN A.L., CECH JR. J.J. 1990. Prey selection by mosquitofish (*Gambusia affinis*) in California rice fields: effect of vegetation and prey species. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **6**: 115-120.
- MALESANI V. 1985. La gambusia (*Gambusia affinis* Baird et Girard) nel Garda. *Atti Mus.civ. St. nat. Trieste*, **37** (3): 235-246.
- MARUASHVILLI G.M. 1990. [Prophylaxis of malaria by ecologically safe methods]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni*, **4**: 3-4.
- MARGARITORA F.G. 1990. Influenza di *Gambusia affinis* sulla struttura e dinamica dei popolamenti zooplanctonici degli stagni di Castel Porziano (Lazio). *Riv. Idrobiol.* **29** (3): 747-762.
- MEISCH M.V. 1985. *Gambusia affinis affinis*. In: - Biological control of mosquitoes. H.C. Chapman (ed.). *Am. Mosq. Control Assoc. Bull. n. 6.*, pp 3-17.
- MINCKLEY W.L., DEACON J.E. 1968. Southwestern fishes and the enigma of "endangered species". *Science*, **159**: 1424-1432.
- MIURA T., MULLIGAN III F.S. 1982. Mosquitofish for control of mosquitoes in underground drains. In: *Mosquito Control Research - Ann. Rep. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res.*, pp. 55-56.
- MIURA T., TAKAHASHI R.M., STEWART R.J. 1979. Habitat and food selection by the mosquitofish, *Gambusia affinis*. In: *Proc. & Papers Forty-seventh Ann. Conf. Calif. Mosq. Vector Control Assoc., Inc. January 28-31, 1979, Grant, C.D. (ed.) Burlingame, California,* , 120 pp.
- MIURA T., TAKAHASHI R.M., WILDER W.H. 1984. Impact of the mosquitofish (*Gambusia affinis*) on a rice field ecosystem when used as a mosquito control agent. *Mosq. News*, **44**: 510-517.
- MOHSEN Z.H., OUDA N.A., HASHIM A.K., ZAYIA H.H. 1995. Combined larvicidal efficacy of lambda-cyhalothrin and larvivorous fish (*Gambusia affinis*) against *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *J. Vector Ecol.*, **20** (2): 164-167.
- NAAMA A.K., AL-HASSAN L.A.J. 1989. Note on the potential brood size of mosquito fish, *Gambusia affinis* (Baird & Girard) collected from Iraq and Egypt (Pisces). *Boll. Mus. reg. Sc. nat. Torino*, **7** (1): 117-123.
- NATALI M. 1989. La fauna ittica del Lago Trasimeno: aggiornamento al 1988. *Riv. Idrobiol.*, **28**: 1-2.
- NELSON S.M., KEENAN L.C. 1992. Use of an indigenous fish species, *Fundulus zebrinus*, in a mosquito abatement program: a field comparison with the mosquitofish, *Gambusia affinis*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **8** (3): 301-304.
- PARENZAN P. 1929. Saturazione delle acque da parte delle Gambusie e danni che ne derivano. *Boll. Pesca, Piscic., Idrobiol.*, **5**: 1040-1047.
- PRASAD H., PRASAD R.N. 1993. Control of mosquito breeding through *Gambusia affinis* in rice fields. *Indian J. Malariol.*, **30** (2): 57-65.
- REGIONE EMILIA-ROMAGNA. 1988. Specie ittiche esotiche in Emilia-Romagna. Regione Emilia-ROMAGNA, *Assessorato Scuola, Cultura, Sport e tempo libero, Grafiche Zannini Bologna*, pp.56.

- REGIONE EMILIA-ROMAGNA. 1993. Tutela e sviluppo della fauna ittica e regolazione della pesca in Emilia Romagna. L.R. n. 11, 22 febbraio 1993.
- REGIONE PIEMONTE. 1981. Norme per la tutela e l'incremento del patrimonio ittico e per l'esercizio della pesca nelle acque della regione Piemonte. L.R. n. 7, 18 febbraio 1981.
- ROLANDO A., PALESTRINI C. 1989. Il controllo biologico delle popolazioni di insetti. Il caso dei Culicidi dei laghi di Avigliana. *Parco Naturale dei Laghi di Avigliana*, pp.28.
- RONCHETTI G. 1968. L'azione antianofelica dei pesci del genere *Gambusia*, utilizzati per la lotta biologica contro la malaria. *Natura*, **LVIII**: 25-41.
- RUPP H.R. 1996. Forum: adverse assessments of *Gambusia affinis*: an alternate view for mosquito control practitioners. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **12** (2): 155-166.
- SATO H. 1989. Ecological studies on the mosquito fish, *Gambusia affinis* for encephalitis control with special reference to selective feeding on mosquito larvae and competition with the medaka, *Oryzias latipes*. *Japan. J. Trop. Med. Hyg.*, **17** (2): 157-173.
- SELLA M. 1928. I pesci larvifagi e l'esperimento di campagna antimalarica con le Gambusie a Rovigno d'Istria. *Boll. Pesca, Piscic., Idrobiol.*, **4** (2): 174-197.
- SOKOLOV N.P. 1936. L'acclimatation du *Gambusia patruelis* en Asie central. *Riv. Mal.*, **15** (5): 325-344.
- STELLA E., DI GIROLAMO I., DELL'UOMO G., RIVOCCHI I. 1984. Osservazioni sulla distribuzione di *Gambusia affinis* (Baird e Girard, 1854) negli ambienti umidi naturali di Castel Porziano a 20 anni dalla loro immissione. *Riv. Idrobiol.*, **23** (2-3): 173-186.
- STEWART R.J., SCHAEFER C.H., MIURA T. 1983. Sampling *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) immatures on rice field treated with combination of mosquitofish and *Bacillus thuringiensis* H-14 toxin. *J. Econ. Entomol.*, **76**: 91-95.
- VAINI F.A. 1985. Introduzione di specie ittiche esotiche nelle acque interne: storia, motivazioni, aspetti ecologici e sanitari. *Riv. Ital. Piscic. Ittiop.*, **20** (4): 118-126.
- VALENTI M. 1964. Impiego delle Gambusie per il controllo dell'anofelismo residuo a Castel Porziano (Roma). *Riv. Mal.*, **43**: 50-62.
- VERONESI R., DONATI L., BELLINI R. 1995. Studio sulle specie di zanzare nocive nell'area del Delta del Po e sul loro contenimento. *Quad. Staz. Ecol. civ. Mus. St. nat. Ferrara*, **9**: 261-273.
- VONDRACEK B., WURTSBAUGH W.A., CECH J.J. 1988. Growth and reproduction of the mosquitofish, *Gambusia affinis*, in relation to temperature and ration level: consequences for life history. *Env. Biol. Fish.*, **21**: 45-57.
- WALTERS L. L., LEGNER E.F. 1980. Impact of the desert pupfish, *Cyprinodon macularius*, and *Gambusia affinis* on fauna in pond ecosystems. *Hilgardia*, **48** (3): 1-18.
- WALTON W.E., MULLA M.S. 1991. Integrated control of *Culex tarsalis* larvae using *Bacillus sphaericus* and *Gambusia affinis*: effect on mosquitoes and nontarget organisms in field mesocosms. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, **16**: 203-221.
- WOOTEN M.C., SCRIBNER K.T., SMITH M.H., 1988. Genetic variability and systematics of *Gambusia* in the southeastern United States. *Copeia*, 283-289.
- WURTSBAUGH W.A., CECH Jr. J.J. 1983. Growth and activity of juvenile mosquitofish: temperature and ration effects. *Am. Fisheries Soc.*, **112**: 653-660.
- ZANĀEV S.A., MUMINOV M.S. 1983. [The delarvation effectiveness of *Gambusia* in rice fields of the engineering type in the Uzbek SSR] . *Meditinskaya Parazitologiya i parazitarnye Bolezni*, **4**: 74-77.