



Università degli Studi di Ferrara

FACOLTÀ DI SCIENZE MM. FF. NN.

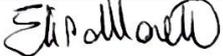
Corso di Laurea Specialistica in Ecologia e Evoluzione

Dipartimento di Biologia ed Evoluzione

Tesi sperimentale di Laurea in Etologia

L'APPRENDIMENTO SPAZIALE DEL LACERTIDE
Podarcis sicula
ALL'INTERNO DI UN MORRIS WATER-MAZE

Relatore: Prof. Augusto Foà

Laureanda: Elisa Moretto


Anno Accademico 2006-2007

L'APPRENDIMENTO SPAZIALE DEL LACERTIDE *PODARCIS SICULA* ALL'INTERNO DI UN MORRIS WATER-MAZE

Riassunto

Il presente lavoro è incentrato sullo studio dell'apprendimento spaziale del lacertide *Podarcis sicula* all'interno di un Morris water-maze. Tale studio si contestualizza all'interno del progetto di ricerca del Gruppo di Etologia dell'Università di Ferrara, già iniziato da alcuni anni, finalizzato a testare le capacità di orientamento in questa specie, verificando se tale orientamento direzionale dipende dall'uso della bussola solare o di punti di repere visivi (feature cues). All'aperto, col disco solare sempre visibile, le lucertole sono addestrate a raggiungere a nuoto una meta non visibile (perché sotto due cm di acqua opacizzata da farina fossile) posta in una determinata direzione.

Il rinforzo utilizzato in tale procedura di apprendimento associativo è rappresentato dalla fuga da una situazione sgradevole, ovvero l'acqua, per raggiungerne una piacevole, ovvero l'asciutto della piattaforma posta a pelo d'acqua e al sole.

Ai fini di valutare quantitativamente ogni singola prestazione direzionale dell'animale, ad ogni punto dell'arena è stato abbinato un punteggio, che poteva variare dallo 0 della prestazione peggiore (lato opposto alla piattaforma) al 2 della prestazione migliore (raggiungimento diretto della piattaforma).

Altri affini studi sui Rettili presenti in letteratura rivelano una panoramica di ricerche non solo scarsa ma assai imprecisa, in quanto nessuno di essi stabilisce né criteri precisi di avvenuto apprendimento degli animali studiati né una precisa tempistica necessaria a raggiungerlo. Un esempio di confronto analizzato nella presente tesi è lo studio sull'apprendimento spaziale in giovani serpenti della specie *Elaphe guttata guttata* addestrati in un'arena posta all'aperto (Holtzman, Harris, Aranguren & Bostock, 1998), in cui le metodiche di addestramento si rivelano simili allo studio sulla memoria spaziale di *Podarcis sicula* per alcuni aspetti, ma differenti per altri aspetti ben più importanti, quali la precisione della procedura di addestramento, la gradualità dell'addestramento stesso o il rispetto dei limiti comportamentali e fisiologici di questa classe di Vertebrati. Lo studio sui serpenti inoltre si pone come obiettivo principale più la *velocità* di apprendimento che non la *verifica del reale apprendimento*, non dimostrando altro che la non-casualità delle prestazioni direzionali degli animali.

La presente tesi si pone quindi le seguenti finalità:

1. Verificare le capacità di apprendimento di *Podarcis sicula*.
2. Stabilire un criterio per dimostrare che l'apprendimento è avvenuto.
3. Appurare le tempistiche necessarie a raggiungere l'apprendimento.

Come mostrato dai risultati ottenuti, *Podarcis sicula* rivela ottime capacità di apprendimento spaziale, ed un aumento delle performance di orientamento nel corso delle sessioni di addestramento, il che è confermato dall'analisi dei punteggi, dall'analisi del numero di insuccessi, dall'analisi del valore dell'Homeward Component ("componente di casa", ovvero motivazione dell'animale a raggiungere, nel nostro caso, la meta rappresentata dalla piattaforma), dall'analisi della lunghezza del vettore medio di orientamento nonché dall'analisi della direzione media di orientamento, che nel corso delle sessioni si sposta verso la meta ($H = 70^\circ$).

Il criterio di avvenuto apprendimento estrapolato dallo studio risulta essere l'ottenimento, da parte dell'animale, di un punteggio maggiore o uguale a 4 in ciascuna delle ultime due sessioni di addestramento.

Per quanto riguarda le tempistiche necessarie a raggiungere l'apprendimento, è stata utile la suddivisione degli animali in due gruppi ad addestramento differente, in particolare uno ad addestramento più diluito nel tempo ma più prolungato ed uno ad addestramento più concentrato nel tempo ma più breve: sebbene il criterio di apprendimento sia stato raggiunto da animali di entrambi i gruppi, dai risultati si evince come, pur essendo sufficienti anche solo quattro sessioni di addestramento, un apprendimento più lineare sia raggiunto con sei sessioni di addestramento; inoltre, sembra avere una maggior efficacia, ai fini dell'apprendimento stesso, un addestramento che non superi i due lanci al giorno e che sia effettuato con una temperatura media dell'aria non maggiore ai 35°C , aspetto importante considerando i limiti dell'ectotermia cui bisogna far fronte lavorando con questa classe di Vertebrati.

INDICE

1. INTRODUZIONE

1.1. L'ORIENTAMENTO

1.1.1. L'orientamento direzionale per mezzo della bussola solare

1.2. L'APPRENDIMENTO

1.2.1. L'apprendimento associativo

1.2.2. Il Morris water-maze

2. L'APPRENDIMENTO SPAZIALE

2.1. L'ESPERIMENTO DI TINBERGEN

2.2. STUDI SULL'APPRENDIMENTO SPAZIALE

2.2.1. Il riconoscimento dell'ambiente familiare

2.2.2. Memoria spaziale come strategia alimentare

2.2.3. I segnali olfattivi: studi sui colombi viaggiatori

2.2.4. Il ruolo dell'ippocampo

2.3. L'APPRENDIMENTO SPAZIALE NEI RETTILI

3. SCOPO DELLA TESI

4. MATERIALI E METODI

4.1. *PODARCIS SICULA*

4.1.1. Cattura

4.1.2. Marcatura

4.1.3. Stabulazione nelle celle termostate

4.2. APPARATO SPERIMENTALE

4.2.1. Arena

4.2.2. Struttura circondante l'arena

4.2.3. Scatola di rilascio

4.2.4. Retino

4.2.5. Teche con resistenze

4.2.6. Resistenze

4.2.7. Pompa idrica

- 4.2.8. Farina fossile
- 4.2.9. Termometro a sonda
- 4.2.10. Termometro a infrarossi con termocoppia ad infrarossi
- 4.2.11. Stereo
- 4.3. RACCOLTA DATI
 - 4.3.1. Telecamera digitale
 - 4.3.2. Bussola digitale
 - 4.3.3. Schede di campo
- 4.4. CONDIZIONI AMBIENTALI
 - 4.4.1. Orari e requisiti ambientali
 - 4.4.2. Range ottimale di temperatura di aria e acqua
 - 4.4.3. Temperature degli animali
- 4.5. PROCEDURA DI ADDESTRAMENTO
 - 4.5.1. Introduzione alla procedura adottata
 - 4.5.2. Fase di preparazione agli esperimenti
 - 4.5.3. Fase di pre-training
 - 4.5.4. Fase di training
 - 4.5.5. Attribuzione dei punteggi
 - 4.5.6. Criteri di avvenuto apprendimento
- 4.6. ANALISI DEI DATI

5. RISULTATI

- 5.1. PUNTEGGI
- 5.2. NUMERO DI INSUCCESSI
- 5.3. PUNTI DI SVANIMENTO: RAYLEIGH TEST
- 5.4. VALORE DELL'HOMeward COMPONENT
- 5.5. LUNGHEZZA DEL VETTORE
- 5.6. UN ESEMPIO NEGATIVO: GGG

6. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

7. BIBLIOGRAFIA

8. INDICE DELLE FIGURE

1. INTRODUZIONE

1.1. L'ORIENTAMENTO

Grazie agli organi di senso gli animali sono in contatto continuo con l'ambiente circostante, e sono programmati in modo tale che in condizioni naturali si sottraggono alle situazioni sfavorevoli e tendono a ricercare, spesso attivamente, e a trattenersi in un ambiente favorevole; gli stimoli ambientali percepiti vengono quindi elaborati in modo tale da provocare una variazione della direzione di moto.

Si comprendono nell'orientamento tutti quei comportamenti che permettono ad un organismo, o ad una sua parte, il mantenimento o il raggiungimento di una determinata posizione.

Il concetto di orientamento è stato definito in diversi modi: O. Koehler (1950) e N. Tinbergen (1951) identificano l'orientamento unicamente con la torsione orientante. H. Schöne (1978) ha considerato questa ed altre definizioni e, inserendo l'organismo in un sistema di riferimenti spaziali, definisce l'orientamento come "la capacità degli organismi di assumere e controllare attivamente posizioni e movimenti totali o parziali, in rapporto a informazioni (esogene ed endogene) di natura spaziale".

Tale fenomeno è coinvolto in comportamenti che si esplicano sia a livello cellulare (l'organizzazione di cellule nei tessuti, il movimento dei cloroplasti verso la luce) che individuale (governo della postura e dei movimenti) o ancora interindividuale (movimenti di gruppo organizzati, migrazioni).

La dimostrazione che l'organismo assume e controlla attivamente la sua posizione nello spazio presuppone che i processi orientanti non siano governati da un rapporto rigido tra stimolo e reazione. Negli anni '50 E. von Holst e J. Mittelstaedt dimostrano che anche lo stato fisiologico dell'organismo ha una influenza determinante, e conferiscono all'orientamento un'accezione sensibilmente discostante dalle precedenti: l'orientamento viene così considerato come un evento comportamentale che può avere una sua complessità di estrinsecazione, modulata dal sistema nervoso centrale, in rapporto allo stato motivazionale interno dell'individuo.

Buoni esempi al proposito sono rappresentati dalle formiche, che hanno una fototassia positiva quando escono dal nido, ma diventano fotonegative allorché vi fanno rientro.

Il tipo di risposta ad uno stesso stimolo può cambiare anche in concomitanza con fattori esterni, come accade per esempio nei giovani salmoni (*Oncorhynchus sp.*) che tendono a scendere la corrente dei fiumi (retrotattismo negativo) con temperatura dell'acqua di 6-9°C, mentre risalgono (retrotattismo positivo) quando la temperatura si fa più elevata.

L'orientamento può essere inteso anche come un'interazione tra organismo e ambiente; per cui una sua ulteriore definizione potrebbe essere "una sequenza di risposte che determinano un non casuale modo di locomozione, di direzione dell'asse corporeo, o di entrambe" (H. E. Adler). In questo senso l'orientamento assume una connotazione di sistema a *feedback* in cui l'attività iniziale pesa sul seguente tipo di risposta orientata; quest'ultima continua fino a che non cambia lo stato motivazionale endogeno dell'individuo.

1.1.1. L'orientamento direzionale per mezzo della bussola solare

L'orientamento direzionale è una peculiare forma di orientamento a distanza (quindi di orientamento mediato) in cui le scelte direzionali dell'animale dipendono dal sistema bussolare ovvero dall'utilizzo di un tipo di orientamento astrotassico (solare, lunare, stellare e forse magnetico terrestre). In tale sistema di orientamento l'angolo di rotta è fissato a priori come direzione standard, cosicché l'animale deve conoscere l'angolo di rotta ed assumerlo rispetto ad una direzione bussolare di riferimento.

Molto diffuso è l'orientamento direzionale che prevede l'utilizzo della bussola solare: l'informazione direzionale viene data dall'azimut solare, ovvero la proiezione del sole sul piano orizzontale, laddove il Sud rappresenta la direzione della linea del mare (il sole nasce a Sud e tramonta ad Ovest, passando per il Sud nell'emisfero Boreale e per Nord in quello Australe).

Il meccanismo della bussola solare presenta interessanti adattamenti a condizioni geografiche particolari (per esempio zone intertropicali e circumpolari), dove il moto apparente del sole, in determinati periodi dell'anno, crea problemi diversi da quelli delle medie latitudini.

Un sistema bussolare che si avvale di un riferimento astronomico come il sole è detto *cronometrico*: dato che si tratta di un punto di repere mobile, gli animali devono essere in grado, per dirigersi verso una determinata direzione, di cambiare continuamente nel tempo il proprio angolo di orientamento con l'astro, compensandone quindi le variazioni di azimut; infatti il sole, lungo l'arco di circonferenza che descrive, si sposta nel cielo 15° l'ora.

La necessità dell'utilizzo della posizione del sole per orientarsi fu osservata per primo da Santschi (1911) nelle formiche, ma il possesso della vera e propria bussola solare, quale può essere l'abilità dell'animale di compensare i movimenti giornalieri del sole, non fu documentata fino agli anni '50 quando l'orientamento astronomico fu studiato nelle api, nei talitri e negli uccelli.

Molti animali migratori utilizzano il sole come riferimento. Lo zoologo tedesco G. Kramer (1952, 1957, 1959) dimostrò per primo le capacità di un uccello migratore, lo storno (*Sturnus vulgaris*), di utilizzare il sole come punto di riferimento per orientarsi. Uno storno, saggiato in una gabbia circolare in cui deve operare scelte direzionali, è capace di assolvere correttamente il

compito a sole visibile, anche se ne veniva deviata l'immagine per mezzo di specchi; inoltre questi animali sono in grado di orientarsi anche quando il sole si muove a cielo coperto o quando vengono tenuti, anche per un lungo periodo, in ambiente chiuso.

Questa capacità presuppone l'esistenza di un orologio interno estremamente preciso e gli esperimenti di K. Hoffmann (1954, 1960) dimostrano che si tratta di quello stesso meccanismo che sta alla base della periodicità circadiana.

La compensazione del moto apparente del sole, nell'orientamento, si basa su un orologio fisiologico endogeno, sincronizzato con l'ora locale mediante l'alternarsi del giorno e della notte. In condizioni costanti (luce continua) questo meccanismo di orientamento continua a funzionare: non viene quindi scatenato da un meccanismo esterno.

Per verificare il fatto che gli animali necessitano della bussola solare per orientarsi è necessario sfasare di alcune ore il loro orologio biologico, cioè andando a modificare il loro ciclo luce-buio. Come risultato, la direzione di orientamento devia esattamente dello stesso valore angolare calcolato a priori in base alle ore di sfasamento: ad esempio, se il fotoperiodo di un animale viene posticipato di sei ore, la direzione attesa sarà 90° ad Est della direzione antecedente lo sfasamento.

Le api si orientano con l'ausilio della bussola solare: esse apprendono la direzione di volo, oppure ricevono informazioni in merito dai conspecifici. A sole coperto le api possono orientarsi in base alla polarizzazione della luce proveniente da una porzione di cielo sereno (K. von Frish, M. Lindauer and K. Daumer, 1960).

Il talitro (*Talitrus saltator*), un crostaceo anfipode che vive sui litorali sabbiosi, posizionato nell'entroterra corre verso il mare, orientandosi con la bussola solare e calcolando quindi il moto apparente del sole. Di notte questo animale per orientarsi utilizza la luna (Papi and Pardi 1959).

E' necessario però distinguere tra l'orientamento con il sole e l'orientamento con la luce polarizzata. La luce polarizzata, diversa per vibrazioni ed intensità in ogni momento del giorno, viene utilizzata da diversi animali per determinare la posizione del sole, quando solo alcune aree del cielo sono visibili.

1.2. L'APPRENDIMENTO

I comportamenti istintivi, secondo Lorenz, sono caratterizzati dalla somiglianza tra tutti gli individui di una stessa specie, dall'essere innati, dal carattere ereditario e dalla loro insensibilità agli effetti dell'esperienza e dell'esercizio. L'apprendimento e la memoria individuali completano l'istinto, mentre il genotipo ne determina i limiti.

Numerosi esempi mostrano negli animali superiori la produzione di suoni o sequenze nuove in relazione ad una situazione sconosciuta oppure a modifiche brusche della situazione precedente. Nelle condizioni dell'apprendimento operante è stato possibile dimostrare in numerose specie l'esistenza di processi di generalizzazione percettivo-motoria, di comprensione brusca, di aggiramento di un ostacolo, di utilizzo e preparazione di strumenti e di manipolazione cooperativa. L'esperienza è dunque il contributo allo sviluppo del comportamento degli effetti delle stimolazioni provenienti da tutte le forme disponibili, esterne ed interne, nonché delle loro tracce funzionali persistenti, a partire dai periodi più precoci dello sviluppo. Le modalità dei meccanismi comportamentali responsabili dei cambiamenti ontogenetici sono studiate in psicologia animale sotto il termine di "apprendimento".

L'apprendimento presuppone l'acquisizione di informazioni che pervengono dall'ambiente circostante all'organismo attraverso gli organi di senso (Memoria individuale, appresa), in contrapposizione con l'acquisizione di informazioni per via ereditaria (Memoria della specie, innata). L'apprendimento è dunque un processo che si manifesta sotto forma di cambiamenti adattativi indotti dall'esperienza nel comportamento dell'individuo (Thorpe, 1963). Il suo valore adattativo è quello di aumentare le possibilità di sopravvivenza.

Non vanno però considerate apprendimento quelle modificazioni dovute a condizioni transitorie come la fatica o l'adattamento sensoriale, né quelle legate a maturazione, malattia o altro danno fisico. Inoltre non sempre l'apprendimento si traduce immediatamente in una modificazione del comportamento. Esiste infatti un apprendimento latente, che si verifica in assenza di rinforzo esplicito e per mezzo del quale l'animale acquisisce informazioni sul proprio ambiente che non vengono immediatamente espresse nel comportamento. Tali informazioni verranno utilizzate nel momento in cui diventeranno necessarie per la sopravvivenza.

L'apprendimento può essere definito anche come il processo di generazione e modificazione di rappresentazioni interne durevoli sulla base dell'esperienza. Tradizionalmente l'apprendimento viene suddiviso in tre categorie:

- a. apprendimento non-associativo
- b. apprendimento associativo
- c. apprendimento complesso

Nel primo l'animale viene esposto ripetutamente a un solo evento, mentre nel secondo viene esposto a più eventi in un certo rapporto di reciprocità: in ambedue i casi, l'apprendimento viene rilevato dai conseguenti cambiamenti nel comportamento. La terza nozione si riferisce invece a quelle forme di apprendimento la cui spiegazione implica la cognizione piuttosto che l'associazione.

1.2.1. L'apprendimento associativo

Nella sua forma più generale, l'apprendimento associativo consiste in una modificazione del comportamento a seguito dell'esposizione dell'animale a due eventi in un certo rapporto temporale. Negli esperimenti di condizionamento, per esempio, lo sperimentatore fa in modo che ogni volta che ha luogo un certo evento (E1) esso sia seguito, dopo un breve intervallo, da un secondo evento (E2). Se un qualche aspetto del comportamento animale è cambiato in conseguenza dell'esposizione a questo rapporto temporale tra i due eventi, si deduce che vi è stato apprendimento.

Si parla di *condizionamento classico* se il soggetto impara a rispondere ad una stimolazione che normalmente non ha effetto, quando questa viene sistematicamente associata ad un altro stimolo, sempre efficace, ed alla risposta corrispondente. E' famoso l'esperimento condotto nel 1904 da Pavlov (1927), nel quale vengono accoppiati uno stimolo incondizionato (SI), cioè la somministrazione di carne in polvere che provoca una risposta incondizionata (RI) di salivazione, e uno stimolo neutro (SN), il suono di un campanello. Quando lo SN precede lo SI, e quindi la risposta, e l'accoppiamento viene effettuato ripetutamente, alla fine la presentazione del solo SN scatena la reazione di salivazione. Lo stimolo SN è dunque condizionato (SC) e la risposta da questo provocata dopo l'apprendimento è una reazione condizionata (RC) simile a quella incondizionata (RI).

Il modello del *condizionamento strumentale* invece pone l'accento sugli effetti della sanzione, associata ad un atto motorio prodotto "spontaneamente" dal soggetto, sull'ulteriore probabilità di mettere in atto un comportamento dello stesso tipo. L'apprendimento è dunque strettamente legato al carattere di rinforzo dell'attività motoria e delle sue conseguenze. Ad esempio, se un colombo (*Columbia livia*) ottiene del cibo ogni volta che preme con il becco un pulsante, in conseguenza dell'associazione tra la risposta e il rinforzo si osserverà un aumento nella frequenza della risposta di beccata.

Il modello classico è il ratto nella gabbia cosiddetta di Skinner (**Fig. 1**): la leva al suo interno, quando abbassata dall'animale, provoca un rinforzo dell'atto motorio, in genere dato da una ricompensa alimentare. Le azioni di abbassamento della leva, all'inizio fortuite, aumentano di numero nel corso dell'apprendimento, fino a che l'animale concentra la sua attività tra la leva ed il distributore di cibo.

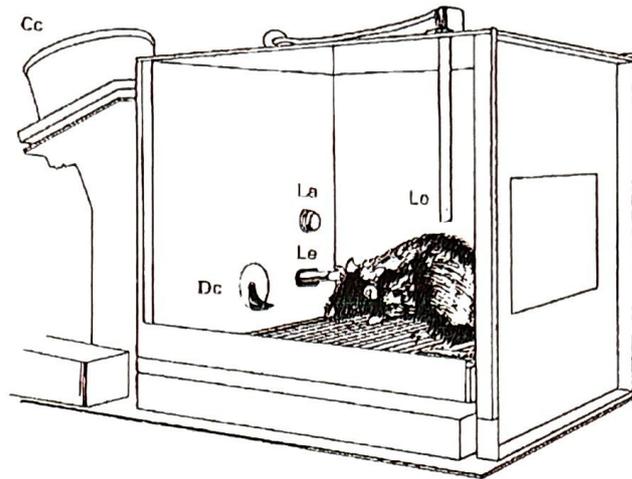


Figura 1: Ratto all'interno di una Gabbia di Skinner

L'*apprendimento* associativo di tipo *spaziale* è invece un esempio di apprendimento complesso legato alla conoscenza spaziale. E' il caso della deviazione di percorso e della scorciatoia.

Nel loro spazio naturale, gli animali organizzano i loro comportamenti intorno ad un certo numero di luoghi funzionali, tra i quali devono spostarsi con il massimo di economia. In queste condizioni, se una certa familiarità ed un'esperienza dei luoghi costituiscono dei vantaggi evidenti, queste devono basarsi sui meccanismi fondamentali di navigazione, generali e precostituiti, tali da permettere agli animali di spostarsi da un luogo funzionale ad un altro, anche su grandi distanze, quando al punto di partenza non sia accessibile alcuna informazione riguardo alla meta.

Le funzioni spaziali generali che l'animale deve compiere e che possono far ricorso ad una mappa cognitiva sono di tre tipi: 1) il riconoscimento dei luoghi e la loro identificazione; 2) la localizzazione e la memoria spaziale; 3) la pianificazione delle azioni spaziali. Secondo un modello gerarchico, l'animale costruirà anzitutto una rappresentazione locale corrispondente al luogo funzionalmente significativo, poi stabilirà una rappresentazione della connessione tra i luoghi, memorizzando le distanze e le posizioni o le direzioni angolari. In una tappa successiva, che richiede una maggiore esperienza spaziale, l'animale abbandonerà i diversi sistemi di riferimento locali per utilizzarne uno solo.

1.2.2. Il Morris water-maze

Nell'ambito dell'apprendimento associativo di tipo spaziale è utile trattare in dettaglio la metodologia utilizzata dal neuroscienziato britannico Richard Morris (1984), il quale mise a punto un apparato sperimentale per studiare l'apprendimento spaziale nei ratti, struttura che nei decenni

successivi è stata largamente utilizzata anche da altri studiosi (Wongwitdecha e Marsden, 1995; D'Hooge e De Deyn, 2001; Schrijver N. C. A. *et al.*, 2004): il *Morris water-maze* (Fig. 2).

Da notare che, a differenza dei precedenti studi dove il rinforzo positivo per motivare l'animale a muoversi in una ben determinata direzione è dato, per lo meno nella maggior parte dei casi, da un rinforzo di tipo alimentare, in questo studio tale rinforzo è invece rappresentato dalla possibilità di fuga da una situazione sgradevole per l'animale.

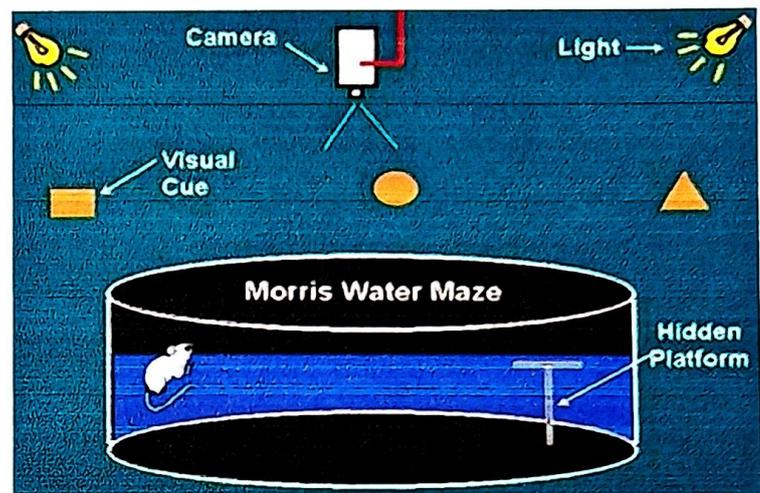


Figura 2: Ratto all'interno di un Morris Water-Maze

Il prototipo iniziale progettato da Morris era costituito da una vasca circolare, del diametro circa di 180 cm e dell'altezza di 70 cm, riempita di acqua per circa 30 cm e costruita con un pannello di legno il fondo ricoperto di fibre di vetro e resina; le successive varianti della struttura vennero invece realizzate in polivinilcloride (PVC) nero opaco. Una piattaforma quadrata (10 cm di diametro) costituita da plexiglass era posizionata aderente ad un lato della vasca; la superficie venne coperta da materiale granuloso, per permettere una buona aderenza ai ratti che vi salivano.

La caratteristica essenziale della procedura di Morris consisteva nel fatto che i ratti, una volta posizionati nella vasca, potevano fuggire dall'acqua solamente salendo sulla piattaforma che, in fase di test veniva nascosta sia sommergendola 2 cm sotto la superficie dell'acqua, sia opacizzando l'acqua con latte in polvere o liquido, mentre rimaneva limpida nelle prime fasi di addestramento, per meglio permettere agli animali di apprendere la direzione di orientamento alla piattaforma. La tipologia di apprendimento era quella di associazione: gli animali associavano la meta (piattaforma) ad una situazione positiva (uscita dall'acqua).

Gli animali venivano testati venti volte per tre giorni consecutivi, in sessioni mattutine e sessioni pomeridiane, in modo da saggiare se l'apprendimento della giusta posizione della piattaforma era avvenuto; è stato infatti dimostrato che dopo un certo numero di prove, i ratti riuscivano a raggiungere la meta indipendentemente dal punto di rilascio e seguendo la via più breve e diretta (Morris, R., 1984).

Lo scopo di Morris era quello di verificare il coinvolgimento delle varie aree cerebrali nei compiti di apprendimento spaziale: egli praticava delle microlesioni cerebrali ad animali precedentemente esaminati nel Morris water-maze e testava nuovamente la loro capacità di orientamento

riproponendogli la ricerca della piattaforma nella vasca; successivamente somministrava agli stessi animali dei farmaci e ne verificava l'efficacia testandone nuovamente l'abilità orientativa. Per documentare le diverse prestazioni dei ratti riprendeva le sessioni di addestramento e di test con una videocamera fissata sulla vasca.

Fu chiaro fin dal principio che il Morris water-maze e la procedura correlata alla sua progettazione potevano prestarsi ad una vastissima gamma di indagini comportamentali, e che soprattutto permettevano di:

- monitorare automaticamente la localizzazione spaziale dei ratti senza l'uso di diodi luminosi;
- studiare differenti aspetti della memoria spaziale;
- studiare l'apprendimento della discriminazione non spaziale.

Il gruppo di Etologia dell'Università di Ferrara, guidato dal prof. Foà, ha messo a punto una variante del Morris Water Maze per studiare l'apprendimento direzionale nel lacertide *Podarcis sicula*: tale variante, spiegata in dettaglio nei capitoli successivi, consiste nella stessa vasca esagonale spogliata di qualsiasi segnale orientante e progettata per esperimenti sul campo riguardanti l'orientamento alla bussola solare e l'implicazione dell'occhio parietale in questo processo.

2. L'APPRENDIMENTO SPAZIALE

2.1. L'ESPERIMENTO DI TINBERGEN

Le capacità di memorizzazione proprie degli esseri viventi, a partire dai livelli più bassi della filogenesi, portano ogni individuo ad attribuire una funzione a dei segnali appresi che gli permettono, per esempio, di ritrovare il suo nido, la sua tana, la sua piccionaia o un cibo familiare in luoghi noti e quindi riconosciuti.

A questo proposito esistono in letteratura dei dati classici che dobbiamo a Tinbergen (1932, 1951) (Fig. 4). La vespa scavatrice (*Philantus triangulum*) è denominata dagli anglosassoni *beewolf* (letteralmente, “lupo delle api”) per il fatto che caccia le api domestiche (*Apis mellifera*) e le paralizza pungendole. La femmina trasporta l'ape catturata, a volte percorrendo anche lunghe distanze, fino al proprio nido, che è un lungo tunnel sotterraneo. Qui essa pone le api in celle incubatrici collaterali alla galleria principale, e depone un uovo in ciascuna cella. Le api in una cella incubatrice saranno poi mangiate dalla progenie della vespa, quando la piccola larva uscirà dall'uovo. Tinbergen notò che quando una vespa lasciava il suo nido per andare a caccia, prima copriva l'ingresso raccogliendovi sopra della sabbia, in modo da nascondere alla vista, e tuttavia, quando tornava, una mezz'ora o un'ora più tardi, riportando un'ape paralizzata, non mostrava alcuna difficoltà a ritrovare il proprio nido in mezzo ai molti del suo vicinato. Marcando le femmine con diverse combinazioni di macchie di vernice, Tinbergen notò l'abilità con cui tali vespe tornavano speditamente alle loro gallerie, osservando che quando una femmina lasciava il nido, in particolare al momento del primo volo giornaliero, spesso decollava lentamente e poi faceva diversi giri sul posto, volando avanti e indietro e descrivendo curve sempre più ampie, ad altezza sempre maggiore; questa operazione durava alcuni secondi, dopodiché l'insetto all'improvviso si girava e volava via spedito in linea retta. Tinbergen suppose che le vespe “immagazzinassero” nella memoria le caratteristiche dei dintorni del nascondiglio sopra l'ingresso del nido, e che le femmine fossero in grado di ritrovare l'ingresso al loro ritorno memorizzando dei riferimenti locali, come i rami caduti e i ciottoli sparsi sulla sabbia.

Tinbergen dedusse che se questa ipotesi era corretta, allora avrebbe potuto rendere difficoltosa ad una femmina la rilocalizzazione del nido cambiando i riferimenti al suolo attorno ad esso. Aspettò quindi che alcune femmine partissero a caccia di api e poi ripulì l'area attorno ai loro nascondigli: quando le femmine cariche delle loro prede tornavano ronzando in prossimità dei nidi, apparivano

confuse e si fermavano a mezz'aria. Solo dopo aver lasciato cadere la preda ed aver eseguito una ricerca al suolo più o meno casuale riuscivano alla fine a ritrovare l'ingresso ai loro nidi.

Questo semplice esperimento confermò l'ipotesi che le vespe scavatrici formassero un'immagine visiva dell'area immediatamente circostante ai loro nidi. Per saggiare la sua ipotesi in altro modo, Tinbergen tentò di fare andare le vespe in un posto sbagliato, spostando per un certo tratto l'intera costellazione di riferimenti presenti sul terreno: spostando con cura di circa 30 cm verso sudest tutto l'insieme di riferimenti locali intorno al nido, indusse le femmine ad atterrare più a sudest del reale ingresso del nido per una distanza corrispondente. Allora Tinbergen fece un altro esperimento, questa volta per vedere se le vespe potevano essere addestrate con segnali forniti da lui stesso. Pose delle pigne in cerchio attorno ad alcuni nidi mentre le proprietarie vi erano dentro. Quando uscirono, le vespe volarono ripetutamente avanti e indietro sopra l'area del nido prima di andarsene a caccia, ma poi continuarono indisturbate la propria attività (Fig. 3 A). Due giorni dopo, Tinbergen tornò a spostare di un breve tratto i cerchi di pigne mentre le femmine erano via a cacciare. Se le vespe avevano appreso la configurazione sperimentale degli oggetti al suolo, come Tinbergen si aspettava, allora sarebbero state indotte ad atterrare nel posto sbagliato, all'interno dei cerchi di pigne dislocati, invece che in corrispondenza dei loro nidi (Fig. 3 B). L'esperimento andò esattamente come Tinbergen aveva supposto.

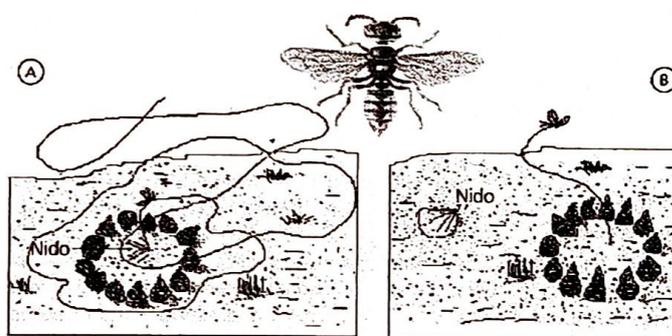


Figura 3: Comportamento spaziale delle api nell'esperimento di Nikolas Tinbergen



Figura 4: Nikolas Tinbergen (Nobel nel 1973), considerato tra i fondatori dell'etologia insieme a K.Lorenz e K.Von Frisch

2.2. STUDI SULL'APPRENDIMENTO SPAZIALE

2.2.1. Il riconoscimento dell'ambiente familiare

Nella stessa linea teorica, un esperimento simile è stato realizzato da Chmurzynski (1964, 1967) su un'altra vespa scavatrice, *Bembex rostrata*, che deve alimentare le sue larve ogni giorno con mosche fresche. La traslazione del riferimento vicino induce uno spostamento corrispondente del punto di atterraggio dell'insetto.

Analogamente, le api, le vespe e le formiche devono ritornare regolarmente dal luogo di raccolta al nido, oppure ricercare il cibo sistematicamente nello stesso luogo (*central place foraging*). Fresneau (1985) ha mostrato che, nella formica *Neoponera*, i percorsi individuali delle operaie possono essere rappresentati sotto forma di una ramificazione centrata sul nido, e che ogni formica è generalmente assai fedele ad un determinato sito di raccolta, cioè ad un percorso familiare di ritorno al formicaio. Questi spostamenti, che avvengono esclusivamente di giorno, possono venire effettuati in condizioni in cui non sia possibile una guida da parte di piste olfattive. Sono dunque probabilmente implicati dei reperi terrestri appresi individualmente.

Cartwright e Collet (1983) hanno suggerito la metafora dell'istantanea fotografica per spiegare il tipo di informazione memorizzata. Questi autori suggeriscono anche che l'insetto metta in memoria l'immagine "fotografica" del panorama dei reperi che circondano la meta da raggiungere, il nido o la fonte di cibo, oltre alla sequenza di immagini che corrispondono ad ogni punto di decisione, lungo il percorso familiare che la formica deve percorrere. Si ha quindi una sorta di file ad accesso sequenziale, secondo la metafora sviluppata da Campan e Beugnon (1989). Sono state fornite molte dimostrazioni dell'utilizzazione di una memoria sequenziale di reperi lungo i percorsi familiari, nelle api e nelle formiche (Collett et al., 1993; Pastergue-Ruiz e Beugnon, 1994; Chameron et al., 1998). Ad ogni momento di scelta, l'insetto farà coincidere l'immagine percepita immediatamente e localmente con l'immagine memorizzata, assumendo quindi un orientamento particolare di conseguenza, che permette di non deviare dal percorso familiare. Secondo Collett (1996), Wehner et al. (1996) e Wehner (1998), in ciascuna di queste operazioni, la direzione presa corrisponde ad un vettore di orientamento che tiene conto contemporaneamente della bussola, dell'integrazione di percorso, della corrispondenza di immagini e di informazioni contestuali ricavate dal resto dell'ambiente (Collette et al., 1997). L'insieme dei percorsi mette in atto simultaneamente reperi "egocentrati" ed "esocentrati", con vettori di orientamento corrispondenti ai momenti delle diverse decisioni direzionali.

L'insetto conserva dunque in memoria un'immagine generale del panorama nel quale è in grado di valutare spostamenti reciproci degli elementi (immagine differente), considerando che si tratta del medesimo luogo.

Un altro esempio classico riguarda lo spinarello a tre spine (*Gasterosteus aculeatus*). In questo pesce, i limiti del territorio vengono riconosciuti su base visiva e l'animale associa progressivamente delle piante o degli oggetti qualsiasi ai combattimenti realizzati con i maschi vicini. Se, entro tubi di vetro che permettono la visione dell'ambiente immediatamente circostante, due maschi A e B vengono messi sperimentalmente nel territorio di A, quest'ultimo adotta una postura di minaccia, riconoscendo i segnali familiari, mentre B tenta di fuggire. Al contrario, nella zona normalmente occupata da B, si ottiene il risultato opposto.

In alcuni casi, tali riferimenti utilizzati per guidare l'orientamento a distanza sono geneticamente determinati, come avviene ad esempio nella pulce di mare (*Talitrus saltator*) (Pardi e Scapini, 1983). In effetti, ogni popolazione di questo crostaceo, che vive sulle coste sabbiose marine, presenta una direzione preferita, che si sviluppa anche in laboratorio, in assenza della visione reale del cielo o dell'ambiente naturale, quindi indipendentemente da fattori epigenetici. Sembrerebbe che gli animali presentino una componente ereditaria nel loro orientamento, ma anche una plasticità fenotipica, che varia in modo notevole secondo gli individui saggiati, la loro età e l'esperienza.

Anche il grillo *Pteronemobius lineolatus*, che abita sulle rive dei laghi, ha un orientamento direzionale che permette la fuga dai predatori saltando nell'acqua. Beugnon (1986) ha mostrato che l'insetto apprende la direzione di ritorno nel momento in cui si getta nell'acqua (**Fig.5 A**). Infine, in un altro grillo, il *Gryllus campestris*, Beugnon e Campan (1989) hanno osservato che gli insetti apprendono la direzione del ritorno durante il percorso di andata per integrazione di percorso, come avviene anche nelle formiche, ad esempio in *Cataglyphis* (Wehner, 1981) (**Fig.5 B**). In questi tre casi, si tratta di una direzione menotattica in relazione con una bussola solare che è appresa, associata ad una compensazione oraria del moto apparente del sole. La visione diretta dell'astro non è necessaria perché gli insetti possono orientarsi basandosi sulla direzione del piano di polarizzazione della luce del cielo.

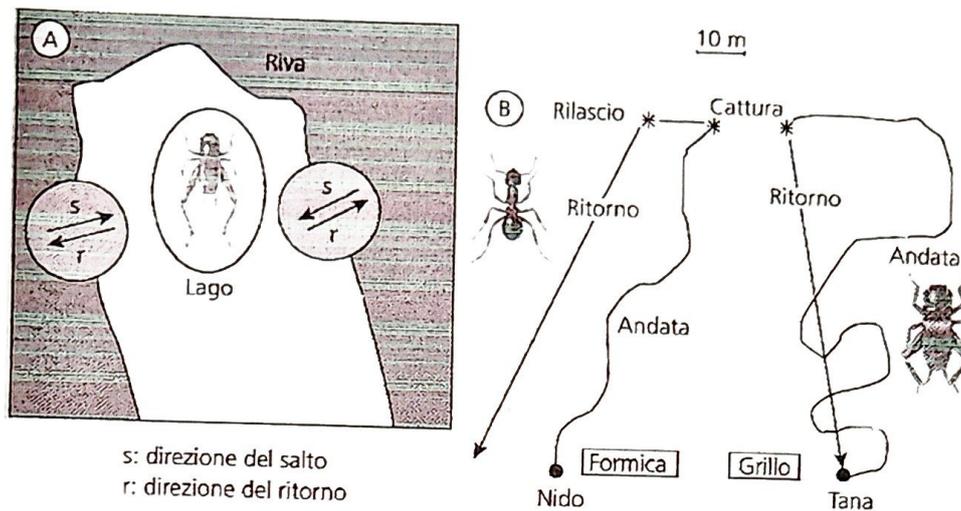


Figura 5: A-Esperimento di Beugnon (1986); B a sinistra-Esperimento di Wehner (1981); B a destra-Esperimento di Beugnon & Campan (1989)

2.2.2. Memoria spaziale come strategia alimentare

Un altro insieme di esempi interessanti, che dimostrano la conoscenza e il riconoscimento dei luoghi familiari, riguarda gli animali che effettuano il comportamento di ammasso (*hoarding*), in particolare gli uccelli ed i mammiferi che nascondono il cibo per l'inverno e devono ritrovarlo per mangiarlo. Un numero considerevole di unità alimentari può venire conservato in questo modo, a seconda della durata dell'inverno, ed il record può essere attribuito alla cincina siberiana (*Parus cinctus*) che mette da parte 500 000 unità di cibo. La nocciolaia americana (*Nucifraga columbiana*), nasconde circa 33 000 semi in 6600 nascondigli diversi. Lo sfruttamento di questo cibo nelle condizioni spesso difficili dell'ambiente invernale può essere molto diverso, rivelando capacità diverse di riconoscimento dei luoghi che permettono agli animali di ritrovare i nascondigli, in certi casi con grande precisione.

Esperimenti molto eleganti e riusciti hanno mostrato che la memoria spaziale è implicata nel recupero delle unità alimentari degli uccelli, ad esempio nella cincina bigia alpestre (*Parus atricapillus*), nella cincina bigia (*Parus palustris*), e nei corvidi come la nocciolaia di Clark (*Nucifraga columbiana*) (Shettleworth, 1990), ma anche nei mammiferi (Vander Waal, 1989). Ogni autunno, la nocciolaia di Clark nasconde dei semi in migliaia di nascondigli, costituiti da fessure nelle cortecce degli alberi, sotto mucchietti di aghi di pino, di foglie o di conifere, sotto muschio o licheni, in buchi scavati nel terreno, ecc., dispersi su una vasta area, da 10 a 30 ha (Sherry e Duff, 1996). La sopravvivenza dell'uccello durante l'inverno seguente ed il suo successo riproduttivo, vale a dire la sua fitness, dipendono dalla sua capacità di ritrovare i nascondigli (Bednekoff e Balda, 1997). Studi in natura hanno valutato una precisione del 67% di ritrovamento dei nascondigli in

primavera, e del 32-44% in estate, quando il cibo è stato nascosto l'autunno precedente. L'uccello può ritornare ai luoghi di stoccaggio anche 7-11 mesi dopo. Esperimenti in laboratorio in condizioni controllate hanno mostrato che le nocciolaie ritrovano i nascondigli dopo 285 giorni con la stessa precisione con cui li ritrovano 11 giorni dopo (Balda e Kamil, 1992). Tuttavia, di regola in laboratorio la memoria spaziale è meno efficiente che in natura, probabilmente a causa della povertà dei reperi in condizioni sperimentali.

Sherry e Duff (1996) hanno mostrato l'importanza anche dei reperi visivi nello sfruttamento del cibo immagazzinato in nascondigli da parte di due specie di paridi, una cincia ed una capinera, e di due corvidi, la ghiandaia dei cespugli e la nocciolaia di Clark. L'aspetto visivo dei nascondigli non è importante, al contrario lo è la stabilità delle configurazioni dei reperi vicini, mostrata da esperimenti di traslazione dei reperi (Vander Waal, 1982).

L'accumulo di cibo è frequente anche nei mammiferi, ma esistono pochi dati sull'implicazione della memoria spaziale nella riscoperta dei nascondigli, e riguardano la volpe rossa (*Vulpes vulpes*), il gerbillo di Mongolia (*Meriones unguiculatus*), il cipmunk giallo (*Tamias amoenus*) e lo scoiattolo grigio (*Sciurus griseus*).

Esperimenti in natura sulla memoria spaziale dello scoiattolo grigio, che può mettere da parte circa 3000 nocciole in una stagione, dimostrano che questa specie è capace di rilocalizzare bersagli spaziali precisi utilizzando reperi visivi vicini (McDonald, 1997). Questi bersagli, consistenti in cibo marcato sotterrato, come avviene in condizioni naturali, venivano rilocalizzati con una precisione di 5 cm nel 62,5% dei tentativi, dopo un intervallo di 20 giorni dal sotterramento. Alcuni recuperi vennero ottenuti anche dopo intervalli di 43 e di 62 giorni. Questi risultati mostrano che la memoria spaziale degli scoiattoli grigi è sufficientemente precisa da sostenere una strategia efficiente di recupero del cibo. L'applicazione degli stessi metodi ad una popolazione di scoiattoli comuni (*Sciurus vulgaris*), che non effettua uno stoccaggio del cibo molto preciso, suggerisce che la loro memoria spaziale dura un tempo molto più limitato, come prevede l'ipotesi della specializzazione adattativa della funzione cognitiva.

2.2.3. I segnali olfattivi: studi sui colombi viaggiatori

Nei piccioni viaggiatori *Columbia livia* (Fig. 6), Papi et al. (1972), Papi (1976, 1986) e Ioalè et al. (1978, 1990) hanno dimostrato il ruolo dei riferimenti orientanti di natura olfattiva appresi nella località della colombaia per guidare il ritorno a casa (*homing*). Non solo i piccioni resi anosmatici sono disorientati (Benvenuti e Fiaschi, 1983), ma se, in una fase di addestramento, nella colombaia viene deviata di 90° la direzione dei venti dominanti per mezzo di schermi, è possibile indurre errori di orientamento di un angolo corrispondente a quello degli schermi (Ioalè, 1980). Si può in tal modo

indurre un apprendimento basato su odori sperimentali portati da venti artificiali, associati ad una direzione determinata.

Papi (1986, 1989, 1991) ha proposto un'ipotesi secondo cui i piccioni costruirebbero una mappa olfattiva dell'ambiente intorno alla colombaia, collegando gli odori convogliati dai venti dominanti alla direzione di provenienza di questi. Apprendendo gli odori in associazione ad una bussola direzionale, gli uccelli potrebbero così costruire una rappresentazione quasi cartografica di una regione molto estesa, oltre i limiti del dominio vitale che hanno effettivamente esplorato. Questo dovrebbe loro permettere di effettuare una vera navigazione, ritornando efficacemente alla colombaia da luoghi sconosciuti, anche dopo un trasporto passivo (Fig. 7).

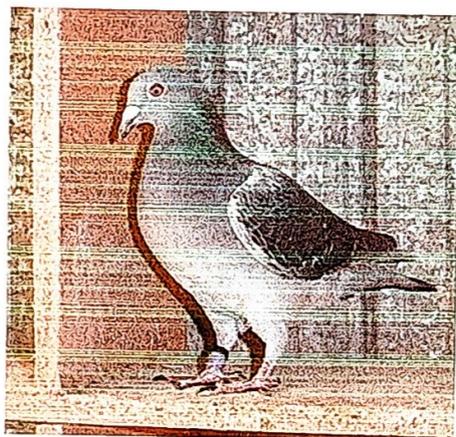


Figura 6: Colombo viaggiatore (*Columba livia*)

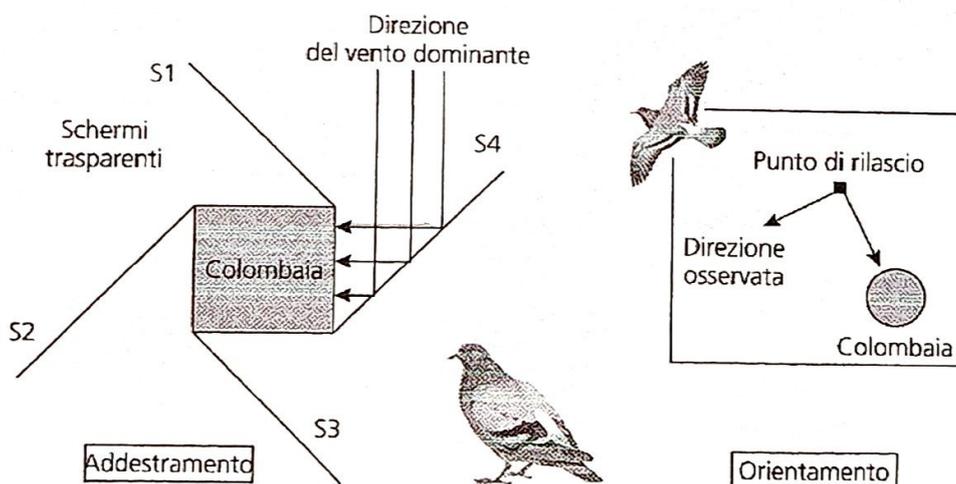


Figura 7: Ipotesi della navigazione olfattiva nel piccione (Papi, 1972,1976,1986,1989,1991)

L'ipotesi della natura olfattiva della mappa del piccione viaggiatore sostenuta da Papi e dai suoi collaboratori, assai avversata da alcuni autori (Papi et al.,1978; Keeton, 1979; Schmidt-Koenig, 1987; Wiltschko, 1996) nonostante le numerose dimostrazioni sperimentali che l'hanno confermata

da parte della scuola italiana di Pisa e di Wallraff (1981, 1988, 1996), ha avuto recentemente delle conferme neuroetologiche basilari (Papi, 2000). E' stato infatti scoperto che il rapporto quantitativo tra certe sostanze organiche disperse nell'atmosfera che caratterizza zone geografiche differenti, mostra una costanza temporale e spaziale sufficiente a costruire il substrato materiale della navigazione olfattiva.

Gagliardo et al. (2000) hanno mostrato che la formazione ippocampale nei giovani piccioni confinati nella colombaia, dove percepiscono i venti, è implicata nella costruzione ontogenetica delle associazioni tra gli odori e le direzioni fornite dalla bussola. Inoltre, l'ippocampo assicura anche l'orientamento basato sui riferimenti familiari, utili, ad esempio, alla localizzazione della colombaia in un ambiente vicino (navigazione locale).

2.2.4. Il ruolo dell'ippocampo

Come questo, tutti gli studi recenti sottolineano il ruolo capitale dell'ippocampo nella cognizione spaziale, benché venga ammessa la sua importanza anche in altre funzioni non spaziali, in particolare nella memoria o nella formazione di associazioni configurazionali. Nei processi cognitivi legati allo spazio intervengono del resto anche altre strutture corticali, come ad esempio le cortecce parietale e frontale. Le prove a favore del coinvolgimento di queste formazioni nella cognizione spaziale derivano anzitutto dall'analisi dell'effetto delle lesioni. Le lesioni dell'ippocampo e delle strutture a questo associate provocano dei deficit gravi e permanenti nelle capacità spaziali di mammiferi e uccelli: orientamento, navigazione, esplorazione, capacità discriminative.

Papi et al. (1972) avevano già mostrato che la memorizzazione dell'informazione necessaria alla costruzione della mappa olfattiva avveniva durante i primi 3-4 mesi di vita dell'uccello nella colombaia. Gagliardo et al. (2000) hanno praticato su dei giovani piccioni di un mese, prima quindi che acquisissero la mappa olfattiva, una lesione unilaterale della formazione ippocampale, e li hanno poi mantenuti in una voliera aperta ed esposta ai venti e agli odori. Quattro mesi dopo il trattamento chirurgico, i soggetti sperimentali sono stati rilasciati in un luogo non familiare. I piccioni che avevano subito la lesione nell'emisfero sinistro hanno assunto direzioni di ritorno casuali, mentre quelli che erano stati operati a destra si sono orientati in una direzione simile a quella della colombaia. Tuttavia, anche in questo gruppo si è rilevata una differenza di efficienza rispetto al gruppo di controllo, che non aveva subito alcuna lesione all'ippocampo. Sembra quindi che la parte sinistra dell'ippocampo sia implicata nell'acquisizione della mappa olfattiva, mentre la parte destra sarebbe implicata nel riconoscimento e nell'uso dei riferimenti familiari nei pressi della colombaia.

Numerosi altri studi confermano il ruolo fondamentale dell'ippocampo nelle capacità di apprendimento spaziale, nonché nell'utilizzo di una bussola cronometrica per l'orientamento direzionale.

Bingman e Jones (1994) dimostrarono il ruolo dell'ippocampo nell'apprendimento spaziale, e nell'acquisizione delle mappe navigazionali. Colombi viaggiatori (*Columbia livia*) con lesioni ippocampali sono infatti incapaci di utilizzare la bussola solare per apprendere la direzione della fonte di cibo, quando testati in un'arena all'aperto, mentre colombi con ippocampo illeso riescono perfettamente ad utilizzare la bussola solare durante il processo di orientamento, il che è dimostrato dallo sfasamento derivante dagli esperimenti di clock-shift. Tali risultati mostrano come le lesioni ippocampali rendano impossibile l'utilizzo della bussola solare nel contesto dell'apprendimento.

Gagliardo, Mazzotto e Bingman (1996) hanno studiato gli effetti delle lesioni ippocampali sulle strategie di apprendimento nei colombi viaggiatori (*Columbia livia*). I piccioni riescono ad orientarsi correttamente anche per lunghe distanze, tendendo ad utilizzare preferibilmente la bussola solare anziché i reperi visivi, anche quando sono entrambi disponibili. Piccioni con ippocampo intatto possono utilizzare entrambi i sistemi per ritrovare una fonte di cibo, mentre piccioni con lesioni all'ippocampo si rivelano incapaci di utilizzare la bussola solare, ma imparano molto velocemente a compensare tale carenza utilizzando i riferimenti visivi. In questo esperimento, i piccioni sono stati divisi in un gruppo di controllo con ippocampo intatto e in un gruppo sperimentale con ippocampo ablatato: entrambi i gruppi sono stati addestrati a trovare il cibo all'interno di un'arena ottagonale posta all'aperto, con la possibilità di utilizzare sia il riferimento bussolare che quello visivo. Ruotando periodicamente i riferimenti visivi attorno all'arena, si è dimostrato come i piccioni con ippocampo intatto ignorassero, per orientarsi, i riferimenti visivi così come il loro cambiamento di posizione, mentre quelli con ippocampo ablatato utilizzassero, per trovare il cibo, solamente i riferimenti visivi.

Un'ulteriore prova dell'importanza dell'ippocampo nell'apprendimento spaziale è fornita dallo studio di Hoshooley e Sherry (2006): questi due sperimentatori hanno incentrato i loro studi sui sistemi neurologici di due differenti specie di uccelli, il passero domestico (*Passer domesticus*) (Fig. 8), che non immagazzina il cibo, e la cincia bigia americana (*Poecile atricapillus*) (Fig. 9), che invece lo immagazzina. Individui delle due specie sono stati catturati in primavera, e sono stati sottoposti a iniezioni multiple finalizzate a marcare le nuove cellule neuronali originatesi nel periodo successivo. Dopo due settimane di cattività, le cincie hanno mostrato un numero di nuovi neuroni ippocampali significativamente maggiore rispetto a quello dei passeri. Tale reclutamento neuronale nell'ippocampo degli uccelli che immagazzinano il cibo suggerisce un certo grado di

specializzazione neurogenica, che può essere associata con i requisiti per la memoria spaziale del comportamento di immagazzinamento del cibo.



Figura 8: Passero domestico (*Passer domesticus*)



Figura 9: Cincia bigia americana (*Poecile atricapillus*)

2.3. L'APPRENDIMENTO SPAZIALE NEI RETTILI

La quantità dei dati sull'apprendimento spaziale dei Rettili denota un panorama di ricerche assai scarso in cui gli studi sulla capacità di *homing* e sull'orientamento alla bussola solare dei Lacertilia (Sauria) provengono quasi esclusivamente dalle due famiglie Lacertidi e Iguanidi.

Nei Rettili l'orientamento verso una particolare meta può riguardare sia il ritorno all'area nativa per fini riproduttivi, sia il ritorno al proprio rifugio dopo un'escursione dell'area circostante: l'apprendimento spaziale è dunque strettamente legato a una necessità di sopravvivenza.

Per quanto riguarda la memoria spaziale, tuttavia, non sono ancora stati stabiliti criteri, parametri, metodologie e tempistiche, né tantomeno è stata studiata sufficientemente la capacità di apprendimento spaziale in questa classe di Vertebrati.

In uno studio sui serpenti (*Elaphe guttata guttata*) (Fig. 10 A) condotto da Holtzman, Harris, Aranguren e Bostock (1998), diciassette giovani serpenti sono stati addestrati, all'interno di un'arena, a trovare l'unico rifugio accessibile tra gli otto possibili, laddove l'accesso non era visibile dalla superficie dell'arena. Dopo sedici prove, per un periodo di addestramento di quattro giorni, i risultati hanno mostrato una significativa diminuzione della latenza media per giungere alla meta, una significativa diminuzione della media totale degli spostamenti all'interno dell'arena, un significativo aumento della percentuale degli spostamenti all'interno del quadrante-meta, ma nessuna diminuzione del numero di errori commessi. Questo studio vuole mostrare come i serpenti siano in grado di apprendere in modo rapido la posizione del rifugio, il che è importante a livello comportamentale e di sopravvivenza, e suggerisce che associare tale fine ad un rinforzo costituito da un rifugio rinforza l'apprendimento.



Figura 10: A-Serpente *Elaphe guttata guttata*; B-Tartaruga *Pseudemys scripta*

E' interessante il fatto che sembra esserci un'omologia, nel contesto dell'apprendimento spaziale, tra l'ippocampo in mammiferi e uccelli e la corteccia mediale dei Rettili. Uno studio al riguardo è stato compiuto da Lopez, Gomez, Vargas e Salas (2003), che hanno verificato il deficit di apprendimento spaziale nelle tartarughe in seguito a lesioni a livello della corteccia mediale. Le tartarughe (*Pseudemys scripta*) (Fig. 10 B) sono state addestrate all'interno di un'arena, ad apprendere un compito di natura spaziale ed uno di natura non spaziale. I risultati hanno mostrato che sia le tartarughe del gruppo di controllo (finte lesionate) sia quelle del gruppo sperimentale (lesionate alla corteccia mediale) hanno avuto buone performance di apprendimento del compito non spaziale, mentre durante l'apprendimento di natura spaziale le tartarughe con la lesione alla corteccia mediale hanno avuto performance significativamente peggiori. Questi risultati suggeriscono che le tartarughe posseggono diversi meccanismi di apprendimento e di memorizzazione, e che la corteccia mediale gioca un ruolo primario nell'ambito dell'apprendimento spaziale.

3. SCOPO DELLA TESI

La mia tesi si propone di indagare i meccanismi di apprendimento spaziale del lacertide *Podarcis sicula*, utilizzando procedure di addestramento all'interno di una variante del Morris water-maze.

Tale studio si contestualizza all'interno del progetto di ricerca del Gruppo di Etologia dell'Università di Ferrara, già iniziato da alcuni anni, finalizzato a testare le capacità di orientamento in questa specie, verificando se tale orientamento direzionale dipende dall'uso della bussola solare o di punti di reperi visivi (feature cues). All'aperto, col disco solare sempre visibile, le lucertole sono addestrate a raggiungere a nuoto una meta non visibile (perché sotto due cm di acqua opacizzata da farina fossile) posta in una determinata direzione.

Il rinforzo utilizzato in tale procedura di apprendimento associativo è rappresentato dalla fuga da una situazione sgradevole, ovvero l'acqua, per raggiungerne una piacevole, ovvero l'asciutto della piattaforma posta a pelo d'acqua e al sole.

Nel dettaglio le finalità di questa tesi sono:

1. verificare le capacità di apprendimento in *Podarcis sicula*;
2. stabilire i criteri per definire che l'apprendimento è avvenuto;
3. verificare la tempistica per ottenere l'apprendimento.

4. MATERIALI E METODI

4.1. *PODARCIS SICULA*

Per i presenti esperimenti sono stati usati esemplari di lucertola campestre, *Podarcis sicula campestris* (De Betta, 1857) (**Fig. 11**).

E' una specie caratteristica delle zone pianeggianti e collinari, con vegetazione litoranea, ove vive abitualmente nei settori assolati sabbiosi, erbosi, petrosi e cespugliosi di macchie, pinete, querceti e castagneti. Nell'Italia continentale come nelle isole vive ad una altitudine di 600-800 m.

In ambiente controllato, *Podarcis sicula* è una specie che si presta ad una facile stabulazione: possiede facili gusti alimentari ed è soggetta a una bassa incidenza di mortalità; inoltre i suoi ritmi circadiani, oggetto di studio da decenni, sono ben noti.

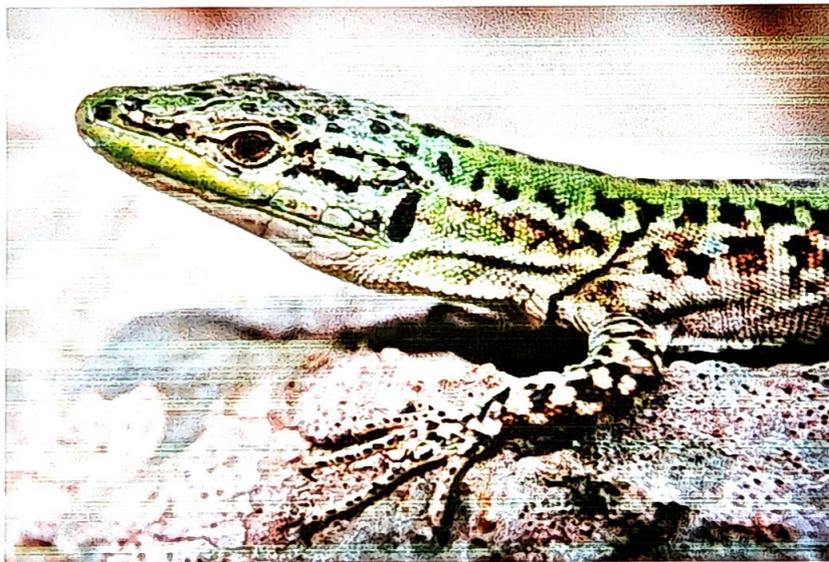


Figura 11: Esemplare di lucertola campestre *Podarcis sicula*

Nelle fasi di pre-addestramento e addestramento sono state utilizzati 30 maschi adulti di *Podarcis sicula campestris*, le cui misurazioni approssimative della distanza muso-cloaca variano tra i 6,5 e gli 8 cm.

4.1.1. Cattura

Gli esemplari di *Podarcis sicula campestris* utilizzati per le attività sperimentali sono stati catturati nella zona retrodunale delle spiagge di Lido di Volano, nel Parco Regionale del Delta del Po', durante i mesi di settembre 2006 e maggio/giugno 2007. Nell'intervallo di tempo tra la cattura

e l'inizio delle sessioni di pre-addestramento, gli animali sono stati allevati nello stabulario dell'Università, a gruppi di 10-15 unità all'interno di appositi terrari di vetro, dotati di una base ricoperta di uno strato di 3-5 cm di sabbia; i rifugi erano forniti da mattoni forati appositamente disposti. I terrari erano riscaldati da lampadine ad incandescenza da 60 watt, poste ad una delle estremità, ad una altezza di 60-80 cm, per fornire calore alle lucertole durante le ore del giorno. La posizione asimmetrica della lampada forniva alle lucertole una vasta gamma di temperature, dando loro la possibilità di effettuare una termoregolazione simile a quella in condizioni naturali (35-40°C sotto la lampada, 24-25°C all'estremità opposta). Erano inoltre presenti nei vari terrari lampadine a raggi UV, atte a stimolare la sintesi della vitamina B3, indispensabile per l'assorbimento del calcio nei Rettili. Il fotoperiodo programmato nello stabulario riproduceva l'orario solare basato sul calcolo delle effemeridi nautiche ed era metodicamente regolato dagli sperimentatori. Gli animali erano alimentati regolarmente da larve di *Tenebrio molitor* e da uova sode tritate, in occasione delle fasi di gestione e pulizia dello stabulario, cioè tre volte a settimana.

Gli animali sono stati tenuti in queste condizioni fino all'inizio degli esperimenti.

4.1.2. Marcatura

Prima dell'inizio delle attività sperimentali, ciascun individuo è stato marcato con colori indelebili e resistenti all'acqua, nella parte inferiore del corpo, secondo il seguente codice:

A = ARANCIO

W = BIANCO

B = BLU

G = GIALLO

R = ROSA

Gli animali sono stati suddivisi in sei gruppi, cinque dei quali con un codice a tre colori ed uno con un codice a due colori: di questi, il primo colore (il più vicino al capo) rimandava al gruppo di appartenenza, mentre i successivi rappresentavano il segno distintivo individuale:

GRUPPO ARANCIO = AAA; ABA; AGA; ARA; AWA.

GRUPPO BIANCO = WAW; WBW; WGW; WRW; WWW.

GRUPPO BLU = BAB; BBB; BGB; BRB; BWB.

GRUPPO GIALLO = GAG; GBG; GGG; GRG; GWG.

GRUPPO ROSA = RAR; RBR; RGR; RRR; RWR.

GRUPPO BICOLORE = BA; BB; BG; BR; BW.

La marcatura veniva regolarmente rinnovata dagli sperimentatori in modo da rendere il riconoscimento degli animali facile e immediato (**Fig. 12**).



Figura 12: Lucertole marcate con il codice a colori utilizzato (da snx a dx: BAB, AWA, BRB, GRG, BBB, BGB)

4.1.3. Stabulazione nelle celle termostatate

Durante l'intera sessione sperimentale comprendente pre-addestramento, addestramento e test, gli animali sono stati stabulati nelle due celle termostatate, programmate a fotoperiodo stagionale (stabilito dall'ora solare, basata sul calcolo delle effemeridi nautiche, sistematicamente aggiornato dagli sperimentatori) e a temperatura costante ($31^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Entrambe le celle termostatate erano isolate sia acusticamente che visivamente dall'ambiente esterno.

Le celle erano illuminate con luci al neon a spettro solare e l'intensità di luce a cui erano esposti gli animali era costante, di circa 200 lux.

Tali celle potevano essere maneggiate dagli sperimentatori solamente quando erano in fase di luce (*light-L*) e lontano dall'*onset* delle luci, quindi durante il giorno soggettivo di ciascun animale; ogni intervento doveva tassativamente avvenire in momenti diversamente distribuiti nel tempo, per evitare che l'intervento dello sperimentatore fosse utilizzato dagli animali come agente sincronizzante; questo particolare era importante non tanto per lo studio dell'apprendimento spaziale in sé, ma quanto per i successivi test di sfasamento del fotoperiodo effettuati per testare l'orientamento direzionale alla bussola solare sugli stessi animali sperimentali.

La cura degli animali e la normale manutenzione delle celle, tre volte a settimana, potevano dunque iniziare almeno due ore dopo l'accensione delle luci.

Gli animali sono stati sistemati in vaschette di plastica trasparente (2/3 lucertole per vaschetta), sistemazione che non è mai stata modificata durante tutto il corso dell'attività sperimentale; le vaschette sono state scelte tutte di uguali dimensioni e ogni vaschetta era esposta alla stessa quantità di lux.

L'intervento dello sperimentatore nella cella veniva sempre effettuato utilizzando una lampada di intensità minore a 1 lux coperta da filtro fotografico rosso, in quanto, come noto, gli orologi biologici non sono sensibili a tali lunghezze d'onda; in tal modo si è evitato di somministrare alle lucertole pulsi di luce.

4.2. APPARATO SPERIMENTALE

4.2.1. Arena

(Dispositivo Morris water-maze modificato): consiste in una vasca in PVC avorio di forma esagonale, delle dimensioni di 160 cm di larghezza, 182 cm di diametro e con pareti alte 40 cm. La struttura è sollevata da terra da sette piedi di 70 cm di altezza. L'arena è dotata di *due rubinetti* di diverse dimensioni predisposti ad erogare differenti volumi d'acqua nelle fasi di attività sperimentale e in quelle periodiche di pulizia (Fig. 13).

Ad un lato dell'arena (70°, in direzione E-NE) è posta la *meta*, consistente in una *piattaforma* in *plexyglass* trasparente (al fine di renderla meno visibile quando sommersa da acqua oscurata) alta 11 cm e dal ripiano delle dimensioni di 23x16 cm. Per essere maggiormente apprezzata dall'animale, i bordi sono stati leggermente spianati per facilitarne la salita.

La vasca è riempita da circa 320 litri di acqua, per un totale di 0,32 m³ e di 15 cm di altezza della colonna d'acqua.

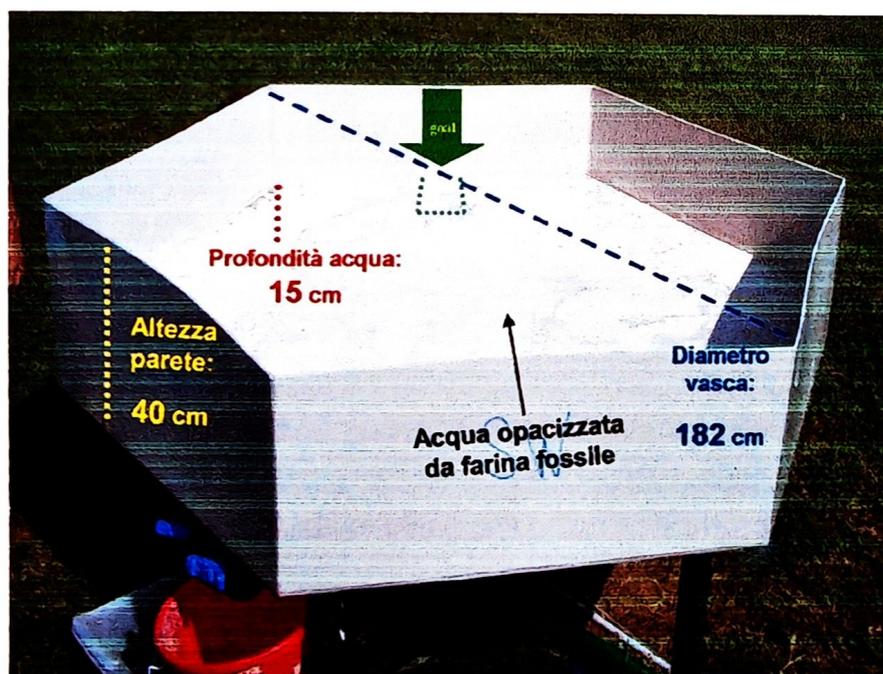


Figura 13: Arena esagonale rappresentante una variante del Morris Water-Maze

4.2.2. Struttura circondante l'arena

Per evitare la visione da parte degli animali di eventuali *feature cues* esterni, la vasca è circondata da una struttura circolare distante da essa 50 cm circa, sorretta da sei pali in PVC equidistanti tra loro, cui è fissato un telone di plastica verde (Fig. 14). La struttura è dotata di una apertura reversibile lontano dal lato meta che, all'occorrenza, consente il passaggio degli sperimentatori durante le fasi di manutenzione dell'arena, ma durante le attività sperimentali è fissata ad uno dei pali per garantire un'omogeneità del paesaggio.

In due punti del telone sono inserite sezioni di tubi di plastica verde (spioncini) per creare postazioni di osservazione che possano consentire agli sperimentatori in osservazione di controllare dall'esterno il rilascio in acqua degli animali e la loro performance direzionale. Nel telone è stato inoltre ricavato un foro per l'obiettivo della telecamera. Tutti i fori praticati nella struttura sono invisibili dall'interno della vasca.



Figura 14: Telone verde circondante la vasca; la sua funzione era nascondere agli animali qualsiasi eventuale repere situato esternamente all'arena

4.2.3. Scatola di rilascio

La scatola di rilascio è un contenitore di plastica lungo circa 20 cm e alto 5 cm, composto da 2 parti (scatola e coperchio), per permettere il trasporto e il rilascio dell'animale; affinché la lucertola non possa percepire alcuna informazione sull'ambiente circostante durante il tragitto verso l'arena, il colore di tale scatola è nero (Fig. 15). Sul fondo di essa sono stati praticati alcuni fori per permetterle un affondamento graduale, *ad hoc* per l'animale, calcolato essere circa di 17 secondi, tempo che limita alla lucertola lo stress da immersione e le permette di acclimatarsi all'acqua e alla struttura, e spesso di scegliere una precisa direzione di orientamento; inoltre, alle due estremità del lato inferiore sono stati attaccati due *pesi di ottone*, i quali, fungendo da ancore, permettono al

contenitore di non spostarsi dal punto in cui viene posto dallo sperimentatore per il rilascio dell'animale.



Figura 15: Scatola di rilascio, nera per nascondere all'animale il paesaggio esterno durante il trasporto alla vasca

4.2.4. Retino

Il retino (**Fig. 16**), di dimensioni 14,5x12,5 cm, è costituito da due fogli di rete a maglie strette incollati tra loro per tre lati mentre il quarto lato viene lasciato sollevato in modo da creare una fessura che invoglia l'animale ad entrarvi, evitandogli così stress da manipolazione.



Figura 16: Retino, rappresentante la ricompensa con cui l'animale veniva prelevato dall'arena qualora raggiungesse la piattaforma

4.2.5. Teche con resistenze

Per ridurre il più possibile lo stress dell'animale, dovuto al brusco passaggio da un ambiente asciutto ad uno bagnato, e le conseguenti basse performance o eventuali comportamenti anomali al momento del rilascio dell'animale all'interno dell'arena, le lucertole, per tutta la durata degli esperimenti giornalieri, sono state mantenute in due apposite teche in vetro (**Fig. 17**), contenenti circa cinque cm di acqua a temperatura controllata grazie ad apposite resistenze (naturalmente tarate

in modo tale che la temperatura dell'acqua delle teche fosse uguale a quella dell'arena). All'interno di ciascuna delle teche, una sottile rete a maglie strette, di ugual superficie alla base del contenitore, rialzata dal fondo per un'altezza di poco minore a quella del livello dell'acqua grazie a piccoli paletti in PVC, costituiva un pavimento rialzato, in cui gli animali da addestrare potevano restare a pelo d'acqua.

Sottile strato di rete verde che fungeva da pavimento divisorio dall'acqua sottostante, appositamente scaldata dalle resistenze



Resistenze tarate a 30°C e poste sotto il pavimento di rete

Figura 17: Teche con resistenza, finalizzate ad ambientare gli animali all'ambiente acquoso e a 30°C dell'arena in cui avrebbero dovuto effettuare i lanci

4.2.6. Resistenze

(MOD: *Tetratec HT300*): affinché la temperatura dell'acqua dell'arena non scendesse sotto i 28°C (temperatura critica), al termine delle prove sperimentali venivano posizionate nella vasca due resistenze da acquario, tolte poi il mattino successivo, al momento della ripresa delle attività.

Altre due resistenze erano poste nell'acqua delle due teche in vetro di cui sopra, e lì venivano lasciate per tutta la durata degli esperimenti.

4.2.7. Pompa idrica

(MOD: *Sunsun HQB-3503*): posizionata all'interno di un recipiente di plastica posto sotto i due rubinetti, tale pompa era utilizzata per riportare all'interno della vasca il volume d'acqua fatto defluire dai rubinetti al momento dell'emersione della piattaforma. A questo scopo era stata collegata ad un tubo di gomma che portava l'acqua direttamente all'interno dell'arena (**Fig. 18**).

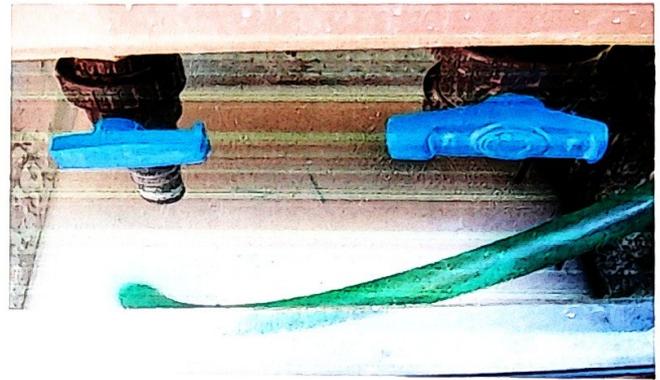


Figura 18: Rubinetti dell'acqua, utilizzati per abbassarne il livello nel caso in cui l'animale raggiungesse la piattaforma senza toccar prima altri punti dell'arena

4.2.8. Farina fossile

Consiste nel residuo fossile di microscopiche alghe della famiglia delle diatomee. Era utilizzata per oscurare l'acqua della vasca e rendere la piattaforma non visibile; avendo un elevato potere imbibente ne serviva una ridotta quantità, che all'immediato contatto con l'acqua si miscelava perfettamente.

4.2.9. Termometro a sonda

(MOD: *DualT TCT103 optics & service-centrostyle*): usato per misurare la temperatura dell'aria esterna e quella dell'acqua della vasca (Fig. 19).

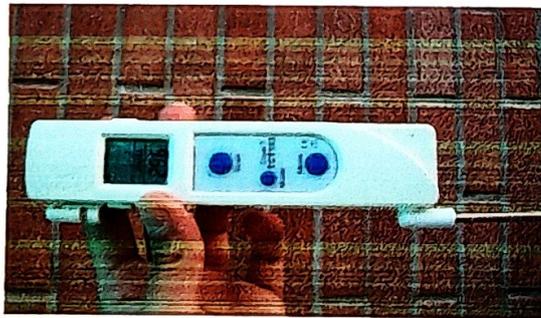


Figura 19: Termometro a sonda, utilizzato per misurare le temperature di aria ed acqua

4.2.10. Termometro a infrarossi con termocoppia ad infrarossi

(MOD: *DualT TCT103 optics & service-centrostyle*): usato per rilevare la temperatura corporea superficiale dell'animale prima di ogni lancio; a tal scopo, tale sonda veniva puntata sempre al ventre dell'animale.

4.2.11. Stereo

Durante l'attività sperimentale, veniva posizionato uno stereo esattamente sotto la vasca, al centro della stessa, con le casse rivolte verso l'alto, al fine di creare una unidirezionalità

preferenziale del suono: tale attenzione era estremamente utile per evitare che eventuali rumori direzionali di sottofondo potessero influenzare l'orientamento degli animali.

4.3. RACCOLTA DEI DATI

4.3.1. Telecamera digitale

(MOD: JVC Everio GZ-MG21E): utilizzata per documentare ogni sessione. Era posizionata su un apposito cavalletto e sistemata a ridosso del telone, con l'obiettivo nero inserito nell'apposito foro praticato: è stato possibile così registrare ciò che avveniva all'interno della vasca, senza che gli animali percepissero anche solo un piccolo movimento od un riverbero dell'apparecchio (Fig.20 B).

4.3.2. Bussola digitale

(World Wide Digital Compass 1.1Eleven, 12Twelve): utilizzata per misurare l'esatto grado di orientamento dell'animale in ogni prestazione (Fig. 20 A).

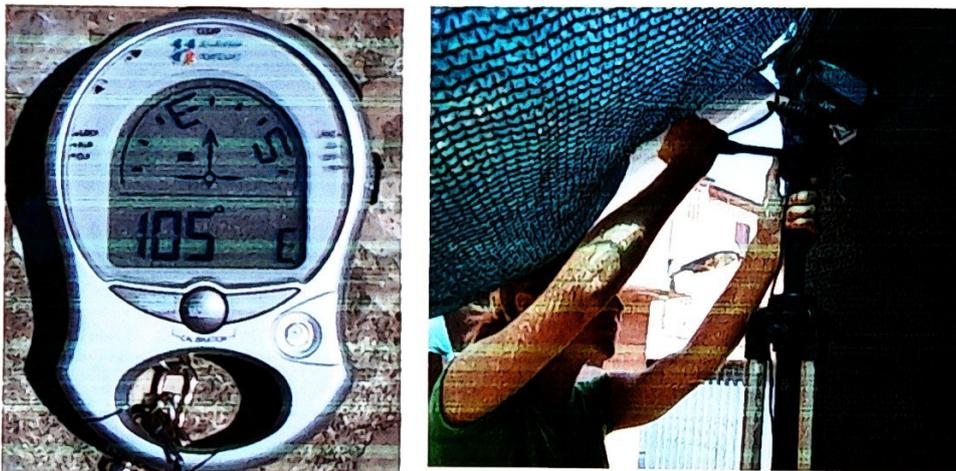


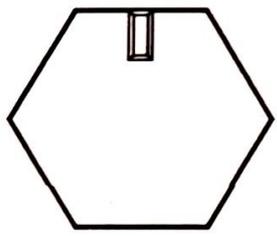
Figura 20: A-Bussola digitale; B-Telecamera digitale

4.3.3. Schede di campo

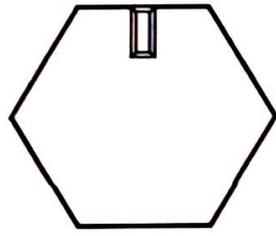
Si tratta di due diversi tipi di tabella: una giornaliera (Pag. 33), in cui venivano annotate data e ora, temperatura di aria e acqua, presenza\assenza di nuvole e vento, misurate entrambe in quarti, nome e temperatura di ogni animale e le singole *performance* e traiettorie dei lanci; una seconda, settimanale (Pag. 34), con un diagramma circolare in cui venivano annotati giornalmente (con simboli differenti tra loro) i punti di svanimento di ogni singolo animale nel corso della sua settimana di addestramento.

SCHEDA DI CAMPO GIORNALIERA DI GRUPPO

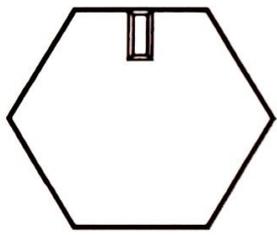
Data:	Ora: (ora solare)	T° aria [°C]:	T° acqua [°C]:
Copertura nuvolosa: /4		Vento: /4	Fase training:
Gruppo lucertole :		Orientamento piattaforma: misura sempre effettuata dal punto medio del lato opposto alla piattaforma.	
Note complessive:			
.....			
.....			



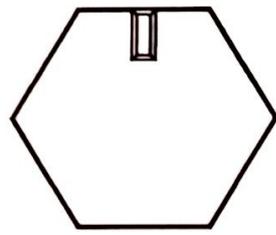
T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....



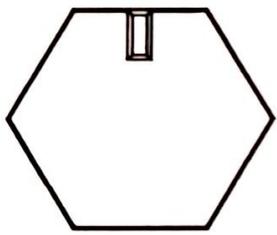
T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....



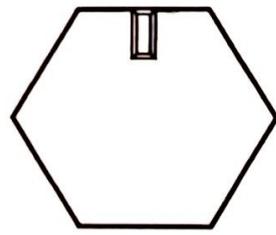
T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....



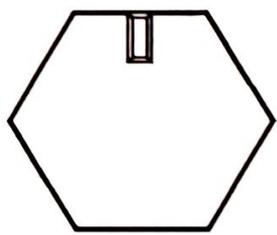
T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....



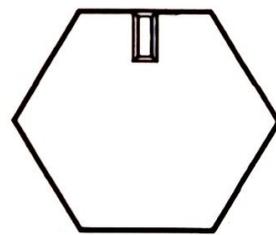
T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....



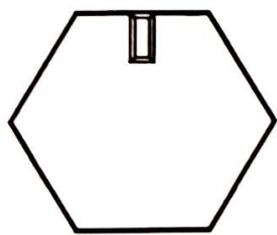
T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....



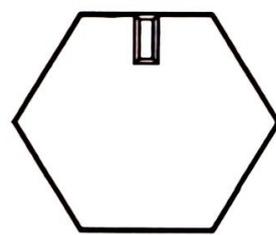
T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....



T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....



T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....

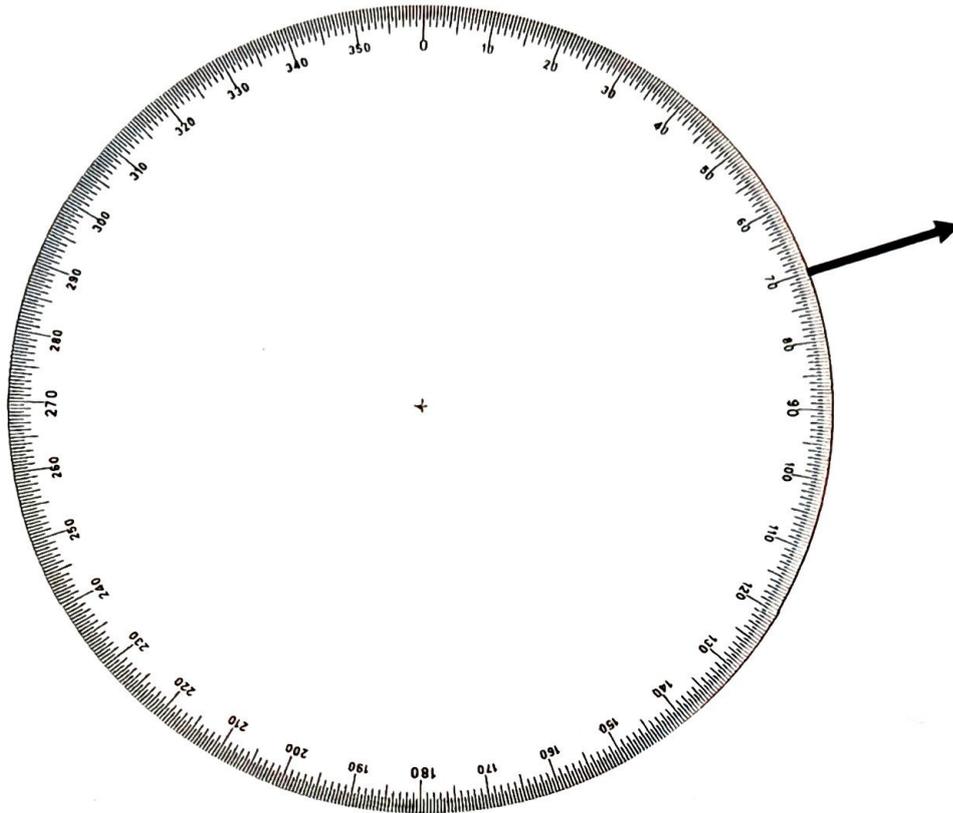


T°:..... **Gradi:**.....
.....
Ora:.....
.....
.....

SHEDA DI CAMPO INDIVIDUALE SETTIMANALE

Animale:

Settimana:



data	Ora solare	T°animale	T°aria T°acqua	Vento (.../4)	Copertura (.../4)	Lato5	lato6	Lato meta	Lato2	Lato3	Lato4	Tot punteggio
Lun	☩											
Mar	♥											
Mer	□											
Gio	○											
Ven	◇											
Sab	△											
Rayleigh	α :	R:	Z :	P(Z) :	U :	P(U):	HC:					Tot settimanale:
Note												

4.4. CONDIZIONI AMBIENTALI

4.4.1. Orari e requisiti ambientali

Gli esperimenti sono stati svolti sempre nelle ore centrali della giornata, dalle 11:00 del mattino alle 15:30 del pomeriggio circa: prima e dopo questo orario, infatti, le ombre sulla arena, date da edifici ed alberi circostanti alla postazione, diventavano prominenti e inducevano gli animali ad orientarsi erroneamente (ad esempio a dirigersi preferibilmente verso la zona d'ombra nel caso di giornate particolarmente calde e/o afose).

Requisiti fondamentale di tutte le giornate di addestramento erano: 1) la perfetta visibilità del disco solare; 2) l'assenza, o comunque la scarsità, di vento.

4.4.2. Range ottimale di temperatura di aria ed acqua

Per quanto riguardava l'aria, si è notata l'importanza di eseguire gli esperimenti all'interno di un *range* di temperatura misurata al sole non inferiore ai 27°C e non superiore ad un limite di 43°C: al di fuori di tale intervallo termico ottimale, infatti, le performance degli animali erano notevolmente ridotte e si assisteva ad un aumento dei casi di *tanatosi* (adattamento auto-protettivo, simulante lo stato di morte come risposta ad un grave pericolo di minaccia fisica oppure ad un forte stato di stress, per esempio termico).

Requisito fondamentale era il fatto che la differenza tra la temperatura dell'aria e quella degli animali che doveva rimanere nei limiti di 4-5°C.

Il *range* ottimale per la temperatura dell'acqua era invece tra i 29°C e i 31°C. Per riscaldare l'acqua, nella vasca venivano posizionate, durante la notte, due resistenze da acquario a 28°C; non le si tarava a 30°C in quanto la sola esposizione dell'arena alle ore centrali della giornata successiva faceva aumentare la temperatura dell'acqua di almeno altri due gradi in poco più di dieci minuti. Nelle ore centrali del giorno invece, quando eventualmente la temperatura dell'acqua si innalzava a livelli termici inadeguati per gli animali, veniva utilizzato del ghiaccio per abbassarla (**Fig. 21**).

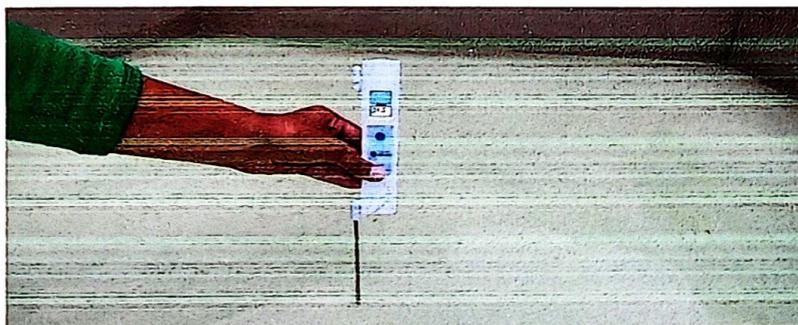


Figura 21: Misurazione dell'acqua interna alla vasca prima del lancio: quest'ultimo veniva eseguito solo se tale T° era compresa tra i 29 e i 30,5°C, altrimenti veniva o scaldata con le resistenze o raffreddata con del ghiaccio

4.4.3. Temperature degli animali

Il sistema di termoregolazione impiegato dagli ectotermi permette a molte specie di lucertole di mantenere una temperatura corporea in un intervallo di pochi gradi, durante il periodo del giorno nel quale sono attive. Osservazioni in natura mostrano come l'attività di termoregolazione possa occupare una larga fetta della giornata di un animale: Avery (1976) ha ipotizzato che le lucertole nelle regioni temperate mostrano un comportamento sociale meno diffuso delle lucertole tropicali poiché il comportamento termoregolatorio nei climi freddi richiede molto tempo. La temperatura influenza profondamente la capacità degli squamati di compiere diverse attività, per esempio la capacità di spostarsi più o meno velocemente (da Pough, Heiser, Mc Farland ,1993).

Come già accennato nei capitolo precedenti, gli esemplari di *Podarcis sicula* utilizzati in questo studio stazionavano per tutta la durata della sessione sperimentale all'interno di celle termostate, ad una temperatura costante di 30°C. Sul campo esse venivano mantenute nelle speciali teche di vetro di cui si è parlato nel **paragrafo 4.2.5.**, predisposte per mantenere gli animali alla stessa temperatura cui erano abituati e con la quale avrebbero dovuto essere addestrati.

Si è potuto constatare che il *range* ideale di temperatura esterna delle lucertole è compreso tra i 29°C e i 33°C: a queste condizioni termiche gli animali hanno evidenziato le prestazioni migliori e il minor numero di sintomi di stress termico quale la *tanatosi*. Tutte le rilevazioni termiche sono state effettuate misurando esclusivamente la temperatura cutanea, che veniva rilevata ponendo il termometro a raggi infrarossi a contatto col ventre della lucertola per circa 3 secondi (**Fig. 22**).



Figura 22: Misurazione della temperatura corporea superficiale dell'animale prima del lancio per mezzo del termometro a infrarossi

4.5. PROCEDURA DI ADDESTRAMENTO

4.5.1. Introduzione alla procedura adottata

La modalità di apprendimento utilizzata ai fini dell'addestramento è di tipo *associativo*, consistente in una modificazione della capacità di orientamento in seguito all'esposizione ad una situazione sgradevole (in questo caso, il nuotare nell'acqua) in un certo rapporto temporale.

In questa tipologia di esperimenti lo sperimentatore fa seguire ad un certo evento (in questo caso, il rilascio nell'acqua dell'animale), un secondo evento (in questo caso, il premio rappresentato dalla via di fuga, ovvero la presentazione della piattaforma per uscire dall'acqua): una modificazione del comportamento dell'animale in conseguenza all'esposizione a questo rapporto temporale tra i due eventi dimostra che si è verificato un apprendimento.

Nel caso specifico, quando una lucertola viene introdotta all'interno della vasca contenente acqua, inizialmente nuota in modo casuale nel tentativo di fuggire dalla condizione di disagio, e solo in seguito riesce a giungere su una piattaforma situata a pochi millimetri al di sotto della superficie dell'acqua. Se tutte le volte che l'animale assolve correttamente al compito giungendo alla piattaforma viene premiato, per esempio con l'abbassamento del livello dell'acqua in modo che tutta la piattaforma emerga riportandolo all'asciutto, nel giro di poco tempo esso collegherà la piattaforma a qualcosa di confortevole e in questo modo sarà condizionato operativamente a raggiungere la piattaforma.

La piattaforma deve quindi essere considerata dalla lucertola come meta e come ricompensa, sia perché non appena l'animale la raggiunge può trovare sollievo nel salirci ed uscire così dall'acqua, sia perché questo gli permetterà, in pochi secondi, di uscire dall'arena all'interno del retino, senza quindi essere manipolato, e di ritornare nelle teche a temperatura appositamente controllata assieme alle altre lucertole (*rinforzi positivi*).

Come descritto in precedenza, si è iniziato con l'addestrare 30 esemplari di *Podarcis*; tuttavia, a causa di molteplici fattori individuali quali peggioramento della salute fisica, perdita della coda durante la manipolazione (il che abbassa notevolmente le performance di nuoto ed aumenta lo stress dell'animale), scarsa predisposizione all'addestramento, peggioramento delle performance di orientamento nel corso delle sessioni (forse dovuto ad una scarsa adattabilità all'aumento repentino delle temperature dell'estate 2007) o, ancora, mancato raggiungimento dei criteri di apprendimento (di cui si parlerà largamente nel corso di questo capitolo), gli animali che sono giunti fino alla fine dell'addestramento sono stati in totale 25: di questi, solo 12 hanno raggiunto il criterio di apprendimento.

A causa della brevità dell'intervallo orario utilizzabile giornalmente per gli esperimenti, che permetteva agli sperimentatori di effettuare dai quindici ai trenta lanci ogni giorno, i 30 animali iniziali erano stati già suddivisi in 2 blocchi da 3 gruppi (per un totale di 15 animali) ciascuno: si è ritenuto infatti importante, ai fini dell'apprendimento, che ciascun animale effettuasse almeno 2 lanci giornalieri.

I due blocchi di animali sono stati divisi nel seguente modo:

Primo blocco : Gruppo W, Gruppo R e Gruppo Bicolore.

Secondo blocco: Gruppo A, Gruppo B e Gruppo G.

L'addestramento è stato concentrato dapprima sul primo blocco di animali, e solo in un secondo momento sul secondo, ovvero quando la maggior parte degli animali del primo blocco aveva o raggiunto il criterio di apprendimento o aveva dimostrato di dover essere scartata. Tuttavia, a causa della brusca variazione di temperatura stagionale (circa 10°C, ovvero da una media di 35°C ad una di 45°C al sole), tra il periodo di addestramento del primo blocco di animali e quello del secondo blocco, e notando che gli animali del secondo blocco mal sopportavano l'addestramento in condizioni termiche così estreme, le due procedure di addestramento sono state differenti. Gli animali del primo blocco, che di qui in seguito chiameremo A.P. (=Addestramento Prolungato), sono stati addestrati per più tempo e in modo più diluito (in media 2 lanci al giorno per 6 sessioni da 4 lanci ciascuna); quelli del secondo blocco, che di qui in seguito chiameremo A.B. (=Addestramento Breve), hanno ricevuto un addestramento di minor durata e più concentrato nel tempo (in media 3 lanci al giorno per 4 sessioni da 4 lanci ciascuna).

Come vedremo nei risultati, il criterio di apprendimento sarà raggiunto da 8 esemplari del gruppo ad Addestramento Prolungato (A.P.) e da 4 del gruppo ad Addestramento Breve (A.B.).

4.5.2. Fase di preparazione agli esperimenti

In primo luogo, per evitare la formazione di qualsiasi macchia sui lati interni della vasca, che potesse essere presa come punto di riferimento dagli animali durante i lanci, veniva eseguita un'accurata pulizia quotidiana; inoltre, prima di ogni prova, l'acqua veniva rimescolata per contrastare la precipitazione della farina fossile dispersa al suo interno (**Fig. 23**).

In secondo luogo, per permettere agli animali di abituarsi al rumore di fondo prodotto dallo stereo, quest'ultimo veniva acceso almeno quindici minuti prima di iniziare gli esperimenti, ovvero lo stesso tempo necessario agli animali per acclimatarsi all'interno delle teche di vetro in cui venivano riposti.

Dato l'elevato numero di sperimentatori, i ruoli venivano spartiti nel seguente modo: un addetto a preparare l'animale al lancio, misurandone la temperatura corporea superficiale e inserendolo nella scatola di rilascio; un addetto al lancio e al recupero dell'animale dalla vasca; due addetti agli spioncini, che prestavano attenzione al primo punto del perimetro della vasca toccato dall'animale; un addetto all'acqua (solo nella fase con piattaforma sommersa) che apriva i rubinetti per abbassare il livello dell'acqua in caso di raggiungimento diretto della piattaforma, e che inoltre, al termine della prestazione, riempiva nuovamente la vasca per prepararla al lancio successivo; un addetto alla bussola, che al termine di ciascuna prova misurava l'esatto grado di orientamento dell'animale; infine un addetto alla telecamera ed alla compilazione delle schede di campo.



Figura 23: Sperimentatore che mescola l'acqua dell'arena per evitare il deposito della farina fossile

La procedura sperimentale è stata suddivisa in due fasi: la fase di pre-training e la fase di training.

1) Pre-training: fase della durata di circa venti giorni. Gli scopi sono: abituare gli animali ad una manipolazione giornaliera; permettere loro l'esplorazione libera e incondizionata dell'arena; far loro associare la piattaforma, posta in una ben determinata direzione, alla via di fuga dall'acqua. La piattaforma, solo in questa fase, è infatti visibile ed emersa, in modo tale che gli animali possano raggiungerla e prenderne contatto stazionandovi alcuni minuti.

2) Training: fase della durata di circa un mese. Lo scopo è quello di indurre gli animali ad associare la piattaforma, che in questo periodo rimane sempre sommersa sotto il pelo dell'acqua, con stimoli positivi quali l'abbassamento dell'acqua e la conseguente uscita dall'arena attraverso il retino.

4.5.3. Fase di pre-training (P-t)

La fase di pre-training è stata svolta nelle stesse condizioni ambientali del training, ovvero dalle 11:00 alle 15:30 in giornate di sole perfettamente visibile. Tale fase ha avuto una durata di circa 20 giorni (dal 4 giugno 2007 al 24 giugno 2007, esclusi i giorni festivi in cui gli esperimenti venivano interrotti).

Nella fase di pre-training l'acqua è oscurata dalla farina fossile e la piattaforma è già collocata a ridosso di un lato della vasca (70°), dove rimarrà per tutta la durata degli esperimenti. In questa fase la piattaforma è emersa dall'acqua e ben visibile agli animali.

Ogni serie di lanci differiva dalla successiva per una progressiva difficoltà, per la lucertola, a raggiungere la piattaforma; a turno ogni animale veniva collocato nella scatola di rilascio e posizionato all'interno dell'arena; al momento del contatto della scatola con l'acqua, il coperchio veniva rimosso, la scatola iniziava ad affondare e l'animale iniziava gradualmente a prendere contatto con la superficie acquosa (Fig. 24). Nella prima sessione di lanci (P-t 1) gli animali venivano liberati in posizione frontale rispetto alla meta e a ridosso della piattaforma; nella sessione successiva di lanci (P-t 2) gli animali venivano liberati ugualmente rivolti verso la piattaforma ma la distanza dalla meta aumentava rispetto al primo lancio; la progressione continuava fino a che non si liberavano gli animali al centro dell'arena (P-t 3).

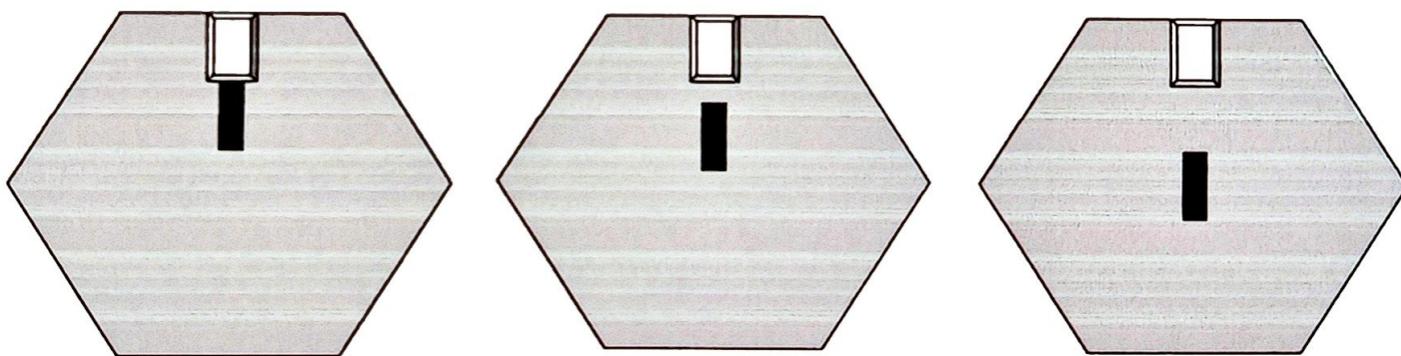


Figura 24: Fasi del pre-training (in successione P-t 1, P-t 2, P-t 3): l'animale veniva posto a distanza crescente dalla piattaforma per un addestramento più graduale

Durante il primo lancio la lucertola era libera di muoversi nella vasca e perlustrare il nuovo ambiente (*comportamento di esplorazione*) cercando un modo per uscire dall'acqua; nel caso in cui non riuscisse a raggiungere la piattaforma entro il tempo limite di due minuti, veniva effettuato un secondo lancio, in cui l'animale veniva recuperato manualmente da uno sperimentatore e rilanciato frontalmente alla piattaforma, dalla stessa distanza del lancio precedente.

Se l'animale falliva ancora il raggiungimento della piattaforma, la procedura sperimentale prevedeva il metodo del "percorso passivo": dal centro dell'arena, a pelo d'acqua, uno

sperimentatore accompagnava manualmente la lucertola sulla piattaforma, con una traiettoria pressoché rettilinea.

Dopo ogni lancio o percorso passivo l'animale veniva lasciato a sostare al sole sulla piattaforma alcuni minuti, per lasciare che memorizzasse il percorso appena effettuato, anche passivamente, dopodiché veniva recuperato con il retino e riportato nelle teche con le compagne.

Per ogni singola prova venivano inoltre annotate, nelle apposite schede di campo, le prestazioni di tutti gli animali, in modo da avere una visione continua dei progressi ottenuti in fase di pre-training.

4.5.4. Fase di training (T)

Il training vero e proprio ha avuto una durata di circa un mese (dal 25 giugno 2007 al 24 luglio 2007, esclusi i giorni festivi). In questa fase, l'acqua è oscurata dalla farina fossile e il suo livello è stato innalzato, in modo tale che la piattaforma, sempre in posizione 70° (E-NE), risultasse sommersa due cm sotto la superficie dell'acqua, e quindi non visibile agli animali.

La procedura iniziale è la medesima della fase di pre-training: le lucertole vengono trasportate dalle celle termostate alla postazione sul campo all'interno di grandi vasche di plastica bianca, per poi venir poste all'interno delle teche di vetro con le resistenze tarate a 28-30°C, a seconda della temperatura dell'aria. A successione ogni animale viene inserito nella scatola di rilascio e testato nell'arena (la procedura di lancio è la stessa che nella fase precedente): il primi lanci dopo il pre-training avvengono ancora in posizione frontale rispetto alla piattaforma, ma fin da subito dal centro della vasca (T 1), mentre successivamente vengono effettuati da posizioni sempre diverse, con gli animali sempre in posizione frontale verso il lanciatore ma mai rivolti verso la piattaforma (T 2, T 3) (Fig. 25).

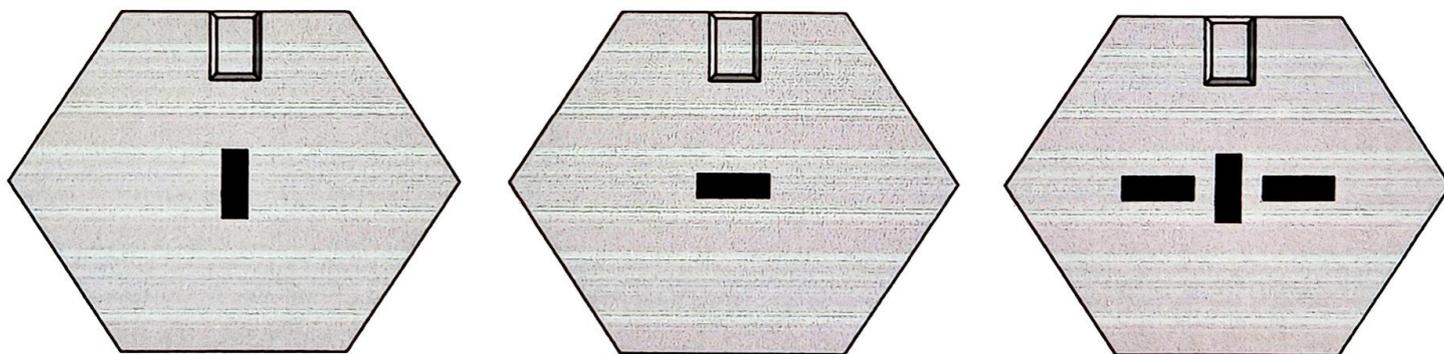


Figura 25: Fasi del training (in successione T 1 e T 2): l'animale veniva rilasciato con la testa rivolta dapprima verso la piattaforma e poi in modo casuale, per verificare la sua capacità a ri-orientarsi nella direzione corretta

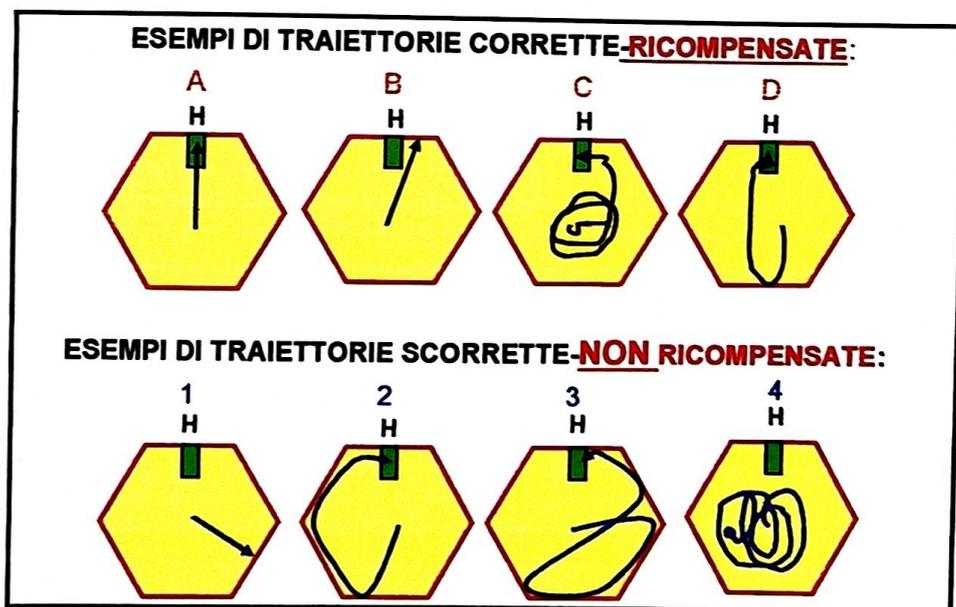
Al primo lancio della lucertola occorreva osservarne il comportamento all'interno dell'arena; a volte si aggrappava alle pareti della vasca e in maniera del tutto casuale raggiungeva la piattaforma,

in altri casi invece si arrendeva manifestando il comportamento di *tanatosi* (adattamento auto-protettivo, simulante lo stato di morte come risposta ad un grave pericolo di minaccia fisica oppure ad un forte stato di stress, per esempio termico); se la lucertola dimostrava di aver intrapreso la direzione corretta, sia giungendo direttamente sulla piattaforma sia dirigendosi verso il lato-meta (compreso tra i 40° e i 100°) con una rotta corretta, il livello dell'acqua veniva abbassato facendo emergere la piattaforma in 5\6 secondi, e riportando all'asciutto l'animale (ricompensa).

Nel caso in cui l'animale, al primo lancio, effettuasse traiettorie scorrette, come per esempio arrivando tangenzialmente alla meta avvalendosi dell'appoggio di ogni parete della vasca (*percorso per prova-errore*), veniva recuperato manualmente da uno sperimentatore e rilanciato (secondo lancio), frontalmente alla piattaforma, dal centro dell'arena; se l'animale questa volta eseguiva una traiettoria corretta e raggiungeva la meta riceveva comunque la ricompensa dell'abbassamento dell'acqua; se l'animale invece falliva di nuovo il raggiungimento della piattaforma, arrivandoci per esempio tangenzialmente dai lati prossimi al lato-meta (considerato un errore di media gravità), la procedura sperimentale prevedeva nuovamente il metodo del "percorso passivo"; se l'animale sbagliava ancora traiettoria, per esempio cercando la piattaforma nel lato opposto al lato-meta (considerato un errore di elevata gravità), veniva lasciato arrancare due minuti nell'acqua, dopodiché veniva afferrato con le mani dallo sperimentatore, scosso energicamente nell'acqua (rinforzo negativo) prima di essere recuperato e reinserito nella teca. In tal modo veniva anche privato del rinforzo positivo dato dal contatto col retino.

Inizialmente, al termine della procedura "correttiva" del "percorso passivo", l'animale veniva premiato con l'abbassamento dell'acqua e la conseguente emersione della piattaforma, ma con il progredire della fase di addestramento, questa forma di ricompensa è stata eliminata per lasciare il posto ad un semplice contatto della lucertola con la superficie della piattaforma, senza abbassamento dell'acqua.

L'animale ricompensato dall'abbassamento dell'acqua, nel caso di primo lancio o secondo lancio ben eseguiti, veniva lasciato a sostare sulla piattaforma asciutta circa trenta secondi e successivamente prelevato con il retino e riportato nella teca di vetro.



Per ogni singola prova venivano scrupolosamente annotate, nelle apposite schede di campo, le informazioni relative alle temperature di aria e acqua, all'ora solare, al tragitto percorso dall'animale e al grado della direzione presa, in modo da avere una visione continua dei progressi ottenuti in fase di addestramento.

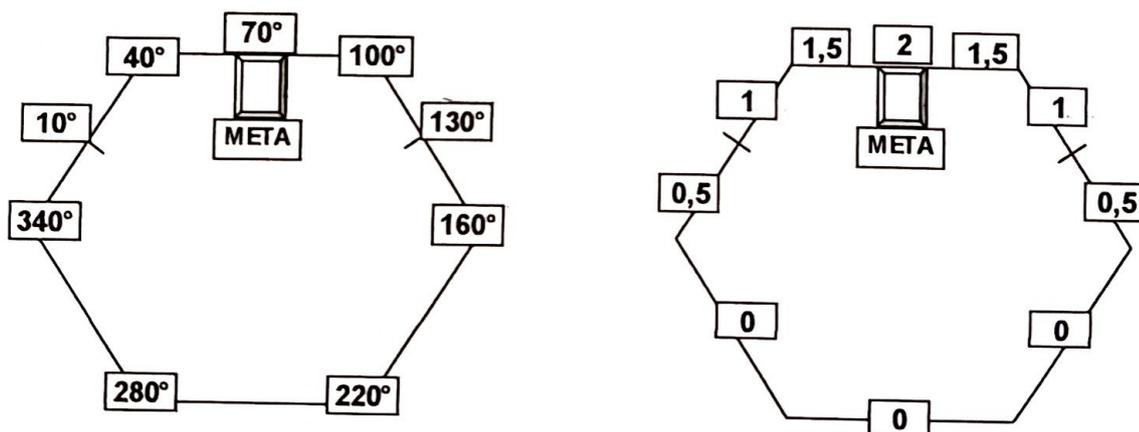
4.5.5. Attribuzione dei punteggi

Ai fini di avere un'informazione semplice ma immediata sulle performance settimanali degli animali addestrati, ogni singola prestazione è stata abbinata ad un punteggio, crescente in modo proporzionale all'avvicinamento della lucertola al lato meta, e, soprattutto, alla piattaforma sommersa.

In particolare, al lato meta e ai due lati adiacenti ad esso è stato attribuito un punteggio diverso da zero, in quanto un orientamento dell'animale verso questa metà dell'arena presupponeva che esso avesse per lo meno appreso la direzione nella quale poter trovare la piattaforma. Al contrario, agli altri tre lati dell'arena è stato attribuito un punteggio uguale a zero (lati-zero).

Nel dettaglio, i punteggi sono stati predisposti nel seguente modo:

- Meta (70°) : punteggio 2
- Lato meta (40°-69°, 71°-100°) : punteggio 1,5
- Prima metà del lato adiacente al lato-meta (10°-39°, 101°-130°) : punteggio 1
- Seconda metà del lato adiacente al lato-meta (340°-9°, 131°-160°) : punteggio 0,5
- Lati-zero (161°-339°) : punteggio 0



Per l'attribuzione dei punteggi delle singole prestazioni, veniva considerato come direzione di orientamento dell'animale la direzione in gradi del primo punto del perimetro interno all'arena toccato da esso (Fig. 26); nel caso però di prestazioni in cui l'animale toccava uno dei lati-zero ma poi, subitaneamente, si girava e toccava un altro punto, come punteggio della prestazione veniva considerato quello del secondo punto toccato; se quindi, pur avendo toccato un punto dei lati-zero, si girava verso il lato-meta ed andava sulla piattaforma, senza toccare altri punti della vasca, gli

4.5.6. Criteri di avvenuto apprendimento

Per stabilire il livello di apprendimento di ogni singola lucertola sono state prese in analisi le ultime due sessioni, da quattro lanci ciascuna, della fase di addestramento. Si è deciso di eliminare i primi giorni di addestramento, in cui gli animali si mostravano ancora poco esperti nell'orientarsi verso la meta, e anche i giorni di addestramento in cui venivano rilevate temperature molto elevate, intorno ai 45°C (tre giornate in totale), dal momento che le prestazioni di tutte le lucertole risentivano negativamente di questo fattore sia aumentando i comportamenti da stress termico, come la *tanatosi*, sia orientandosi in direzioni casuali..

Come criterio dell'avvenuto apprendimento (SUCCESSO DI APPRENDIMENTO) abbiamo considerato un punteggio totale per sessione maggiore o uguale a 4 in ciascuna delle ultime due sessioni (cioè un minimo di 8 punti sommando i punteggi delle ultime due sessioni).

4.6. ANALISI DEI DATI

Le prestazioni di orientamento sono state valutate attraverso i metodi della statistica circolare (Batschelet, 1981; Zar, 1999). In particolare, ciascuna direzione intrapresa da ogni singola lucertola all'interno della arena esagonale è stata trattata come un vettore di lunghezza unitaria centrato nel punto di rilascio e orientato secondo l'azimut del punto stesso rispetto al Nord. Per individuare le direzioni di orientamento medio, si è proceduto al calcolo dei vettori medi descrittivi le distribuzioni mediante la somma vettoriale dei singoli vettori. Il Rayleigh test è stato applicato per verificare se le distribuzioni medie di direzioni fossero significativamente diverse da una distribuzione casuale. La direzionalità delle distribuzioni medie rispetto alla meta è stata invece valutata attraverso il calcolo della componente di casa (Homeward component, HC).

La significatività dei risultati di punteggi, HC e lunghezza dei vettori di gruppo tra sessioni è stata analizzata con un ANOVA per misure ripetute; il confronto tra sessioni (nonché tra blocchi di sessioni) è stato effettuato con il Newman-Kleus Multiple Comparison Test, eccetto che per il confronto tra le due sessioni del gruppo ad Addestramento Breve, per il quale si è ricorsi al Wilcoxon signed rank test. Per la realizzazione dei diagrammi circolari è stato utilizzato il programma di elaborazione dati Sigma Plot 9.0 (Systat Software GmbH).

5. RISULTATI

5.1. PUNTEGGI

Gli animali che hanno raggiunto il criterio di apprendimento (punteggio maggiore o uguale a 4 in ciascuna delle ultime 2 sessioni di addestramento) sono stati in totale 12, di cui 8 del gruppo ad Addestramento Prolungato (A. P.) e 4 del gruppo ad Addestramento Breve (A. B.).

In particolare, il gruppo ad Addestramento Prolungato ha effettuato 6 sessioni di addestramento, ciascuna formata da 4 lanci, per un totale quindi di 24 lanci; il gruppo ad Addestramento Breve ha effettuato 4 sessioni di addestramento, ciascuna formata da 4 lanci, per un totale di 16 lanci.

Si consideri che il punteggio individuale per sessione può variare da 0 a 8.

PUNTEGGI INDIVIDUALI IN CIASCUNA DELLE 6 SESSIONI DEL GRUPPO A. P.						
	1^SESS.	2^SESS.	3^SESS.	4^SESS.	5^SESS.	6^SESS.
WAW	6	4	1,5	6	7	6
WBW	2,5	2	6	3,5	5,5	5
WRW	2,5	2	4,5	2	7,5	6,5
RGR	1	3,5	1,5	4,5	4	4,5
RWR	4	5,5	6,5	4,5	5	4
BA	2,5	4	3	6	4,5	7
BG	3	4,5	2,5	8	5,5	7
BW	5	2,5	5	3,5	5,5	5,5
TOT	26,5	28	30,5	38	44,5	45,5
MEDIA	3,3	3,5	3,8	4,7	5,5	5,7
%diSUCCESSO	41%	43%	47,5%	58,7%	68,7%	71%

PUNTEGGI INDIVIDUALI IN CIASCUNA DELLE 4 SESSIONI DEL GRUPPO A. B.				
	1^SESS.	2^SESS.	3^SESS.	4^SESS.
AAA	5	3,5	4,5	4,5
BAB	4	3,5	5,5	6

GAG	5	4	4,5	5,5
GBG	2	2	5	6
TOT	16	13	19,2	22
MEDIA	4	3	4,8	5,5
%diSUCCESSO	50%	37%	60%	68%

Come si può notare, esistono differenze notevoli per quanto riguarda le prestazioni individuali, ma analizzando il punteggio totale di gruppo, la media di gruppo e la percentuale di successo per sessione si osserva un netto miglioramento delle performance di orientamento, sia nel gruppo ad Addestramento Prolungato sia nel gruppo ad Addestramento Breve.

Osservando ad esempio il punteggio medio di gruppo della 1^a e della 6^a sessione del gruppo A.P., il valore aumenta da 3,3 (%di successo =41%) a 5,7 (%di successo =71%), così come aumenta da 4 (%di successo=50%) a 5,5 (%di successo=68%) il punteggio medio del gruppo A.B. passando dalla 1^a alla 4^a sessione di addestramento.

Una considerazione che emerge dal confronto tra i due gruppi è il fatto che quello ad Addestramento Breve sembra avere una caduta di performance alla 2^a sessione, per poi migliorare nelle sessioni successive, mentre il miglioramento del gruppo ad Addestramento Prolungato sembra essere più lineare.

Per quanto riguarda il gruppo A.P., dall'analisi della varianza (ANOVA per misure ripetute) risulta che non ci sono differenze significative tra animali (il che indica che le modalità di addestramento sono state adeguate) mentre ci sono differenze significative tra sessioni ($F_{(5,35)} = 3,74, P < 0,001$); dal Newman test risulta che la 1^a sessione è significativamente diversa dalla 5^a sessione ($P < 0,05$) nonché dalla 6^a ($P < 0,05$).

Allo stesso modo, per quanto riguarda il gruppo A.B., dall'analisi della varianza (ANOVA per misure ripetute) risulta che non ci sono differenze significative tra animali mentre ci sono tra le diverse sessioni ($F_{(3,9)} = 4,51, P < 0,034$); dal Newman test risulta che l'unica differenza significativa tra sessioni è presente tra la 2^a e la 4^a sessione ($P < 0,05$).

L'analisi dei punteggi medi di ciascun gruppo per sessione è riportata in **Fig. 27**.

5.2. NUMERO DI INSUCCESSI

Il numero di insuccessi si riferisce al numero di volte in cui l'animale si è orientato verso uno dei tre lati-zero in ciascuna sessione. Naturalmente, se l'apprendimento dell'animale aumenta nel

corso delle sessioni, le sue prestazioni dovrebbero migliorare e, al contempo, il numero di insuccessi dovrebbe diminuire.

Si consideri che il numero di insuccessi individuali per sessione può variare da 0 a 4.

NUMERO DI INSUCCESSI INDIVIDUALI IN CIASCUNA DELLE 6 SESSIONI DEL GRUPPO A. P.						
	1^SESS.	2^SESS.	3^SESS.	4^SESS.	5^SESS.	6^SESS.
WAW	0	1	2	1	0	0
WBW	2	3	1	1	0	0
WRW	1	2	0	2	0	0
RGR	3	1	2	1	1	0
RWR	1	1	0	0	1	1
BA	2	1	1	0	0	0
BG	1	1	1	0	0	0
BW	1	2	0	1	0	1
TOT	11	12	7	6	2	2
MEDIA	1,37	1,5	0,8	0,7	0,25	0,25
%di insuccesso	34%	37%	20%	17%	6,2%	6,2%

NUMERO DI INSUCCESSI INDIVIDUALI IN CIASCUNA DELLE 4 SESSIONI DEL GRUPPO A. B.				
	1^SESS.	2^SESS.	3^SESS.	4^SESS.
AAA	1	1	1	0
BAB	0	2	1	1
GAG	0	0	0	0
GBG	2	3	1	0
TOT	3	6	3	1
MEDIA	0,75	1,5	0,75	0,25
%di insuccesso	18%	37,5%	18%	6,2%

Dai risultati di gruppo si evince che effettivamente il numero di insuccessi decresce nel corso delle sessioni, così come si riduce la percentuale di insuccesso.

In particolare, analizzando i risultati del gruppo A. P., il numero medio di insuccessi di gruppo per sessione cala da un valore pari ad 1,37 (%di insuccesso =34%) nella 1^a sessione ad un valore pari a 0,25 (%di insuccesso=6,2%) nella 6^a; nel gruppo ad Addestramento Breve, il numero medio di insuccessi di gruppo cala altresì da un valore pari a 0,75 (%di insuccesso=18%) nella 1^a sessione ad un valore pari a 0,25 (%di insuccesso=6,2%) nella 4^a.

Per quanto riguarda il gruppo A. B., inoltre, c'è coerenza tra i risultati dei punteggi e quelli del numero di insuccessi: si nota infatti come il numero di insuccessi, passando dalla 1^a alla 2^a sessione, aumenti anziché diminuire (media del n° di insuccessi nella 1^a sessione=0,75; media del n° di insuccessi nella 2^a sessione=1,5), per poi tuttavia decrescere passando alla 3^a sessione di addestramento (media del n° di insuccessi nella 3^a sessione= 0,75).

L'analisi della media di gruppo del numero di insuccessi per sessione è riportata in **Fig. 28**.

5.3. PUNTI DI SVANIMENTO: RAYLEIGH TEST

Mentre per analizzare l'andamento dei punteggi e del numero di insuccessi nel corso delle sessioni sono state prese in considerazione sessioni da 4 lanci ciascuna, per effettuare il Rayleigh test è stato invece necessario, ai fini della significatività statistica, considerare sessioni da 8 lanci ciascuna; di conseguenza, il gruppo ad Addestramento Prolungato avrà dati attinenti a 3 sessioni di addestramento, ciascuna riferita ad 8 diverse prestazioni individuali, mentre il gruppo ad Addestramento Breve avrà dati attinenti a 2 sessioni di addestramento, ciascuna riferita ad 8 diverse prestazioni individuali.

RISULTATI RAYLEIGH TEST NELLE 3 SESSIONI DEL GRUPPO A.P.						
ANIMALE	SESSIONI	R	α (°)	Z	U	HC
WAW	1	0,7	46°	3,8	2,5	0,6
	2	0,2	90°	1,2	0,6	0,15
	3	0,9	90°	6,3	3,3	0,8
WBW	1	0,2	298°	0,2	-0,4	-0,1
	2	0,5	57°	2	2	0,5
	3	0,8	61°	4,7	3	0,75
WRW	1	0,1	131°	0,04	0,1	0,03
	2	0,6	19°	3,4	1,6	0,4

	3	0,9	61°	6,7	3,6	0,9
RGR	1	0,5	358°	2	0,6	0,15
	2	0,6	358°	3	0,75	0,2
	3	0,65	34°	3,4	2	0,5
RWR	1	0,5	53°	2,2	2	0,5
	2	0,8	54°	5	3	0,7
	3	0,6	31°	2,7	1,8	0,45
BA	1	0,36	116°	1	1	0,25
	2	0,65	35°	3,4	2	0,5
	3	0,8	70°	5	3	0,8
BG	1	0,5	112°	2,4	1,6	0,45
	2	0,7	43°	3,5	2,4	0,6
	3	0,9	73°	6,7	3,6	0,9
BW	1	0,25	67°	0,5	1	0,25
	2	0,5	46°	2	1,9	0,46
	3	0,7	61°	4	2,8	0,7

RISULTATI RAYLEIGH TEST NELLE 2 SESSIONI DEL GRUPPO A.B.

ANIMALE	SESSIONI	R	α	Z	U	HC
AAA	1	0,4	43°	1,5	1,5	0,4
	2	0,5	63°	2	2	0,5
BAB	1	0,3	74°	1	1,4	0,3
	2	0,55	79°	2,4	2,1	0,5
GAG	1	0,7	73°	3,6	2,7	0,7
	2	0,9	38°	7	3	0,8
GBG	1	0,3	336°	0,6	-0,07	-0,01
	2	0,6	76°	3,1	2,5	0,6

I risultati riportati in queste due tabelle mostrano un netto miglioramento delle prestazioni di orientamento nel corso delle sessioni, sia a livello individuale che a livello di gruppo. Infatti, passando dalle prime alle ultime sessioni di addestramento, gli animali imparano ad orientarsi sempre più verso i 70° (rappresentanti la meta), con vettori sempre più lunghi, di conseguenza con una decisione sempre maggiore.

Tali risultati hanno tuttavia un effetto migliore a livello grafico. Ecco che dai valori di R (lunghezza del vettore di orientamento) e di α (direzione di orientamento media individuale per sessione, risultante dalle otto direzioni di orientamento relative agli otto lanci di ogni animale in ciascuna sessione) si ottengono, utilizzando l'apposito programma Sigma Plot 9.0, i diagrammi circolari riportati nelle pagine seguenti (**Fig. 32**: Vettori medi del gruppo A.P. per sessione. **Fig. 33**: Vettori medi del gruppo A.B. per sessione. **Fig. 34**: Vettori individuali in ciascuna sessione dell'esempio positivo BG. **Fig. 35**: Vettori individuali in ciascuna sessione dell'esempio negativo GGG).

5.4. VALORE DELL'HOMeward COMPONENT

L'Homeward Component (HC) rappresenta la "Componente di casa", ovvero la motivazione dell'animale ad orientarsi, nel nostro specifico caso, verso la meta rappresentata dalla piattaforma. Tale valore è quindi indicativo della predisposizione dell'animale ad orientarsi nella direzione alla quale è stato addestrato. A rigor di logica, tale motivazione dovrebbe aumentare nel corso delle sessioni, per cui il valore dell'Homeward Component dovrebbe subire aumenti significativi.

Si consideri che il valore di HC varia da 0 a 1.

VALORI INDIVIDUALI DELL'HOMeward COMPONENT NELLE 3 SESSIONI DEL GRUPPO A.P.			
ANIMALE	1^SESSIONE	2^SESSIONE	3^SESSIONE
WAW	0,6	0,15	0,8
WBW	-0,1	0,5	0,75
WRW	0,03	0,4	0,9
RGR	0,15	0,2	0,5
RWR	0,5	0,7	0,45
BA	0,25	0,5	0,8
BG	0,45	0,6	0,9
BW	0,25	0,46	0,7
MEDIA	0,2	0,4	0,7

VALORI INDIVIDUALI DELL'HOMeward COMPONENT NELLE 2 SESSIONI DEL GRUPPO A.B.		
ANIMALE	1^SESSIONE	2^SESSIONE
AAA	0,4	0,5
BAB	0,3	0,5
GAG	0,7	0,8
GBG	-0,01	0,6
MEDIA	0,3	0,6

Osservando questi risultati si può intuire come la motivazione degli animali ad orientarsi correttamente verso la piattaforma aumenti notevolmente nel corso delle sessioni. Ad esempio, i valori medi di gruppo dell'HC del gruppo ad Addestramento Prolungato aumentano da un valore pari a 0,2 nella 1^ sessione ad un valore pari a 0,7 nella 3^; allo stesso modo, il valore medio di gruppo dell'HC del gruppo ad Addestramento Breve aumenta da un valore pari a 0,3 nella 1^ sessione ad un valore pari al doppio nella 2^.

Per quanto riguarda il gruppo A. P., dall'analisi della varianza (ANOVA per misure ripetute) risulta non esserci una differenza significativa tra animali ma risulta esserci tra sessioni ($F_{(2,14)} = 10,19$, $P < 0,002$); inoltre, dal Newman test risultano esserci differenze significative tra la 1^ e la 3^ sessione ($P < 0,01$) e differenze ancor più significative tra la 2^ e la 3^ ($P < 0,05$).

Per quanto riguarda il gruppo A. B., invece, dal Wilcoxon Signed Rank test non sembrano esserci differenze significative tra le sessioni ($P > 0,1250$).

L'analisi dell'andamento dell'Homeward Component di ciascun gruppo nel corso delle sessioni è riportata in **Fig. 29**.

5.5. LUNGHEZZA DEL VETTORE (R)

Il valore della lunghezza del vettore R indica quanto un animale sia fissato su una certa direzione di orientamento in ciascuna sessione da 8 lanci; in particolare, una direzione di orientamento errata con R lungo avrà un peso negativo maggiore che non una direzione di orientamento errata ma con R corto; allo stesso modo, una direzione di orientamento indirizzata in modo corretto ma con R corto avrà un peso positivo minore che non una direzione di orientamento indirizzata in modo corretto ma con R lungo.

Si tenga conto che il valore di R può variare da 0 a 1, laddove l'1 è rappresentato da un vettore che, all'interno di un diagramma circolare, tocca la circonferenza del cerchio.

VALORI INDIVIDUALI DELL'HOMeward COMPONENT NELLE 3 SESSIONI DEL GRUPPO A.P.			
ANIMALE	1^SESSIONE	2^SESSIONE	3^SESSIONE
WAW	0,6	0,15	0,8
WBW	-0,1	0,5	0,75
WRW	0,03	0,4	0,9
RGR	0,15	0,2	0,5
RWR	0,5	0,7	0,45
BA	0,25	0,5	0,8
BG	0,45	0,6	0,9
BW	0,25	0,46	0,7
MEDIA	0,2	0,4	0,7

VALORI INDIVIDUALI DELL'HOMeward COMPONENT NELLE 2 SESSIONI DEL GRUPPO A.B.		
ANIMALE	1^SESSIONE	2^SESSIONE
AAA	0,4	0,5
BAB	0,3	0,5
GAG	0,7	0,8
GBG	-0,01	0,6
MEDIA	0,3	0,6

Da questi risultati è evidente come la lunghezza del vettore medio di orientamento (R) aumenti nel corso delle sessioni, anche a livello individuale, ma soprattutto a livello di gruppo.

Per quanto riguarda il gruppo A. P., la lunghezza media del vettore di gruppo aumenta dallo 0,2 della 1^ sessione allo 0,7 della 3^ sessione. Analogamente, per quanto riguarda il gruppo A. B., la lunghezza media del vettore di gruppo aumenta dallo 0,3 della 1^ sessione allo 0,6 della 2^ sessione.

Nel gruppo A. P., dall'analisi della varianza (ANOVA per misure ripetute) risultano esserci, anche in questo caso, differenze significative non tra animali ma tra sessioni ($F_{(2,14)} = 8,84$, $P < 0,003$), mentre il Newman test conferma differenze significative della lunghezza dei vettori tra la 1^a e la 3^a sessione ($P < 0,01$) nonché tra la 2^a e la 3^a ($P < 0,05$).

Nel gruppo A. B., invece, i risultati del Wilcoxon Signed Rank test non mostrano differenze significative tra la 1^a e la 2^a sessione ($P > 0,1250$).

L'analisi dei valori medi di gruppo della lunghezza del vettore è riportata in Fig. 30.

5.6. UN ESEMPIO NEGATIVO: GGG

A fine dimostrativo e comparativo è corretto ed interessante riportare i risultati ottenuti da una animale che, pur ricevendo un addestramento uguale alle altre lucertole, non ha raggiunto il criterio di avvenuto apprendimento, anzi, nel caso specifico dell'animale marcato secondo il codice a colori GGG (facente parte del gruppo A. B.), ha peggiorato le proprie performance di orientamento nel corso dell'addestramento stesso.

CATEGORIA	1 ^a SESSIONE	2 ^a SESSIONE	3 ^a SESSIONE	4 ^a SESSIONE
Punteggio	4	2,5	1	0,5
N°di insuccessi	2	2	2	3
HC	0,1	-0,3		
α	359°	304°		
R	0,5	0,5		

Come si può osservare da questi risultati, l'animale in questione peggiora nel corso delle sessioni: il punteggio cala da 4 (50%di successo) a 0,5 (6,25%di successo) passando dalla 1^a alla 4^a sessione; il numero di insuccessi non cala col proseguire dell'addestramento, anzi aumenta nell'ultima sessione; l'Homeward Component addirittura cala da un valore di 0,1 nella 1^a sessione a un valore negativo pari a -0,3 nella 2^a sessione, il che è indicativo di una bassissima motivazione dell'animale ad orientarsi correttamente verso la meta rappresentata dalla piattaforma; allo stesso modo, il grado di orientamento peggiora passando dai 359° (punteggio vicino allo 0,5) della 1^a sessione ai 304° (punteggio 0) della 2^a.

L'analisi dei valori di questo esempio negativo sono riportati in Fig. 31.

6. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati relativi ai dodici animali che hanno raggiunto il criterio di apprendimento risultano essere tra loro coerenti, e indicano un avvenuto miglioramento delle prestazioni di orientamento da diversi punti di analisi: *punteggi raggiunti, numero di insuccessi, direzione di orientamento, lunghezza del vettore medio di orientamento, valore dell'Homeward Component.*

Per quanto riguarda il gruppo ad Addestramento Prolungato, ci sono differenze significative nell'andamento, tra le diverse sessioni, sia dei punteggi raggiunti, il cui valore aumenta in modo significativo tra la 1[^] e la 5[^] sessione e tra la 1[^] e la 6[^] sessione, sia nel numero di insuccessi, il cui valore diminuisce in modo significativo tra la 1[^] e la 5[^] sessione e tra la 1[^] e la 6[^] sessione; inoltre risulta esserci un miglioramento significativo tra le prime 2 sessioni e la 3[^], sia della lunghezza del vettore R sia del valore dell'H.C. Allo stesso modo, anche il vettore medio di gruppo indicante la direzione di orientamento α si avvicina progressivamente ai 70° della meta.

Per quanto riguarda il gruppo ad Addestramento Breve, ci sono differenze significative nell'andamento, tra le diverse sessioni, sia di punteggi raggiunti, il cui valore aumenta in modo significativo tra la 2[^] e la 4[^] sessione, sia nel numero di insuccessi, il cui valore diminuisce in modo significativo tra la 2[^] e la 4[^] sessione; tuttavia in questo caso non risultano esserci differenze significative né tra le lunghezze dei vettori R né tra i valori dell'H.C. tra le due sessioni di addestramento; questo potrebbe suggerire la maggior efficacia di un addestramento più diluito e graduale; in ogni caso, anche in questo gruppo il vettore medio di gruppo indicante la direzione di orientamento α si avvicina, passando dalla 1[^] alla 2[^] sessione di addestramento, ai 70° della meta.

Il presente studio dimostra quindi la capacità di apprendimento spaziale di *Podarcis sicula* all'interno di un Morris Water-Maze: i punteggi raggiunti dagli animali sono aumentati passando dalle prime alle ultime sessioni di addestramento, così come è diminuito il numero di insuccessi; al contempo si è verificato un aumento della lunghezza del vettore medio di orientamento e un progressivo spostamento della sua direzione verso i 70° rappresentanti la meta, nonché un aumento del valore dell'Homeward Component, il quale rivela l'aumentata motivazione dell'animale a raggiungere la meta all'interno dell'arena.

Per quanto riguarda la tempistica, ovvero i tempi necessari a raggiungere un apprendimento stabile, è stato utile confrontare i due gruppi ad addestramento differente (A.P., A.B.): osservando i risultati, infatti, si nota come il gruppo ad Addestramento Prolungato manifesti un apprendimento più lineare rispetto al gruppo ad Addestramento Breve, il quale sembra apprendere in modo meno lineare (vedi Fig. 27b e 28b, 2[^] sessione). Questo risultato potrebbe essere dovuto anche alle

temperature settimanali con le quali gli animali venivano addestrati: il gruppo A. P. infatti è stato addestrato in un periodo con temperature meno estreme (35-39° C) mentre il gruppo A. B. è stato addestrato in un periodo con temperature molto più elevate (38-44° C). Ciò potrebbe significare al contempo due cose:

1. Le lucertole apprendono in modo migliore con un addestramento più prolungato e più diluito nel tempo (due lanci al giorno per sei sessioni da quattro lanci ciascuna); considerando anche il periodo di pre-training, le eventuali giornate con condizioni ambientali sfavorevoli, e comprendendo anche i sabati e le domeniche in cui tuttavia gli esperimenti non sono stati svolti, anche per abituare gli animali alla ritenzione cui avrebbero comunque dovuto far fronte durante la settimana di sfasamento in cella prima dei test, il periodo totale necessario all'addestramento di tutti e due i blocchi di animali corrisponde in media a circa 50 giorni, di cui circa 20 di pre-training.

2. Le lucertole rispondono meglio quando addestrate *al di sotto dei 40°C*, il che riflette i limiti dell'ectotermia di cui bisogna tener conto quando si lavora con questa classe di Vertebrati. Al di sopra di questa temperatura, infatti, aumentano i comportamenti di *tanatosi* e peggiorano significativamente le performance di orientamento, anche in animali abitualmente bravi.

I risultati del presente esperimento sull'apprendimento spaziale della lucertola *Podarcis sicula* sembrano essere i più convincenti, nonché i più dettagliati, presenti finora in letteratura. Nello studio condotto su giovani serpenti della specie *Elaphe guttata guttata* (D. A. Holtzman, T. W. Harris, G. Aranguren & E. Bostock, 1998) si ipotizzava che tali animali, quando addestrati in un'arena posta all'aperto, potessero apprendere una direzione di addestramento in modo rapido.

Per molti aspetti i metodi utilizzati nell'esperimento sui serpenti sono simili a quelli utilizzati nel nostro esperimento sulle lucertole: veniva utilizzata un'arena posta all'aperto e con un telone attorno che minimizzasse eventuali feature cues; gli animali venivano rilasciati all'interno dell'arena per mezzo di una scatola di rilascio; in caso di mancato orientamento veniva effettuato un "percorso passivo"; i dati sono stati analizzati con gli stessi metodi statistici.

Comparando le procedure, tuttavia, le differenze risultano molteplici, e riguardano aspetti metodologici, come la brevità dell'addestramento o la semplificazione della procedura di addestramento, che al contrario sono stati da noi accuratamente vagliati, superati, approfonditi e rifiniti: 1. Numero di animali (nello studio sui serpenti sono stati utilizzati venti giovani animali a sessi misti, mentre nel nostro trenta maschi adulti, il che garantisce una maggior precisione statistica); 2. Acclimatazione nella scatola di rilascio (i serpenti vi potevano sostare per venti secondi prima del lancio, mentre le nostre lucertole vi sostavano soltanto il tempo necessario a raggiungere l'arena); 3. Durata delle singole prove (in ogni prova ad ogni serpente venivano

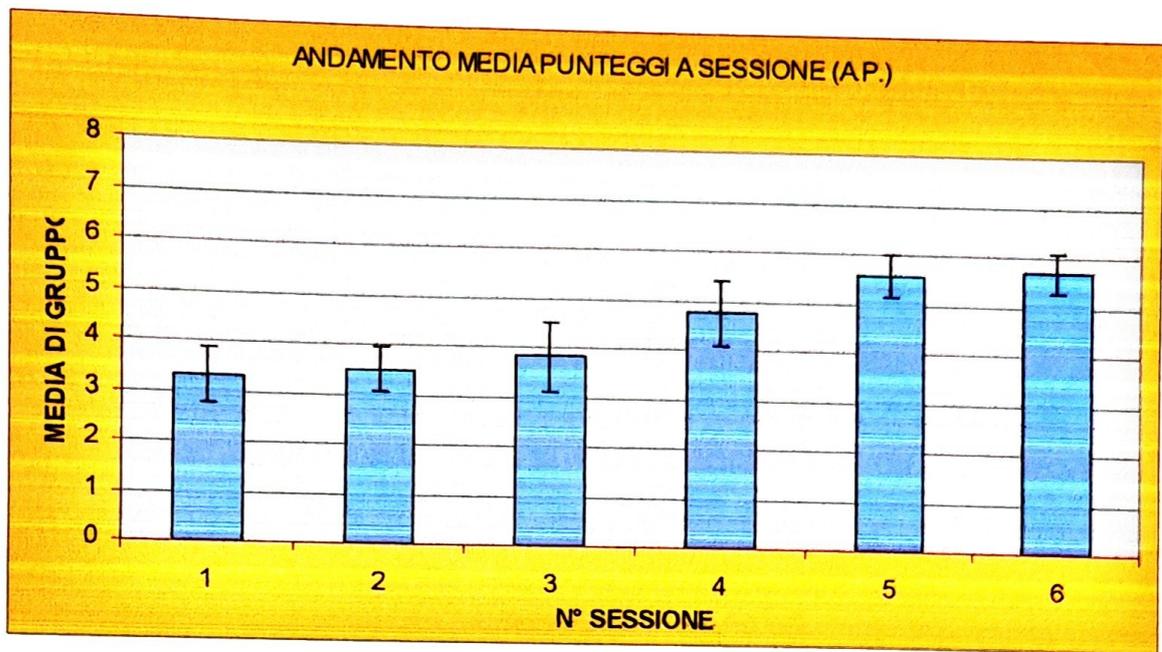
concessi quindici minuti per trovare la meta, sia all'inizio che alla fine del training, con eventuale percorso passivo anche dopo tale lasso di tempo, mentre le prove delle lucertole duravano in media cinque minuti, che aumentavano nel caso in cui si manifestassero comportamenti di tanatosi; in ogni caso, il percorso passivo è stato effettuato solo durante la fase di pre-training e nella primissima di training, per essere poi sostituito dal rinforzo negativo di cui si è parlato nel paragrafo 4.5.4.); 4. Sessioni (una sessione di addestramento dei serpenti consisteva in una giornata da quattro lanci, mentre per le lucertole una sessione corrispondeva a quattro lanci effettuati solitamente, salvo condizioni ambientali sfavorevoli, nell'arco di due giorni); 5. Numero di lanci al giorno (i serpenti sono stati sottoposti a quattro lanci al giorno, mentre le lucertole solo a due, questo per evitar loro eventuale stress da eccessiva manipolazione o da prestazione); 6. Durata dell'addestramento (i serpenti hanno ricevuto un addestramento molto concentrato e intensivo, della durata di soli quattro giorni consecutivi; dai nostri risultati si è visto come l'apprendimento delle lucertole ad Addestramento Breve, che avevano effettuato due lanci al giorno per una media di otto giorni non consecutivi, fosse già meno stabile che non quello delle lucertole ad Addestramento Prolungato, che avevano effettuato due lanci al giorno per una media di dodici giorni non consecutivi); 7. Durata dell'intervallo tra le prove (le prove dei serpenti erano intervallate tra loro da un periodo di tempo di ottanta minuti, mentre quelle delle nostre lucertole di circa quarantacinque minuti, ovvero il tempo necessario ad effettuare i lanci degli altri quattordici animali); 8. Fasi di addestramento (il training dei serpenti non prevedeva alcuna fase di pre-training, ma essi sono stati lanciati fin dall'inizio dal centro dell'arena; le lucertole invece hanno ricevuto un pre-training, necessario all'acclimatazione degli animali all'arena, associato ad una distanza crescente della scatola di rilascio rispetto alla piattaforma, accortezza necessaria all'associazione della piattaforma alla meta: queste attenzioni hanno garantito un addestramento più sicuro e più stabile).

Le differenze tra le due metodologie riguardano soprattutto i parametri analizzati, nonché la definizione dei criteri di apprendimento. Nello studio di D. A. Holtzman, T. W. Harris, G. Aranguren & E. Bostock i parametri considerati sono: 1) La latenza (in s) a cercare la meta; 2) Il percorso totale (in cm) espletato durante ogni prova; 3) La percentuale di percorso espletato in ogni quadrante in cui era stata suddivisa l'arena; 4) Il numero di errori, laddove era considerato "errore" il lancio in cui la testa del serpente toccasse il punto sbagliato dell'arena. Per i serpenti addestrati, il criterio di apprendimento non dimostra l'avvenuto apprendimento, ma soltanto la non-casualità delle performance di orientamento. Nello specifico, tali criteri sono: 1) Se il serpente non si muove random, la percentuale di percorso espletato all'interno del quadrante-meta deve essere maggiore del 25%; 2) Se il serpente non si muove random, il numero di errori commesso deve essere minore al 50% del numero di errori possibile.

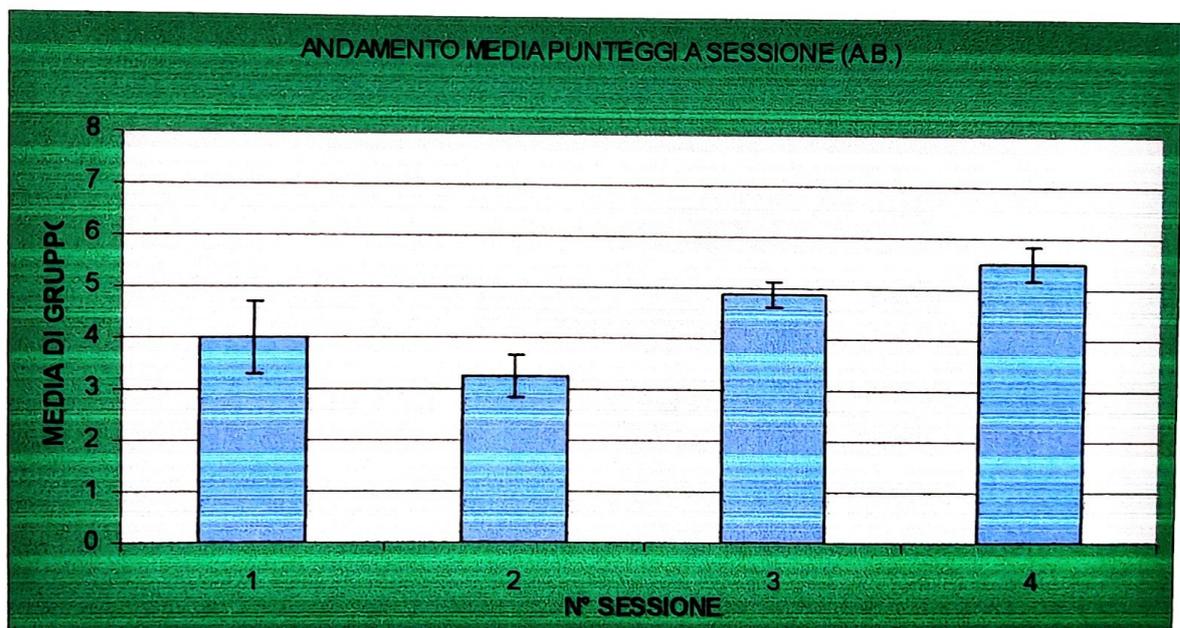
I risultati dello studio sui serpenti mostrano una diminuzione significativa della latenza a ricercare la meta nel corso dei quattro giorni di addestramento, una diminuzione significativa del percorso totale espletato in ogni prova nel corso dei quattro giorni, e un aumento significativo della percentuale di percorso totale espletato all'interno del quadrante-meta a partire dal 3^o giorno di addestramento; il numero di errori commessi, tuttavia, non subisce variazioni nel corso dell'addestramento. Inoltre, i risultati mostrano interazioni non significative tra prove e tra giorni, qualitative differenze comportamentali tra individui, preferenze individuali a quadranti diversi e differenze individuali delle scelte direzionali. Alla luce di questi risultati, vengono avanzate le seguenti conclusioni: i movimenti dei serpenti non sono casuali; è comunque evidente una preferenza per il quadrante-meta; l'assenza di diminuzioni significative del numero di errori nel corso delle sessioni di addestramento indica che per tutta la durata dell'addestramento persiste in modo preponderante un comportamento di esplorazione, rappresentato dalla ricerca delle non-mete.

In conclusione, lo studio di apprendimento spaziale del serpente *Elaphe guttata guttata* non verifica altro che un lieve discostamento dell'orientamento osservato rispetto ad un orientamento casuale; inoltre, sembra che il principale obiettivo dello studio sia stata dimostrare l'ipotizzata *velocità* di apprendimento di tali animali più che il loro *reale apprendimento*.

I risultati dello studio dell'apprendimento spaziale in *Podarcis sicula* sono più convincenti, in quanto, oltre a seguire una procedura di addestramento attenta alle esigenze fisiologico-comportamentali di tali animali, stabilisce criteri restrittivi e precisi con cui dimostrare il reale avvenuto apprendimento delle lucertole, raggiunti i quali è possibile affermare che tali performance non si limitano ad indicare una non-casualità di orientamento, ma confermano un avvenuto apprendimento spaziale dell'animale.



SESSIONI	1	2	3	4	5	6
MEDIA DI GRUPPO	3,31	3,50	3,81	4,75	5,56	5,68
ERRORE STANDARD	0,56	0,44	0,69	0,66	0,41	0,40
ANOVA	$F_{(5,35)} = 3,74$			Significativo		$P < 0,001$
NEWMAN test	1 vs 6 $P < 0,05$		1 vs 5 $P < 0,05$			



SESSIONI	1	2	3	4
MEDIA DI GRUPPO	4,00	3,25	4,87	5,50
ERRORE STANDARD	0,70	0,43	0,23	0,35
ANOVA	$F_{(3,9)} = 4,51$		significativo $P < 0,034$	
NEWMAN test	2 vs 4 $P < 0,05$			

Fig. 27 a, b : ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO: PUNTEGGI PER SESSIONE.

E' evidente come il punteggio medio aumenti in modo significativo nel corso delle sessioni in entrambi i gruppi, superando, nelle ultime due sessioni, la percentuale di successo del 50%, in accordo con l'avvenuto apprendimento.

ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO : NUMERO DI INSUCCESSI PER SESSIONE

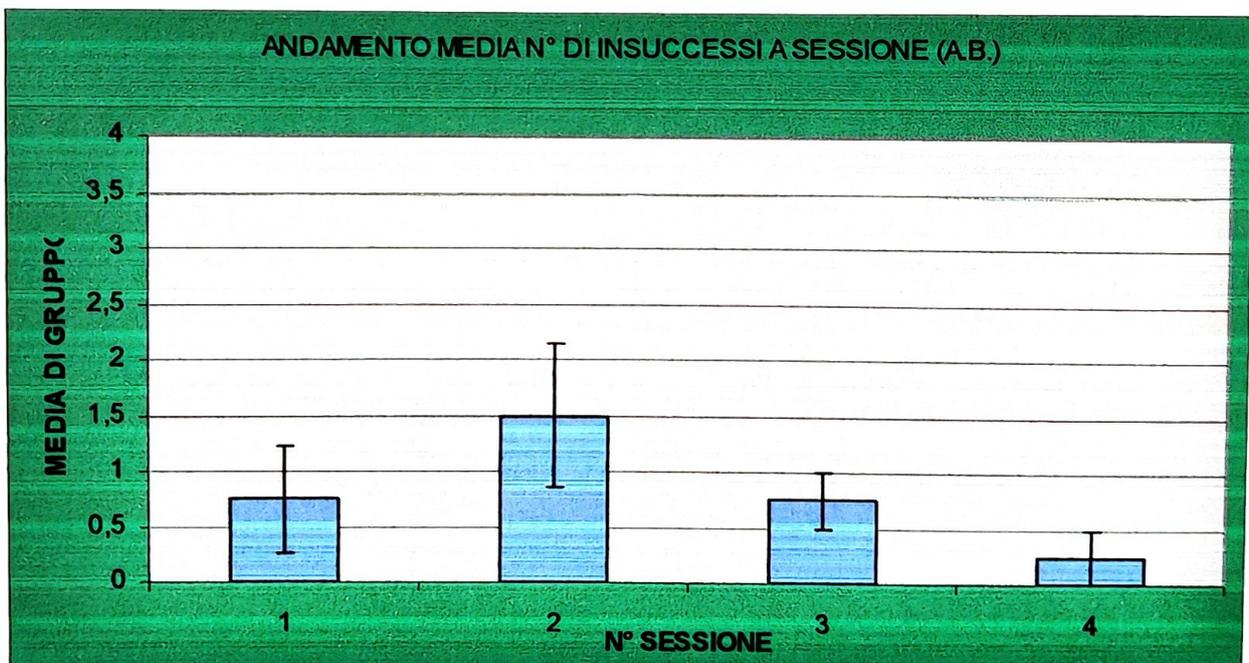
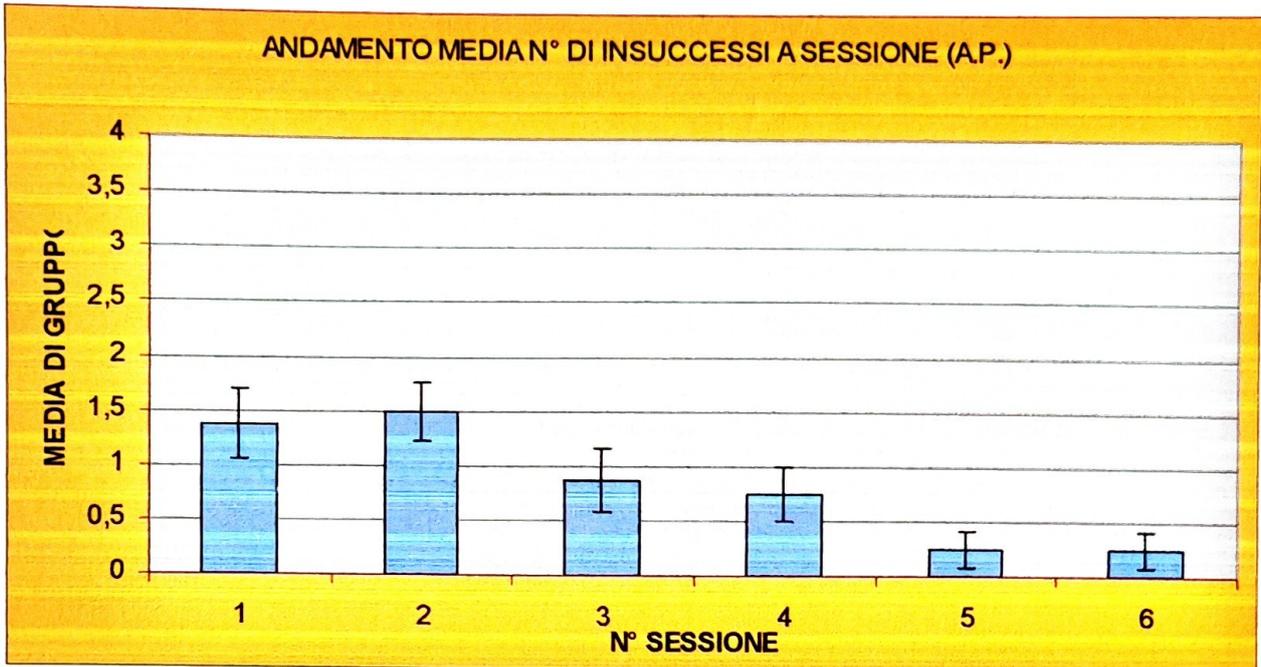
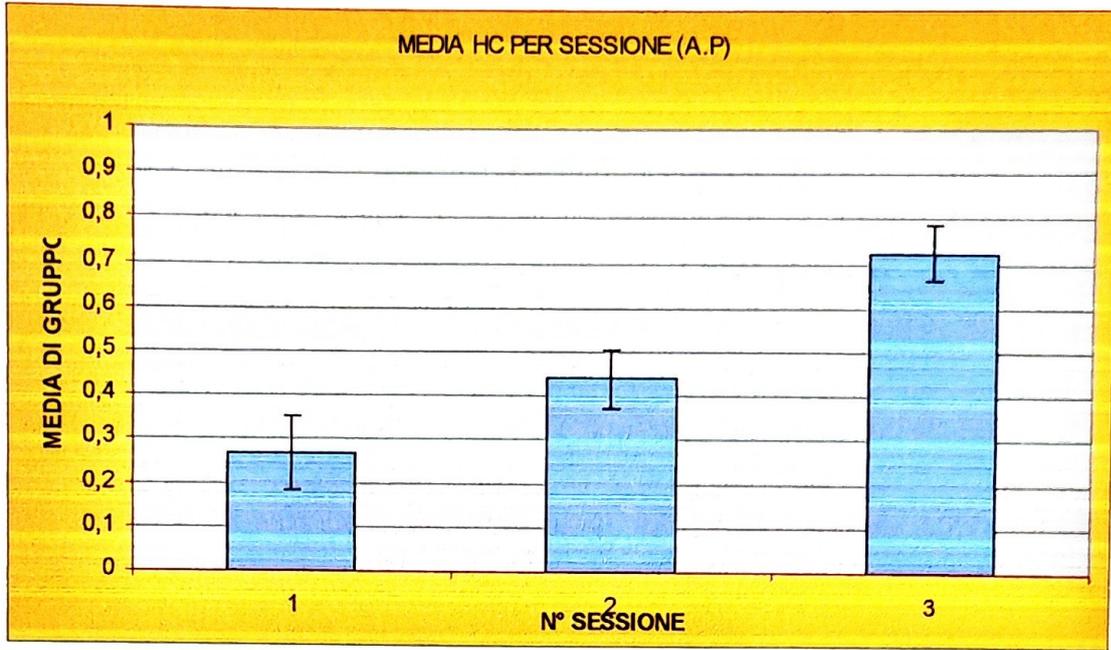
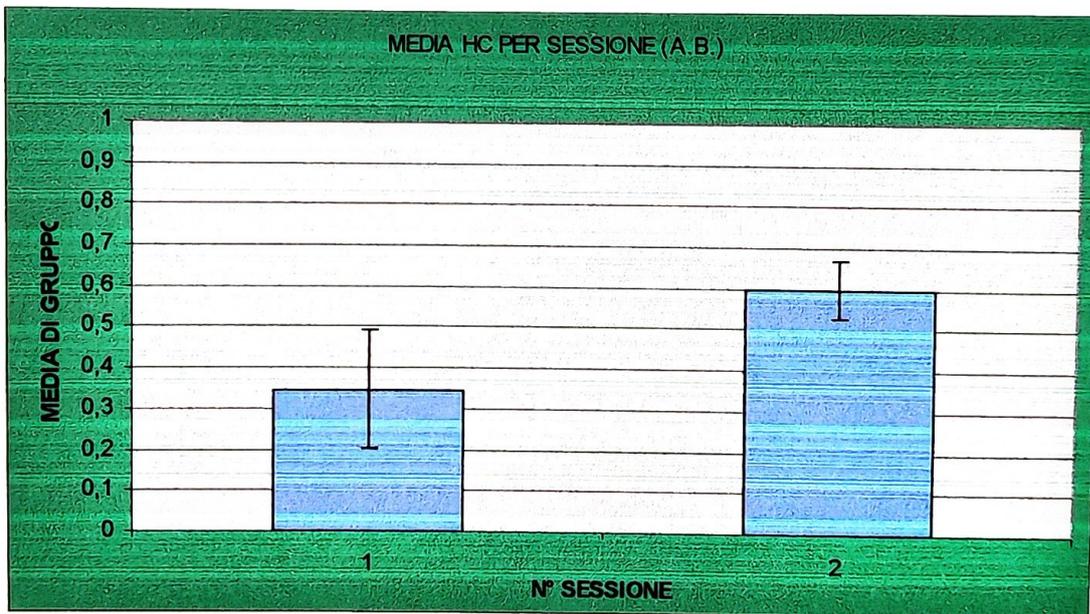


Fig. 28 a, b: ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO: NUMERO DI INSUCCESSI PER SESSIONE. E' evidente come il numero medio di insuccessi in entrambi i gruppi diminuisca in modo significativo, soprattutto nelle ultime prove, in accordo con l'avvenuto apprendimento.

ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO : VALORE DELL'HOMERWORD COMPONENT (HC) PER SESSIONE



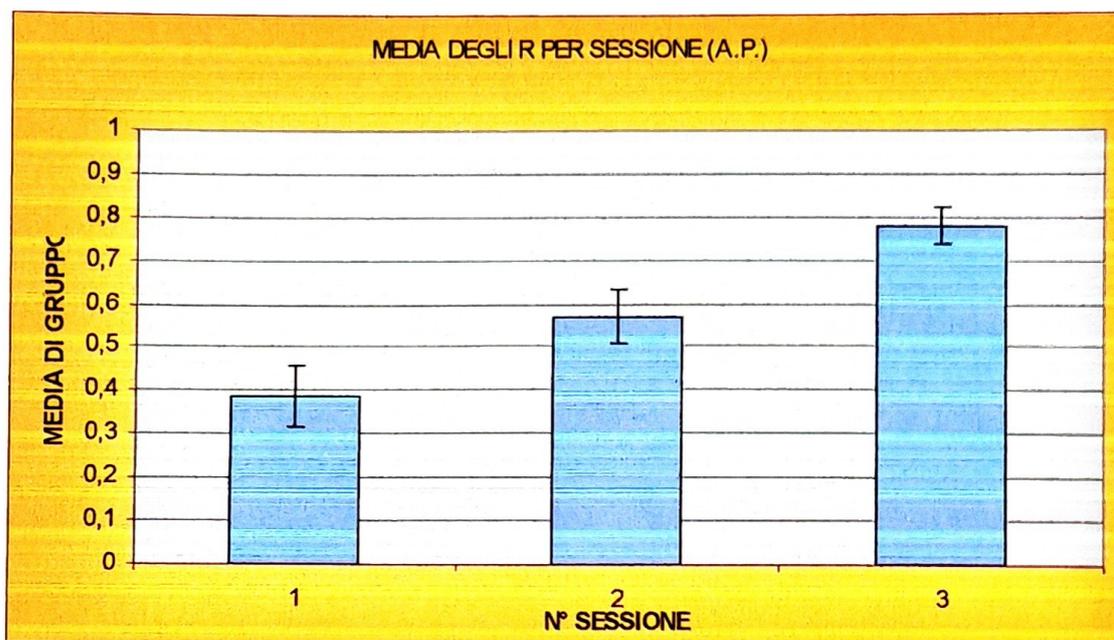
SESSIONE	1	2	3
MEDIA DI GRUPPO	0,26	0,43	0,72
ERRORE STANDARD	0,08	0,07	0,06
ANOVA	F _(2,14) = 10,19		significativo
NEWMAN test	1 vs 3	P < 0,01	2 vs 3 P < 0,05



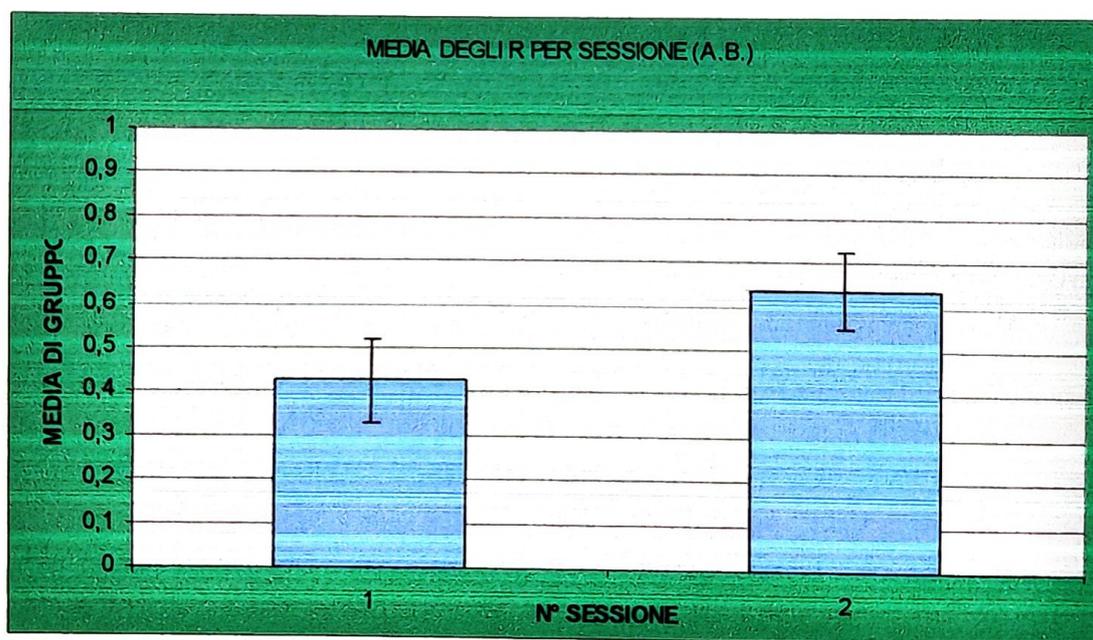
SESSIONE	1	2
MEDIA DI GRUPPO	0,34	0,60
ERRORE STANDARD	0,14	0,07
WILCOXON signed rank test	Non significativo	
		P > 0,1250

Fig. 29 a, b: ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO: VALORE DELL'HOMERWORD COMPONENT PER SESSIONE. E' evidente come il valore dell'HC di gruppo aumenti nel corso delle sessioni di addestramento in entrambi i gruppi, in accordo con l'aumento della motivazione, da parte dell'animale, ad orientarsi correttamente verso la piattaforma. Tale aumento risulta tuttavia essere significativo solamente per il gruppo A..P., probabilmente grazie all'addestramento meno intenso cui le lucertole di tale gruppo sono state sottoposte.

ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO : LUNGHEZZA DEL VETTORE (R) PER SESSIONE



SESSIONE	1	2	3
MEDIA DI GRUPPO	0,39	0,57	0,78
ERRORE STANDARD	0,07	0,06	0,04
ANOVA	F _(2,14) = 8,84		significativo
NEWMAN test	1 vs 3	P < 0,01	2 vs 3
			P < 0,05



SESSIONE	1	2
MEDIA DI GRUPPO	0,42	0,64
ERRORE STANDARD	0,09	0,08
WILCOXON signed rank test	Non significativo	
		P > 0,1250

Fig. 30 a, b: ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO: LUNGHEZZA DEL VETTORE (R).

E' evidente come la lunghezza del vettore R aumenti nel corso dell'addestramento in entrambi i gruppi, in accordo con l'aumento di decisione da parte dell'animale verso un certo grado di orientamento. Tale aumento risulta essere significativo solamente per il gruppo A.P., probabilmente grazie all'addestramento meno intenso cui le lucertole di tale gruppo sono state sottoposte.

UN ESEMPIO NEGATIVO: GGG

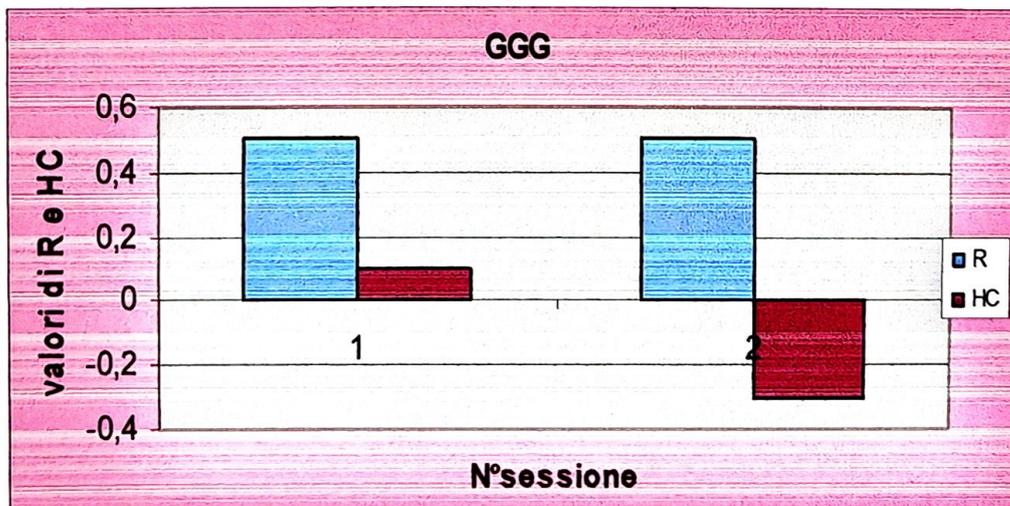
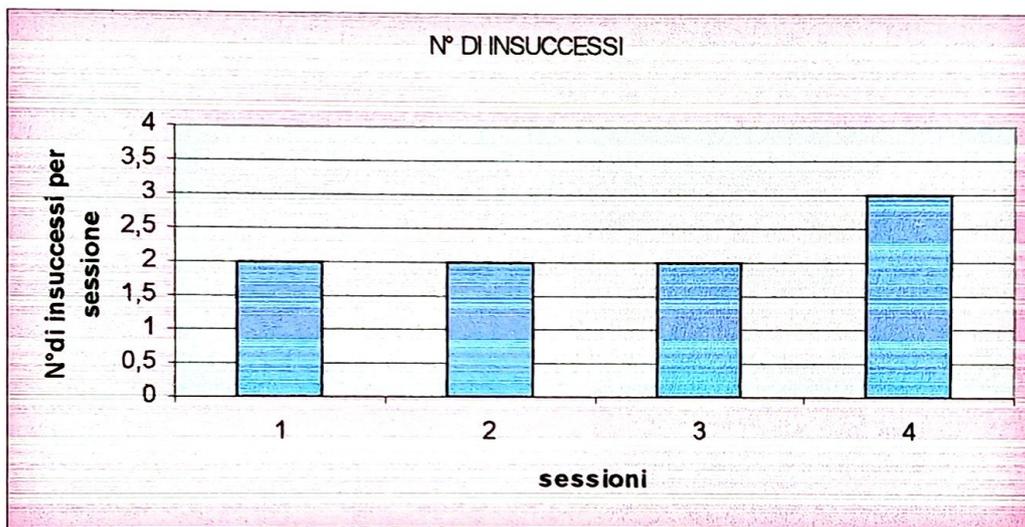
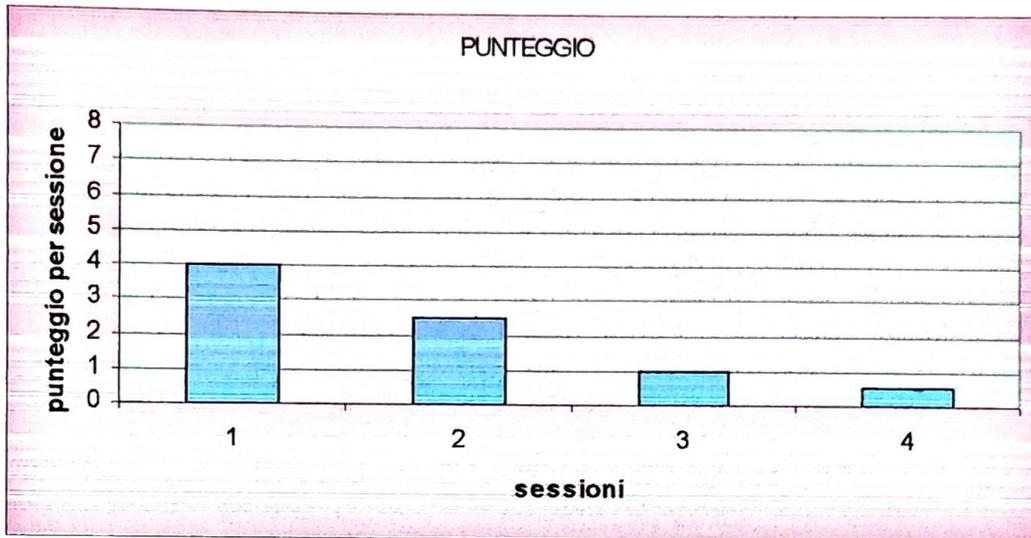
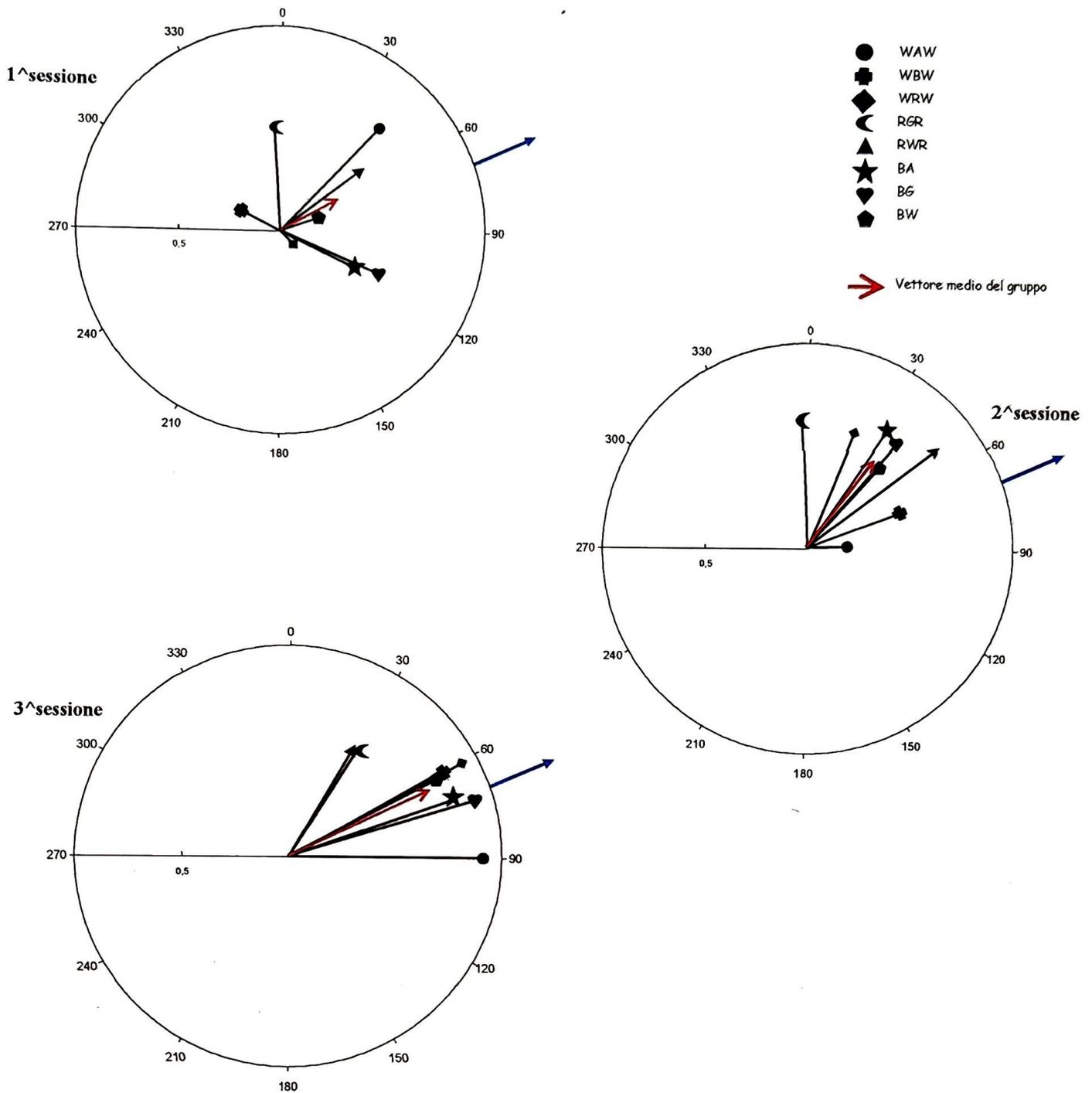


Fig. 31 a, b, c: GGG, UN ESEMPIO NEGATIVO.

Questi tre grafici, dimostrando le differenze nelle capacità di apprendimento anche a livello intraspecifico, sono un ottimo esempio di animale che, pur avendo ricevuto il medesimo addestramento degli altri animali, sembra addirittura peggiorare nelle performance di orientamento nel corso delle sessioni. Il punteggio decresce, il numero di insuccessi non diminuisce nelle prime 3 sessioni e addirittura aumenta nell'ultima, l'HC diminuisce fino ad un valore negativo, e la lunghezza del vettore R resta fissa al valore di 0,5 ma, come vedremo nei diagrammi circolari (pag. 67), è abbinata ad un vettore di orientamento direzionato dalla parte sbagliata.

VETTORI DI GRUPPO : TRE SESSIONI GRUPPO A.P. (ADDESTRAMENTO PROLUNGATO)



vettore	sessione	n	α	R
→	1^a sessione	8	59°	0,3
	2^a sessione	8	38°	0,5
	3^a sessione	8	63°	0,7

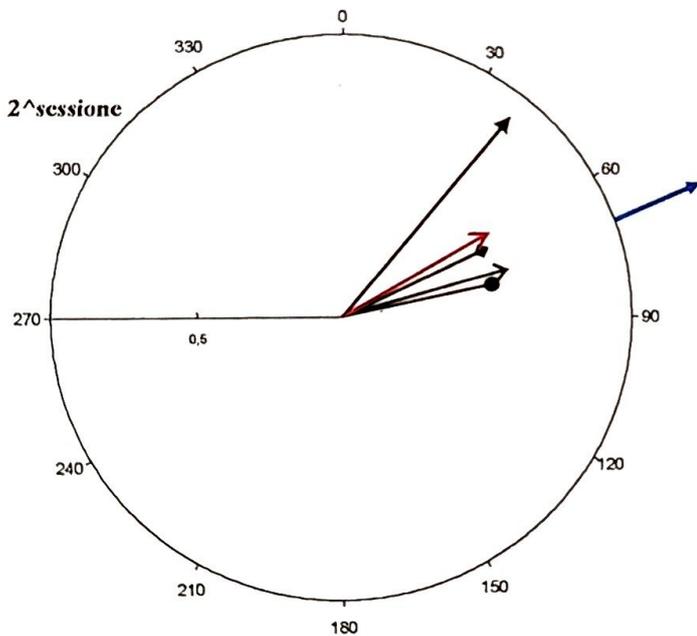
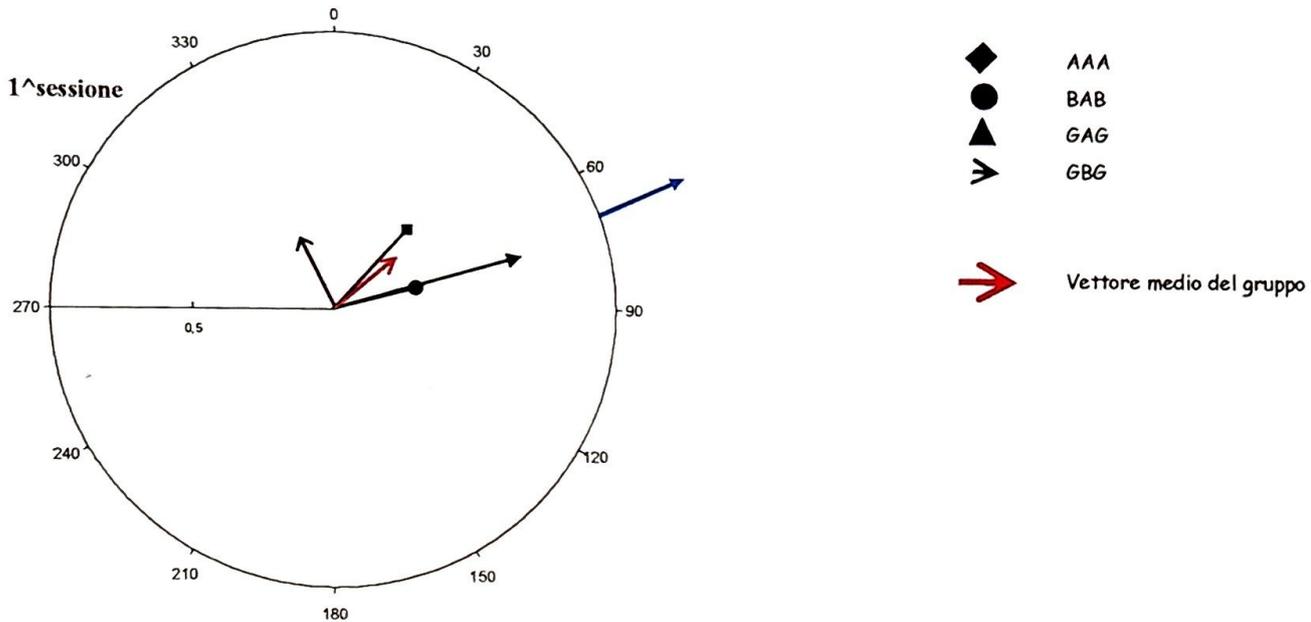
Fig. 32: VETTORI DI GRUPPO: TRE SESSIONI DEL GRUPPO A.P.

In ciascun diagramma circolare sono riportati otto vettori neri, ciascuno derivante dagli otto punti di svanimento di un certo animale in quella determinata sessione, e un vettore rosso rappresentante il vettore degli otto vettori neri, ovvero il vettore di secondo ordine riferito anch'esso alla specifica sessione analizzata.

Questi tre diagrammi indicano il reale apprendimento degli animali, così come indica la tabella. Si noti come, passando dalla 1^a alla 3^a sessione, il vettore R si allunghi significativamente (da 0,3 a 0,7) e il grado di orientamento (α) si avvicini ai 70° della meta (da 59° a 63°).

NB: la freccia esterna indica la direzione di addestramento a 70°; la circonferenza ha raggio unitario.

VETTORI DI GRUPPO : DUE SESSIONI GRUPPO A.B. (ADDESTRAMENTO BREVE)



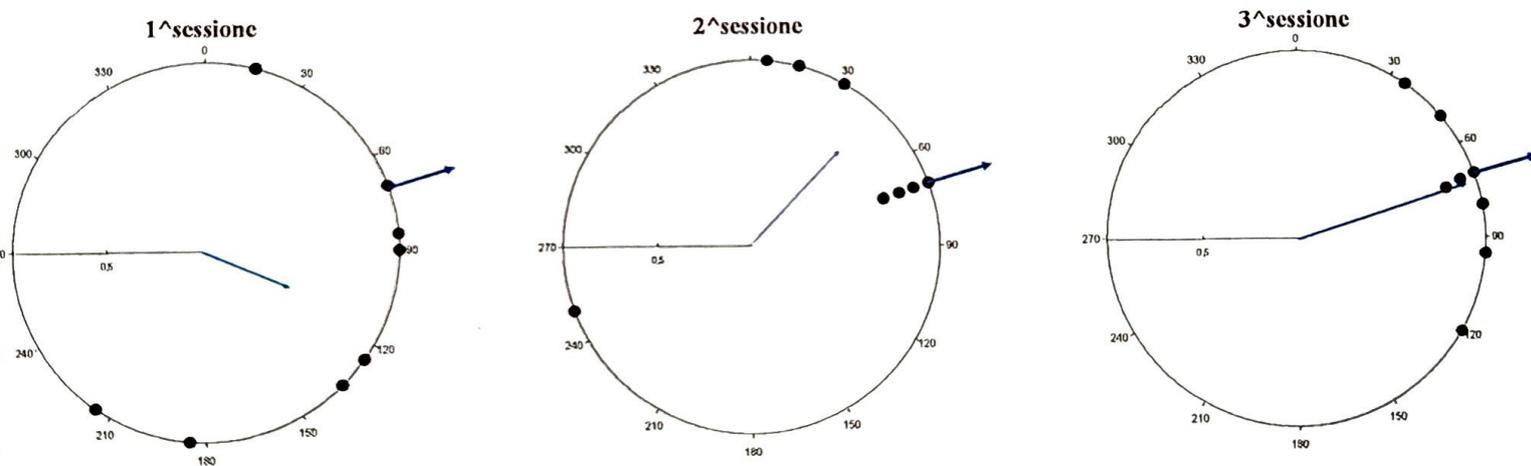
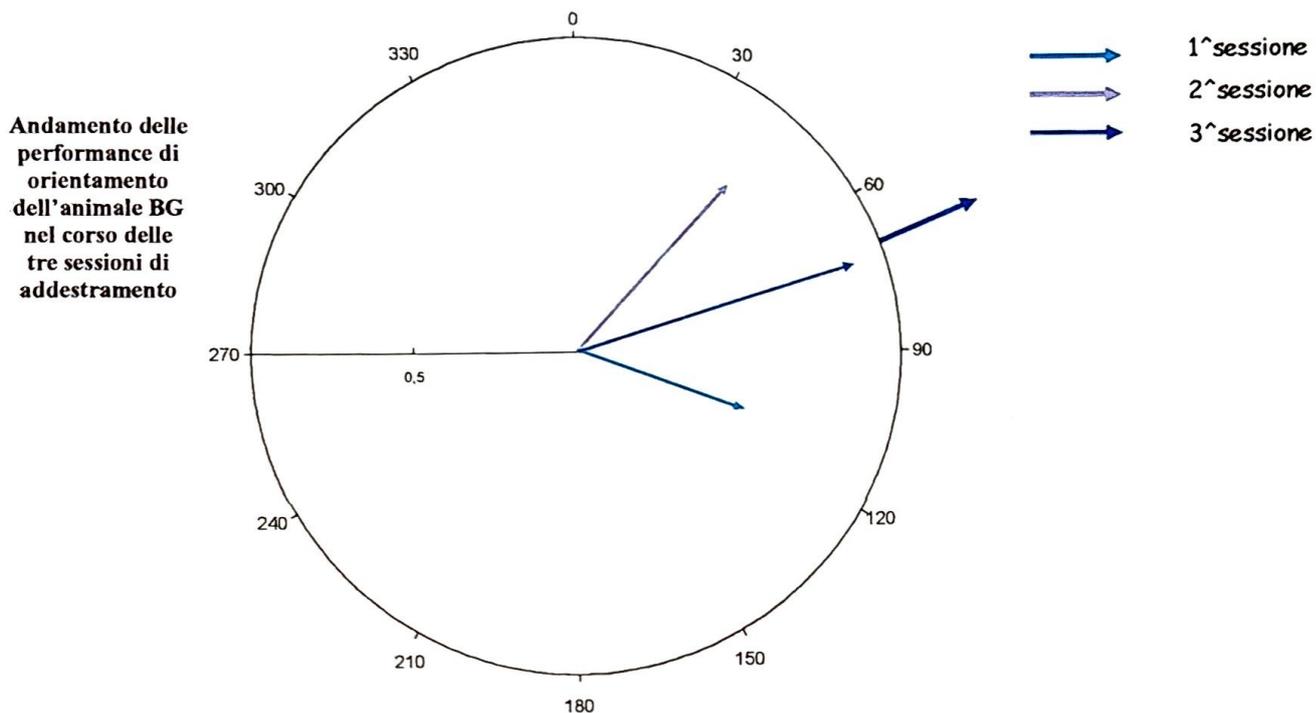
vettore	sessione	n	α	R
→	1^ sessione	4	52°	0,3
	2^ sessione	4	60°	0,6

Fig. 33: VETTORI DI GRUPPO: DUE SESSIONI DEL GRUPPO A.B.

In ciascun diagramma circolare sono riportati quattro vettori neri, ciascuno derivante dagli otto punti di svanimento di un certo animale in quella determinata sessione, e un vettore rosso, rappresentante il vettore dei quattro vettori neri, ovvero il vettore di secondo ordine riferito anch'esso alla specifica sessione analizzata.

Questi due diagrammi circolari indicano il reale apprendimento degli animali, così come indica la tabella. Si noti come, anche in questo caso, passando dalla 1^ alla 2^ sessione, il vettore R si allunghi (da 0,3 a 0,6) e il grado di orientamento (α) si avvicini ai 70° della meta (da 52° a 60°).

BG : VETTORI MEDI INDIVIDUALI NELLE TRE SESSIONI



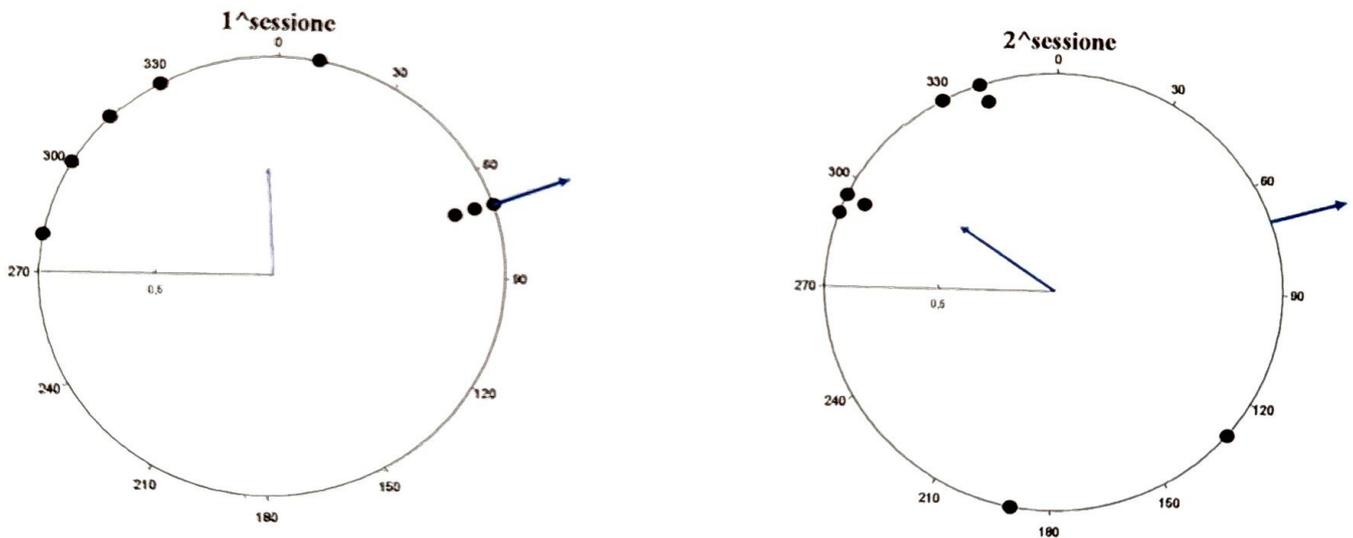
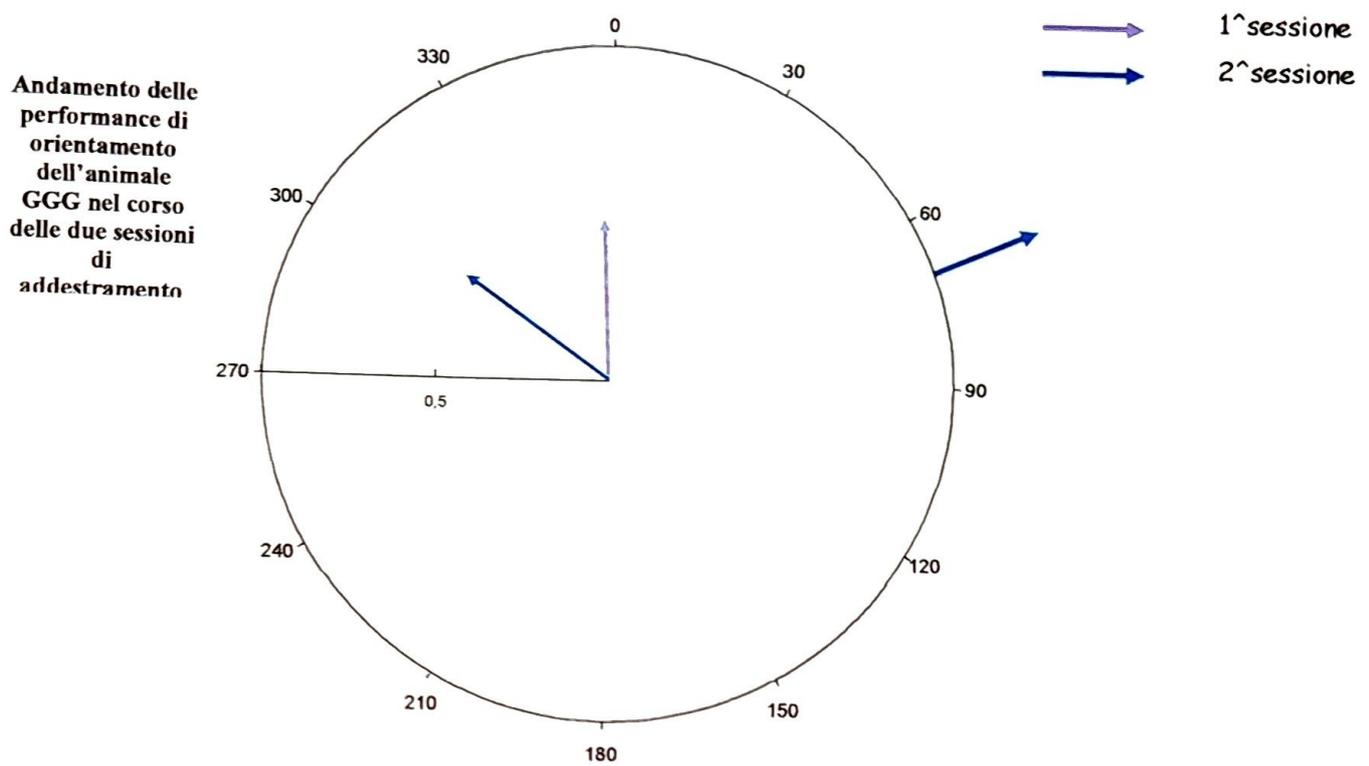
sessione	A	R	Z	P (Z)	U	P (U)	HC
1^a sessione	112°	0,5	2,4	P < 0,1	1,6	P < 0,1	0,45
2^a sessione	43°	0,7	3,5	P < 0,02	2,4	P < 0,01	0,6
3^a sessione	73°	0,9	6,7	P < 0,001	3,6	P < 0,0005	0,9

Fig. 34: VETTORI MEDI INDIVIDUALI NELLE TRE SESSIONI DELL'ESEMPIO POSITIVO BG.

In questa pagina vengono riportate le performance di orientamento di un animale che ha dimostrato di aver appreso in modo particolarmente evidente. In particolare, nel primo diagramma più grande sono riportati i tre vettori medi individuali di sessione, ognuno derivante dagli otto punti di svanimento di BG relativi ad una certa sessione; i diagrammi sottostanti, riferito ognuno ad una sessione, oltre a riportare il vettore medio individuale di sessione, riportano gli otto punti di svanimento di BG relativi a quella determinata sessione.

In tabella sono riportati i valori di R (lunghezza del vettore), α (grado di orientamento) e Homeward Component dell'animale BG in ciascuna sessione. Si noti come i vettori, passando dalla 1^a alla 3^a sessione, si allungino (da 0,5 a 0,9) e si orientino verso i 70° della meta (da 112° a 73°), e si osservi come l'HC aumenti da 0,45 a 0,9 nel corso dell'addestramento.

GGG : VETTORI MEDI INDIVIDUALI NELLE DUE SESSIONI (ESEMPIO NEGATIVO)



sessione	α	R	Z	P (Z)	U	P (U)	HC
1^ sessione	359°	0,5	2,2	P > 0,1	0,7	P > 0,1	0,1
2^ sessione	304°	0,5	2	P >> 0,1	-1,2	P >> 0,25	-0,3

Fig. 35: VETTORI MEDI INDIVIDUALI NELLE DUE SESSIONI DELL'ESEMPIO NEGATIVO GGG.

A scopo dimostrativo, in questa pagina vengono riportate le performance di orientamento di un animale che non ha appreso, mostrando un evidente peggioramento delle performance di orientamento nel corso dell'addestramento.

In particolare, nel primo diagramma più grande sono riportati i due vettori medi individuali di sessione, ognuno derivante dagli otto punti di svanimento di GGG relativi ad una certa sessione; i diagrammi sottostanti, riferito ognuno ad una sessione, oltre a riportare il vettore medio individuale di sessione, riportano gli otto punti di svanimento di GGG relativi a quella determinata sessione.

In tabella sono riportati i valori di R (lunghezza del vettore), α (grado di orientamento) e Homeward Component in ciascuna sessione.

Si noti come i vettori, passando dalla 1^ alla 2^ sessione, in questo caso non cambino lunghezza ma si orientino sempre più lontano dai 70° della meta.

7. BIBLIOGRAFIA

- Adler, K., and Phillips, J. B.** (1985). Orientation in a desert lizard (*Uma notata*): time-compensated compass movement and polarotaxis. *J. Comp. Physiol.*, Vol. **156**, pp. 547-52.
- Alcock J.** (2001) *Etologia: un approccio evolutivo*. Zanichelli. Pp. 5-7.
- Avery, R.** (1976). Thermoregulation, metabolism, and social behaviour in Lacertidae. *Morphology and Biology of Reptiles*. A. d'A. Bellairs and C. B. Cox. Academic Press, London. [pp. 245-259]
- Balda R. P. e Kamil A. C.** (1992) Long-term spatial memory in Clark's nutcracker, *Nucifraga columbiana*. *Anim. Behav.* **44**, pp. 761-769.
- Batschelet, E.** (1981). *Circular statistics in biology*. Academic Press, London.
- Benvenuti S e Fiaschi V.** (1983) Pigeon homing: combined effect of olfactory deprivation and visual impairment. *Comp. Biochem. Physiol.* **76A**, pp. 719-725.
- Beugnon G.** (1986) Learned orientation in landward swimming in the cricket *Pteronemobius lineolatus*. *Behav. Proc.* **12**, pp. 215-226.
- Beugnon G. e Campan R.** (1989) Homing in the field cricket *Gryllus campestris*. *Ins. Behav.* **2**, pp. 187-198.
- Bingman V. P. e Jones T. J.** (1994) Sun Compass-based Spatial Learning Impaired in Homing Pigeons with Hippocampal Lesions. Department of Psychology, Bowling Green State University, Bowling Green, Ohio.
- Campan R. e Beugnon G.** (1989) Spatial memories and cognition in insects. *Etologia* **1**, pp. 63-87.

- Campan R. e Scapini F.** (2005) *Etologia*. Zanichelli editore. Pp. 79-84; 86-92; 162-163; 172; 264-272.
- Cartwright B.A. e Collett T.S.** (1983) Landmark learning in bees. *Experiments and models*. *F. Comp. Physiol.* **151**, pp. 521-543.
- Chameron S., Schats B., Pastergue-Ruiz I., Beugnon G. e Collett T. S.** (1998) The learning of a sequence of visual patterns by the ant *Cataglyphis cursor*. *Proc. Roy. Soc. London B* **256**, pp.2309-2313.
- Chmurzynski J.A.** (1964). Spatial orientation in flying Hymenoptera. *Przegi. Zool.* **8**, pp. 119-137.
- Chmurzynski J.A.** (1967). On the role of relations between landmarks and the nest-hole in the proximate orientation of female *Bembex rostrata* (Linneus) Hymenoptera, Sphegidae. *Acta Biol. Exp.* **27**, pp. 221-254.
- Collett T. S.** (1996) Insect navigation en route to the goal: multiple strategies for the use of landmarks. *Exp. Biol.* **199**, pp. 227-235.
- Collett T. S., Fauria K., Dale K. E Baron J.** (1997) Place and patterns – a study of context learning in honeybees. *Comp. Physiol.* **181**, pp. 343-353.
- Collett T. S., Fry S. N. e Wehner R.** (1993) Sequence learning by honeybees. *Comp. Physiol.* **172**, pp. 693-706.
- D’Hooge, R., and De Deyn, P. P.** (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Review*, Vol. **36**, pp. 60-90.
- Fresneau D.** (1985) Individual foraging and path fidelity in a ponerine ant. *Insectes Sociaux* **32**, pp. 109-116.
- Frisch, K. Von, Lindauer, M., and Daumer, K.** (1960). On the perception of polarized light through bees’ eyes. *Experientia*, Vol. **16**, pp. 289-301.

Gagliardo A., Ioalè P., Odetti F., Bingman V. P. e Vallortigara G. (2000) Diverso ruolo della formazione ippocampale destra e sinistra nel comportamento di homing del colombo viaggiatore. Riass. 19° conv. S.I.E.. p 44.

Gagliardo A., Mazzotto M., Bingman V. P. (1996) Hippocampal lesion effects on learning strategies in homing pigeons. Dip. Scienze del Comportamento Animale e dell'Uomo, Pisa, Italy.

Hoffmann, K. (1954). Verruche su der im Richtungsfinden der Vögel enthaltenen Zeitschätzung. *Z. Tierpsychol*, Vol. 11, pp. 453-75.

Hoffmann, K. (1960). Experimental manipulation of the orientational clock in birds. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, Vol. 25, pp. 379-387.

Holtzman D. A., Harris T. W., Aranguren G. e Bostock E. (1998) Spatial learning of an escape task by young corn snakes, *Elaphe guttata guttata* . Dep. Of Brain and Cognitive Sciences, University of Rochester; Dep. Of Obstetrics and Ginecology, Washington University; Dep. Of Biology, University of Texas at Tyler; Dep. Of Obstetrics and Ginecology, University of Rochester.

Hoshooley J. S. e Sherry D. F. (2006) Greater Hippocampal Neuronal Recruitment in Food-Storing Than in Non-Food_storing Birds. Program in Neuroscience, Dep. Of Psychology, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada.

Immelmann K. (1988). Introduzione all'Etologia. Bollati Boringhieri. Pp. 125-127.

Ioalè P. (1980) Further investigations on the homing behaviour of pigeons subjected to reverse wind direction at the loft. *Moni. Zool. Ital.* 14, pp. 77-87.

Ioalè P., Nozzolini M. e Papi F. (1990) Homing pigeons do extract directional information from olfactory stimuli. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 26, pp. 301-305.

Irenäus Eibl-Eibesfeldt (1995). I Fondamenti dell'Etologia. Adelphi.

- Keeton W. T.** (1979) Avian orientation and navigation. *Ann. Rev. Physiol.* **41**, pp. 353-366.
- Koehler, O.** (1950). Die Analyse der Taxisanteile Instrinktartigen Verhaltens. *Symp. Soc. Exp. Biol. Cambridge*, Vol. **4**, pp. 269-302.
- Kramer, G.** (1952a). Experiments on bird orientation, *Ibis*, Vol. **94**, pp. 265-285.
- Kramer, G.** (1952b). Die Sonnenorientierung der Vogel. *Verh. Dt. Zool. Ges.*, pp. 72-84.
- Kramer, G.** (1957). Experiments on Birds Orientation and their Interpretation. *Ibis*, Vol. **96**, pp. 173-85.
- Kramer, G.** (1959). Recent experiments on Bird Orientation. *Ibis*, Vol. **101**, pp. 399-416.
- Lopez J. C., Gomez Y., Vargas J. P., Salas C.** (2003) Spatial reversal learning deficit after medial cortex lesion in turtles. Lab. De Psicobiologia, Universidad de Sevilla, Campus Santiago Ramon y Cajal, Spain; Dep. Of Psychology, Bowling Green State University, Bowling Green, USA.
- Macdonald I. M. V.** (1997) Field experiments on duration and precision of grey and red squirrel spatial memory. *Anim. Behav.* **54**, pp. 879-891.
- Mainardi D.** (1992) Dizionario di etologia. Einaudi. Pp. 50-51; 57-58.
- Morris, Richard.** (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Elsevier Science Publishers*.
- Papi F.** (1976) The olfactory navigation system of the homing pigeons. *Verhand. Deutschen Zool. Gesell.* **69**, pp. 184-205.
- Papi F.** (1986) Pigeon navigation: solved problems and open questions. *Monit. Zool. Ital.* **20**, pp. 471-517.

- Papi F.** (1989) Pigeons use olfactory cues to navigate. *Ecol. Ethol. Evol.* **1**, pp. 219-231.
- Papi F.** (1991) Olfactory navigation. In P. Berthold (a cura di) "Orientation in birds". Birkhauser, Basel.
- Papi, F.** (1992). Animal Homing. Chapter 6, *Reptiles*, (G. Chelazzi).
- Papi F.** (2000) La navigazione animale: divagazioni di fine secolo. Riass. 19° Conv. S.I.E., pp. 65-66.
- Papi F., Fiore L., Fiaschi V. e Benvenuti S.** (1972) Olfaction and homing in pigeons. *Monit. Zool. Ital. (N. S.)* **6**, pp. 85-95.
- Papi F., Keeton W. T., Brown A. I. e Benvenuti S.** (1978) Do American and Italian pigeons rely on different homing mechanisms? *Comp. Physiol.* **128**, pp. 303-317.
- Papi, F, and Pardi, L.** (1959). Nuovi reperti sull'orientamento lunare del *Talitrus saltator*. *Z. Vgl. Physiol.*, Vol. **41**, pp. 583-99.
- Pardi L. e Scapini F.** (1983) Inheritance of solar direction finding in sandhoppers : mass-crossing experiments. *Comp. Physiol.* **151**, pp. 435-440.
- Pastergue-Ruiz I. e Beugnon G.** (1994) Spatial sequential memory in the ant *Cataglyphis cursor*. In A. Lenoir, G. Arnold e M. Lepage (a cura di) "Les insects sociaux". Publ. Univ. Paris-Nord.
- Pavlov, I.P.** (1927). *Conditioned Reflex*. Oxford. Trad.it. (1940) *I riflessi condizionati*. Einaudi, Torino.
- Pough, Heiser, Mc Farland** (1993). *Biologia Evolutiva dei Vertebrati*. Milano, Casa Ambrosiana, pp. 566-575. [Termoregolazione ed ecologia e comportamento degli Squamati].
- Santschi, F.** (1911). Observations et remarques critiques sur le mécanisme de l'orientation chez les fourmis. *Rev. Suisse Zool.*, Vol. **19**, pp. 305-38.

Schmidt-Koenig K. (1987) Bird navigation: has olfactory orientation solved the problem? *Quart. Rev. Biol.* **62**, pp. 31-47.

Schöne, H. (1978). *Orientierung in Raum. Wiss, Verlagsonstalt, Stuttgart.*

Schrijver N. C. A., Pallier, P. N., Brown, V. J. , and Würbel, H. (2004). Double dissociation of social and environmental stimulation on spatial learning and reversal learning in rats. *Behavioural Brain Research*, Vol. **152**, pp. 307-314.

Sherry D. F. e Duff S. J. (1996) Behavioural and neural bases of orientation in food-storing birds. *Exp. Biol.* **199**, pp. 165-172.

Shettleworth S. J. (1990) Spatial memory in food-storing birds. *Phil. Trans. R. Soc. London B* **329**, pp. 143-151.

Thorpe W. H. (1963) *Learning and Instinct in Animals.* Methuen, London.

Tinbergen N., (1932). Über die Orientierung des Bienenwolfes (*Philantus triangulum* Fabr.). *Z. vergl. Physiol.* **16**, pp. 305-335.

Tinbergen, N. (1951). On the Stimulus Situation releasing the Begging response in the Newly-Hatched Herring Gull Chick (*Larus argentatus*). *Behaviour*, Vol. **3**, pp. 1-38.

Tinbergen N., (1951). *The study of Instinct.* Oxford University Press, New York. (1953) Trad. It. (1994) *Lo studio dell'istinto.* Adelphi, Milano.

Vander Wall S. B. (1982) An experimental analysis of cache recovery in Clark's nutcracker. *Anim. Behav.* **30**, pp. 84-94.

Vander Wall S. B. (1989) *Food Hoarding in Animals.* University of Chicago Press, Chicago.

Wallraff H. G. (1981) The olfactory component of pigeon navigation: steps of analysis. *Comp. Physiol.* **143**, pp. 411-422.

Wallraff H. G. (1988) Navigation mit Duftkarte und Sonnenkompass: das Heimfindevermogen der Brieftauben. *Naturwiss.* **75**, pp. 380-392.

Wallraff H. G. (1996) Seven these on pigeons homing deduced from empirical findings. *Exp. Biol.* **199**, pp. 105-111.

Wehner R. (1981) Spatial vision in arthropods. In H. Autrum (a cura di) "Handbook of Sensory Physiology. Vol VII/6C". Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Wehner R. (1998) Navigation in context: grand theories and basic mechanisms. *Avian Biol.*, **29**, pp. 370-386.

Wehner R., Michel B. e Antonsen P. (1996) Visual navigation in insects: coupling of egocentric and geocentric information. *Exp. Biol.* **199**, pp. 129-140.

Wiltschko R. (1996) The function of olfactory input in pigeons orientation: does it provide navigational information or play another role? *Exp. Biol.* **199**, pp. 113-119.

Wongwitdecha, N., and Marsden, C. A. (1995). Effects of social isolation rearing on learning in the Morris water maze. *Brain Research*, Vol. **715**, pp. 119-124.

8. INDICE DELLE FIGURE

Fig. 1 - Ratto all'interno di una Gabbia di Skinner.....	9
Fig. 2 - Ratto all'interno di un Morris Water-Maze.....	10
Fig. 3 - Comportamento spaziale delle api nell'esperimento di Nikolas Tinbergen.....	13
Fig. 4 - Nikolas Tinbergen (Nobel nel 1973), considerato tra i fondatori dell'etologia insieme a K.Lorenz e K.Von Frisch.....	13
Fig. 5 - A-Esperimento di Beugnon (1986); B snx-Esperimento di Wehner (1981); B dx-Esperimento di Beugnon & Campan (1989).....	16
Fig. 6 - Colombo viaggiatore (<i>Columbia livia</i>).....	18
Fig. 7 - Ipotesi della navigazione olfattiva nel piccione (Papi, 1972,1976,1986,1989,1991).....	18
Fig. 8 - Passero domestico (<i>Passer domesticus</i>).....	21
Fig. 9 - Cincia bigia americana (<i>Poecile atricapillus</i>).....	21
Fig. 10 - A-Serpente <i>Elaphe guttata guttata</i> ; B-Tartaruga <i>Pseudemys scripta</i>	22
Fig. 11 - Esemplare di lucertola campestre <i>Podarcis sicula</i>	24
Fig. 12 - Lucertole marcate con il codice a colori utilizzato (da snx a dx: BAB, AWA, BRB, GRG, BBB, BGB).....	26
Fig. 13 - Arena esagonale rappresentante una variante del Morris Water-Maze.....	27
Fig. 14 - Telone verde circondante la vasca; la sua funzione era nascondere agli animali qualsiasi eventuale reperi situato esternamente all'arena.....	28
Fig. 15 - Scatola di rilascio, nera per nascondere all'animale il paesaggio esterno durante il trasporto alla vasca.....	29
Fig. 16 - Retino, rappresentante la ricompensa con cui l'animale veniva prelevato dall'arena qualora raggiungesse la piattaforma.....	29
Fig. 17 - Teche con resistenza, finalizzate ad ambientare gli animali all'ambiente acquoso e a 30°C dell'arena in cui avrebbero dovuto effettuare i lanci.....	30
Fig. 18 - Rubinetti dell'acqua, utilizzati per abbassarne il livello nel caso in cui l'animale raggiungesse la piattaforma senza toccar prima altri punti dell'arena.....	31
Fig. 19 - Termometro a sonda, utilizzato per misurare le temperature di aria ed acqua.....	31
Fig. 20 - A-Bussola digitale; B-Telecamera digitale.....	32
Fig. 21 - Misurazione dell'acqua interna alla vasca prima del lancio.....	35
Fig. 22 - Misurazione della temperatura corporea superficiale dell'animale prima del lancio per mezzo del termometro a infrarossi.....	36

Fig. 23 - Sperimentatore che mescola l'acqua dell'arena per evitare il deposito della farina fossile.....	39
Fig. 24 - Fasi del pre-training.....	40
Fig. 25 - Fasi del training.....	41
Fig. 26 - Esempi di traiettorie osservate durante l'addestramento e relativi punteggi.....	44
Fig. 27 a, b - ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO: PUNTEGGI PER SESSIONE.....	59
Fig. 28 a, b - ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO: NUMERO DI INSUCCESSI PER SESSIONE.....	60
Fig. 29 a, b - ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO: VALORE DELL'HOMeward COMPONENT PER SESSIONE.....	61
Fig. 30 - ANDAMENTO MEDIA DI GRUPPO: LUNGHEZZA DEL VETTORE (R).....	62
Fig. 31 - GGG, UN ESEMPIO NEGATIVO.....	63
Fig. 32 - VETTORI DI GRUPPO: TRE SESSIONI DEL GRUPPO A.P.	64
Fig. 33 - VETTORI DI GRUPPO: DUE SESSIONI DEL GRUPPO A.B.	65
Fig. 34 - VETTORI MEDI INDIVIDUALI NELLE TRE SESSIONI DELL'ESEMPIO POSITIVO BG.....	66
Fig. 35 - VETTORI MEDI INDIVIDUALI NELLE DUE SESSIONI DELL'ESEMPIO NEGATIVO GGG.....	67