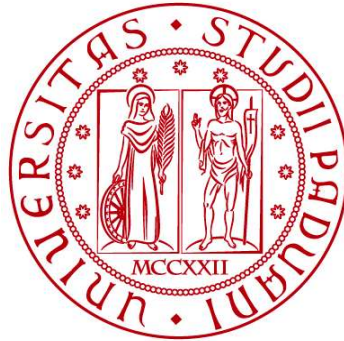


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea magistrale in Biologia Evoluzionistica



TESI DI LAUREA

**Studio preliminare sulle abilità proto-numeriche in
*Anthia thoracica***

Preliminary study on proto-numeric skills in *Anthia
thoracica*

**Relatore: Prof.ssa Rosa Rugani
Dipartimento di Psicologia Generale**

Laureando: Marco Moretto

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

ABSTRACT

Da sempre, in maniera più o meno consapevole, i numeri sono stati alla base dei processi decisionali in ogni organismo. Durante il XX secolo lo studio della cognizione numerica ha preso piede nel campo animale e ci si è interrogati su quali fossero le abilità non-umane in termini di quantificazione, capacità di raggruppamento e discriminazione numerica. I primi studi si sono focalizzati sui vertebrati (mammiferi, uccelli su tutti) ma negli ultimi anni si è cominciato a pensare anche agli insetti come animali in grado di palesare delle abilità proto-numeriche. L'obiettivo di questo studio è quello di determinare tali abilità in un coleottero originario dell'Africa meridionale appartenente alla famiglia dei carabidi: *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784). La ricerca, svolta al museo degli insetti Esapolis di Padova, è stata eseguita tra i mesi di aprile e ottobre 2023 e ha riguardato due differenti indagini: 1) Discriminazione numerica in seguito ad apprendimento e 2) Discriminazione numerica spontanea. Le prove di discriminazione numerica spontanea sono state eseguite ponendo il coleottero davanti a diverse scelte: 1vs3 e 1vs4, 1vs1, 3vs3. Le prove di discriminazione in seguito ad apprendimento sono state effettuate tramite degli stimoli raffiguranti delle numerosità (cartoncini con 2 o 3 quadratini rappresentati). I soggetti sono stati addestrati a mangiare sullo stimolo positivo "3" e sono stati poi testati ad andare su questo senza rinforzo alimentare. I risultati mirano a comprendere in maniera preliminare le abilità numeriche di questi insetti, anche al fine di continuare la ricerca e ottenere più informazioni riguardo la cognizione nel mondo degli invertebrati.

INDICE

1. Introduzione
 - 1.1 Storia delle abilità di discriminazione numerica nel regno animale
 - 1.2 Sistemi numerici, *size effect*, *distance effect*, OFS e ANS
 - 1.3 Storia delle abilità di discriminazione numerica negli insetti
 - 1.4 *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784)
 - 1.5 Approcci metodologici
2. Obbiettivi dello studio
3. Parte sperimentale
 - 3.1 Apparato sperimentale
 - 3.2 Procedura sperimentale
4. Discriminazione in seguito ad apprendimento (2vs3)
 - 4.1 Materiali e metodi
 - 4.2 Risultati
 - 4.3 Discussione
5. Discriminazione spontanea (1vs3 e 1vs4, 1vs1 e 3vs3)
 - 5.1 Materiali e metodi
 - 5.2 Risultati (1vs3 e 1vs4)
 - 5.3 Discussione (1vs3 e 1vs4)
 - 5.4 Risultati (1vs1 e 3vs3)
 - 5.5 Discussione (1vs1 e 3vs3)
6. Analisi morfometriche
 - 6.1 Materiali e metodi

6.2 Risultati

7. Conclusioni

8. Bibliografia

1. Introduzione

1.1 Storia delle abilità di discriminazione numerica nel regno animale

Sin dall'antichità i numeri sono stati considerati come strumenti utili per decifrare ogni cosa. L'aforisma "tutto è numero" del filosofo e matematico greco Pitagora (580 a.C. e il 500 a.C.) spiegava che ogni cosa può essere ridotta a relazione numerica. Ma i numeri, per come li conosciamo, affondano le loro radici in civiltà ben più lontane di quella greca. Il "tutto" (=numero) nasce da un'esigenza, attribuire un valore, discriminare una quantità maggiore rispetto ad una minore.

Nel periodo che va da 70.000 fino a 30.000 anni fa nelle prime comunità di *Sapiens* si osserva la così detta Rivoluzione Cognitiva. Durante questo lunghissimo periodo per l'uomo vi sono le prime testimonianze di oggetti da commercio come archi, frecce, aghi, gioielli, imbarcazioni e ciò prevede che vi fosse un'abilità intrinseca di stimare il valore di qualcosa, attribuire un peso e dunque, si presume, anche di poter discriminare numerosità differenti (Harari, 2015). Ancor prima di questa rivoluzione lo strumento di discriminazione utilizzato era la mano: un codice inizialmente binario, mano aperta o mano chiusa, fino ad arrivare all'uso delle dita come unità di misura.

Di lì a poco, se paragonato all'intera storia dell'umanità sulla terra (le prime testimonianze di *Homo sapiens* hanno più di 100.000 anni), si sarebbero sviluppate tecniche calcolo sempre più complesse, unità di misura basate su di essi avrebbero contribuito allo sviluppo delle comunità trasformandole in vere e proprie civiltà. Oggi, probabilmente come ieri, il numero è alla base della nostra società e governa le nostre decisioni che queste siano semplici o estremamente complesse, che queste richiedano l'utilizzo del nostro istinto o di sofisticati sistemi di calcolo computerizzati.

Alcuni concetti numerici come i numeri reali, l'algebra o il calcolo complesso sono concepiti ed eseguiti da un limitato sottoinsieme: quello degli uomini adulti (Rugani et al., 2008).

Tuttavia, esistono altre abilità numeriche che sono largamente diffuse e relativamente semplici da trovare in natura. È infatti dimostrato che infanti e specie animali non-umane possiedono abilità di discriminazione, percezione numerica e di calcolo elementare (Dehaene, Dehaene-Lambertz, Cohen, 1998). Queste indiscrezioni hanno portato scienziati esperti in evoluzione e psicologia cognitiva a chiedersi come fosse possibile, per animali che non utilizzano il linguaggio, lo sviluppo di abilità numeriche elementari. La risposta secondo Stanislas Dehaene (1997) arriva direttamente dall'anatomia, ed in particolare, dalla struttura del cervello. Tutto è collegato ad una rete neurale specializzata che è impiantata nella corteccia celebrale e che è stata plasmata nel corso dell'evoluzione da milioni di cervelli che si sono susseguiti nel tempo e grazie ai quali si è arrivati agli odierni strumenti matematici. Il “*Number Sense*” di Dehaene è “*l'abilità spontanea e semplice di usare il numero*” e lo stesso Darwin riconosce che le sofisticate abilità numeriche umane devono in qualche modo avere origine da precursori animali non-umani (Darwin, 1871). Comprendere le differenze tra le capacità intellettuali umane e animali è un lavoro che richiede la ricerca congiunta in campo psicologico e in campo evoluzionistico, al fine di risalire e giustificare ogni cambiamento di stato fenotipico, comportamentale, ecologico e cognitivo tra le specie viventi.



Figura 1. Von Osten e il suo cavallo Clever Hans

Una delle prime storie che riguardano lo studio delle abilità cognitive animali risale ai primi anni del 1900. Il cavallo in “**figura 1**” chiamato

anche Clever Hans, era stato addestrato dal suo padrone Von Osten a rispondere correttamente ad alcuni complessi calcoli matematici. Quando l'equino era sottoposto ad un quesito era stato addestrato a fornire la risposta corretta battendo lo zoccolo a terra. Tuttavia, Clever Hans era in grado di capire delle piccolissime variazioni nel comportamento o gesti del suo padrone e grazie a questi riusciva a comprendere il momento corretto nel quale dare la risposta. Per anni, queste dimostrazioni convinsero la comunità facendo credere che l'animale fosse effettivamente capace di risolvere una varietà di calcoli aritmetici, lunghe divisioni e di dare la risposta corretta battendo lo zoccolo a terra. Nel 1911, Pfungst, scoprì che il cavallo rispondeva ai segnali involontari nel linguaggio del corpo dell'addestratore e la comunità scientifica, interessata alle abilità che si pensava avesse acquisito il cavallo, rimase delusa e divenne scettica.

Circa 30 anni dopo ci fu il primo vero grande passo nel campo della cognizione numerica animale ad opera di Otto Koehler e i suoi collaboratori (Koehler, 1941). Questi condussero i loro esperimenti in un setting quasi-naturalistico su una varietà di animali, incluse alcune specie di uccelli (piccioni, un corvo, un pappagallo cenerino e altri). Ogni prova consisteva nel porre davanti agli uccelli due set di grano con numeri differenti: un numero "giusto" e uno "sbagliato". Solo le risposte corrette erano rinforzate permettendo agli uccelli di mangiare. Sulla base di questo e di altri esperimenti, Koehler, dedusse che gli uccelli avevano due abilità numeriche fondamentali: 1) senso spazio-visivo per valutare il numero di elementi presenti in un gruppo; 2) capacità di valutare il numero di eventi che si verificano successivamente o che sono distribuiti nel tempo. Inoltre, notò che specie si-mili avevano simili limiti nelle loro abilità.

Malgrado i tentativi di eliminare ogni possibile bias, Koehler venne criticato per la mancanza di controllo dei suoi esperimenti (es. presenza segnali olfattivi).

A seguito degli esperimenti di Koehler vi furono diverse dimostrazioni che provarono l'esistenza di competenze numeriche in specie animali non-umane. Tra le varie ricerche, Hauser e colleghi testarono dei macachi (*Macaca mulatta*, Zimmermann, 1780) utilizzando una

versione modificata del paradigma della violazione dell'aspettativa di Wynn (eseguito su infanti; Wynn, 1992). Questi esperimenti vennero svolti al fine di comprendere quali fossero le competenze numeriche spontanee delle scimmie in un test fuori dal laboratorio e prevedevano una fase di presentazione degli stimoli e una fase di risposta comportamentale.

Gli stimoli (due melanzane) si portavano pian piano dietro ad un pannello opaco e nel momento in cui il pannello si alzava rivelava due possibili outcome: una melanzana o due melanzane. Così come per il paradigma di Wynn eseguito su infanti, anche i macachi reagivano stupiti al risultato meno probabile (es. $1+1=1$), osservandolo maggiormente rispetto a quello atteso (es. $1+1=2$). La ricerca di Hauser e colleghi dimostrò come i macachi erano in grado di padroneggiare semplici addizioni (Hauser, MacNeilage, Ware, 1996; Hauser & Carey, 1998; Hauser et al., 2000).

Nell'ultimo ventennio la ricerca riguardo le abilità cognitive animali si è intensificata e i soggetti testati sono stati molteplici, ognuno rivelando una determinata caratteristica, un'abilità, una capacità dettata non solo dalla specie ma anche dallo stadio vitale del soggetto in questione. È ormai noto come i pulcini (*Gallus gallus*, Linneo, 1758) nati da pochi giorni siano in grado di compiere una serie di discriminazioni numeriche (es. 1vs4, 1vs5, 2vs4) che supportano l'ipotesi che c'è una continuità nel sistema numerico che processa sia numeri piccoli sia numeri grandi (Rugani et al., 2013). Oppure ancora, quando si comparano numerosità piccole (es. 1vs2 o 2vs3) i pulcini prediligono la grandezza maggiore, indipendentemente dal numero di oggetti con cui sono stati allevati. La preferenza per lo stimolo più grande a discapito di quello "più familiare" si nota anche quando volume, superficie e perimetro sono controllati per set di 1vs4, 1vs6 o 1vs3 oggetti. Tuttavia, quando a variare sono altri parametri (es. colore, dimensione o forma), i pulcini si affidano al numero più familiare, quello con il quale sono stati allevati (Rugani et al., 2010).

1.2 Sistemi numerici, *size effect*, *distance effect*, OFS e ANS

I sistemi numerici includono le abilità di discriminare quantità differenti, contare o ancora, abilità proto-numeriche. Questi possono essere distinti in sistemi numerici verbali oppure non verbali. I sistemi numerici verbali (o simbolici) sono il livello più complesso e prevedono lo sviluppo di abilità linguistiche e/o verbali in grado di permettere lo svolgimento di operazioni e calcoli articolati. I sistemi numerici non verbali (non simbolici) invece non si basano su associazioni simboliche o linguistiche e costituiscono le fondamenta per i calcoli più laboriosi. Questi sistemi sono interconnessi tra loro e non si possono scindere in quanto, anche se si sviluppano abilità sempre più complesse, queste partono da meccanismi di base (Gallistel & Gelman, 1992).

Nel 1978, Gelman e Gallistel hanno definito come *vero conteggio* solo ciò che si basa sul sistema numerico verbale poiché richiede etichette verbali. A supporto della loro tesi hanno sviluppato 5 punti fondamentali: iniettività (*one-one principle*; ad ogni simbolo un solo valore), ordine stabile (*stable-order principle*; i numeri devono seguirne uno), cardinalità (*cardinal principle*; il simbolo applicato all'ultimo numero di un insieme rappresenta il numero di oggetti in esso contenuto), astrazione (*abstraction principle*; regole e criteri possono essere applicati a situazioni diverse) ed irrilevanza dell'ordine (*order-irrelevance principle*; l'ordine del conteggio è irrilevante).

Con abilità di proto-conteggio o proto-numeriche si intendono tutte le abilità che non rispecchiano i punti definiti da Gelman e Gallister (Davis & Pérusse, 1988). Dunque, sono capacità di raggruppamento, ordinamento, quantificazione e misurazione di fatti e fenomeni della realtà.

Quando si compiono ricerche di cognizione numerica è inoltre necessario considerare alcuni effetti che possono avere ripercussioni con la procedura selezionata, ad esempio: *size effect* e *distance effect*. Il *size effect* indica che per numerosità uguali in termini di distanza la performance diminuisce se aumenta il valore numerico. La *distance effect* invece è un decremento sistematico nella capacità di discriminare la numerosità quando la distanza numerica tra numeri diminuisce. Sia

uomini sia animali sono in grado di risolvere dei compiti numerici non – simbolici più facilmente fino a quando non aumentano la differenza tra i numeri in questione e la grandezza di questi (Di Giorgio, Lunghi, Rugani et al., 2019).

Questi effetti si rifanno alla legge di Weber, la quale assume che la sensibilità di uno stimolo aumenta in maniera proporzionale all'intensità dello stimolo stesso e dunque, la discriminazione numerica non dipende dal valore assoluto dei due valori presi in considerazione, ma piuttosto, dal rapporto tra questi. Questa legge è applicata anche alle abilità numeriche secondo numerosi studi (Meck & Church, 1983; Boysen et al., 1996; Barth, Kanwisher, Spelke, 2003; Piazza et al., 2004; Pica et al., 2004; Cantlon & Brannon, 2006).

Oggi sappiamo che esistono due sistemi differenti per la stima della numerosità: l'*Object File System* (OFS) e *Approximate Number System* (ANS).

Il primo è un sistema che si riferisce alla capacità di immagazzinare in memoria piccole quantità, 3-4 stimoli al massimo. Questi stimoli sono processati e registrati da una scena e immagazzinati in maniera implicita come file discreti. Il sistema OFS richiede quindi una capacità di memoria abbastanza grande da contenere le informazioni derivate dagli stimoli e un'abilità di considerare oggetti diversi come entità distinte. Il tempo di conteggio di questo sistema (anche detto *subitizing*) è tipicamente rapido (40-200msec) ed accurato (Kaufman et al., 1949).

L'ANS invece si occupa di analisi per un alto numero di stimoli obbedendo alla legge di Weber. In particolare, questo sistema stima la grandezza derivante da uno stimolo di dimensioni difficilmente calcolabili sulla base di una singola esposizione a questo. Ad esempio, al termine di un evento con molte persone possiamo solo ipotizzare il numero dei partecipanti sulla base della nostra esperienza ma non riusciamo a risalire ad una cifra precisa. Si pensa, attraverso gli studi di numerosi autori, che questo sistema sia in grado di comprendere OFS e dunque anche di sostituirlo.

1.3 Storia delle abilità di discriminazione numerica negli insetti

La storia della cognizione numerica animale ha sempre “utilizzato” i vertebrati come modelli per comprendere quali possano essere le capacità animali in questo ambito. In passato si era convinti che l’essere umano in quanto animale intelligente fosse la massima espressione dell’evoluzione naturale e per questo doveva sedere in cima alla piramide animale (e vegetale), in un ordine gerarchico che Aristotele descriveva nel suo *Scala naturae*. Questo pensiero ha portato alla convinzione che anche in campo cognitivo e numerico le abilità dell’uomo, e più in generale dei vertebrati, siano sempre state superiori rispetto al resto del regno animale senza avere né prove né dimostrazioni riguardo alle mancanze o le carenze di abilità di questi.

Il fatto che la considerazione umana si sia incentrata dapprima su mammiferi, uccelli, pesci e talvolta rettili e anfibi è un fatto oggettivo e ripone le sue radici in tematiche culturali, storiche ed ecologiche. Da sempre i vertebrati sono stati addomesticati dall’uomo e questo rapporto ha fatto sì che anche i primi studi e le prime ricerche, in quasi ogni ambito, siano ricadute su di essi.

In ambito normativo, i vertebrati sono strettamente controllati specialmente per attività di laboratorio e ricerca, mentre secondo il decreto vigente dell’Unione Europea (Decreto legislativo 04 marzo 2014, n. 26) gli invertebrati non necessitano di tali controlli e regolamentazioni. L’unica eccezione riguarda i cefalopodi come il polpo (*Octopus vulgaris*) che da sempre sono ritenuti tra i più intelligenti e sensibili nel regno animale e per questo hanno avuto una menzione speciale riguardo al trattamento.

Le ricerche in ambito di cognizione numerica effettuate sui vertebrati hanno portato a pensare che vi siano sufficienti prove per credere che le abilità numeriche acquisite dall’uomo siano basate su sistemi non simbolici.

Solamente negli ultimi 30 anni, si è cominciato a pensare agli invertebrati non-cefalopodi, ed in particolare agli insetti, come possibili soggetti da testare, dapprima considerati come organismi mossi da riflessi incondizionati e automatismi. Chiaramente, i più appetibili per

le sperimentazioni sono gli insetti più studiati e di cui si conosce già molto bene l'etologia e l'anatomia. Su tutti, gli insetti sociali, come api, vespe o formiche, sono stati al centro delle prime sperimentazioni in ambito di cognizione numerica. Questi presentano una porzione di cervello chiamata corpi fungiformi (rappresentati in rosso in **Figura 2**) che appare di dimensioni maggiori rispetto al resto degli insetti non-sociali (descritti per la prima volta da Felix Dujardin nel 1850; Caron & Abbott, 2017). I corpi fungiformi sono strutture nervose associative che catturano le informazioni sensoriali (olfattive, tattili, gustative ecc.) e le convertono, risultando fondamentali nei processi di apprendimento e di immagazzinamento della memoria.

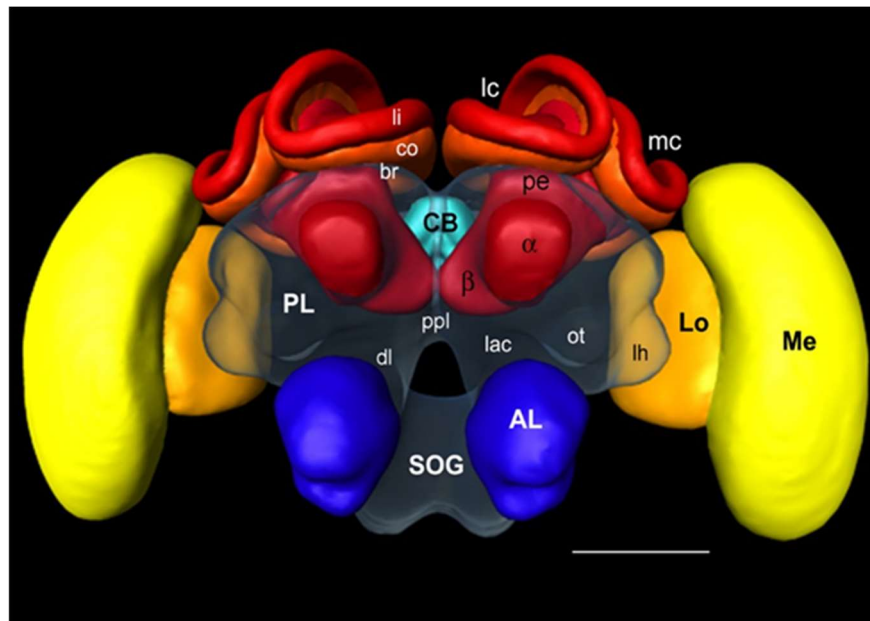


Figura 2. Rappresentazione del cervello di un'ape; si distinguono: in rosso i corpi fungiformi, in nero le componenti dei lobi protocerebrali, in giallo lobula e medulla, SOG (ganglio subesofageo). Scala 300 μ m. (Rybak J., Kuß A., Lamecker H., Zachow S., Hege H-C., Lienhard M., Singer J., Neubert K., Menzel R., (2010). The digital bee brain: integrating and managing neurons in a common 3D reference system. *Frontiers in Systems Neuroscience*, volume 4.

L'ape, con i suoi novecentosessantamila neuroni nel ganglio encefalico (rispetto agli ottantasei miliardi presenti nel cervello umano) è in grado di compiere discriminazioni di forme e numeri (Vallortigara, 2021). Inoltre, queste sono in grado di apprendere rapidamente relazioni

concettuali come uguale, diverso, sopra/sotto oppure sinistra/destra attraverso stimoli visivi (Avargue's-Weber & Giurfa, 2013).

In una ricerca di Bortot e collaboratori (2021) si evidenzia come ormai diversi studi abbiano dimostrato che le informazioni basate sulla numerosità possono fornire un vantaggio in termini di adattamento anche per gli invertebrati ma che le poche ricerche condotte in ambito di cognizione numerica su questi sono dovute al fatto che hanno un cervello più piccolo e vi siano delle differenze nei tratti comportamentali, anatomici ed ecologici.

Ciò che però non è chiaro è fino a che punto un cervello miniaturizzato, come quello di un insetto, è in grado discriminare e comprendere quantità numeriche eguali e/o differenti. Capire a pieno regime il cervello degli invertebrati sarebbe forse utile per risalire, anche in ambito evoluzionistico, a quello che è stato lo sviluppo delle nostre facoltà intellettive.

Il fatto che la ricerca riguardante le abilità cognitive degli insetti si sia basata in maniera consistente su specie sociali ha un rischio: lo sviluppo di una “cognizione distribuita” (O'Donnell, 2015). I membri delle colonie sociali potrebbero non disporre di cognizione individuale ma di una competenza cognitiva che coinvolge diversi gruppi funzionali. Ad esempio, nelle api operaie o nei “superorganismi” creati dalle formiche tagliafoglia, questo si traduce in una specializzazione in determinati campi che potrebbero limitarne le abilità cognitive più in generale.

Esiste poi una importante questione legata alla memoria e alle motivazioni che questi possono avere e/o acquisire. Non vi sono prove che gli insetti non possano avere una motivazione sufficiente per portare a termine determinati compiti, tuttavia, le caratteristiche anatomiche e la sensibilità differente degli insetti a determinati segnali (visivi, olfattivi, gustativi o tattili) li rendono molto diversi rispetto ai trattamenti standard che potrebbero riguardare, ad esempio, un mammifero o un uccello. La scelta del soggetto e la cura dell'apparato risultano fondamentali per il mantenimento della motivazione sull'esperimento e ne determinano l'esito.

La motivazione che porta un insetto a compiere una prova non è standardizzabile. Mentre le api bottinatrici (operaie adulte) imparano a

compiere un'azione grazie ad una ricompensa alimentare (acqua e zucchero), le vespe, essendo insetti che possono mangiare molto più di rado, rispondono più precocemente quando stimolo le porta ad evitare una penalità. In uno studio eseguito da Sheehan & Tibbetts (2011), le vespe venivano inserite in un labirinto a T ed erano portate a scegliere tra due stimoli (immagini di bruchi, “volti” di altre vespe o ancora, disegni geometrici; **figura 3**).

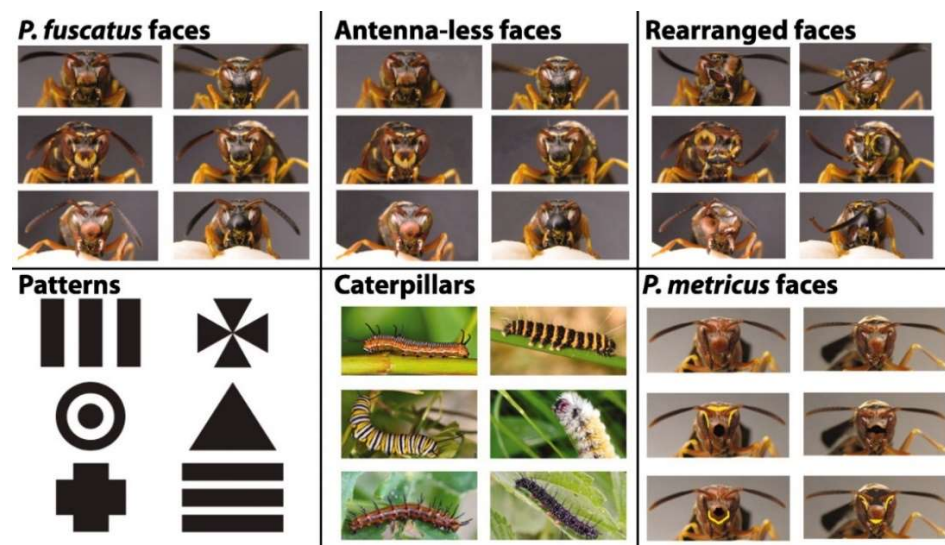


Figura 3. Nei gruppi in alto a partire da sinistra: volti delle vespe utilizzate (*P. fuscatus*), volti delle vespe utilizzate senza antenne, volti riarrangiati delle vespe utilizzate; Nei gruppi in basso a partire da sinistra sono rappresentati gli stimoli “estranei”: disegni geometrici, bruchi, volti di altre vespe (*P. metricus*). Sheehan M.J., Tibbetts E.A., (2011). Specialized face learning is associated with individual recognition in paper wasps. *Science*. **334(6060)**:1272-5. doi: 10.1126/science.1211334. PMID: 22144625.

Quando le vespe andavano sullo stimolo sbagliato ricevevano una piccola scossa elettrica. Al termine della sperimentazione, in maniera molto umana, queste avevano imparato a riconoscere i diversi volti delle altre vespe. Gli stessi Sheehan e Tibbetts concludono che “La flessibilità evolutiva dell'apprendimento specializzato per i tratti facciali è sorprendente e suggerisce che la specializzazione cognitiva possa essere un diffuso adattamento teso a facilitare compiti comportamentali complessi come il riconoscimento individuale”.

È stato dimostrato, per alcuni insetti, che vi sono anche abilità di memorizzazione non indifferenti che risultano essere fondamentali in

esperimenti di discriminazione numerica in seguito ad apprendimento. La larva della sfinge del tabacco (*Manduca sexta*, Linneo, 1763) è in grado di ricordare uno stimolo olfattivo avverso attraverso vari stadi di crescita e addirittura post – metamorfosi in fase adulta (Blackiston, Silva Casey, Weiss, 2008). La stessa cosa avviene durante la metamorfosi di *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) e la conservazione di queste memorie è sempre a carico dei corpi fungiformi, in particolare di un lobo (gamma) che a differenza degli altri (alfa e beta) sopravvive a questo drastico cambiamento e conserva il segnale olfattivo.

La prova che anche gli insetti sono in grado di immagazzinare ricordi a lungo termine ci pone davanti questioni di ambito ecologico ed evolutivo.

Studi recenti ci mostrano come diverse specie di insetti non sociali sono in grado di compiere discriminazione numerica attraverso stimoli di diverse tipologie.

La forma adulta della comune tarma della farina (*Tenebrio molitor*, Linneo, 1758) è in grado di discriminare un odore rispetto a più odori. In un esperimento svolto da Carazo et al. nel 2009, alcuni maschi di *Tenebrio molitor* sono stati sottoposti a diversi odori di femmine in rapporto 1:4, 1:3, 2:4, 1:2 e solo nei primi due casi hanno dato risultati significativi preferendo più odori a un singolo stimolo olfattivo (**Figura 4**). La scelta è ricaduta sul più solo quando questi avevano un rateo minore a 1:2. (Carazo et al., 2009).

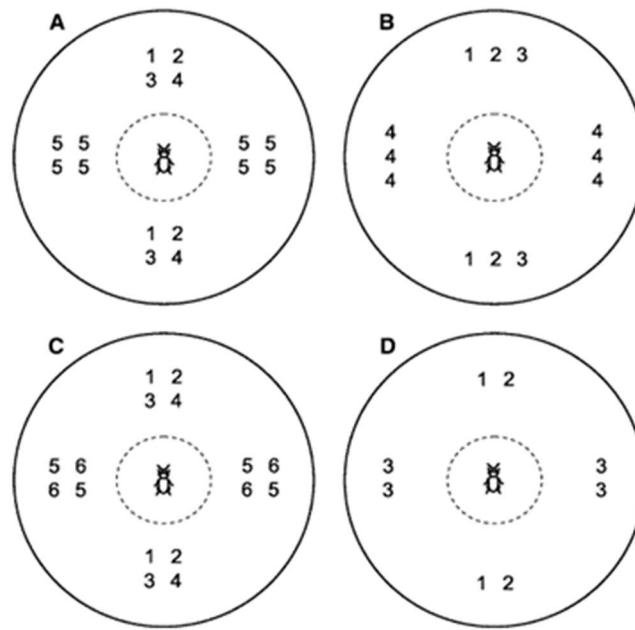


Figura 4. Ogni gruppo rappresenta un differente rapporto di odori usato nella sperimentazione. Gruppo A: 1vs4; Gruppo B: 1vs3; Gruppo C: 2vs4; Gruppo D: 1vs2. Carazo P., Font E., Forteza-Behrendt E. et al. (2009). Quantity discrimination in *Tenebrio molitor*: evidence of numerosity discrimination in an invertebrate? *Animal Cognition*, **12**: 463–470.

Nella maggior parte degli articoli a disposizione, si può notare come il numero “4” sia indicato come il limite per le competenze numeriche degli insetti, sia che gli stimoli si trovino in sequenza (Chittka & Geiger, 1995; Dacke & Srinivasan, 2008; Bar-Shai et al., 2011a, b) sia che questi siano visualizzati simultaneamente (Leppik, 1953; Gross et al., 2009; Gross, 2011).

1.4 *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784)

Anthia thoracica (Thunberg, 1784) è un coleottero del genere *Anthia* appartenente alla famiglia dei Carabidi. La sua distribuzione geografica comprende molte regioni dell’Africa centro-meridionale (Botswana, Kenya, Lesotho, Malawi, Mozambico, Namibia, Sud Africa, Tanzania, Zambia, Zimbabwe). In Kenya e Tanzania si trova la sottospecie *Anthia thoracica lukulediensis* (Sternberg, 1906) mentre nei restanti paesi sopra citati troviamo la sottospecie *Anthia thoracica thoracica* (Thunberg,

1784). È importante prestare attenzione a non confondere le specie del genere *Anthia* con quelle del genere *Termophilum* alle quali sono strettamente imparentate e morfologicamente simili.

Tra le quattro specie del genere *Anthia* esaminate da Mawdsley e collaboratori in un elaborato del 2011 (*Anthia cinctipennis*, Lequien 1832; *Anthia circumscripta*, Klug 1853; *Anthia maxillosa*, Fabricius 1793; *Anthia thoracica*, Thunberg 1784) questa è diffusa e si può incontrare con facilità, specialmente in Sud Africa nel Kruger National Park e nella zona del Capo di Buona Speranza (**Figura 5**).

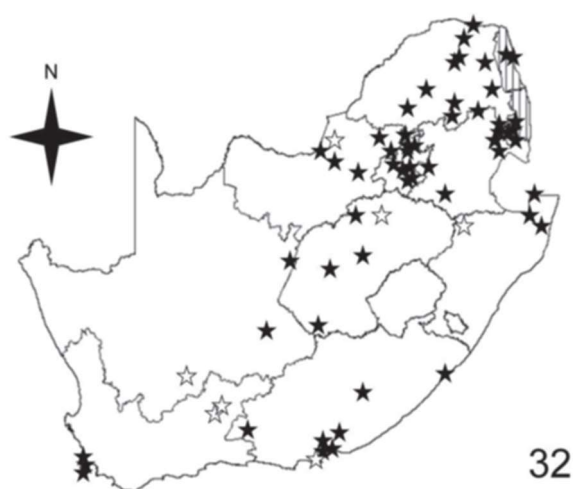


Figura 5. Distribuzione di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) in Sud Africa. Le stelle indicate campionamenti svolti nel 2011; le stelle vuote indicano record storici di campionamenti passati. Mawdsley J.R., Erwin T.L., Sithole H., Mawdsley J.L., Mawdsley A.S. (2011). The genus *Anthia* Weber in the Republic of South Africa, Identification, distribution, biogeography, and behavior (Coleoptera, Carabidae). *ZooKeys* **143**: 47–81. doi: 10.3897/zookeys.143.2075

Si distingue dalle altre specie di *Anthia* per via delle due chiazze gialle o marroni poste sul dorso, ai lati del pronoto, che servono anche da monito per i predatori in agguato.

I maschi (4,5-5,5 cm) sono generalmente più grandi delle femmine (4-5 cm) e presentano delle mandibole allungate a forma di falce asimmetriche. La mandibola sinistra risulta più ricurva rispetto alla destra (1-1,5cm). Le mandibole nelle femmine sono più corte, robuste prive di asimmetrie. Gli occhi sono piccoli e convessi ma permettono comunque una buona visibilità. È noto inoltre che i coleotteri, ed in

particolare i carabidi, sono gli insetti con lo spettro del visibile più ampio registrato ($\Delta\lambda = 348-620$ in *C. auratus*, Linneo 1761, e *C. nemoralis*, Müller 1764) (Briscoe & Chittka, 2001).

Come si evince dal grafico in **Figura 6**, i campionamenti effettuati hanno evidenziato una maggiore attività degli adulti durante la stagione estiva dell'emisfero australe. I soggetti sono stati campionati prevalentemente in zone di prateria, savana e aree boschive.

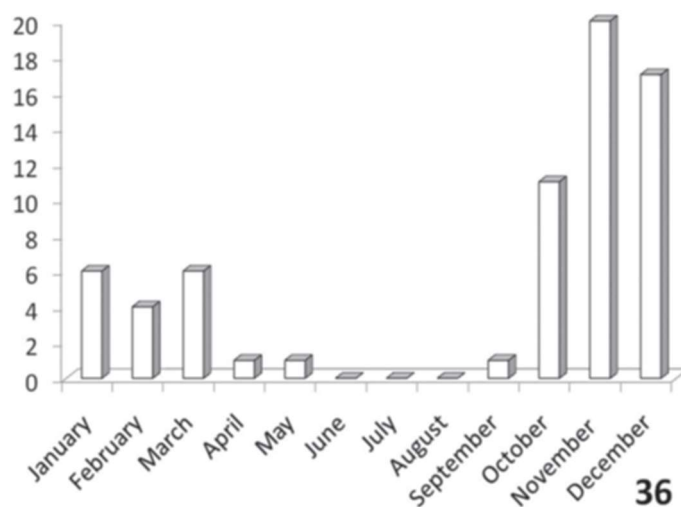


Figura 6. Periodi di maggiore attività di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784). Mawdsley J.R., Erwin T.L., Sithole H., Mawdsley J.L., Mawdsley A.S. (2011). The genus *Anthia* Weber in the Republic of South Africa, Identification, distribution, biogeography, and behavior (Coleoptera, Carabidae). *ZooKeys* **143**: 47–81. doi: 10.3897/zookeys.143.2075

Per difendersi dagli attacchi dei predatori in ambiente naturale, i coleotteri del genere *Anthia* hanno sviluppato delle difese chimiche e sono in grado di sparare a più di un metro di distanza una secrezione concentrata di acido direzionata direttamente agli occhi o alla testa (Scott et al. 1975; Huey & Pianka 1977). *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) utilizza un composto di acido formico concentrato al 98% (Catherine & Housecroft, 2019) che viene rilasciato dalle ghiandole pigidiali collocate all'altezza del nono segmento addominale.

1.5 Approcci metodologici

Esistono due tipologie di approcci fondamentali per testare le abilità numeriche degli animali: test di scelta spontanea (*spontaneous choice test*) oppure test di scelta a seguito di apprendimento (*training procedures*).

I test di scelta spontanea prevedono che il soggetto venga posto davanti a due gruppi di stimoli di numerosità differenti che possono indurre il soggetto a compiere una scelta in base a diversi livelli di motivazione: stimoli alimentari (cibo), stimoli sociali, stimoli sessuali oppure ancora stimoli artificiali (Agrillo & Bisazza, 2014). Il test inizia nel momento in cui il soggetto viene liberato nell'arena di sperimentazione ed è libero di prendere una decisione in base a cosa lo motiva maggiormente. La capacità degli animali di discriminare un "più" rispetto a un "meno" quando si trovano davanti a due set di grandezze differenti è un'abilità numerica di base (Vallortigara, 2018). Inoltre, ci si aspetta che questa discriminazione porti l'animale a scegliere la quantità di risorse (ad esempio prede, rinforzi alimentari, conspecifici) maggiore rispetto a quella minore (Davis & Pérusse, 1988).

I test in seguito ad apprendimento, invece, si eseguono dopo una serie di training nei quali il soggetto viene addestrato ad associare un rinforzo (alimentare, sociale, sessuale ecc.) ad uno stimolo (visivo, olfattivo, tattile ecc.). Una volta addestrato il soggetto si esegue il test vero e proprio che prevede la rimozione del rinforzo alimentare ai fini di testare l'apprendimento. Una pratica utile quando si fanno delle prove di questo tipo è quella di iniziare con il rinforzo alimentare in vista (davanti o attorno allo stimolo) per poi andarlo a nascondere dietro ad un pannello che presenta lo stimolo. In questo modo l'associazione stimolo – rinforzo potrebbe essere più robusta.

2. Obbiettivi dello studio

In questo elaborato, si è provato a comprendere e ad indagare riguardo le abilità numeriche negli invertebrati non-sociali, in particolare su 11 esemplari vivi di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) appartenenti al Museo degli Insetti Esapolis. Si tratta di una parte di una ricerca più ampia che mira a dimostrare come questi insetti siano in grado di discriminare in maniera spontanea e/o in seguito ad apprendimento numerosità differenti. È noto come i coleotteri siano dotati di abilità visive per orientarsi e utilizzino fattori ambientali per muoversi e ritrovare strade già percorse (Wiltschko & Wiltschko, 2022). In particolare, si è scoperto che questi insetti utilizzano il campo magnetico terrestre così come altri animali quali uccelli migratori, non migratori (come piccioni, *Columba livia domestica*, e pulcini, *Gallus gallus*, salamandre, rane, alligatori, tartarughe marine, pipistrelli e roditori. Oltre al campo magnetico terrestre i coleotteri, in particolare quelli appartenenti ad ambienti aridi e desertici (come è *Anthia thoracica*, Thunberg, 1784) usano il sole come punto di riferimento per orientarsi (Schmidt-Koenig, 1975).

La scelta dei soggetti è dunque ricaduta su questi carabidi in quanto si ipotizza che utilizzino la vista per orientarsi (così come fanno altri animali in ambiente desertico, es. formiche del genere *Cataglyphis*, Pfeffer et al., 2016) e siano particolarmente attratti e motivati dal rinforzo alimentare in quanto predatori. Altre specie testate solo in fase preliminare, come formiche (*Messor barbarus*, Linneo, 1767, e tagliafoglia del genere *Atta*, Fabricius, 1805) o blatte (*Gromphadorhina portentosa*, Schaum, 1853) risultavano difficilmente motivabili e necessitano ancora oggi ulteriori studi per capire il paradigma migliore da utilizzare. A livello di metodologico, risulta rischioso avere un basso numero di soggetti da testare ai fini di avere una validità statistica per generalizzare i risultati ottenuti, specialmente utilizzando specie esotiche difficili da reperire e per periodi di tempo prolungati (Agrillo & Pedrazzini, 2012). Sulla base di ciò, questa ricerca mira ad ampliare le conoscenze riguardo alle abilità numeriche negli invertebrati e, in particolare, insetti non sociali.

Per testare queste abilità sono stati eseguiti sia test di scelta spontanea e sia test in seguito ad apprendimento.

Nelle prove di discriminazione numerica spontanea, 1vs3 (0.33) e 1vs4 (0.25) ci aspettiamo, assumendo l'utilizzo di un sistema numerico ANS, che secondo la legge di Weber la discriminazione con rapporto minore, in questo caso 1vs4 (0.25), sia più semplice di quella con rapporto maggiore (1vs3; 0.33). Al fine di effettuare dei test di controllo riguardo le numerosità 1 e 3 sono stati effettuate delle prove di discriminazione numerica spontanea 1vs1 e 3vs3. Tali test sono stati utili anche per vedere come rispondevano i soggetti ai rinforzi alimentari posti a destra e a sinistra rispetto all'origine da cui il soggetto arrivava.

Invece, le abilità dei soggetti in seguito ad apprendimento sono state valutate con una prova 2vs3 (0.66) dove gli esemplari di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) sono stati addestrati ad andare verso il "3" e sono stati poi testati rimuovendo il rinforzo alimentare. L'ipotesi iniziale presuppone, secondo il sistema OFS (per basse numerosità come 1,2 o 3), che gli individui a seguito di apprendimento siano in grado di discriminare il target selezionato, in questo caso il "3".

Queste sperimentazioni sono state utili per rilevare la presenza o meno di uno SNARC effect (*Spatial-Numerical Association of Response Codes*): si tratta del tempo di reazione in una risposta legata alla dimensione del numero e alla sua posizione nella linea numerica mentale (*mental number line*, MNL) (Galton, 1880). In questa, i numeri più piccoli sono disposti a sinistra mentre i numeri più grandi si posizionano a destra e per questo, i soggetti stimolati con due grandezze uguali di piccole dimensioni (es. 1vs1) si dovrebbero muovere prima verso sinistra. Viceversa, quando le numerosità aumentano, questi andranno a destra più rapidamente. Inizialmente si pensava che questi processi riguardassero solo l'essere umano ma studi recenti (Rugani et al., 2020, Giurfa et al., 2022) evidenziano come questo effetto e conseguentemente questa rappresentazione possano non essere una prerogativa umana ma si possano riscontrare anche in altre specie.

3. Parte sperimentale

L'esperimento è stato svolto tra l'aprile e l'ottobre 2023 presso il Museo vivente degli insetti "Esapolis" di Padova. Gli esemplari di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) sono stati prelevati da due differenti terrari: un terrario in esposizione al pubblico (80x50x70 cm) da cui sono stati analizzati 5 soggetti e un terrario tenuto direttamente in laboratorio (50x30x25 cm) con altri 6 soggetti. Entrambi i terrari erano dotati di lampade collegate a timer per regolare i cicli di luce/buio (12h/12h) e lampade infrarossi (distanti 40cm dal suolo dell'arena) regolare la temperatura nei terrari. Le lampade a infrarossi erano accese/spente a intervalli di 1 ora tempo dalle ore 07:00 alle ore 23:00 in modo da tenere la temperatura costante in un range tra i 25°-28° C. L'umidità nei terrari era del 50-60%.

I soggetti avevano a disposizione acqua *ad libitum* attraverso un recipiente riempito di acqua fresca quotidianamente. Ogni due giorni venivano aggiunte ai terrari 10 larve di *Tenebrio molitor* (Linneo, 1758) in modo da mantenere i soggetti nutriti ma non completamente sazi ai fini della sperimentazione.

I soggetti sono stati catalogati come A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, A10, A11. Durante i mesi di sperimentazione i soggetti A3, A5 e A6 sono deceduti e hanno lasciato risultati incompleti come si vede in **Tabella 1**.

Tabella 1. In verde sono riportate le prove completate da ogni soggetto, in rosso le prove mancanti. D.N. = discriminazione numerica; *A5 ha completato solo il test nel gruppo "S+2" dell'esperimento pilota per la D.N. in seguito ad apprendimento.

Soggetti	D.N. Spontanea				D.N. Apprendimento
	1vs1	3vs3	1vs3	1vs4	2vs3
A1					
A2					
A3					
A4					
A5					*
A6					
A7					
A8					
A9					
A10					
A11					

I soggetti mancanti, rappresentati in rosso, sono stati esclusi dalle analisi statistiche, dunque, nei test di discriminazione numerica spontanea 1vs1, 3vs3, 1vs3, 1vs4 sono stati N=10, mentre nei test di discriminazione in seguito ad apprendimento sono stati N=8.

3.1 Apparato Sperimentale

L'arena di sperimentazione (**Figura 7**) consiste in una struttura interamente formata da pannelli di polionda polipropilene bianco, composta da un'anticamera (rettangolo di 24x18cm, altezza 15cm) ed un'arena a forma di trapezio (base minore 18cm, base maggiore 70cm, lati 40cm; altezza 15cm).

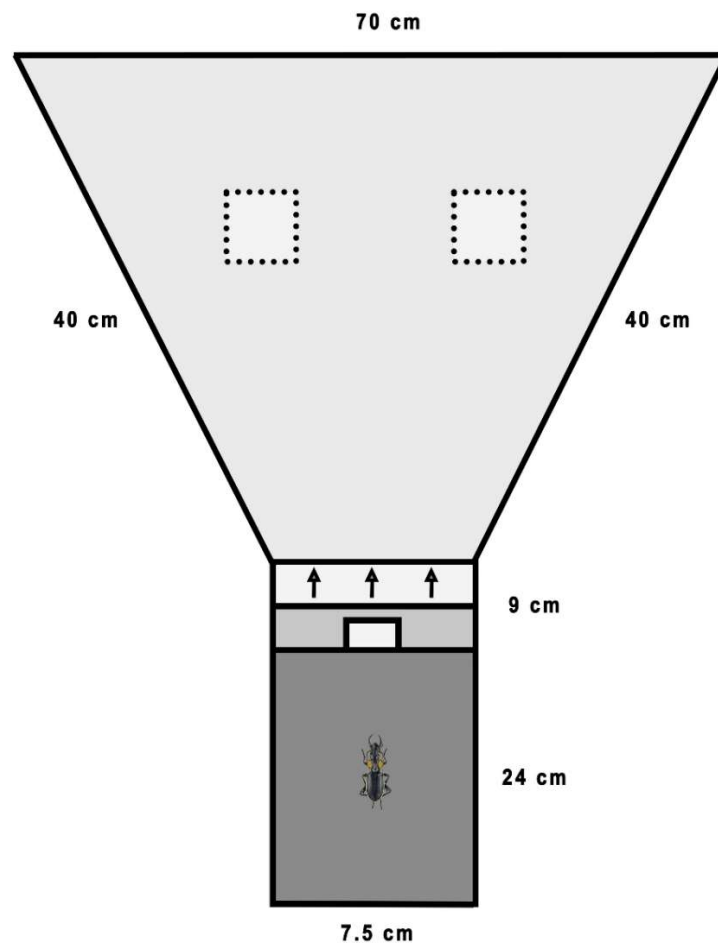


Figura 7. Rappresentazione grafica dell'arena sperimentale.

L'anticamera è posta 5cm al di sopra dell'arena, ed è collegata ad essa tramite uno scivolo (lungo 9cm, pendenza 45° circa): questo permette al soggetto di vedere l'arena da un punto sopraelevato e non permette di tornare nell'anticamera una volta raggiunta l'arena, essendo impossibile attraversare lo scivolo al contrario a causa dell'inclinazione.

Sul limite che separa l'anticamera e lo scivolo è posizionata una parete (18cm, altezza 15cm) posta perpendicolare a questi con un'apertura centrale (4x4cm) che fa sì che i soggetti scendano al centro dello scivolo, standardizzandone la posizione una volta nell'arena (**Figura 8**).

Il suolo dell'arena è ricoperto da uno strato di sabbia BrikoLine®, nel quale sono posizionati due contenitori quadrati (6x6cm, altezza 1.5cm) rispettivamente a destra e sinistra dello scivolo (a 10 cm di distanza dal punto di ingresso dell'animale nel trapezio di sperimentazione 10 cm), a 10cm di distanza tra loro e 8cm di distanza dalle pareti dell'arena. All'interno di questi sono collocati i rinforzi alimentari (larve di *Tenebrio molitor*, Linneo 1758).

L'intero apparato è illuminato dall'alto in maniera omogenea da un totale di 6 faretti led bianco (Mittled Ikea®, 1A, 125VL, 250V), in modo da impedire la formazione di zone d'ombra.

Inoltre, viene utilizzato un contenitore trasparente rettangolare (13 x 9.5cm, altezza 6cm) aperto sul fondo, in modo da poter trattenere il soggetto nell'anticamera tra una prova e l'altra e all'occorrenza sollevarla per liberarlo ad inizio sperimentazione.



Figura 8. *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) nell'anticamera dell'arena sperimentale

che si appresta a svolgere un trial di discriminazione numerica in seguito ad apprendimento (2vs3).

3.2 Procedura sperimentale

Il soggetto viene posizionato nell'anticamera sotto un contenitore trasparente (13x9.5cm, altezza 6cm); dopo un minuto di adattamento nell'arena di sperimentazione viene alzato il contenitore ed il soggetto è libero di muoversi per l'apparato sperimentale per una durata di 10 minuti. Questa fase risulta necessaria per creare un primo approccio tra lo scarabeo e l'ambiente circostante. Al termine dei primi 10 minuti di esplorazione il soggetto viene nuovamente preso e riportato all'inizio dell'arena e si lascia riposare per un ulteriore minuto sotto al contenitore trasparente. In questo periodo si modificano le condizioni dell'arena e vengono inseriti i target positivi e negativi.

Inizia dunque la fase di sperimentazione e il soggetto ha dieci minuti a disposizione. La conclusione del trial avviene quando il soggetto approccia in maniera interattiva ad uno dei due contenitori contenenti il rinforzo, a destra o a sinistra: non importa quindi che mangi effettivamente il rinforzo, il trial è considerato valido se mostra almeno l'intenzione di farlo, per esempio aprendo e serrando le mandibole vicino al rinforzo.

Altrimenti, il trial si conclude una volta passati 10 minuti senza alcun approccio diretto al rinforzo, in tal caso il trial è da considerare nullo. A trial concluso, il soggetto viene prelevato e riposizionato nell'anticamera sotto il contenitore trasparente, e verrà liberato nuovamente dopo un minuto (in caso di trial nullo) o quando il soggetto avrà terminato di masticare il rinforzo (approssimativamente dopo 2 minuti). Quando il soggetto non è presente nell'anticamera, questa viene pulita da eventuali elementi che possono costituire un bias in quanto i soggetti, riportati nell'anticamera, talvolta continuano a masticare lasciando sulla superficie residui alimentari o escrementi. Inoltre, se previsto dal protocollo sperimentale, durante questa fase di transizione si possono scambiare le posizioni dei contenitori con i rinforzi alimentari o dei pannelli con i quadratini. I contenitori vengono

scambiati ogni 5 prove in modo da escludere ulteriori bias inerenti a tracce olfattive, così come anche le larve che rimangono per più trials vengono scambiate tra loro o sostituite con altre in modo da escludere eventuali preferenze del soggetto riguardo al rinforzo presente. Anche il rinforzo è soggetto a standardizzazione, difatti si è prestata particolare attenzione a selezionare larve simili tra loro per grandezza e vivacità. Prima dell'inizio del trial, in modo da non influenzare la scelta, le larve vengono stimulate tramite una pinzetta in modo che si muovano nel contenitore e risultino maggiormente individuabili dal soggetto.

4. Discriminazione in seguito ad apprendimento (2vs3)

4.1 Materiali e Metodi

In questo tipo di sperimentazione vengono utilizzati per l'apprendimento numerico degli stimoli che raffigurano le numerosità selezionate. Si tratta di pezzettini quadrati di cartoncino plastificato di dimensione 3.5x3.5 cm posti fronte retro su un pannello di polionda che funge da sostegno. Sui cartoncini sono raffigurati 2 o 3 quadrati neri di dimensioni 0.8x0.8cm (area 1,28 cm² per due quadrati e 1,92cm² per tre quadrati) su sfondo bianco. Il cartoncino in fronte ha lo stesso numero di quadrati neri di quello in retro ma i quadrati hanno posizione spaziale diversa in modo da non creare associazioni visive nell'insetto. Il rinforzo positivo (quello che rappresenta il target selezionato, "2" o "3") viene posizionato a destra (DX) o sinistra (SX) secondo la seguente sequenza semi-random standard: DX SX DX SX DX DX SX SX DX SX SX DX SX DX SX SX DX DX SX DX (Fellows, 1967; Stancher et al., 2015). I quadrati (**Figura 9**) sono generati in maniera randomica tramite uno script Phyton 3.11 (64 bit). Sia per il "2" sia per il "3" sono stati generati 50 quadrati diversi tra loro per poter cambiare durante i trial i cartoncini in modo da non creare nel soggetto un'associazione visiva.

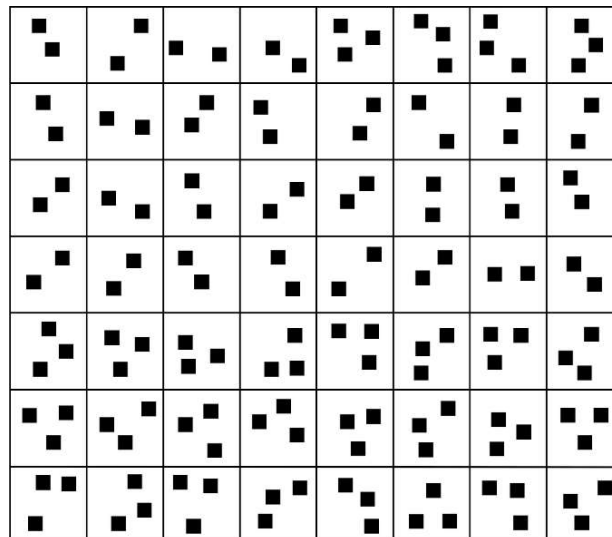


Figura 9. Esempi di cartoncini "2" e "3" utilizzati per le sperimentazioni 2vs3.

Questi stimoli vengono posti per i primi 3 trial dietro ai contenitori di plastica con i rinforzi alimentari, in modo che il cibo sia di semplice

individuazione e che l'associazione stimolo-rinforzo possa crearsi più facilmente. In seguito, questi vengono collocati davanti al contenitore, in modo che il rinforzo sia celato dai pannelli e si possa effettivamente osservare che, quando il soggetto giunge nell'arena vi sia una associazione stimolo-rinforzo.

Il posizionamento spaziale dei pannelli "2" e "3" è affidato sempre alla sequenza semi-randomica sopracitata, ed il rinforzo (3 larve di *Tenebrio molitor*) viene posto sempre nel contenitore che presenta il target selezionato (stimolo "3" oppure "2").

La sessione di 20 trial viene suddivisa in due tipi di prove: gran parte dei trial (14) sono di training, nei quali il rinforzo alimentare è presente in modo da creare e rafforzare l'associazione stimolo-rinforzo, mentre 6 trial sono test, durante i quali non è presente alcun rinforzo in modo da osservare il comportamento dell'esemplare successivamente ai vari training (Rugani et al., 2016).

Il trial è reputato corretto se il soggetto si dirige verso il contenitore che presenta il target selezionato ed esibisce comportamenti predatori o di interazione verso lo stimolo alimentare (cercare le larve, esplorare il contenitore, aprire e serrare le mandibole o interagire con lo stimolo positivo; **Figura 10**), mentre è considerato sbagliato se si avvicina al contenitore non rinforzato.



Figura 10. *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) che approccia allo stimolo positivo ("3") durante una prova di test della sperimentazione 2vs3 (in seguito ad apprendimento, senza rinforzo alimentare).

La distribuzione tra prove di training e test nelle 20 prove di una sessione sperimentale è alternata seguendo un'altra sequenza semi-randomica (tr-tr-tr-tr-T-tr-tr-tr-T-tr-T-tr-tr-T-tr-T-tr-T) (Rugani et al., 2016).

Inizialmente i soggetti sono stati divisi in due gruppi sperimentali: un gruppo "S⁺ 2" (stimolo positivo "2") ed un gruppo "S⁺ 3" (stimolo positivo "3"). Nel gruppo "S⁺ 3" sono stati inclusi e addestrati a rispondere sul rinforzo positivo ("3") i soggetti A2, A4, A7, A8, A9, A10, A11. Nel gruppo "S⁺ 2" si sono presi un maschio (A5) e una femmina (A1) e sono stati addestrati a rispondere al rinforzo "2". Tale indagine è stata considerata come un esperimento pilota al fine di indagare le capacità di discriminazione in seguito ad apprendimento.

Essendo l'esperimento pilota sbilanciato dal punto di vista della sample size (N=7 nel gruppo "S⁺ 3" e N=2 nel gruppo "S⁺ 2") si è proseguito con una nuova indagine sperimentale dove tutti i soggetti rimanenti (N=8) sono stati testati sullo stimolo positivo per ulteriori 5 sessioni, suddivise in 6 giornate di sperimentazione, ai fini di ottenere un totale di 34 test (6+6+6+6+6+4). In questo esperimento il soggetto A1 (utilizzato nell'esperimento pilota nel gruppo "S⁺ 2") è stato riaddestrato ad andare sul rinforzo positivo "3" e ha dunque svolto 6 sessioni totali per raggiungere il numero di prove richieste (34). L'ultima

sessione prevedeva 13 trial e 4 test e si è seguita la seguente sequenza semi-randomica: tr-tr-tr-T-tr-tr-T-tr-tr-T-tr-tr-T.

Il numero di test totali da svolgere per ogni soggetto (34) è stato selezionato con una power analysis *a priori* (**grafico 1**) effettuata con il programma GPower 3.1.9.7. Alla luce di un basso numero di esemplari a disposizione si è calcolato l'*effect size* medio delle prove svolte precedentemente a questa (effect size $d = 0.5$) e si è utilizzato questo dato per ricavare il n° di prove necessarie con livello di confidenza 80% (0.8) e margine di errore 5% (0.05) al fine di ottenere una Sample Size *a priori*. I risultati sono stati raccolti con Excel® e analizzati con il software Jasp 0.18.1.0. Sono stati eseguiti dei test non parametrici di Wilcoxon dei segni per ranghi per analizzare le differenze tra gli elementi confrontati.

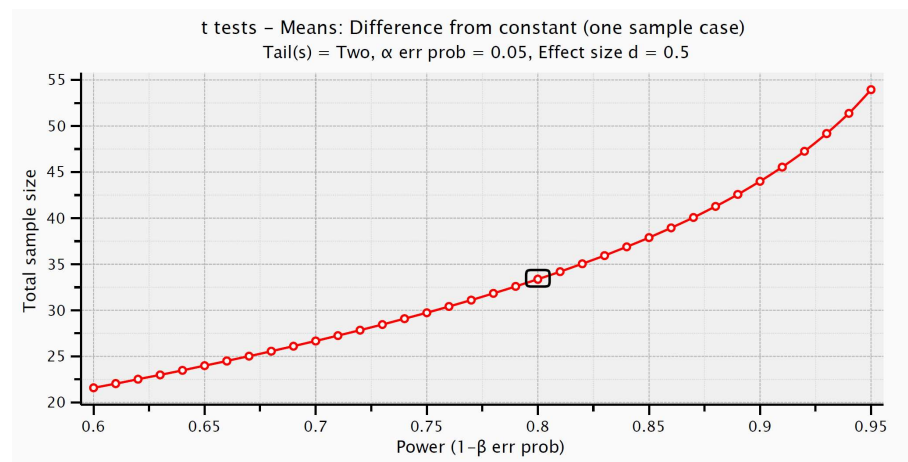


Grafico 1. Power analysis: t test - media a due code con *Effect Size* $d = 0.5$, $\alpha = 0.05$ (margine di errore 5%) e livello di confidenza 80%.

Le Analisi Bayesiane sono interpretate grazie alla **tabella 2**.

Tabella 2. Schema di interpretazione riguardo le Analisi Bayesiane (Lee & Wagenmakers, 2013).

Bayes factor (BF ₁₀)	Log Bayes factor (BF ₁₀)	Evidence category
> 100	> 2	Extreme evidence for H ₁
30 - 100	1.477 to 2	Very strong evidence for H ₁
10 - 30	1 to 1.477	Strong evidence for H ₁
3 - 10	0.477 to 1	Moderate evidence for H ₁
1 - 3	0 to 0.477	Anecdotal evidence for H ₁
1	0	No evidence
1/3 - 1	0 to -0.477	Anecdotal evidence for H ₀
1/10 - 1/3	-0.477 to -1	Moderate evidence for H ₀
1/30 - 1/10	-1 to -1.477	Strong evidence for H ₀
1/100 - 1/30	-1.477 to -2	Very strong evidence for H ₀
< 1/100	< -2	Extreme evidence for H ₀

4.2 Risultati

I risultati del confronto tra gruppo “S⁺ 3” e gruppo “S⁺ 2” sono stati ottenuti tramite un t test dei segni per ranghi di Wilcoxon. I soggetti del gruppo “S⁺2” addestrati sul “2” erano due (A1, A5) mentre quelli addestrati sul “3”, che appartengono al gruppo “S⁺ 3”, erano sette (A2, A4, A7, A8, A9, A10, A11).

Tabella 3. Statistiche relative al gruppo addestrato su “2” (“S+2”) vs gruppo addestrato su “3” (“S+3”), dati derivanti dalle analisi del Paired Samples Wilcoxon Test dei segni per ranghi e dalle Analisi Bayesiane.

	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
"S+ 2"	2	4.500	0.707	0.500	0.157
"S+ 3"	7	5.143	0.690	0.261	0.134

Measure 1	Measure 2	W	z	df	p
"S+ 2"	- "S+ 3"	0.000	-1.000		1.000

Measure 1	Measure 2	BF ₁₀	W
"S+ 2"	- "S+ 3"	0.713	0.000

La **tabella 3** e il **grafico 2** mostrano la media delle prove corrette per ogni gruppo (“S⁺ 3” =5.143/6 e “S⁺ 2” =4.5/6), la deviazione standard (SD “S⁺ 2” = 0.707, “S⁺ 3” = 0.690), l’errore standard (SE “S⁺ 2” = 0.5, “S⁺ 3” = 0.261) e il coefficiente di variazione (“S⁺ 2” = 0.157, “S⁺ 3” = 0.134).

Il test di Wilcoxon non evidenzia valori significativi per la differenza tra i due gruppi in esame (Wilcoxon $p=1.000$). Anche le Analisi Bayesiane supportano la mancanza di differenza tra le due condizioni ($BF_{10} = 0.713$).

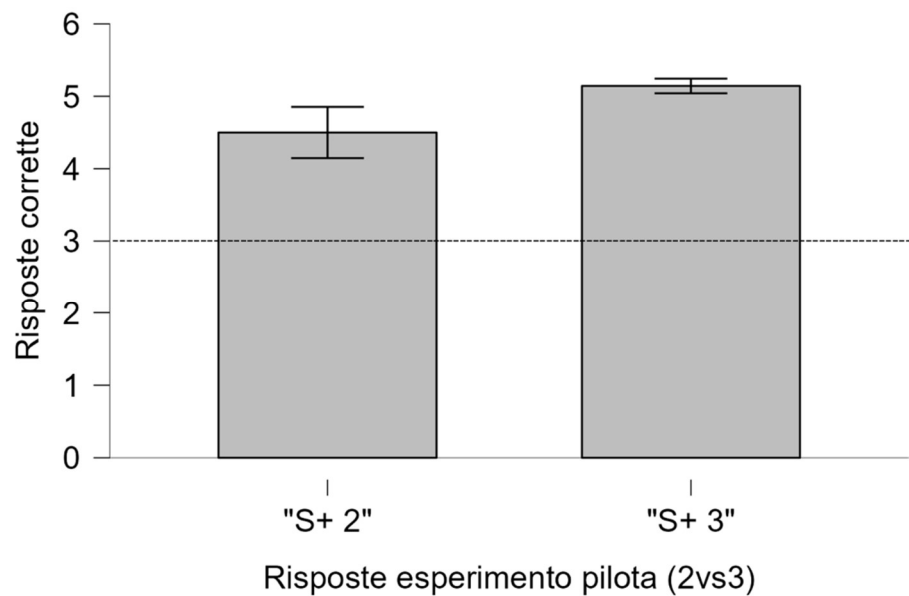


Grafico 2. Media delle prove corrette per gruppi in esame ("S+ 2" vs "S+ 3"). Per ogni gruppo è rappresentato l’errore standard (SE). La linea tratteggiata indica il riferimento 50% (3/6).

In seguito alle analisi del gruppo “S⁺ 3” e del gruppo “S⁺ 2” si sono addestrati tutti i soggetti a rispondere allo stimolo positivo “3”. In questo caso i soggetti inclusi erano 8 (A1, A2, A4, A7, A8, A9, A10, A11) poiché il maschio A5 è deceduto nel tempo di decorrenza tra le due prove. Per ogni soggetto sono stati eseguiti 34 test. I risultati relativi a popolazione (N), media, deviazione standard (SD), errore standard (SE) e coefficiente di variazione sono rappresentati in **tabella 4**.

Tabella 4. Statistiche prove “corrette” vs prove “errate”, dati derivanti dalle analisi del Paired Samples Wilcoxon Test dei segni per ranghi e dalle Analisi Bayesiane.

	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
Corrette	8	80.875	4.970	1.757	0.061
Errate	8	19.125	4.970	1.757	0.260

Measure 1	Measure 2	W	z	df	p
Corrette	- Errate	36.000	2.521		0.014

Measure 1	Measure 2	BF ₁₀	W
Corrette	- Errate	28.628	36.000

Nel **grafico 3** sono confrontate con un Paired Samples T-Test di Wilcoxon dei segni per ranghi le prove “corrette” (quando i soggetti mangiavano sul target selezionato, in questo caso “3”) e le prove “errate” (quando i soggetti mangiavano sul target sbagliato “2” oppure scadevano i 10 minuti previsti, con conseguente prova da considerarsi “nulla”).

Il test di Wilcoxon dei segni per ranghi mostra valori di *p-value* significativi ($V=36$, $p=0.014$) e le Analisi Bayesiane confermano l’evidenza del test ($BF_{10}=28.628$).

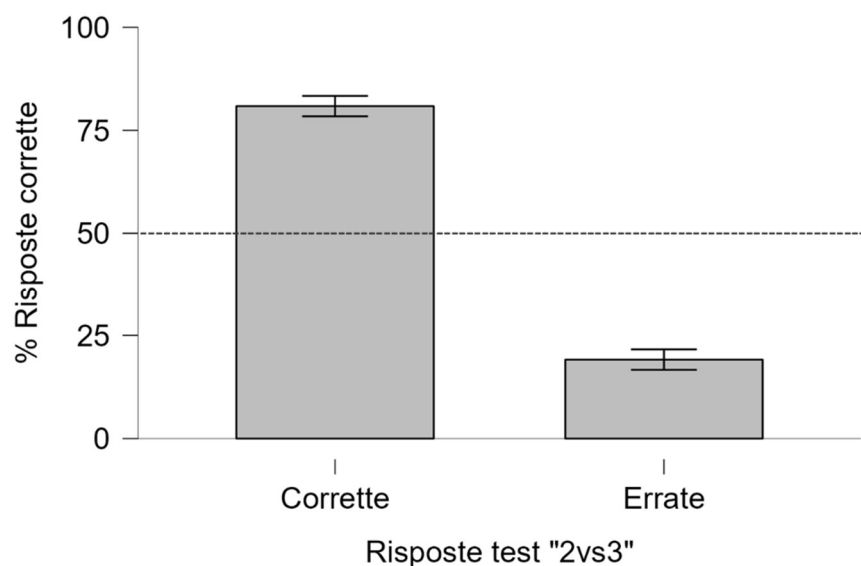


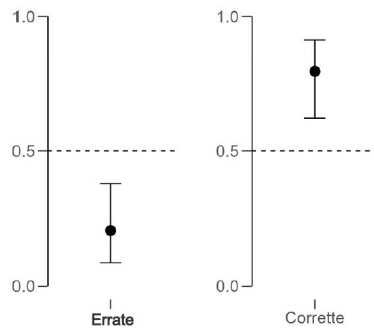
Grafico 3. Percentuale di risposte "Corrette" e "Errate" con relativo errore standard

(SE). Sull'asse delle ordinate sono rappresentati i valori in percentuale e la linea tratteggiata che indica il riferimento (50%).

In **figura 11** sono rappresentati i grafici con i valori ottenuti con un'analisi binomiale per ogni soggetto utilizzato (A1, A2, A4, A7, A8, A9, A10, A11). Tutti i soggetti mostrano *p value* significativi, così come le Analisi Bayesiane che confermano tale consistenza.

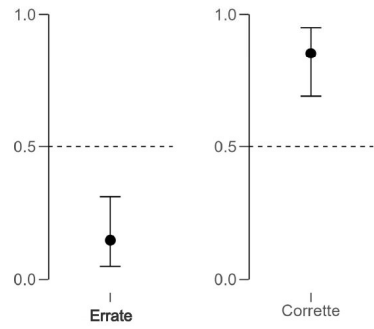
A1

Variable	Level	Counts	Total	Proportion	p
Corrette	Errate	7	34	0.206	< .001
	Corrette	27	34	0.794	< .001
	Level	Counts	Total	Proportion	BF ₁₀
Corrette	Errate	7	34	0.206	91.243
	Corrette	27	34	0.794	91.243



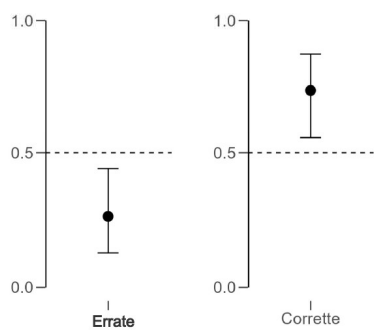
A2

Variable	Level	Counts	Total	Proportion	p
Corrette	Errate	5	34	0.147	< .001
	Corrette	29	34	0.853	< .001
	Level	Counts	Total	Proportion	BF ₁₀
Corrette	Errate	5	34	0.147	1764.035
	Corrette	29	34	0.853	1764.035



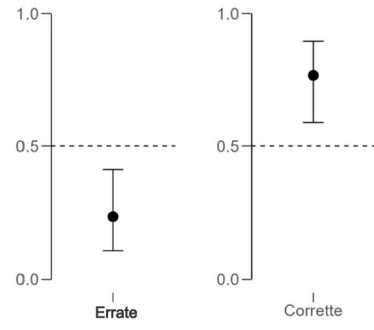
A4

Variable	Level	Counts	Total	Proportion	p
Corrette	Errate	9	34	0.265	0.009
	Corrette	25	34	0.735	0.009
	Level	Counts	Total	Proportion	BF ₁₀
Corrette	Errate	9	34	0.265	9.358
	Corrette	25	34	0.735	9.358



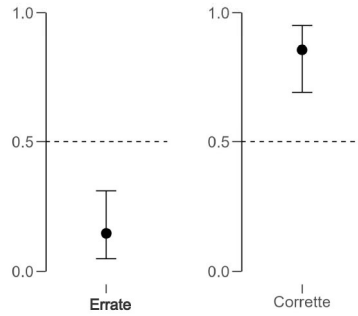
A7

Variable	Level	Counts	Total	Proportion	p
Corrette	Errate	8	34	0.235	0.003
	Corrette	26	34	0.765	0.003
	Level	Counts	Total	Proportion	BF ₁₀
Corrette	Errate	8	34	0.235	27.035
	Corrette	26	34	0.765	27.035



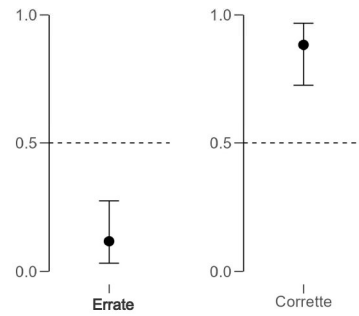
A8

Variable	Level	Counts	Total	Proportion	p	
Corrette	Errate	5	34	0.147	< .001	
	Corrette	29	34	0.853	< .001	
		Level	Counts	Total	Proportion	BF ₁₀
Corrette	Errate	5	34	0.147	1764.035	
	Corrette	29	34	0.853	1764.035	



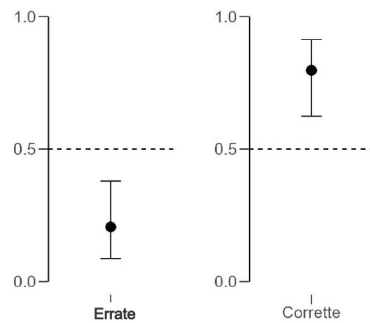
A9

Variable	Level	Counts	Total	Proportion	p	
Corrette	Errate	4	34	0.118	< .001	
	Corrette	30	34	0.882	< .001	
		Level	Counts	Total	Proportion	BF ₁₀
Corrette	Errate	4	34	0.118	10584.212	
	Corrette	30	34	0.882	10584.212	



A10

Variable	Level	Counts	Total	Proportion	p	
Corrette	Errate	7	34	0.206	< .001	
	Corrette	27	34	0.794	< .001	
		Level	Counts	Total	Proportion	BF ₁₀
Corrette	Errate	7	34	0.206	91.243	
	Corrette	27	34	0.794	91.243	



A11

Variable	Level	Counts	Total	Proportion	p	
Corrette	Errate	7	34	0.206	< .001	
	Corrette	27	34	0.794	< .001	
		Level	Counts	Total	Proportion	BF ₁₀
Corrette	Errate	7	34	0.206	91.243	
	Corrette	27	34	0.794	91.243	

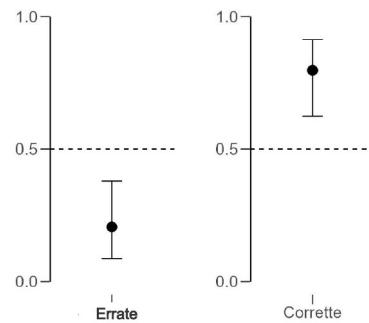


Figura 11. Grafici “descriptive plots” rappresentanti le analisi binomiali per i test di discriminazione numerica (“2vs3”) per ogni soggetto con relativi valori statistici (prove totali, proporzione, *p value*, BF₁₀). In asse y sono rappresentati i valori da 0 a 1

ottenuti dalla media delle prove (“corrette”=1; “errate” (sbagliate o nulle) = 0) di ogni soggetto (su 34 test totali). La linea tratteggiata rappresenta il livello del caso, 50%.

In **tabella 5** sono riportati i risultati relativi alle prime 3 prove di test in ogni soggetto rispetto alle ultime 3 prove.

Tabella 5. Sono riportati i risultati delle prime 3 prove e delle ultime 3 prove nel test 2vs3. Analisi Paired Samples T test, One sample T Test e Analisi Bayesiane.

	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
Prime 3 %	8	84.559	8.858	3.132	0.105
Ultime 3 %	8	79.412	8.893	3.144	0.112

Paired Samples T-Test					
Measure 1	Measure 2	W	z	df	p
Prime 3 %	- Ultime 3 %	24.000	0.840		0.439

	V	p	BF ₁₀	W	Rhat
Prime 3 %	36.000	0.014	28.085	36.000	1.043
Ultime 3 %	36.000	0.013	35.010	36.000	1.051

I dati ottenuti dalle risposte corrette in percentuale per il gruppo delle prime 3 risposte rispetto alle ultime 3 non sono significativi al Paired Samples Test di Wilcoxon dei segni per ranghi per il confronto tra gruppi ($V=24$ $p=0.439$).

I dati ottenuti sono confermati anche dai One Samples T Test di Wilcoxon eseguiti sui singoli gruppi che sono risultati significativi ($V=36$ “Prime 3%” $p=0.014$ e “Ultime 3 %” $p=0.013$). Anche le Analisi Bayesiane supportano i dati ottenuti dal Wilcoxon test (“Prime 3 %”

$BF_{10}=28.085$ e “Ultime 3 %” $BF_{10}=35.010$), come si osserva nel **grafico 4**.

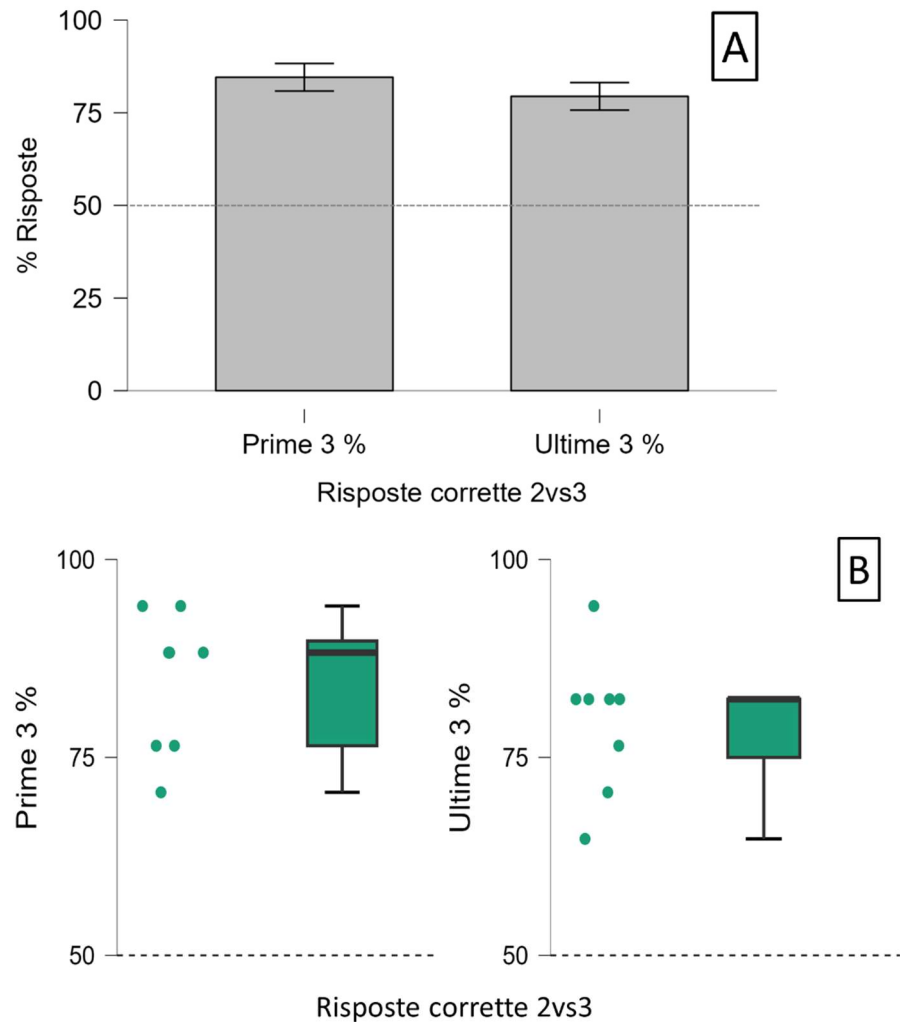


Grafico 4. A) Nel grafico a Bar Plots è rappresentato un Wilcoxon t test di confronto tra le prime 3 risposte in percentuale e le ultime 3 in percentuale con relativi errori standard (SE). È riportata la linea tratteggiata che rappresenta il livello del caso (50%). B) Risposte corrette 2vs3. In asse y sono riportati i due gruppi: "prime 3 risposte %" e "ultime 3 risposte %"; In asse x è riportata la linea tratteggiata che rappresenta il livello del caso, 50%. I puntini verdi rappresentano i valori medi per ogni soggetto e in parte sono raffigurati i boxplot.

4.3 Discussione

I test di discriminazione numerica in seguito ad apprendimento 2vs3 sono stati eseguiti su 9 soggetti di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) suddivisi in due gruppi: addestrati su stimolo “2” (“S⁺ 2”) e addestrati

su stimolo “3” (“S⁺ 3”). Il confronto tra il gruppo “S⁺ 2” (N=2), addestrato a mangiare sul “2”, rispetto al gruppo “S⁺ 3” (N=7), addestrato a mangiare sul “3”, ha dato risultati non significativi ($p=1.000$; anche per quanto riguarda le Analisi Bayesiane $BF_{10}=0.713$); infatti, entrambi i gruppi sono stati in grado di discriminare i target predefiniti in assenza del rinforzo alimentare.

Al termine di questa sperimentazione pilota si è deciso di testare tutti i soggetti rimanenti (8 soggetti, 34 test a soggetto) sul target “3” per avere una potenza statistica maggiore. I risultati ottenuti sono stati statisticamente significativi ($p=0.014$), supportati dalle Analisi Bayesiane ($BF_{10}=28.628$) e fortificano l’idea che vi sia stato apprendimento nei soggetti testati. Nell’80,9% dei casi, i soggetti hanno approcciato lo stimolo positivo e hanno interagito con lo stimolo “3” per i quali erano stati addestrati. Il rimanente 19,1% delle prove include sia prove nulle (8,9% dei casi, dove i soggetti non hanno portato risultati entro un tempo di 10 minuti) sia prove sbagliate (10,2% dei casi, dove i soggetti interagivano con lo stimolo negativo “2”).

I test binomiali eseguiti su ogni soggetto sono risultati tutti significativi sia per quanto riguarda i *p value* sia nelle Analisi Bayesiane (**figura 11**). Le analisi per determinare una differenza tra i “primi 3 test” e gli “ultimi 3 test” in ogni individuo hanno dato risultati non significativi al T Test di Wilcoxon per il confronto tra gruppi (Paired Samples T Test Wilcoxon: $p=0.439$) e i dati sono confermati dalla significatività dei One Sample T Test per i gruppi presi singolarmente (One Sample T Test: $V=36$ “Prime 3%” $p=0.014$ e “Ultime 3 %” $p=0.013$) e dalle Analisi Bayesiane (Analisi Bayesiane: “Prime 3 %” $BF_{10}=28.085$ e “Ultime 3 %” $BF_{10}=35.010$; **tabella 5, grafico 4**). La prestazione dei soggetti non differisce nel corso delle 6 prove di test e sin dalle prime 3 prove è statisticamente superiore al caso e si mantiene indifferenziata nelle ultime 3 prove mostrando una consistenza nella prestazione e, soprattutto, che non vi è un aumento dei valori (che vorrebbe dire aumento della capacità di performare durante il test) né un decremento (che indicherebbe una mancanza di discriminazione rendendo le ultime prove meno informative rispetto alle prime).

5. Discriminazione spontanea

5.1 Materiali e Metodi

In questa tipologia di esperimenti sono state testate le capacità di *A. thoracica* di distinguere un target che presenta una preda vs un target che presenta più prede (3-4 larve di *Tenebrio molitor*). Durante la sperimentazione la scelta di riporre una data quantità di larve maggiore in una determinata posizione è stata effettuata seguendo una sequenza semi-randomica in modo da alternare destra e sinistra ed impedire un eventuale effetto di abitudine spaziale. Si segue il seguente paradigma per la disposizione del target “positivo” (quello con più prede): DX SX DX SX DX DX SX SX DX SX SX DX SX DX SX SX DX DX SX DX (Fellows, 1967; Stancher et al., 2015).

Con questi esperimenti si va a testare la capacità dei soggetti di discriminare tra quantità diverse, in un caso 1 rispetto a 3, nell'altro 1 rispetto a 4.

Per far ciò in un contenitore verrà collocata 1 larva mentre nell'altro 3 o 4 in base al confronto; la scelta di dove posizionare la quantità maggiore sarà decisa in base alla sequenza semi-randomica sopracitata.

Nei test di discriminazione numerica spontanea 1vs1 e 3vs3 la procedura è la stessa cambiano solamente i numeri di prede messi a disposizione del soggetto.

Questi esperimenti sono stati ripetuti una volta per ogni soggetto per un totale di 20 trial per individuo. Il soggetto A3 non ha svolto le prove 1vs1, 3vs3, 1vs3; il soggetto A6 non ha svolto la prova 1vs4 (come riportato in **tabella 1**).

I risultati sono stati raccolti con Excel e le analisi statistiche ed i grafici sono stati ottenuti con il software Jasp 0.18.1.0.

Nei test a quantità differenti (1vs3 e 1vs4) è stato utilizzato un test di Wilcoxon dei segni per ranghi per determinare la casualità (50%) nella scelta dei soggetti (senza che sia necessario assumere la normalità dei dati). La stessa procedura è stata eseguita nei test di controllo in cui sono state impiegate quantità eguali (1vs1 e 3vs3).

5.2 Risultati (1vs3 e 1vs4)

In **tabella 6** sono riportati i dati relativi a soggetti validi, mancanti, media, errore standard (SE), deviazione standard (SD) e coefficiente di variazione nelle prove 1vs3 e 1vs4.

Tabella 6. Statistiche prove "1vs3" e "1vs4"; Analisi test di Wilcoxon dei segni per ranghi e Analisi Bayesiane.

	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
1v3	10	67.900	12.041	3.808	0.177
1v4	10	56.000	12.508	3.955	0.223

	V	p		BF ₁₀	W
1v3	55.000	0.002	1v3	82.154	55.000
1v4	34.000	0.191	1v4	0.787	34.000

Nei test 1vs3 e 1vs4 è stata analizzata la percentuale di risposte sul quantitativo maggiore per ogni soggetto e i risultati sono visualizzabili nei grafici “raincloud plot” (**grafico 5 e grafico 6**).

I grafici mostrano la distribuzione in percentuale delle risposte su “3” e “4” per ogni soggetto (puntini verdi), il box plot e la curva di distribuzione dei dati che mostra la densità di risposte corrette.

Le analisi relative al test 1vs4 non sono risultate significative ($V = 34$; $p = 0.191$) per la scelta del “4” come target selezionato rispetto ad “1”. L’assenza di discriminazione è supportata dalle Analisi Bayesiane ($BF_{10}=0.787$; **grafico 5**).

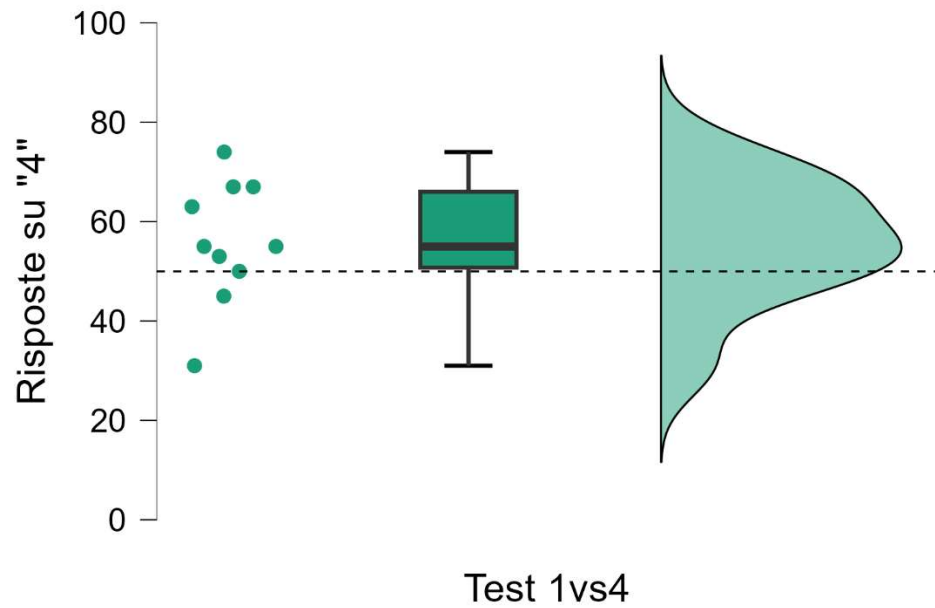


Grafico 5. Raincloud plot 1vs4. Sull'asse delle ordinate sono rappresentati i valori da 0 a 100 in percentuale (la linea tratteggiata rappresenta il livello del caso, 50%). I puntini verdi indicano i valori % per ogni soggetto, il box plot è rappresentato in parte assieme alla curva che indica la distribuzione dei dati.

I risultati ottenuti nella sperimentazione 1vs3 hanno mostrato una preferenza significativa per la quantità maggiore ($V = 55$; $p = 0.002$) come si osserva anche nel **grafico 6**; le Analisi Bayesiane mostrano un'evidenza molto forte ($BF_{10}=82.154$).

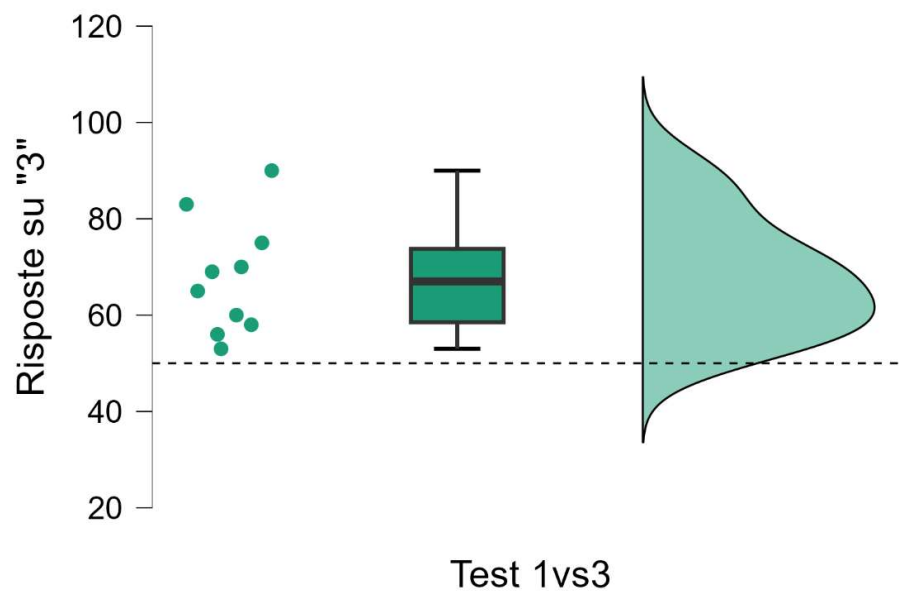


Grafico 6. Raincloud plot 1vs3. Sull'asse delle ordinate sono rappresentati i valori da 0 a 100 in percentuale (la linea tratteggiata rappresenta il livello del caso, 50%). I

puntini verdi indicano i valori % per ogni soggetto, il box plot è rappresentato in parte assieme alla curva che indica la distribuzione dei dati.

5.3 Discussione (1vs3 e 1vs4)

La seguente sperimentazione, volta a comprendere se ci fosse una preferenza spontanea da parte dei soggetti di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) testati nello scegliere una quantità maggiore rispetto ad una minore, ha dato esito significativo solo nel confronto 1vs3. Tale risultato è contro tendenza rispetto a ciò che dice la legge di Weber, infatti, ci si aspettava che la discriminazione con rapporto minore (1vs4; 0.25) fosse la più semplice da rilevare rispetto a quella con rapporto maggiore (1vs3; 0.33).

Inoltre, questa sperimentazione preliminare sembra evidenziare l'utilizzo del sistema numerico OFS che riguarda le capacità di immagazzinare piccole quantità (massimo 3-4 stimoli) rispetto al sistema ANS del quale non è possibile determinare la presenza attraverso i dati ottenuti.

L'utilizzo del sistema numerico OFS conferma anche ciò che era stato ipotizzato da Leppik (1953) e Gross con collaboratori (2009, 2011): il numero "4" appare come un limite per le competenze numeriche degli insetti.

5.4 Risultati (1vs1 e 3vs3)

I risultati degli esperimenti sulla discriminazione numerica spontanea quando soggetti erano sottoposti a quantità uguali (1vs1 e 3vs3) sono stati raffigurati con grafici a torta prodotti su Excel® e con bar plots su Jasp 0.18.1.0.

Come si evince dai diagrammi circolari vi è una leggera tendenza a selezionare il target posizionato a destra rispetto a quello sulla sinistra,

specialmente nella sperimentazione 1vs1 (**grafico 7**) con 52% di risposte a destra contro 38% di risposte effettuate a sinistra.

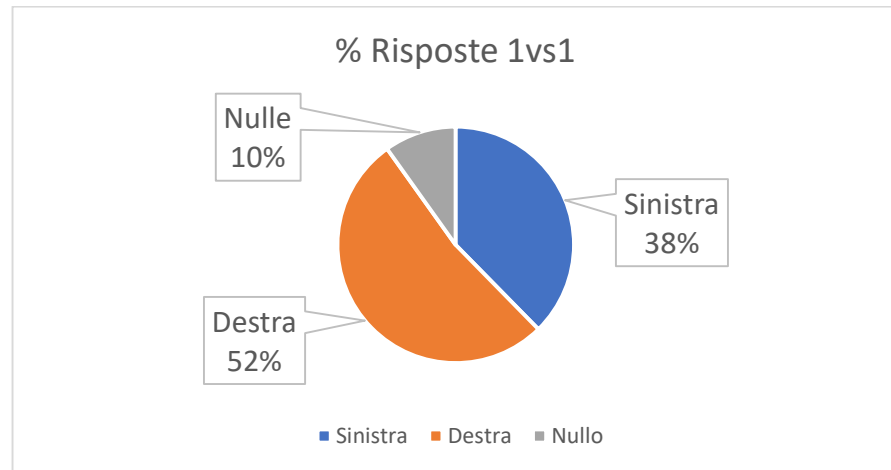


Grafico 7. Diagramma a torta 1vs1. In blu indicata la % di risposte a sinistra, in arancione la % di risposte a destra, in grigio le risposte % nulle.

Nella prova 3vs3, come si nota nel **grafico 8**, vi è un 49% di scelte a destra e 46% di scelte a sinistra.

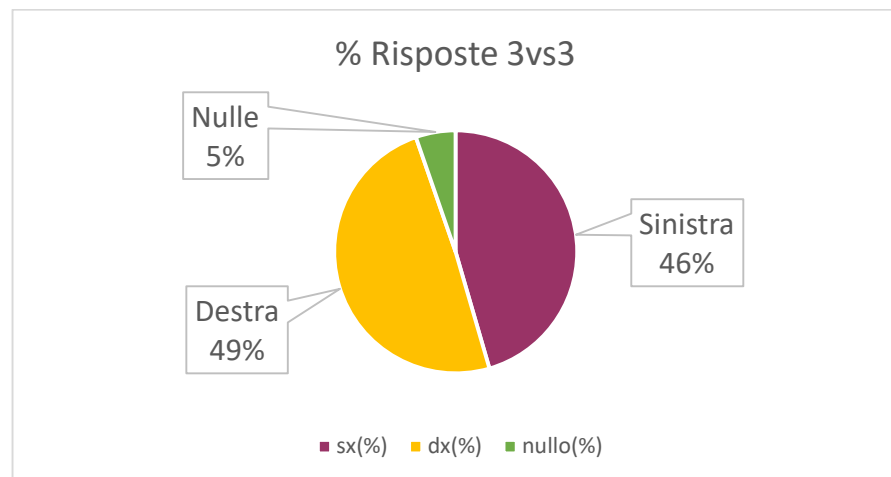


Grafico 8. Diagramma a torta "3vs3". In viola indicate le risposte % a sinistra, in giallo le risposte % a destra e in verde la % di risposte nulle.

Nei diagrammi a torta sono state considerate anche le prove nulle: 10% nell' 1vs1 e 5% nel 3vs3. Si tratta di prove dove il soggetto superava i 10 minuti di tempo senza palesare una scelta. Tali prove non sono state considerate nelle successive analisi.

I risultati delle prove di discriminazione numerica spontanea 1vs1 hanno dato i risultati riportati in **tabella 7** e nel **grafico 9**.

Tabella 7. Statistiche 1vs1; dati relativi a Paired Samples Wilcoxon Test e Analisi Bayesiane.

	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
sx(%)	10	42.320	20.809	6.580	0.492
dx(%)	10	57.680	20.809	6.580	0.361

Measure 1	Measure 2	W	z	df	p
sx(%)	- dx(%)	17.000	-1.070		0.307

Measure 1	Measure 2	BF ₁₀	W
sx(%)	- dx(%)	0.427	17.000

Il Paired Samples T-Test Wilcoxon dei segni per ranghi eseguito dimostra come i soggetti non abbiano fornito una preferenza direzionale a destra o a sinistra in maniera statisticamente significativa (Wilcoxon: $V=17.00$ $p=0.307$). Le Analisi Bayesiane confermano il fatto che non vi sia supporto statistico nella discriminazione ($B_{F10}=0.427$).

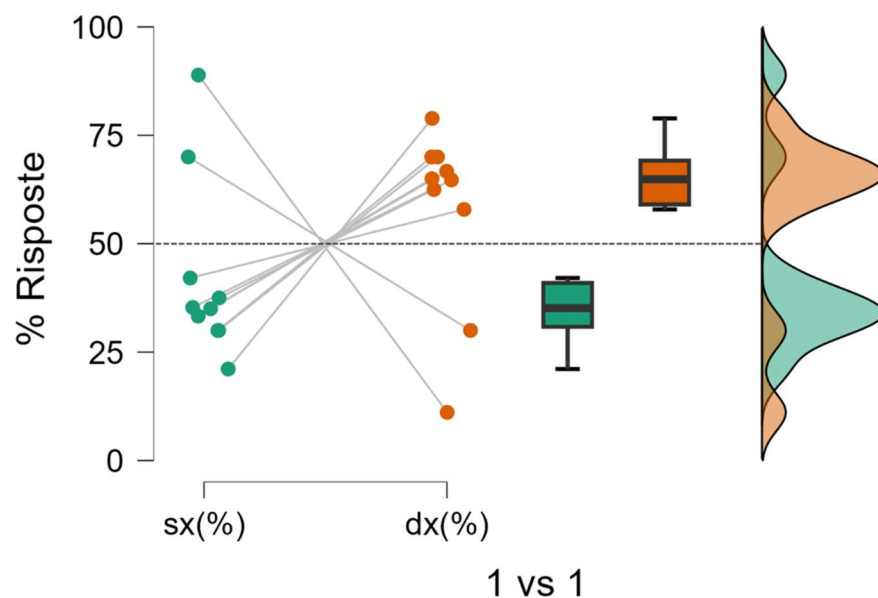


Grafico 9. Percentuale di risposte a destra (dx) e sinistra (sx) nella prova 1vs1; I puntini verdi (sx) e arancio (dx) corrispondono ai valori ottenuti da ciascun soggetto in percentuale; sui box plot (“sx” in verde e “dx” in arancione) sono indicati gli

intervalli di errore standard (SE). La linea tratteggiata rappresenta il livello del caso (50%).

I risultati delle prove 3vs3 sono riportati in **tabella 8**:

Tabella 8. Statistiche 3vs3; dati relativi a Paired Samples Wilcoxon Test e Analisi Bayesiane.

	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
sx(%)	10	47.720	16.906	5.346	0.354
dx(%)	10	52.280	16.906	5.346	0.323

Measure 1	Measure 2	W	z	df	p
sx(%)	- dx(%)	16.000	-0.770		0.476

Measure 1	Measure 2	BF ₁₀	W
sx(%)	- dx(%)	0.365	16.000

Così come i test 1vs1 anche i test 3vs3 (**grafico 10**) non risultano essere significativi per la direzionalità (Wilcoxon: $V=16.00$ $p=0.476$). Le Analisi Bayesiane confermano le evidenze emerse dal Wilcoxon ($BF_{10}=0.365$).

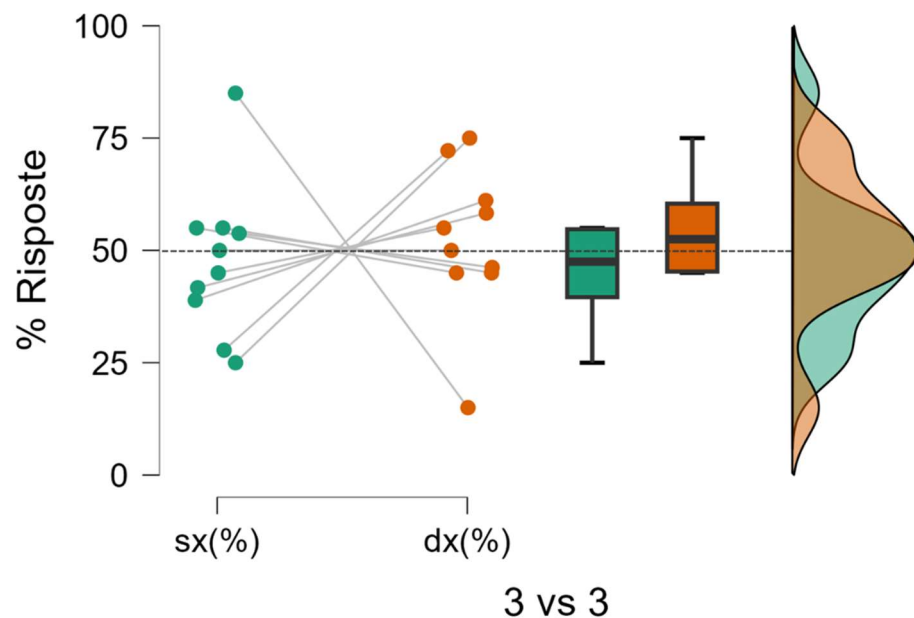


Grafico 10. Percentuale di risposte a destra (dx) e sinistra (sx) nella prova 3vs3; I puntini verdi (sx) e arancione (dx) corrispondono ai valori ottenuti da ciascun soggetto in percentuale; sui box plot (“sx” in verde e “dx” in arancione) sono indicati gli

intervalli di errore standard (SE). La linea tratteggiata rappresenta il livello del caso (50%).

5.5 Discussione (1vs1 e 3vs3)

I risultati ottenuti dalle analisi sui test di discriminazione spontanea di quantità uguali (1vs1 e 3vs3) non hanno evidenziato una preferenza direzionale nei soggetti testati.

Queste prove sono state eseguite a seguito dei risultati significativi nei test 1vs3 per controllare se ci fosse una preferenza direzionale oltre che dimensionale (come indicato in **tabella 5**).

Inoltre, si poteva pensare che i soggetti testati a 1vs1 avrebbero dovuto preferire il target posto a sinistra secondo la linea numerica mentale (*mental number line*, MNL). Viceversa, sempre seguendo questo ragionamento i soggetti testati 3vs3 avrebbero dovuto scegliere il target di destra con maggiore frequenza.

Sulla base dei risultati ottenuti, anche nelle Analisi Bayesiane, possiamo affermare che non c'è stata una vera e propria preferenza per la direzionalità, né nelle prove 1vs1 né in quelle 3vs3.

Tali esperimenti sono stati però utili come controllo delle numerosità testate in precedenza nelle prove di confronto 1vs3 (**tabella 6, grafico 6**) che avevano dato risultati statisticamente significativi ($V = 55$; $p = 0.002$). Rimane necessario indagare ulteriormente con sperimentazioni più approfondite per dare supporto statistico ai risultati già ottenuti.

6. Analisi Morfometriche

6.1 Materiali e Metodi

I soggetti sono stati sottoposti ad analisi morfologiche per determinare: differenze tra individui (caratteri particolari), peso e dimensioni. Le dimensioni sono state prese posizionando i soggetti su carta millimetrata e sono state effettuate delle foto con macchina fotografica (Canon® EOS 5D Mark II; obiettivo Canon® macro 100mm). Le foto (**immagine 1**) sono state analizzate con il software ImageJ® per determinare lunghezza, larghezza (misurata a livello del pronoto), lunghezza delle mandibole, lunghezza delle antenne, area delle chiazze ed eventuali segni particolari (ammaccature, chiazze ecc). Il peso (in g) è stato calcolato attraverso una bilancia digitale di precisione (Eidyer® 0.01g-500g). Per ottenere un peso medio che non fosse influenzato dalle attività di foraggiamento dei soggetti sono stati raccolti i dati in 6 diverse giornate. A3 è deceduta prima di essere pesata mentre A5 e A6 mostrano risultati incompleti. I valori sono approssimati per difetto se sotto 0,49 o per eccesso se maggiori o uguali a 0,50. I risultati sono stati raccolti con Excel® e le analisi statistiche ed i grafici sono stati ottenuti con il software Jasp 0.18.1.0 e R Studio.

6.2 Risultati

Tabella 9. Misurazioni degli esemplari di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) utilizzati nella sperimentazione. Le misure riguardo lunghezze e le larghezze sono riportate in cm, quelle riguardanti le aree sono in cm². I colori (rosso e verde) rappresentano rispettivamente la più piccola e la più grande misurazione tra i soggetti per ogni colonna.

Soggetti	Sesso	Lunghezza	Lunghezza antenna dx	Lunghezza antenna sx	Larghezza pronoto	Lunghezza mandibola	Lunghezza mandibola	Area Chiazza dx	Area Chiazza sx
A1	F	5,1	2,5	2,5	1,8	0,7	0,7	0,28	0,36
A2	F	5,4	2,5	2,4	2	0,8	0,8	0,32	0,3
A3	M	4,4	2,2	2,1	1,6	0,9	0,8	0,29	0,35
A4	M	4,6	2	1,8	1,6	1	0,9	0,23	0,34
A5	M	4,7	2,2	2,2	1,5	0,7	0,9	0,27	0,26
A6	M	4,2	1,7	1,9	1,4	0,7	0,7	0,23	0,21
A7	F	4,1	1,7	1,7	1,5	0,6	0,6	0,16	0,18
A8	F	4	1,3	1,5	1,5	0,5	0,4	0,15	0,15
A9	F	4,4	1,9	1,8	1,6	0,7	0,6	0,19	0,21
A10	F	4,5	1,8	1,9	1,6	0,5	0,6	0,2	0,19
A11	F	4,7	1,3	1,5	1,7	0,6	0,6	0,21	0,24
Media	\	4,55	1,92	1,94	1,62	0,70	0,69	0,23	0,25

I risultati riportati in **tabella 9** mostrano le misurazioni ottenute dalle analisi morfometriche. In rosso si possono osservare i valori più bassi per ogni categoria di misurazione e, al contrario, in verde si notano i valori più alti. Sulla riga finale è riportata la media ottenuta dai dati di ogni individuo. La prima colonna ci mostra il sesso dei soggetti di interesse. In particolare, le femmine nel nostro caso di studio hanno una lunghezza media (4,60 cm) che è superiore rispetto a quella dei maschi (4,48 cm), questi dati concordano con i valori dei campionamenti ottenuti in natura da Hendrick Sithole e collaboratori nel 2011 per quanto riguarda le femmine (4-5 cm), mentre sono leggermente sotto la soglia nei valori di lunghezza dei maschi (4,5-5,5 cm). Solitamente ci si aspetta che i maschi siano più grandi rispetto alle femmine. Come ci si aspettava, i maschi presentano delle mandibole di lunghezza media superiore rispetto a quella delle femmine e mostrano anche delle chiazze dx e sx di area media maggiore.

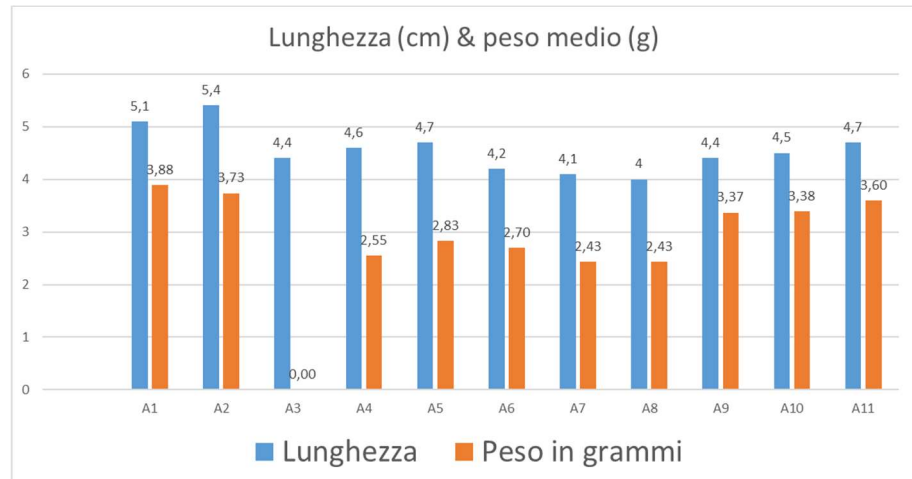


Grafico 11. Istogramma relativo alla lunghezza (in cm) e al peso (in grammi) dei soggetti studiati con relativo valore riportato per ogni individuo.

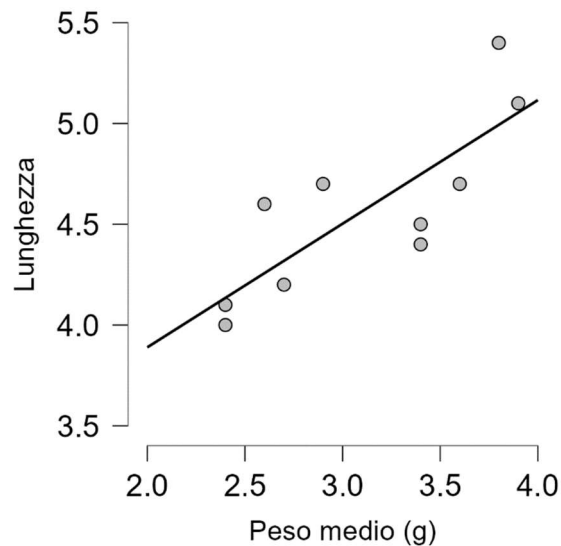


Grafico 12. Correlazione tra lunghezza (in cm) e peso medio (in grammi) dei soggetti studiati.

Il peso (in g) degli individui è riportato nel **grafico 11** assieme alla lunghezza di ogni soggetto.

Si nota (**grafico 12**) come le due misure sono correlate positivamente in quanto all'aumentare dell'una aumenta anche l'altra. Il *p-value* per questa correlazione positiva è significativo (0.005), il coefficiente di correlazione di Pearson's corrisponde a $r = 0.808$ ($p < 0.01$) con intervallo di confidenza 95% (0.364, 0.953).

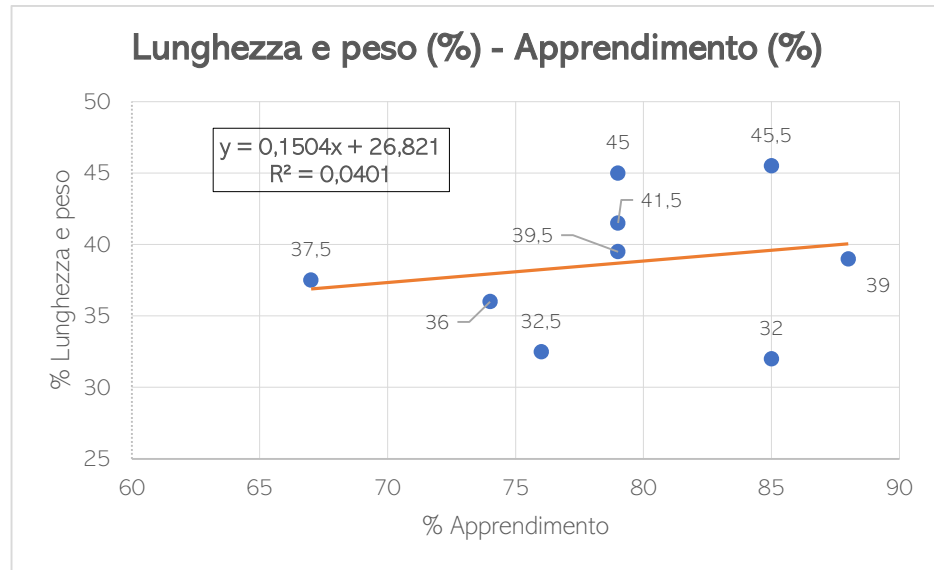
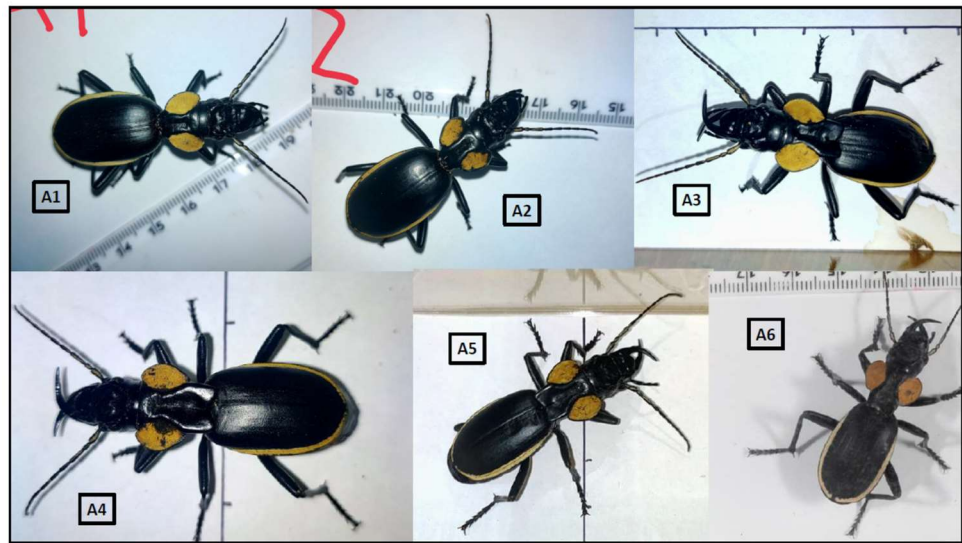


Grafico 13. Correlazione tra % di Apprendimento e % di Peso + Lunghezza.

Il **grafico 13** mostra la correlazione tra la % di apprendimento (ottenuta dai risultati “prove corrette” del test 2vs3 per ogni soggetto) e la % di Peso + Lunghezza (ottenuta dalla media di queste misure). Il valore di R^2 (0,0401) è molto basso e dunque non indica una forza della relazione non sufficiente. La correlazione tra i due parametri pur essendo leggermente positiva non è in grado di spiegare il modello (p value = 0.6).



1



2

Immagine 1. Foto dei soggetti di *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) utilizzati durante il periodo di sperimentazione. 1) da A1 ad A6. 2) da A7 ad A11.

7. Conclusioni

La storia della discriminazione numerica animale ha origini relativamente recenti che si basano su studi effettuati prevalentemente su mammiferi e uccelli. Negli ultimi anni, si è cominciato a pensare agli invertebrati, ed in particolare agli insetti sociali (come api, vespe o formiche), come animali capaci di abilità proto – numeriche. Molti studi hanno dimostrato che anche animali una volta considerati erroneamente *inferiori perché meno evoluti* hanno spiccate doti di apprendimento che permettono loro di risolvere semplici quesiti, calcoli o ancora di riconoscersi l'uno con l'altro.

Nel seguente elaborato si è voluta indagare la presenza di abilità proto-numeriche nel carabide *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784). La scelta del soggetto è stata fatta in base alla grande motivazione che spinge questo insetto a nutrirsi, alla sua spiccata abilità visiva e alla disponibilità dei soggetti offerta dal museo degli insetti Esapolis di Padova. Inoltre, trattandosi di un insetto non sociale si è provato a capire se questo fosse un fattore influente riguardo le abilità cognitive e numeriche, anche alla luce dei numerosi studi svolti sugli stessi insetti sociali.

I soggetti selezionati hanno svolto un totale di 1656 trial (considerando tutte le sperimentazioni, le prove di addestramento, le prove di test, i soggetti, prove valide, sbagliate e nulle; **tabella 10**) tra i mesi di aprile e ottobre 2023.

Tabella 10. Trial totali per ogni soggetto e prova.

Soggetti	D.N. apprendimento		D.N. spontanea			
	"S+2" VS "S+3"	2 VS 3	1vs3	1vs4	1vs1	3vs3
A1	20	93	20	20	20	20
A2	20	93	20	20	20	20
A3	X	X	X	20	X	X
A4	20	93	20	20	20	15
A5	20	X	13	11	13	20
A6	X	X	20	X	12	10
A7	20	93	20	20	20	15
A8	20	93	20	13	20	20
A9	20	93	20	19	20	20
A10	20	93	17	14	20	20
A11	20	93	20	20	20	20
TOT	180	744	190	177	185	180
Trial per tipo di discriminazione	924		732			
Trial TOT	1656					

I dati dimostrano una forte predisposizione degli esemplari a tale sperimentazione e soprattutto una grande motivazione per i rinforzi alimentari che sono stati forniti. Infatti, al netto delle abilità cognitive dei soggetti di studio, la motivazione data dalle buone abilità predatorie di questi carabidi è stato il fattore principale per la riuscita di tali esperimenti e per la collaborazione dei soggetti in questi. È importante includere nel calcolo dei trial totali anche le prove nulle (prove dove i soggetti non davano una risposta entro il tempo limite di 10 minuti) in quanto anche queste potevano influire sullo stress dell'insetto nel corso del trial e sui trial successivi.

Le abilità proto-numeriche testate hanno dato esiti differenti:

- 2vs3 → I soggetti testati nelle analisi di discriminazione numerica in seguito ad apprendimento hanno dimostrato l'abilità di questi carabidi nell'apprendere uno stimolo raffigurante una numerosità positiva come visto nel **grafico 2**.

Inoltre, quando sottoposti ad apprendimento su un target selezionato (**grafico 3**) gli individui hanno dato risultati significativi su un numero consistente di prove (272). Questo ci porta a pensare che possano essere effettivamente in grado di associare alle numerosità selezionate la presenza di cibo e dunque di capirne l'entità (anche al variare degli stimoli) per poter scegliere l'alternativa che garantisce l'accesso al cibo. La discriminazione numerica in seguito ad apprendimento (2vs3) è a supporto del funzionamento dell'OFS (*Object File System*) e si riferisce alla capacità di immagazzinare piccole quantità (3-4 stimoli al massimo). Questa sperimentazione non è in grado di rilevare l'utilizzo di sistemi numerici ANS (*Approximative Number System*) per la stima della numerosità in quanto, per farlo, servirebbero ulteriori indagini coinvolgendo numerosità maggiori (es. 5vs10)

Nel 79,16% dei casi i soggetti sono stati in grado di svolgere il test già al termine della prima serie di addestramento (5 training) dimostrando che in poco tempo sono stati in grado di apprendere il compito richiesto. Un caso interessante è rappresentato dal soggetto A1 che è stato utilizzato in una prima fase nel gruppo "S+2" (nell'esperimento pilota) e successivamente è stato addestrato assieme agli altri individui a

rispondere al target “3”. Quando al variare del target scelto (“2” nel gruppo “S+2” e “S+3” nella prova successiva), il soggetto ha dovuto variare la sua performance i risultati sono rimasti significativi in maniera consistente: 5 prove su 6 corrette (con 1 prova sbagliata) nel gruppo “S+2” (apprendimento sul “2”) e 27 su 34 nel test di apprendimento sul “3” (con 2 prove sbagliate e 5 prove nulle, **figura 11**).

Infine, considerando che dei 20 trial ogni sessione vi erano 6 test siamo andati a considerare i primi 3 e gli ultimi 3 per vedere se ci fosse una differenza a livello statistico. I risultati riguardo ai primi 3 test di ogni soggetto rispetto agli ultimi 3 test (in percentuale) hanno dato esito non significativo per il test dei campioni appaiati (Paired T Test Wilcoxon dei segni per ranghi $V=24$ $p=0.439$, **tabella 5**). I dati mostrano che i soggetti discriminano in maniera pressoché simile nell’arco della sperimentazione con una distribuzione degli errori omogenea (“2”: 8,08% nelle prime 3 prove; 9,5% nelle ultime 3 prove e “prove nulle”: 7,3% nelle prime 3 prove; 11,7% nelle ultime 3 prove).

In futuro sarebbe opportuno indagare ulteriormente su aspetti di discriminazione numerica in seguito ad apprendimento in *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784). In particolare, si potrebbero effettuare sperimentazioni con stimoli a numerosità differenti, forme geometriche diverse o ancora controllando il perimetro (e l’area) degli stimoli al fine di capire se l’associazione avviene effettivamente sulla base di indizi numerici o quantitativi (ad esempio area o perimetro complessivi). Anche i colori degli stimoli utilizzati potrebbero essere oggetto di sperimentazione al fine di indagare riguardo a possibili preferenze di questi insetti.

- *1vs3* e *1vs4* → Nelle prove di discriminazione numerica spontanea con la possibilità di scelta tra quantità differenti, i soggetti hanno dato risultati discordanti. Quando testati nella prova *1vs4* non hanno dimostrato una preferenza per il target con 1 larva piuttosto che quello con 4 larve. Al contrario, quando testati con 3 larve al posto di 4 i risultati sono stati significativi. Questo fenomeno potrebbe confermare la tesi di Leppik (1953) e Gross con collaboratori (2009, 2011) che vedrebbe nel numero “4” un limite per gli insetti. Sappiamo però che a

causa dei sistemi numerici OFS e ANS il numero “4”, quando confrontato con numerosità limitrofe (ad es. vs1, vs2, vs3), risulta controverso in esperimenti di discriminazione numerica. L'OFS regola la discriminazione riguardo numerosità piccole, ma se il “4” fosse una numerosità già considerabile come “grande” per loro si aprirebbe un divario tra i numeri a confronto (es. 1vs4) e potrebbero sovrapporsi i due sistemi numerici (OFS e ANS). Per cause non chiare, che pretendono nuove sperimentazioni, questo porta alla mancata discriminazione numerica e apre interrogativi riguardo il funzionamento del sistema ANS negli insetti. Anche i test effettuati rimangono pochi (20 per soggetto) e la popolazione è numericamente bassa (N=10) per poter dare delle risposte concrete a riguardo. Sono necessarie ulteriori indagini per dare credito statistico a queste indagini e se possibile ripetere i test con numerosità differenti.

- *1vs1 e 3vs3* → Alla luce dei risultati ottenuti nella prova 1vs3 si è indagata la possibilità che vi fosse una preferenza direzionale e per farlo sono stati attuati due esperimenti differenti: 1vs1 e 3vs3. Entrambi gli esperimenti hanno coinvolto 10 soggetti (come riportato in **tabella 1**) e per ognuno di questi sono state svolte 20 prove dove si è andata ad analizzare la direzionalità nelle scelte dei soggetti tra destra e sinistra una volta scesi dalla rampa dell'arena di sperimentazione.

Le prove hanno dato esiti non significativi, sia per l'1vs1 sia per il 3vs3. I soggetti non hanno dimostrato una preferenza direzionale: nella prova 1vs1 sono andati nel 42% dei casi a sinistra e nel 58% dei casi a destra (Paired samples T Test $p\text{-value}=0.307$, **tabella 7**) mentre nella prova 3vs3 i soggetti sono andati a sinistra il 48% dei casi e a destra il 52 % delle volte (con $p\text{-value}=0.476$, **tabella 8**).

Così come per le sperimentazioni 1vs3 e 1vs4 sarebbe bene estendere gli esperimenti a numerosità differenti e con un quantitativo di test maggiore.

Infine, potrebbe essere interessante determinare la presenza effettiva di una linea numerica mentale (MNL) per la quale sarebbe opportuno progettare delle sperimentazioni differenti nell'ambito dell'ordinale numerico.

Osservando i risultati ottenuti si può pensare che la specie *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) abbia una buona predisposizione per gli esperimenti di cognizione numerica. Il fatto che si tratti di un insetto non sociale non è stato un limite ai fini dei risultati ma ciò non spiega se vi sia effettivamente un vantaggio o uno svantaggio nella così detta “cognizione distribuita” riguardo gli insetti sociali rispetto a quelli non sociali e a tal proposito bisognerebbe testare due specie che rappresentano i due gruppi sulla stessa sperimentazione per offrire un confronto più attendibile.

La sperimentazione 2vs3 ha dimostrato l'utilizzo dell'*Object File System* e questo offre diversi spunti per sperimentazioni future. Ad esempio, si potrebbe andare a testare la capacità di questi insetti di memorizzare (e non solo percepire lo stimolo al momento della scelta) in quanto proprio il sistema OFS prevede una capacità di memoria abbastanza grande da contenere le informazioni derivate dagli stimoli e dunque un “cervello” in grado di elaborare in maniera efficace queste informazioni. Così come effettuato per molti altri insetti si potrebbe andare a vedere come è formato questo cervello e se effettivamente i corpi fungiformi sono più sviluppati (come nel caso delle api studiate da Rybak e collaboratori) rispetto a quelli di altri insetti con caratteristiche ecologiche, etologiche, sociali e biologiche differenti. Questo permetterebbe anche di estendere le analisi morfologiche e morfometriche alle performance in relazione al cervello in più specie al fine di indagare vantaggi e/o svantaggi di una data predisposizione celebrale, non solo in ambito di cognizione numerica.

Nell'arco di tempo impiegato per la sperimentazione sono emersi dei problemi riguardo l'utilizzo di questi insetti per prolungati periodi di tempo: 3 su 11 dei soggetti utilizzati sono morti per cause naturali tra i mesi di aprile e ottobre 2023 e questo può rappresentare un grande problema se, come nel nostro caso, la dimensione della popolazione iniziale (N=11) non era già molto elevata. Inoltre, la specie utilizzata non è di facile reperibilità sul mercato e questo comporta una difficoltà nella replicazione della sperimentazione (problematiche già evidenziate in un elaborato di Agrillo e Pedrazzini del 2012 riguardo l'utilizzo di specie esotiche e la numerosità limitata della popolazione).

Negli ultimi mesi di sperimentazione e in caso di sessioni di test ripetute un giorno dopo l'altro si è notato un decremento della motivazione rispetto al rinforzo alimentare (ma non nei confronti delle numerosità presentate come stimoli). Si consiglia pertanto, in vista di sperimentazioni future, di intervallare i test a distanza di pochi giorni (3-5) per permettere ai soggetti di essere motivati dal rinforzo alimentare e allo stesso tempo per non rischiare di perderli per cause naturali. Anche il tempo impiegato per la fase di test potrebbe essere rivalutato provando a scalare verso tempi sempre minori il limite all'aumentare delle prove (es. dalla prova 1° alla 5° tempo massimo 10 minuti; dalla prova 5° alla 10° tempo massimo 7 minuti; dalla prova 10° in poi tempo massimo 5 minuti).

Inoltre, si potrebbe considerare (nei test a discriminazione numerica in seguito ad apprendimento) di rendere le “prove corrette” più selettive e validarle solo se il soggetto effettivamente entra nel contenitore con il cibo per mangiare e non anche quando si interfaccia in maniera più superficiale agli stimoli raffiguranti la numerosità selezionata (es. interazioni con lo stimolo positivo selezionato o apertura/chiusura delle mandibole sul contenitore).

È importante che la temperatura rimanga relativamente costante (tra 25°C e 30°C), sia nel terrario sia nell'arena sperimentale, in modo da mantenere i soggetti ugualmente preparati alla sperimentazione e non rischiare di incorrere in problematiche quali l'aumento delle temperature, che può causare sconvolgimenti a livello metabolico, oppure l'abbassamento di queste che ne può limitare la capacità di movimento.

Per quanto riguarda l'apparato sperimentale è bene ottimizzare la luminosità per non creare zone d'ombra dove gli insetti possono cercare riparo, sigillare in modo completo l'apparato per non creare vie di fuga o spiragli che possono distrarre il soggetto dal suo compito e fornire sempre rinforzi alimentari freschi, mobili e di buone dimensioni che risultano più visibili ad *A. thoracica* (Thunberg, 1784).

Durante svariati test si è osservato un aumento delle performance dopo alcuni training, con i soggetti che reagivano in maniera sempre più veloce e predisposti alla sperimentazione. È bene sfruttare al meglio questa fase per non perdere l'inerzia nel cercare la preda che questi insetti (a volte) mostrano e che li porta a compiere i test in tempi minori.

Le analisi morfometriche effettuate sono state utili al fine di distinguere tra loro i soggetti e vedere se ci fosse una correlazione tra dimensioni e capacità di apprendimento in seguito ad addestramento (prova 2vs3). I dati non evidenziano questo tipo di correlazione (**grafico 13**) e non offrono una sostanziale differenza tra le performance di maschi e femmine. Tuttavia, le analisi effettuate rimangono superficiali per dare delle risposte in merito al rapporto tra morfologia e discriminazione numerica e vanno implementate con sperimentazioni e analisi più mirate.

Dal punto di vista evoluzionistico è importante determinare quali sono le abilità cognitive di questi animali e provare a dedurre quanto queste sono influenzate da (o influenzano) fattori ecologici, etologici e biologici. In particolare, sarebbe interessante capire tramite tali sperimentazioni se vi è una correlazione tra le abilità numeriche sviluppate e l'habitat che un determinato animale occupa. Infatti, zone aride come quelle abitate da *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) potrebbero stimolare le specie presenti a orientarsi attraverso oggetti o simboli (come fanno nel deserto alcune le formiche del genere *Cataglyphis*, Foerster 1850) e dunque potrebbero aver portato tali animali allo sviluppo di abilità di orientamento più spiccate rispetto ad altri. I carabidi come indicato da Briscoe & Chittka (2001) sono insetti che vantano buone abilità visive ed un ampio spettro del visibile proprio come le formiche del deserto del genere *Cataglyphis*, le quali hanno dimostrato tramite test di varia natura (Kretz R., 1979) uno spettro del visibile che va dall'ultravioletto fino a picchi sul rosso. Tuttavia, a detta degli stessi Briscoe e Chittka, rimane difficile identificare una pressione selettiva in grado di guidare l'evoluzione dei recettori per il rosso in queste specie.

Rimangono necessarie ulteriori indagini riguardo alle abilità visive della specie trattata in questa sperimentazione che, pur appartenendo alla famiglia dei carabidi, come i soggetti presi in esame da Briscoe & Chittka, (*C. auratus*, Linneo 1761, e *C. nemoralis*, Müller 1764), non è stata mai utilizzata al fine di comprenderne lo spettro del visibile.

Le prove di discriminazione numerica possono integrare analisi riguardanti la capacità di discriminare anche in base ai colori utilizzati e dunque, fornire informazioni riguardo l'associazione tra colore e scelta in termini di orientamento, foraggiamento ecc.

Per i motivi appena elencati lo studio di specie vicine ad *Anthia thoracica* (Thunberg, 1784) a livello filogenetico potrebbe risultare vantaggioso, risalendo in tal modo sempre più l'albero filogenetico per provare a vedere quali specie sono in grado di offrire le migliori performance e cercare di capire in che punto della storia evolutiva si sono sviluppate tali abilità. Infine, potrebbe essere utile capire il ruolo delle interazioni interspecifiche nello sviluppo di abilità cognitive e numeriche andando a testare animali che si collocano in piani diversi della catena trofica. Questo può dare risposte riguardo la motivazione maggiore o minore che spinge un animale a muoversi e prendere decisioni sulla base di stimoli numerici che vengono presentati e può dare nuovi spunti per capire le radici della motivazione in ambito evuzionistico e cognitivo.

8. Bibliografia

- Agrillo C. & Bisazza A., (2014). Spontaneous versus trained numerical abilities. A comparison between the two main tools to study numerical competence in non-human animals. *Journal of Neuroscience Methods*. **234**:82-91. DOI: [10.1016/j.jneumeth.2014.04.027](https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.04.027)
- Agrillo C. & Petrazzini M.E.M. (2012). The importance of replication in Comparative Psychology: The Lesson of Elephant Quantity Judgments. *Frontiers in Psychology*. **3**. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2012.00181>
- Avargue`s-Weber A. & Giurfa M., (2013). Conceptual learning by miniature brains. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **280**: 20131907. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.1907>
- Bar-Shai N., Keasar T., Shmida A. (2011a). How do solitary bees forage in patches with a fixed number of food items? *Animal Behaviour*. **82**: 1367–1372 <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.09.020>
- Bar-Shai N., Keasar T., Shmida A. (2011b). The use of numerical information by bees in foraging tasks. *Behavioral Ecology*. *22*, 317–325 <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.09.020>
- Barth H., Kanwisher N., & Spelke E., (2003). The construction of large number representations in adults. *Cognition*. **86(3)**: 201–221. [https://doi.org/10.1016/S0010-0277\(02\)00178-6](https://doi.org/10.1016/S0010-0277(02)00178-6)
- Blackiston D.J., Silva Casey E., Weiss M.R. (2008). Retention of Memory through Metamorphosis: Can a Moth Remember What It Learned as a Caterpillar? *PLoS ONE*. **3(3)**: e1736. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001736>
- Bortot M., Regolin L., Vallortigara G., (2021). A sense of number in invertebrates. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Volume **564**: Pages 37-42, ISSN 0006-291X, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.11.039>.
- Boysen S.T., Berntson G.G., Hannan M.B., Cacioppo J.T. (1996). Quantity-based interference and symbolic representations in chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*. **22(1)**: 76–86. <https://doi.org/10.1037/0097-7403.22.1.76>

- Briscoe A.D. & Chittka L., (2001). The Evolution Of Color Vision In Insects. *Annual Review of Entomology*. **46:1**, 471-510
DOI:[10.1146/annurev.ento.46.1.471](https://doi.org/10.1146/annurev.ento.46.1.471)
- Cantlon, J.F. & Brannon, E.M. (2006). Shared System for Ordering Small and Large Numbers in Monkeys and Humans. *Psychological Science*. **17(5)**: 401–406. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9280.2006.01719.x>
- Carazo P., Font E., Forteza-Behrendt, E., Desfilis E., (2009). Quantity discrimination in *Tenebrio molitor*: Evidence of numerosity discrimination in an invertebrate? *Animal cognition*. **12**: 463-70.
<https://doi.org/10.1007/s10071-008-0207-7>
- Caron S. & Abbott L.F., Neuroscience: Intelligence in the Honeybee Mushroom Body (2017). *Current Biology*, **27(6)**: R220-R223. doi: 10.1016/j.cub.2017.02.011.
- Chittka L. & Geiger K. (1995). Can honeybees count landmarks? *Animal Behaviour*. **49**: 159–164 10.1016/0003-3472(95)80163-4 [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(95\)80163-4](https://doi.org/10.1016/0003-3472(95)80163-4)
- Dacke M. & Srinivasan M.V. (2008). Evidence for counting in insects. *Anim. Cogn.* **11**: 683–689 doi: [10.1007/s10071-008-0159-y](https://doi.org/10.1007/s10071-008-0159-y)
- Darwin C., Leonard K., Joseph M.T. (1871). *The Descent of Man: And Selection in Relation to Sex*. London: J. Murray, Pdf. <https://www.loc.gov/item/04033382/>.
- Davis H. & Pérusse R. (1988). Numerical competence in animals: Definitional issues, current evidence, and a new research agenda. *Behavioral and Brain Sciences*. **11(4)**: 561–615. <https://doi.org/10.1017/S0140525X00053437>
- Dehaene S., Dehaene-Lambertz G., Cohen L. (1998). Abstract representations of numbers in the animal and human brain. *Trends Neuroscience* **21(8)**: 355-61. doi: 10.1016/s0166-2236(98)01263-6.
- Dehaene, S. (1997). Number sense. Oxford: *Oxford University Press*.
- Di Giorgio E., Lunghi M., Rugani R., Regolin L., Dalla Barba B., Vallortigara G., Simion F., (2019). A mental number line in human newborns. *Developmental Science*. **22(6)**: e12801. doi: 10.1111/desc.12801. PMID: 30676679.

- Fellows B.J., (1967). Change stimulus sequences for discrimination tasks. *Psychological Bulletin*. **67(2)**: 87–92. <https://doi.org/10.1037/h0024098>
- Gallistel C.R. & Gelman R. (1992). Preverbal and verbal counting and computation. *Cognition*. Volume. **44**: Issues 1–2, Pages 43-74, ISSN 0010-0277, [https://doi.org/10.1016/0010-0277\(92\)90050-R](https://doi.org/10.1016/0010-0277(92)90050-R).
- Galton F., (1880). Visualised Numerals. *Nature*. **21**: 252–256. <https://doi.org/10.1038/021252a0>
- Giurfa M., Marcout C., Hilpert P., Thevenot C., Rugani R., (2022). An insect brain organizes numbers on a left-to-right mental number line. *Proceedings of the National Academy of Science USA*. **119(44)**: e2203584119. doi: 10.1073/pnas.2203584119.
- Gross H. J., (2011). To bee or not to bee, this is the question ... the inborn numerical competence of humans and honeybees. *Communicative & Integrative Biology*. **4**: 594–597
- Gross H. J., Pahl M., Si A., Zhu H., Tautz J., Zhang S. (2009). Number-based visual generalisation in the honeybee. *PLoS ONE*. **4**: e4263. doi: 10.1371/journal.pone.0004263
- Harari, Yuval N. (2015). *Sapiens: A Brief History of Humankind*. New York: *Harper*.
- Hauser M., & Carey S., (1998). Building a cognitive creature from a set of primitives: Evolutionary and developmental insights. In D. D. Cummins & C. Allen (Eds.), *The evolution of mind* (pp. 51–106). Oxford University Press.
- Hauser M.D., Carey S., Hauser L.B., (2022). Spontaneous number representation in semi-free-ranging rhesus monkeys. *Proceedings: Biological Sciences*. **267(1445)**:829-33. doi: 10.1098/rspb.2000.1078.
- Hauser M.D., MacNeilage P., & Ware M., (1996). Numerical representations in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **93**: 1514–1517.
- Housecroft C.E. (2019). Nature's Chemical Weapons: Beetle Defenses. *Chimia*.; **73(6)**:420-421. doi: 10.2533/chimia.2019.420. PMID: 31118127.

- Huey R.B. & Pianka E.R., (1981). "Ecological Consequences of Foraging Mode." *Ecology*. vol. **62**: no. 4, pp. 991–99. JSTOR, <https://doi.org/10.2307/1936998>.
- Kaufman E.L., Lord M.W., Reese T.W., Volkman J. (1949). The discrimination of visual number. *The American Journal of Psychology*, **62**: 498–525. <https://doi.org/10.2307/1418556>
- Köhler O. (1941). "Vom erlernen unbenannter anzahlen bei vögeln". *Die Naturwissenschaften*: 201-218.
- Kretz R., (1979). A behavioural analysis of colour vision in the ant *Cataglyphis bicolor* (Formicidae, Hymenoptera). *Journal of Comparative Physiology A*. **131**:217–33
- Lee M.D., & Wagenmakers E.J. (2013). Bayesian cognitive modeling: A practical course. *Cambridge University Press*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139087759>
- Leppik E.E., (1953). The Ability of Insects to Distinguish Number, *The American Naturalist*. **87**: 835, 229-236
- Mawdsley J., Terry E., Sithole H., Mawdsley, A., (2011). The genus *Anthia* Weber in the Republic of South Africa, Identification, distribution, biogeography, and behavior (Coleoptera, Carabidae). *ZooKeys*. **143**: 47-81. doi: 10.3897/zookeys.143.2075.
- Meck W.H., Church R.M., (1983). Jul A mode control model of counting and timing processes. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behaviour Process.* ;**9(3)**:320-34. PMID: 6886634.
- O'Donnell S., Bulova S.J., DeLeon S., Khodak P., Miller S., Sulger E., (2015). Distributed cognition and social brains: reductions in mushroom body investment accompanied the origins of sociality in wasps. *Proceedings of the Royal Society B.: Biological Sciences*. 20150791, 282, 1810, 10.1098/rspb.2015.0791 [doi]
- Pfeffer S.E., Wittlinger M., (2016). How to find home backwards? Navigation during rearward homing of *Cataglyphis fortis* desert ants. *Journal of Experimental Biology*. **219 (14)**: 2119–2126. doi: <https://doi.org/10.1242/jeb.137786>
- Piazza M., Izard V., Pinel P., Le Bihan D., Dehaene S., (2004). Tuning curves for approximate numerosity in the human intraparietal sulcus.

- Neuron*. **28**;44(3):547-55. doi: 10.1016/j.neuron.2004.10.014. PMID: 15504333.
- Pica P., Lemer C., Izard V., Dehaene S., (2004). Exact and approximate arithmetic in an Amazonian indigene group. *Science*.;306(5695):499-503. doi: 10.1126/science.1102085. PMID: 15486303.
 - Rugani R., McCrink K., de Hevia M.D., et al. (2016). Ratio abstraction over discrete magnitudes by newly hatched domestic chicks (*Gallus gallus*). *Scientific Report*. **6**: 30114 <https://doi.org/10.1038/srep30114>
 - Rugani R., Regolin L., Vallortigara G., (2008). Discrimination of small numerosities in young chicks. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behaviour Process*. **34**(3):388-99. doi: 10.1037/0097-7403.34.3.388. PMID: 18665721.
 - Rugani R., Vallortigara G. & Regolin L. (2013). Numerical abstraction in young domestic chicks (*Gallus gallus*). Discrimination of large numbers. *PLoS One*. **8**: e65262, doi: 10.1371/journal.pone.0065262
 - 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. doi: 10.7554/eLife.54662.sa2.
 - Rugani, R., Regolin, L. and Vallortigara, G. (2010). Imprinted numbers: newborn chicks' sensitivity to number vs. continuous extent of objects they have been reared with. *Developmental Science*. **13**: 790-797. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7687.2009.00936.x>
 - Rybak J., Kuß A., Lamecker H., Zachow S., Hege H-C., Lienhard M., Singer J., Neubert K. and Menzel R. (2010). The digital bee brain: integrating and managing neurons in a common 3D reference system. *Frontiers in Systems Neuroscience*. volume **4**.
 - Schmidt-Koenig K., (1975). *Migration and homing in animals*. Vol. **6**. Berlin: Springer-Verlag,.
 - Scott P.D., Hepburn H.R., Crewe R.M., (1975). Pygidial defensive secretions of some carabid beetles, *Insect Biochemistry*, Volume **5**: Issue 6, Pages 805-811, ISSN 0020-1790, [https://doi.org/10.1016/0020-1790\(75\)90024-4](https://doi.org/10.1016/0020-1790(75)90024-4).
 - Sheehan M.J., Tibbetts E.A., (2015). Specialized face learning is associated with individual recognition in paper wasps.

Science.; **334(6060)**:1272-5. doi: 10.1126/science.1211334. PMID: 22144625.

- Stancher G., Rugani R., Regolin L., Vallortigara G., (2015). Numerical discrimination by frogs (*Bombina orientalis*). *Animal Cognition*, **18(1)**: 219–229. <https://doi.org/10.1007/s10071-014-0791-7>
- Vallortigara G., (2018). Comparative cognition of number and space: the case of geometry and of the mental number line, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 20170120,373,1740, doi:10.1098/rstb.2017.
- Vallortigara G., (2021). Pensieri della mosca con la testa storta, *Adelphi*.
- Wiltschko R. & Wiltschko W. (2023). Animal navigation: how animals use environmental factors to find their way. *The European Physical Journal Special Topics*. **232**:237–252; <https://doi.org/10.1140/epjs/s11734-022-00610-w0120>
- Wynn K., (1992). Addition and subtraction by human infants. *Nature*. **358**: 749–750; <https://doi.org/10.1038/358749a0>