UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Scienze Naturali

ELABORATO DI LAUREA

Il comportamento riproduttivo femminile in una specie di blatta, *Gromphadorhina portentosa*

Tutor: Prof.ssa Clelia Gasparini
Dipartimento di Biologia

Co-tutor: Dott. Enzo Moretto
ButterflyArc srl - Esapolis

Laureanda: Elisa Rotondi

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

Indice

Introduzione 1
Caratteristiche generali 1
Il ciclo vitale 1
La riproduzione e le strategie riproduttive 2
Il comportamento sessuale 4
Gromphadorhina portentosa 9
Scopo dell'elaborato 11
Materiali e metodi 12
Disegno sperimentale 12
Selezione e mantenimento degli individui 12
Misure morfologiche 14
Set up sperimentale per l'osservazione dei comportamenti sessuali 14
Risultati 18
Analisi morfologiche di maschi e femmine 18
Analisi comportamentali 18
Analisi comportamentali e femmine 20
Discussione 24
Conclusioni 26
Bibliografia 28
Ringraziamenti .....

Introduzione

Caratteristiche generali

Gli scarafaggi sono degli insetti molto prolifici e di grande successo evolutivo (Cochran, 2009). Tra le caratteristiche che ne hanno determinato il successo spiccano l'abilità di piegare le ali sopra il corpo con la possibilità di nascondersi più facilmente dai predatori e l'evoluzione dell'ooteca per proteggere le uova. Sono state identificate tra le 3500 e le 4000 specie di scarafaggi che presentano una notevole variabilità morfologica e comportamentale. Gli scarafaggi variano notevolmente di dimensioni, che vanno da pochi millimetri, come nel caso di *Panchlora nivea*, a oltre 10 cm. Generalmente presentano quattro ali, ma alcune specie hanno ali ridotte o ne sono completamente sprovviste. La maggior parte delle specie è notturna, ma esistono anche delle specie diurne.
Gli scarafaggi sono insetti cosmopoliti e si trovano in quasi tutti gli habitat: in foreste tropicali e temperate, in praterie, steppe, paludi, coste e deserti. Il loro ruolo nell'ecosistema è molto importante. Sono insetti decompositori che si nutrono principalmente di materia animale e vegetale in decomposizione oltre che di escrementi, ma si inseriscono in modo più complesso nelle varie reti trofiche dell'ambiente in cui vivono. Infatti possono essere erbivori, nutrendosi di giovane vegetazione, predatori di altri insetti e sono spesso prede di numerosi gruppi di invertebrati e vertebrati (Bell et al., 2007). Infine, possono essere anche impollinatori ai tropici e spazzini in nidi di insetti sociali, di roditori, rettili e uccelli (Roth e Willis, 1960).

Il ciclo vitale

Gli scarafaggi sono insetti appartenenti all'ordine dei Blattoidei. Sono eterometaboli, e quindi durante il loro sviluppo si incontrano vari stadi. A partire dalla schiusa delle uova, le ninfe compiono un certo numero di mute fino al raggiungimento dello stadio di adulto. Le ninfe generalmente assomigliano agli adulti eccezion fatta che per le dimensioni, per i genitali e le ali, che non sono sviluppati (Walker et al., 1994; Bell et al., 2007). A seconda della specie, dell'individuo e del sesso, variano il numero complessivo di mute (di solito compreso tra 5 a 13), la durata degli stadi tra una muta e quella successiva (Heming, 2003) e la durata dell'intero ciclo vitale. Il ciclo vitale è stato studiato nel particolare soprattutto per alcune specie, e per lo più per quelle specie di blatte infestanti per l'uomo. In *Blattella germanica*, comunemente conosciuta come blatta tedesca, le femmine maturano approssimativamente nello stesso momento e si accoppiano 7-10 giorni dopo l'ultima muta (Liang e Schal, 1993). Ogni ooteca prodotta dalla femmina contiene 25-50 uova e ogni femmina può produrre 4-8 ooteche nel corso della sua vita riproduttiva. Gli adulti vivono solitamente circa tre mesi, ma in condizioni sfavorevoli la durata di vita diminuisce notevolmente,

specialmente nei maschi. In condizioni controllate alcuni individui possono vivere anche più di un anno. Le femmine di *Supella longipalpa* producono numerose ooteche, contenenti generalmente 16 uova, che depositano in posti nascosti. Il ciclo vitale degli individui di questa specie richiede circa 3 mesi per completarsi (Cochran, 2009). *Blatta orientalis* in mancanza di cibo o a temperatura sfavorevoli impiega più di due anni per completare il suo ciclo vitale (Cornwell, 1968), mentre in condizioni ottimali possono essere sufficienti anche meno di sei mesi (Willis et al., 1958). In questa specie i maschi si sviluppano più velocemente delle femmine. Generalmente l'accoppiamento tra due individui sessualmente maturi avviene dopo 4-9 giorni dall'ultima muta. In questa specie le ooteche contengono 16 uova e una singola femmina può produrre anche più di 8 ooteche durante la sua vita. Anche *Periplaneta americana* fornisce un esempio di come possa variare il ciclo vitale a seconda delle condizioni ambientali, in condizioni avverse gli individui vivono circa 3 mesi, mentre in condizioni più favorevoli possono vivere anche 2-3 anni (Griffiths e Tauber, 1942).

La riproduzione e le strategie riproduttive

Gli scarafaggi sono insetti molto prolifici, con fecondazione interna e tra questi è possibile riscontrare specie con diverse strategie riproduttive: ovipare, ovovivipare, vivipare e partenogenetiche (Roth, 1989; Roth e Willis, 1954). Inoltre, sia la oviparità che la ovoviviparità si distinguono in due ulteriori sottocategorie (tipo A e tipo B).

Le specie ovipare e ovovivipare sono caratterizzate dalla formazione di un'ooteca, costituita da una doppia fila di uova rivestite da un guscio protettivo e con al centro una cresta rialzata, la carena, che costituisce la zona dalla quale usciranno le ninfe alla schiusa (Bell et al., 2007). La presenza dell'ooteca inibisce la ricettività femminile e la crescita di nuovi oociti (Roth, 1964). La produzione di un'ooteca da parte delle femmine rappresenta un importante vantaggio evolutivo, poiché garantisce una maggiore protezione per le uova, potendo essere nascosta o trasportata attivamente dalla femmina (Cochran, 2009).
Nell'oviparità di tipo A, presente in specie come *Ectobius pallidus* e *Blatta orientalis*, le femmine rilasciano l'ooteca poco dopo la sua formazione. Nell'oviparità di tipo B le femmine trasportano l'ooteca esternamente durante l'embriogenesi e la rilasciano nell'ambiente appena prima della schiusa. Questo tipo di oviparità è presente in *Blattella germanica*, *Lophoblatta brevis* e *Lpohoblatta arlei*. Le femmine ovovivipare trattengono l'ooteca all'interno dell'addome per tutto il periodo dell'embriogenesi per poi espellere le ninfe già completamente formate (Bell et al., 2007). Nell'ovoviviparità di tipo A (per esempio *Gromphadorhina portentosa* e *Blaberus giganteus*), le femmine espongono l'ooteca all'esterno solo per il breve periodo della sua formazione e poi la ritraggono all'interno, in una sorta di utero chiamato "sacco di covata", mentre in quella di tipo B le uova vengono deposte direttamente all'interno della

sacca di covata e non si forma una vera ooteca (Bell et al., 2007). L'ovoviviparità di tipo B è presente nei generi *Geoscapheus*, *Neogeoscapheus*, *Macropanesthia* e *Parapanesthia*.

Le altre due modalità riproduttive, viviparità e partenogenesi, sono più rare. La viviparità è stata osservata solo nella specie *Diploptera punctata* e si distingue dall'ovoviviparità perché gli embrioni sono direttamente nutriti nella sacca di covata per mezzo di un fluido proteico secreto dalla madre. Infine, in diverse specie di blatte, come ad esempio *Pycnoscelus surinamensis*, si è osservato che le femmine, se vergini, o quando isolate dai maschi, possono riprodursi in modo asessuato per partenogenesi, anche se il fenomeno è piuttosto raro.
In quasi tutte le specie di blatte studiate, le strategie riproduttive sono classificate in base al comportamento femminile perché i maschi quasi sempre si accoppiano con più di una femmina (Roth, 1964; Wendelken e Barth, 1987). Di seguito sono riportate le più frequenti strategie di accoppiamento attraverso le quali può essere suddiviso il complesso mondo degli scarafaggi (Bell et al 2007).

- Un maschio, un accoppiamento. Le femmine di *Neopolyphaga miniscula* (Jayakumar et al., 2002) e *Therea petiveriana* (Livingstone e Ramani, 1978) sono monoandriche in senso stretto e questo comporta che, una volta avvenuto l'accoppiamento, rimangono refrattarie (non recettive) per il resto delle loro vite. Non ci sono informazioni che permettano di stabilire se le femmine continuino a riprodursi senza ulteriori accoppiamenti, utilizzando lo sperma precedentemente immagazzinato.
- Un maschio, più accoppiamenti. Gli esemplari del genere *Cryptocercus* possono essere descritti come socialmente monogami: maschi e femmine formano delle coppie a lungo termine e vivono in gruppi famigliari. Tipicamente la coppia si forma in estate, trascorre l'inverno insieme e si riproduce l'estate successiva. Nonostante gli spermi di una singola copula siano sufficienti a fertilizzare le uova della femmina, gli esemplari si accoppiano ripetutamente tanto che ci sono evidenze di attività sessuale registrata un anno prima della riproduzione, prima e durante il periodo dell'ovideposizione e dopo la schiusa dell'ooteca e delle uova (Nalepa, 1988a), comportamenti, quest'ultimi, osservati nelle specie in cui i maschi sono coinvolti nelle cure parentali.
- Più maschi, un accoppiamento per ciclo riproduttivo. Nella maggior parte delle blatte la recettività femminile è ciclica e quindi declina a seguito dell'accoppiamento e viene ripristinata dopo il rilascio degli embrioni (sia in specie ovipare che in specie ovovivipare). In alcuni casi ci vogliono diversi cicli riproduttivi prima che una femmina accetti un nuovo partner, in altri la ricettività è ristabilita dopo ogni evento riproduttivo. Questo tipo di comportamento è stato osservato in specie come *Blattella germanica* (Cochran, 1979b) e *B. asahinai* (Koehler e Patternson, 1987) che possono copulare ripetutamente anche se un singolo accoppiamento fornisce

abbastanza spermi per l'intera vita riproduttiva della femmina. In *Periplaneta americana* la femmina alterna la copulazione alla produzione dell'ooteca ed è in grado di accoppiarsi anche 3-4 ore dopo la deposizione delle uova (Gupta, 1947); in una specie affine alla specie *Ellipsidion humerale* si è osservata una coppia copulare quattro volte in un mese, alternando l'accoppiamento alla formazione dell'ooteca (Pope, 1953); similmente le femmine appartenenti alla famiglia dei Blaberidi si accoppiano solo una volta prima dell'ovideposizione e, una volta ritornate ricettive dopo il "parto", ripetono il ciclo accoppiandosi, ovideponendo e incubando le uova un'altra volta (Engelmann, 1960; Roth, 1962; Grillou, 1973); una volta accoppiate le femmine di *Eublaberus posticus* sono fertili per la vita, e riaccoppiarsi, anche se è stato osservato, non serve ad ottimizzare la performance riproduttiva.

- Più maschi, più accoppiamenti in un singolo ciclo riproduttivo. Sebbene esistano dei casi di accoppiamenti multipli in un singolo ciclo riproduttivo, questi sono l'eccezione e sono stati osservati poche volte tra le specie di blatte esaminate. Ad esempio, Cochran (1979b) ha osservato solo una femmina, tra le 2000 utilizzate per uno studio su *B. germanica*, accoppiarsi due volte prima della formazione dell'ooteca e similmente Roth e Willis (1952a), nella stessa specie, hanno osservato solo una coppia di individui copulare due volte nel giro di 24 ore. In uno studio su *Diploptera punctata*, Graves (1969) ha osservato che talvolta la femmina può portare contemporaneamente due spermatofore, con una sola posizionata correttamente e utilizzata per il trasferimento di spermi.

Per poter confermare le precedenti categorie bisognerebbe procedere con l'analisi molecolare della prole. In questo modo si potrebbe capire se c'è o meno paternità multipla in una singola prole. Yaguchi e colleghi (2020) hanno condotto uno studio per investigare la possibilità di paternità extra coppia nella specie *Criptocercus punctulatus*, una specie socialmente monogama. Sono stati utilizzati marker microsatelliti per analizzare la parentela della prole, lo sperma immagazzinato nella femmina e i risultati della manipolazione sperimentale della competizione spermatica. Dallo studio è emerso che molte femmine utilizzano lo sperma immagazzinato da copule precedenti per fertilizzare le uova e questo comporta che i maschi con cui formano la coppia si prendono cura di ninfe con cui non hanno rapporti di parentela.

Il comportamento sessuale

La selezione sessuale è solitamente divisa in selezione intrasessuale che si manifesta tramite la competizione tra gli individui di uno stesso sesso per l'accesso riproduttivo all'altro sesso, e quella intersessuale che si basa sulla scelta del partner. Il successo nell'accoppiamento è determinato da entrambi i meccanismi, che spesso si presentano simultaneamente e interagiscono in un

sistema di accoppiamento (Halliday, 1983). La competizione e la scelta del partner possono selezionare gli stessi tratti maschili come l'abilità di lotta, le dimensioni corporee e la dimensione degli armamenti, ma è anche possibile che siano parzialmente o completamente in opposizione. Ad esempio, nel mondo degli scarafaggi, i maschi di *Nauphoeta cinerea* utilizzano un feromone per stabilire la dominanza maschile e per attrarre le femmine. È stato studiato se ciò che è ottimale per un meccanismo della selezione sessuale lo sia anche per l'altro manipolando la composizione del feromone prodotto dai maschi ed è stato dimostrato che i componenti più utili a stabilire la dominanza non sono quelli più attraenti per le femmine. Le femmine preferiscono odori più "blandi" e questo probabilmente perché non vogliono accoppiarsi con maschi eccessivamente aggressivi (Moore et al., 2001). La selezione sessuale è influenzata anche dalle condizioni ambientali: la disponibilità e la qualità delle risorse e i fattori ambientali possono cambiare velocemente e i singoli animali possono adattarsi, modificando i propri comportamenti. Ne consegue che, in situazioni in cui vi è una limitazione di risorse, i maschi, altrimenti dominanti, potrebbero ridurre la loro aggressività, mentre quelli subordinati aumentarla. Poiché la selezione sessuale è influenzata anche dalle condizioni ambientali, non sono facili le previsioni riguardanti la scelta femminile. È di fatto vero che le femmine in condizioni sfavorevoli potrebbero essere meno selettive perché la possibilità della loro sopravvivenza è minore o perché la probabilità di incontrare un maschio in buone condizioni è bassa (Gwynne, 1993). D'altra parte potrebbe anche capitare che le femmine aumentino la loro selettività in condizioni sfavorevoli poiché la variazione tra maschi è aumentata, permettendo una scelta più libera da errori (Clark et al., 1997).

Nel mondo degli scarafaggi due fattori influenzano le strategie utilizzate dai maschi per l'accesso alle femmine: le differenze nelle interazioni agonistiche e le differenze nelle strutture delle risorse (Borgia, 1979). I sistemi di accoppiamento basati sulla manipolazione delle risorse sono meglio conosciuti in *N. cinerea* e in *G. portentosa*, specie studiate principalmente in laboratorio e nelle specie del genere *Blaberus*, osservate sia in laboratorio che in natura. I maschi di *G. portentosa* stabiliscono gerarchie e territori (Ziegler, 1972), e possiedono specializzazioni morfologiche, le corna, che vengono utilizzate negli scontri con gli altri maschi. Uno studio di Clark e Moore (1995b) indica l'importanza di tali scontri durante le interazioni tra sessi opposti in *G. portentosa*. È stato provato in laboratorio che le femmine discriminano tra maschi con gradi diversi di dominanza (Leibensperger et al.,1985). L'organizzazione sociale dei maschi di *N. cinerea* è correlata alla densità della popolazione, che può essere bassa, media o alta (Ewing, 1972, 1973), e si sviluppa come il risultato degli scontri maschili. In società a bassa densità i maschi sono generalmente sito-specifici, tranne in alcuni casi in cui rimangono inattivi e senza territorio (Ewing, 1973). A densità intermedie l'ordine gerarchico maschile determina l'organizzazione territoriale (Ewing, 1972). Ad alte densità i maschi di alto rango acquisiscono territori

attraverso scontri e una variazione dell'ordine gerarchico, che può essere provocata dalle femmine, determina la perdita dei territori stessi. È stato dimostrato che la scelta femminile in *N. cinerea*, oltre ad essere influenzata dallo status del maschio e dall'ormone sociale, si basa anche sull'identità individuale (Moore e Moore 1988; Moore et al. 1985). I rifiuti delle femmine nei confronti dei maschi non sono il risultato di un corteggiamento inappropriato o inadeguato, ma sembra che siano legati alle caratteristiche genetiche del maschio stesso e che, di conseguenza, l'attrattiva dei maschi sia ereditabile.

Per la ricerca e il riconoscimento del partner la maggior parte delle blatte si basa principalmente su segnali chimici (Roth e Willis, 1952). Tra questi sono importanti i feromoni sessuali, rilasciati generalmente dalla femmina, e gli afrodisiaci prodotti esclusivamente dai maschi tramite le ghiandole tergali (Sreng, 1993). I feromoni sessuali vengono utilizzati nelle specie in cui entrambi i sessi o solamente i maschi sono in grado di volare (Gemeno e Schal, 2004), funzionano a lunga distanza e le femmine, nel momento del loro rilascio, alzano le ali, abbassano l'addome e aprono i segmenti addominali terminali per esporre il vestibolo genitale (Hales e Breed, 1983; Gemeno et al., 2003); gli afrodisiaci sono utilizzati nelle specie in cui nessuno dei sessi è in grado di volare (Roth e Dateo, 1966; Sreng, 1979a). Un caso particolare lo si riscontra all'interno della sottofamiglia Oxyhaloinae: qui i maschi producono sia il feromone sia l'afrodisiaco sessuale (Sreng,1993). Questi ormoni, secondo studi effettuati su *N. cinerea* non sarebbero unicamente rivolti al riconoscimento del partner, ma influenzerebbero anche la longevità femminile, il numero della prole e la velocità dello sviluppo nell'ooteca (Moore et al., 2001, 2003).
In molti individui di Blattidae e Blattellidae cicli riproduttivi più brevi, accoppiamenti ripetuti, e un contributo maggiore da parte dei maschi potrebbero essere stati alla base dell'evoluzione di feromoni volatili e un riconoscimento del partner ritardato. Le femmine recettive assumono la posa del richiamo presumibilmente quando senza spermatozoi. Presentando la propria recettività e non affidandosi a incontri casuali la femmina può attrarre diversi maschi simultaneamente ed esercitare così la propria scelta, ed eventualmente anche nutrirsi delle secrezioni tergali dei diversi maschi. Durante il loro breve ciclo ovarico le femmine ovipare hanno una ristretta finestra in cui accoppiarsi. Dal momento che il fallimento nell'acquisire una spermatofora durante questo periodo potrebbe comportare un riassorbimento degli oociti maturi o la produzione di ooteche vuote (review: Bell e Bohm, 1975), una pressione selettiva potrebbe operare sulle femmine perché evolvano efficienti meccanismi di comunicazione. Tali meccanismi sono poco riconosciuti, ma si può presentare una distinzione tra le tattiche delle specie ovipare e quelle ovovivipare. Le femmine di *B. germanica*, una specie ovipara, produce feromoni sessuali di contatto mentre quelle di *Byrsotria fumigata* e *Pycnoscelus surinamensis*, ovovivipare, emettono feromoni a corto raggio (review: Barth, 1968). Naturalmente ci sono molte eccezioni a

questi pattern e le poche osservazioni ecologiche riportate indicano che i modi della comunicazione sessuale negli scarafaggi si correlano più con l'ambiente che con le classificazioni filogenetiche. Correlazioni tassonomiche possono essere spiegate dal fatto che la maggiorparte delle specie appartenenti alla famiglia dei Blaberidi vivono in habitat chiuso mentre la maggiorparte delle specie appartenenti alla famiglia dei Blattidi vivono in foresta aperte e qui la comunicazione tramite feromoni volatili è più importante.

In molte specie di blatte la ricerca e il riconoscimento dell'altro sesso si basa non solo su segnali di tipo chimico, ma anche su informazioni visive e acustiche. Mentre le informazioni visive giocano un ruolo importante nel riconoscimento sessuale in quelle specie, sia diurne che notturne, in cui i maschi hanno occhi ben sviluppati e pigmentati, gli stimoli acustici sono utilizzati da specie, come *G. portentosa,* in cui i maschi emettono soffi durante le interazioni intraspecifiche*, Macropanesthia rhinoceros* e *Elliptorhina chopardi*. I maschi di *M. rhinoceros* emettono soffi ben udibile mentre i maschi di *Elliptorhina chopardi* producono soffi a banda larga e modulati in ampiezza come *G. portentosa*, ma anche soffi simili a quelli degli uccelli (Fraser e Nelson, 1982; Sueur e Aubin, 2006). Una volta vicini al potenziale partner il contatto con ormoni sessuali facilita il riconoscimento intraspecifico, il primo di una serie di comportamenti che, in caso di successo, portano all'accoppiamento tra gli individui. I maschi attraverso il corteggiamento, che assume forme diverse in specie diverse, sfoggiano ornamenti, caratteristiche e atteggiamenti volti a conquistare la compagna. I comportamenti sessuali delle blatte possono essere divisi in tre tipologie. Nel comportamento di "tipo 1" [Figura 1], denominato anche comportamento "A" (Sreng, 1993), il maschio, a seguito del primo contatto con la femmina (attraverso le antenne), alza le ali e presenta alla femmina la superficie dorsale del suo addome. La femmina sale sull'addome del maschio ("female above") e lo "lecca" con i palpi labiali e boccali ("feeding behaviour"). Allora il maschio indietreggia e con un uncino genitale si connette ad un piccolo sclerite davanti all'ovopositore della femmina, poi si sposta in avanti, facendo ruotare la femmina di 180 gradi rispetto alla sua schiena e distende l'addome per riacquisti la sua normale relazione dorsoventrale. La coppia rimane nella posizione "opposta" (i due individui puntano in direzioni opposte) finché la copula non è terminata. Questo tipo di comportamento è presente in specie come *Blattella Germanica*, *Blatta orientalis*, e *Periplaneta americana.*

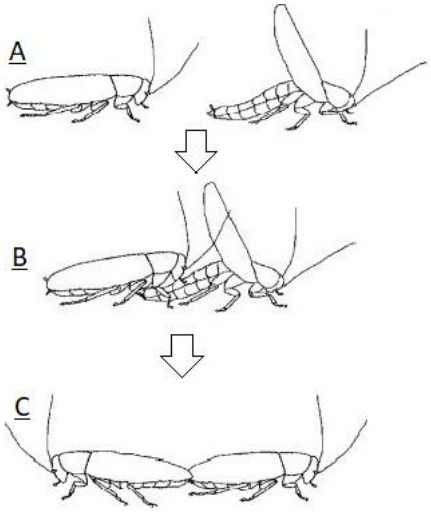

Figura 1 Rappresentazione grafica dei vari stadi del comportamento di "tipo 1". Il maschio, sulla destra, alza le ali e presenta alla femmina la superficie dorsale del suo addome (A); la femmina sale sul dorso del maschio e lo lecca (B); gli individui si accoppiano. Da (Bell et al., 2007).

Il comportamento di "tipo 2", o B, noto in specie come *Pycnoscelus indicus* e *Jagrehnia madecassa,* prevede che il maschio, dopo un primo contatto, si arrampichi sulla femmina e, portando la punta del suo addome sotto quella della femmina, ingaggi i suoi genitali prima di portarsi nella posizione "opposta" tipica dell'accoppiamento (Roth e Willis, 1958b; Sreng, 1993).

Nel comportamento di "tipo 3" nessuno dei due sessi monta l'altro. Dopo il contatto, il maschio si posiziona dietro la femmina con il capo rivolto in direzione opposta e poi si muove all'indietro fino a stabilire il contatto con i genitali femminili. Questa tipologia di comportamento è tipica degli esemplari di specie come *G. portentosa* (Barth, 1968*), Panchlora nivea* (Roth e Willis, 1958b), *Pan. irrorata* (Willis, 1966), *Panesthia australis* (Roth, 1979c), e *Macropanesthia rhinoceros*. Molte delle specie che presentano questo comportamento sono scavatrici ad indicare che, probabilmente, questo tipo di corteggiamento è una risposta al loro stile di vita (Nutting, 1969). Ci sono delle specie di blatte che, pur seguendo un comportamento pre-copulatorio riconducibile ad uno di quelli precedentemente descritti, sono più flessibili nel corteggiamento (Fraser e Nelson, 1984). Variazioni nello schema generale di corteggiamento includono oscillazioni, tremori, vibrazioni, spinte, urti, pulsazioni e sfarfallii delle ali, picchiettii, sibili, fischi e soffi. Se il contatto ha successo, l'accoppiamento generalmente dura parecchi minuti, ma la durata varia a seconda della specie, dell'età del maschio, del suo status e del tempo dal suo ultimo accoppiamento. Gli accoppiamenti più brevi sono stati registrati in *N. cinerea*, dove la durata è compresa tra i 9.5 (Moore e Breed, 1986) e i 17 (Roth, 1964) minuti, con la differenza nella durata legata allo status del maschio (la durata degli accoppiamenti con i maschi dominanti è

maggiore rispetto a quella dei maschi subordinati). Gli accoppiamenti più lunghi, invece, si sono osservati in *Xestoblatta hamata*, dove l'accoppiamento può durare fino a 5 ore (Schal e Bell, 1982), e in *Polyzosteria limbata*, dove la coppia può copulare per più di 24 ore consecutive (Mackerras, 1965a).

Gromphadorhina portentosa

Gromphadorhina portentosa (Schaum, 1853 ord. Blattodea; fam. Blaberidae) è uno scarafaggio attero originario delle foreste del Madagascar. Gli individui di questa specie possono raggiungere i 10 cm di lunghezza e i 24 g di peso. I maschi si distinguono dalle femmine per la presenza di protuberanze simili a "corna" sulla parte dorsale del pronoto (Bart, 1968). *G. portentosa* è una specie sociale in cui gli individui instaurano elaborate interazioni sociali. Infatti i maschi sono territoriali e instaurano delle gerarchie in cui il maschio dominante ha una maggiore probabilità di accoppiarsi con le femmine (Fraser e Nelson, 1984). I maschi adulti stabiliscono dei territori, li difendono dagli altri maschi, e li mantengono per diversi mesi, lasciandoli solo per procurarsi acqua e cibo. Le femmine sono gregarie e non combattono né tra di loro né con i maschi. Le femmine e le ninfe sono ammesse nel territorio in cui tipicamente presenterà un maschio adulto, e a seconda delle dimensioni, diverse femmine adulte e ninfe a diversi stadi di sviluppo (Fraser e Nelson, 1980). *G. portentosa* è considerata una blatta ovovivipara di tipo A, in quanto espone l'ooteca solo al momento della formazione per poi tenerla nell'addome per tutto il periodo dell'incubazione. Generalmente le femmine partoriscono dalle 20 alle 40 ninfe (Cornwell, 1968) e al momento del parto, la madre espelle una sostanza gelatinosa che viene immediatamente mangiata dalle ninfe appena nate (Perry e Nalepa, 2003). Le ninfe compiono sei mute (a volte sette) e il numero di mute necessario per la maturità sessuale è variabile (Delfosse, 2006). In condizioni di laboratorio gli individui possono vivere fino a 2 anni.

Fraser e Nelson (1984) hanno descritto il corteggiamento di *G. Portentosa* dividendolo in 3 stadi. Nel primo stadio (1), in cui la femmina risulta essere più attiva, le interazioni sono brevi e consistono in un primo approccio seguito dall'antennamento, al seguito del quale uno dei due animali, solitamente la femmina, si sposta. In questa prima parte del corteggiamento, la maggiorparte dei comportamenti non segue un ordine preciso.

Il secondo stadio (2) comincia con il primo posturing maschile, un comportamento che prevede che l'individuo si ponga sul substrato con l'addome esteso e curvato verso l'alto. Generalmente il posturing può essere accompagnato dall'estrusione dei fallomeri oppure da dei soffi, prodotti facendo uscire energeticamente aria da spiracoli addominali specializzati. I soffi del maschio durante il corteggiamento possono essere divisi in soffi di tipo 1, tenui e lunghi e di tipo 2, brevi e consecutivi. Oltre ad avere un ruolo importante

nell'accoppiamento (Nelson, 1979), questi soffi vengono usati nella comunicazione intraspecifica e nel caso in cui l'animale venga minacciato o disturbato. L'incidenza di comportamenti come il mounting (un animale si pone con una o più zampe sul corpo dell'altro e gli tocca la superficie corporea con i palpi labiali o mandibolari) e i tocchi reciproci aumentano in frequenza in questo stadio, che si caratterizza per una maggior attività da parte di entrambi gli individui.

Il terzo stadio (3) comincia con il tentativo di accoppiamento. Pur continuando comportamenti come l'antennamento, il posturing e soffi di tipo 1, quando cominciano i tentativi di accoppiamento i maschi emettono dei suoni di tipo 2. I comportamenti di questo stadio diventano più rigidi e sequenziali. Il corteggiamento, se di successo, si conclude con l'accoppiamento che, come per le altre specie di blatte, avviene in posizione "opposta". In Figura 2 sono riportati i vari stadi che comportamenti che caratterizzano il corteggiamento di *G. portentosa*.

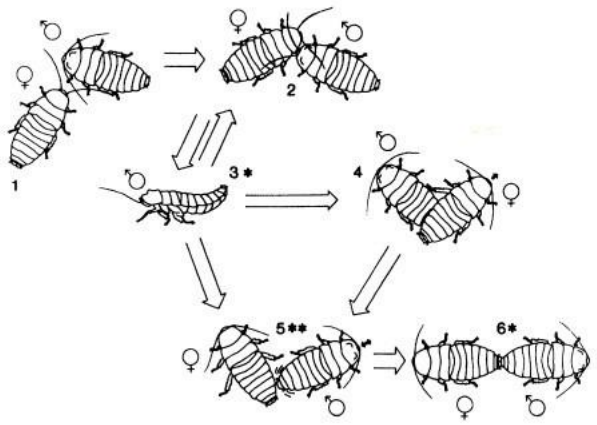

Figura 2 Visualizzazione grafica delle varie fasi del corteggiamento di G. portentosa. 1: primo contatto; 2: antennamento; 3: posturing; 4-5: tentativi di accoppiamento; 6: accoppiamento. Da (Fraser e Nelson, 1979).

Il corteggiamento di *G. Portentosa* può essere considerato di "tipo 3", ma le osservazioni effettuate su questa specie ne hanno evidenziano le caratteristiche che lo differenziano abbastanza da quello delle altre blatte. Il corteggiamento in questa specie non è rigidamente strutturato, ma è complesso e multimodale in quanto le informazioni vengono trasferite tramite segnali olfattivi, tattili e acustici. Si caratterizza per ripetizioni, omissioni e riutilizzo di alcune sequenze comportamentali. La tendenza a ripetere sequenze simili molte volte è conseguente alla presenza di quelli che vengono definiti "monologhi comportamentali". Maschio e femmina non presentano comportamenti lineari, ma entrano spesso in contatto, interagiscono brevemente e poi si separano. Essendo una specie senza ali, *G. portentosa* non presenta sequenze comportamentali come

il sollevamento e il battito delle ali, ma presenta dei comportamenti che non sono presenti nelle altre specie e che probabilmente li sostituiscono: il posturing e l'emissione di soffi. Da una parte, il posturing maschile sembra essere collegato all'emanazione di un odore che probabilmente ha la funzione di attrarre la femmina. Infatti sembra che le femmine siano in grado di discriminare maschi di differenti età e status sociale e di indirizzare la propria scelta sulla base di informazioni veicolate da stimoli olfattivi (Leibensperger et al., 1985). A conferma di ciò è stato osservato che il posturing maschile è seguito molto spesso da un approccio femminile diretto. Dall'altra parte, anche i soffi sembrano trasferire informazioni riguardo al rango e alla dimensione e sono indispensabili perché avvenga l'accoppiamento. È stato provato che, femmine isolate con maschi non sono in grado di emettere suoni rispondono ai tentativi di accoppiamento solo nel caso in cui si riproducano delle registrazioni dei soffi maschili durante le interazioni maschio/femmina, dimostrando così l'importanza cruciale dell'emissione di suoni nel processo di accoppiamento (Fraser e Nelson, 1980). In generale le femmine di *G. portentosa* preferiscono maschi dominanti (Clark e Moore, 1995), ma si sa poco sulla scelta femminile e su quali fattori maschili si basi.

Scopo dell'elaborato

Lo scopo dell'elaborato è quello di studiare le varie componenti dell'accoppiamento in *G. portentosa*, con particolare attenzione alle caratteristiche morfologiche e di corteggiamento dei maschi nel determinare la scelta femminile. Inoltre, si è cercato di valutare la presenza di eventuali accoppiamenti multipli della femmina.

Materiali e metodi

Disegno sperimentale

Per valutare la scelta femminile in G. portentosa, sono state osservate interazioni fra un maschio e una femmina. Si sono utilizzate sia femmine vergini che dopo il parto (post-partum) a cui sono state presentati 3 diversi maschi in maniera consecutiva. Sia delle femmine che dei maschi sono state analizzate alcune caratteristiche morfologiche, e durante le osservazioni si è preso nota dei comportamenti sessuali e delle caratteristiche della copula. Il progetto si è svolto nei locali del museo Esapolis.

Selezione e mantenimento degli individui

Selezione femmine. Per ottenere femmine vergini sono state isolate 15 femmine con ancora l'ultima muta da compiere e di conseguenza immature sessualmente. Non avendo caratteri diagnostici evidenti che segnalano l'ultimo stadio di maturazione (come invece presenti in altre specie di scarafaggi che presentano abbozzi di ali nella penultima muta), sono stati isolati individui di grandezza simile a quella presunta dell'ultima muta. Per ottenere femmine post-partum, potenzialmente recettive dopo il parto, sono state scelte dalla colonia 22 femmine ritenute gravide, selezionate perché con l'ooteca esposta al momento della cattura (che indica un recente accoppiamento e quindi uova fecondate) oppure con addome particolarmente rigonfio (che indica stadi di 'gravidanza' più avanzata). Ogni femmina è stata isolata in un contenitore di plastica, identificato tramite un codice alfanumerico univoco, di dimensioni 16,5x5x11 cm, allestito con acqua e cibo (si veda sotto).

Selezione maschi. Sono stati prelevati 11 maschi dalla colonia, selezionati perché rappresentassero per quanto possibile la variabilità della popolazione nella grandezza del corpo e delle corna. Ci si è assicurati che fossero in buona salute e con antenne integre (importanti nella comunicazione intersessuale). I maschi sono stati mantenuti in gruppi (3-4 individui) in 3 scatole di dimensioni 20x7x17 cm. Ogni individuo è stato identificato con un segno di pennarello sul dorso.

Allestimento. Sia per i maschi che per le femmine, i contenitori sono stati ricavati da scatole in plastica con alcune porzioni sostituite da rete metallica, fissata con colla a caldo, per facilitare il ricircolo d'aria ed evitare formazione di muffe. In ogni contenitore, è stato riposto un cartone delle uova (o parte di esso) come riparo per l'animale e una fialetta (o 2 nel caso delle scatole dei maschi) da 10 ml riempita con acqua e tappata con della carta assorbente, come fonte di acqua. [Figura 3]. Gli individui sono stati nutriti *ad libitum* con crocchette per gatti e una volta a settimana sono stati aggiunti dei pezzi di lattuga fresca. Per evitare la

formazione di muffa si è proceduto a togliere l'insalata dopo uno o due giorni se non completamente consumata.
Essendo animali attivi di notte gli spazi utilizzati per la stabulazione e l'osservazione sono stati allestiti con l'inversione del fotoperiodo, così da poter effettuare le osservazioni comportamentali durante il giorno. Le osservazioni sono state fatte con luce rossa per non interferire con il fotoperiodo.
Per ragioni logistiche il progetto si è svolto in due parti, nella prima parte si sono effettuate le osservazioni comportamentali con femmine vergini e post-partum ad una temperatura non precisamente controllata; nella seconda parte si sono testate femmine vergini in un armadio termico settato ad una temperatura controllata di 29°C. Nella prima parte esperimento i contenitori sono stati collocati su degli scaffali isolati dal resto della stanza da teli oscuranti. È stato riprodotto un fotoperiodo invertito di 10 ore di luce e 14 ore di buio montando sugli scaffali dove sono stati riposti i contenitori delle luci collegate ad un timer. Nella seconda parte dell'esperimento, l'allestimento è stato simile, con la differenza che si è proceduto a porre i contenitori in un armadio termico impostato a 29°C gradi (range di fluttuazione termica: 28- 32°C). Anche in questo set up, tramite un timer posizionato nell'armadio, si è invertito il ciclo giorno/notte, riproducendo un fotoperiodo di 12 ore di luce e 12 ore di buio. Per impedire l'entrata di luce ambientale durante le ore del giorno, le pareti dell'armadio sono state oscurate con del cartone [Figura 4].

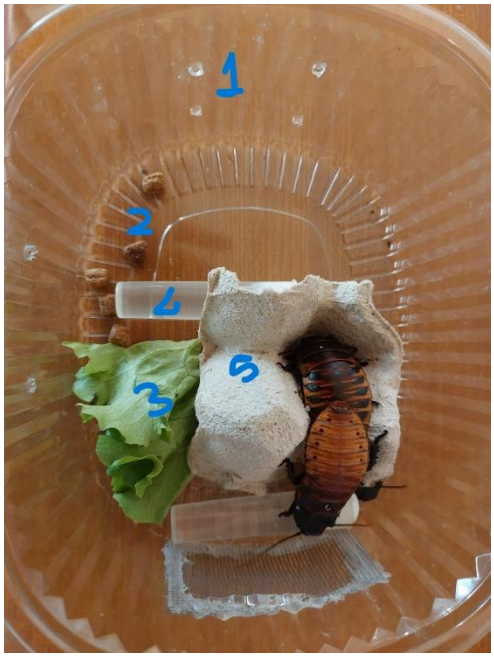

Figura 3 Contenitore di plastica (1) con crocchette per i gatti (2), insalata (3), fialetta d'acqua (4), cartone delle uova (5)

Figura 4 Organizzazione interna dell'armadio termico. Sul primo scaffale sono presenti le scatole degli esemplari; sul secondo scaffale si vede la postazione per le osservazioni comportamentali

Misure morfologiche

Di ogni individuo sono state prese le misure morfologiche (in mm) con un calibro digitale: larghezza del pronoto (WP), lunghezza del pronoto (LP) e lunghezza dorsale (LD). Nei maschi sono state misurate anche le corna dalla punta, all'angolo posteriore ventrale del pronoto (C). [Figura 5].

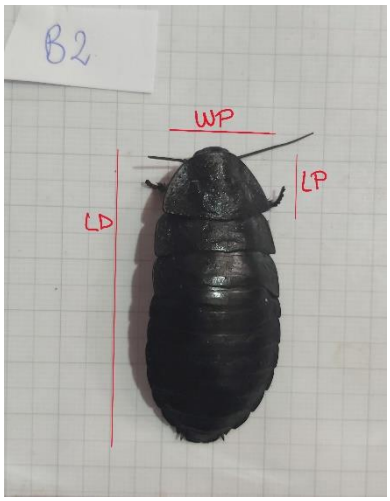

Figura 5 Misure di una femmina adulta: larghezza pronoto (WP), lunghezza dorsale (LD), lunghezza pronoto (LP)

Set up sperimentale per l'osservazione dei comportamenti sessuali
Per effettuare le osservazioni comportamentali si è predisposta un'arena di dimensioni 27x10x20 cm, con i lati cosparsi di vaselina per impedire la fuga degli animali. I comportamenti sessuali si sono osservati in tempo reale tramite l'utilizzo di una webcam che ne ha permesso la visione da computer senza interferire con l'esperimento. Come fonte di illuminazione sono usate le luci rosse [Figura 6]. Per le femmine post-partum si sono aspettati un paio di giorni dopo il parto prima del tentativo di accoppiamento, mentre per le femmine vergini almeno 2 settimane dall'ultima muta. In entrambi i casi si è seguito lo stesso protocollo: la femmina selezionata per il test è stata disposta nell'arena 10/15 minuti prima dell'inizio dell'esperimento perché si abituasse al nuovo ambiente. Per osservare il comportamento in risposta a maschi diversi, alla stessa femmina sono stati presentati in successione tre maschi, con 10 minuti fra un maschio e il successivo. Tra un test e l'altro è stata cambiata l'arena di osservazione in modo tale che eventuali feromoni rilasciati da un maschio non interferissero con il comportamento dei maschi successivi. Ogni maschio, di cui si sono prese misure morfologiche (lunghezza totale, lunghezza e larghezza del pronoto e lunghezza delle corna), è stato lasciato con la femmina per un minimo di 30 min e un massimo di un'ora, periodo durante il quale si sono osservati i vari comportamenti.

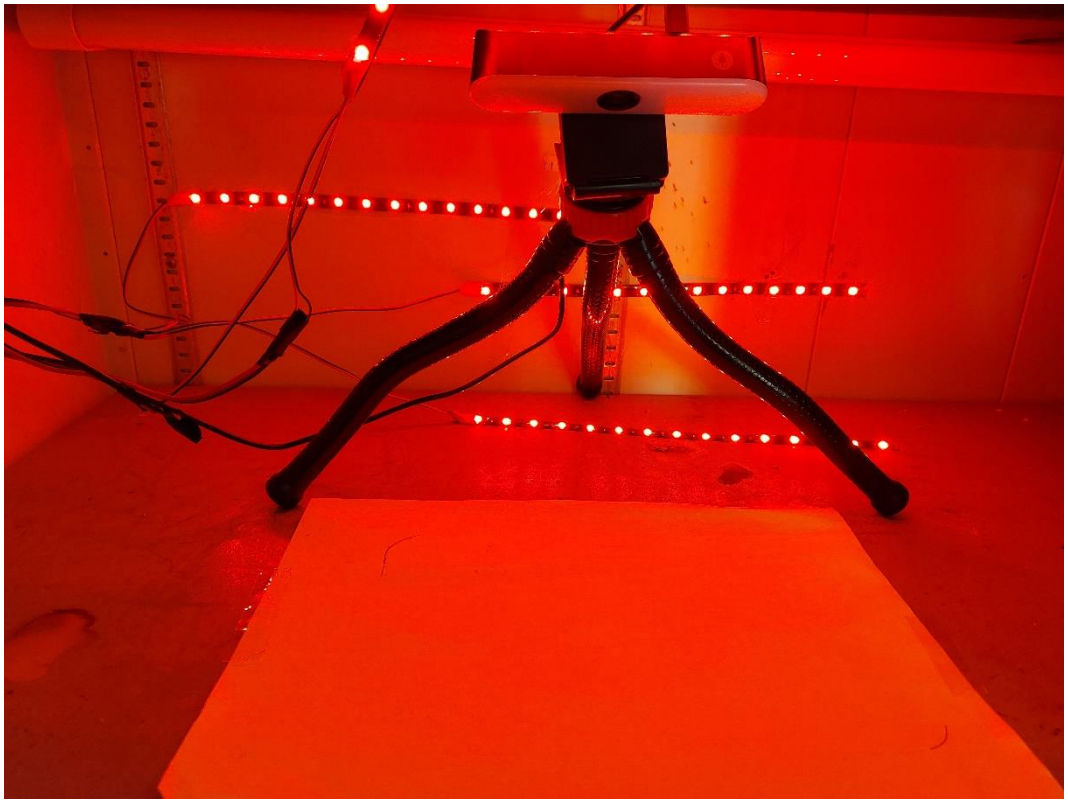

Figura 6 Allestimento per l'accoppiamento: sono mostrate la webcam e le luci rosse

Sono qui riportati i comportamenti osservati durante le interazioni maschio-femmina, seguendo la descrizione riportata in Fraser e Nelson (1984):

- primo contatto: un animale, che sia maschio o femmina, si muove in avanti ed entra in contatto con l'altro esemplare;
- antennamento: antennamento reciproco, in cui il contatto, da parte di entrambi gli esemplari, è antenna-antenna, e antennamento univoco in cui solo uno dei due animali tocca il dorso dell'altro con le antenne, tramite dei colpetti o uno sfregamento orizzontale;
- soffio: il suono emesso a seguito dell'espulsione dell'aria da spiracoli addominali specializzati. Il soffio del maschio durante il corteggiamento può essere diviso in soffio di tipo 1e di tipo 2. Mentre i soffi di tipo 1 sono isolati l'uno dall'altro, sono più tenui e lunghi, quelli di tipo 2 sono brevi e si manifestano consecutivamente;
- mount e tocchi: un animale si pone con una o più zampe sul corpo dell'altro e gli tocca la superficie corporea, solitamente il dorso, con i palpi labiali o mandibolari;
- posturing: il maschio si pone sul substrato con l'addome esteso e curvato verso l'alto. Questo comportamento può essere accompagnato dall'estrusione dei fallomeri oppure da un soffio di tipo 1;
- cross-over: la femmina si arrampica sopra la parte più posteriore dell'addome del maschio e vi si muove/trascina sopra;
- tentativo di accoppiamento: il maschio tenta di accoppiarsi infilando rapidamente la punta del proprio addome sotto la superficie latero-ventrale dell'addome femminile. Poi si porta nella posizione tipica dell'accoppiamento in cui gli animali hanno i capi che puntano in direzioni opposte [Figura 7 e Figura 8];
- stand: la femmina resta ferma con gli arti tenuti lateralmente, il corpo vicino al suolo, la punta dell'addome flessa verso il basso;
- allontanamento: uno o entrambi gli animali si allontanano l'uno dall'altro.

Per ogni tentativo, si sono segnati la data, l'orario di inizio e la fine del test. Si è segnato il tempo trascorso dal primo contatto tra gli esemplari testati e dei comportamenti; in caso di accoppiamento si è tenuto conto della sua durata totale e della latenza all'accoppiamento, misurata in minuti, rispettivamente dall'inizio del test e dal primo contatto.

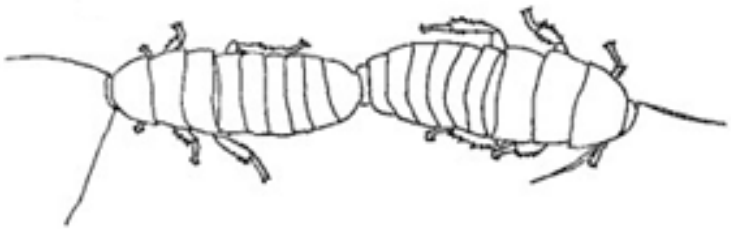

Figura 7 Posizione tipica dell'accoppiamento di G. portentosa. Da (Fraser e Nelson, 1979)

Figura 8 Fotografia dell'accoppiamento di due individui sperimentali. Femmina a destra e maschio a sinistra

Risultati

Analisi morfologiche di maschi e femmine

Nello studio sono stati utilizzati in totale 18 maschi e 25 femmine (di cui 15 vergini e 10 post-partum). È stato osservato che le varie dimensioni corporee correlano positivamente e significativamente fra loro sia nei maschi che nelle femmine. Per le femmine è stata quindi utilizzata nelle successive analisi solo la larghezza del pronoto (larghezza pronoto vs lunghezza pronoto: r_{17}=0,473, P<0,001, vs lunghezza dorsale r_{17}=0,622, P<0,001). Similarmente, per i maschi è stata utilizzata nelle successive analisi la larghezza del pronoto (larghezza pronoto vs lunghezza pronoto: r_{18}=0,588, P<0,001, vs lunghezza dorsale r_{18}=0,612, P<0.001). La lunghezza delle corna nei maschi correla positivamente con la loro dimensione (r_{18}= 0.543, P<0,001). I maschi in media misuravano 17,76 ± 1,44 mm (larghezza pronoto), le corna in media 6,73 ± 0,94 mm. Le femmine misuravano in media 18,02 ± 1,84 mm (larghezza pronoto), e non c'era differenza tra le dimensioni delle femmine vergini e quelle post-partum (F=0,616, P=0,436). Le medie sono riportate con la loro deviazione standard.

Analisi comportamentali

Le correlazioni fra i vari comportamenti sessuali maschili sono riportate in Tabella1, presentata di seguito. Sono evidenziati in grassetto i valori significati, che indicano una correlazione positiva tra i vari comportamenti: l'antennamento correla positivamente sia con il mount e tocchi sia con il posturing, i tentativi di accoppiamento correlano positivamente con i soffi che con il posturing.

	primo contatto (min)	**antennamento**	**soffio**	**mount e tocchi**	**posturing**	**tentativo di accoppiamento**
primo contatto (min)		0.1144	0.4039	0.6466	0.9399	0.5545
antennamento	-0.2359		0.1137	**0.0033**	**0.0010**	0.0866
soffio	-0.1581	0.2949		0.7125	0.1297	**0.0035**
mount e tocchi	-0.0594	0.4246	-0.0702		<.0001	0.0988
posturing	-0.0113	0.4689	0.2830	0.5436		**0.0016**
tentativo di accoppiamento	-0.1269	0.3572	0.5724	0.3450	0.6081	

Tabella 1 Risultati dei test di correlazione tra i vari comportamenti maschili. La parte sotto la diagonale riporta i valori di correlazione (r) mentre la parte sopra la diagonale i valori di significatività (P). In grassetto i valori di P significativi.

Dall'analisi delle correlazioni fra i vari comportamenti e le dimensioni dei maschi (riportate in Tabella 2) risulta che la lunghezza delle corna è correlata negativamente, sebbene in maniera marginalmente significativa, sia con il numero di antennamenti che con il numero di mount e tocchi [Figura 9].

	primo contatto (min)	**antennamento**	**soffio**	**mount e tocchi**	**posturing**	**tentativo di accoppiamento**
Larghezza pronoto	r=0.0133 P=0.9115	r=-0.1377 P=0.3615	r=0.0399 P=0.8343	r=-0.0775 P=0.5495	r=-0.0073 P=0.9609	r=0.2913 P=0.1673
Lunghezza corna	r=0.1734 P=0.1452	r=-0.2469 P=0.0981	r=-0.2485 P=0.1855	r=-0.2188 P=0.0876	r=-0.0473 P=0.7520	r=-0.0735 P=0.7328

Tabella 2 Risultati dei test di correlazione tra i vari comportamenti maschili e le dimensioni corporee del maschio (larghezza del pronoto e lunghezza corna).

In Figura 9 la correlazione negativa (marginalmente non significativa) della dimensione delle corna con il mount e tocchi, e l'antennamento, che indica che questi comportamenti sono meno frequenti in maschi con corna più grandi.

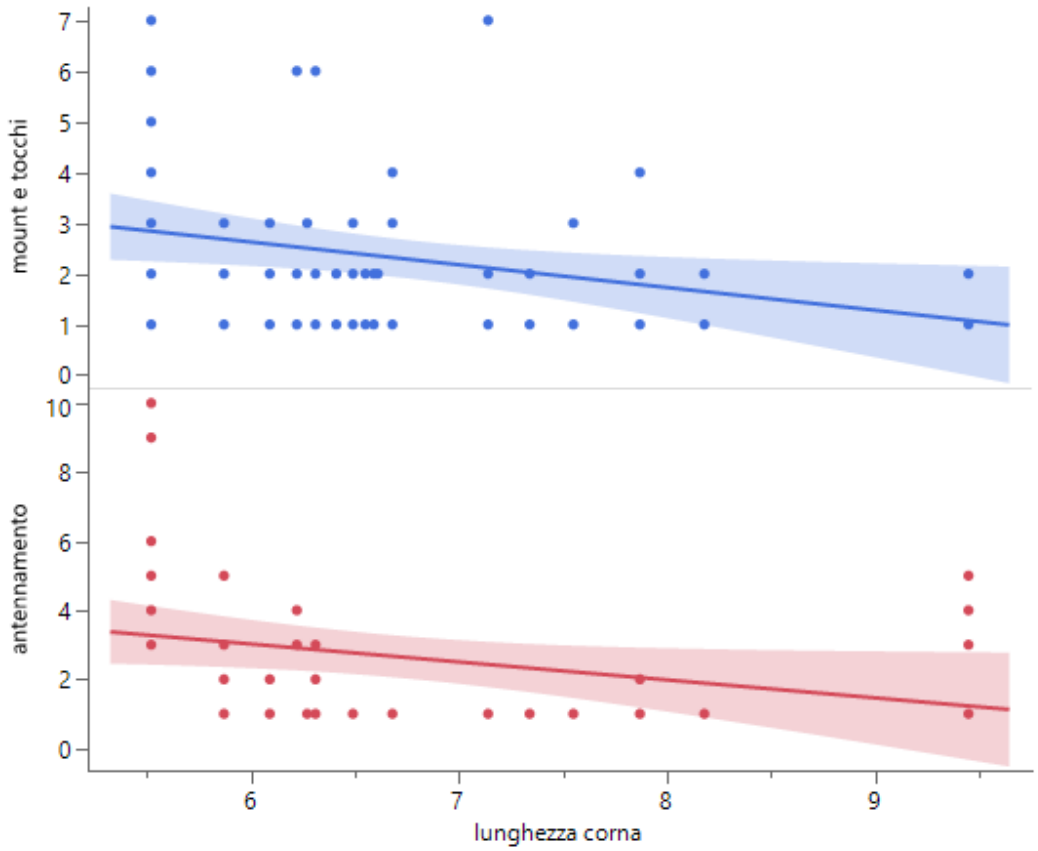

Figura 9 In alto è riportata la correlazione tra il comportamento mount e tocchi e la lunghezza delle corna; in basso è riportata la correlazione tra il comportamento antennamento e la lunghezza delle corna. I comportamenti sono riportati sull'asse Y, mentre la lunghezza delle corna (in mm) sull'asse delle X

In caso di accoppiamento si è tenuto conto della sua durata totale e della latenza all'accoppiamento, misurata in minuti, dall'inizio del test e dal primo contatto. Nel primo accoppiamento la latenza dall'inizio del test era di 12 minuti, 11 dal primo contatto e la durata complessiva della copula di 16 minuti; nel secondo la latenza era di 20 minuti dall'inizio del test e 17 dal primo contatto, mentre la lunghezza della copula di 14 minuti.

Analisi comportamentali e femmine

Sono state poi analizzate, con l'uso di una ANOVA a due fattori, le differenze comportamentali dei maschi in relazione alla tipologia delle femmine (vergini o post-partum), alla dimensione delle femmine stesse e all'interazione tra questi due fattori.

La tipologia della femmina (vergine o post partum) ha influenzato l'antennamento (T= -2,28; P= 0,029), il posturing (T= -2,60; P= 0,014) e i tentativi di accoppiamento (T= -2,55; P= 0,254). I maschi esibiscono maggiormente questi comportamenti con femmine vergini, indipendentemente

dalle loro dimensioni e non ci sono interazioni significative tra la tipologia delle femmine e la loro dimensione.
Non ci sono effetti del tipo di femmina, della loro dimensione, o dell'interazione fra i due fattori, per il comportamento mount e tocchi.
Nel caso del primo contatto e del soffio la situazione cambia. Le differenze tra i vari comportamenti in relazione sono riportate in Figura 12.
Per quanto riguarda il tempo passato dall'inizio del test al primo contatto non è risultato significativo né il tipo di femmina (P=0,555) né la lunghezza della femmina (P=0,576), mentre l'interazione fra tipo di femmina e dimensione è marginalmente significativa (P=0,059), come mostrato in Figura 10. Se analizzate separatamente con una correlazione, risulta che il tempo dall'inizio del test al primo contatto aumenta all'aumentare delle dimensioni delle femmine post-partum (P=0,046), mentre non è influenzato delle dimensioni delle femmine vergini (P=0,347).

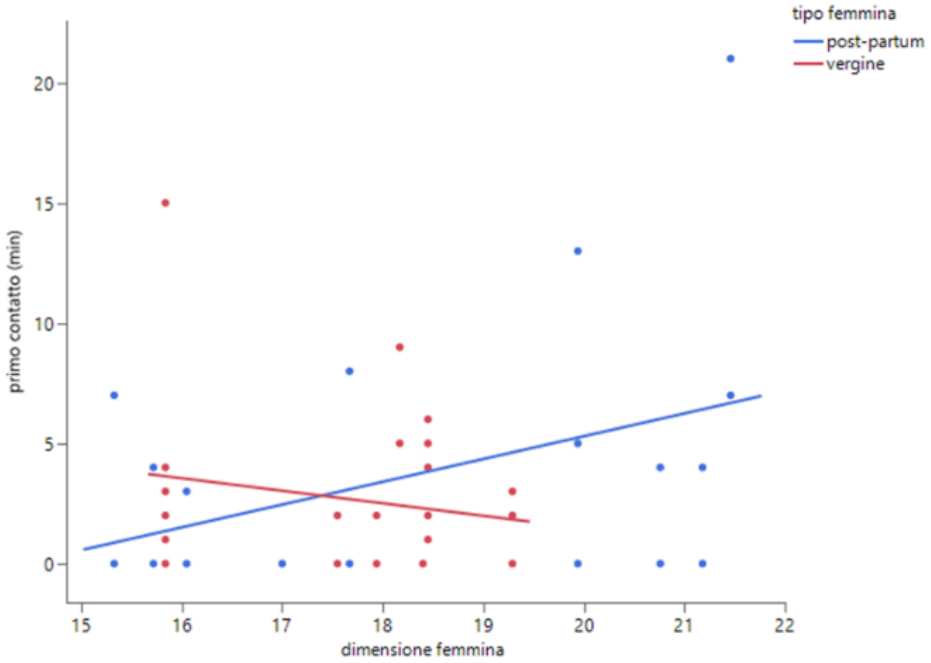

Figura 10 Grafico che mostra la correlazione tra il primo contatto e le dimensioni della femmina, diviso per tipologia della femmina. Sull'asse Y è riportato il comportamento, sull'asse X la dimensione della femmina (larghezza pronoto in mm). Le femmine post-partum sono rappresentate dalla linea blu, mentre quelle vergini dalla linea rossa.

Per il numero di soffi emessi dai maschi sono risultati significativi tutti e tre i dati ovvero la tipologia di femmine (P=0,023), la lunghezza della femmina (P= 0,035) e l'interazione fra dimensione e tipo di femmina (P=0,039), come mostrato in Figura 11. Il numero di soffi aumenta all'aumentare delle dimensioni delle femmine vergini, mentre resta costante per le femmine post-partum.

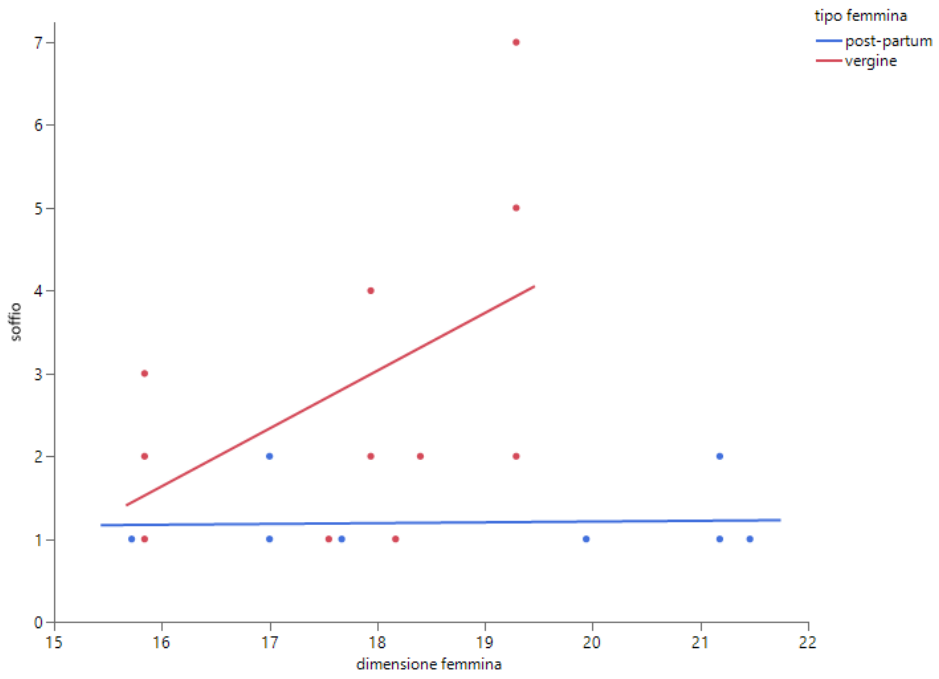

Figura 11 Grafico che mostra la correlazione tra soffio, dimensioni della femmina e tipologia della femmina. Sull'asse Y è riportato il comportamento, sull'asse X la dimensione della femmina (larghezza pronoto in mm). Le femmine post-partum sono rappresentate dalla linea blu, mentre quelle vergini dalla linea rossa.

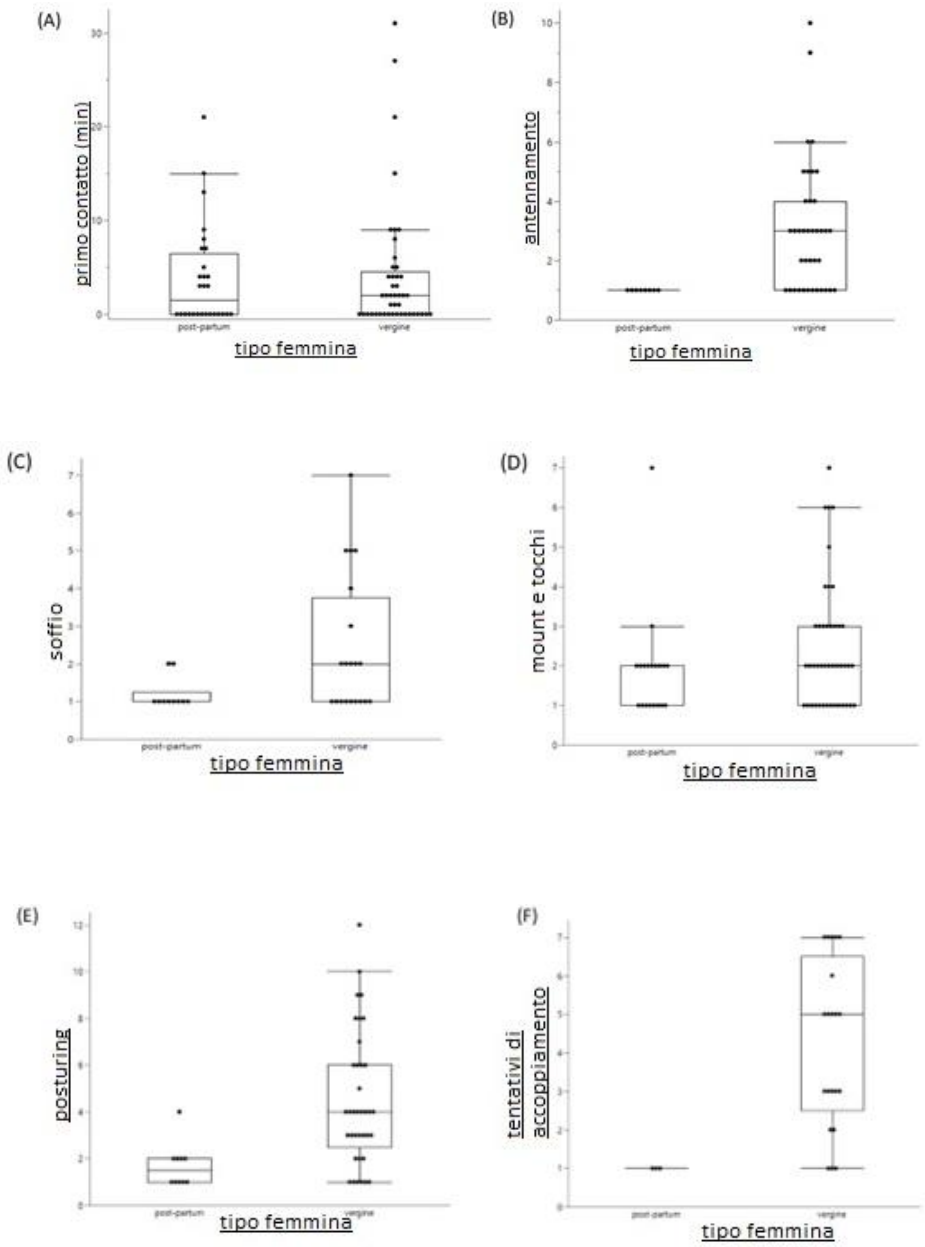

Figura 12 Grafici che mostrano la differenza tra i vari comportamenti sessuali in Y, e la tipologia di femmine (post-partum a sinistra, vergini a destra), in asse X. In (A) primo contatto, in (B) antennamento, in (C) soffio, in (D) mount e tocchi, in (E) posturing, in (F) tentativo di accoppiamento

Discussione

In questo studio sono state analizzate varie componenti del comportamento riproduttivo in *G. portentosa*, studiando in particolare come le caratteristiche morfologiche, sia maschili che femminili, possano influenzare i comportamenti pre-copula e l'accoppiamento stesso. A conferma di quello che era già stato analizzato da Fraser e Nelson (1984), sono state osservate le sequenze comportamentali proprie del corteggiamento di *G. portentosa* che, pur presentando un comportamento sessuale inusuale nel mondo delle blatte (Bath, 1968), è caratterizzato da un pattern riconoscibile. Il corteggiamento comincia sempre con uno dei due individui che si avvicina all'altro, iniziando così una fase in cui maschio e femmina si scambiano lunghi contatti con le antenne. Spesso quindi il maschio emette i caratteristici soffi ed esibisce il posturing, estendendo l'addome e curvandolo verso l'alto. Dai dati raccolti emerge che le varie componenti del corteggiamento sono spesso positivamente correlate fra loro, ed in particolare soffi e posturing sono significativamente correlati con i tentativi di accoppiamento, suggerendo che queste due componenti siano rappresentative dell'interesse del maschio verso la femmina. In Fraser e Nelson (1984) erano anche segnalati altri comportamenti come lo stand e il cross-over. In questo studio lo stand (comportamento in cui femmina resta ferma con gli arti tenuti lateralmente, il corpo vicino al suolo, la punta dell'addome flessa verso il basso) è stato osservato solo due volte, ed ha preceduto i due accoppiamenti, indicando che nel momento in cui la femmina esibisce questo comportamento, è pronta all'accoppiamento (Fraser e Nelson, 1984). Il cross- over (la femmina si arrampica sopra la parte più posteriore dell'addome del maschio e vi si muove/trascina sopra), invece è stato visto solo in tre osservazioni che non si sono concluse con l'accoppiamento. La bassa la frequenza di questo comportamento ha impedito che potesse essere incluso nell'analisi dei dati.

La maggior parte degli studi che hanno analizzato gli atteggiamenti sessuali delle blatte, si basano su osservazioni comportamentali tra maschi e femmine vergini, perché le femmine vergini sembrano essere più sensibili ai comportamenti maschili e i maschi sembrano essere più attivi se messi di fronte ad una femmina vergine. Dai risultati delle osservazioni effettuate in questo studio i maschi esibiscono più comportamenti sessuali quando di fronte ad una femmina vergine rispetto a quando la femmina era post-partum. Una spiegazione è che le femmine vergini sono più recettive e propense all'accoppiamento mentre se anche le femmine dopo il parto tornino ad essere recettive o meno non era mai stato studiato. In questo studio sembrerebbe che femmine dopo il parto non lo siano, visto che i maschi non hanno mostrano lo stesso livello di interesse verso queste femmine. Per esserne sicuri bisognerebbe fare un'analisi sistematica, prendendo

un sample size maggiore e testando le femmine in giorni prestabiliti dopo il parto. C'è comunque da notare che in altre specie di blatta, come in *Periplaneta americana*, le femmine vergini producono un feromone sessuale che le contraddistingue e che potrebbe, quindi, spiegare il comportamento maschile più marcato verso queste femmine. In questa specie, infatti, come osservata to Roth & Willis (1952) i maschi esibiscono comportamenti sessuali anche in presenza di soli pezzi di carta precedentemente venuti a contatto con femmine vergini, ma non mostrano lo stesso comportamento nei confronti di quelli a contatto con femmine post-partum, indicando che i feromoni sessuali sono principalmente prodotti dalle femmine che non si sono mai accoppiate. L'importanza dei segnali olfattivi in *G. portentosa* è stata più volte studiata, ma non sembra che siano le femmine a produrre segnali olfattivi (Barth, 1968). Dalle analisi tra comportamenti e dimensioni corporee non ci sono correlazioni significative ma sembra esserci una tendenza negativa tra la grandezza delle corna maschili e il numero di mount e tocchi, per cui i maschi con corna grandi sono meno attivi rispetto agli altri in questi comportamenti. Le femmine di *G. portentosa* prediligono maschi dominati e la grandezza delle corna è strettamente legata alla dominanza e al successo nelle competizioni maschili (Clark & Moore, 1993), e quindi è logico pensare che maschi con corna più grandi, avendo maggiori probabilità di accoppiarsi e non debbano esibire tanti comportamenti durante il corteggiamento (Clark, 1998). È stato interessante osservare che, nonostante ciò, l'unico maschio che è riuscito ad accoppiarsi, non sia tra quelli con corna e larghezza del pronoto maggiori.

Dai modelli è emerso che il comportamento mount e tocchi non dipende né dalla grandezza delle femmine né dalla loro tipologia (vergine o post-partum). Probabilmente ciò è dovuto al fatto che gli individui manifestano questo comportamento molto frequentemente, non solo nel corteggiamento, ma anche in altri contesti. Durante il corteggiamento non è essenziale perché la sua assenza non preclude l'accoppiamento, diversamente da altri comportamenti come il posturing e i soffi (Fraser e Nelson, 1984). Dalle analisi è risultato anche che i maschi approcciano prima femmine post-partum più piccole. Il risultato non è di facile interpretazione, ma è possibile che i maschi impieghino più tempo a discriminare il sesso di una femmina post-partum, vista la minor ricettività rispetto alle femmine vergini, e che in un primo momento, non riuscendo a discriminarne il sesso per mancanza di feromoni, siano intimoriti dalle dimensioni maggiori. Per quel che riguarda i soffi, questi aumentano all'aumentare delle dimensioni delle femmine vergini. Probabilmente il motivo per cui avviene potrebbe essere spiegato dal fatto che femmine più grandi siano più fertili (Lincetto, 2022).

Nel corso dello studio è stato anche osservato un fenomeno interessante. Una femmina, di cui si ignorava lo stato di gravidanza, è stata usata per la sperimentazione. Il giorno dopo, nel suo contenitore, è stata ritrovata un'ooteca

abortita. Ipotizzando che potesse essere ritornata recettiva, è stata riutilizzata ed effettivamente si è accoppiata, il che potrebbe in effetti essere un'indicazione della recettività femminile dopo il parto o dopo la perdita dell'ooteca. Sicuramente questo aspetto andrebbe vagliato in dettaglio con un esperimento specifico. Infatti una possibile limitazione dello studio con le post-partum, come detto sopra, potrebbe essere stato il tempo variabile a cui si sono testate le femmine post-partum.

Conclusioni

Questo studio ha fatto luce su alcuni aspetti fondamentali del comportamento riproduttivo di *G. portentosa*, evidenziando l'importanza dei comportamenti pre-copulatori e delle caratteristiche morfologiche per il corteggiamento e l'eventuale accoppiamento. Purtroppo, per la presenza di un numero troppo ristretto di accoppiamenti effettivi (2 su 91 tentativi totali) non si è potuto analizzare la scelta femminile in *G. portentosa*, o l'eventuale presenza di accoppiamenti multipli. In ogni caso i risultati di questo studio hanno indicato come si potrebbe procedere per ottenere tali accoppiamenti. Infatti ci siamo resi conto che i dati raccolti durante la prima parte dell'esperimento erano più scarsi, e questo è possibile imputarlo ad una temperatura meno controllata in quella fase dell'esperimento. Quando gli esemplari sono stati spostati nell'armadio termico si sono visti più comportamenti sessuali, per cui sicuramente nel futuro la temperatura di allevamento e durante i test andrebbe controllata più precisamente per ottenere più accoppiamenti. Per aumentare le possibilità di ottenere accoppiamenti, si potrebbero usare maschi con alto successo di accoppiamento per poter osservare se le femmine scelgano con chi accoppiarsi e capire su quali parametri si basi questa scelta. Sarebbe anche interessante studiare più nel dettaglio gli ormoni le diverse tipologie di soffio. Durante questa sperimentazione è stato misurato il numero di soffi emessi dal maschio durante il corteggiamento e sarebbe interessante studiarne le caratteristiche, come la frequenza e l'ampiezza (Fraser e Nelson, 1979).

Bibliografia

Anderson, J. (1983). Life in the soil is a ferment of little rotters. *New Scientist*, *100*(1378), 29.

Barth, R. H. (1968). The mating behavior of *Gromphadorhina portentosa* (Schaum) (Blattaria, Blaberoidea, Blaberidae, Oxyhaloinae): an anomalous pattern for a cockroach. *Psyche*, *75*(2), 124-131.

Bell, W. J., & Bohm, M. K. (1975). Oosorption in insects. *Biological Reviews*, *50*(4), 373-396.

Bell, W. J., Roth, L. M., & Nalepa, C. A. (2007). *Cockroaches: ecology, behavior, and natural history*. The Johns Hopkins University Press.

Borgia, G. (1979). Sexual selection and the evolution of mating systems. In *Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects*. Academic Press.

Clark, D. C. (1998). Male mating success in the presence of a conspecific opponent in a Madagascar hissing cockroach, *Gromphadorhina portentosa* (Dictyoptera: Blaberidae). *Ethology*, *104*(10), 877-888.

Clark, D. C., Beshear D. D., & Moore A.J. (1995). Role of familiarity in structuring male-male social interactions in the cockroach *Gromphadorhina portentosa. Annals of the Entomological Society of America 88*(4), 554-561.

Clark, D. C., DeBano, S. J., & Moore A. J. (1997). The influence of environmental quality on sexual selection in *Nauphoeta cinerea* (Dictyoptera: Blaberidae). *Behavioural Ecology 8*(1), 46-53.

Clark, D. C. & Moore, A. J. (1994). Social Interactions and aggression among Male Madagascar Hissing Cockroaches (*Gromphadorhina portentosa*) in Groups (Dictyoptera: Blaberidae). *Journal of Insect Behavior, 7*(2).

Cochran, D. G. (1979b). A genetic determination of insemination frequency and sperm precedence in the german cockroach. *Entomologia Experimentalis et applicate 26*(3), 259-266.

Cochran, D. G. (2009). Blattodea:(cockroaches). In *Encyclopedia of insects* (pp. 108-112). Academic Press.

Cochran, D. G. & World Health Organization (1999). *Cockroaches: their biology, distribution and control*. Communicable Diseases Prevention and Control WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES).

Cornwell, P. B. (1968). The cockroach. Volume 1. A laboratory insect and an industrial pest. *The cockroach. Volume 1. A laboratory insect and an industrial pest.*

Delfosse, E. (2006). Sur la taxinomie, la répartition et la biologie des Blattes souffleuses de Madagascar des genres Elliptorhina van Herrewege, 1973; Gromphadorina Brunner, 1865 et Princisia van Herrewege, 1973 (Insecta: Blattodea: Blaberidae). *Le bulletin d'Arthropoda, 30*(4), 3-32.

Engelmann, F. (1960). Mechanisms controlling reproduction in two viviparous cockroaches. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *89*, 516–536.

Ewing, L. S. (1972). Hierarchy and its relation to territory in the cockroach *Nauphoeta cinerea*. *Behaviour 42*(1/2), 152-174.

Ewing, L. S. (1973). Territoriality and role of the female on spacing of males in cockroach *Nauphoeta cinerea*. *Behaviour 45*(3/4), 287-304.

Favaro Stefano 2021. Effetti della restrizione della dieta sulla competizione maschile in *Gromphadorhina portentosa*. Tesi di laurea, Università di Padova.

Fraser, J., & Nelson, M. C. (1984). Communication in the courtship of a Madagascan hissing cockroach. I. Normal courtship. *Animal behaviour*, *32*(1), 194-203.

Gemeno, C., & Schal, C. (2004). Sex pheromones of cockroaches. *Advances in insect chemical ecology*, 179-247.

Gemeno, C., Snook, K., Benda, N., & Schal, C. (2003). Behavioral and electrophysiological evidence for volatile sex pheromones in *Parcoblatta* wood cockroaches. *Journal of Chemical Ecology, 29*(1), 37-54.

Graves, P. N. (1969). Spermatophores of the Blattaria. *Annals of the Entomological Society of America, 62*(3), 595–602.

Griffiths, Jr. J. T., & Tauber, O. E. (1942). Fecundity, Longevity, and Parthenogenesis of the American Roach, *Periplaneta americana* L. *Biochemical zoology 15*(2).

Grillou, H. (1973). A study of sexual receptivity in *Blabera craniifer* Burm. (Blattaria). *Journal of Insect Physiology*, *19*, 173-193.

Gupta, A.P. (1947). On copulation and insemination in the cockroach *Periplaneta americana* (Linn.). *Proceedings of the National Institute of Sciences, India*, *13*, 65-71.

Gwynne, D.T. (1993). Food quality controls sexual selection in Mormon crickets by altering male mating investment. *Ecology*, *74*(5), 1406-1413.
Hales, R. A., & Breed, M. D. (1983). Female calling and reproductive behavior in the brown banded cockroach, *Supella longipalpa* (F.) (Orthoptera: Blattellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, *76*(2), 239-241.

Halliday, T. R. (1983). The study of mate choice. In *Mate choice* (pp. 3-32). Cambridge University Press.

Heming, B. S. (2013). *Insect development and evolution*. Cornell University Press
Heyborne, W. H., Fast, M., & Goodding, D. D. (2012). The madagascar hissing cockroach: A new model for learning insect anatomy. *American Biology Teacher*, 74(3), 185–189.

Huckova, A., Vidlicka, L., & Kozanek, M. (1994). Mating of the cockroach *Nauphoeta cinerea* (Blattodea: Blaberidae). 2. Histamine changes during courtship and copulation. *Biologia. Ser. B. (Slovakia)*.

Hunt, J., Breuker, C. J., Sadowski, J.A., & Moore, A. J. (2009). Male–male competition, female mate choice and their interaction: determining total sexual selection. *Journal of Evolutionary Biology, 22*(1), 13-26.

Jayakuma, M., William, S. J., Raja, N., Elumalai K. & A. Jeyasankar (2002). Mating behavior of a cockroach, *Neopolyphaga miniscula* (Dictyoptera: Blaberoidea). *Journal of Experimental Zoology, India*, *5*(1), 101-106.

Koehler, P.G. & Patterson, R.S (1987). The Asian roach invasion. *Natural History 96*(11), 28, 30, 32, 34-35.

Leibensperger, L.B., Traniello, J. F. A., & Fraser, J.M. (1985). Olfactory cues used by female Gromphadorhina portentosa (Dictyoptera Blaberidae) during mate choice. *Annals of the Entomological Society of America 78(5), 629-634.*

Liang, D., & Schal C. (1993). Calling behavior of the female german cockroach, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of insect behaviour 6*(1), 603-614.

Lincetto Edoardo 2022. Studio di aspetti riproduttivi in *Gromphadorhina portentosa*. Tesi di laurea, Università di Padova.

Livigstone, D., & Ramani, R (1978). Studies on the reproductive biology. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section B, Animal Sciences 87,* 299-247.

Lo, N., Beninati, T., Stone, F., Walker, J., & Sacchi, L. (2007). Cockroaches that lack *Blattabacterium* endosymbionts: the phylogenetically divergent genus *Nocticola. Biology letters 3*(1), 327-330.

Lounge, D. M., Mishra, S., McCafrey, D., Ball, D. & Cade W. H. (2009). A behavioural syndrome linking coutship behaviour toward males and female predicts reproductive success from a single mating in the hissing cockroach, *Gromphadorhina portentosa*. *Behavioural ecology 20*(1), 781-788.

Mack, C. (2022). Winner and Loser Effects in Madagascar Hissing Cockroaches (*Gromphadorhina portentosa*). *Honors Theses* 610.

Mackerras, M. J. (1965°). Australian Blattidae (Blattodea). I. General remarks and revision of the genus Polyzosteria Burmeister. *Australian Journal of Zoology*. *13*(5), 841-882.

Miller, C. W. (2013). VII.5. Sexual Selection: male-male competition. In *The Princeton Guide to Evolution* (pp. 641-646). Princeton University Press.

Moore, A. J. (1990). The inheritance of social dominance, mating behaviour and attractiveness to mates in male *Nauphoeta cinerea. Animal Behaviour 39*(2), 388-379.

Moore, A. J., & Breed, M. D. (1986). Mate assessment in a cockroach, *Nauphoeta cinerea*. *Animal Behaviour, 34*(4), 1160-1165.

Moore, A. J., & Moore, P. (1988). Female strategy during mate choice: threshold assessment. *Evolution 42*(2), 387-391.

Moore, A. J., & Moore, P. (1998). Female strategy during mate choice: threshold assessment. *Evolution 42*(2), 387-391.

Moore, A. J., & Moore, P. (1999). Balancing sexual selection through opposing mate choice and male competition. *Proceedings of the Royal Society B 266*(1), 711-716.

Moore, A. J., Reagan N. L., & Haynes KF, 1995. Conditional signaling strategies: effects of ontogeny, social experience and social status on the pheromonal signal of male cockroaches. *Animal Behaviour*, *50*(1), 191-202.

Moore, A. J., Gowaty, P. A., Wallin W.G., & Moore P.J. (2001). Sexual conflict and the evolution of female mate choice and male social dominance. *Royal Society, 268*(1466), 517-523.

Moore, A. J., Gowaty, P. A., Wallin W.G., & Moore P.J. (2001). Females avoid manipulative males and live longer. *Journal of Evolutionary Biology, 16*(3), 523-530.

Nalepa, C. A. (1988a). Cost of parental care in the woodroach *Cryptocercus punctulatus* Scudder (Dictyoptera: Cryptocercidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology 23*, 35–140.

Nelson, M. C. (1979). Sound production in the cockroach, *Gromphadorhina portentosa*: the sound-producing apparatus. *Journal of comparative physiology*, *132*(1), 27-38.

Nelson, M. C., & Fraser, J. (1980). Sound production in the cockroach, *Gromphadorhina portentosa*: evidence for communication by hissing. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 305-314.
Nutting, W. L. (1969). Flight and colony foundation. In *Biology of Termites*. *Vol. 1* (pp. 233-282). Academic Press.

Perry, J., & Nalepa, C. A. (2003). A new mode of parental care in cockroaches. *Insectes sociaux, 50*(3), 245-247.

Pope, P. (1953). Studies of the life histories of some Queensland Blattidae (Orthoptera). Part 1. The domestic species. *Proceedings of the Royal Society of Queensland*, *63*, 23-46.

Roth, L. M. (1962). Hypersexual activity induced in females of the cockroach Nauphoeta cinerea. *Science, 138*(3546), 1267-1269.

Roth, L. M. (1964). Control of reproduction in female cockroaches with special reference to *Nauphoeta cinerea*—I. First pre-oviposition period. *Journal of Insect Physiology*, *10*(6), 915-945.

Roth, L. M. (1970a). Evolution and taxonomic significance of reproduction in the Blattaria. *Annual Review of Entomology*, *15*, 75-96.

Roth, L. M. (1970b). The stimuli regulating reproduction in cockroaches. *Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 189*, 267-286.

Roth, L. M. (1979c). A taxonomic revision of the Panesthiinae of the world. III. The genera *Panesthia* Serville and *Miopanesthia Serville* (Dictyoptera: Blattaria: Blaberidae). *Australian Journal of Zoology, Supplementary Series*, *74*, 1- 276.

Roth, L. M. (1989). *Sliferia*, a new ovoviviparous cockroach genus (Blattellidae) and the evolution of ovoviviparity in Blattaria (Dictyoptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington, 91*, 441-451.

Roth, L. M. (1991a). Blattodea; Blattaria (Cockroaches). In *The Insects of Australia* (pp 320-329). Cornell University Press.

Roth, L. M. (2003c). Systematics and phylogeny of cockroaches (Dictyoptera: Blattaria). *Oriental Insects, 37*, 1-186.

Roth, L. M., & Barth Jr, R. H. (1964). The control of sexual receptivity in female cockroaches. *Journal of Insect Physiology*, *10*(6), 965-975.

Roth, L. M., & R. H. Barth. 1967. The sense organs employed by cockroaches in mating behavior. *Behaviour, 28*(1/2), 58-94.

Roth, L. M., & G.P. Dateo, G. P. (1966). A sex pheromone produced by males of the cockroach *Nauphoeta cinerea*. *Journal of Insect Physiology, 12*(2), 255–265.
Roth, L. M., & E.R. Willis (1952). A study of cockroach behavior. *American Midland Naturalist*, *47*(1)*,* 66-129.

Roth, L. M., & Willis, E. R. (1954). The reproduction of cockroaches. *Smithsonian miscellaneous collections, 122*(12).

Roth, L. M., & Willis, E. R. (1955a). Water content of cockroach eggs during embryogenesis in relation to oviposition behavior. *Journal of Experimental Zoology, 128*(3), 489-509.

Roth, L. M., & Willis, E. R. (1955b). Relation of Water Loss to the Hatching of Eggs from detached Oôthecae of *Blattella germánica* (L.). *Journal of Economic Entomology*, 48(1).

Roth, L. M., & Willis, E. R. (1955c). Intra-uterine nutrition of the “beetle-roach” *Diploptera dytiscoides* (Serv.) during embryogenesis, with notes on its biology in the laboratory (Blattaria: Diplopteridae). *Psyche*, 62(2), 55-68.

Roth, L. M., & Willis, E. R. (1957). An analysis of oviparity and viviparity in the Blattaria. *Transactions of the American Entomological Society (1890-), 83*(4), 221- 238.

Roth, L. M. & Willis, E. R. (1958a). An analysis of oviparity and viviparity in the Blattaria. *Transactions of the American Entomological Society*, 83, 221-238.

Roth, L. M. & Willis, E. R. (1958b). The Biology of Panchlora nivea with observations on the eggs of other Blattaria. *Transactions of the American Entomological Society*, *83*(4), 195-207.

Roth, L. M., & Willis, E. R. (1960). *Smithsonian Miscellaneous Collections: Volume 141.* Smithsonian institution.

Snart, J. O. H., Greenwood, M., Beck, R., & Highnam, K. C. (1984a). The functional morphology of the brood sac in two species of ovoviviparous cockroaches, *Byrsotria fumigata* (Guerin) and *Gromphadorhina portentosa* (Schaum). 1. Scanning and light microscopy. *International journal of invertebrate reproduction and development*, *7*(6), 345-355.

Snart, J. O. H., Greenwood, M., Beck, R., & Highnam, K. C. (1984b). The functional morphology of the brood sac in two species of ovoviviparous cockroaches, *Byrsotria fumigata* (Guerin) and *Gromphadorhina portentosa* (Schaum). 2. Transmission electron microscopy. *International journal of invertebrate reproduction and development*, *7*(6), 357-367.

Sreng, L. (1993). Cockroach mating behaviors, sex pheromones, and abdominal glands (Dictyoptera: Blaberidae). *Journal of Insect Behavior*, *6*, 715-735.
Sueuer, J., & Aubin, T. (2006). When males whistle at females: complex FM acoustic signal. *Naturwissenschaften, 93*(10), 500-505.

Vico Michele 2021. Trade off tra i tratti pre e post copulatori maschili in *Gromphadorhina portentosa*. Tesi di laurea, Universita' di Padova.
Walker, J. A., Rugg, D., & Rose, H. A. (1994). Nine new species of Geoscapheinae (Blattodea: Blaberidae) from Australia. *Memoirs of the Queensland Museum, 35*(1), 263-284.

Wendelken, P. W. & Barth, R. H. (1987). The evolution of courtship phenomena in neotropical cockroaches of the genus *Blaberus* and related genera. *Ethology, 27*(Suppl), 98.

Willis, E.R. (1966). Biology and behavior of *Panchlora irrorata*. *Annals of the Entomological Society of America, 59*(3), 514– 516.

Willis, E. R., Riser, G. R., & Roth, L. M. (1958). Observations on reproduction and development in cockroaches. *Annals of the Entomological Society of America*, *51*(1), 53-69.

Yaguchi, H., Kobayashi, I., Maekawa, K., Nalepa, C. A. (2021). Extra-pair paternity in the wood-feeding cockroach *Cryptocercus punctulatus* Scudder: Social but not genetic monogamy. *Molecular Ecology 30*(1), 1-15.

Yoder, J. A., & Grojean, N. C. (1997). Group influence on water conservation in the giant Madagascar hissing-cockroach, *Gromphadorhina portentosa* (Dictyoptera: Blaberidae). *Physiological Entomology*, *22*(1), 79-82.

Ziegler, R. (1972). Sexual- und Territorialverhalten der Schabe *Gromphadorhina brunneri* Butler. *Zeitschrift fur Tierpsychologie 31,* 531-541.

Ringraziamenti

Ringrazio la dottoressa Clelia Gasparini per essere stata sempre disponibile, stimolante, e professionale. Ringrazio il dottor Enzo Moretto, sempre interessato al progetto e disponibile ad aiutare. Una menzione anche al personale del museo di Esapolis, sempre pronto in caso di necessità. Un ringraziamento speciale ai miei genitori, a mia sorella e alle mie amiche che mi sostengono sempre nelle mie scelte.