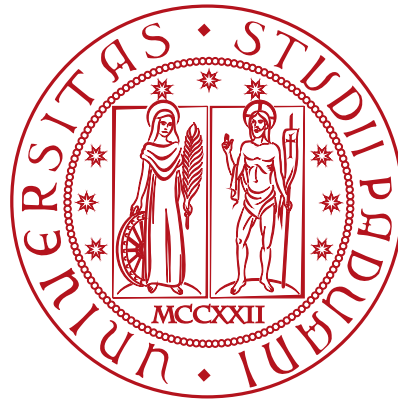


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

**DIPARTIMENTO DI FILOSOFIA, SOCIOLOGIA, PEDAGOGIA E PSICOLOGIA
APPLICATA**

Corso di Laurea in Scienze Psicologiche Sociali e del Lavoro



**Gli effetti della modulazione del livello di
lateralizzazione cerebrale nel pulcino di pollo
domestico (*Gallus gallus*) in compiti ordinali**

The effects of brain lateralization's modulation in newborn domestic
chicks (*Gallus gallus*) in ordinal tasks

Relatore: Prof.ssa Rosa Rugani

Dipartimento di Psicologia Generale

Laureanda: Martina Bianchini

Matricola: 1224338

Anno Accademico 2021/2022

Indice

Abstract

1. Introduzione

- 1.1 Abilità numeriche nell'uomo e in specie animali diverse da quella umana
- 1.2 L'associazione spazio-numerica in specie animali diverse da quella umana
- 1.3 La lateralizzazione del cervello aviario
- 1.4 Gli effetti dell'esposizione alla luce degli embrioni di pollo domestico (*Gallus gallus*)

2. Obiettivi

3. Materiali e metodi

- 3.1 Soggetti sperimentali
- 3.2 Condizioni di allevamento
- 3.3 Apparato sperimentale
- 3.4 Procedura sperimentale
 - 3.4.1 Shaping
 - 3.4.2 Pre-training
 - 3.4.3 Training
 - 3.4.4 Re-training
 - 3.4.5 Test sagittale
 - 3.4.6 Test fronto-parallelo

4. Risultati

- 4.1 Analisi delle variabili
- 4.2 Test sagittale
- 4.3 Test fronto-parallelo

5. Discussione

6. Conclusione

7. Contributo degli autori

8. Riferimenti bibliografici

ABSTRACT

Tra le specie che mostrano un'associazione spazio-numerica, il pulcino domestico (*Gallus gallus*) fornisce importanti evidenze a favore di un'associazione numerica orientata da sinistra a destra. I risultati di uno studio condotto da Rugani et al. (2016) hanno permesso di inferire l'esistenza di una correlazione tra il livello di lateralizzazione cerebrale e le performance numerico-ordinali-spaziali. Il grado di lateralizzazione del pulcino domestico può essere manipolato attraverso l'esposizione delle uova alla luce durante il periodo sensibile (Rogers, 1990) e per queste ragioni il pulcino di pollo domestico rappresenta un modello animale adatto allo studio delle abilità cognitive e, in particolare, dell'associazione spazio-numerica.

L'obiettivo di questo lavoro di tesi, inserito all'interno di un progetto di ricerca condotto dal Dipartimento di Psicologia Generale dell'Università di Padova, è quello di indagare le modalità con cui l'esposizione a stimoli luminosi durante il periodo sensibile di incubazione influenza l'associazione spazio-numerica in compiti ordinali. In particolare, questo studio si concentra sulle differenze nelle prestazioni tra soggetti fortemente lateralizzati (pulcini di luce) e soggetti debolmente lateralizzati (pulcini di buio) con l'obiettivo di verificare se la dominanza dell'emisfero destro nei compiti visuo-spaziali sia presente in soggetti scarsamente lateralizzati. Si è ipotizzata l'esistenza di un bias alterato nel test binoculare fronto-parallelo per quei soggetti non esposti ad uno stimolo luminoso durante il periodo sensibile di incubazione rispetto al bias sinistro esibito dai soggetti fortemente lateralizzati.

Basandosi sulle conoscenze possedute, sono attese prestazioni migliori da parte dei pulcini con un grado maggiore di lateralizzazione.

Il paradigma sperimentale utilizzato per verificare le ipotesi prevede che ai soggetti (48 pulcini di pollo domestico di sesso maschile) venga insegnato a beccare il quarto elemento in una serie di dieci elementi tramite rinforzi di tipo alimentare (*Tenebrio molitor larvae*). La procedura sperimentale si compone di tre fasi principali: pretraining, training e test (sagittale e fronto-parallelo). Ogni test è composto da venti prove e ogni prova può considerarsi conclusa quando il soggetto seleziona uno degli elementi della serie.

I risultati hanno confermato le ipotesi evidenziando che i soggetti fortemente lateralizzati presentano performance migliori rispetto al gruppo di soggetti debolmente lateralizzati in entrambi i test (sagittale e fronto-parallelo). Questa evidenza trova una spiegazione nell'analisi dei vantaggi a cui la lateralizzazione porta: offre un processamento parallelo e simultaneo più efficiente (Deacon, 1997) ed evita la duplicazione dell'elaborazione delle informazioni nei due emisferi cerebrali (Levy, 1997).

1. INTRODUZIONE

1.1 Abilità numeriche nell'uomo e in specie animali diverse da quella umana

Con il nuovo millennio si è assistito ad un notevole incremento negli studi delle abilità numeriche in soggetti non-verbali, come neonati, infanti e specie animali diverse dall'uomo (Dehaene, 1997; Gallistel e Gelman, 1992; Hauser e Spelke, 2004). Un'abilità numerica di base consiste nella discriminazione tra numerosità. Questa richiede la capacità di riconoscere le differenze di quantità tra due insiemi di oggetti, vale a dire essere in grado di riconoscere relazioni come "maggiore di" o "minore di" (Davis e Pérusse, 1988). Tale abilità è alla base dell'efficienza di strategie di ricerca del cibo in molte specie animali, compreso l'uomo. Ad esempio, diversi studi hanno rilevato che le salamandre (*Plethodon cinereus*) e gli infanti a partire dai 10 mesi di età mostrano sempre la tendenza a scegliere, tra due insiemi, quello che assicura la massimizzazione del guadagno energetico quando si tratta di discriminare tra uno e due e tra due e tre pezzi di cibo (Uller, Jaeger e Guidry, 2003; Feigenson, Carey e Hauser, 2002; Wynn, 1992). Questa tendenza non si rileva nella condizione 3vs.4: questo sembrerebbe rappresentare un limite comune nella capacità di discriminazione tra quantità diverse nelle salamandre e negli infanti di 10 mesi. Questi risultati evidenziano la presenza, in questi soggetti, di una capacità a discriminare tra differenti numerosità. Questa capacità viene chiamata ordinalità ed è stata empiricamente rilevata in infanti a partire da 11 mesi di età, così come in specie animali diverse dall'uomo: scimmie *Rhesus*, babbuini (*Papio hamadryas*), scimmie Saimiri (Squirrel Monkeys) e scimmie Cappuccino (*Cebus capucinus*). Esemplari di queste specie, addestrati a discriminare i numeri tra 1 e 4, sono poi risultati abili anche nella discriminazione dei numeri tra 5 e 9, dimostrando la capacità di generalizzare la regola di ordinalità appresa (Brannon e Terrace, 1998, 2000; Smith, Piel e Candland, 2003; Judge, Evans e Vyas, 2005).

Una diversa ma altrettanto fondamentale abilità numerica è la capacità di riconoscere un elemento target in base alla sua posizione in una serie di elementi identici tra loro. Più recentemente sono stati condotti studi sulle abilità di riconoscimento di un target tramite l'ordinalità, in base alla sua posizione in una serie di elementi identici tra loro, con esemplari di *Gallus gallus*. In una serie di

esperimenti condotti da Rugani, Regolin e Vallortigara (2007), l'abilità dei pulcini di pollo domestico di identificare un elemento target sulla base della sua posizione in una serie di elementi è stata inizialmente investigata insegnando ai pulcini a beccare un elemento target in una serie di 10 elementi identici ed equidistanti tra loro. I pulcini sono stati suddivisi in due gruppi sperimentali: per il primo gruppo l'elemento target occupava la terza posizione nella serie, mentre per il secondo gruppo l'elemento target era rappresentato dal quarto elemento. Dai risultati di questo primo studio emerge che i soggetti beccano l'elemento target in maniera significativamente superiore al caso. Tuttavia, l'esperimento così costruito presenta un limite: non è possibile dire con certezza che i risultati siano dovuti alle abilità numeriche dei pulcini. Questi, infatti, potrebbero essersi basati su altri tipi di informazioni, in particolare su informazioni spaziali. Per superare questo limite, sono stati realizzati dagli autori altri esperimenti in cui le informazioni spaziali non risultassero più rilevanti. Ai pulcini venne chiesto di beccare sempre il quarto elemento in una serie di dieci, ma questa volta, in fase di test, la sequenza di elementi veniva ruotata di 90° rispetto a quella esperita durante la fase di training oppure lo spazio tra i vari elementi veniva manipolato durante il test. Questo tipo di manipolazione tra la fase di training e la fase di test crea un conflitto tra informazione spaziale e informazione numerica. Ciò ha permesso di confermare empiricamente l'ipotesi secondo cui i pulcini *Gallus gallus* utilizzano abilità ordinali per riconoscere un elemento target in base alla sua posizione in una serie numerica.

1.2 L'associazione spazio-numerica in specie animali diverse da quella umana

Nel XIX secolo, Sir Francis Galton ipotizzò l'esistenza di una Linea Numerica Mentale (*Mental Number Line*, MNL), tipicamente orientata da sinistra a destra, che gli esseri umani utilizzano per rappresentare mentalmente i numeri e le serie numeriche (Galton, 1880). Lungo questo continuum, gli esseri umani tendono a "posizionare" numeri più piccoli sulla sinistra e numeri maggiori sulla destra. Nel 1993, Stanislas Dehaene e colleghi hanno dimostrato che, in condizioni sperimentali, gli esseri umani adulti rispondevano in maniera più rapida a numeri piccoli se questi venivano presentati nell'emicampo visivo sinistro. Allo stesso

modo, i tempi di risposta erano ridotti per stimoli rappresentanti numerosità elevate quando questi erano presentati nell'emicampo visivo destro. Questi risultati portarono gli studiosi a teorizzare l'esistenza di un'associazione tra la rappresentazione dello spazio e la rappresentazione numerica nell'essere umano. La tendenza ad associare numerosità piccole con la sinistra e numerosità elevate con la destra è stata definita effetto SNARC (*Spatial Numerical Association of Response Code*, Dehaene, Bossini e Giraux, 1993). Inizialmente, si riteneva che la MNL avesse origini unicamente culturali, che dipendesse cioè da una serie di input ambientali culturalmente rilevanti, come imparare a leggere da sinistra a destra nelle culture occidentali (Shaki, Fischer e Petrusic, 2009). Tuttavia, un numero sempre maggiore (e ancora in crescita) di studi ha portato elementi a supporto di un'origine filogenetica della MNL. Infatti, si è rilevato empiricamente che un'associazione spazio-numerica è presente anche in infanti e neonati e, addirittura, questa tendenza è stata individuata in altre specie animali oltre all'uomo (Rugani e de Hevia, 2017). In una serie di esperimenti, a pulcini di pollo domestico (*Gallus gallus*), ad esemplari adulti di *Nucifraga columbiana* e a scimmie adulte venne insegnato a identificare un elemento target in una serie di elementi identici tra loro (ad esempio il quarto elemento in una serie di dieci) orientata lungo l'asse sagittale rispetto alla posizione iniziale dei soggetti (Rugani, Kelly, Szelest, Regolin e Vallortigara, 2010; Drucker e Brannon, 2014). Quando, nella fase di test, venivano posti di fronte alla medesima sequenza ma ruotata di 90°, i soggetti sceglievano in maniera significativamente superiore al caso il quarto elemento a partire da sinistra, ignorando il quarto elemento a partire da destra. In un altro disegno sperimentale, a esemplari di *Gallus gallus* appena nati veniva insegnato a circumnavigare un pannello raffigurante uno stimolo numerico (5 pallini). Durante la fase di test, i pulcini venivano posti di fronte a due pannelli identici, raffiguranti uno stesso stimolo numerico: quando i pannelli raffiguravano una numerosità minore (ad esempio 2 pallini) i pulcini aggiravano il pannello di sinistra, mentre nella condizione in cui i pannelli raffiguravano una numerosità maggiore (ad esempio 8 pallini), i pulcini mostravano una consistente preferenza per il pannello di destra (Rugani, Vallortigara, Priftis e Regolin, 2015). Dall'esperimento non risulta nessuna preferenza nel caso della condizione di

controllo in cui, nel test, venivano presentati pannelli rappresentanti 5 pallini (stimolo identico a quello della fase di training). Un altro paradigma sperimentale (Adachi, 2014), questa volta con esemplari adulti di scimpanzè, era così strutturato: su uno schermo venivano presentati, in ordine casuale, i numeri da 1 a 9 (numeri arabi). Ai soggetti veniva insegnato a toccare i numeri in ordine crescente. Nella fase di test, solo i due estremi della serie numerica (1 e 9) venivano mostrati sullo schermo, posizionati lungo una linea orizzontale. Il tempo di risposta degli scimpanzè risultò mediamente inferiore nella condizione sinistra-destra, ovvero nella condizione in cui il numero 1 era posizionato nella parte sinistra dello schermo e il numero 9 nella parte opposta, rispetto alla condizione destra-sinistra (9_1).

Questi studi hanno permesso di confutare la teoria secondo cui la MNL avesse origini culturali in quanto ne hanno dimostrato l'esistenza in infanti e specie animali diverse da quella umana, che evidentemente non possono essere soggetti ad influenze culturali.

1.3 La lateralizzazione del cervello aviario

L'asimmetria funzionale del cervello, in passato ritenuta prerogativa dell'essere umano, è attualmente considerata una caratteristica comune a numerose specie di vertebrati (Vallortigara, Rogers e Bisazza, 1999). La vasta diffusione interspecie della cosiddetta lateralizzazione cerebrale ha reso questo argomento di interesse scientifico, in quanto si è ritenuto che la sua diffusione dovesse essere una conseguenza del fatto che porta con sé una serie di vantaggi.

Al fine di analizzare la relazione tra il livello di lateralizzazione cerebrale e il grado di successo in compiti di discriminazione visiva di una fonte di cibo, sono stati studiati 108 esemplari di piccione adulto (Rogers, 1996; Güntürkün, 1997). I soggetti venivano valutati in un compito di discriminazione tra un chicco di cereale e un granello di sabbia molto simili dal punto di vista del colore e della dimensione (*grain-grit discrimination*). La fase di test prevedeva tre condizioni differenti: visione binoculare, visione monoculare sinistra e visione monoculare destra. La prestazione nella condizione di visione binoculare è risultata generalmente superiore rispetto alla condizione di visione monoculare. Il risultato interessante di questo studio è che nel 65% dei soggetti è stato possibile riconoscere una

percentuale di successi significativamente maggiore nella condizione di visione monoculare destra rispetto a quella di visione monoculare sinistra. Questa differenza nei livelli di performance tra occhio destro e occhio sinistro è stata considerata una misura del livello di lateralizzazione visiva. La superiorità dell'occhio destro, rilevata in più della metà dei piccioni studiati, riflette una dominanza dell'emisfero sinistro per quanto riguarda i compiti di riconoscimento o discriminazione visiva di oggetti. Durante il compito (e in generale durante la ricerca di cibo) gli input visivi provenienti dall'intero campo visivo (emicampo destro e sinistro) venivano processati indifferentemente dall'emisfero sinistro (Güntürkün e Kesch, 1987).

Un esperimento simile è stato condotto con pulcini di pollo domestico (Rugani, Vallortigara e Regolin, 2016). Tale studio è stato realizzato attraverso l'impiego di un paradigma sperimentale già utilizzato in precedenza per studiare l'associazione spazio-numerica (Rugani *et al.*, 2007; Rugani *et al.*, 2010; Drucker e Brannon, 2014). I soggetti sono stati addestrati a beccare il quarto elemento (elemento target) in una serie di dieci elementi uguali, equidistanti tra loro e disposti secondo un orientamento sagittale rispetto al punto di partenza. A seguito di una fase di training, i soggetti sono stati testati con due tipologie di test: sagittale e fronto-parallelo. La seconda tipologia di test è stata a sua volta condotta in due diverse condizioni di visione: monoculare destra e monoculare sinistra. La visione monoculare in questo esperimento è stata ottenuta attraverso l'impiego di una semplice benda di tessuto removibile che andava a coprire rispettivamente l'occhio sinistro o l'occhio destro.

Attraverso i test monoculari condotti con i piccioni domestici e con i pulcini di pollo domestico (*Gallus gallus*), è stato possibile analizzare il funzionamento dell'emisfero controlaterale, responsabile dell'elaborazione degli input visivi che raggiungono l'occhio in uso (Deng e Rogers, 1998). Il fatto che sia l'emisfero controlaterale ad elaborare le informazioni visive è dovuto al fatto che il cervello aviario presenta una completa decussazione delle fibre del chiasma ottico (Csillag e Montagnese, 2005). L'informazione visiva, una volta entrata nell'emisfero in cui viene processata, rimane per lo più confinata entro quell'emisfero a causa dell'assenza del corpo calloso nel cervello degli uccelli. Il

corpo calloso è la commessura inter-emisferica principale nei mammiferi, in grado di favorire la comunicazione e la coordinazione tra gli emisferi. Nonostante gli uccelli non possiedano una struttura che possa definirsi omologa al corpo calloso dei mammiferi, è possibile trovare altre tipologie di commessure nel cervello aviario come la commessura anteriore, la commessura tettale, la commessura ippocampale e la commessura posteriore (Rugani e Regolin, 2021). Tuttavia, esse non raggiungono i livelli di importanza ed efficienza propri del corpo calloso. Tale mancanza impedisce una rapida ed efficiente comunicazione inter-emisferica. A tal proposito, è d'interesse notare che il comportamento dei pulcini testati in condizione di visione binoculare risulta identico a quello dei pulcini testati in condizione di visione monoculare sinistra. Questo deriva dalla dominanza dell'emisfero destro per questo specifico processo cognitivo e suggerisce che il bias a sinistra sia dovuto proprio a questa dominanza emisferica.

1.4 Gli effetti dell'esposizione alla luce degli embrioni di pollo domestico (*Gallus gallus*)

La particolare struttura del cervello aviario di cui sopra (si veda capitolo 1.3) rende possibile lo studio delle funzioni svolte da ciascun emisfero attraverso tecniche di occlusione temporanea di un occhio. Le tecniche di visione monoculare permettono di confinare l'elaborazione delle informazioni visive all'emisfero controlaterale rispetto all'occhio in uso. I risultati di diversi studi svolti attraverso l'impiego di test monoculari hanno dimostrato che l'emisfero destro sembra essere maggiormente coinvolto in molti aspetti riguardanti la cognizione dello spazio (Rashid e Andrew, 1989; Vallortigara, Regolin, Bortolomiol e Tommasi, 1996; Tommasi e Vallortigara, 2001; Tommasi, Gagliardo, Andrew e Vallortigara, 2003). Tali asimmetrie comportamentali sono state associate ad asimmetrie neuroanatomiche dovute all'esposizione del solo occhio destro a stimoli luminosi durante le ultime fasi di sviluppo dell'embrione prima della schiusa. A partire dal diciassettesimo giorno di incubazione, infatti, gli embrioni di pollo domestico (*Gallus gallus*) si piegano in avanti e tengono la testa ruotata verso destra. Questa posizione fa sì che l'occhio destro sia esposto alla luce che passa attraverso il guscio traslucido dell'uovo, mentre l'occhio sinistro non viene

esposto alla luce in quanto coperto dal corpo dell'embrione. Tutto ciò si traduce in una maggiore stimolazione luminosa dell'occhio destro che determina una lateralizzazione visiva a favore dell'emisfero sinistro in compiti di discriminazione visuospatiale. L'esposizione alla luce in fase prenatale innesca il processo di lateralizzazione del sistema visivo, determinandone uno sviluppo particolare: l'esposizione dell'occhio destro a stimoli luminosi determina un aumento delle connessioni neurali tra la parte sinistra del talamo e la regione di Wulst, atta alla visione stereoscopica. Di conseguenza, una qualsiasi manipolazione di questa condizione di sviluppo interferisce con la naturale asimmetria del sistema visivo in questa specie. Proprio questo ultimo aspetto rende il pollo domestico un modello animale particolarmente utile per gli studi sul legame tra lateralizzazione ed abilità numerico-spaziali. Il grado di lateralizzazione cerebrale, infatti, può essere manipolato privando le uova dell'esposizione a stimoli luminosi durante gli ultimi giorni di incubazione.

In uno studio sugli effetti dell'esposizione alla luce degli embrioni di pollo domestico (*Gallus gallus*), Chiandetti, Regolin, Rogers e Vallortigara (2005) hanno addestrato 458 esemplari di questa specie a beccare dei piccoli coni per ottenere una ricompensa alimentare. I soggetti erano stati precedentemente esposti alla luce vs. buio. Un gruppo, composto da metà dei soggetti, era stato esposto alla luce a partire dal diciottesimo giorno di incubazione e fino alla schiusa delle uova (*L-chicks*, pulcini incubati alla luce). Il secondo gruppo, al contrario, non ha ricevuto alcuna stimolazione luminosa durante gli ultimi giorni di incubazione (*D-chicks*, pulcini incubati al buio). I coni utilizzati durante la fase di training avevano motivi differenti (a quadretti o a righe) ed erano posizionati nella parte sinistra o in quella destra di un'arena rettangolare. In questo modo i pulcini avrebbero potuto utilizzare sia le informazioni relative al motivo disegnato sui coni, sia informazioni spaziali determinate dalla loro posizione all'interno dell'arena per scegliere il cono target, ossia quello contenente la ricompensa alimentare. Durante la fase di test la posizione dei coni veniva modificata in modo che le informazioni relative al motivo e alla posizione fossero contraddittorie tra loro. I pulcini incubati al buio e testati in condizione monoculare mostravano la tendenza a scegliere il cono sulla base del motivo e non della posizione, mentre

i pulcini incubati alla luce non mostravano un chiaro pattern di scelta nella medesima condizione di test. Questi risultati mostrano che l'esposizione a stimoli luminosi durante la fase embrionale fa sì che i pulcini, in questo tipo di compiti, utilizzino entrambi i tipi di informazioni disponibili (spaziali e oggettuali) perché anche l'emisfero non direttamente stimolato è in grado di influenzare il comportamento del pulcino.

2. OBIETTIVI

Il pulcino domestico (*Gallus gallus*) fornisce importanti evidenze a favore di un'associazione numerica orientata da sinistra a destra. È stato ipotizzato che questa associazione possa essere collegata alla dominanza dell'emisfero destro (Rugani *et al.* 2011). Nello studio condotto da Rugani e colleghi (2016) i risultati permettono di inferire che la lateralizzazione cerebrale può impattare le performance numerico-ordinali-spaziali e l'associazione spazio-numerica. Data la facilità con cui è possibile manipolare il grado di lateralizzazione del pulcino di pollo domestico attraverso l'esposizione delle uova alla luce durante il periodo sensibile di incubazione (Rogers 1990), questa specie rappresenta un ottimo modello animale per studiare le abilità cognitive e l'associazione spazio-numerica. Per queste ragioni esemplari di *Gallus gallus* sono stati scelti per la realizzazione del presente studio.

L'obiettivo dell'elaborato di tesi è quello di indagare l'eventuale presenza o assenza del *bias* sinistro nei pulcini incubati al buio (debolmente lateralizzati). L'ipotesi di questa ricerca si basa sul fatto che ricevere una stimolazione luminosa durante il periodo sensibile di incubazione (a partire dal 18° giorno) porta alla lateralizzazione di alcune importanti funzioni visive e all'asimmetria strutturale del sistema visivo talamofugale nel pulcino di pollo domestico (Rogers e Deng, 1999). All'interno dell'uovo, l'embrione si orienta in modo tale che la fonte di luce raggiunga solo l'occhio destro. A causa della posizione che l'embrione mantiene durante il periodo sensibile di incubazione, infatti, l'occhio sinistro, essendo coperto dal corpo del pulcino, non riceve alcuno stimolo luminoso (Rogers, 1990). Dal momento che ciascun occhio proietta le informazioni che riceve quasi unicamente al sistema visivo controlaterale, si può assumere che solo l'emisfero sinistro può essere influenzato dalla luce che entra nell'uovo

attraverso il guscio traslucido (Deng e Rogers, 1998). È importante notare che l'influenza che la luce esercita sull'occhio destro permette lo sviluppo di un maggior numero di proiezioni visive che, partendo dall'OPT sinistro (*nucleus opticus principalis thalami*), raggiungono il prosencefalo controlaterale (destro). È quindi possibile affermare che, grazie allo sviluppo di un'asimmetria strutturale, la stimolazione luminosa prenatale è in grado di raggiungere e influenzare l'emisfero cerebrale destro e questo porta alla manifestazione di un naturale *bias* sinistro nei compiti di associazione spazio-numerica. Ulteriori studi hanno dimostrato che l'asimmetria strutturale del sistema visivo talamofugale non si sviluppa nei pulcini incubati in condizione di totale assenza di luce. Basandosi sull'evidenza di una strutturale e funzionale differenza tra i pulcini incubati alla luce e i pulcini incubati al buio, il presente studio è stato condotto con l'aspettativa di ottenere un *bias* opposto nel test fronto-parallelo da parte del gruppo dei pulcini debolmente lateralizzati (pulcini di buio). Inoltre, a partire dalle informazioni possedute, sono attese migliori prestazioni da parte dei pulcini fortemente lateralizzati.

3. MATERIALI E METODI

Tutte le procedure sperimentali sono conformi alle direttive nazionali ed europee per quanto riguarda l'impiego degli animali per la ricerca e sono state approvate dal Comitato per il Benessere degli Animali dell'Università di Padova, dal Comitato Etico di Ateneo per la Sperimentazione Animale dell'Università di Padova e dal Ministero della salute della Repubblica italiana.

3.1 Soggetti sperimentali

I soggetti sperimentali impiegati per questo studio sono 48 pulcini di pollo domestico (*Gallus gallus*) di sesso maschile, 24 per ogni gruppo sperimentale. È stato utilizzato il pulcino di pollo domestico in quanto le sofisticate abilità visive e motorie di questa specie animale già sviluppate subito dopo la schiusa lo rendono un eccellente modello per lo studio delle abilità cognitive e della lateralizzazione cerebrale (Andrew, 1991; Vallortigara *et al.*, 1999). La scelta di utilizzare unicamente soggetti di sesso maschile è conseguenza del paradigma sperimentale stesso. Il paradigma sperimentale dello studio prevede infatti

l'utilizzo di rinforzi di tipo alimentare (*Tenebrio molitor larvae*) e i soggetti di sesso maschile di *Gallus gallus* sono più motivati nella ricerca di cibo rispetto a soggetti di sesso femminile della stessa specie (Vallortigara, Cailotto e Zanforlin, 1990; Regolin *et al.*, 2005). Inoltre, il grado di asimmetria strutturale del sistema visivo talamofugale è maggiore nei pulcini *Gallus gallus* maschio (Rogers, 1991).

Il disegno sperimentale prevede l'impiego di due gruppi sperimentali: un gruppo formato da 24 soggetti fortemente lateralizzati e un gruppo formato da 24 soggetti debolmente lateralizzati. Il grado di lateralizzazione cerebrale è stato manipolato attraverso l'esposizione o la non esposizione delle uova alla luce durante gli ultimi giorni di incubazione (dal diciottesimo al ventunesimo). Per ottenere soggetti fortemente lateralizzati le uova sono state incubate alla luce, in quanto la stimolazione luminosa durante il periodo sensibile di incubazione porta allo sviluppo della normale asimmetria cerebrale nel pulcino di pollo domestico (Rogers, 1982). I soggetti debolmente lateralizzati, invece, sono stati ottenuti incubando le uova in condizione di buio.

3.2 Condizioni di allevamento

Le uova, al quattordicesimo giorno di incubazione, venivano consegnate presso il laboratorio del Dipartimento di Psicologia Generale durante la giornata di lunedì. Al momento del loro arrivo le uova venivano poste all'interno dell'incubatrice MG 70/100 in condizione di totale assenza di luce. All'interno dell'incubatrice la temperatura e il livello di umidità erano mantenuti costanti, rispettivamente 36-38 °C e 50-60%. Il giovedì della stessa settimana le uova, che avevano ormai raggiunto il diciottesimo giorno di incubazione, venivano spostate all'interno di una schiuditrice (*hatching machine*) in cui rimanevano fino al giorno della schiusa, corrispondente al ventunesimo giorno di incubazione. All'inizio della fase di cova i soggetti venivano suddivisi in maniera casuale in due gruppi sperimentali: metà delle uova (N=24) veniva esposta ad una fonte di luce proveniente da una lampadina esterna, mentre l'altra metà (N=24) era privata di ogni fonte di luce e mantenuta quindi in una condizione di completa oscurità.

Il lunedì successivo avveniva la schiusa delle uova. I pulcini venivano posizionati in gruppi di due all'interno di apposite gabbie di metallo (28 x 40 x 32 cm; larghezza, profondità, altezza) a livelli costanti e controllati di umidità (68%) e

temperatura (28-31°C). In questa fase cibo e acqua erano sempre disponibili all'interno di vasetti di vetro trasparenti posizionati agli angoli della gabbia. Successivamente, tra una fase sperimentale e la successiva, al pulcino non veniva fornito cibo liberamente, mentre l'acqua era sempre disponibile durante tutto il periodo di osservazioni sperimentali. Tre volte al giorno i pulcini venivano nutriti con piccoli vermi (*Tenebrio molitor larvae*). Era necessario che i pulcini imparassero a mangiare i vermi in quanto questi sarebbero poi stati utilizzati come rinforzo nelle fasi di shaping e training e come ricompensa nella fase di test. I pulcini venivano allevati in queste condizioni dal martedì mattina (9:00) al mercoledì mattina (8:30), quando ogni pulcino veniva posizionato individualmente all'interno di una nuova gabbia e deprivato del cibo. Alle ore 10:00 del mercoledì ogni pulcino veniva sottoposto alla fase di shaping e, successivamente, riposizionato all'interno di una gabbia pulita con una quantità di cibo ridotta ma sufficiente per la notte. La deprivazione del cibo è necessaria per motivare i soggetti nella ricerca di cibo durante le fasi successive (Regolin *et al.*, 2005).

La mattina seguente (giovedì) alle 8:30 i pulcini venivano nuovamente deprivati del cibo. Dopo un'ora e mezza poteva iniziare la fase di pre-training, immediatamente seguita dalla fase di training. Prima di poter accedere alla fase di test, ogni pulcino doveva attendere un'ora nella sua gabbia, sempre deprivato del cibo, in modo da essere attivo e motivato durante il test. I test (sagittale e fronto-parallelo) venivano effettuati tra il giovedì e il venerdì ed erano sempre preceduti da una fase di re-training.

Il venerdì, al termine di tutte le osservazioni comportamentali, i pulcini venivano posizionati in gruppi di due o tre all'interno delle gabbie con cibo e acqua a disposizione. Alcune ore dopo, tutti i pulcini venivano donati ad allevatori locali.

3.3 Apparato sperimentale

Tutte le fasi sperimentali (shaping, pre-training, training, re-training, test sagittale e test fronto-parallelo) si svolgevano in una stanza dedicata in cui la temperatura veniva mantenuta costante a 25 °C e l'umidità era del 70%.

L'apparato sperimentale consisteva di un'arena di forma quadrata (100cm x 100cm x 40cm) realizzata in polipropilene verde scuro e il cui fondo era ricoperto

in maniera omogenea con della segatura (**Figura 1a, b**). Al centro di due pareti opposte si trovavano due aperture (7cm x 11cm), ognuna delle quali permetteva di collegare l'arena con uno *starting box* (15,5cm x 15,5cm x 10cm) realizzato con lo stesso materiale dell'apparato e situato al di fuori di esso. Un pannello di polipropilene (10cm x 17cm) chiudeva il passaggio tra lo *starting box* e l'arena; solo all'occorrenza veniva sollevato per alcuni secondi dallo sperimentatore per permettere al pulcino l'accesso all'apparato.

Al centro dell'arena si trovava una serie di dieci elementi identici ed equidistanti tra loro: piccoli contenitori di plastica rossa del diametro di 3cm, ognuno riempito con della segatura in modo da apparire tutti uguali. Solo il quarto elemento, denominato *elemento target*, nascondeva un rinforzo alimentare (*Tenebrio molitor larvae*). Il rinforzo alimentare era presente in ogni prova durante le fasi di shaping, pre-training, training e re-training. Per quanto riguarda i test, invece, solo alcune prove prestabilite prevedevano una ricompensa alimentare. Durante tutte le fasi sperimentali la distanza tra un elemento e il successivo era mantenuta invariata (1,5cm) così che la lunghezza dell'intera serie misurasse sempre 40,5cm. Nella condizione di orientamento sagittale (fasi di shaping, pre-training, training, re-training e test sagittale), il primo elemento della serie distava 39cm dalla porta e 50cm dalle pareti laterali (**Figura 1a**). Durante la fase di test fronto-parallelo (**Figura 1b**), la serie veniva ruotata di 90° in modo da essere orientata fronto-parallelamente rispetto al punto di partenza e veniva posta a una distanza di 50cm dalla porta. Il primo (L1) e l'ultimo (R1) elemento della serie distavano ognuno 30cm dalle pareti laterali dell'apparato.

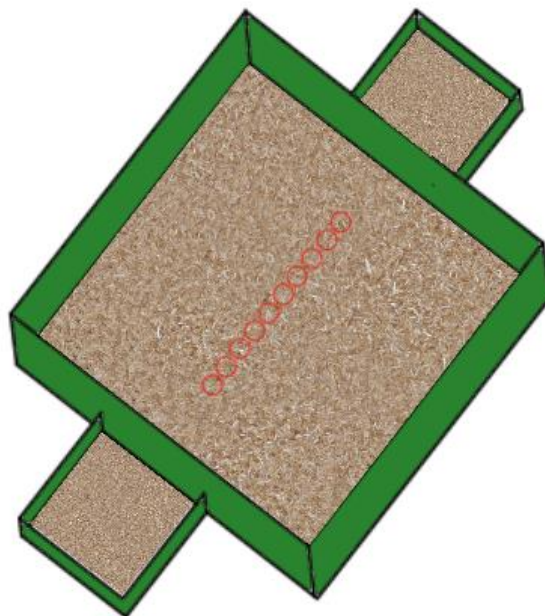


Figura 1 a

Rappresentazione grafica dell'apparato sperimentale impiegato con la serie di elementi orientata sagittalmente

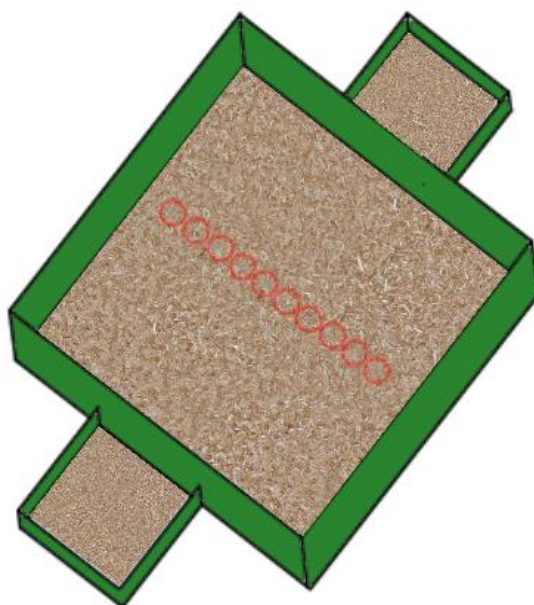


Figura 1 b

Rappresentazione grafica dell'apparato sperimentale impiegato con la serie di elementi orientata fronto-parallelamente.

3.4 Procedura sperimentale

3.4.1 Shaping

La vera e propria procedura sperimentale iniziava il mercoledì mattina alle 10:00 con la fase di *shaping*. Essa consisteva nell'abituare il pulcino all'apparato sperimentale descritto in precedenza. Il soggetto era inizialmente posizionato nello *starting box* e da qui accedeva all'arena tramite l'apertura della porta da parte dello sperimentatore attraverso un filo di nylon attaccato ad essa. La fase di *shaping* si componeva di due fasi di dieci minuti ciascuna, intervallate da un periodo di riposo di circa trenta minuti in cui il pulcino veniva riposizionato nella gabbia di metallo in assenza di cibo. Questa prima fase sperimentale rappresentava il momento in cui al pulcino veniva insegnato a beccare il quarto elemento (*elemento target*) nella serie di dieci elementi identici. Affinché l'apprendimento avvenisse, il verme, presente solo in corrispondenza dell'*elemento target*, era inizialmente visibile, non coperto dalla segatura e facilmente raggiungibile dal pulcino. Non appena il pulcino beccava uno degli elementi della serie, veniva riposizionato nello *starting box* e dopo pochi secondi la porta veniva aperta e una nuova prova poteva iniziare. Nel corso delle diverse prove della fase di *shaping*, il verme veniva progressivamente coperto con la segatura, fino ad essere completamente nascosto e quindi non visibile. Con il verme nascosto il pulcino era obbligato a scavare nel piccolo contenitore al fine di raggiungere il cibo. In questo modo, solamente le risposte corrette del pulcino (beccare nell'*elemento target*) venivano rinforzate attraverso la ricompensa alimentare.

3.4.2 Pre-training

La procedura sperimentale procedeva il giovedì mattina con la fase di *pre-training*. Questa fase iniziava con il rinforzo alimentare visibile, sempre posizionato nel quarto elemento della serie. Esattamente come avveniva per la fase precedente, anche nel *pre-training* il rinforzo alimentare veniva gradualmente coperto con la segatura fino ad essere completamente nascosto. Per poter passare alla fase successiva (*training*) ogni pulcino doveva superare un criterio di apprendimento: tre prove corrette consecutive con il rinforzo

alimentare nascosto (Rugani *et al.*, 2011). Una prova veniva considerata corretta quando il pulcino beccava il quarto elemento (*elemento target*) nella serie.

3.4.3 Training

Una volta superato il criterio del *pre-training*, il pulcino accedeva immediatamente alla fase di *training*. Questa fase consisteva in venti prove con il verme nascosto. Il pulcino veniva posizionato nello *starting box*; da qui poteva accedere all'arena ed era lasciato libero di camminare verso la serie di elementi e di beccare uno degli elementi della serie stessa (**Figura 2**). Come nelle fasi precedenti, anche durante il *training* solo il quarto elemento (*elemento target*) nascondeva un verme, perciò, solo il comportamento corretto veniva rinforzato. Una prova poteva considerarsi corretta se il pulcino beccava l'*elemento target*. Ogni prova era considerata conclusa nel momento in cui il pulcino beccava uno qualsiasi degli elementi della serie e, al termine di ogni prova, il pulcino veniva riposizionato nello *starting box*. Il tempo limite concesso per poter beccare un elemento era di 180 secondi, dopodiché, in assenza di risposta da parte del pulcino, la prova veniva considerata nulla. Per la fase di *training* il criterio da superare era di otto prove corrette su venti (Rugani *et al.*, 2011). Tra i soggetti sottoposti al *training*, 48 pulcini (24 per la condizione di luce e 24 per la condizione di buio) sono stati in grado di superare il criterio e hanno avuto accesso alla fase successiva.

3.4.4 Re-training

Prima di ogni test (sagittale e fronto-parallelo) ogni pulcino doveva superare il criterio del *re-training*: tre prove corrette consecutive. Per superare questa fase i soggetti hanno impiegato in media quindici minuti.

Una volta conclusa la fase di *re-training* il pulcino poteva accedere direttamente al test.

3.4.5 Test sagittale

Circa un'ora dopo la fine del *training*, ogni pulcino veniva sottoposto alla fase di *re-training* e, immediatamente dopo, poteva accedere al test. Nel test sagittale, composto da 20 prove consecutive e condotto in visione binoculare, l'orientamento della serie di elementi e dell'apparato sperimentale era il medesimo utilizzato durante la fase di *training* (**Figura 2**). Ad ogni pulcino era

concesso di beccare un solo elemento per ogni prova e solo le risposte corrette potevano essere rinforzate dalla ricompensa alimentare. Durante il test sagittale e, come vedremo, nel test fronto-parallelo, solo alcune prove prestabilite (n=4,5,7,10,13,14,16,19) prevedevano la ricompensa alimentare, mentre tutte le altre non venivano ricompensate (Rugani *et al.*, 2011; Rugani *et al.*, 2016). Questo schema è stato ideato per evitare l'estinzione della reazione da parte del pulcino a seguito di molteplici prove corrette senza ricompensa. Inoltre, uno schema di questo tipo è stato preferito ad un modello a ricompensa costante poiché quest'ultimo avrebbe potuto portare ad un ulteriore apprendimento durante la fase stessa di test (Rugani *et al.*, 2016). Dato che durante la fase di *training* i pulcini risultavano più lenti rispetto alla fase di test, soprattutto per quanto riguarda le prime prove, nei test il tempo limite per poter considerare una prova valida è stato ridotto da 180 secondi a 60 secondi. Al termine del test sagittale il pulcino veniva lasciato riposare nella gabbia di metallo per almeno trenta minuti.

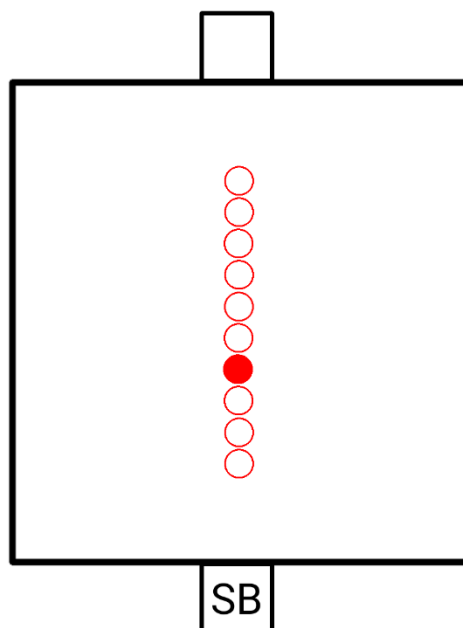


Figura 2

Rappresentazione schematica dell'apparato sperimentale orientato sagittalmente rispetto alla posizione di partenza del pulcino (SB). L'elemento target (quarto elemento) è qui rappresentato in rosso.

3.4.6 Test fronto-parallelo

Il giovedì pomeriggio, circa un'ora dopo la conclusione del test sagittale, i soggetti venivano sottoposti al test fronto-parallelo, preceduto dalla fase di *re-training*. Durante il test fronto-parallelo, la serie di elementi veniva ruotata di 90° rispetto alle fasi precedenti in modo da essere orientata fronto-parallelamente rispetto alla posizione di partenza del pulcino nello *starting box* (**Figura 3**). La distanza tra un elemento e il successivo e la lunghezza complessiva della serie non subivano variazioni. La procedura del test fronto-parallelo era la medesima rispetto a quella del test sagittale: venti prove consecutive della durata di massimo 60 secondi ciascuna in cui solo le prove 4,5,7,10,13,14 e 19 prevedevano una ricompensa alimentare. Una prova poteva considerarsi corretta se il soggetto beccava il quarto elemento da sinistra (4L) oppure il quarto elemento da destra (4R).

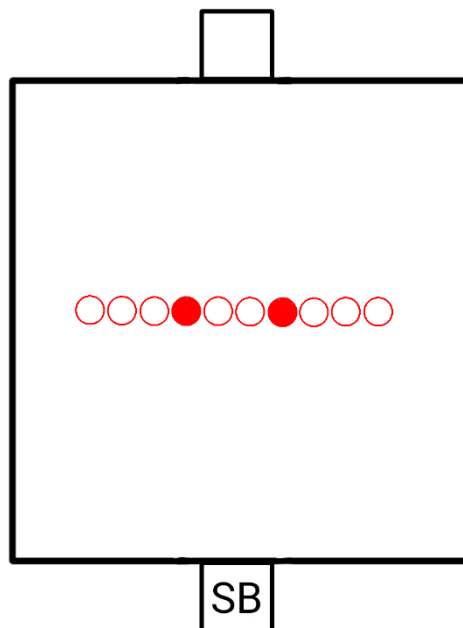


Figura 3

Rappresentazione schematica dell'apparato sperimentale orientato fronto-parallelamente rispetto alla posizione di partenza (SB) impiegato nel test fronto-parallelo. Gli elementi target (4L e 4R) sono qui raffigurati in rosso.

4. RISULTATI

4.1 Analisi

Entrambi i test (sagittale e fronto-parallelo) sono stati interamente videoregistrati tramite l'impiego di una videocamera digitale posta sopra l'apparato

sperimentale. Le registrazioni video sono state poi sottoposte ad un processo di *scoring offline* durante il quale si è posta l'attenzione su tre variabili dipendenti: accuratezza, tempo di risposta e direzione di approccio alla serie di elementi.

Per quanto riguarda l'accuratezza, per ogni prova è stato osservato quale elemento della serie era stato beccato per primo dal soggetto. Una volta analizzate tutte le venti prove componenti ogni test, è stata calcolata, per ogni singolo elemento della serie, la percentuale di volte in cui è stato beccato per primo (numero di beccate per quell'elemento/20 x 100).

Il tempo di risposta è stato misurato in secondi e corrispondeva al tempo intercorso tra il momento in cui il pulcino entrava nell'arena e il momento in cui beccava un elemento della serie.

Per ogni prova, infine, si è tenuto conto della traiettoria che ogni pulcino seguiva per avvicinarsi alla serie di elementi al fine di determinare se il soggetto si muoveva verso l'elemento scelto seguendo un percorso centrale o laterale. Per quanto riguarda il test sagittale, il percorso si considerava "centrale" se il pulcino camminava lungo la serie entro 10cm sia a destra che a sinistra. Nel caso in cui il percorso realizzato dal pulcino fosse spostato da questo virtuale corridoio centrale, allora esso veniva considerato "laterale sinistro" o "laterale destro" a seconda che il pulcino camminasse a sinistra o a destra della serie (**Figura 4**). Nel caso del test fronto-parallelo, veniva considerato "centrale" un percorso realizzato tra il quarto elemento a partire da sinistra (4L) e il quarto elemento a partire da destra (4R). L'approccio veniva classificato come "laterale sinistro" se il pulcino si avvicinava alla serie a partire dai suoi elementi più a sinistra (1L, 2L, 3L) e "laterale destro" se il percorso verso la serie avveniva a partire dal lato destro (1R, 2R, 3R) (**Figura 5**).

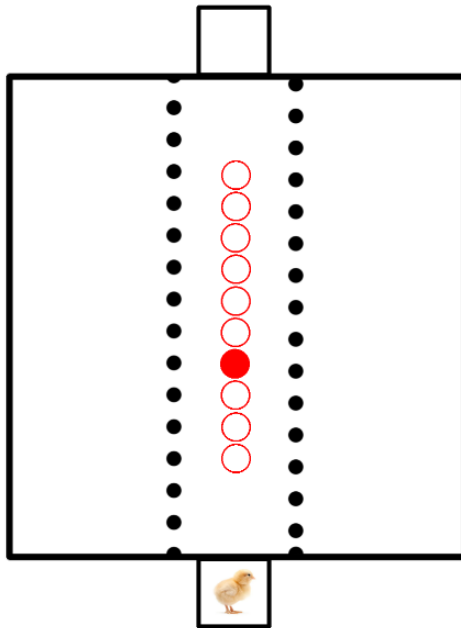


Figura 4

Rappresentazione schematica dei tre settori utilizzati per valutare la direzione di approccio alla serie quando essa era orientata sagittalmente rispetto alla posizione di partenza del pulcino.

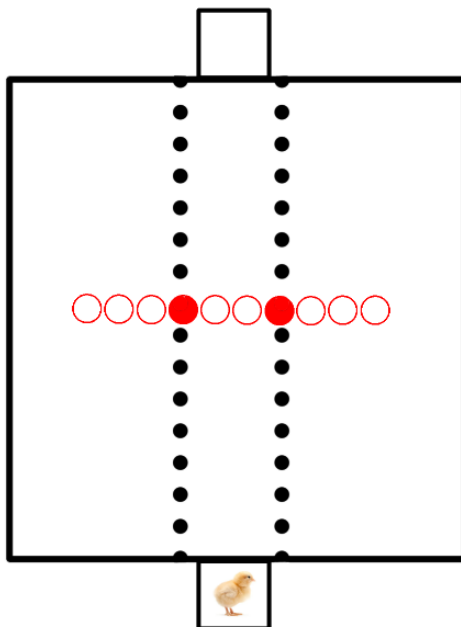


Figura 5

Rappresentazione schematica dei tre settori utilizzati per valutare la direzione di approccio alla serie quando essa era orientata fronto-parallelamente rispetto alla posizione di partenza del pulcino.

4.2 Test sagittale

Dai risultati è emerso che, nel test sagittale, i pulcini fortemente lateralizzati hanno scelto l'*elemento target* (il quarto elemento della serie) in maniera significativamente superiore al caso ($N = 24$, media = 36.382, SE = 1.666, $V = 300.000$, $p < .001$, $r_{rb} = 1.000$). Anche i soggetti debolmente lateralizzati hanno scelto l'elemento target in maniera superiore al caso ($N = 24$, media = 28.436, SE = 1.919, $V = 300.000$, $p < .001$, $r_{rb} = 1.000$). Questi risultati sono rappresentati graficamente nella *Tabella 1*.

Come mostrato in *Tabella 2*, anche il primo e il secondo elemento della serie sono stati scelti in maniera superiore al caso sia dai pulcini fortemente lateralizzati, sia da quelli debolmente lateralizzati. Rugani *et al.* (2021) hanno ipotizzato che questo comportamento (beccare in maniera superiore al caso il primo elemento della serie) possa essere dovuto alla salienza percettiva di questo elemento: si tratta del primo elemento che il soggetto incontra quando si avvicina alla serie ed esso appare identico all'*elemento target*. Tutti gli altri elementi non sono stati selezionati in maniera significativamente superiore al caso da nessuno dei due gruppi sperimentali. L'analisi GLMM (Modelli Misti Lineari Generalizzati) ha permesso di individuare un effetto significativo del livello di lateralizzazione sull'accuratezza delle performance: in media, i pulcini fortemente lateralizzati hanno ottenuto risultati migliori rispetto al gruppo dei pulcini debolmente lateralizzati (**Figura 6**).

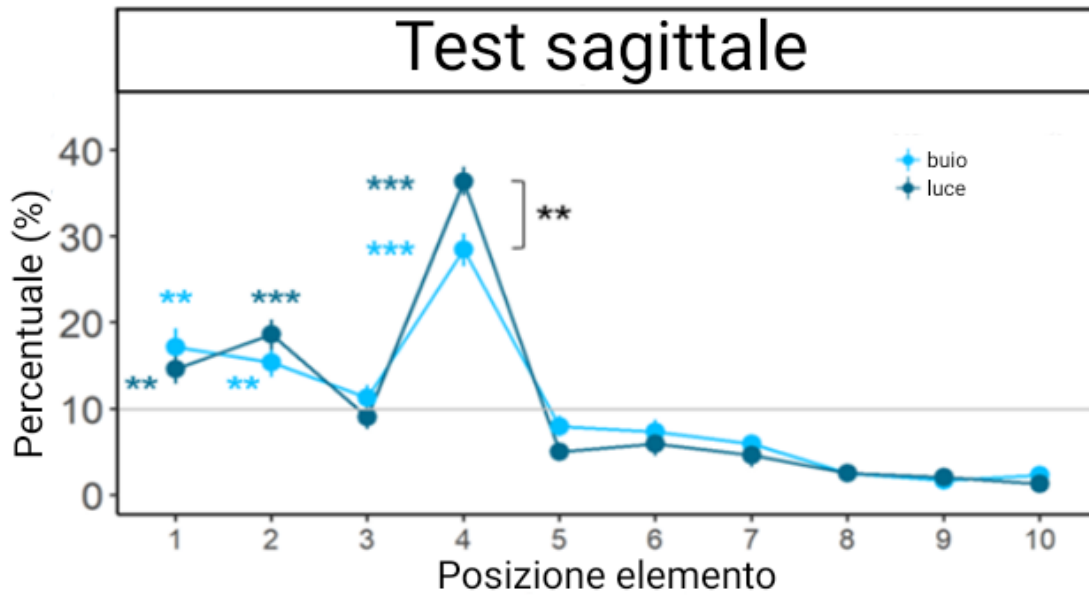


Figura 6

Il grafico rappresenta quante volte, in media percentuale, i soggetti hanno scelto ogni elemento della serie nel test sagittale. La linea blu scuro rappresenta il gruppo dei pulcini fortemente lateralizzati. La linea azzurra rappresenta il gruppo dei pulcini debolmente lateralizzati. La linea grigia in corrispondenza di $y = 10$ rappresenta il *chance level*. Gli asterischi colorati indicano il valore di probabilità: $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***). Gli asterischi neri vogliono indicare una differenza significativa nella prestazione dei due gruppi: i soggetti fortemente lateralizzati hanno ottenuto risultati migliori dei soggetti debolmente lateralizzati.

4.3 Test fronto-parallelo

Come mostra la Tabella 1, nel test fronto-parallelo i soggetti fortemente lateralizzati hanno scelto l'*elemento target* di sinistra (4L) in maniera significativamente superiore al caso ($N = 24$, media = 28.851, SE = 2.572, $V = 297.000$, $p < .001$, $r_{rb} = 0.980$), mentre il quarto elemento a destra (4R) non è stato scelto da questo gruppo in maniera superiore al caso ($N = 24$, media = 11.894, $V = 118.000$, $p = 0.080$, $r_{rb} = 0.380$).

Per quanto riguarda i soggetti debolmente lateralizzati, questi hanno selezionato entrambi gli elementi target (4L e 4R) in maniera significativamente superiore al caso (4L: $N = 24$, media = 18.958, SE = 2.149, $V = 210.500$, $p < .001$, $r_{rb} = 0.823$; 4R: $N = 24$, media = 19.792, SE = 2.321, $V = 250.500$, $p < .001$, $r_{rb} = 0.815$). Nessun altro elemento della serie è stato selezionato dai soggetti in maniera significativa.

L'analisi GLMM ha permesso di identificare un effetto principale significativo del livello di lateralizzazione: i risultati complessivi del gruppo dei soggetti fortemente

lateralizzati sono migliori rispetto a quelli del gruppo dei soggetti debolmente lateralizzati. Nel test fronto-parallelo, l'interazione tra livello di lateralizzazione e lato della serie è risultata significativa: il livello di lateralizzazione influenza in maniera diversa la performance del soggetto a seconda del lato che si prende in considerazione. In termini di effetto del livello di lateralizzazione, i pulcini fortemente lateralizzati ottengono risultati migliori per quanto riguarda l'*elemento target* di sinistra (4L) rispetto ai pulcini debolmente lateralizzati. Questi ultimi, invece, selezionano più volte rispetto ai primi l'*elemento target* di destra (4R). In termini di effetto del lato (*side effect*), i pulcini debolmente lateralizzati non mostrano differenze significative tra destra e sinistra per quanto riguarda l'accuratezza della performance. Al contrario, i pulcini fortemente lateralizzati ottengono risultati migliori a sinistra piuttosto che a destra. Tutti questi risultati sono rappresentati graficamente in Figura 7.

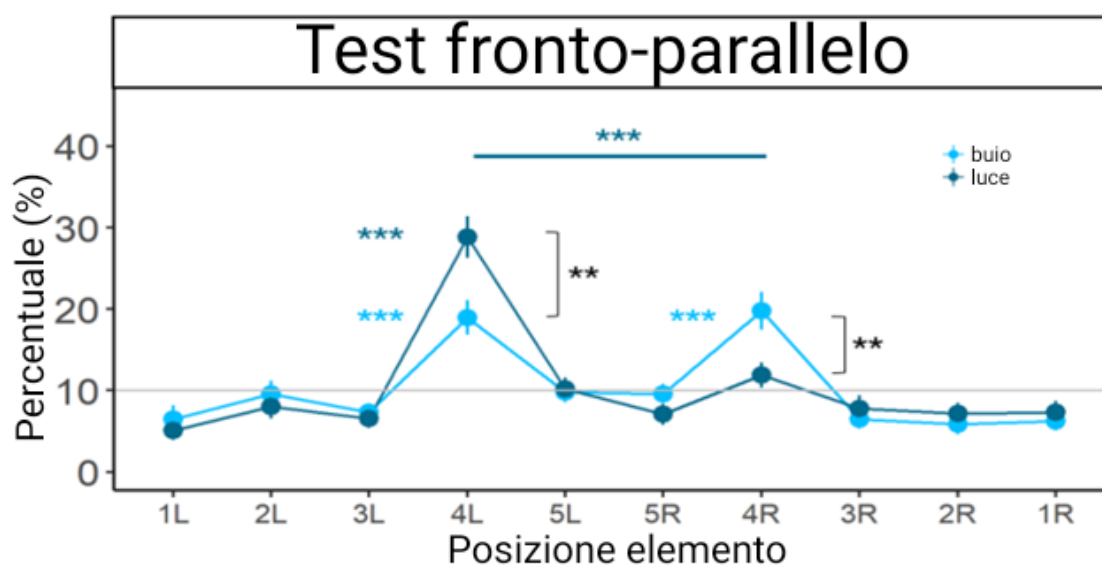


Figura 7

Il grafico rappresenta quante volte, in media percentuale, i soggetti hanno scelto ogni elemento della serie nel test sagitta le. La linea blu scuro rappresenta il gruppo dei pulcini fortemente lateralizzati. La linea azzurra rappresenta il gruppo dei pulcini debolmente lateralizzati. La linea grigia in corrispondenza di $y = 10$ rappresenta il *chance level*. Gli asterischi colorati indicano il valore di probabilità: $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***). Gli asterischi neri indicano le differenze nelle performance dei due gruppi per ogni lato.

<i>gruppo</i>	<i>test</i>	<i>elemento</i>	<i>N</i>	<i>media</i> %	<i>SE</i>	<i>V</i>	<i>p</i>	<i>r_{tb}</i>
<i>fortemente</i>	sagittale	4	24	36.382	1.666	300.000	<.001	1.000
<i>lateralizzati</i>	frontoparallelo	4L	24	28.857	2.572	297.000	<.001	0.980
	frontoparallelo	4R	24	11.894	1.532	118.000	0.080	0.380
<i>debolmente</i>	sagittale	4	24	28.436	1.913	300.000	<.001	1.000
<i>lateralizzati</i>	frontoparallelo	4L	24	18.958	2.149	210.500	<.001	0.823
	frontoparallelo	4R	24	19.792	2.321	250.500	<.001	0.815

Tabella 1

Risultati dei test sagittale e fronto-parallelo per quanto riguarda la scelta dell'elemento target

<i>gruppo</i>	<i>test</i>	<i>elemento</i>	<i>N</i>	<i>media</i> %	<i>SE</i>	<i>V</i>	<i>p</i>	<i>r_{tb}</i>
<i>fortemente</i>	sagittale	1	24	14.650	1.713	156.000	0.007	0.642
<i>lateralizzati</i>	sagittale	2	24	18.629	1.748	184.000	<.001	0.937
	frontoparallelo	1L	24	5.095	1.142	22.500	0.999	-0.786
	frontoparallelo	1R	24	7.350	1.378	30.000	0.962	-0.500
	frontoparallelo	2L	24	8.023	1.467	64.500	0.940	-0.386
	frontoparallelo	2R	24	7.164	1.315	75.000	0.957	-0.407
	<i>debolmente</i>	sagittale	1	24	17.152	2.159	182.000	0.019
<i>lateralizzati</i>	sagittale	2	24	15.377	1.716	135.000	0.027	0.765
	frontoparallelo	1L	24	6.458	1.688	59.500	0.987	-0.530
	frontoparallelo	1R	24	6.250	1.136	40.500	0.997	-0.649
	frontoparallelo	2L	24	9.583	1.590	80.000	0.606	-0.064
	frontoparallelo	2R	24	5.833	1.229	24.000	0.995	-0.686

Tabella 2

Risultati dei test sagittale e fronto-parallelo per quanto riguarda la scelta del primo e del secondo elemento

5. DISCUSSIONE

Lo studio presentato fa parte di una serie di studi condotti con l'obiettivo di investigare le abilità ordinali e l'associazione spazio-numerica del pulcino di pollo domestico (*Gallus gallus*). Rugani e colleghi, attraverso numerosi studi, sono stati in grado di dimostrare che l'informazione spaziale viene processata nel prosencefalo destro del cervello dei pulcini. Durante compiti che richiedono l'impiego di informazioni spaziali, l'emisfero destro è dominante, con una

conseguente allocazione dell'attenzione nell'emispazio sinistro. È questa caratteristica che genera la naturale tendenza nel pulcino a contare da sinistra a destra (Rugani *et al.*, 2007; Rugani *et al.*, 2010).

L'elaborato di tesi si è concentrato sulla rilevazione delle differenze nelle prestazioni di due gruppi sperimentali: un primo gruppo formato da 24 soggetti fortemente lateralizzati e un secondo gruppo formato da 24 soggetti debolmente lateralizzati. I primi vengono anche definiti pulcini di luce in quanto hanno ricevuto stimolazioni luminose durante il periodo sensibile che va dal 18° al 21° giorno di incubazione. I pulcini debolmente lateralizzati, o pulcini di buio, sono stati ottenuti attraverso la deprivazione di una fonte di luce durante lo stesso periodo sensibile (i.e. sono stati incubati in condizione di totale oscurità). L'obiettivo di questo studio è quello di indagare l'eventuale presenza o assenza del *bias* sinistro nei pulcini debolmente lateralizzati e, quindi, verificare se in questi soggetti l'emisfero destro è ancora dominante nei compiti visuo-spaziali. I risultati ottenuti hanno avvalorato l'ipotesi dell'assenza del *bias* sinistro nei pulcini di buio evidenziando prestazioni migliori da parte dei soggetti fortemente lateralizzati in entrambi i test. Questa evidenza trova una spiegazione nell'analisi dei vantaggi a cui la lateralizzazione emisferica porta nei pulcini di *Gallus gallus*: offre un processamento parallelo e simultaneo più efficiente (Deacon, 1997) ed evita la duplicazione dell'elaborazione delle informazioni nei due emisferi cerebrali (Levy, 1997).

In generale, i risultati ottenuti nel test sagittale mostrano che i pulcini di pollo domestico (*Gallus gallus*) sono in grado di identificare l'elemento target all'età di quattro giorni. Inoltre, i risultati del test fronto-parallelo hanno mostrato che i pulcini domestici sono in grado di generalizzare la regola appresa ad un nuovo orientamento della stessa serie. Questi esiti sono conformi con i risultati di studi precedenti (Rugani *et al.*, 2010; Rugani *et al.*, 2016; Rugani *et al.*, 2021) e supportano l'idea che i pulcini sono in grado molto precocemente di utilizzare regole spazio-numeriche nella ricerca del cibo.

Per quanto riguarda il test fronto-parallelo, le analisi hanno mostrato che i pulcini fortemente lateralizzati hanno ottenuto risultati migliori dei pulcini debolmente lateralizzati se si prende in considerazione il lato sinistro della serie di dieci

elementi. In altre parole, i pulcini incubati alla luce hanno scelto più volte l'*elemento target* a sinistra (4L) rispetto ai pulcini incubati al buio. Risultati opposti si ottengono prendendo in considerazione il lato destro della serie: in questo caso i pulcini debolmente lateralizzati risultano più accurati rispetto ai pulcini fortemente lateralizzati in quanto scelgono il quarto elemento a partire da destra (4R) più volte. Questi risultati possono essere spiegati facendo riferimento alle differenze strutturali cerebrali conseguenti alle diverse condizioni di incubazione dei due gruppi (luce vs. buio): i soggetti che non hanno ricevuto stimolazioni luminose durante il periodo sensibile non mostrano alcuna preferenza tra destra e sinistra e selezionano in maniera significativamente superiore al caso entrambi gli *elementi target* (4L e 4R). Questo è in linea con l'ipotesi dell'assenza di un *bias* sinistro nei pulcini con un livello di lateralizzazione minore (Chiandetti, 2011). Perciò, i pulcini incubati al buio non mostrano la tendenza a contare da sinistra a destra, bensì utilizzano indistintamente entrambe le estremità della serie (1L e 1R) come punto di partenza per iniziare a contare. Diversamente, i pulcini con un elevato grado di lateralizzazione mostrano un'allocazione preferenziale dell'attenzione nell'emispazio sinistro come conseguenza della predominanza dell'emisfero destro nei compiti visuo-spaziali.

I risultati di questo studio supportano l'idea che la lateralizzazione emisferica porta ad un aumento delle abilità cognitive e, nello specifico, consente al cervello di gestire maggiori e diverse informazioni contemporaneamente. I soggetti di questi esperimenti, infatti, utilizzavano sia informazioni spaziali sia informazioni numeriche per portare a termine i compiti spaziali e ordinali (Rugani *et al.*, 2007; Rugani *et al.*, 2010; Rugani *et al.*, 2011). A ulteriore riprova degli aspetti vantaggiosi a cui la lateralizzazione porta è utile citare un recente studio condotto da Dadda e colleghi (2015) che ha rilevato un chiaro sviluppo delle abilità numeriche in soggetti lateralizzati di *Poecilia reticulata* rispetto a soggetti non lateralizzati della stessa specie. Ai pesci è stato insegnato a discriminare tre diversi contrasti numerici (2 vs. 3; 3 vs. 4; 4 vs. 5) e a scegliere le numerosità maggiori: i pesci fortemente lateralizzati hanno ottenuto risultati significativamente migliori.

Un'ulteriore possibile spiegazione della presenza/assenza del *bias* riguarda il fatto che lo sviluppo della lateralizzazione porta all'eliminazione dei conflitti inter-emisferici: i pulcini incubati al buio sono sottoposti ad una continua interferenza tra emisfero sinistro e destro che risulta in una scarsa capacità di processare un elevato numero di informazioni diverse (spaziali e numeriche nel caso di questo studio).

Tuttavia, non va tralasciato il fatto che i risultati del presente studio mostrano migliori prestazioni da parte dei pulcini debolmente lateralizzati quando si prende in considerazione la scelta dell'*elemento target* di destra (4R) nel test fronto-parallelo. Questi risultati possono essere spiegati facendo riferimento al fatto che i soggetti debolmente lateralizzati utilizzano solo informazioni numeriche, processate da entrambi gli emisferi, quando si tratta di svolgere compiti ordinali in visione binoculare. Si può inoltre ipotizzare che, nel test fronto-parallelo, i pulcini di buio utilizzino per alcune prove l'emisfero sinistro e per altre l'emisfero destro, senza mostrare una chiara preferenza. I pulcini di luce, invece, non utilizzano entrambi gli emisferi allo stesso modo, bensì fanno affidamento unicamente sull'emisfero dominante destro, con conseguente *bias* sinistro. Basandoci su queste osservazioni, è possibile ipotizzare che un minor grado di lateralizzazione non influenzi direttamente le capacità numerico-ordinali dei pulcini, bensì abbia effetti propriamente sull'associazione spazio-numerica. Quest'idea è supportata da evidenze precedenti (Rugani *et al.*, 2011) riguardo la capacità di entrambi gli emisferi di controllare e processare le informazioni numeriche e la specializzazione dell'emisfero destro nel processare le informazioni spaziali.

6. CONCLUSIONE

I risultati di questo lavoro di tesi hanno confermato le ipotesi sperimentali: un maggiore livello di lateralizzazione cerebrale dovuto ad una stimolazione luminosa prenatale è in grado di influenzare le performance di soggetti di pulcino di pollo domestico (*Gallus gallus*) in compiti ordinali. Inoltre, l'incubazione alla luce contribuisce alla manifestazione di un *bias* sinistro e allo sviluppo di una tendenza a contare da sinistra a destra in questa specie animale. All'opposto, i pulcini incubati al buio non mostrano alcun *bias*. Infine, i soggetti fortemente

lateralizzati hanno ottenuto risultati migliori in entrambi i test (sagittale e fronto-parallelo).

Per concludere, ritengo necessario precisare che, nonostante i risultati siano promettenti, le ipotesi presentate in questo elaborato di tesi sono ancora speculative e richiedono ulteriori studi per approfondire l'associazione spazio-numerica in specie diverse dall'uomo.

7. CONTRIBUTO DEGLI AUTORI

Quanto riportato in questa tesi fa parte di un progetto di ricerca guidato da Rosa Rugani. La studentessa (Martina Bianchini) ha contribuito ad una parte di tale progetto atta a soddisfare i criteri per il completamento del progetto formativo ai fini della laurea Triennale.

Contributo degli autori

Rosa Rugani: concettualizzazione, metodologia, supervisione, amministrazione del progetto, risorse, stesura della bozza originale, revisioni e modifiche.

Yujia Zhang: conduzione degli esperimenti, raccolta dati, cura dei dati, analisi formale.

Beatrice Scarsi: conduzione degli esperimenti, raccolta dati, cura dei dati, analisi formale.

8. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Acerbo, M. J., Lazareva, O. F., McInerney, J., Leiker, E., Wasserman, E. A., Poremba, A. (2012). Figure–ground discrimination in the avian brain: The nucleus rotundus and its inhibitory complex. *Vision Research*, 70, 18–26.

Adachi, I. (2014). Spontaneous spatial mapping of learned sequence in chimpanzees: evidence for a SNARC-like effect. *PloS one*, 9(3), e90373.

Andrew, R. J. (1991). The nature of behavioural lateralization in the chick. *In: Andrew, R. J., editor. Neural and behavioural plasticity: the use of the chick as a model. Oxford: Oxford UP*, 536-54.

Brannon E. M. (2002). The development of ordinal numerical knowledge in infancy. *Cognition*, 83(3), 223–240.

Brannon, E. M., & Terrace, H. S. (1998). Ordering of the numerosities 1 to 9 by monkeys. *Science (New York, N.Y.)*, 282(5389), 746–749.

Brannon, E. M., & Terrace, H. S. (2000). Representation of the numerosities 1-9 by rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Journal of experimental psychology. Animal Behavior Processes*, 26(1), 31–49.

Chiandetti, C., Regolin, L., Rogers, L. J., & Vallortigara, G. (2005). Effects of light stimulation of embryos on the use of position-specific and object-specific cues in binocular and monocular domestic chicks (*Gallus gallus*). *Behavioural Brain Research*, 163(1), 10–17.

Chiandetti, C., Vallortigara G. (2009). Effects of embryonic light stimulation on the ability to discriminate left from right in the domestic chick. *Behavioural Brain Research*, 240-246.

Chiandetti, C. (2011). Pseudoneglect and embryonic light stimulation in the avian brain. *Behavioral Neuroscience*, 125(5), 775–782.

Csillag, A., & Montagnese, C. M. (2005). Thalamotelencephalic organization in birds. *Brain Research Bulletin*, 66(4-6), 303–310.

- Daisley, J. N., Mascalonzi, E., Rosa-Salva, O., Rugani, R., & Regolin, L. (2009). Lateralization of social cognition in the domestic chicken (*Gallus gallus*). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 364(1519), 965–981.
- Davis, H., Pérusse, R. (1988). Numerical competence in animals: Definitional issues, current evidence, and a new research agenda. *Behavioral and Brain Sciences*, 11(4), 561-579.
- Dehaene, S. (1997). The number sense. *New York: Oxford University Press*.
- Dehaene, S., Bossini, S., & Giraux, P. (1993). The mental representation of parity and number magnitude. *Journal of Experimental Psychology: General*, 122(3), 371–396.
- Deng, C., & Rogers, L. J. (1998). Bilaterally projecting neurons in the two visual pathways of chicks. *Brain research*, 794(2), 281–290.
- Drucker, C. B., Brannon, E. M. (2014). Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) map number onto space. *Cognition*, 132(1), 57-67.
- Feigenson, L., Carey, S., & Hauser, M. (2002). The representations underlying infants' choice of more: Object files versus analog magnitudes. *Psychological Science*, 13(2), 150–156.
- Gallistel, C. R., & Gelman, R. (1992). Preverbal and verbal counting and computation. *Cognition*, 44(1-2), 43–74.
- Galton, F. (1880). Visualised Numerals. *Nature* 21, 252–256.
- Güntürkün, O. (1993). The ontogeny of visual lateralization in pigeons. *German Journal of Psychology*, 17(4), 276–287.
- Güntürkün O. (1997). Avian visual lateralization: a review. *Neuroreport*, 8(6), iii–xi.
- Güntürkün, O., Diekamp, B., Manns, M., Nottelmann, F., Prior, H., Schwarz, A. & Skiba, M. (2000). Asymmetry pays: visual lateralization improves discrimination success in pigeons. *Current Biology*, 10(17):1079-81.

Güntürkün, O., & Kesch, S. (1987). Visual lateralization during feeding in pigeons. *Behavioral Neuroscience*, 101(3), 433–435.

Hauser, M. D., & Spelke, E. (2004). Evolutionary and Developmental Foundations of Human Knowledge: A Case Study of Mathematics. In M. S. Gazzaniga (Ed.), *The cognitive neurosciences* (pp. 853–864). Boston Review.

Judge, P. G., Evans, T. A., & Vyas, D. K. (2005). Ordinal representation of numeric quantities by brown capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 31(1), 79–94.

Krebs, J. R. (1974). Colonial nesting and social feeding as strategies for exploiting food resources in the great blue heron (*Ardea herodias*). *Behaviour*, 51(1-2), 99–131.

Kuo, Z. Y. (1932). Ontogeny of embryonic behavior in Aves. III. The structural and environmental factors in embryonic behavior. *Journal of Comparative Psychology*, 13(2), 245–271.

Lazareva, O. F., Gould, K., Linert, J., Caillaud, D., & Gazes, R. P. (2020). Smaller on the left? Flexible association between space and magnitude in pigeons (*Columba livia*) and blue jays (*Cyanocitta cristata*). *Journal of Comparative Psychology*, 134(1), 71–83.

Lindemann, O., Abolafia, J. M., Girardi, G., & Bekkering, H. (2007). Getting a grip on numbers: numerical magnitude priming in object grasping. *Journal of experimental psychology. Human Perception and Performance*, 33(6), 1400–1409.

Manns, M. (1998). Die Ontogenese der visuellen Lateralisation bei der Taube (*Columba livia*): Entwicklung und Plastizität des Systems. PhD Thesis, Ruhr-Universität Bochum.

Mihrshahi, R. (2006). The corpus callosum as an evolutionary innovation. *Journal of experimental zoology. Part B, Molecular and Developmental Evolution*, 306(1), 8–17.

- Osorio, D., Jones, C. D., & Vorobyev, M. (1999). Accurate memory for colour but not pattern contrast in chicks. *Current Biology: CB*, 9(4), 199–202.
- Rashid, N., & Andrew, R. J. (1989). Right hemisphere advantage for topographical orientation in the domestic chick. *Neuropsychologia*, 27(7), 937–948.
- Rogers, L. (1982). Light experience and asymmetry of brain function in chickens. *Nature*, 297, 223–225.
- Rogers, L. J. (1990). Light input and the reversal of functional lateralization in the chicken brain. *Behavioural Brain Research*, 38(3), 211–221.
- Rogers, L. J. (1991). Development of lateralization. *Neural and behavioural plasticity: The use of the domestic chick as a model*, 507-535. Oxford University Press UK.
- Rogers L. (1996). Behavioral, structural and neurochemical asymmetries in the avian brain: a model system for studying visual development and processing. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 20(3), 487–503.
- Rogers, L. J. (1997). Early experiential effects on laterality: research on chicks has relevance to other species. *Laterality*, 2(3-4), 199–219.
- Rogers, L. J., & Deng, C. (1999). Light experience and lateralization of the two visual pathways in the chick. *Behavioural Brain Research*, 98(2), 277–287.
- Rugani, R., Betti, S., Ceccarini, F., & Sartori, L. (2017). Act on Numbers: Numerical Magnitude Influences Selection and Kinematics of Finger Movement. *Frontiers in Psychology*, 8, 1481.
- Rugani, R., Betti, S., & Sartori, L. (2018). Numerical affordance influences action execution: A kinematic study of finger movement. *Frontiers in Psychology*, 9, Article 637.
- Rugani, R., & de Hevia, M. D. (2017). Number-space associations without language: Evidence from preverbal human infants and non-human animal species. *Psychonomic Bulletin & Review*, 24(2), 352–369.

Rugani, R., Kelly, D. M., Szelest, I., Regolin, L. & Vallortigara, G. (2010). Is it only humans that count from left to right? *Biology Letters*, 6, 290-292.

Rugani, R., Regolin, L., & Vallortigara, G. (2007). Rudimental numerical competence in 5-day-old domestic chicks (*Gallus gallus*): identification of ordinal position. *Journal of experimental psychology. Animal Behavior Processes*, 33(1), 21–31.

Rugani, R., & Regolin, L. (2021). Approach direction and accuracy, but not response times, show spatial-numerical association in chicks. *PloS one*, 16(9), e0257764.

Rugani, R., Vallortigara, G., Priftis, K. & Regolin, L. (2015). Number-space mapping in the newborn chick resembles humans' mental number line. *Science*, 347, 534-536.

Rugani, R., Vallortigara, G., Priftis, K., & Regolin, L. (2020). Numerical magnitude, rather than individual bias, explains spatial numerical association in newborn chicks. *eLife*, 9, e54662.

Rugani, R., Vallortigara, G., & Regolin, L. (2016). Mapping number to space in the two hemispheres of the avian brain. *Neurobiology of Learning and Memory*, 133, 13–18.

Rugani, R., Vallortigara, G., Vallini, B., & Regolin, L. (2011). Asymmetrical number-space mapping in the avian brain. *Neurobiology of Learning and Memory*, 95(3), 231–238.

Rugani, R., & Regolin, L. (2020). Hemispheric specialization in spatial versus ordinal processing in the day-old domestic chick (*Gallus gallus*). *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1477(1), 34–43.

Shaki, S., Fischer, M. H., & Petrusic, W. M. (2009). Reading habits for both words and numbers contribute to the SNARC effect. *Psychonomic Bulletin & Review*, 16(2), 328–331.

Smith, B. R., Piel, A. K., & Candland, D. K. (2003). Numerity of a socially housed hamadryas baboon (*Papio hamadryas*) and a socially housed squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Journal of Comparative Psychology*, 117(2), 217–225.

Tommasi, L., Andrew, R. J., & Vallortigara, G. (2000). Eye use in search is determined by the nature of task in the domestic chick (*Gallus gallus*). *Behavioural Brain Research*, 112(1-2), 119–126.

Tommasi, L., Gagliardo, A., Andrew, R. J., & Vallortigara, G. (2003). Separate processing mechanisms for encoding of geometric and landmark information in the avian hippocampus. *The European Journal of Neuroscience*, 17(8), 1695–1702.

Tommasi, L., & Vallortigara, G. (2001). Encoding of geometric and landmark information in the left and right hemispheres of the Avian Brain. *Behavioral Neuroscience*, 115(3), 602–613.

Uller, C., Jaeger, R., Guidry, G., & Martin, C. (2003). Salamanders (*Plethodon cinereus*) go for more: rudiments of number in an amphibian. *Animal Cognition*, 6(2), 105–112.

Vallortigara, G. (1992). Right hemisphere advantage for social recognition in the chick. *Neuropsychologia* 30(9), 761-768.

Vallortigara, G. (2000). Comparative neuropsychology of the dual brain: a stroll through animals' left and right perceptual worlds. *Brain and Language*, 73(2), 189–219.

Vallortigara, G., Andrew, R.J. (1991). Lateralization of response by chicks to change in a model partner. *Animal Behaviour*, 41, 187-194.

Vallortigara, G., & Andrew, R. J. (1994). Differential involvement of right and left hemisphere in individual recognition in the domestic chick. *Behavioural Processes*, 33(1-2), 41–57.

Vallortigara, G., Cailotto, M., & Zanforlin, M. (1990). Sex differences in social reinstatement motivation of the domestic chick (*Gallus gallus*) revealed by runway

tests with social and nonsocial reinforcement. *Journal of Comparative Psychology*, 104(4), 361–367.

Vallortigara, G., Pagni, P., & Sovrano, V. A. (2004). Separate geometric and non-geometric modules for spatial reorientation: evidence from a lopsided animal brain. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 16(3), 390–400.

Vallortigara, G., Regolin, L., Bortolomiol, G., & Tommasi, L. (1996). Lateral asymmetries due to preferences in eye use during visual discrimination learning in chicks. *Behavioural Brain Research*, 74(1-2), 135–143.

Vallortigara, G., Rogers, L. J., & Bisazza, A. (1999). Possible evolutionary origins of cognitive brain lateralization. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 30(2), 164–175.

Wynn, K. (1992). Addition and subtraction by human infants. *Nature* 358, 749–750.