

R. ROSSI PORZIO

## **Analisi delle risposte elettrofisiologiche e comportamentali a stimoli odorosi in *Periplaneta americana* (L.)**

### INTRODUZIONE

Nella ricerca del cibo gli insetti analizzano una serie di informazioni provenienti dall'ambiente in cui vivono. Su questa enorme quantità di messaggi il sistema sensoriale agisce da filtro, escludendo i dati inutili e limitando l'input a elementi significativi (Dethier, 1970). Naturalmente il processo varia da specie a specie e dalle diverse abitudini alimentari e di vita di ciascuna.

Nel presente lavoro è stata analizzata soltanto la sensibilità dei chemiorecettori olfattivi antennali di *Periplaneta americana* (L.) ad alcuni oli essenziali e ad essenze artificiali.

Gli assoni delle cellule sensoriali delle antenne terminano, come risulta da esperimenti di degenerazione dei tessuti nervosi (Ernst et al., 1977), nei glomeruli deutocerebrali e nel lobo dorsale del lato corrispondente. Nel deutocerebro (che è costituito da due lobi uniti tra loro da una commessura trasversa), i glomeruli sono l'unico punto di connessione sinaptica. Al loro interno terminano, con caratteristiche arborizzazioni, i processi di numerosi gruppi di neuroni deutocerebrali, che prendono contatto con le terminazioni degli assoni delle cellule recettrici sensoriali.

Il gioco delle connessioni è complesso. I singoli neuroni deutocerebrali raccolgono le stimolazioni di numerose cellule recettrici, ma a sua volta ciascun assone delle cellule recettrici si dirama e trasmette il messaggio a più neuroni contemporaneamente. Dal deutocerebro si originano due fasci di fibre che si congiungono ai calici dei corpi pedunculati corrispondenti e ai lobi laterali del protocerebro.

Ponendo un elettrodo di registrazione direttamente nel deutocerebro e stimolando contemporaneamente i sensilli antennali con i diversi oli essenziali ed essenze artificiali, si è potuto verificare quali di queste sostanze siano capaci di produrre un'eccitazione a livello periferico; eccitazione che immediatamente si ripercuote sull'attività del deutocerebro. Questo metodo fornisce un'elaborazione, attuata dal sistema nervoso centrale, della somma dei potenziali dei singoli neuroni olfattivi antennali.

Successivamente è stata effettuata una serie di prove comportamentali su individui di allevamento per vedere se le sostanze capaci di stimolare i

sensilli delle antenne mostrassero anche attività attrattiva o repellente; l'apparecchiatura di registrazione indica infatti la recezione, ma non la natura dello stimolo.

Nell'ambito del sistema di controllo delle popolazioni dannose indicato come 'lotta etologica', un attrattivo potrebbe venir utilizzato, ad es., come additivo all'insetticida nella preparazione di esche avvelenate, come innescio per trappole o richiamo di insetti (nel nostro caso le blatte) in un'area limitata su cui effettuare un trattamento tradizionale concentrato e quindi meno incisivo sull'ambiente. Un repellente è invece efficace nel prevenire e limitare le infestazioni; abbinato opportunamente all'azione di un attrattivo, può portare ad un'esaltazione di effetto.

I metodi elettrofisiologici, che hanno avuto grande importanza nello studio dei feromoni sessuali (Roelofs e Comeau, 1971), sono stati scarsamente impiegati per analizzare le relazioni tra insetti e substrati alimentari. Mentre per le molecole odorose di significato biologico preciso, come i feromoni, esistono recettori specializzati (Boeckh et al., 1965) che, quando eccitati, inducono nel soggetto una precisa risposta comportamentale, per gli odori dei cibi, anche in insetti strettamente monofagi, i recettori deputati alla percezione sono, nella maggior parte dei casi, di diverso tipo e meno specializzati (Waldow, 1977).

Anche per *Periplaneta americana*, polifaga, si ha una situazione del genere. Sass (1978) ha esaminato le risposte elettrofisiologiche dei diversi sensilli chemiorecettori del blattoideo a vari campioni di cibo come banana, arancio, limone, lattuga, carne e ha concluso che nessun tipo di recettore esaminato rispondeva specificatamente ad un solo cibo. Evidentemente ogni campione conteneva sostanze incluse negli spettri di risposta di diversi sensilli. Si è perciò dedotto che il riconoscimento di uno specifico odore non dipende da un composto chiave, ma piuttosto dall'integrazione delle varie stimolazioni effettuata a livello del sistema nervoso centrale.

## MATERIALI E METODI

### *Procedure preliminari*

Per ciascuna serie di dati sono stati utilizzati sei adulti di *Periplaneta americana* allevati con una dieta mista di lattuga, frutta ed estruso di farina di frumento e soia.

Ogni individuo è stato tagliato al mesotorace in due parti e ricoperto (tranne le appendici antennali) con cera, quindi fissato su un vetrino portaoggetti; un'antenna (la sinistra) è stata recisa alla base.

Il taglio all'altezza del mesotorace garantisce un buon mantenimento della funzionalità del cervello e quindi della conducibilità elettrica delle stimolazioni, per almeno due ore dall'inizio dell'esperimento; la cera, immobilizzando il preparato, evita possibili interferenze, dovute al movimento dell'insetto (soprattutto dell'apparato boccale), con gli elettrodi di registrazione.

Gli esperimenti sono stati eseguiti a una temperatura variabile tra i 20° e i 23°C.

### *Tecnica di registrazione*

Dopo diversi tentativi, il metodo più efficace per registrare le risposte elettrofisiologiche dell'insetto alle diverse sostanze odorose è risultato quello di inserire un elettrodo di argento clorurato nel deutocerebro del blattoideo attraverso l'apertura creata in seguito al taglio dell'antenna sinistra. Un secondo elettrodo, di riferimento, viene invece posto, attraverso l'apertura del torace, nell'emolinfa, in prossimità del vaso dorsale.

I due elettrodi vengono quindi collegati con i due ingressi di un oscilloscopio (Tektronik mod. 5115). La traccia, che compare sul video dell'oscilloscopio, espressione dell'attività elettrica del deutocerebro dell'insetto, può essere memorizzata sul video dell'apparecchiatura e fotografata con apposita macchina (Tektronik mod. C5B). L'intero set-up, eccetto l'oscilloscopio, è racchiuso in una gabbia di Faraday di maglie di ottone, collegata a terra, allo scopo di eliminare i segnali elettrici estranei che potrebbero disturbare la registrazione.

### *Preparazione degli elettrodi*

I due elettrodi di filo d'argento di 0,1 mm di diametro, lunghi 4 cm, vengono immersi in una soluzione di acido nitrico diluito (una goccia in 100 ml di acqua distillata) per 10 min e risciacquati con acqua distillata.

Vengono quindi smaltati, con comune smalto da unghie, ad eccezione dei 3 mm distali, che è necessario sottoporre a clorurazione.

Questa operazione, effettuata per mezzo di un alimentatore stabilizzato, prevede due fasi: a) fase della corrente inversa; b) fase della clorurazione.

a. F a s e d e l l a c o r r e n t e i n v e r s a. Si immergono gli elettrodi smaltati in una soluzione di acido cloridrico al 36% 0,1 N e si collegano al catodo dell'alimentatore. L'anodo è collegato ad un secondo elettrodo d'argento in soluzione. Dopo pochi secondi, fornendo correnti molto basse (0,02 ampères) all'estremità non smaltata del catodo si formano bollicine di idrogeno.

L'operazione, che viene interrotta non appena compaiono le bollicine,

ha lo scopo di eliminare dalla superficie degli elettrodi eventuali cariche negative residue.

b. Fase della clorurazione. Si collegano gli elettrodi all'anodo e si fa passare una corrente di circa 0,02 ampères. Gli ultimi 3 mm, non smaltati, degli elettrodi si caricano positivamente e richiamano a sé gli ioni  $Cl^-$  presenti in soluzione; sulla loro superficie si deposita un sottile strato di cloruro d'argento ( $AgCl_2$ ). L'operazione viene interrotta dopo 15 min.

### Sostanze saggiate

E' stato saggiato l'effetto stimolante su antenna di *Periplaneta americana* dei seguenti oli essenziali ed aromi artificiali, potenzialmente attrattivi (ananas, arancio dolce, banana, mela, menta, noce moscata, sassofrasso, wintergreen<sup>(1)</sup>) e repellenti (carvi, finocchio, sandalo), secondo quanto indicato da Cole (1932) relativamente a *Blatta orientalis* (L.). Le sostanze, di purezza superiore al 95%, sono state cortesemente fornite dal Dr G. Ceresa della Ditta Esperis di Milano, che si ringrazia vivamente per la collaborazione.

#### Oli essenziali

arancio dolce  
carvi  
finocchio  
menta  
noce moscata  
sandalò  
sassofrasso  
wintergreen<sup>(1)</sup>

#### Essenze natural-simili

ananas  
banana  
mela

Con il nome di "essenze natural-simili" vengono comunemente indicate miscele di sostanze sintetiche contenute negli aromi naturali. La loro composizione è la seguente:

ananas	banana	mela
acetato di amile	acetato di amile	butirrato di butile
arancio	arancio	formiato di etile
butirrato di butile	butirrato di butile	mandarino
fenilacetato di etile	caproato di allile	valerianato di amile
mandarino	formiato di etile	
vanillina	mandarino	
	valerianato di amile	

(1) Si tratta dell'olio di gemme di betulla, che si può ottenere anche dalle foglie di *Gaultheria procumbens* (Ericacea).

Ricordo che nel 1932 Cole aveva studiato con un olfattometro la reazione comportamentale di *Blatta orientalis* (L.) a numerosi estratti e oli essenziali, concludendo che l'estratto di banana, di mela e di ananas e l'olio essenziale di arancio mostravano una spiccata attrattività, mentre numerosi altri oli essenziali sembravano repellenti. In seguito è stata messa in luce la capacità di numerosi estratti di cibo di stimolare i sensilli chemiorecettori di *Periplaneta americana* (Waldow, 1977; Sass, 1978), ma niente era stato fatto in questo senso riguardo agli oli essenziali.

I singoli prodotti sono stati diluiti in olio di paraffina al 5% in volume, pipettati su un disco di carta da filtro di cm 1 di diametro e inseriti in una siringa ipodermica da ml 10. Un 'puff' di aria di ml 10 contenente la sostanza in esame veniva introdotto per mezzo dell'ago della siringa, in una corrente d'aria costante (1 l/min), continuamente filtrata e umidificata, che terminava a circa 1 cm di distanza dagli articoli prossimali dell'antenna del blattoideo.

Le stimolazioni, effettuate con le modalità suddette, si sono susseguite ad intervalli di tre min, tempo necessario a garantire una completa ricarica dell'antenna e ad evitare l'insorgenza di fenomeni di saturazione.

Nel rilevamento delle risposte si è tenuto conto dell'ampiezza media dei potenziali, espressa in mV. Nel tempo intercorrente tra una stimolazione e l'altra era ben visibile un'attività elettrica di base che si manteneva costante per tutta la durata della prova. Per verificare se l'entità della risposta tendeva a diminuire nel corso dell'esperimento, l'antenna veniva sollecitata alternativamente con due sostanze e con lo standard, acetato di amile al 5%, prodotto altamente stimolante (Schafer, 1977; Norris e Hsien-Ming Chu, 1974).

### *Prove comportamentali*

Dieci adulti di *Periplaneta americana* venivano posti, senza cibo né acqua, in una cassetta di plexiglas trasparente di cm 15x15x10, collegata, per mezzo di due tunnel di plexiglas di cm 5 di lunghezza e di cm 2 di diametro, con due box, sempre della stessa materia, ben oscurati con un rivestimento esterno di cartone nero, ciascuno di cm 15x15x10.

In entrambi i box vi erano acqua, cibo e un riparo a forma di cono rovesciato contenente un rettangolo di carta da filtro, che, in un caso, era trattato con ml 0,02 di olio di paraffina, nell'altro con la stessa quantità di soluzione al 5% della sostanza in esame.

Gli scarafaggi, fortemente lucifughi, si trovavano così a dover operare una scelta, tra i due box, del luogo più idoneo per annidarsi. I controlli sono stati effettuati dopo 15 min, 1 h, 6 h e 24 h, cercando di disturbare il meno possibile gli insetti. Per ogni sostanza in esame la prova è stata ripetuta due volte con differenti individui.

## RISULTATI

*Analisi delle risposte a concentrazioni crescenti di acetato di amile per la scelta della concentrazione ottimale da utilizzare come standard*

Sono state saggiate su sei individui nove differenti concentrazioni di acetato di amile (cfr. p. 43) in olio di paraffina (tab. 1). L'analisi della varianza delle risposte elettrofisiologiche ha messo in evidenza un effetto significativo sia del fattore 'concentrazioni' sia del fattore 'individui' (tab. 2).

*Tab. 1 – Risposte elettrofisiologiche (mV) di sei adulti di Periplaneta americana a nove concentrazioni di acetato di amile.*

Acetato di amile (%)	Adulto n. 1		Adulto n. 2		Adulto n. 3		Adulto n. 4		Adulto n. 5		Adulto n. 6	
	Prova		Prova		Prova		Prova		Prova		Prova	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>										
0 (test)	0	0,6	0,2	0,5	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0
0,05	0,2	0,6	0,2	0,6	0,3	0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2
0,1	0,5	0,6	0,3	0,8	0,2	0,4	0,2	0,2	0,3	0,1	0,2	0,4
0,5	0,5	0,9	2	0,5	0,3	0,9	0,5	0,6	0,8	0,1	0,8	0,8
1	2	2,1	1	1	0,9	0,8	0,9	0,7	0,6	0,7	0,6	0,4
5	1,3	0,9	3,1	2,9	1,1	0,9	1,1	1	1,9	2	2,4	2
10	2	1,8	4	3,5	1,6	0,8	1,7	0,9	1,7	2,8	3,2	2,4
20	2,4	1,1	2,9	3,1	1,2	0,4	1,6	1,6	1,4	1,8	2,8	2
100	2,8	0,5	2,4	3,2	0,9	0,4	1	1	2,8	2	3	2,8

*Tab. 2 – Analisi della varianza delle risposte elettrofisiologiche di sei adulti di Periplaneta americana a nove differenti concentrazioni di acetato di amile.*

Sorgenti di variazione	g.l.	Devianze	Varianze	F
Totale	107	105,2452		
Concentrazioni	8	61,0719	7,6340	44,56**
Individui	5	15,3230	3,0646	17,89**
Interazione	40	19,6004	0,4900	2,86**
Errore	54	9,2500	0,1713	

I valori di F contrassegnati con due asterischi sono significativi per  $P = 0,01$ .

Il rilevamento di due risposte per ciascuna unità sperimentale ha permesso inoltre di calcolare l'interazione 'concentrazioni-individui', che si è rivelata significativa. Ciò starebbe a indicare che la reattività individuale non ha un effetto additivo con lo stimolo (le rette d'azione che esprimono le risposte di sei individui alle nove concentrazioni non sono statisticamente parallele (fig. 1). Si è proceduto ciò nonostante ai confronti tra le risposte medie alle nove concentrazioni secondo il criterio di Duncan (tab. 3).

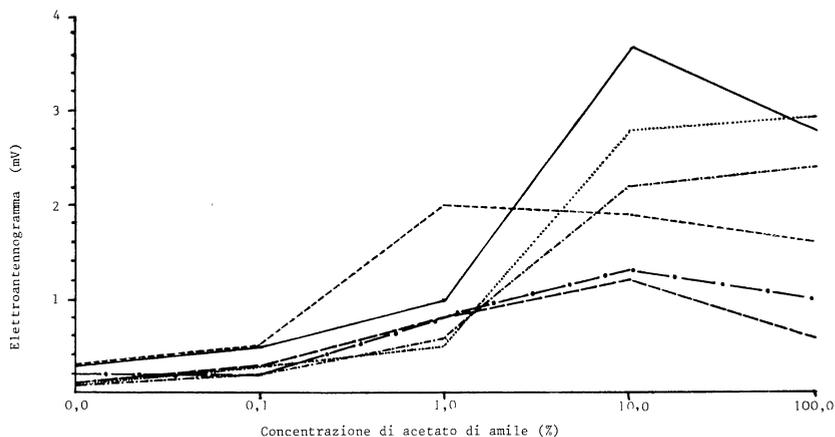


Fig. 1 — Rette d'azione che esprimono la risposta elettrofisiologica di sei adulti di *Periplaneta americana* a differenti concentrazioni di acetato di amile in scala logaritmica.

Osservando i risultati del test di Duncan si può facilmente dedurre che la risposta cresce con l'aumentare della concentrazione fino al valore del 5%, oltre il quale non aumenta più in maniera significativa. Sulla base di questo risultato è stata fissata al 5% la concentrazione dell'acetato di amile (standard). Si è cercato di stabilire anche la relazione funzionale intercorrente tra le risposte medie dei sei individui (tab. 3) e la concentrazione dello standard.

Tab. 3 — Analisi della varianza delle risposte elettrofisiologiche di sei adulti di *Periplaneta americana* a nove differenti concentrazioni di acetato di amile.

Concentrazioni (%)	Medie (mV)	Test di Duncan
0	0,1833	c
0,05	0,2500	c
0,10	0,3500	c
0,50	0,7250	c
1	0,9750	b c
5	1,7250	a b
10	2,2000	a
20	1,8583	a
100	1,9000	a

Le medie contrassegnate con lettere diverse differiscono significativamente per  $P = 0,05$ .

A tal fine si è posto:

$x$  = concentrazione di acetato di amile

$y = \frac{x}{z}$  (dove  $z$  è la risposta media)

ed è stata studiata la regressione lineare della  $y$  sulla  $x$ .

I parametri della funzione  $y = a + bx$  sono risultati:  $a = 0,1554$ ;  $b = 0,5242$  con un coefficiente di correlazione lineare  $r = 0,9998$ .

Combinando la funzione ottenuta  $y = 0,1554 + 0,5242 x$  con l'equazione  $y = \frac{x}{z}$  si ottiene

$$z = \frac{x}{0,1554 + 0,5242 x}$$

dove  $z$  rappresenta la risposta media alle varie concentrazioni di acetato di amile.

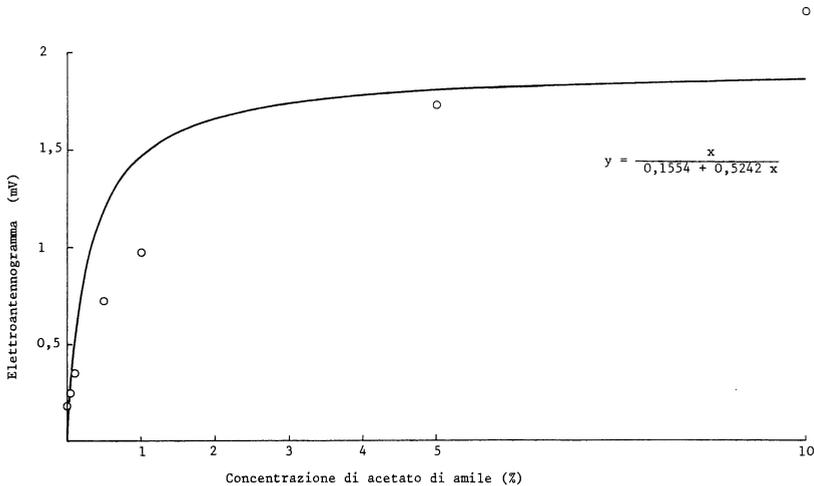


Fig. 2 — Regressione della risposta media di sei adulti di *Periplaneta americana* sulle concentrazioni di acetato di amile. I punti indicano i dati sperimentali.

Dall'esame del grafico che esprime la relazione trovata (fig. 2) si può dedurre che le risposte sono molto basse alle concentrazioni più piccole, crescono rapidamente a quelle medie e non aumentano più sensibilmente quando la concentrazione supera il 5%. Ciò fa pensare a un fenomeno di saturazione, peraltro molto diffuso in biologia nello studio della relazione tra concentrazione ed effetto biologico.

*Decadimento della risposta di acetato di amile nel tempo e differenze tra sessi.*

Per verificare se la risposta ad acetato di amile 5% decadeva nel tempo e se vi erano differenze di comportamento tra adulti di *Periplaneta americana* di sesso maschile e di sesso femminile è stata fatta l'analisi della varianza sulle misure all'oscilloscopio di sei individui (3 ♀♀ e 3 ♂♂) rilevate durante un periodo di tempo di h 1.42 ad intervalli di min 9 (tab. 4).

Tab. 4 — Risposte elettrofisiologiche (mV) di sei adulti (3♂♂ e 3♀♀) di *Periplaneta americana* ad acetato di amile 5% rilevate durante un periodo di tempo di h 1.42 ad intervalli di 9 min.

Tempo in min	n. 1 (♂)	n. 2 (♀)	n. 3 (♂)	n. 4 (♀)	n. 5 (♂)	n. 6 (♀)
3	2	1,8	1	1,6	0,8	2,8
12	2	1,3	0,4	1	1	2
21	3,2	0,8	1,6	2	1,2	2,2
30	2	1,1	1	1,2	1,2	1,6
39	2,8	1,6	0,4	2,4	0,8	1,8
48	1,8	2	1,2	2	2	2
57	2,8	0,8	1,1	0,5	1,8	1,8
66	1,8	1,2	1	0,8	2,2	1,8
75	2	0,5	0,8	0,5	2	1,4
84	2	1,2	0,6	0,6	1,2	1,4
93	1,6	0,8	1,2	0,7	1,6	1,2
102	1,8	1	0,6	0,5	1	1,2

Come risulta dalla tab. 5 i valori dell'F non sono significativi né fra tempi né fra sessi. L'esame delle risposte ai diversi composti e oli essenziali può essere quindi effettuato prescindendo dal sesso e da un eventuale decadimento della risposta stessa.

Un'analisi preliminare che verificasse l'eventuale differenza tra le risposte dei due sessi era indispensabile. È stato infatti messo in luce da Schafer e Sanchez (1976) un dimorfismo sessuale nella distribuzione degli organi di senso sulle antenne degli adulti del genere *Periplaneta*. Generalmente i maschi hanno più sensilli chemiorecettori di contatto delle femmine e un

numero quasi doppio di sensilli olfattivi. Questa differenza sarebbe tuttavia da mettere in relazione con la maggior complessità del comportamento maschile nella fase di corteggiamento che precede l'unione dei sessi.

*Tab. 5 - Analisi della varianza delle risposte elettrofisiologiche di sei adulti di Periplaneta americana (3♂♂ e 3♀♀) ad acetato di amile 5% rilevate a intervalli di 9 min durante un periodo totale di tempo di h 1.42.*

Sorgenti di variazione	g.l.	Devianze	Varianze	F
Totale	71	29,0566		
Tempi	11	4,8335	0,4394	0,89
Sesso	1	0,0142	0,0142	0,02
Interazione	11	0,5768	0,0524	0,10
Errore	48	23,6321	0,4923	

*Analisi delle risposte di Periplaneta americana a oli essenziali ed essenze artificiali.*

E' stata analizzata l'attività elettrofisiologica del deutocerebro di *Periplaneta americana* attraverso le risposte a stimolazioni dell'antenna indotte dagli otto diversi oli essenziali e dalle tre essenze natural-simili indicati a pag. 42.

Ciascuna delle undici sostanze in esame è stata somministrata alla concentrazione del 5% in olio di paraffina, secondo i criteri precedentemente illustrati, a sei individui (tab. 6). La successione nella quale le sostanze venivano immesse nella corrente d'aria è stata la seguente: standard (acetato di amile 5%), pausa di tre min, stimolo A, pausa, stimolo B, pausa, standard, pausa, stimolo C, etc. La pausa di tre min serviva a una completa ricarica dell'antenna, evitando così eventuali interferenze tra stimolazioni successive.

L'analisi della varianza delle risposte ottenute ha permesso di escludere che gli effetti dei composti in esame presentino interazione significativa con la reattività dei singoli individui e di procedere al confronto delle medie secondo il criterio di Duncan (tab. 7).

Dai risultati di questa prova si può facilmente dedurre che il sistema olfattivo antennale presenta un notevole grado di selettività. Un primo grup-

Tab. 6 – Risposte elettrofisiologiche (mV) di sei adulti di *Periplaneta americana* alle undici sostanze in esame e alla standard, acetato di amile.

Sostanze	Adulto n. 1		Adulto n. 2		Adulto n. 3		Adulto n. 4		Adulto n. 5		Adulto n. 6	
	Prova		Prova		Prova		Prova		Prova		Prova	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>										
<b>Oli essenziali</b>												
arancio	1,2	0,8	1	1	0,8	0,4	0,4	1	0,8	1	1,2	0,8
carvi	1,8	1,5	1,8	1,2	1,6	1,2	0,8	1,6	1,2	1	2,2	1,8
finocchio	1,2	1	0,1	0,2	0,8	0,3	0,8	0,6	0,1	0,1	0,8	0,8
menta	2,8	3,2	1,4	1,8	1,2	0,8	0,8	1	1,6	0,7	2,8	1,2
noce moscata	1,2	0,5	1,7	1,2	0,4	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	1	0,6
sandalo	0,8	0,5	1	0,4	0,6	0,3	0,4	0,4	0,4	0,8	0,9	0,6
sassofrasso	1,6	1,6	1,4	1,2	2	0,6	1,2	1,2	1	1,2	1,8	1,8
wintergreen	0,8	0,6	1,6	0,5	1	0,6	1	0,4	0,4	0,6	1,1	0,4
<b>Essenze natural-simili</b>												
ananas	1,4	1,6	1,8	1,1	3	0,8	0,4	2	1	1	1,6	1
banana	2,1	2,8	2,1	2	2,4	1	2	2	0,9	1,2	2,4	1,8
mela	1,8	1,2	0,8	0,4	0,4	0,4	0,6	0,1	0,6	0,3	1	1,2
acetato di amile	1,8	2,8	2	0,8	2	0,5	1,2	1,1	2	1,8	2	1,8
testimonio (aria)	0,5	0,4	0,2	0,3	0,4	0,3	0,4	0,1	0,4	0,1	0,1	0,4

po di sostanze, nel quale figurano banana, acetato di amile, menta, carvi, ananas e sassofrasso, induce una stimolazione significativamente più elevata rispetto ad un secondo gruppo costituito da wintergreen, mela, noce moscata, sandalo, finocchio e testimonio (aria). L'arancio occupa una posizione intermedia, differendo significativamente soltanto da banana, acetato di amile, menta, carvi.

Sembrirebbe quindi lecito affermare che i composti del secondo gruppo non esercitano un'attività, a carico dei chemiorecettori antennali, statisticamente differente dal testimonio.

Dato che tre delle sostanze in esame, e precisamente le essenze

Tab. 7 – Confronto tra le medie delle risposte elettrofisiologiche di sei adulti di *Periplaneta americana* alle undici sostanze.

Sostanze	Medie (mV)	Test di Duncan
banana	1,8917	a
acetato di amile	1,6500	a
menta	1,6083	a
carvi	1,4750	a
ananas	1,3917	a b
sassofrasso	1,3833	a b
arancio	0,8667	b c
wintergreen	0,7500	c d
mela	0,7333	c d
noce moscata	0,7000	c d
sandalo	0,5917	c d
finocchio	0,5667	c d
testimonio (aria)	0,3000	d

Le medie contrassegnate con lettere diverse differiscono significativamente per  $P = 0,05$ .

natural-simili, sono in realtà delle miscele, si è voluto analizzare anche l'attività dei loro singoli componenti (tabb. 8, 9, 10). Nel caso di ananas e banana era interessante verificare se la stimolazione prodotta fosse imputabile a uno o più composti specifici o dipendesse piuttosto dalla miscela nel suo complesso. Per mela invece, che non aveva fornito risultati significativamente diversi da quelli del testimone, si voleva controllare che anche i singoli componenti non fossero in grado di eccitare l'antenna di *Periplaneta americana*.

Tab. 8 – Risposte elettrofisiologiche (mV) di sei adulti di *Periplaneta americana* ai sette costituenti dell'essenza (natural-simile) di ananas.

Sostanze	Adulto n. 1		Adulto n. 2		Adulto n. 3		Adulto n. 4		Adulto n. 5		Adulto n. 6	
	Prova		Prova		Prova		Prova		Prova		Prova	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>										
acetato di amile	2	1,6	2,2	2,2	2,8	2,8	2,4	1,6	0,8	0,7	2,4	1,6
arancio	0,4	0,5	0,4	0,8	2	3	2	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6
butirrato di butile	0,2	0,2	0,4	0,4	2	2,4	0,4	0,1	0,8	0,1	0,8	0,4
caproato di allile	1,2	0,8	1,4	0,8	2,4	1,4	1,2	0,8	0,4	0,4	0,8	1,2
formiato di etile	0,2	0,4	0,1	0,2	0,8	1,6	0,8	0,8	0,6	0,1	0,8	0,6
mandarino	0,2	0,2	0,2	0,1	2	3,2	1,8	0,8	1,6	0,1	0,4	0,4
valerianato di amile	0,2	1,2	0,2	0,5	2	1,6	1,2	0,6	0,8	0,4	0,8	0,4

Tab. 9 – Risposte elettrofisiologiche (mV) di sei adulti di *Periplaneta americana* ai sei costituenti dell'essenza (natural-simile) di banana.

Sostanze	Adulto n. 1		Adulto n. 2		Adulto n. 3		Adulto n. 4		Adulto n. 5		Adulto n. 6	
	Prova		Prova		Prova		Prova		Prova		Prova	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>										
acetato di amile	2	1,6	2,2	2,2	2,8	2,8	2,4	1,6	0,8	0,7	2,4	1,6
arancio	0,4	0,5	0,4	0,8	2	3	2	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6
butirrato di butile	0,2	0,2	0,4	0,4	2	2,4	0,4	0,1	0,8	0,1	0,8	0,4
fenilacetato di etile	2,2	1,6	2,4	0,8	2,8	3,2	1,4	1,6	2,6	0,6	2,8	1,4
mandarino	0,2	0,2	0,2	0,1	2	3,2	1,8	0,8	1,6	0,1	0,4	0,4
vanillina	0,4	0,4	0,2	1	1,2	2,8	1	0,4	0,4	0,2	0,4	0,8

Tab. 10 – Risposte elettrofisiologiche (mV) di sei adulti di *Periplaneta americana* ai quattro costituenti dell'essenza di mela.

Sostanze	Adulto n. 1		Adulto n. 2		Adulto n. 3		Adulto n. 4		Adulto n. 5		Adulto n. 6	
	Prova		Prova		Prova		Prova		Prova		Prova	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>										
butirrato di butile	0,2	0,2	0,4	0,4	2	2,4	0,4	0,1	0,8	0,1	0,8	0,4
formiato di etile	0,2	0,4	0,1	0,2	0,8	1,6	0,8	0,8	0,6	0,1	0,8	0,6
mandarino	0,2	0,2	0,2	0,1	2	3,2	1,8	0,8	1,6	0,1	0,4	0,4
valerianato di amile	0,2	1,2	0,2	0,5	2	1,6	1,2	0,6	0,8	0,4	0,8	0,4

A n a n a s. L'analisi della varianza, effettuata sulle risposte di sei individui ai costituenti dell'essenza di ananas, rivela differenze significative tra le sostanze saggiate, tra i vari individui e nessuna interazione. Il solo acetato di amile si distingue dalle altre sostanze attraverso il test di Duncan (tab. 11). Le rimanenti sei non sembrano avere singolarmente un'attività degna di rilievo.

B a n a n a. Lo stesso metodo di elaborazione ha evidenziato una differenza significativa tra i componenti come pure tra gli individui e nessuna interazione. Dal test di Duncan (tab. 12) risulta che le medie delle risposte di fenilacetato di etile e di acetato di amile differiscono significativamente dalle altre. A queste due sostanze quindi sembra debba attribuirsi buona parte dell'effetto complessivo esercitato dall'essenza di banana.

M e l a. Le risposte dei singoli componenti non sono risultate statisticamente differenti all'analisi della varianza.

Tab. 11 – Confronto tra le medie delle risposte elettrofisiologiche di sei adulti di *Periplaneta americana* ai sette costituenti dell'essenza di ananas.

Sostanze	Medie (mV)	Test di Duncan
acetato di amile	1,9250	a
caproato di allile	1,0667	b
arancio	0,9333	b
mandarino	0,9167	b
valerianato di amile	0,8250	b
butirrato di butile	0,6833	b
formiato di etile	0,5833	b

Le medie contrassegnate con lettere diverse differiscono significativamente per  $P = 0,05$ .

Tab. 12 – Confronto tra le medie delle risposte elettrofisiologiche di sei adulti di *Periplaneta americana* ai sei costituenti dell'essenza di banana.

Sostanze	Medie (mV)	Test di Duncan
fenilacetato di etile	1,9500	a
acetato di amile	1,9250	b
arancio dolce	0,9333	b
mandarino	0,9167	b
vanillina	0,7667	b
butirrato di butile	0,6833	b

Le medie contrassegnate con lettere diverse differiscono significativamente per  $P = 0,05$ .

Prove sul comportamento di *Periplaneta americana*.

E' stata effettuata una serie di prove per verificare se le undici sostanze in esame (vale a dire gli oli essenziali e le essenze natural-simili) e lo standard, acetato di amile, fossero in grado di influenzare il comportamento di *Periplaneta americana*. I metodi utilizzati sono quelli descritti nel capitolo "Materiali e metodi"; i risultati sono illustrati nella tab. 13.

Per ogni serie di dati, rilevati rispettivamente dopo 15 min, 1 h, 6 h e 24 h, si è cercato di stabilire, con il test del  $\text{Chi}^2$ , se la ripartizione delle blatte tra i due rifugi, uno trattato e l'altro non trattato, era avvenuta in maniera statisticamente differente per le varie sostanze.

Con un margine di errore del 5% per i rilevamenti effettuati dopo 15 min e dell'1% per i rilevamenti successivi, si può affermare che i composti hanno influenzato in maniera differente il comportamento della blatta.

A questo punto si è ritenuto opportuno procedere a un confronto tra i risultati ottenuti con le prove elettrofisiologiche e quelli dei test comportamentali. I dati della tabella 13 sono stati a tal fine riclassificati sulla base dei risultati forniti dal test di Duncan (tab. 7), che distingueva un primo gruppo (I) di sei sostanze che avevano fornito le risposte più elevate all'oscilloscopio, e precisamente: essenza di banana, acetato di amile, menta, carvi, essenza di ananas, sassofrasso, rispetto ad un secondo (II) costituito dalle altre sei.

Prendendo in esame soltanto i dati rilevati dopo 24 h sono state sommate fra loro sia le frequenze del gruppo I sia quelle del gruppo II (tab. 14) ed è stato effettuato il test di omogeneità tra questi due nuovi insiemi. In base al risultato ottenuto si può dire che, con un margine di errore dell'1%, i due raggruppamenti agiscono nel complesso in maniera differente sul comportamento di *Periplaneta americana*.

Questo potrebbe significare che la distinzione che era emersa dal test di Duncan per il confronto delle medie delle risposte elettrofisiologiche alle dodici sostanze in esame, mantiene un significato anche quando si analizzano i risultati delle prove comportamentali.

Per verificare se i gruppi I e II messi a confronto presentavano un'omogeneità interna, si è operato una scomposizione del  $\text{Chi}^2$  totale (tab. 15). I risultati di questa ulteriore analisi portano a concludere che, mentre al-

Tab. 13 – Tabella di contingenza per il confronto del comportamento di *Periplaneta americana* nella scelta dei rifugi trattati e non trattati con le dodici sostanze in esame.

Sostanze	numero di individui presenti nei rifugi							
	dopo 15 min		dopo 60 min		dopo 6 ore		dopo 24 ore	
	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.
<u>Oli essenziali</u>								
arancio	6	14	6	14	7	13	9	11
carvi	4	16	4	16	3	17	-	20
finocchio	10	10	8	12	10	10	10	10
menta	6	14	5	15	3	17	2	18
noce moscata	13	7	13	7	17	3	8	12
sandalo	5	15	1	19	3	17	9	11
sassofrasso	8	12	1	19	-	20	-	20
wintergreen	6	14	4	16	2	18	11	9
<u>Essenze naturali-simili</u>								
ananas	9	11	13	7	13	7	8	12
banana	7	13	5	15	5	15	3	17
mela	8	12	9	11	6	14	10	10
acetato di amile	14	6	6	14	6	14	7	13
Chi <sup>2</sup>	21,66*		42,29**		60,22**		41,05**	

I valori del Chi<sup>2</sup> contrassegnati con un asterisco corrispondono a una probabilità inferiore al 5%, quelli contrassegnati con due asterischi ad una probabilità inferiore all'1%.

l'interno del gruppo II non vi sono differenze significative (tutte le sostanze determinano comportamenti statisticamente uguali), lo stesso non si può affermare a proposito del gruppo I (Chi<sup>2</sup> = 13,61 con P = 0,025).

Il procedimento sopra descritto è stato utilizzato anche per esaminare l'attività dei singoli componenti delle essenze artificiali di ananas, banana e mela.

Tab. 14 – Tabella di riclassificazione dei dati della tab. 13 per il confronto tra le sei sostanze che hanno fornito le risposte più elevate all'elettroantennogramma e le rimanenti sei.

Gruppi di sostanze	numero di individui presenti nei due rifugi dopo 24 ore	
	trattato	non trattato
I. banana, acetato di amile, menta, carvi, ananas, sassofrasso	20	100
II. arancio, wintergreen, mela, noce moscata, sandalo, finocchio	57	63
Chi <sup>2</sup>	26,18**	

I valori del Chi<sup>2</sup> contrassegnati con due asterischi corrispondono a una probabilità inferiore all'1%.

Tab. 15 – Scomposizione del Chi<sup>2</sup> totale riportato nella tabella 14.

Confronti	g.l.	Chi <sup>2</sup>	P
tra le sei sostanze del Gruppo I	5	13,61	0,025
tra le sei sostanze del Gruppo II	5	1,26	0,950
tra il Gruppo I e il Gruppo II	1	26,18	>0,005
Somma	11	41,05	
Tabella complessiva	11	41,05	>0,005

A n a n a s. La tabella di contingenza (tab. 16) per il confronto del comportamento di *Periplaneta americana* verso i sette costituenti dell'essenza di ananas, fornisce valori del Chi<sup>2</sup> significativi dopo 15 min e dopo 24 h, ma non significativi dopo 1 h e 6 h. Dalla riclassificazione dei dati (tab. 17) per il confronto secondo i raggruppamenti ottenuti all'oscilloscopio (tab. 12) si ottiene un valore del Chi<sup>2</sup> non significativo. Non vi è inoltre omogeneità interna tra gli effetti delle sei sostanze costituenti il gruppo II (tab. 18).

Tab. 16 – Tabella di contingenza per il confronto del comportamento di *Periplaneta americana* nella scelta dei rifugi trattati e non trattati con le sette sostanze costituenti l'essenza di ananas.

Sostanze	numero di individui presenti nei rifugi							
	dopo 15 min		dopo 60 min		dopo 6 ore		dopo 24 ore	
	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.
acetato di amile	14	6	6	14	6	14	7	13
arancio	6	14	6	14	7	13	9	11
butirrato di butile	11	9	6	14	5	15	3	17
caproato di allile	5	15	11	9	10	10	18	2
formiato di etile	5	15	6	14	11	9	8	12
mandarino	6	14	6	14	7	13	9	11
valerianato di amile	9	11	10	10	7	13	9	11
Chi <sup>2</sup>	15,00*		6,35 n.s.		5,98 n.s.		27,83**	

I valori del Chi<sup>2</sup> contrassegnati con un asterisco corrispondono a una probabilità inferiore al 5%, quelli contrassegnati con due asterischi a una probabilità inferiore all'1%.

Tab. 17 – Tabella di riclassificazione dei dati di cui alla tabella 16 per il confronto tra la sostanza che ha fornito le risposte più elevate all'elettroantennogramma e le rimanenti sei.

Gruppi di sostanze	numero di individui presenti nei due rifugi dopo 24 ore	
	trattato	non trattato
I. acetato di amile	7	13
II. caproato di allile, arancio mandarino, valerianato di amile, butirrato di butile, formiato di etile	52	68
Chi <sup>2</sup>	0,49 n.s.	

Tab. 18 – Scomposizione del  $\chi^2$  totale di cui alla tabella 16.

Confronti	g.l.	$\chi^2$	P
tra le sei sostanze del Gruppo II	5	27,34	>0,005
tra il Gruppo I e il Gruppo II	1	0,49	0,5
Somma	6	27,83	
Tabella complessiva	6	27,83	>0,005

B a n a n a. I componenti risultano influenzare in maniera differente la scelta delle blatte tra i due rifugi (tab. 19).

Tab. 19 – Tabella di contingenza per il confronto del comportamento di *Periplaneta americana* nella scelta dei rifugi trattati e non trattati con le sei sostanze costituenti l'essenza di banana.

Sostanze	numero di individui presenti nei rifugi							
	dopo 15 min		dopo 60 min		dopo 6 ore		dopo 24 ore	
	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.	tratt.	non tratt.
acetato di amile	14	6	6	14	6	14	7	13
arancio	6	14	6	14	7	13	9	11
butirrato di butile	11	9	6	14	5	15	13	7
fenilacetato di etile	2	18	-	20	-	20	-	20
mandarino	6	14	6	14	7	13	5	15
vanillina	11	9	13	7	12	8	7	13
$\chi^2$	20,02**		19,88**		17,54**		13,79*	

I valori del  $\chi^2$  contrassegnati con un asterisco corrispondono a una probabilità inferiore al 5%, quelli contrassegnati con due asterischi a una probabilità inferiore all'1%.

Dalle tabelle di riclassificazione dei dati (tab. 20) per il confronto tra le sostanze che avevano fornito le risposte più elevate all'oscilloscopio (acetato di amile, fenilacetato di etile) e le rimanenti quattro, si ottiene invece un valore del  $\text{Chi}^2$  non significativo.

Tab. 20 – Tabella di riclassificazione dei dati della tabella 19 per il confronto tra le due sostanze che hanno fornito le risposte più elevate all'elettroantennogramma e le rimanenti quattro.

Gruppi di sostanze	numero di individui presenti nei due rifugi dopo 24 ore	
	trattato	non trattato
I. fenilacetato di etile, acetato di amile	7	33
II. arancio dolce, mandarino, vanillina, butirrato di butile	24	56
$\text{Chi}^2$	2,17	n.s.

I due gruppi I e II, messi in evidenza dal test di Duncan applicato ai risultati elettrofisiologici (tab. 11) hanno perciò perso significato da un punto di vista comportamentale, tanto più che la scomposizione del  $\text{Chi}^2$  mette in evidenza una non omogeneità interna del gruppo I (e un'omogeneità del gruppo II (tab. 21)).

Tab. 21 – Scomposizione del  $\text{Chi}^2$  totale riportato nella tabella 19.

Confronti	g.l.	$\text{Chi}^2$	P
tra le due sostanze del Gruppo I	1	6,39	0,025
tra le quattro sostanze del Gruppo II	3	5,22	0,500
tra i Gruppo I e il Gruppo II	1	2,17	0,250
Somma	5	13,79	
Tabella complessiva	5	13,79	0,025

M e l a. I valori del  $\text{Chi}^2$  relativi al confronto del comportamento di *Periplaneta americana* verso i quattro costituenti non sono significativi.

## CONCLUSIONI

Dall'elaborazione dei dati ottenuti è emersa una prima serie di indicazioni sulla capacità di stimolare i sensilli olfattivi di *Periplaneta americana* manifestata da alcuni oli essenziali ed essenze natural-simili.

Gli esami all'oscilloscopio non hanno evidenziato un diverso comportamento tra i due sessi. Gli elettroantennogrammi di sei adulti esposti, ad intervalli di 9 min, ad acetato di amile, per un periodo di 1 h e 42 min, hanno inoltre mostrato che non vi è decadimento della risposta nel tempo. Ciò è presumibilmente attribuibile alle notevoli dimensioni del preparato (costituito da capo e torace dell'insetto), le quali hanno permesso che la attività metabolica del sistema sensoriale e nervoso si conservasse pressoché inalterata durante la prova.

Alla concentrazione adottata (5%) banana, acetato di amile, menta, carvi, ananas e sassofrasso inducono risposte statisticamente più elevate rispetto a wintergreen, mela, noce moscata, sandalo e finocchio, che oltretutto esercitano un'attività non differente da quella del testimone. Arancio occupa una posizione intermedia differendo significativamente soltanto da banana, acetato di amile, menta, carvi oltre che dal testimone.

I sensilli olfattivi mostrano quindi di possedere un notevole grado di selettività, anche se si ritiene improbabile che vi sia una specificità di azione su particolari recettori, in analogia con quanto affermato da Sass (1978) a proposito degli aromi di cibo. D'altra parte la tecnica utilizzata nel presente lavoro non forniva alcuna indicazione sulla quantità e sul tipo di sensilli interessati.

Due dei componenti dell'essenza di banana (acetato di amile e fenilacetato di etile) e uno di quella di ananas (acetato di amile) si distinguono dai rimanenti per l'intensità della reazione indotta. Ad essi quindi sembrerebbe in buona parte imputabile l'attività mostrata dalle due essenze. Nessuno dei costituenti l'essenza di mela risulta assumere un particolare rilievo. Ciò sarebbe in accordo con il predetto risultato secondo il quale la mela non differiva significativamente dal testimone.

Gli esami all'oscilloscopio sono stati confrontati con i risultati delle prove comportamentali per verificare se i composti capaci di eccitare i sensilli chemiorecettori antennali avessero anche un'azione sul comportamento.

I risultati ottenuti con i due metodi di indagine presentano le seguenti analogie. Le sei sostanze che hanno fornito le risposte più elevate all'elettroantennogramma, agiscono complessivamente sul comportamento di *Periplaneta americana* in maniera significativamente differente rispetto alle rimanenti sei. All'interno del primo gruppo tuttavia non vi è omogeneità: questo significa che le sostanze di cui si è detto non influenzano tutte nel-

lo stesso modo il comportamento del blattoideo. Le tabelle di riclassificazione dei dati relative ai costituenti dell'essenza di ananas e di banana sembrano indicare invece una mancanza di relazione tra i risultati elettrofisiologici e quelli delle prove comportamentali. Nel caso dei componenti dell'essenza di mela invece, così come non stimolavano i sensilli in maniera statisticamente differente, analogamente non influenzano il comportamento del blattoideo.

In conclusione, dalle prove sono emerse soltanto linee di tendenza generali, mentre non è stato possibile giungere a evidenziare caratteristiche di attrattività o di repellenza per le singole sostanze. E' interessante però osservare come, nel caso del carvi e del sassofrasso i test comportamentali indichino che la scelta tra i due rifugi è avvenuta nettamente a favore del non trattato (dopo sei ore per il sassofrasso e dopo 24 ore per il carvi non si trova un solo individuo nel rifugio trattato).

Questo fatto è stato rilevato in campioni di soli 20 individui e pertanto non è sufficiente a dimostrare statisticamente l'esistenza di fenomeni di repellenza; tuttavia esso indica chiaramente che esistono notevoli possibilità di approfondimento della sperimentazione, purché si abbia l'accortezza di adottare un maggior numero di replicazioni e schemi statistici che prevedano l'esame di più concentrazioni per ciascuna delle sostanze considerate.

RINGRAZIAMENTO. Desidero ringraziare vivamente il Dr. G. Lapietra dell'Istituto sperimentale per la Pioppicoltura di Casale Monferrato che si è assunto il gravoso impegno dell'elaborazione statistica dei dati.

#### RIASSUNTO

Sono state analizzate le risposte elettrofisiologiche e comportamentali di *Periplaneta americana* (L.) ad alcuni oli essenziali (arancio dolce, carvi, finocchio, menta, noce moscata, sandalo, sassofrasso, wintergreen) ed essenze artificiali (ananas, banana, mela). Dai dati ottenuti all'oscilloscopio è emerso che, alla concentrazione del 5%, banana, acetato di amile, menta, carvi, ananas e sassofrasso inducono risposte statisticamente più elevate rispetto a wintergreen, mela, noce moscata, sandalo e finocchio. Due componenti dell'essenza di banana e uno dell'essenza di ananas si distinguono inoltre per l'intensità della reazione indotta all'elettroantennogramma.

I risultati delle prove elettrofisiologiche sono stati confrontati con le risposte ottenute con i test comportamentali; sono emerse così alcune interessanti analogie tra le indicazioni fornite dai due metodi di indagine.

## SUMMARY

*Analysis of electrophysiological and behavioral responses of the American cockroach (Periplaneta americana (L.)) to odorous stimulations.*

Electrophysiological and behavioral responses of *Periplaneta americana* (L.) to some essential oils (sweet orange, caraway, fennel, peppermint, nutmeg, sandalwood, sassafras, wintergreen) and natural-similar substances (pineapple, banana, apple) have been analyzed. By electrophysiological methods, at the concentration of 5%, banana, amyl-acetate, peppermint, caraway, pineapple and sassafras elicited statistically higher responses than wintergreen, apple, nutmeg, sandalwood and fennel. Among the components of the natural-similar substances amyl-acetate and ethyl-phenylacetate for banana and amyl-acetate for ananas gave the strongest recordings at the electroantennogram.

The results of the electrophysiological investigations were compared with the responses obtained with the behavioral essay and some interesting analogies between the issues of the two methods have been focused.

## BIBLIOGRAFIA

- Bodenstein O.F., Fales J.H., 1976 — Laboratory evaluations of compounds as repellents to cockroaches, 1953-1974. — Agric. Res. Service, USDA, Production Research Report, 164: 1-28.
- Boeckh J., Kaissling K.E., Schneider D., 1965 — Insect olfactory receptors. Cold Spring Arbor Symp. — Quant. Biol., 30: 263-280.
- Cole A.C., 1932 — The olfactory responses of the cockroach ('*Blatta orientalis*') to the more important essential oils and a control measure formulated from the results. — J. econ. Ent., 25: 902-905.
- Cornwell P.B., 1976 — The cockroach. Insecticides and cockroach control. Rentokil Library, London, II: 1-557.
- Dethier V.G., 1971 — A surfeit of stimuli: a paucity of receptors. — Am. Scient., 59: 706-775.
- Ernst K.D., Boeckh J., Boeckh V., 1977 — A neuroanatomical study on the organization of the central antennal pathways in insects. II. Deutocerebral connections in '*Locusta migratoria*' and '*Periplaneta americana*'. — Cell Tiss. Res., 176: 285-308.
- Norris D.M., Hsien-Hing Chu, 1974 — Chemosensory mechanism in '*Periplaneta americana*': electroantennogram comparisons of certain quinone feeding inhibitors. — J. Insect Physiol., 20: 1687-1696.
- Roelofs W.L., Comeau A., 1971 — Sex pheromone perception: electroantennogram responses of the red-banded leaf roller moth. — J. Insect Physiol., 17: 1969-1982.
- Sass H., 1978 — Olfactory receptors on the antenna of '*Periplaneta*': response constellations that encode food odors. — J. comp. Physiol., 128: 227-233.

- Sch a f e r R., 1977 — The nature and development of sex attractant specificity in cockroaches of the genus 'Periplaneta'. IV. Electrophysiology study of attractant specificity and its determination by juvenile hormone. — J. exp. Zool., 199: 189-207.
- Sch a f e r R., S a n c h e z T.V., 1976 — The nature and development of sex attractant specificity in cockroaches of the genus 'Periplaneta'. 1. Sexual dimorphism in the distribution of antennal sense organs in five species. — J. Morph., 149: 139-157.
- W a l d o w U., 1977 — CNS Units in cockroach ('Periplaneta americana'): specificity of response to pheromones and other odor stimuli. — J. comp. Physiol., 116: 1-17.

Dr Rossella Rossi Porzio — Regione Lombardia, Settore Ambiente ed Ecologia,  
Via Fabio Filzi 22, 20124 Milano.

Ricevuto il 15 ottobre 1982, pubblicato il 20 dicembre 1982.

