

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali ed Ambiente

Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Animali

Tesi di Laurea Triennale

Sviluppo di una procedura per la valutazione delle capacità di localizzazione spaziale uditiva nel cane (*Canis lupus familiaris*)

Development of a procedure to assess auditory spatial localization abilities in dogs (*Canis lupus familiaris*)

Relatore:

Prof. Paolo Mongillo

Correlatore:

Dott.ssa Cécile Chantal Catherine Guérineau

Laureanda:

Andrea Lisa Michelotto

Matricola n. 1221462

ANNO ACCADEMICO 2022-2023

INDICE

RIASSUNTO.....	4
CAPITOLO 1: Introduzione.....	5
CAPITOLO 2: Meccanismi di rilevazione ed elaborazione del suono	
2.1 Anatomia dell'orecchio.....	6
2.2 Neurofisiologia: meccanismi di trasduzione del segnale.....	9
CAPITOLO 3: Analisi binaurale	
3.1 Differenza di tempo interaurale e differenza di intensità interaurale.....	11
3.2 Cono di confusione.....	13
3.3 Effetto precedenza.....	13
CAPITOLO 4: Udito ad alta frequenza	
4.1 Evoluzione dell'orecchio medio nei mammiferi.....	14
4.2 Effetto della dimensione funzionale della testa sulla frequenza massima udibile.....	15
CAPITOLO 5: Acuità di localizzazione	
5.1 Abilità di localizzazione: influenza di anatomia, stile di vita e parametri visivi.....	17
5.2 Correlazione tra abilità di localizzazione e larghezza del campo visivo migliore.....	19
CAPITOLO 6: Obiettivo della tesi.....	21
CAPITOLO 7: Materiali e metodi	
7.1 Soggetti sperimentali.....	21

7.2 Setting sperimentale.....	23
7.3 Apparato acustico.....	23
7.4 Procedura sperimentale	
7.4.1. Addestramento preliminare.....	27
7.4.2 Fase di test.....	28
7.5 Metodo Staircase	
7.5.1 Procedura discendente.....	29
7.5.2 Procedura ascendente.....	30
CAPITOLO 8: Raccolta ed analisi dei dati.....	31
CAPITOLO 9: Risultati.....	32
CAPITOLO 10: Discussione.....	39
CAPITOLO 11: Conclusioni.....	43

RIASSUNTO

Le capacità di localizzazione sonora dei cani sono state indagate in questo studio mediante l'ottenimento dell'angolo udibile minimo (MAA), definito come la più piccola differenza rilevabile nella posizione di due suoni statici presentati in successione. A causa della portata limitata dei test comportamentali eseguiti fino ad oggi in questa specie e, considerando che, i pochi studi effettuati in passato hanno riguardato un numero ristretto di soggetti e hanno fatto ricorso a metodologie di indagine che impedivano un progressivo miglioramento delle prestazioni, in questo studio è stato applicato il metodo Staircase ad 8 cani, utilizzando una procedura di discriminazione destra-sinistra di un rumore bianco, con angoli di separazione da 60° a 1°. Tale sistema ha permesso di tarare la difficoltà delle varie sessioni sulla base delle prestazioni precedenti del singolo individuo e ha altresì permesso di rilevare gli effetti dell'allenamento sulle abilità di localizzazione dei cani. Dall'analisi dei dati ottenuti, emerge la tendenza dei soggetti al miglioramento delle prestazioni nel corso delle sessioni, fino al raggiungimento di un plateau, attorno al valore corrispondente all'MAA. In questo test, l'MAA, in linea con quanto riportato in letteratura, è stato stimato essere pari a $6.13^\circ \pm 2.75^\circ$, con significative variazioni tra soggetti comprese tra un valore minimo di $1.33^\circ \pm 0.52^\circ$ e un valore massimo pari a $11.50^\circ \pm 1.22^\circ$. I risultati ottenuti permettono di confermare l'affidabilità del metodo Staircase nella sua applicazione allo studio delle capacità di localizzazione sonora dei cani e evidenziano l'importanza di prediligere nello studio delle abilità sensoriali metodologie di indagine che consentano un miglioramento delle prestazioni nel corso del tempo.

1. INTRODUZIONE

La capacità di localizzare una sorgente sonora è una delle principali funzioni dell'udito ed è un'abilità sensoriale indispensabile per l'orientamento in un habitat biologico e per la comunicazione intraspecifica ed interspecifica; in natura, essa permette di aumentare le probabilità di sopravvivenza di una vasta gamma di specie, in quanto consente loro la localizzazione della prole, di prede e di predatori.

Nel corso degli anni sono state sviluppate tecniche affidabili per la misurazione delle capacità di localizzazione sonora degli animali in ambito sperimentale. Nel 1958 Mills ha messo appunto un paradigma psicoacustico definito come "Minimum Audible Angle" (MAA), che è stato primariamente utilizzato per definire l'accuratezza con la quale un ascoltatore umano può localizzare una fonte sonora. L'MAA viene definito come la più piccola differenza rilevabile nella posizione di due suoni statici presentati in successione [1]. In altre parole, esso indica il minimo angolo che può essere discriminato tra due altoparlanti centrati sull'azimut [2]. Nel corso degli anni tale paradigma è stato applicato allo studio della localizzazione del suono in numerose specie animali. Nello specifico, Heffner R.S. & Heffner H.E. [3] e Babushina & Polyakov [4] hanno applicato tale metodologia di indagine allo studio delle abilità uditive del cane. Heffner ha testato le capacità di localizzazione del suono di un cane, utilizzando rumori a banda larga e click. L'MAA del cane testato è risultato essere pari a 8°. Tale dato è stato ottenuto ricorrendo ad un approccio simile al metodo dei limiti. Sono stati presentati angoli di separazioni decrescenti fino al raggiungimento del limite minimo per cui il cane non era più in grado di distinguere la posizione della sorgente e successivamente è stata calcolata la media dei 3 migliori risultati ottenuti con almeno 100 prove per ciascun angolo. Babushina ha invece applicato il metodo delle costanti per definire l'MAA di 3 soggetti a frequenze di 4 kHz e 10 kHz e di 2 soggetti a 30 kHz. Egli ha testato, in ordine casuale, un certo numero di angoli di separazione prefissati compresi tra 45° e 3°. Per frequenze di 4 kHz, i soggetti hanno manifestato un'accuratezza uguale o superiore al 75% fino ad angoli di separazione compresi tra 7-11°. Per frequenze di 10 kHz e di 30 kHz sono stati ottenuti risultati rispettivamente pari a 11° e 8-9.5°.

I limiti di ambedue gli esperimenti riguardano il ridotto numero di soggetti testati, che riduce le possibilità di generalizzazione dei dati ottenuti e impedisce l'analisi della variabilità intraspecifica ed interspecifica, e l'applicazione di metodologie di indagine che non permettono di evidenziare eventuali miglioramenti delle performance. In aggiunta, a causa degli approcci utilizzati, la maggior parte dei dati ottenuti sono lontani e non focalizzati nella regione di interesse. Per superare tali limiti, nel corrente esperimento, sono stati testati 8 soggetti ed è stato adottato un approccio basato sulla procedura Staircase. Il metodo Staircase prevede l'aumento dell'ampiezza dell'angolo testato quando il soggetto non risponde correttamente alla presentazione del suono e la diminuzione dell'angolo di separazione quando invece c'è una risposta adeguata allo stimolo precedente [5]. In altri termini i gradi di separazione testati devono essere incrementati o diminuiti a seconda delle abilità del soggetto. Nel caso specifico, la procedura discendente (vedi dettagli procedurali più avanti) ha avuto inizio ad un angolo di separazione ben al di sopra della soglia prevista, a partire dal quale si è poi scesi progressivamente. La procedura ascendente invece ha avuto inizio da un valore inferiore rispetto alla soglia ipotizzata ed è poi proseguita con graduali incrementi di ampiezza dell'angolo.

Il metodo Staircase è stato applicato in questo studio perché esso permette l'ottenimento di un maggior numero di prove centrate vicino al punto di interesse e dà l'opportunità di seguire i cambiamenti delle risposte del soggetto. E' necessario tuttavia tenere in considerazione che con questo tipo di approccio, il soggetto potrebbe influenzare le sue risposte qualora si rendesse conto che gli stimoli vengono presentati seguendo una regola sequenziale che dipende dal modo in cui risponde.

2. MECCANISMI DI RILEVAZIONE ED ELABORAZIONE DEL SUONO

2.1 Anatomia dell'orecchio

L'orecchio è l'organo dell'udito e dell'equilibrio; la sua funzione è quella di percezione degli stimoli acustici e di quelli gravitari e di accelerazione. Ne consegue che esso è costituito da

due diversi tipi di ricettori: acustici e statocinetici.

L'orecchio viene topograficamente distinto in tre porzioni: orecchio esterno, orecchio medio e orecchio interno. L'orecchio esterno raccoglie le onde sonore. Esso è composto dal padiglione auricolare e dal meato acustico, che è separato dall'orecchio medio dalla membrana timpanica. Il padiglione auricolare è un rilievo fibrocartilagineo, rivestito da cute, posizionato ai lati della testa. Nello specifico esso si compone di: rivestimento cutaneo, scheletro cartilagineo, legamenti e muscoli. Può avere forma, dimensione e modalità di impianto differenti. Il padiglione si può distinguere in due facce, la faccia mediale e la faccia laterale. Il meato acustico esterno (o condotto uditivo esterno) è invece un condotto a scheletro fibrocartilagineo ed osseo, che mette in comunicazione la conca del padiglione auricolare con la membrana timpanica. Il primo terzo del condotto è più ampio e costituito da membrana cartilaginea, mentre la porzione mediale ha diametro inferiore ed è racchiusa dall'osso del meato acustico esterno dell'osso temporale, sul contorno del quale si innesta la membrana del timpano, che è disposta in direzione obliqua, con un angolo di 55° . La membrana del timpano è molto sottile, ha forma di ellissoide e convessità mediale. Essa presenta due superfici: una superficie laterale, rivolta verso il meato acustico, e una superficie mediale, che è rivolta verso la cavità del timpano.

L'orecchio medio è costituito dalla cavità del timpano ed è rivestito internamente da tonaca mucosa di tipo respiratorio. Al suo interno è presente aria, che proviene dall'orecchio esterno. Esso accoglie la catena dei tre ossicini dell'udito. Questi ultimi, grazie al loro movimento, trasmettono alla coclea le vibrazioni della membrana del timpano che sono generate dalle onde sonore. Oltre alla cavità timpanica e agli ossicini dell'udito, nell'orecchio medio sono presenti anche la cavità mastoidea e la tuba uditiva. La cavità del timpano è una concavità ossea costituita da tre strati: recesso epitimpanico, cavità del timpano propriamente detta e recesso ipotimpanico. Essa accoglie i tre ossicini dell'udito, il martello, l'incudine e la staffa. Queste tre strutture sono collegate tra loro da due articolazioni sinoviali: un'articolazione a sella tra incudine e martello e un'artrosi tra incudine e staffa. Il martello è, tra tutti, quello di dimensioni maggiori ed il più laterale. È costituito da una testa, un collo e un manico, e da due processi (anteriore e laterale). L'incudine ha una forma che richiama quella di un dente molare; la sua struttura è definita da un corpo, che si articola con la testa del martello, e da due processi, il processo lungo e il

processo breve. Infine, la staffa, che è posta medialmente all'incudine, si costituisce di: una testa, due archi (anteriore e posteriore) e una base. La base della staffa consta di due facce: la faccia laterale, rivolta in direzione della cavità timpanica, e la faccia mediale, che si rivolge al vestibolo.

L'orecchio interno è posto nella parte petrosa dell'osso temporale, dove si trovano gli organi adibiti alla percezione dell'udito e all'equilibrio. Questi poggiano sul labirinto membranoso, la cui struttura è costituita da una serie di sacchi e dotti, contenenti al loro interno l'endolinfa. Il labirinto membranoso, a sua volta, è racchiuso nel labirinto osseo; tra i due si interpone lo spazio perilinfatico, nelle cui fessure scorre la perilinfa. La diversa composizione di endolinfa e perilinfa fa sì che la prima abbia un potenziale elettrico maggiore della seconda; le esistenti differenze elettrochimiche sono alla base della trasformazione delle vibrazioni, che si generano nei liquidi dell'orecchio interno, in risposta ai movimenti della testa o alla trasmissione meccanica delle onde sonore, in segnali chimici da parte dei tre ossicini. Tali informazioni vengono inviate al nervo vestibolococleare e, da qui, trasmesse al sistema nervoso centrale per mezzo delle vie acustiche e vestibolari. Il labirinto osseo si compone di: vestibolo, canali semicircolari, coclea, meato acustico interno e spazio perilinfatico. La coclea ha forma a spirale, con una base ed un apice. Essa si compone di un cono osseo centrale, il modiolo, attorno al quale è situato il canale spirale della coclea e dal quale si diparte la lamina spirale ossea. Il labirinto membranoso, invece, consta di due componenti funzionali: il labirinto vestibolare e il labirinto cocleare, che include il dotto cocleare. Il labirinto vestibolare è formato da tre dotti semicircolari: utricolo, sacculo e dotto endolinfatico; queste sono tutte strutture interconnesse tra loro, all'interno delle quali si trova l'endolinfa. Nel labirinto vestibolare sono contenuti i recettori per l'equilibrio, che sono deputati al controllo della posizione e del movimento della testa. Il labirinto cocleare invece è costituito dal dotto cocleare e ospita l'organo del Corti, dove si trovano i recettori acustici. L'organo spirale rappresenta il sensore dell'udito; esso è deputato all'analisi dei suoni, che vengono trasformati in vibrazioni della perilinfa e dell'endolinfa, in corrispondenza della coclea. L'organo del Corti è costituito da epitelio specializzato, che poggia sulla lamina basale. Le cellule sensoriali sono di due tipi: cellule acustiche interne e cellule acustiche esterne. Le prime sono disposte in un'unica fila, hanno aspetto cilindrico e nella loro porzione apicale hanno una serie di stereociglia, disposte a "U" o a "V". Le cellule

acustiche esterne invece sono disposte su più file, in numero variabile da tre a cinque, passando dal giro basale a quello apicale della coclea. Nelle loro estremità distali, presentano delle stereociglia; queste sono più numerose di quelle presenti nelle cellule acustiche interne, ma la loro disposizione è la medesima.

2.2 Neurofisiologia: meccanismi di trasduzione del segnale

Il suono consiste nella compressione e rarefazione delle molecole di gas che compongono l'aria da parte di movimenti vibratori che si propagano in modo lineare, generando l'onda sonora [6]. Le oscillazioni generate dal suono vengono raccolte dal padiglione auricolare e da questo convogliate poi, attraverso il meato acustico esterno, alla membrana timpanica. Vengono così attivati movimenti ciclici della membrana, alternativamente verso l'interno e verso l'esterno. Le deviazioni meccaniche vengono quindi trasmesse alla catena degli ossicini e successivamente alla staffa nella finestra ovale, generando un movimento a stantuffo, che aumenta e diminuisce la pressione a cui è sottoposta la perilinfa della scala vestibolare della coclea. L'effetto della variazione di pressione si ripercuote sulla perilinfa della scala timpanica, sia attraverso l'elicotrema, sia, a causa del fenomeno di riflessione, verso il basso attraverso la scala media (dotto cocleare). Il movimento retrogrado proveniente dal dotto cocleare estende verso l'esterno o verso l'interno la membrana elastica della finestra rotonda; questo spostamento genera un'onda che solleva la lamina basilare e si propaga verso l'apice della coclea. L'onda raggiunge la sua massima ampiezza in un preciso segmento, secondo la frequenza del suono. A causa della sua diversa consistenza nei diversi punti della coclea, la lamina basale è sensibile a specifiche frequenze nei suoi distinti segmenti. In corrispondenza del giro apicale, essa è larga, sottile e molle ed è sensibile alle basse frequenze, mentre a livello del giro basale è spessa e rigida e sensibile alle alte frequenze. Data la disposizione tonotopica della lamina basilare, ogni cellula acustica è maggiormente sensibile ad una specifica frequenza, definita come "frequenza caratteristica". Le cellule acustiche ciliate nell'organo del Corti, l'epitelio sensoriale che corre per tutta la lunghezza della membrana basilare della coclea, espletano la trasduzione meccanoelettrica, ossia trasducono l'energia meccanica in attività bioelettrica, la quale, sotto forma di

potenziale d'azione, viene trasmessa al sistema nervoso centrale uditivo, attraverso il primo nervo cocleare. Il nervo cocleare si genera per confluenza di tutti gli assoni dei neuroni gangliari e penetra nel tronco encefalico a livello della fossetta sopraolivare e contrae sinapsi con il secondo neurone nei nuclei cocleari ventrale e dorsale. Ciascun assone dei neuroni gangliari contrae sinapsi con più tipi di neuroni (cellule fusiformi, cellule octopus, cellule stellate e cellule a cespuglio), dai quali hanno origine tre vie parallele ascendenti. Queste ultime sono dette strie acustiche e sono la stria anteriore (corpo trapezoidale), la stria intermedia e la stria posteriore. La prima tra queste è formata dalle cellule fusiformi e stellate, che sono collocate in corrispondenza della metà ventrale dei nuclei cocleari ventrali. La stria intermedia ha origine dalle cellule octopus, localizzate nella metà dorsale dei nuclei cocleari ventrali; infine la stria acustica posteriore è costituita dalle cellule fusiformi, che si trovano nei nuclei cocleari dorsali. Gli assoni, sia delle fibre dell'orecchio omolaterale, che delle fibre dell'orecchio controlaterale, costituiscono il laminisco laterale, il quale raggiunge il collicolo inferiore o in modo diretto o prendendo stazione simpatica intermedia a livello dei nuclei acustici del ponte. Tali nuclei sono: nucleo olivare superiore, nuclei del corpo trapezoide e nuclei del laminisco laterale. Ne consegue che il laminisco laterale è costituito da tre vie assonali: una che coinvolge il nucleo del corpo trapezoide, una che coinvolge i nuclei del laminisco laterale e una che raggiunge direttamente il collicolo inferiore. La prima via permette all'individuo di localizzazione una fonte sonora a partire da due differenze interaurali, la differenza di latenza e la differenza di intensità. Il complesso olivare superiore è costituito dal nucleo olivare superiore mediale, che elabora le differenze di latenza, e il nucleo olivare superiore laterale, che analizza le differenze di intensità.

Le cellule a cespuglio, che sono localizzate nel nucleo cocleare ventrale, attraverso la stria acustica anteriore, proiettano al nucleo olivare superiore mediale di entrambi i lati i loro assoni, i quali raggiungono poi il collicolo inferiore attraverso il laminisco laterale. Queste strie neurali rilevano le coincidenze temporali; ciascun neurone di una stria indica una differenza di tempo e permette quindi la collocazione spaziale della fonte sonora. Nel nucleo cocleare ventrale sono presenti anche le cellule stellate che hanno funzione di attivatori nei confronti del nucleo olivare superiore laterale ipsilaterale e del nucleo del corpo trapezoidale controlaterale, il quale a sua volta inibisce il nucleo olivare superiore laterale attiguo. Nel nucleo, che si trova dallo stesso lato della sorgente sonora, si ha l'attivazione delle efferenze

dirette al collicolo inferiore, mentre in quello controlaterale si ha inibizione delle efferenze. Nel collicolo inferiore sono presenti numerosi neuroni che ricevono e conseguentemente trasmettono le informazioni relative alla posizione spaziale di una fonte acustica. Dal collicolo inferiore si dipartono le efferenze che giungono al corpo genicolato mediale, a livello del mesencefalo. I dati relativi alle differenze di intensità e latenza sono proiettate al collicolo superiore; essi hanno funzione di guida del movimento degli occhi. Il corpo genicolato mediale comunica con l'area acustica primaria (A1) attraverso le fibre genicolotemporali. All'interno dell'area A1 si riconoscono alternativamente colonne di sommazione e colonne di soppressione; nel primo caso i neuroni sono eccitati sia da efferenze controlaterali, che omolaterali, mentre nel secondo caso essi sono eccitati dalle afferenze controlaterali e inibiti da quelle dello stesso lato. Questa struttura permette ai neuroni di A1 di rilevare le differenze interaurali e di ricavare da queste la posizione di una sorgente sonora.

3. ANALISI BINAURALE

3.1 Differenza di tempo interaurale e differenza di livello interaurale

All'interno del sistema uditivo è la frequenza, e non la posizione, ad essere mappata sulla superficie della coclea. La posizione viene individuata sulla base di segnali acustici spaziali, i quali sono il risultato delle interazioni fisiche dei suoni con la testa e i padiglioni auricolari. Dall'analisi e integrazione dei segnali fisici si origina la rappresentazione neurale dello spazio uditivo [1]. La localizzazione di un suono avviene mediante l'analisi di tre dimensioni, comprendenti due angoli e una distanza. Orizzontalmente, l'informazione acustica deriva dall'angolo azimutale, mentre l'angolo verticale fornisce un'approssimazione dell'elevazione della fonte; la distanza definisce infine la profondità.

Le onde sonore colpendo l'orecchio generano un movimento unidimensionale del timpano, indipendentemente dal tipo di suono. Il cervello uditivo, dall'analisi e dal confronto dei movimenti dei due timpani, estrae i segnali fisici che derivano dallo spazio uditivo. Le

cellule ciliate specializzate, che costituiscono l'epitelio sensoriale dell'orecchio interno, e i microcircuiti delle vie uditive inferiori consentono un'analisi dettagliata e ad alta risoluzione di tali parametri fisici, comprese le caratteristiche temporali. Nello specifico l'analisi binaurale, secondo la teoria duplex, si realizza a partire da due differenze interaurali, ossia la differenza di tempo interaurale (ITD) e la differenza di livello interaurale (ILD) (o differenza di intensità interaurale). ITD e ILD sono il frutto della conformazione anatomica degli animali, per cui le due orecchie assumono coordinate spaziali diverse [7]. Poiché la distanza tra la sorgente sonora e ciascuno dei due padiglioni auricolari è differente, il tempo e l'intensità con cui ciascun orecchio viene stimolato non sono i medesimi. L'orecchio ipsilaterale, ossia l'orecchio più prossimo alla sorgente sonora, infatti, riceve il segnale prima di quello controlaterale. La prima informazione che viene utilizzata per la localizzazione del suono sul piano orizzontale, per frequenze superiori a 2 kHz, è la differenza di intensità binaurale, per cui vi è una discrepanza nella percezione dell'intensità di un suono tra le due orecchie. Tale differenza è attribuibile all'effetto ombra acustico (HSE) generato dalla testa, la quale altera il segnale sonoro ricevuto dall'orecchio controlaterale, riducendone l'intensità percepita. Alle basse frequenze, la lunghezza d'onda maggiore permette la rifrazione dello stimolo all'orecchio controlaterale, quindi l'intensità percepita dalle due orecchie è pressoché simile. Le alte frequenze, invece, hanno una lunghezza d'onda inferiore o uguale al diametro della testa, per cui quest'ultima ostruisce la propagazione delle onde all'orecchio controlaterale; ne risulta che l'intensità percepita dall'orecchio ipsilaterale è maggiore rispetto a quella percepita dall'orecchio opposto [8].

La differenza di tempo interaurale è invece il tempo di propagazione del suono tra le due orecchie; quest'informazione permette di identificare la provenienza di tutti i suoni a bassa frequenza e di tutti i segnali complessi ad alta frequenza, come i rumori. Woodworth & Schlosberg [9] hanno modellato le orecchie e la testa come due punti su una sfera rigida. Sulla base della geometria, hanno calcolato l'ITD come:

$$a/c [x + \sin(x)]$$

dove "a" indica il raggio della sfera, "c" la velocità di propagazione del suono in aria e "x" l'angolo in radianti.

Riassumendo, la teoria duplex, formulata da Lord Rayleigh, afferma che la localizzazione del suono alle basse frequenze si basa su differenze di fase alle due orecchie (10 μ s per l'uomo), mentre la localizzazione ad alta frequenza si basa su differenze interaurali nel livello sonoro (pari a 1 dB nell'uomo) [10].

3.2 Cono di confusione

ITD e ILD forniscono una localizzazione precisa sul piano orizzontale, ad eccezione che per il cosiddetto “cono di confusione”. Per i suoni provenienti da un'angolazione compresa all'interno di questo cono, il cui asse è la linea interauricolare, il soggetto non è in grado di ricavare le coordinate percettive, ossia di distinguere se la fonte si trova davanti o dietro, sopra o sotto, o in qualsiasi altra area compresa nel cono, in quanto all'interno di questa area le differenze interaurali non variano quando le sorgenti sonore cambiano di posizione [5].

Oltre ai segnali binaurali, il sistema uditivo sfrutta le modificazioni spettrali della frequenza in termini di ampiezza e fase per la localizzazione del suono. Tali alterazioni vengono descritte da una funzione definita come “funzione di trasferimento relativa alla testa” (HRTF) e sono generate dall'interazione delle onde sonore con la testa e, soprattutto, con il padiglione auricolare [11]. Il movimento della testa e la sua rotazione modificano la posizione del cono di confusione, minimizzando il suo effetto dannoso, nonché alterano l'ampiezza e la fase delle onde sonore, generando segnali binaurali dinamici, che perfezionano la localizzazione e sono alla base della capacità di disambiguazione del cono di confusione. Senza tali segnali extra-binaurali e spettrali, utilizzando solo segnali binaurali, la disambiguazione non sarebbe possibile.

3.3 Effetto precedenza

Un'altra peculiare caratteristica della localizzazione sonora è l'effetto precedenza. Esso è il frutto di un adattamento alla comune presenza di riflessi nell'ambiente naturale, per cui un individuo è esposto, non solo alle onde sonore dirette, ma anche ad onde che vengono

riflesse dalle superfici circostanti [12]. Le sorgenti sonore reali sono seguite da prime riflessioni che sono spettrotemporalmente simili ai loro segnali sorgente, ma arrivano con un ritardo di pochi millisecondi e portano segnali acustici spaziali non correlati alla posizione della sorgente [13].

L'effetto precedenza, tuttavia, permette di inibire la percezione dei riflessi, che arrivano da direzioni errate, attraverso percorsi più lunghi, in modo tale che la stima della posizione della fonte sonora sia basata solo sul primo stimolo e si limitino quindi possibili errori [14]. La soppressione della discriminazione del ritardo fa sì che l'ascoltatore tenda a localizzare uno stimolo acustico in un'unica posizione, solo sulla base delle informazioni del primo segnale percepito. L'utilità ecologica dell'effetto precedenza riguarda la necessità degli individui di sopprimere gli echi, ovvero di evitare gli effetti percettivi dei riflessi che potrebbero altrimenti interferire con la localizzazione delle sorgenti acustiche. A seconda dell'organismo, l'effetto precedenza quindi agevola la comunicazione, l'individuazione delle prede, l'evitamento dei predatori e la consapevolezza ambientale, in un ambiente naturale.

4. UDITO AD ALTA FREQUENZA

4.1. Evoluzione dell'orecchio medio nei mammiferi

Nei tetrapodi non mammiferi, ossia in anfibi, rettili e uccelli, le orecchie sono interconnesse internamente attraverso la bocca o attraverso un canale interaurale; tale conformazione fa sì che il suono, non solo raggiunga la superficie esterna della membrana timpanica ipsilaterale, ma possa anche passare attraverso la testa, per raggiungere la superficie timpanica dell'orecchio opposto. Negli anfibi e nella maggior parte dei rettili, il suono raggiunge entrambe le orecchie viaggiando attraverso la cavità buccale, mentre negli uccelli e nei coccodrilli esso si propaga attraverso il canale interaurale. Questa disposizione permette all'orecchio di esercitare la funzione di ricevitore del gradiente di pressione, migliorando la direzionalità del suono. L'evoluzione dell'udito nei mammiferi è stata accompagnata da tre cambiamenti anatomici: lo sviluppo dell'orecchio medio a tre ossa, lo sviluppo delle

orecchie esterne e l'isolamento acustico delle due orecchie. L'isolamento delle due orecchie ha portato con sé la perdita del vantaggio direzionale delle orecchie accoppiate. E' stato ipotizzato che tale evoluzione sia riconducibile alla presenza nei mammiferi della respirazione continua; l'isolamento delle orecchie dalla bocca si sarebbe quindi sviluppato per evitare l'interferenza dei suoni respiratori nella percezione dei suoni esterni. Anfibi e rettili non necessitano di orecchie isolate perché hanno una respirazione intermittente [15]. Gli uccelli invece, come i mammiferi, respirano continuamente, ma hanno evoluto un canale che collega le orecchie attraverso il cranio; in tal modo essi sfruttano i vantaggi delle orecchie accoppiate, mantenendo però isolate le orecchie dalla bocca.

Poiché l'isolamento acustico delle orecchie dei mammiferi ha determinato il venir meno delle informazioni relative alla direzionalità, si è reso necessario il conseguente sviluppo delle orecchie esterne e l'acquisizione dell'udito ad alta frequenza. L'orecchio medio a tre ossa consente ai mammiferi di sentire a frequenze ben al di sopra del limite superiore di 10 kHz dei tetropodi non mammiferi, il che permette l'utilizzo della differenza di intensità binaurale e la generazione di segnali pinna. L'uso delle alte frequenze per la localizzazione del suono potrebbe essersi evoluto in conseguenza della perdita del vantaggio di orecchie interconnesse che fungono da ricevitori della differenza di pressione e che migliorano la direzionalità del suono. Esistono prove sostanziali che l'udito ad alta frequenza si sia evoluto nei mammiferi principalmente allo scopo di localizzare il suono. I pipistrelli utilizzano il loro udito ad alta frequenza anche per l'eco-localizzazione [16]. L'utilizzo delle alte frequenze in questa particolare situazione sembra però essere il frutto di adattamenti secondari.

4.2 Effetto della dimensione funzionale della testa sulla frequenza massima udibile

La capacità uditiva ad alta frequenza varia ampiamente entro le diverse specie di mammiferi: il limite uditivo ad alta frequenza varia da 5,9 kHz per la talpa cieca (un roditore sotterraneo) a oltre 100 kHz per alcuni pipistrelli e focene. Le importanti differenze tra specie nella capacità uditiva ad alta frequenza sono state per la prima volta osservate da Masterton et al. [17]; esso ha dimostrato che i mammiferi più piccoli generalmente hanno un udito ad alta frequenza migliore rispetto alle specie di grandi dimensioni. Ciò deriva dal fatto che, minore

è il tempo impiegato dal suono per viaggiare intorno alla testa da un orecchio all'altro, più alto deve sentire il soggetto per localizzare adeguatamente il suono. Per quantificare la relazione tra la dimensione della testa e l'udito ad alta frequenza, è stato necessario introdurre il concetto di dimensione funzionale della testa, ossia il massimo ritardo interaurale, in unità di tempo, che un animale può subire, che è il tempo impiegato dal suono per viaggiare intorno alla testa da un orecchio all'altro [2]. La capacità uditiva ad alta frequenza è definita come la frequenza più alta udibile ad un livello particolare, tipicamente un livello di pressione sonora (SPL) di 60 dB. Dalle prime analisi statistiche condotte da Masterton sui dati delle 18 specie di mammiferi allora disponibili è emersa una buona correlazione tra dimensioni funzionali della testa ed udito ad alta frequenza. Per le 69 specie per le quali i dati sono attualmente disponibili, permane una forte correlazione negativa tra la dimensione funzionale della testa e la frequenza massima udibile ad un livello di 60 dB ($r = -0,79$). Riassumendo, al diminuire delle dimensioni funzionali della testa, aumenta il limite superiore di frequenza uditiva affinché la testa generi una differenza di intensità utilizzabile. Heffner [18] ha sottolineato inoltre che tale relazione si applica esclusivamente alle differenze tra specie e non alle variazioni nelle dimensioni entro specie. Non è stata infatti rilevata alcuna variazione nell'udito ad alta frequenza confrontando razze canine con dimensioni funzionali della testa molto differenti tra loro; l'esame dell'udito del Chihuahua ha infatti dato risultati simili a quello del San Bernardo, che ha dimensione della membrana timpanica doppia rispetto al primo. Sulla base del Δt massimo rilevato, definito come la massima distanza interaurale misurata attorno alla testa, diviso per la velocità del suono nell'aria, le soglie di alta frequenza (a 60 dB SPL) attese, secondo la relazione tra distanza interaurale e udito ad alta frequenza, per Chihuahua e San Bernardo erano rispettivamente pari a 320 kHz e 650 kHz. Contrariamente a quanto previsto, è emerso che le due razze avevano una soglia di udito ad alta frequenza uguale, pari a 47 kHz.

5. ACUITA' DI LOCALIZZAZIONE

5.1 Abilità di localizzazione: influenza di anatomia, stile di vita e parametri visivi

L'accuratezza della localizzazione è comunemente stimata addestrando gli animali a compiere un compito di discriminazione destra-sinistra di uno stesso suono, prodotto casualmente da un altoparlante collocato ad una certa angolazione a destra o a sinistra dell'azimut. Lo stimolo è tendenzialmente un rumore a banda larga di durata sufficientemente limitata da non permettere movimenti di scansione e tracciamento del segnale. La velocità di produzione è funzionale all'osservazione della capacità del sistema uditivo di calcolare la posizione; aumentare eccessivamente il tempo, vorrebbe dire indagare le capacità di un animale di scansionare e tracciare un segnale in corso fino alla sua fonte e non la sua abilità di localizzazione sonora.

Un tempo si credeva che tutti i mammiferi fossero soggetti ad una pressione selettiva mirata all'ottenimento delle migliori capacità possibili di localizzazione dei suoni e che l'unico fattore limitante la loro accuratezza fosse la disponibilità dei segnali locus, che è correlata con la dimensione della testa. I primi studi condotti, infatti, avevano fatto supporre che l'acuità di localizzazione fosse correlata positivamente con le dimensioni funzionali della testa, in quanto si pensava che crani di larghezza superiore dessero origine a segnali fisici maggiori. Tale supposizione ha avuto origine dalla mancanza di un quadro interspecifico completo; i primi dati a disposizione, che evidenziavano che gli esseri umani e gli elefanti hanno una migliore acuità di localizzazione del suono rispetto a cani e gatti, che a loro volta hanno un'acuità migliore rispetto ai ratti, hanno fatto presumere che i grandi segnali binaurali, generati dalle grandi teste, fossero necessari per una buona localizzazione. La suddetta teoria è stata confutata grazie all'acquisizione di nuovo materiale scientifico, secondo cui cavalli e bovini hanno rispettivamente un'accuratezza di 25° e 30°; non necessariamente una testa funzionale di larghezza importante è dunque accompagnata da una buona acuità di localizzazione [16]. Accantonata questa ipotesi, sono stati indagati altri attributi che potessero influenzare la capacità di localizzazione del suono. Heffner R.S. & Heffner H.E. [19] hanno indagato le correlazioni esistenti tra acuità di localizzazione del

suono e sei fattori, relativi a caratteristiche anatomiche, stile di vita e parametri visivi, che presumibilmente potevano influenzare le performance degli animali. Uno tra questi è la distanza interaurale intorno alla testa, che può essere utilizzata dai soggetti come stima dell'entità dei segnali in assenza di misure dirette; questa misura si avvicina con una buona approssimazione al tempo massimo impiegato da un suono per spostarsi da un meato uditivo all'altro, propagandosi attorno alla testa. Un altro elemento che è stato oggetto di indagine è la classificazione trofica, ossia il grado in cui una specie è predatoria o predata. Grazie alle informazioni ricavate dalla letteratura, ciascuna specie è stata classificata sulla base di uno score che va da 1 a 5, in cui 1 corrisponde ai predatori rigorosi e 5 alle specie prettamente predate. Un altro aspetto caratterizzante lo stile di vita delle diverse specie, che è stato preso in esame, è la modalità di attività notturno-diurna. Similmente a quanto fatto per il precedente parametro, facendo fede alle descrizioni riportate nelle precedenti pubblicazioni, gli animali sono stati suddivisi a seconda della frequenza delle loro attività in condizioni che non consentano una buona visione. Dall'analisi dei modelli di attività ciclica, è emerso che pochi mammiferi hanno abitudini strettamente notturne e che, ancora meno, sono prettamente diurni, per cui il fattore che è stato ritenuto maggiormente rilevante è stato la presenza o assenza di attività in ambienti buii. Quello che è emerso è che gli individui appartenenti alle diverse specie possono essere frequentemente o raramente attivi, o non essere mai attivi, nelle ore notturne. Relativamente alle abilità visive, Heffner ha considerato come elementi potenzialmente rilevanti: acuità visiva, campi visivi binoculari e larghezza del miglior campo visivo. Per le specie di cui i dati erano disponibili, la massima acuità visiva, ossia il minimo valore dell'angolo sotto il quale si ha la visione distinta di due punti luminosi, è stata calcolata come cicli per grado (c/deg); per le restanti categorie di soggetti, l'acuità è stata stimata mediante il campionamento di Shannon Theorem. Secondo tale teoria, la frequenza spaziale teorica massima risolvibile è pari alla radice quadrata di x , diviso due, in cui x è uguale al numero di cellule gangliari per grado al quadrato. L'utilizzo di ambedue i metodi di stima è stato possibile perché la correlazione dei dati ottenuti mediante l'applicazione dei due metodi alle specie di cui i dati erano disponibili è risultata essere buona.

Come già anticipato, anche i campi visivi binoculari sono stati studiati da Heffner, che li ha definiti come la "larghezza dell'angolo di sovrapposizione dei campi retinici dell'occhio

sinistro e destro”. Il campo retinico orizzontale per ciascun occhio è stato ottenuto stimando l’angolo attraverso il quale la luce di un oftalmoscopio poteva essere riflessa attraverso la lente e sulla retina. L’ultimo parametro considerato è la larghezza del miglior campo visivo, corrispondente alla misura anatomica della densità delle cellule gangliari retiniche. La regione di miglior acuità è quell’area in cui la densità delle cellule gangliari è pari ad almeno il 75% del massimo. Nel cane il numero totale di cellule gangliari è stato stimato essere pari a 115.000, mentre la densità massima delle cellule gangliari nell’area centrale è risultata essere compresa tra 6.400/mm² e 14.400/m² [20]. Le densità più elevate sono state riscontrate in una regione di area limitata, con una densità massima corrispondente a 5.1° di miglior visione.

Mediante il ricorso all’analisi di regressione semplice è emerso che l’acuità di localizzazione del suono correla in maniera significativa con la larghezza del miglior campo visivo; la correlazione parziale (sono stati rimossi matematicamente tutti gli altri fattori potenzialmente influenzanti il risultato) tra questi due fattori è in media pari a 0.86. Gli altri elementi considerati invece influenzano solo in minima parte (13%) le abilità di localizzazione del suono; tuttavia poiché la visione è influenzata dallo stile di vita, si ha come risultato che i fattori relativi allo stile di vita diventano indirettamente correlati alle capacità uditive.

5.2 Correlazione tra abilità di localizzazione e larghezza del campo visivo migliore

Poiché la larghezza del campo visivo migliore può essere considerata come un buon predittore dell’acuità di localizzazione del suono, gli animali con campi stretti della miglior visione sono localizzatori molto accurati, mentre le specie con campi ampi sono localizzatori poveri. Partendo da questa considerazione, è possibile supporre che la fonte di pressione selettiva per la localizzazione del suono, sia la precisione richiesta dal comportamento di orientamento del campo visivo verso la direzione di provenienza del segnale sonoro. Va sottolineato che è l’acuità visiva relativa che deve essere presa in esame e non l’acuità visiva assoluta, in quanto un animale che orienta il proprio sguardo verso una fonte, lo fa utilizzando la miglior visione che ha a disposizione, indipendentemente da quanto essa possa essere accurata in relazione alla miglior visione di altre specie. Le specie di prede, come

bovini e capre, beneficiano della capacità di individuare predatori in avvicinamento da qualsiasi punto dell'orizzonte, perché la posizione laterale dei loro occhi garantisce una miglior visione diffusa sull'orizzonte della retina, tale per cui quasi tutte le direzioni sono già incluse nel campo visivo dell'animale. Non è quindi necessario che il sistema uditivo fornisca indicazioni precise sulla provenienza di una fonte sonora per orientare lo sguardo. Contrariamente, specie con attitudini predatorie, come cani e gatti, hanno campi visivi ristretti, orientati frontalmente, che beneficiano delle informazioni direzionali fornite dal sistema uditivo.

L'ipotesi dell'esistenza di una correlazione tra abilità visive e uditive è stata confermata da studi condotti da Irving & Harrison [21], relativi alle presenti coordinazioni tra sfere sensoriali differenti. Tali ricerche hanno evidenziato una corrispondenza tra le dimensioni del nucleo olivare superiore mediale nel tronco cerebrale, che analizza le differenze temporali interaurali, e il sesto nucleo nervoso, che è deputato all'orientamento degli occhi verso l'azimut. La stretta relazione tra visione e localizzazione è ulteriormente supportata dall'osservazione dei roditori sotterranei, nei quali l'adattamento ad ambienti bui, che non permettono l'esame visivo delle sorgenti sonore, è andato di pari passo con la degenerazione delle abilità di localizzazione.

Oltre che per l'acuità di localizzazione, i mammiferi differiscono tra loro per l'uso dei segnali binaurali. La maggior parte dei mammiferi è in grado di localizzare toni puri sia a bassa che ad alta frequenza, indicando che sono in grado di utilizzare sia segnali di differenza di intensità che di differenza di fase. Ciò nonostante alcune specie possono utilizzare uno solo di questi segnali. I cavalli e i bovini possono utilizzare solo il tempo binaurale, mentre le capre e gli elefanti indiani utilizzano entrambi i segnali, ma non sono in grado di utilizzare le differenze di intensità per le frequenze nelle ottave superiori delle loro gamme uditive. Vi sono poi alcune specie di roditori sotterranei che rinunciano ad entrambi i segnali locus e di conseguenza anche alla localizzazione; altre specie prive di orecchie esterne invece non possono utilizzare i segnali pinnae. I mammiferi evidenziano inoltre differenze sistematiche nel limite di frequenza superiore per l'uso del segnale di fase binaurale. In particolare, gli animali con teste piccole sono in grado di utilizzare il segnale di fase a frequenze più elevate rispetto agli animali con teste grandi.

6. OBIETTIVO DELLA TESI

Questo studio è stato realizzato con l'obiettivo di verificare l'applicabilità del metodo psicoacustico Staircase, alla determinazione, nel piano orizzontale, dell'angolo minimo udibile (MAA).

7. MATERIALI E METODI

7.1 Soggetti sperimentali

Per questo studio sono stati impiegati 8 cani (Tabella 7.1) di età media pari a $3,6 \pm 2,4$ anni e con distanza interaurale media di $11,6 \pm 2,1$ cm. La misura relativa alla distanza interaurale è stata ottenuta grazie all'ausilio di un calibro, che è stato posto su ambo i lati della testa all'altezza dell'entrata del canale uditivo.

Tutti i soggetti testati, al meglio delle informazioni ottenute dal proprietario e dall'osservazione del cane, erano sani.

Gli individui sono stati selezionati tenendo in considerazione la loro attitudine e disponibilità a cooperare nel laboratorio e la loro motivazione nei confronti del cibo. In aggiunta, considerando che la presenza dei soggetti presso il laboratorio era necessaria per più giorni nell'arco dello svolgimento della procedura, i cani sono stati individuati sulla base della disponibilità dei proprietari, i quali erano tutti dipendenti o studenti dell'Università di Padova.

I cani nel corso della giornata permanevano in stanze limitrofe al laboratorio, con libero accesso all'acqua, ma con disponibilità di cibo limitata tra una sessione e l'altra, per mantenere costante la motivazione. Dopo un addestramento iniziale di 2-3 mezze giornate, i cani venivano sottoposti ai test con cadenza settimanale (di media 3 mezze giornate) per un periodo variabile di uno o due mesi.

Lo studio è stato condotto nel rispetto delle normative relative all'impiego di animali nella ricerca; data la natura della procedura non è stata necessaria alcuna approvazione etica formale.

Tabella 7.1: dati relativi a sesso, razza, età, forma dell'orecchio e distanza interaurale dei cani

SOGGETTO	SESSO	RAZZA	ETA' (anni)	CANALE AURICOLARE	DISTANZA INTERAURALE (cm)
C1	F	Meticcio	3,0	Non coperto ¹	12,3
C2	F	Labrador	1,2	Parzialmente coperto ₂	12,9
C3	M	Pastore Australiano	1,5	Non coperto ¹	15,0
C4	F	Weimaraner	3,5	Parzialmente coperto ₂	11,5
C5	F	Meticcio	7,5	Coperto ³	10,0
C6	F	Whippet	6,8	Non coperto ¹	8,5
C7	M	Meticcio	1,4	Non coperto ¹	12,9
C8	M	Border Collie	3,6	Parzialmente coperto ₂	10,0

¹ le orecchie sono erette o semi-erette e non toccano l'entrata del canale auricolare

² le orecchie coprono l'entrata del canale auricolare, senza toccarla

³ le orecchie coprono e toccano l'entrata del canale auricolare

7.2 Setting sperimentale

I cani sono stati testati presso il Laboratorio di Etologia Applicata dell'Università di Padova. La stanza utilizzata per il test, avente dimensioni di 5,8 x 4,7 m, è stata allestita mediante l'applicazione di pannelli fonoassorbenti (model B, Zstyle, Italia), collocati di fronte al cane, dietro agli altoparlanti, sul soffitto e sulle finestre, per attenuare il rumore proveniente dall'esterno e per ridurre il fenomeno di riflessione del suono. Allo stesso scopo, le pareti sono state rivestite con spesse tende e il pavimento circostante l'apparato è stato coperto con tappeti. Tutti i test sono stati video-registrati grazie all'ausilio del software di acquisizione video Debut Professional [22], collegato ad un microfono (ULTRAMIC 384K BLE, Dodotronic company, Italia) e ad un sistema di tre telecamere a soffitto (due WV-CS570 e una WV-CP310, Panasonic, Cina). Le telecamere sono state posizionate in modo tale da fornire la visuale di: computer utilizzati per la produzione del suono (per definire l'esatto momento di produzione del suono), testa del cane durante la produzione del suono e tutta la stanza, per seguire i movimenti dell'animale e definire il lato e la tempistica della sua scelta.

7.3 Apparato acustico

I suoni utilizzati sono stati realizzati mediante l'utilizzo del software REW [23], di un fonometro (2250-S, Brüel & Kjær, Naerum, Danimarca), per la calibrazione del suono, e di un microfono (modello Brüel & Kjær, 4144), per la registrazione. Durante i test, il suono veniva regolato e prodotto mediante il software Audacity ® [24], con l'ausilio di due computer portatili MacBook Pro (13 pollici, Mid. 2012, Apple Inc, California, USA), uno per le prove di controllo e uno per le prove sperimentali (vedi dettagli riguardanti la procedura, più avanti). Per le prove sperimentali veniva utilizzato un rumore bianco, di intensità pari a 65 dB SPL, con una durata di 750 ms e con un tempo di salita e di decadimento di 250 ms. Per le prove di controllo venivano utilizzate due casse (definite "training speakers") poste a fianco ai distributori di cibo, lateralmente al cane, con un'angolazione di 60° rispetto all'azimut e una distanza dal centro di 148 cm. Per i test, invece, venivano utilizzate due casse addizionali (definite "testing speakers") (Inspire

T6100, Creative Labs, Inc. Milpitas, California, USA) collocate posteriormente al cane a terra, ad una distanza di 300-310 cm da esso e ad un'angolazione variabile tra 1° e 60°. La corretta angolazione delle casse per ciascuna sessione veniva ottenuta seguendo uno schema tracciato a terra, che indicava tutti gli angoli compresi tra 0,5° e 15° (+30°), considerando anche gli incrementi di mezzo punto, a destra e sinistra dell'azimut (0°). Tale scala è stata ottenuta prendendo in considerazione le linee congiungenti la posizione della testa del cane, la linea sagittale e ciascuno dei due altoparlanti. Al termine di ogni sessione, gli altoparlanti venivano invertiti di posizione, per ridurre la possibilità che gli animali potessero discriminare gli emettitori sulla base di segnali diversi dalla loro collocazione. Questa strategia impedisce la formazione di un'associazione tra qualità degli altoparlanti e loro posizione e permette agli sperimentatori di dimostrare che i risultati ottenuti sono frutto delle capacità del cane di localizzare una fonte sonora e indipendenti dalle caratteristiche della fonte stessa. Perché il suono potesse essere prodotto, era necessario che la testa del cane fosse adeguatamente posizionata nell'apparato. L'operatore del suono poteva quindi verificare il corretto posizionamento dell'animale grazie ad uno specchio posto a lato sul pavimento. L'apparato aveva dimensioni di 120 x 83 x 39 cm ed era dotato di una piccola tavola, regolabile in altezza (da 47 cm a 72,5 cm), per il posizionamento della testa del cane. Sopra alla tavoletta veniva collocata una coperta di un colore contrastante con il colore del mantello del cane, cosicché fosse più agevole per lo sperimentatore stabilire la presenza di eventuali posizioni scorrette. Era necessario, infatti, che tutta la testa del cane fosse poggiata sul cuscino e che essa fosse il più possibile in linea con l'azimut, in modo tale da garantire un'eguale distanza dei due padiglioni auricolari dalla rispettiva cassa. A tal fine la distanza tra le due pareti laterali dell'apparato poteva essere regolata dall'operatore a seconda della dimensione del soggetto.

La struttura dell'apparato era costituita da rete metallica, per ridurre al minimo la superficie interposta tra le casse e le orecchie dell'animale. Di fronte a questa struttura, ad una distanza di 60 cm, era stato collocato un pannello plastico opaco (120 x 100 cm), rivestito di materiale assorbente, per limitare eventuali fenomeni di disturbo e per impedire al cane la visuale dell'operatore del suono seduto dietro alla struttura, a circa 1,5 m dall'apparato. Al termine di ogni prova, in caso di scelta laterale corretta, il cane veniva ricompensato con del cibo (crocchette, Alpha spirit), tramite l'utilizzo di due erogatori di cibo (Treat and Train,

Premier, PetSafe, China), posti su entrambi i lati del cane ad una distanza da esso di 132,5 cm. A 45 cm da ciascun distributore era posizionata una linea gialla utilizzata per definire la scelta del cane e il momento in cui essa avveniva.

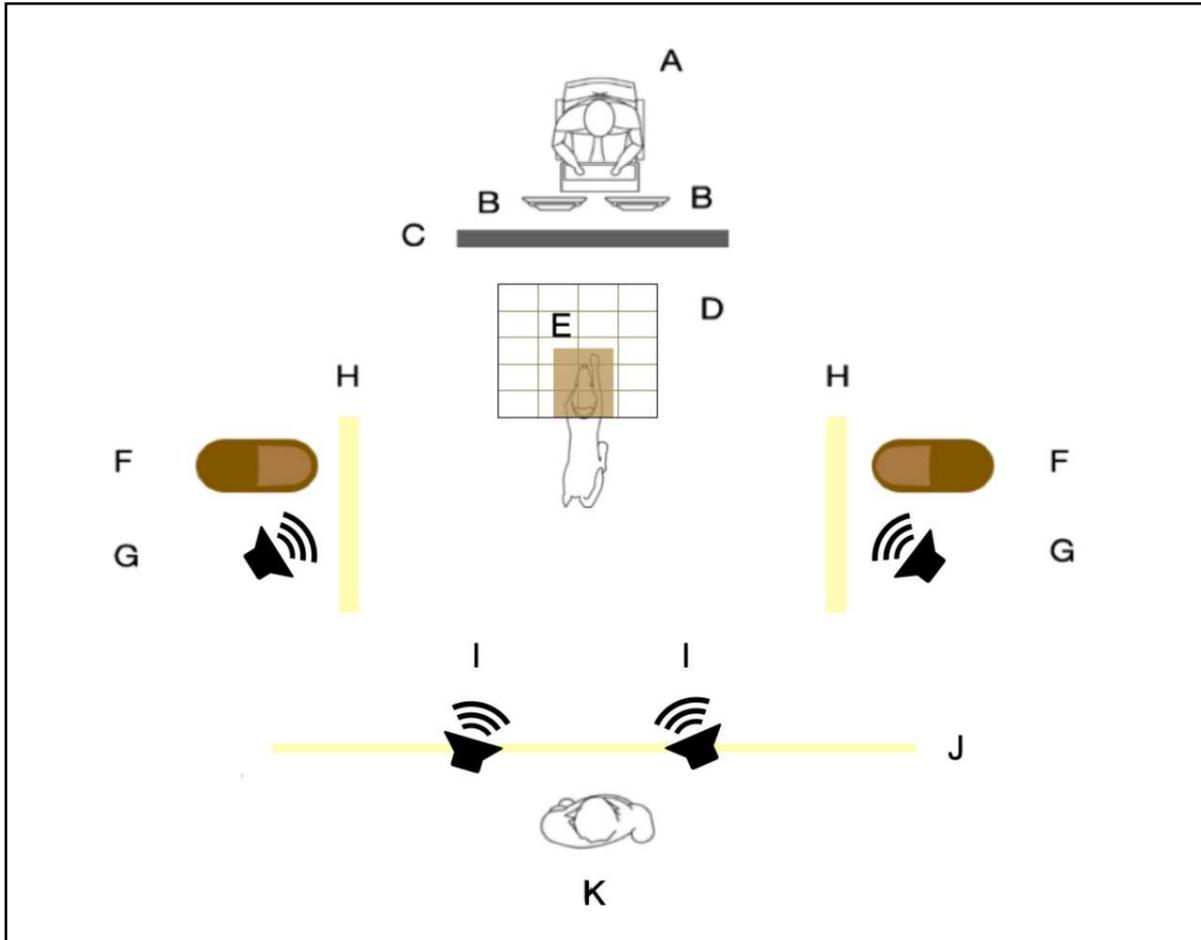


Figura 7.1 Schema della stanza e rispettiva disposizione degli oggetti sperimentali, con vista dall'alto. A: sperimentatore del suono, B: computer per la produzione del suono, C: pannello fonoassorbente, D: apparato, E: tavoletta di appoggio della testa del cane, F: distributori di cibo, G: "training speaker" (fissi), H: linea gialla per la definizione della scelta, I: "testing speaker" (mobili), J: schema degli angoli di separazione (tracciato a terra), K: sperimentatore del cane.

7.4 Procedura sperimentale

7.4.1 Addestramento preliminare

Per permettere ai cani di abituarsi alla stanza e ai vari oggetti in essa contenuti, i soggetti venivano inizialmente lasciati liberi per qualche minuto di esplorare, sotto la supervisione dello sperimentatore. Nel momento in cui il cane iniziava a dimostrare di essere a proprio agio con l'ambiente circostante, iniziava la fase di assuefazione al distributore di cibo, con l'obiettivo di agevolare l'associazione distributore-ricompensa e di desensibilizzare l'animale al suono del dispositivo. Raggiunto dal soggetto un buon livello di confidenza con il distributore, veniva introdotto uno stimolo sonoro, di media frequenza e di intensità attorno ai 30-40 dB SPL (chiaramente udibile). In questa fase, l'animale doveva manifestare interesse nei confronti dello stimolo e progressivamente dirigersi verso l'erogatore dopo aver sentito lo stimolo.

Nello step successivo, veniva messa in atto una procedura di shaping per insegnare al soggetto a poggiare la testa all'interno dell'apparato acustico, a seguito di un comando vocale ("pillow") emesso dallo sperimentatore del cane. Per agevolare il processo di apprendimento, questa fase era preceduta da una breve sessione in cui il comando doveva essere eseguito su di una sedia, anziché nell'apparato. Il tempo in cui si richiedeva al soggetto di permanere in posizione all'interno dell'apparato veniva aumentato progressivamente nel corso delle sessioni. Il corretto posizionamento della testa del cane al di sopra dell'apposita tavoletta, di cui era provvisto l'apparato, era di fondamentale importanza, in quanto le due orecchie dovevano essere disposte parallelamente al pavimento, ad un'egual distanza dagli emettitori. Nell'ultima fase di addestramento veniva reintrodotta lo stimolo acustico. Al cane era richiesto di eseguire un compito di discriminazione destra-sinistra, di uno stesso suono, prodotto casualmente da due altoparlanti, collocati ad un'angolazione di 60°, prima, e 30°, poi, a destra o a sinistra dell'azimut. Il soggetto emetteva la sua risposta dirigendosi verso il distributore di cibo corrispondente all'altoparlante che riteneva aver prodotto lo stimolo. Affinché l'addestramento potesse considerarsi compiuto, il cane doveva essere in grado di eseguire l'intera sequenza di azioni

previste. Una prova aveva inizio quando il soggetto era posizionato al fianco dello sperimentatore del cane, in modo tale che la sua testa fosse diretta verso il cuscino. La collocazione dello sperimentatore rispetto al cane doveva rimanere la stessa durante una stessa sessione e variare di sessione in sessione (destra o sinistra alternativamente), in modo tale che questa non potesse essere utilizzata dall'animale come fattore discriminante. Successivamente al cane era richiesta l'esecuzione del comando vocale e, dopo la produzione del suono, l'orientamento verso uno dei due lati.

In caso di posizioni errate all'interno dell'apparato, come mancato appoggio della testa sul cuscino o non sufficiente avanzamento del muso del cane, il suono non veniva prodotto e lo sperimentatore del suono attendeva che il cane posizionasse autonomamente la testa nel modo corretto.

Se il cane approcciava l'altoparlante sbagliato, la ricompensa non veniva data e il ricercatore esclamava un "no", prima di richiamare il cane nella posizione di inizio.

La prima fase, con altoparlanti a 60°, terminava quando il cane era in grado di discriminare la direzione della fonte sonora in due sessioni consecutive, con un massimo di due errori per ciascuna. La seguente, con emettitori a 30°, invece, finiva quando il cane eseguiva un massimo di un errore in due prove successive.

7.4.2 Fase di test

Il compito richiesto al cane durante il test era il medesimo di quello precedentemente descritto per le fasi di addestramento preliminare. Lo sperimentatore del cane durante la produzione dello stimolo doveva porsi in piedi, posteriormente al cane (circa 3 m) tra le due casse addizionali, in modo tale da non ostacolare la propagazione del suono. Nel caso di gradi di separazione molto piccoli, che non permettevano allo sperimentatore di collocarsi tra i due altoparlanti, esso doveva porsi un passo a sinistra rispetto alle casse. A partire dai due gradi di separazione, era impossibile utilizzare entrambe le casse, per cui lo sperimentatore doveva modificare la posizione delle casse tra una prova e l'altra. Le casse che emettevano il suono di controllo permanevano sempre nella medesima posizione, a 120°. Una sessione era composta da 14 prove, di cui due consecutive di controllo iniziali e poi

alternativamente 6 prove di controllo e 6 di test; per queste ultime l'angolo di separazione doveva essere uguale entro la stessa sessione, ma variava tra sessioni (da 1 a 60°). Le prove di controllo venivano introdotte per evitare di incorrere in situazioni di eccessiva frustrazione dei soggetti e per verificare la loro motivazione e attenzione. Complessivamente, nelle 14 prove, lo stimolo era prodotto alternativamente da uno degli emettitori in ordine casuale; dovevano essere prodotti metà stimoli dall'altoparlante di destra e metà da quello di sinistra e non ci potevano essere più di tre prove consecutive in cui fosse richiesto al cane di raggiungere lo stesso lato. In presenza di rumori esterni o provenienti dall'apparato durante la produzione del suono, la prova veniva ripetuta per accertare l'effettiva scelta del cane; per questo motivo il numero di prove effettuate in una sessione poteva essere superiore a 14. Per evitare eventuali errori, la prova di controllo effettuata dopo il disturbo doveva essere ripetuta due volte. Questo perché, di frequente, se nella prova non validata il cane non veniva ricompensato, a prescindere dall'effettiva localizzazione del suono, esso tendeva a raggiungere nella successiva prova il lato opposto. Di queste due consecutive prove, veniva presa in considerazione la seconda risposta.

Se entro le 8 prove di controllo il cane commetteva 2 o più errori, la sessione veniva invalidata e i risultati ottenuti da essa non venivano tenuti in considerazione al fine della raccolta dati.

L'intera sessione veniva validata se il cane raggiungeva un criterio di discriminazione positiva superiore all'83% (massimo 1 errore per sessione). Al termine di ciascuna sessione era prevista una pausa di almeno 20 minuti prima della sessione successiva; potevano essere condotte un massimo di 6 sessioni in mezza giornata. I criteri sopra descritti sono stati applicati a due sequenziali procedure, definite come procedura discendente e ascendente.

7.5 Metodo Staircase

7.5.1 Procedura discendente

La procedura discendente era costituita da sessioni il cui grado di separazione veniva

definito sulla base delle performance del soggetto. Nelle prime sessioni gli angoli di separazione testati seguivano una scala prestabilita (30°, 15°, 10°), al fine di definire un approssimativo range percettivo del soggetto. Se però il cane falliva in una di queste sessioni, la successiva angolazione testata era ottenuta incrementando di 5° il valore dell'angolo di separazione utilizzato in precedenza. La procedura, dunque, proseguiva con successivi incrementi di 5° o decrementi di 3° a seguito di fallimenti o successi dell'individuo. Per i cani che concludevano con esito positivo tutti i livelli previsti dalla suddetta scala, veniva considerato come punto di inizio della procedura il grado 10; per i restanti il punto di partenza veniva fatto corrispondere alla prima sessione conclusa con successo dall'individuo. A partire da questo valore, l'angolazione veniva progressivamente aumentata, in caso di fallimento, o diminuita, in caso di successo, di un grado, secondo il metodo Staircase. Ciascuna sessione il cui esito era opposto, in termini di prestazioni, alla sessione precedente veniva definita come "sessione di inversione". Per considerare conclusa questa procedura dovevano essere ottenute 10 inversioni, di cui le ultime 6 dovevano differire al massimo di 3°.

7.5.2 Procedura ascendente

La fase ascendente aveva inizio da un'angolazione pari alla soglia media ottenuta nelle ultime 6 sessioni della precedente procedura, meno un grado. Da questo livello, l'angolazione era diminuita o aumentata di un grado in ciascuna prova successiva a seconda delle prestazioni del soggetto. Egualmente alla precedente fase, l'obiettivo era il raggiungimento di 10 inversioni, di cui le ultime 6 con una differenza non superiore a 3°; in questo caso però il metodo Staircase veniva applicato fin dalla prima sessione, come anche gli incrementi ed i decrementi di un grado. In alcuni casi, la forte influenza dell'effetto dell'allenamento, faceva sì che i risultati ottenuti nelle prime sessioni si discostassero molto dalle successive; in tali situazioni la procedura veniva prolungata fino a che le ultime 6 inversioni non risultavano comprese in un intervallo di 3° tra il massimo e il minimo valore. Solo per un soggetto (cane 3), relativamente alla procedura ascendente, venivano applicati dei criteri differenti. Questo perché tale individuo aveva ripetutamente successo nelle

sessioni svolte ad un grado di separazione. Limiti metodologici e strumentali rendevano impossibile scendere al di sotto di tale valore, per cui venivano considerate come punti di inversione tutte quelle sessioni concluse con successo dal cane ad un grado di separazione. In caso di fallimento, invece, come da protocollo, i gradi di separazione venivano aumentati a due nella sessione successiva.

Tutti gli ulteriori aspetti procedurali applicati erano i medesimi descritti precedentemente per la fase discendente.

8. RACCOLTA ED ANALISI DEI DATI

Per ogni individuo veniva creato un foglio elettronico (Excel, Microsoft, versione 16.0.15028.20160), all'interno del quale venivano riportati per ciascuna sessione: grado di separazione testato, schema di presentazione degli stimoli (stimolo di controllo/stimolo sperimentale, destra/sinistra) e numero di risposte corrette sul totale. I dati registrati nel foglio elettronico venivano utilizzati per determinare, di ambedue le procedure: numero totale di sessioni svolte, numero di inversioni eseguite e media delle ultime 6 sessioni. A partire da quest'ultimo dato è stato possibile calcolare la media generale delle ultime 6 inversioni di tutti i cani, che corrisponde all'MAA riportato.

Per analizzare la variazione delle prestazioni nel corso dell'intera procedura, le sessioni relative ai punti di inversione sono state suddivise in 4 raggruppanti, denominanti B1, B2, B3 e B4. I gruppi B1 e B2 includevano rispettivamente le prime e le ultime quattro inversioni della procedura discendente, mentre i gruppi B3 e B4 includevano rispettivamente le prime e le ultime quattro inversioni della procedura ascendente. Al fine di individuare la presenza di un eventuale miglioramento delle prestazioni è stato applicato un modello basato su equazioni di stima generalizzate. La variabile dipendente era il grado di separazione degli emettitori, il gruppo era il fattore fisso e il nome del cane il fattore casuale, che tiene conto delle ripetute misure prese dello stesso cane. Sono stati quindi eseguiti confronti a coppie (B1 VS B3, B2 VS B4).

9. RISULTATI

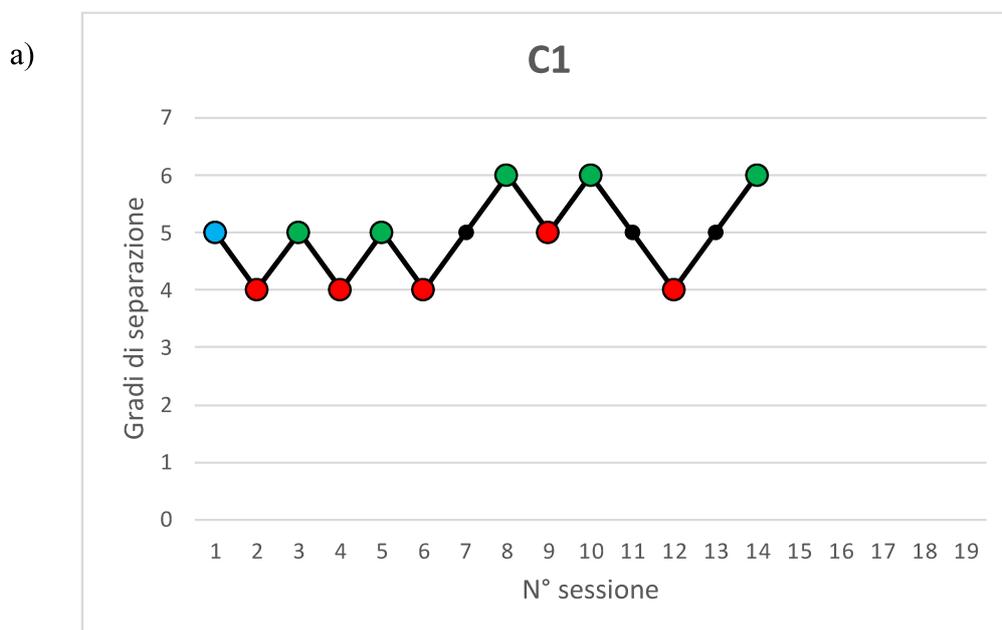
Come mostrato nella Tabella 9.2 i cani hanno eseguito all'incirca 25 sessioni nella procedura discendente, con valori minimi di 21 e valori massimi di 32; nella procedura ascendente, invece, i soggetti hanno eseguito circa 18 sessioni, con valori compresi tra 12 e 33.

Dall'insieme delle sessioni, sono stati ottenuti all'incirca 10 punti di inversione per cane per ciascuna procedura; con valori compresi tra 10 e 15 per la procedura discendente e tra 10 e 18 per la procedura ascendente. L'MAA di tutti i cani, per la procedura discendente, è risultato pari a $8,49^\circ \pm 2,38^\circ$ e pari a $6,13^\circ \pm 2,75^\circ$ nella procedura ascendente. Il valore minimo riscontrato è stato $1,33^\circ \pm 0,52^\circ$ (cane 2, procedura ascendente), mentre il valore massimo rilevato è stato $11,50^\circ \pm 1,22^\circ$ (cane 8, procedura ascendente).

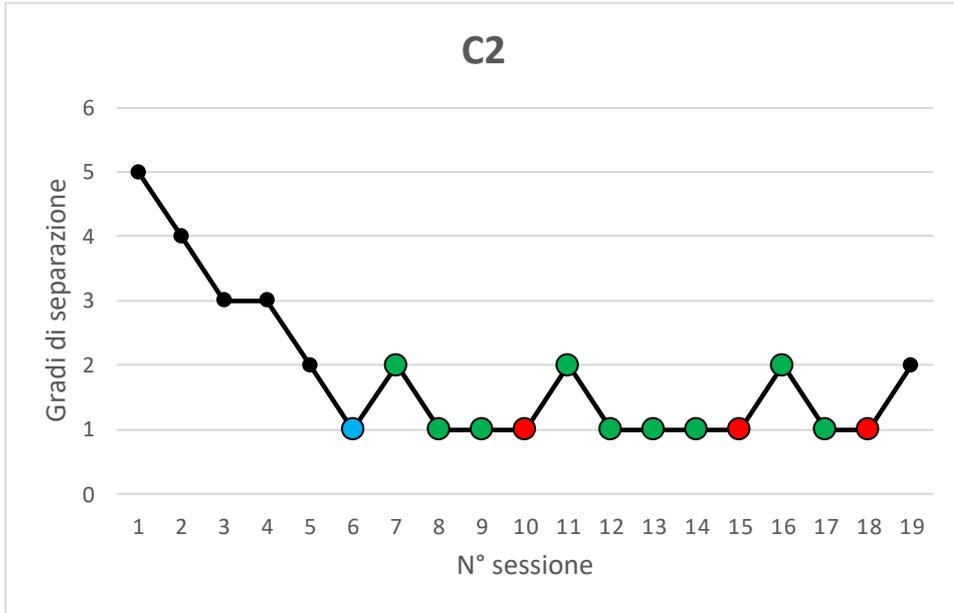
Tabella 9.2: numero di sessioni, numero di inversioni e media delle ultime 6 inversioni di ciascun cane, per ciascuna procedura. Per “media delle ultime 6 inversioni” vengono riportate media e deviazione standard. Per “numero di sessioni” e “numero di inversioni” viene riportata la mediana.

		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	Media \pm d.s.	Mediana
Discendenti	n° sessioni	26	31	22	29	32	23	21	25		25
	n° inversioni	10	10	10	13	15	10	10	12		10
	media ultime 6 inversioni	5,83 \pm 1,33	7,50 \pm 1,87	8,83 \pm 1,17	7,00 \pm 0,89	5,50 \pm 1,05	11,33 \pm 1,21	11,33 \pm 0,82	10,67 \pm 0,82	8,49 \pm 2,38	
Ascendenti	n° sessioni	14	19	16	12	17	19	33	21		18
	n° inversioni	10	10	10	10	10	10	18	10		10
	media ultime 6 inversioni	5,17 \pm 0,98	1,33 \pm 0,52	6,17 \pm 0,75	6,50 \pm 0,55	6,33 \pm 0,82	5,83 \pm 0,75	6,17 \pm 1,17	11,50 \pm 1,22	6,13 \pm 2,75	

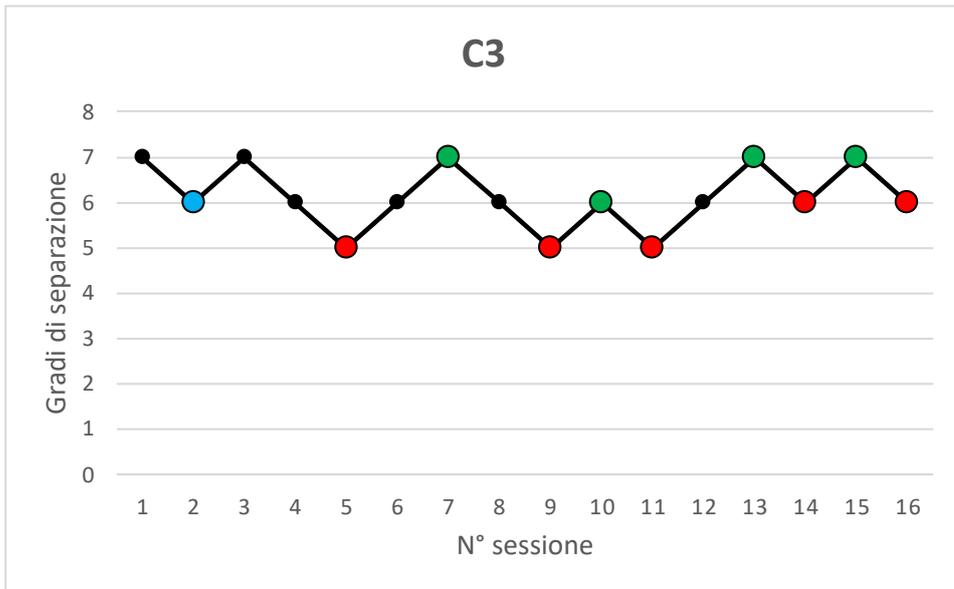
Figura 9.2, Sezioni a), b), c), d), e), f), g), h)



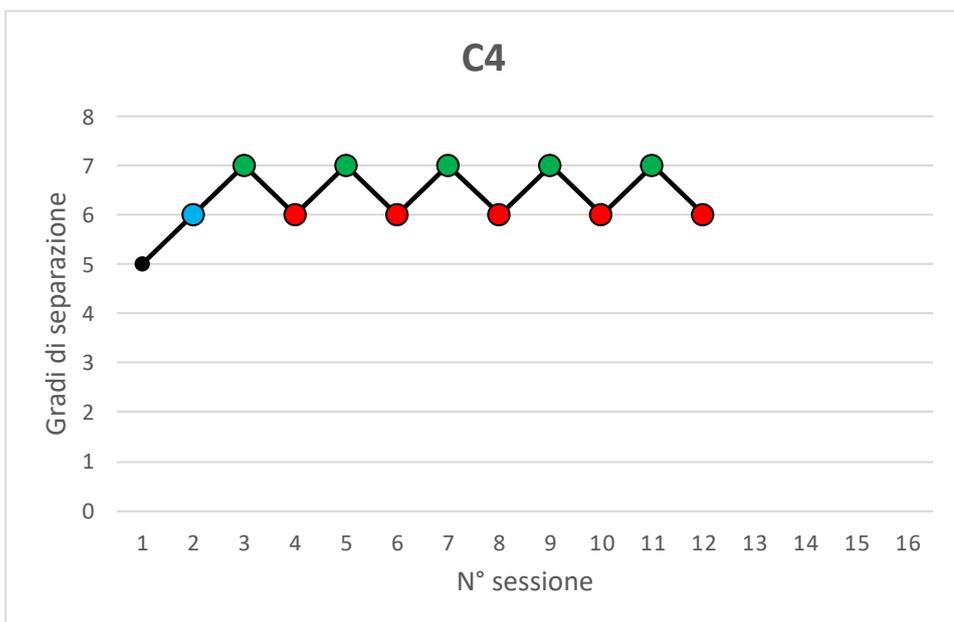
b)



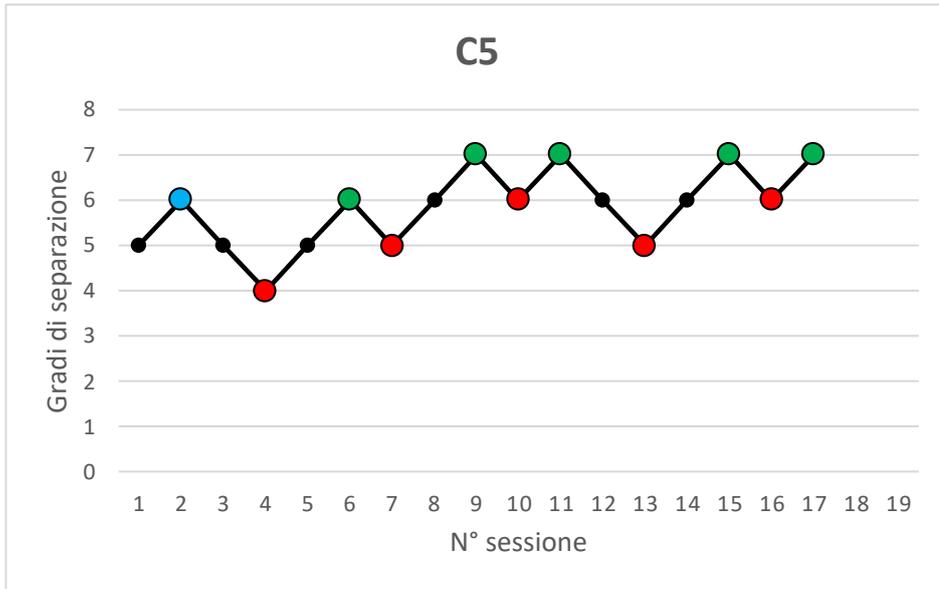
c)



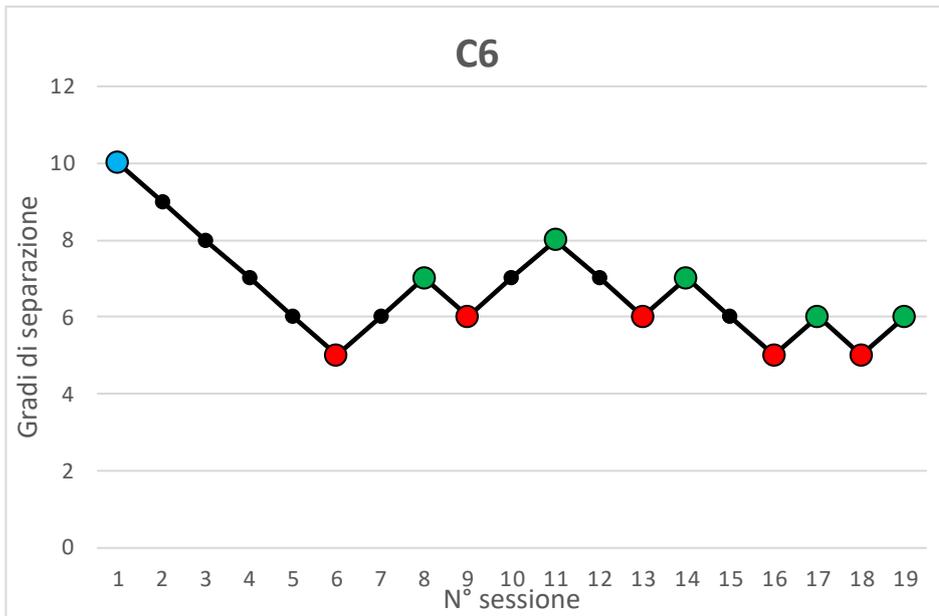
d)



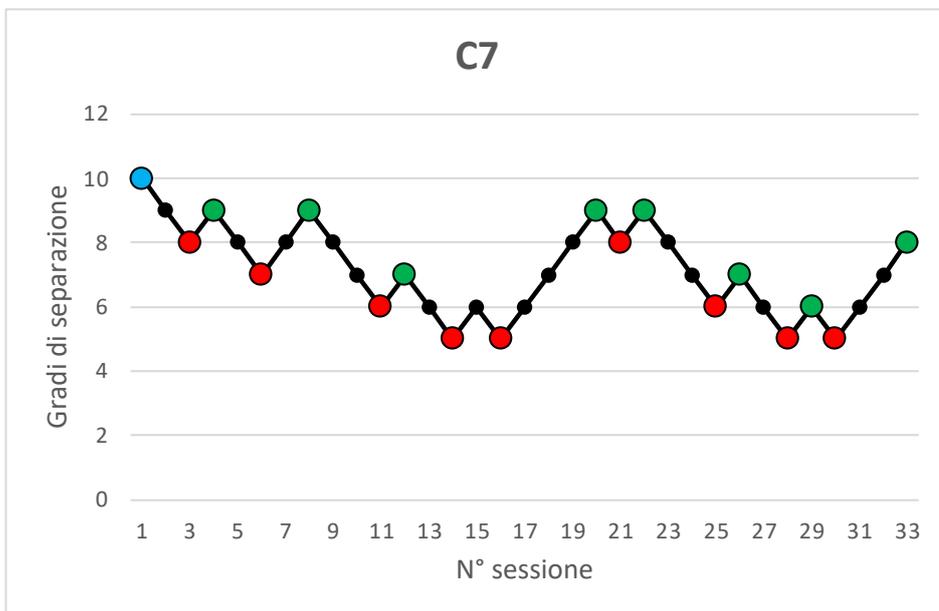
e)



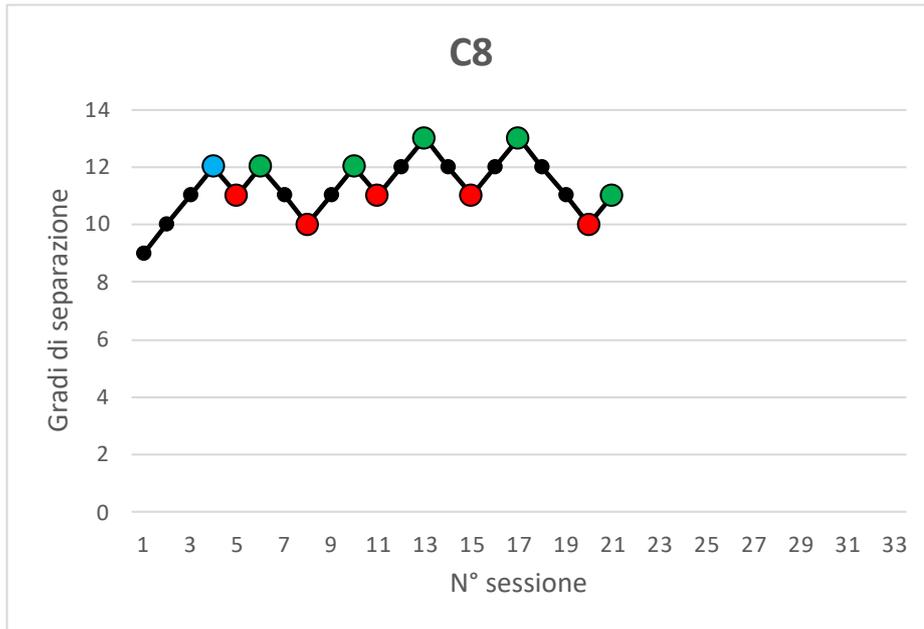
f)



gg)



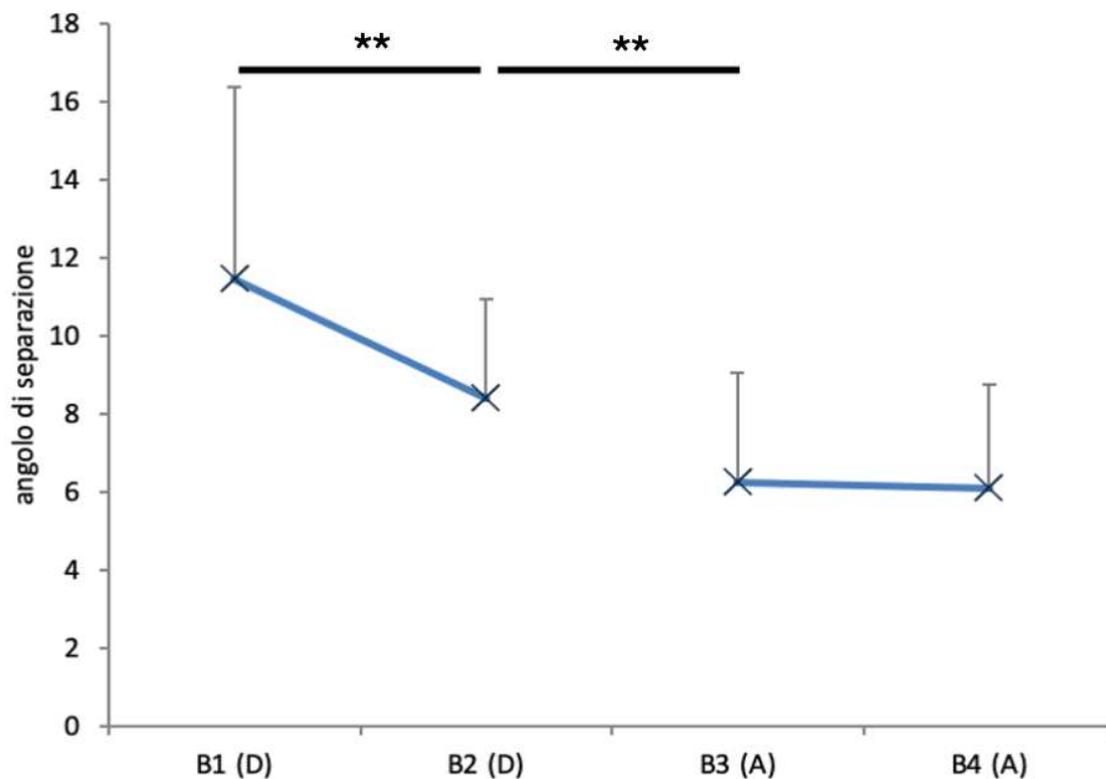
h)



Andamento delle sessioni nel corso della procedura ascendente per ciascun soggetto. I punti azzurri fanno riferimento al “punto di inizio”; i punti verdi e rossi indicano i “punti di inversione”, rispettivamente, conclusi con successo e con un fallimento.

La media degli angoli di separazione relativa alla fase iniziale della procedura discendente è maggiore della rispettiva media nella fase finale della stessa procedura ($B1 = 11,47^\circ \pm 4,90^\circ$, $B2 = 8,41^\circ \pm 2,55^\circ$, $P = 0,007$). Inoltre, il secondo raggruppamento ha una media superiore al raggruppamento relativo alla prima fase della procedura ascendente ($B2 = 8,41^\circ \pm 2,55^\circ$, $B3 = 6,25^\circ \pm 2,80^\circ$, $P = 0,004$). Il confronto tra gli ultimi due raggruppamenti non ha evidenziato differenze in termini di media degli angoli di separazione ($B3 = 6,25^\circ \pm 2,80^\circ$, $B3 = 6,09^\circ \pm 2,64^\circ$, $P = 0,642$).

Figura 9.3



Media \pm DS degli angoli di separazione suddivisi in 4 raggruppamenti, ciascuno relativo a 4 punti di inversione della procedura discendente o ascendente. Le differenze significative tra i raggruppamenti sono contrassegnate da asterischi (** P = 0,007; ** P = 0,004). I confronti a coppie sono stati eseguiti dopo l'applicazione di un modello di equazioni di stima generalizzate.

10. DISCUSSIONE

Nel corrente studio il minimo angolo udibile dei cani è risultato essere pari a $6,13^\circ \pm 2,75^\circ$, con ampie variazioni tra soggetti comprese tra $1,33^\circ \pm 0,52^\circ$ e $11,50^\circ \pm 1,22^\circ$. Il valore dell' MAA ottenuto è minore di quello riportato in letteratura da Heffner R.S. & Heffner H.E. e Babuschina & Polyakov [3] [4]; al contrario, la variabilità appare maggiore. Le ampie differenze sono presumibilmente dovute alla maggior numerosità campionaria, la quale ha consentito di rilevare una variabilità che è evidentemente presente nella popolazione canina. La determinazione dell'intervallo in cui si colloca l' MAA per la specie richiederebbe, però, un'indagine allargata a un gran numero di cani. Tale ampia variabilità all'interno della specie potrebbe essere connessa alla variabilità nell'ampiezza del miglior campo visivo. A tal proposito, Heffner R.S. & Heffner H.E. [19] hanno dimostrato la presenza di una forte correlazione tra capacità di localizzazione sonora e larghezza del miglior campo visivo, il quale viene stimato in relazione alla densità delle cellule gangliari retiniche. Le cellule gangliari possono essere distribuite in modo tale da formare una striscia, moderata o pronunciata. La striscia moderata è caratterizzata da distribuzione asimmetrica con densità cellulare che diminuisce in modo piuttosto uniforme in tutte le direzioni a partire dall'area centrale di massima concentrazione cellulare. La striscia pronunciata ha invece un'alta densità cellulare che dal centro si estende orizzontalmente nella retina temporale e anche lontano nella retina nasale. La distribuzione topografica varia tra razze e tra individui; i soggetti con una minor densità cellulare, quelli con striscia moderata, hanno una minor acuità visiva [25]. Considerando che la densità delle cellule gangliari riflette la larghezza del miglior campo visivo e che la larghezza del miglior campo visivo è un buon predittore della capacità di localizzazione del suono, si può supporre che la distribuzione topografica delle cellule gangliari abbia in qualche parte influenzato le prestazioni di localizzazione dei soggetti sperimentali. La variabilità dei risultati ottenuti potrebbe quindi essere dettata in parte da caratteristiche topografiche differenti tra razze ed individui testati. Sarebbe opportuno indagare più nel dettaglio se e come la distribuzione delle cellule gangliari retiniche influenzi le abilità di localizzazione sonora dei cani. In aggiunta, tenendo conto che specie con posizione laterale degli occhi, come bovini e capre, hanno abilità di localizzazione limitante, perché beneficiano della miglior visione diffusa sull'orizzonte della

retina, mentre specie con posizione frontale degli occhi sono più abili nel definire la provenienza di uno stimolo sonoro, sarebbe consigliabile indagare se vi siano differenze intraspecifiche nelle abilità uditive in relazione alla posizione degli occhi, soprattutto tra razze canine brachicefale e dolicomorfe.

Il carlino, razza brachicefala, ha una distribuzione delle cellule gangliari poco marcata, con una pronunciata area centrale nella retina temporale; il levriero, invece, appartiene alle razze dolicomorfe e presenta una striscia retinica marcata, senza però alcuna specializzazione nell'area temporale. Tale variabilità nella mappatura neurale a livello retinico è determinata dall'ampia variazione intraspecifica nella forma e dimensione del cranio. Il numero totale delle cellule gangliari retiniche è infatti correlato alla lunghezza e larghezza del cranio ($r = 0,549$, $p = 0,01$ e $r = 0,608$, $p = 0,01$) [26]. Come la densità cellulare, quindi, anche le caratteristiche del cranio potrebbero influenzare le capacità di localizzazione sonora. Nel campione in esame è incluso un unico soggetto chiaramente dolicomorfo (Whippet), i cui risultati relativi all'MAA sono in linea con le media del campione. In assenza di una rappresentatività significativa non è possibile confermare o rigettare l'ipotesi di una correlazione tra distribuzione topografia e abilità di localizzazione sonora, per cui sarebbe auspicabile un approfondimento in tal senso.

Altri fattori quali età, sesso e distanza interaurale potrebbero spiegare la variabilità riscontrata. Da precedenti studi, che hanno indagato l'effetto dell'età sulle abilità di localizzazione dell'uomo, è emerso un chiaro deterioramento delle capacità di individuazione della provenienza di uno stimolo acustico tra adolescenti e anziani [27]. Questa correlazione non è però osservabile nel campione in esame, nonostante il soggetto più giovane testato abbia ottenuto i migliori risultati, in quanto il criterio di selezione applicato prevedeva la scelta di soggetti di età inferiore agli 8 anni, allo scopo di evitare la presenza di deficit cognitivi ed uditivi legati all'età. Menezes et al. [28] hanno indagato l'effetto, oltre che dell'età, anche del sesso e della distanza interaurale sulle prestazioni di localizzazione di 80 soggetti umani con udito normale; da tale analisi non è emerso alcun legame tra questi parametri e le abilità di localizzazione spaziale. Coerentemente con quanto riportato da Menezes, dai dati ottenuti con il presente studio non è possibile osservare alcuna correlazione significativa relativamente al sesso e alla distanza interaurale.

Le differenze in termini di MAA possono invece essere spiegate alla luce del diverso approccio metodologico utilizzato: da un lato sono state applicate delle varianti del metodo delle costanti, mentre dall'altro è stato adottato il metodo Staircase. I due approcci differiscono nel modo in cui vengono scelti gli stimoli utilizzati per misurare la soglia. Essendo il metodo delle costanti un metodo non adattativo, per cui gli stimoli presentati assumono valori prefissati, la stima ottenuta risulta meno accurata; inoltre, poiché la procedura viene fatta terminare quando ancora il processo di miglioramento non è totalmente concluso, la soglia osservata può non coincidere con la soglia reale. Il metodo Staircase invece si basa sulla scelta di stimoli che seguono le performance psicoacustiche del soggetto durante la valutazione. In tal modo è possibile concentrare un maggior numero di sessioni vicino alla soglia reale; il metodo delle costanti non permette di ottenere un range preciso e stabile e disperde un significativo numero di sessioni. Per massimizzare ulteriormente l'accuratezza di stima del livello percettivo dei soggetti testati è stato introdotto nel corrente studio un criterio per cui la procedura poteva ritenersi conclusa solo se gli angoli di separazioni testati nelle ultime 6 sessioni rientravano in un intervallo di $\pm 3^\circ$. Così facendo si evitava di concludere il test quando il processo di miglioramento delle prestazioni era ancora in atto, ossia quando non si era ancora ottenuto il range atteso. L'analisi comparativa svolta da De Weerd et al. [29] su 7 gatti adulti conferma la maggior affidabilità e precisione del metodo Staircase sul metodo delle costanti. Secondo De Weerd, nonostante entrambe le procedure abbiano una buona affidabilità e validità, il metodo Staircase fornisce una migliore approssimazione dell'intervallo atteso, a parità di numero di sessioni.

Altri fattori potenzialmente responsabili delle differenze riscontrate in termini di valore dell'MAA sono il numero di prove e sessioni svolte per soggetto e la durata delle singole sessioni. Nel caso specifico di Heffner, il soggetto sperimentale doveva eseguire dalle 100 alle 350 prove, all'interno di una sessione della durata di un'ora. In questi termini, il compito richiesto potrebbe essere risultato troppo impegnativo; il protrarsi delle sessioni potrebbe aver influenzato negativamente le prestazioni del soggetto come effetto della riduzione della motivazione dello stesso. All'opposto, il corrente studio ha permesso di ottenere una buona approssimazione dell'MAA con un numero limitato di sessioni di breve durata.

Come precedentemente enunciato, l'applicazione del metodo Staircase ha permesso di evidenziare un miglioramento significativo delle prestazioni nel corso del tempo. Questo è

evidente se si considera che tra inizio e fine della procedura discendente e tra fine procedura discendente e inizio procedura ascendente c'è stata rispettivamente una riduzione del 27% e del 26% nel valore medio degli angoli di separazione testati. I dati medi relativi agli angoli di separazioni per i 3 gruppi B1, B2 e B3 sono infatti uguali a 11.5°, 8.4° e 6.3°. Non sono invece stati riscontrati miglioramenti nelle performance all'interno della procedura ascendente, ad indicare che la soglia finale è stata ottenuta già a partire dall'inizio della procedura ascendente. E' stato raggiunto un plateau perché i cani sono arrivati alla loro massima capacità percettiva. Proprio per questo motivo è possibile individuare l'MAA come valore medio delle ultime 6 inversioni della procedura ascendente.

Bisogna però tenere in considerazione che le due procedure, discendente e ascendente, non sono state randomizzate in termini di ordine reciproco tra i soggetti; il loro ordine di presentazione e il loro grado di difficoltà potrebbero in qualche modo aver influenzato il processo di miglioramento intrapreso dai cani. La procedura discendente era costituita da sessioni iniziali di bassa difficoltà, mentre la procedura ascendente era caratterizzata da una minor variabilità dei gradi di separazione testati e da un loro maggior livello di difficoltà. Spesso gli effetti del grado di difficoltà sui miglioramenti delle prestazioni in compiti di discriminazione non sono facilmente identificabili; i riferimenti bibliografici riportano infatti punti di vista discordanti circa i possibili esiti dell'applicazione di metodologie di indagine differenti. Lin et al. [30] hanno dimostrato che uomini e ratti, se sottoposti ad un difficile compito di identificazione uditiva, apprendono più velocemente se eseguono inizialmente sessioni semplici e successivamente concludono l'addestramento con prove difficili. Al contrario, De Weerd et al. [29] hanno rilevato che non vi è alcuna significativa differenza nelle performance se la procedura ha inizio con valori superiori, inferiori o uguali alla soglia percettiva stimata; nessuna delle tre condizioni pregiudicherebbe la misurazione della soglia risultante. In vista delle numerose variabili che possono influenzare l'apprendimento, è impossibile prevedere quale sarebbe stato l'effetto dell'inversione temporale delle due procedure. Tuttavia, sarebbe consigliabile verificare se la presentazione di stimoli difficili fin dall'inizio possa in qualche modo esitare in un peggioramento delle capacità di apprendimento nel corso del tempo.

11. CONCLUSIONI

A partire dai dati ottenuti e dalle considerazioni precedentemente esposte, è possibile concludere che il metodo Staircase rappresenta un'efficiente e affidabile strategia per l'indagine delle abilità di localizzazione sonora. Esso, non solo ha reso possibile la definizione dell'MAA dei cani, ma ha altresì permesso di evidenziare l'evoluzione delle prestazioni intrapresa da tutti i soggetti testati. Se l'obiettivo è quello di definire il limite percettivo di una specie, la metodologia di indagine scelta deve infatti permettere agli individui di compiere un processo di miglioramento fino ad arrivare alla loro massima sensibilità. In questo studio, l'ottenimento di un range stabile degli angoli di separazione testati al termine della procedura, consente di affermare che i cani hanno raggiunto la loro massima sensibilità, ossia che il processo di miglioramento è giunto a conclusione; questo permette, con una buona certezza, di individuare l'MAA all'interno di tale intervallo. Alla luce di quanto riportato, il metodo Staircase risulta una valida alternativa nella sua applicazione allo studio dell'abilità uditiva in esame. E' però necessario sottolineare che la scelta del metodo più adeguato deve tenere in considerazione la specie e l'ambito sensoriale indagato.

BIBLIOGRAFIA

[1] Middlebrooks, J. C. Sound localization. In Handbook of Clinical Neurology; Aminoff, M. J., Boller, F., Swaab, D. F., Eds; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2015; Volume 129, pp. 99–116.

[2] Heffner, H. E., & Heffner, R. S. (2018). The evolution of mammalian hearing. AIP Conference Proceedings. pp. 13000-1 - 130001-8. <https://doi.org/10.1063/1.5038516>

[3] Heffner, R. S., & Heffner, H. E. (1992). Hearing in large mammals: Sound-localization acuity in cattle (*Bos taurus*) and goats (*Capra hircus*). Journal of Comparative Psychology, 106(2); pp. 107–113. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.106.2.107>

[4] Babushina, E., Polyakov, M. Comparative analysis of spatial hearing of terrestrial, semiaquatic and aquatic mammals. In Advances in sound localization; Strumillo, P., Eds; IntechOpen, London, 2011; pp. 477–492. Fonte: <https://www.intechopen.com/chapters/15130>

[5] Gelfand, S. A. Psychoacoustic Methods. In Hearing: An introduction to psychological and physiological acoustics; Informa Healthcare, 5° edizione, Londra, 2009; pp. 146–159. Fonte: <http://zhenilo.narod.ru/main/students/Gelfand.pdf>

[6] Anastasi G (2020). Organo dell'udito e dell'equilibrio. In Anatomia umana, sistema nervoso - organi di senso. Edi ermes; Volume 4, pp. 300-353.

- [7] Risoud, M., Hanson, J. N., Gauvrit, F., Renard, C., Lemesre, P. E., Bonne, N. X., & Vincent, C. (2018, August). Sound source localization. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*, 135(4), pp. 259–264. <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2018.04.009>
- [8] Yu, J. F., & Chen, Y. S. (2013, January). The Head Shadow Phenomenon Affected by Sound Source: In Vitro Measurement. *Applied Mechanics and Materials*, pp. 284–287, 1715–1720. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amm.284-287.1715>
- [9] Woodworth, R.S. and Schlosberg, H. (1938) *Experimental Psychology*. Holt, New York; pp. 614-654.
- [10] Lord Rayleigh. XII. On our perception of sound direction. *Philos Mag Ser 6* 1907; pp. 214–32, <https://doi.org/10.1098/rspa.1909.0073>
- [11] Grothe, B., Pecka, M., & McAlpine, D. (2010, July). Mechanisms of Sound Localization in Mammals. *Physiological Reviews*, 90(3), pp. 983–1012. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2009>
- [12] Ashmead, D. H., Clifton, R. K., & Reese, E. P. (1986). Development of auditory localization in dogs: Single source and precedence effect sounds. *Developmental Psychobiology*, 19(2), pp. 91–103. <https://doi.org/10.1002/dev.420190202>

[13] Brown, A. D., Stecker, G. C., & Tollin, D. J. (2014). The Precedence Effect in Sound Localization. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 16(1), pp. 1–28. <https://doi.org/10.1007/s10162-014-0496-2>

[14] Franci, A., & McDermott, J. H. (2022). Deep neural network models of sound localization reveal how perception is adapted to real-world environments. *Nature Human Behaviour*, 6(1), pp. 111–133. <https://doi.org/10.1038/s41562-021-01244-z>

[15] Milsom, W. K. (1991). Intermittent Breathing in Vertebrates. *Annual Review of Physiology*, 53(1), pp. 87–105. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.53.030191.000511>

[16] Heffner, H. E. and Heffner, R. S. (2003). Audition. In S. Davis (Ed.) *Handbook of Research Methods in Experimental Psychology*. pp. 413-440, Blackwell.

[17] Masterton, B., Thompson, G. C., Bechtold, J. K., & RoBards, M. J. (1975). Neuroanatomical basis of binaural phase-difference analysis for sound localization: A comparative study. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89(5), 379–386. <https://doi.org/10.1037/h0077034>

[18] Heffner, H. E. (1983). Hearing in large and small dogs: Absolute thresholds and size of the tympanic membrane. *Behavioral Neuroscience*, 97(2), pp. 310–318. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.97.2.310>

[19] Heffner, R. S., & Heffner, H. E. (1992b). Visual factors in sound localization in mammals. *The Journal of Comparative Neurology*, 317(3), pp. 219–232. <https://doi.org/10.1002/cne.903170302>

[20] Peichl, L. (1992, October 22). Topography of ganglion cells in the dog and wolf retina. *The Journal of Comparative Neurology*, 324(4), pp. 603–620. <https://doi.org/10.1002/cne.903240412>

[21] Irving, R., & Harrison, J. M. (1967). The superior olivary complex and audition: A comparative study. *The Journal of Comparative Neurology*, 130(1), pp. 77–86. <https://doi.org/10.1002/cne.901300105>

[22] Debut Video Capture and Screen Recorder Software. NCH software. Versione 8.70. Da: <https://www.nchsoftware.com/capture/it/index.html>

[23] Room Acoustics Software. Versione 5.20.13. Aggiornata il 22 settembre 2022. Da: <https://www.roomeqwizard.com>

[24] Audacity Team (2020). Audacity (R): Free Audio Editor and Recorder [applicazione per computer]. Versione 2.3.3. Aggiornata il 18 aprile 2020. Da: <https://audacityteam.org/>

[25] Peichl, L. (1992b). Topography of ganglion cells in the dog and wolf retina. *The Journal of Comparative Neurology*, 324(4), pp. 603–620. <https://doi.org/10.1002/cne.903240412>

[26] McGreevy, P., Grassi, T. D., & Harman, A. M. (2003). A Strong Correlation Exists between the Distribution of Retinal Ganglion Cells and Nose Length in the Dog. *Brain, Behavior and Evolution*, 63(1), pp. 13–22. <https://doi.org/10.1159/000073756>

[27] Abel, S. M., Giguère, C., Consoli, A., & Papsin, B. C. (2000b). The effect of aging on horizontal plane sound localization. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 108(2), pp. 743–752. <https://doi.org/10.1121/1.429607>

[28] Menezes, P., Soares, I., Caldas Neto, S., & Motta, M. (2002). Sound localization: Effects of gender, aging, head related transfer function, and auditory performance. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 112(5), pp. 2244–2244. <https://doi.org/10.1121/1.4778911>

[29] De Weerd et al., 1990, P. De Weerd, E. Vandenbussche, G.A. Orban, Staircase procedure and constant stimuli method in cat psychophysics, *Behav. Brain Res.*, 40 (1990), pp. 201-214

[30] Lin, Z., Doshier, B. A., and Lu, Z. L., 2017. Mixture of easy trials enables transient and sustained perceptual improvements through priming and perceptual learning. *Scientific reports*, 7(1), pp. 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06989-0>

Cornsweet, T. N. (1962). The Staircase-Method in Psychophysics. *The American Journal of Psychology*, 75(3), p. 485. <https://doi.org/10.2307/1419876>

Freigang, C., Richter, N., Rübsamen, R., & Ludwig, A. A. (2015). Age-related changes in sound localisation ability. *Cell and Tissue Research*, 361(1), pp. 371–386. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2230-8>

Hartmann, W. M., & Rakerd, B. (1989, May). On the minimum audible angle—A decision theory approach. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 85(5), pp. 2031–2041. <https://doi.org/10.1121/1.397855>

Heffner, R. S., & Heffner, H. E. (1988b). Sound localization acuity in the cat: Effect of azimuth, signal duration, and test procedure. *Hearing Research*, 36(2–3), pp. 221–232. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(88\)90064-0](https://doi.org/10.1016/0378-5955(88)90064-0)

Heffner, R. S., & Heffner, H. E. (1992a). Evolution of Sound Localization in Mammals. *The Evolutionary Biology of Hearing*, pp. 691–715. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2784-7_43

König, H. E., Liebich, H. G., & Zedda, M. (2020). Organo vestibolare: orecchio. In *Anatomia degli animali domestici. Testo-atlante a colori*. Piccin-Nuova Libreria; pp. 605-618.