



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Psicologia Generale

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE PSICOLOGICHE

INDIRIZZO PSICOBIOLOGIA

CICLO XXIV

ASPETTI COGNITIVI DELLA SCELTA
SESSUALE IN *Poecilia reticulata*

Direttore della Scuola: Ch.ma Prof.ssa Clara Casco

Coordinatore d'Indirizzo: Ch.mo Prof. Alessandro Angrilli

Supervisore: Ch.mo Prof. Angelo Bisazza

Dottoranda: Giovanna Serena

INDICE

INTRODUZIONE	1
1 SELEZIONE NATURALE E SELEZIONE SESSUALE	2
2 SCELTA SESSUALE FEMMINILE	5
3 MECCANISMI COGNITIVI LEGATI ALLA SCELTA	9
3.1 SCELTA RAZIONALE	9
3.2 TRANSITIVITA' E INDIPENDENZA DALLE ALTERNATIVE IRRILEVANTI (IIA)	10
3.3 LA SCELTA COMPARATIVA	12
4 SCELTA COMPARATIVA E COMPARTAMENTO ANIMALE	14
5 SCELTA COMPARATIVA E SCELTA SESSUALE	16
6 FATTORI CHE INFLUENZANO LA SCELTA SESSUALE MASCHILE	19
6.1 LA DIMENSIONE DELLE FEMMINE	21
6.2 LA RECETTIVITA'	22
6.3 GRUPPI DI FEMMINE DI NUMEROSITA' DIFFERENTE	24
7 OBIETTIVI DELLA RICERCA	26
PARTE SPERIMENTALE	29
1. BIOLOGIA DI <i>POECILIA RETICULATA</i>	30
1.1 CARATTERISTICHE GENERALI	30
1.2 BIOLOGIA RIPRODUTTIVA	33
IL MASCHIO	33
LA FEMMINA	34
1.3 COMPORTAMENTO SESSUALE	35
COMPORTAMENTO SESSUALE MASCHILE	36
COMPORTAMENTO SESSUALE FEMMINILE	40
SELEZIONE SESSUALE POST-COPULATORIA	42
2 Parte 1: VALUTAZIONE COMPARATIVA NELLA SCELTA SESSUALE FEMMINILE IN <i>Poecilia reticulata</i>	44
2.1 STRATEGIE DI SCELTA COMPARATIVA E SCELTA SESSUALE	44
2.2 MATERIALI E METODI	47
Esperimento 1: ripetibilita' della scelta femminile	47
Esperimento 2: scelta comparativa	50
2.3 RISULTATI	54
Esperimento 1: ripetibilita' della scelta femminile	54
Esperimento 2: scelta comparativa	55
2.4 DISCUSSIONE	60
3 Parte 2: VALUTAZIONE FEMMINILE DEI CARATTERI MULTIPLI NELLA SPECIE AFFINE <i>Xiphophorus birchmanni</i>	64
3.1. BIOLOGIA DELLA SPECIE	64
IL GENERE <i>XIPHOPHORUS</i>	64
CARATTERI SESSUALI SECONDARI	65
<i>Xiphophorus birchmanni</i> x <i>Xiphophorus malinche</i> E I LORO IBRIDI ...	66
3.2 SCELTA SESSUALE FEMMINILE PER CARATTERI MULTIPLI IN <i>Xiphophorus birchmanni</i>	69
3.3 MATERIALI E METODI	72
3.4 RISULTATI	76
Esperimento 1: preferenza per i maschi ibridi	76
Esperimento di controllo: preferenza tra animazioni video e stimoli reali	76
3.5 DISCUSSIONE	76

4 Parte 3: SCELTA SESSUALE CONTESTO DIPENDENTE NEI MASCHI DI <i>Poecilia reticulata</i>	79
4. 1. ADATTAMENTI DELLA SCELTA SESSUALE MASCHILE ALLE STRATEGIE FEMMINILI.....	79
4. 2 MATERIALI E METODI.....	82
Esperimento 1: scelta sessuale maschile in <i>P. reticulata</i> in relazione al contesto	82
Esperimento 2: scelta sessuale maschile in relazione al contesto e all'esperienza	85
Esperimento 3: relazione tra colorazione del maschio e interazioni aggressive.....	86
4. 3 RISULTATI.....	89
Esperimento 1: scelta sessuale maschile in <i>P. reticulata</i> in relazione al contesto	89
Esperimento 2: scelta sessuale maschile in relazione al contesto e all'esperienza	91
Esperimento 3: relazione tra colorazione del maschio e interazioni aggressive.....	92
4.4 DISCUSSIONE.....	93
5 Parte 4: LIMITI COGNITIVI E SCELTA SESSUALE MASCHILE.....	95
5.2 SEZIONE 1: preferenza maschile per gruppi di femmine vs femmine singole e per la numerosità del gruppo.	97
5.2.1 MATERIALI E METODI.....	97
Esperimento 1: preferenza per gruppi di femmine vs una femmina singola.....	97
Esperimento 2: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (4vs2).....	101
5.2.2 RISULTATI.....	101
Esperimento 1: preferenza per gruppi di femmine vs una femmina singola.....	101
Esperimento 2: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (4vs2).....	102
5.3 SEZIONE 2: controllo dei fattori che possono aver influito sul test di preferenza.....	102
5.3.1 MATERIALI E METODI.....	103
Esperimento 3: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo della socialità degli stimoli	103
Esperimento 4: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo del fattore luminosità	104
Esperimento 5: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo della componente olfattiva	105
5.3.2 RISULTATI.....	107
Esperimento 3: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo della socialità degli stimoli	107
Esperimento 4: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo del fattore luminosità	107
Esperimento 5: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo della componente olfattiva	107
5.3.3 ANALISI GENERALE DEGLI ESPERIMENTI.....	108
5.4 SEZIONE 3: confronto del successo di accoppiamento dei maschi di <i>P. reticulata</i> con femmine singole o con gruppi di femmine.....	109
5.4.1 MATERIALI E METODI.....	110
Esperimento 6: confronto del successo di accoppiamento dei maschi di <i>P. reticulata</i> con femmine singole o con gruppi di femmine.....	110

5.4.2 RISULTATI	113
Esperimento 6: confronto del successo di accoppiamento dei maschi di <i>P.reticulata</i> con femmine singole o con gruppi di femmine	113
5.4 DISCUSSIONE	114
CONCLUSIONI.....	117
BIBLIOGRAFIA.....	122

INTRODUZIONE

1 SELEZIONE NATURALE E SELEZIONE SESSUALE

Darwin fra il 1859 e il 1871 aggiunse un tassello di fondamentale importanza alla teoria della selezione naturale da lui stesso proposta facendo una chiara distinzione fra selezione naturale e selezione sessuale. In “The descent of man and selection in relation to sex” (Darwin, 1871) fu messo in evidenza che mentre, da un lato, la selezione naturale favorisce i caratteri che aumentano la probabilità di sopravvivenza di un individuo, la selezione sessuale invece, agisce sui quei caratteri che portano ad un maggior successo riproduttivo. La selezione naturale *per sé*, infatti, non può giustificare l’esistenza di caratteri particolarmente appariscenti e svantaggiosi nella lotta per la sopravvivenza per l’individuo che li porta, come ad esempio, citando degli esempi classici, il palco di corna nei cervi, le enormi dimensioni corporee dei maschi di elefante marino o la lunga coda e la colorazione appariscente dei maschi del pavone. Per la loro natura, questi caratteri -definiti caratteri sessuali secondari (CSS), cioè quei caratteri non strettamente coinvolti nella riproduzione ma che differiscono fra maschi e femmine- appaiono svantaggiosi per la sopravvivenza dell’individuo che li porta e dovrebbero venire eliminati attraverso l’azione della selezione naturale. Per spiegare la loro evoluzione, Darwin propose appunto la teoria della selezione sessuale secondo la quale gli individui che portano questi caratteri avrebbero un vantaggio rispetto agli altri in termini di maggior successo riproduttivo, tale da compensare gli eventuali costi di sopravvivenza. La nuova teoria proposta da Darwin creò a quel tempo grande discussione ma, anche se rivisitata e approfondita sotto molti aspetti, è stata ampiamente accettata e la selezione sessuale viene definita attualmente come il processo evolutivo che favorisce l’aumento della frequenza di quei geni che conferiscono all’individuo un vantaggio riproduttivo pur comportando un costo in termini di sopravvivenza (Birkhead & Pizzari, 2002).

La selezione sessuale opera attraverso due meccanismi diversi, ma non mutualmente esclusivi: la competizione intra-sessuale (cioè la competizione che generalmente si osserva fra i maschi di una stessa specie per la conquista delle femmine) e la scelta femminile (la scelta operata soprattutto dalle femmine che avvantaggia i maschi che in base a determinati caratteri risultano più attraenti).

Mentre il primo meccanismo porta all'evoluzione di caratteri detti armamenti che favoriscono il maschio nella lotta con i competitori, come ad esempio corna, zanne, ecc., il secondo meccanismo, la scelta femminile è una forma di selezione inter-sessuale che porta alla comparsa di caratteri puramente ornamentali, detti appunto ornamenti, che non hanno un ruolo diretto nella lotta per la conquista delle femmine ma sulla base dei quali le femmine scelgono i maschi con cui accoppiarsi. Esempi di ornamenti sono i piumaggi colorati, i canti elaborati in diverse specie di uccelli, le livree sgargianti dei pesci o la frequenza e la diversità dei canti di alcuni anfibi (Andersson, 1994).

La scelta femminile è un processo costoso perché le femmine, nello scegliere il proprio compagno, investono del tempo a discapito di altre attività quali la ricerca del cibo o l'evitamento dei predatori e al tempo stesso aumentano il rischio di contrarre malattie, parassiti o di essere ferite. Nonostante questo, il comportamento di scelta è un processo diffuso in natura e ampiamente riconosciuto in molte specie animali (Andersson, 1994) e si ritiene perciò che possa evolvere quando vi sono dei benefici che compensano i costi affrontati dalle femmine. Le femmine scegliendo determinati maschi possono ottenere benefici diretti o materiali, come ad esempio un territorio più ricco (associato ad una maggior disponibilità di cibo), migliori cure parentali da parte del maschio o doni nuziali. In molti sistemi nuziali, però, i maschi non difendono territori, e non contribuiscono all'allevamento della prole fornendo cure parentali. Di conseguenza in questi casi, dare una spiegazione all'evoluzione della scelta sessuale femminile, risulta più complesso. In letteratura sono stati proposti due modelli. Il modello di Fisher (1915) o *runaway selection*, sottolinea che le femmine, accoppiandosi con maschi con ornamenti più sviluppati, produrranno figli che portano tali caratteri e che saranno a loro volta preferiti dalle femmine. I figli maschi quindi avranno un elevato successo riproduttivo mentre le figlie femmine erediteranno la preferenza per gli ornamenti, generando una correlazione genetica tra ornamento e preferenza che determina una rapida evoluzione dei caratteri sessuali secondari maschili. Secondo una teoria molto seguita, le femmine in generale preferirebbero accoppiarsi con quei maschi che presentano degli ornamenti più sviluppati in quanto questi costituirebbero un segnale onesto

sulla qualità del maschio che li porta (Andersson, 1994). A tal riguardo, il secondo modello detto dei *good genes* o dei buoni geni (Andersson, 1986, Zahavi, 1975), prevede che le femmine ottengano dei benefici indiretti (di tipo genetico, per esempio un migliore sistema immunitario per i propri figli) dall'accoppiamento con maschi che presentano caratteri sessuali secondari più sviluppati. L'espressione dei caratteri sessuali secondari infatti rifletterebbe, secondo questo modello, la qualità genetica dei maschi e le femmine accoppiandosi con questi ultimi produrrebbero una prole con maggior probabilità di sopravvivenza (una prole più sana e migliore geneticamente). Il modello inoltre, prevede che vi siano dei costi per i maschi associati all'espressione degli ornamenti e questo garantirebbe la qualità del maschio oltre all'onestà del segnale.

Un importante aspetto da considerare riguardo la selezione sessuale è che questo processo non si esaurisce nel momento in cui avviene la copula ma continua anche successivamente secondo quella che è stata definita selezione sessuale post-copulatoria (diversa appunto dalla selezione pre-copulatoria che precede questo atto) (Birkhead & Pizzari, 2002). Le considerazioni fatte da Darwin partivano dal presupposto che le femmine fossero monogame. Allo stato attuale sappiamo invece che la scelta femminile del partner non solo è la forza trainante che permette l'evoluzione e il mantenimento dei caratteri sessuali secondari nei maschi ma che spesso una stessa femmina si accoppia con più maschi nel corso di una stagione riproduttiva (poliandria). Questo ha permesso di valutare la selezione sessuale sotto un nuovo punto di vista. In una condizione di poliandria una stessa femmina si accoppia con più maschi, come avviene in molte specie di pesci, di insetti ma anche negli uccelli e nei mammiferi, e si crea un intervallo di tempo tra inseminazione degli spermatozoi e fecondazione delle uova in cui gli spermatozoi di più maschi si trovano a competere per la fecondazione di uno stesso set di uova (Parker, 1970). I meccanismi di selezione sessuale che agiscono a livello post-copulatorio presentano una corrispondenza con i meccanismi a livello pre-copulatorio. Si distingue infatti tra la competizione spermatica (il corrispettivo della lotta tra maschi, competizione intra-sessuale) e la scelta criptica femminile (il corrispettivo della scelta femminile, selezione inter-sessuale). Più precisamente: la competizione spermatica è definita come la

competizione degli spermatozoi di due o più maschi per la fecondazione di uno stesso set di uova (Parker, 1970). Quando i livelli di poliandria e quindi di competizione spermatica sono molto elevati, si osservano degli adattamenti per quanto riguarda la produzione dell'eiaculato o la morfologia e la funzionalità degli spermatozoi stessi (Hunter *et al.*, 2000; Nicholls *et al.*, 2001). La scelta criptica femminile invece comprende tutti quei meccanismi che avvengono dopo la copula e che, sotto controllo femminile, possono modificare la competizione spermatica sbilanciando, in favore di un determinato maschio, la fecondazione e quindi la paternità delle uova (Eberhard, 1996). Il termine criptica deriva proprio dal fatto che la scelta in questo caso avviene in modo nascosto all'interno dell'apparato riproduttivo femminile.

I due meccanismi (competizione spermatica e scelta criptica femminile) non si escludono a vicenda ed entrambi influenzano il comportamento riproduttivo con delle conseguenze anche a livello genetico in diverse specie animali e, proprio per questo, negli ultimi decenni sono stati argomento di ricerca anche in ambito etologico anche se il loro livello di complessità è tale per cui alcuni quesiti a riguardo rimangono ancora irrisolti. Per quanto riguarda questo lavoro, la mia attenzione sarà rivolta solo ai meccanismi di scelta che sono coinvolti a livello pre-copulatorio nella scelta sessuale.

2 SCELTA SESSUALE FEMMINILE

Da oltre un secolo, da quando Darwin propose nel 1859 la teoria della selezione sessuale, si sono susseguiti numerosi dibattiti con valutazioni contrastanti a riguardo. Allo stato attuale è riconosciuto come la scelta femminile del partner sessuale costituisca un'importante forza selettiva attraverso cui i caratteri sessuali secondari si sono evoluti e si mantengono nei maschi di numerose specie (Andersson, 1994; Andersson & Simmons, 2006; Clutton-Brock, 2007).

Come detto in precedenza, le femmine non scelgono il maschio con cui accoppiarsi in modo casuale, ma mostrano spesso una preferenza verso i maschi che possiedono caratteri sessuali secondari più sviluppati, in quanto questi

costituirebbero un segnale onesto riguardo la condizione del maschio (Andersson 1994).

È necessario aggiungere però che la scelta sessuale femminile può variare anche in base alle pressioni selettive a cui sono sottoposte le femmine in uno specifico momento. In particolare, il rischio di predazione, la disponibilità di cibo e il rischio di contrarre malattie sono tutti fattori che possono incidere sulla fecondità, la crescita e la mortalità degli individui (Charnov, 2001). Tuttavia se la scelta femminile è un processo evolutivamente stabile si deve supporre che i costi sopportati per affrontarla vengano compensati dai benefici ottenuti (Andersson 1994). E' possibile quindi che le femmine, adattando le loro scelte, ottengano dei benefici superiori in termini di vantaggio riproduttivo. Questa plasticità del comportamento è stata osservata ad esempio in numerose specie di pesci di acqua dolce (Barbosa & Magurran, 2006).

In un esperimento condotto da Gong e Gibson (1996) è stato osservato che la preferenza sessuale nelle femmine di *Poecilia reticulata*, un piccolo pesce d'acqua dolce, può variare in presenza di un potenziale predatore. Alle femmine veniva data la possibilità di scegliere tra due maschi che differivano per estensione delle macchie di colore arancio, un tratto ornamentale proprio dei maschi di questa specie, e la loro preferenza veniva osservata prima e dopo aver visto un loro comune predatore naturale posizionato in una vasca adiacente. In assenza del predatore le femmine mostrano una forte preferenza per il maschio più colorato (più attraente) mentre in presenza del predatore non si osserva alcuna preferenza significativa per uno dei due maschi suggerendo che, in questa specie, le femmine sarebbero in grado di modificare la loro preferenza in accordo con il livello di predazione. Si suppone che questo sia dovuto al fatto che la vicinanza con il maschio più colorato, essendo più facilmente visibile al predatore, aumenterebbe anche per la femmina il rischio di essere predata in sua presenza

Analogamente anche la disponibilità di cibo può avere un effetto sulla fecondità e di conseguenza sulla fitness delle femmine andando ad influire sulla stessa scelta femminile. Le femmine di *Xiphophorus birchmanni* quando viene data loro la possibilità di scegliere tra maschi deprivati di cibo e maschi in buone condizioni alimentari avendo il solo accesso alle informazioni olfattive che questi

rilasciano, mostrano una preferenza significativa per l'odore proveniente dai maschi in condizioni migliori. Inoltre è stato dimostrato che quando anche la femmina stessa viene deprivata dal cibo la risposta verso maschi in buone condizioni risulta significativamente più forte rispetto alla condizione precedente. Questo risultato suggerisce che, quando le femmine hanno una disponibilità limitata di risorse alimentari, la loro risposta sessuale può variare conseguentemente con delle implicazioni sulla variabilità dell'espressione della preferenza sessuale stessa.

La suscettibilità alle malattie e quella ai parassiti infine sono due fattori chiave che incidono sulla fitness e quindi sul successo riproduttivo in termini di sopravvivenza e fecondità della prole. Ad esempio le femmine di spinarello (*Gasterosteus aculeatus*) preferiscono accoppiarsi con i maschi più colorati (colorazione rossa della livrea), perché la prole di questi ultimi oltre ad avere un maggiore successo riproduttivo è risultata avere anche un sistema immunitario più sviluppato e resistente alle malattie e ai parassiti (Barber *et al.*, 2001). Il contesto ecologico in cui avviene la scelta sessuale è quindi di fondamentale importanza.

Esiste tuttavia un aspetto ancora poco indagato relativamente alle scelte sessuali che riguarda gli aspetti cognitivi dei processi decisionali che accompagnano la scelta sessuale. Dal punto di vista della scelta sessuale femminile, la preferenza da rivolgere ad un determinato maschio con il quale accoppiarsi e dal quale far fecondare il proprio set di uova potrebbe essere infatti interpretata anche come un problema di processamento delle informazioni relative ai potenziali partner sessuali (Miller & Todd, 1998). Le femmine devono percepire ed elaborare le caratteristiche dei maschi in modo tale da immagazzinare correttamente le informazioni raccolte per ognuno al fine di usufruirne per poter poi compiere una scelta in modo efficiente. Si può ipotizzare che quando una femmina si trova nella condizione di scegliere fra due maschi che differiscono uno dall'altro per un solo carattere rilevante, tale scelta per la femmina possa risultare semplice. Le informazioni apprese dovrebbero essere elaborate più facilmente e la scelta finale risultare rapida ed ottimale. Un classico esempio riguarda uno studio condotto sulle scelte sessuali dalle femmine dell'uccello vedova (*Euplectes progne*) (Andersson, 1982). Le femmine di questa specie mostrano una preferenza

per i maschi con la coda più lunga costituita da lunghe penne nere e che i maschi esibiscono per attirare le femmine. Quando alle femmine veniva data la possibilità di scegliere tra due maschi a cui veniva sperimentalmente manipolata la lunghezza della coda è stato osservato che la loro preferenza era rivolta verso i maschi con le penne timoniere più lunghe e la scelta in base a questo unico tratto risultava essere netta. Questa condizione tuttavia risulta essere rara in natura e se la scelta tra due individui che differiscono per un solo carattere può essere semplice, all'aumentare del numero di individui e di caratteri presi in considerazione ci si aspetta che la scelta sia più complessa. Molto spesso infatti le femmine si trovano a scegliere il proprio partner tra numerose alternative (i possibili partner sessuali) che differiscono simultaneamente per più caratteri (qualità del territorio, caratteri sessuali multipli, variazioni nel canto, ecc) che potrebbero a loro volta fornire ciascuno diverse informazioni riguardo differenti aspetti della qualità del maschio (Candolin, 2003). Tuttavia, lo studio dei meccanismi cognitivi che guidano la scelta sessuale una volta che le femmine ottengono le informazioni relative ai potenziali partner è stato finora sostanzialmente ignorato con pochissime eccezioni (Reaney, 2009; Royle *et al*, 2008).

A tal riguardo recentemente è stato ipotizzato che, in modo del tutto analogo a quanto accade negli esseri umani quando si trovano posti davanti ad una scelta costituita da più alternative caratterizzate da diversi parametri (come ad esempio la scelta tra diverse marche di uno stesso tipo di prodotto esposte negli scaffali di un supermercato), anche gli animali per superare i limiti imposti dal *trade-off* tra efficienza del meccanismo di scelta e accuratezza della scelta risultante, è possibile che abbiano evoluto dei meccanismi cognitivi basati su strategie di comparazione che facilitano la loro scelta sessuale (Bateson & Healy, 2005).

3 MECCANISMI COGNITIVI LEGATI ALLA SCELTA

3.1 SCELTA RAZIONALE

I modelli di scelta teorici applicati in ambito economico presuppongono che nello scegliere tra diverse opzioni gli esseri umani si comportino in modo razionale scegliendo sempre secondo un preciso ordine di preferenza. Una scelta viene definita razionale quando gli algoritmi che vengono utilizzati per assegnare a ciascuna opzione considerata un valore, consentono di massimizzare il risultato finale supponendo che i vantaggi che si ottengono da tale scelta siano superiori rispetto ai costi che si devono affrontare per effettuarla (Tversky & Simonson, 1993). Secondo la teoria delle scelte razionali, che si basa su una valutazione di tipo assoluto, a ciascuna opzione presa in considerazione in un set di più opzioni disponibili, verrebbe assegnato un valore indipendente creando una sorta di scala di valori grazie alla quale si dovrebbe ottenere una scelta ripetibile nel tempo e non influenzata dall'aggiunta di altre opzioni non rilevanti (Luce, 1959; 1977; Tversky & Simonson, 1993).

Per semplificare questo concetto poniamo che un soggetto si trovi a scegliere tra due opzioni A e B e che la sua preferenza relativa, calcolata come il numero di volte in cui sceglie una delle due opzioni sul numero totale di scelte $[A/(A+B)]$ sia rivolta all'opzione A. Se si introduce una terza opzione C nel set di possibili opzioni tra cui scegliere si possono ottenere diverse risposte. Generalmente se la scelta è razionale, si assume che l'aggiunta di una nuova opzione C non cambi la preferenza relativa di A su B. Tuttavia se si considera la preferenza assoluta data dal rapporto $[A/(A+B+C)]$ in presenza di C ci si aspetta che questa diminuisca assumendo che parte delle scelte saranno rivolte verso questa nuova opzione pur mantenendo costante la preferenza relativa di A su B. Questo principio è noto come *constant ratio rule* da cui derivano due assunzioni riguardanti i meccanismi sottostanti la scelte: il primo è che i soggetti assegnerebbero una preferenza in base a dei valori assoluti alle diverse opzioni e il secondo è che la probabilità di scegliere un'opzione sarebbe proporzionale al

rapporto che intercorre tra il valore dell'opzione stessa e la somma dei valori di tutte le opzioni considerate (Luce, 1959)

Questa assunzione tuttavia potrebbe essere ragionevole nel caso in cui il valore di un'opzione sia facilmente misurabile in modo univoco. Per esempio, tra diversi premi in denaro, un soggetto tenderà a scegliere sempre il premio più alto. Quando le opzioni confrontate differiscono per due o più caratteri non correlati tra loro, la scelta diventa cognitivamente più complessa.

3.2 TRANSITIVITA' E INDIPENDENZA DALLE ALTERNATIVE IRRILEVANTI (IIA)

In ambito economico la razionalità della scelta viene solitamente verificata sulla base di due principi: l'indipendenza dalle alternative irrilevanti e la transitività (Kacelnik, 2005). Per quanto riguarda il primo principio si assume che, se l'opzione A è preferita sull'opzione B, il loro rapporto debba rimanere tale in qualsiasi situazione (cioè che la preferenza relativa espressa dal rapporto $(A/A+B)$ debba rimanere costante in accordo con la *constant ratio rule*) e indipendentemente dal numero di possibili opzioni di minore valore presentate successivamente rispetto alle due opzioni principali. In altre parole, se la scelta è razionale la preferenza tra A e B non dovrebbe essere influenzata dall'aggiunta di un'ulteriore opzione dalle caratteristiche inferiori a entrambe le precedenti. In base al principio della transitività invece, se l'opzione A è preferita all'opzione B e l'opzione B è preferita all'opzione C, allora A dovrebbe sempre essere preferita a C. Tuttavia si è osservato che tali principi vengono talvolta violati (Huber *et al.*, 1982; Simonson & Tversky, 1992; Tversky & Simonson, 1993), e si possono avere preferenze diverse di fronte allo stesso problema quando questo è presentato in contesti differenti (Iyengar & Lepper, 2000).

A tal riguardo, per verificare se una scelta è razionale in base al principio indipendenza dalla presenza di alternative irrilevanti, in letteratura viene comunemente utilizzato il paradigma sperimentale dell' "*asymmetrically dominated decoy*" (ADD) secondo il quale, la preferenza espressa tra due opzioni che differiscono per due caratteristiche (opzioni "*target*" e "*competitor*"

rispettivamente) viene modificata dall'aggiunta di una terza opzione, il *decoy* appunto, che dovrebbe essere invece irrilevante rispetto alle precedenti. Una terza opzione è un ADD quando è inferiore per entrambe le caratteristiche considerate ad una delle due opzioni (*target*) ma solamente per una caratteristica rispetto all'altra (*competitor*) (**Fig. 1**).

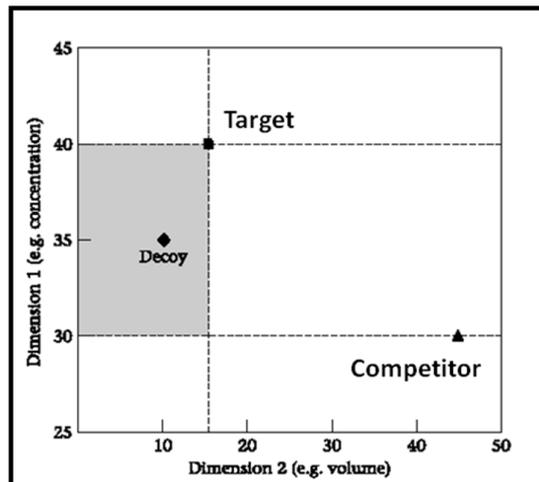


Fig. 1: Tratto da Bateson *et al.* (2003); rappresentazione schematica delle tre opzioni disponibili utilizzando il paradigma sperimentale dell'*asymmetrically dominated decoy*. Il *target* (T) è più rilevante del *competitor* (C) rispetto al carattere 1, ma meno rispetto al carattere 2. Il *decoy* (D) invece è dominato dal *target* T per entrambi i caratteri

Il paradigma sperimentale dell'ADD è stato utilizzato in studi di marketing e nell'ambito della psicologia delle scelte (Zhang & Zhang, 2007). Per capire in che modo funziona una terza opzione *decoy* sui meccanismi di scelta, di seguito verrà illustrato un famoso lavoro di Huber e collaboratori (1982). Ai partecipanti veniva offerta una cena scegliendo tra un ristorante a cinque stelle ma raggiungibile in 25 minuti di auto ed un secondo ristorante a tre stelle ma raggiungibile in soli 5 minuti di auto. Il vantaggio qualitativo del primo ristorante quindi veniva messo a confronto in questa condizione con la comodità di raggiungimento del secondo. Quando a queste due opzioni veniva aggiunta una terza opzione, il *decoy* relativo al ristorante a cinque stelle (quattro stelle, a 35 minuti di distanza) la preferenza per quest'ultimo aumentava. Analogamente quando alle due opzioni iniziali veniva aggiunta come terza opzione il *decoy*

relativo al ristorante a tre stelle (due stelle, a 15 minuti di distanza) la scelta ricadeva sul ristorante a tre stelle. Il *decoy* quindi ha l'effetto di enfatizzare le caratteristiche del *target* da cui è dominato per entrambe le caratteristiche spostando la preferenza verso questo stesso. Cognitivamente quindi agirebbe diminuendo la distanza per il carattere che differenzia il *target* dal *competitor* facendo risaltare il *target* anche se la scelta che ne consegue non risulta razionale.

La violazione del principio di indipendenza dalle alternative irrilevanti che si osserva in presenza del *decoy* fornirebbe le prime indicazioni sul tipo di meccanismi cognitivi che sottostanno alla scelta. Un simile comportamento infatti discosterebbe da quanto atteso se la scelta dipendesse dall'assegnazione di un valore assoluto a ciascuna opzione (*constant ratio rule*) lasciando presupporre che ciascuna venga valutata in relazione alle altre opzioni disponibili e questo sottintenderebbe l'utilizzo di strategie di tipo comparativo.

3.3 LA SCELTA COMPARATIVA

Le scelte quindi non sempre non sarebbero sempre razionali ma avverrebbero attraverso delle euristiche che, pur producendo nella maggior parte dei casi una decisione razionale, possono in particolari condizioni dimostrare dei limiti e determinare scelte viceversa sub-ottimali. Per euristica si intende un semplice processo cognitivo che coinvolge l'apprendimento e la memoria e che sfrutta queste abilità per rendere il processo di scelta veloce senza raggiungere un sovraccarico di informazioni (Hutchinson & Gigerenzer, 2005).

Un comportamento irrazionale si osserverebbe soprattutto quando le opzioni tra le quali deve avvenire la scelta sono caratterizzate da numerosi parametri di qualità che correlano tra loro. In questo caso si ipotizza che una scelta razionale sarebbe molto complessa perché è più difficile che una singola opzione emerga come dominante se si considerano molti aspetti contemporaneamente e piuttosto è stato suggerito che, nel compiere la scelta, si ricorra a meccanismi cognitivi basati su criteri di valutazione di tipo comparativo (Gigerenzer *et al.*, 1999).

Per scelta comparativa si intende quindi una scelta nella quale il valore di una opzione viene assegnato in relazione alle altre opzioni disponibili in quel momento piuttosto che indipendentemente (Tversky & Simonson, 1993). In particolare, la scelta comparativa sarebbe influenzata dal *range* di valutazione tra più caratteri delle diverse opzioni considerate piuttosto che dalla somma assoluta dei loro valori. Questo significa che, tra due opzioni, le caratteristiche di ogni singola opzione vengono considerate ciascuna separatamente fino a che una non permette di determinare una preferenza di un'opzione sulle altre (Hutchinson & Gigerenzer, 2005). Il confronto si ferma a questo punto e tutte le altre possibili caratteristiche vengono in seguito non considerate. Non sempre quindi avere maggior possibilità di scelta significa essere facilitati nei processi decisionali. Iyengar e Lepper (2000) hanno dimostrato ad esempio che per un consumatore scegliere tra diversi gusti di marmellata diventa più complesso quando la scelta diventa molto ampia (tra le 24 e le 30 opzioni) e che per compiere una scelta qualitativamente superiore, il numero massimo che ottimizzi la scelta si aggira intorno ai 6 elementi. Questo significa che con un numero più ristretto di opzioni tra cui scegliere l'analisi delle diverse caratteristiche del prodotto, che porta poi alla scelta finale, risulta più accurata. Un numero maggiore di opzioni implica invece uno sforzo cognitivo superiore e una scelta meno attenta.

In ambito economico, la ricerca sui processi decisionali si è occupata soprattutto di come noi operiamo le nostre scelte quando le opzioni disponibili differiscono per più caratteri correlati tra loro (Shanteau & Thomas, 2000). Questa è ad esempio la condizione nella quale si trova il consumatore di fronte a più prodotti nei quali tipicamente prezzo e qualità sono correlati in tutto il *range* di valutazione del prezzo. In questo contesto operare una scelta razionale è probabilmente assai complesso e da un punto di vista cognitivo la scelta comparativa costituirebbe un'alternativa meno precisa ma più rapida per risolvere il problema.

Si ipotizza che cognitivamente risulterebbe più semplice confrontare le diverse opzioni separatamente per ognuna delle loro dimensioni. In questo modo, nonostante dalla valutazione comparativa possa risultare un comportamento irrazionale, si assume che i costi derivanti da possibili scelte sub-ottimali siano

compensati dal tempo e dallo sforzo neurale che nella valutazione vengono risparmiati dall'adozione di un'euristica cognitivamente più semplice.

4 SCELTA COMPARATIVA E COMPARTAMENTO ANIMALE

Negli anni più recenti ci si è cominciato a chiedere in ambito della ricerca etologica se anche gli animali, di fronte ad opzioni che variano per due o più caratteri non correlati tra loro, utilizzino una valutazione comparativa e siano quindi soggetti agli stessi limiti di razionalità degli esseri umani. L'utilizzo di strategie decisionali in natura fino ad ora è stato sempre considerato come il risultato di una costante pressione selettiva sulla capacità di compiere le scelte più efficienti dal punto di vista adattativo. Generalmente quindi i modelli decisionali applicati in ambito animale (per esempio nella teoria dell'*optimal foraging*) presuppongono che gli animali compiano delle decisioni secondo un criterio assoluto di scelta e che venga assegnato a ciascuna opzione un valore indipendente dalle altre disponibili (Stephens & Krebs, 1986). In questo caso quindi ci si aspetta che la scelta sia transitiva e indipendente dalla presenza di opzioni alternative irrilevanti, le due proprietà su cui si basa la scelta razionale. Anche gli animali quindi possiederebbero sistemi complessi di valutazione che necessiterebbero il processamento di più informazioni (Marsh, 2002).

Recentemente è stato dimostrato che in alcuni contesti ecologici gli animali presentano gli stessi limiti cognitivi della nostra specie che li porterebbero a compiere delle scelte non razionali (Bateson, 2004). Alcuni studi condotti sulle modalità attraverso le quali gli animali operano le scelte di foraggiamento ad esempio suggeriscono che, come nell'uomo, essi adottino la valutazione comparativa tra diverse opzioni possibili, violando appunto i principi della scelta razionale. (Bateson *et al.*, 2002; 2003).

Il paradigma sperimentale dell'ADD è stato quindi ripreso anche negli studi in ambito etologico come ad esempio in una ricerca condotta sulle strategie di foraggiamento del colibrì (*Selasphorus rufus*) (Bateson *et al.*, 2003) in cui è stato osservato che la scelta tra due diverse alternative non è indipendente dalla

presenza di alternative irrilevanti. In questo caso gli stimoli, di tipo alimentare, presentati ai soggetti variavano per due caratteristiche tra loro indipendenti ma rilevanti per esprimere una preferenza alimentare: la concentrazione di glucosio e il volume totale contenuto all'interno di fiori artificiali. I soggetti venivano sottoposti a tre trattamenti: un primo test di scelta binaria in cui dovevano scegliere tra due fiori artificiali (rispettivamente 20 μ l di nettare, concentrazione 40% e 40 μ l al 20%) e due successivi test in cui veniva presentata anche una terza opzione *decoy* (10 μ l al 30%, che corrispondeva al *decoy* per la concentrazione di nettare e 30 μ l al 10% che corrispondeva al *decoy* per il volume). I risultati hanno evidenziato una variazione significativa della preferenza per lo stimolo *target* precedentemente preferito nel test di scelta binaria (fiore con maggior volume o con il nettare più concentrato) in presenza del rispettivo *decoy*. In altre parole, la presenza del *decoy* relativo alla concentrazione di nettare aumenta la preferenza per l'opzione con maggiore concentrazione zuccherina, e viceversa il *decoy* per il volume porta ad un aumento della preferenza per l'opzione caratterizzata da maggiore volume (Bateson *et al.*, 2003).

Adottando una procedura sperimentale simile a quella adottata nello studio precedentemente citato, Shafir e collaboratori (2002) hanno studiato il comportamento nelle scelte alimentari in due specie filogeneticamente distanti tra loro, le api (*Apis mellifera*), e le ghiandaie, (*Perisoreus canadensis*). Alle api veniva data la possibilità di scegliere tra due o tre fiori che contenevano diverse quantità di nettare e che venivano posizionati a diverse altezze implicando uno sforzo maggiore per raggiungerli. Per le ghiandaie invece gli stimoli a confronto erano costituiti da un numero variabile di uvette che venivano posizionate più o meno in profondità all'interno di un tubo e quindi potevano essere difficilmente raggiungibili. I risultati evidenziano che dopo l'introduzione di una terza opzione *decoy* che dovrebbe essere irrilevante si osserva un cambiamento nella preferenza relativa rispetto al test di scelta binario. La scelta alimentare, sembrerebbe quindi regolata dall'utilizzo di un meccanismo di valutazione comparativa suggerita dallo sbilanciamento della preferenza e indicherebbe quindi l'uso di strategie di scelta simili in specie diverse.

Dai risultati di questi lavori si può evincere come l'aggiunta di una terza

opzione *decoy* influisca sulla preferenza. Sono state proposte diverse spiegazioni a questo comportamento e come accennato precedentemente (Paragrafo 3) l'effetto dell'ADD potrebbe derivare dall'effetto percettivo determinato dall'alterazione del *range* di variazione dello stimolo rispetto ai due attributi di interesse (per es. concentrazione di glucosio e volume). Più precisamente, la distanza tra due punti lungo una certa dimensione è percepita come più piccola quando è collocata in un range più grande. Per definizione, un ADD aumenta il range dell'attributo per il quale il *target* è inferiore al *competitor*, riducendo conseguentemente la differenza percepita tra il *target* e il *competitor* per questo attributo e perciò riducendo lo "svantaggio" del *target* relativamente al *competitor* stesso. In alternativa, questo effetto potrebbe derivare dalla "relazione di dominanza" del *target* rispetto al *competitor* che viene alterata dalla presenza del *decoy*. Infatti il *target* è maggiore del *decoy* per entrambi gli attributi mentre il *competitor* è maggiore solo per un attributo. Quale che sia la spiegazione, la valutazione comparativa è certamente collegata alla percezione delle opzioni poste a confronto e probabilmente è utilizzata in ogni contesto nel quale la scelta tra diverse opzioni deve essere effettuata in modo rapido e relativamente efficiente (Marsh, 2002).

5 SCELTA COMPARATIVA E SCELTA SESSUALE

Per un animale l'utilizzo di strategie di tipo comparativo può essere adattativo e come visto, numerose evidenze a tal riguardo sono state riportate per i comportamenti legati alle scelte di foraggiamento (Bateson *et al.*, 2002; 2003; Shafir *et al.*, 2002). Non si può escludere allora che simili strategie possano essere utilizzate anche in altri contesti ecologici e in particolare la selezione del partner sessuale da parte delle femmine potrebbe esserne un esempio (Bateson & Healy, 2005). La scelta del partner sessuale costituisce tipicamente un caso in cui un animale deve scegliere tra diverse opzioni (potenziali partner) che differiscono per due o più caratteri tra loro non necessariamente correlati (ad esempio un maschio può essere meno attraente ma di contro fornire più cure parentali e viceversa) e ci si aspetta quindi che una valutazione di tipo comparativo possa essersi evoluta anche nel contesto della scelta sessuale. Le femmine in particolare nella scelta del

maschio migliore con cui accoppiarsi sono sottoposte ad una doppia pressione selettiva: devono scegliere il partner in modo rapido (ogni ritardo nell'accoppiamento riduce potenzialmente il successo riproduttivo della femmina nelle specie con durata limitata della stagione riproduttiva e aumenta la probabilità di essere predata prima di essersi riprodotta) ed efficiente (scelta del partner che assicura la massimizzazione del successo riproduttivo della femmina).

Secondo un recente studio condotto sulla scelta femminile del partner nella nostra specie (Lenton *et al.*, 2009), all'aumentare del numero di possibili uomini da conoscere (una situazione che si potrebbe verificare ad esempio durante una festa) diminuisce la preferenza femminile rivolta verso una particolare tipologia (l'uomo che possiede le caratteristiche ideali). Esiste infatti una correlazione positiva tra il numero di potenziali partner presenti e la casualità della scelta perché all'aumentare delle opportunità disponibili corrisponde un incremento delle caratteristiche da processare e quindi da ricordare per ciascuna di esse e questa operazione, diventando cognitivamente troppo complessa, porterebbe ad una scelta finale meno accurata, verso quello che non rappresenterebbe il maschio "migliore" secondo le aspettative (*random dilution effect*). Le donne quindi non modificano la loro strategia di scelta in modo ottimale in funzione di un numero più o meno elevato di uomini presenti. A tal proposito, cercando di semplificare il quadro delle possibili euristiche che possono essere coinvolte nella valutazione del partner, in una ricerca svolta da Sedikides e collaboratori (1999) è stato utilizzato il paradigma sperimentale dell'ADD per verificare se alla base della scelta vi siano dei meccanismi di tipo comparativo. I soggetti (studentesse universitarie) si trovavano inizialmente a dover scegliere tra due opzioni (partner ideali) ciascuna rilevante per uno di due caratteri dominanti (bellezza, A e senso dell'umorismo, B; si veda **Fig. 2-a**). In un primo momento ciascun soggetto sperimentale dichiarava una preferenza per un potenziale partner privilegiando una delle due caratteristiche salienti. Successivamente gli stessi soggetti dovevano scegliere in altri due test tra le medesime opzioni alle quali ne veniva aggiunta una terza che fungeva da *decoy*. Nel primo di questi esperimenti l'opzione aggiunta (C_A) era molto simile all'opzione A ma meno attraente per il suo carattere dominante (bellezza, **Fig. 2-b**) e con minor senso dell'umorismo, mentre nel test

successivo lo stimolo aggiunto (C_B) era più simile all'opzione B ma meno attraente e meno rilevante per il suo carattere dominante (senso dell'umorismo, Fig. 2-c).

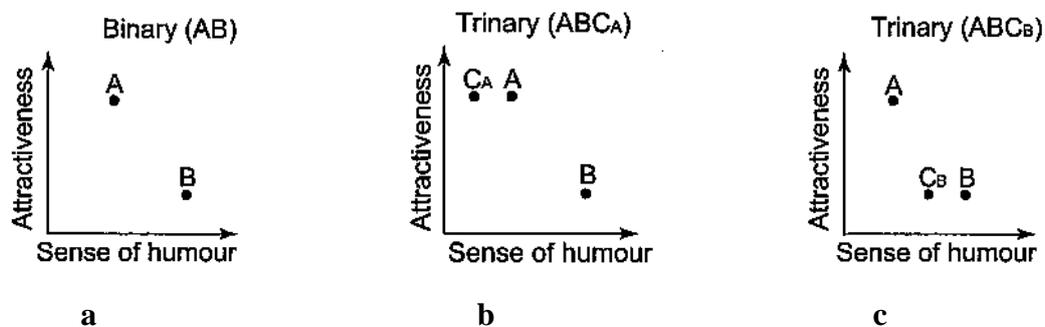


Fig. 2: Tratto da Sedikides *et al.* (1999); rappresentazione schematica delle caratteristiche degli stimoli che variavano per bellezza e per umorismo

L'aggiunta di tali opzioni ha un effetto sul giudizio finale dei soggetti considerati. In particolare i soggetti che mostravano una preferenza per il carattere A (bellezza) incrementavano la loro preferenza per quest'ultimo in presenza del rispettivo *decoy* (C_A) e viceversa per i soggetti che dimostravano una preferenza per il carattere B (senso dell'umorismo). I risultati di questo esperimento evidenziano che la scelta in ambito sessuale nell'uomo non si può definire razionale anzi, anche nella più semplice delle condizioni di scelta, questa dipenderebbe da meccanismi di tipo comparativo basati sulla valutazione di particolari caratteristiche che di volta in volta risultano rilevanti. Non è ancora chiaro tuttavia quali siano le euristiche che vengono utilizzate all'aumentare del numero di opzioni, di caratteristiche prese in considerazione e del contesto in cui avviene la scelta.

La scelta femminile in altre specie animali in cui le femmine stesse possono scegliere contemporaneamente tra più corteggiatori invece non mostra particolari variazioni in relazione al numero di questi ultimi. Nella maggior parte dei casi sono i maschi dominanti quelli che ottengono il maggior numero di accoppiamenti (maggior successo riproduttivo) (Höglund & Alatalo, 1995) e le femmine sembrano essere in grado di adattare la loro strategia di scelta in modo da renderla ottimale in relazione al numero di opzioni disponibili. Mentre alcune

ipotesi propongono che le femmine abbiano sviluppato delle euristiche che permettono loro di comparare ciascun maschio in relazione oltre che al numero anche alla qualità relativa di ciascuno di essi (Bateson & Healy, 2005), altre pongono l'accento sulle caratteristiche prese in considerazione nella valutazione stessa (Fawcett & Johnstone, 2003). In molte specie infatti le femmine basano la loro scelta sessuale sulla valutazione simultanea di caratteri multipli (colorazione della livrea, ricchezza del canto, tasso di corteggiamento ecc) che i maschi presentano, piuttosto che su un singolo tratto in quanto, in questo modo, sarebbero in grado di valutare contemporaneamente diversi aspetti della qualità del maschio stesso (Candolin, 2003). Le caratteristiche che sono più velocemente analizzabili, sono quelle che vengono considerate maggiormente nel momento in cui la scelta diventa vasta, quindi il tempo disponibile per la valutazione influisce sulla scelta finale che dipenderà per lo più dalle caratteristiche che, essendo più facili da selezionare, portano ad una scelta meno dispendiosa (vantaggio nella velocità della scelta in relazione alle caratteristiche considerate).

Fino ad oggi comunque pochissimi lavori si sono occupati di comprendere quali siano i meccanismi cognitivi implicati nella scelta sessuale e, i loro effetti sulla fitness dei maschi e delle femmine sono stati finora sostanzialmente ignorati, con pochissime eccezioni (Reaney, 2009; Royle *et al.*, 2008).

6 FATTORI CHE INFLUENZANO LA SCELTA SESSUALE MASCHILE

Si ritiene che il maschio scelga la sua compagna bilanciando i costi che deve affrontare per accoppiarsi con i benefici che ottiene (Trivers, 1972) e come detto in precedenza, ci si aspetta che la scelta sessuale evolva in un sesso nel caso in cui vi sia una grande variabilità nella qualità fra gli individui del sesso opposto. Se la qualità di tutti gli individui all'interno di una popolazione fosse simile, la scelta sessuale comporterebbe solo costi (per esempio sottraendo tempo ad altre attività importanti come il foraggiamento e l'evitamento dei predatori) e nessun beneficio e quindi non dovrebbe evolvere (Parker, 1983).

I maschi nella maggior parte delle specie non scelgono selettivamente la femmina con cui accoppiarsi tuttavia in particolari condizioni (come ad esempio la presenza simultanea di un elevato numero di femmine) possono affidarsi a degli indicatori secondo cui possono valutare direttamente la qualità di una femmina in termini assoluti di fecondità. Non a caso, quindi, essi scelgono frequentemente le femmine basandosi su tratti fenotipici come ad esempio la rotondità dell'addome o le dimensioni corporee. Numerose ricerche hanno infatti dimostrato in differenti *taxa*, che esiste una correlazione positiva tra la dimensione delle femmine e la loro fecondità (Olsson, 1993; Verrell, 1995; Werner & Lotem, 2003; Herdman *et al.*, 2004; Saeki *et al.*, 2005) e in molte specie inoltre è stata osservata una preferenza maschile rivolta proprio verso le femmine di maggiori dimensioni (Andersson, 1994; Amundsen, 2000). Se i maschi sono limitati nel numero di femmine con le quali possono accoppiarsi e se la dimensione delle femmine correla con il numero di uova mature che il maschio può fecondare (come solitamente avviene), risulta più vantaggioso l'accoppiamento con una femmina di maggiori dimensioni (Bonduriansky, 2001). Una condizione più rara in natura si osserva nelle specie in cui le femmine possiedono degli ornamenti. Il maschio in questi casi può basare la propria scelta utilizzando anche tali tratti dal momento che questi sembrano essere dei segnali condizione-dipendente, costosi per le femmine che li possiedono (Massironi *et al.*, 2005; Amundsen & Forsgren, 2001). Apparentemente, i maschi hanno evoluto una preferenza per femmine più ornamentate, nonostante ci si aspetti che i costi legati allo sviluppo dei CSS riducano la fecondità femminile. Ad esempio i maschi di passera lagia (*Petronia petronia*) mostrano una preferenza maggiore per le femmine che presentano una caratteristica macchia di piume gialle sul petto di maggiori dimensioni, carattere sessuale secondario proprio delle femmine di questa specie e altamente variabile tra le femmine (Griggio *et al.*, 2009)

Infine, è stato dimostrato che la scelta maschile è influenzata anche dalla competizione spermatica. Nelle specie poliandriche, nelle quali gli spermatozoi di due o più maschi competono per fecondare uno stesso set di uova, il successo riproduttivo atteso di un maschio diminuisce all'aumentare del livello di competizione spermatica. Come previsto, è stato dimostrato che i maschi

preferiscono accoppiarsi con femmine vergini o in generale con femmine sessualmente meno promiscue (Simmons *et al.*, 1994).

Un numero considerevole di lavori riguardanti le scelte sessuali maschili sono stati condotti utilizzando come modelli sperimentali specie di pesci appartenenti alla famiglia Poeciliidae, piccoli pesci d'acqua dolce a fecondazione interna. Nei pecilidi le femmine sono sociali e vivono in gruppi di dimensioni variabili accoppiandosi con numerosi maschi per ogni ciclo riproduttivo, i quali non forniscono benefici diretti (cure parentali, ampiezza e ricchezza del territorio o altre risorse) alle femmine. I maschi sono sessualmente molto attivi e dedicano la maggior parte del loro tempo nel corteggiamento delle femmine o nel tentativo di ottenere copule forzatamente (Evans *et al.*, 2011). L'investimento nella funzione riproduttiva è così elevato che i maschi cessano quasi completamente di crescere una volta raggiunta la maturità sessuale. In questa condizione ci si può attendere che i maschi tendano ad ottimizzare il loro investimento riproduttivo, cercando di dirigere la loro attività sessuale, ove ve ne sia l'opportunità, verso la femmina (o le femmine) che ci si aspetta possa garantire il maggior successo riproduttivo. La scelta maschile è stata perciò studiata soprattutto in alcuni contesti: rispetto alle dimensioni corporee delle femmine, al livello di recettività sessuale, alla dimensione del gruppo a cui appartengono e non per ultimo alla presenza nelle femmine di ornamenti.

6.1 LA DIMENSIONE DELLE FEMMINE

Come precedentemente descritto i maschi, per massimizzare il loro successo riproduttivo, tendono a preferire femmine più feconde e la fecondità è spesso correlata con le dimensioni corporee della femmina (Jones *et al.*, 2001). Studi condotti tra i diversi *taxa* riportano che esiste una correlazione positiva fra la fecondità e le dimensioni corporee o il peso corporeo delle femmine (Thornhill & Alcock, 1983; Tilley, 1968). Tra questi, in uno studio condotto da Bisazza e collaboratori (1989) è stato dimostrato che i maschi di *Gambusia holbrooki*, un pecilide nord americano introdotto e attualmente diffuso in Europa meridionale e in Italia, mostrano una preferenza verso le femmine di grandi dimensioni. Come

detto, il motivo di questa preferenza è probabilmente dovuto al fatto che le femmine più grandi sono anche più feconde e il vantaggio di accoppiarsi con le femmine più grandi compenserebbe i costi dovuti spesso alla maggiore frequenza di interazioni aggressive con altri maschi per avere accesso alla stessa femmina (Bisazza & Marin 1995). In questo caso la dimensione delle femmine viene utilizzata come segnale qualitativo dai maschi anche se questo carattere non si è evidentemente evoluto per fornire informazioni relative alla qualità delle femmine stesse (rappresenta cioè un indizio e non un segnale).

6.2 LA RECETTIVITÀ

Un altro fattore importante che può influenzare la scelta maschile è la recettività delle femmine. I maschi infatti investono tempo ed energia inseguendo e corteggiando le femmine per accoppiarsi ma se la femmina non è recettiva, questo comportamento, costoso per il maschio, risulta in una ridotta probabilità di fecondare le uova della femmina. In una specie di camaleonte (*Chamaleo calypratus*) ad esempio è stato osservato che i maschi, quando viene data loro la possibilità di scegliere tra una femmina recettiva e una non recettiva aggiustano l'intensità del corteggiamento in relazione al livello di recettività della femmina stessa esibendosi più frequentemente in corteggiamenti e aumentando i tentativi di accoppiamento verso le femmine recettive (Kelso & Vervell, 2002). Tuttavia in alcuni casi i maschi non evitano le femmine non-recettive. Nel tentativo di massimizzare gli sforzi volti all'accoppiamento, i maschi modificherebbero il loro comportamento e investirebbero maggiormente verso le femmine con cui avranno una più alta probabilità di successo riproduttivo. Nella scelta della compagna quindi i maschi devono considerare, oltre che ai fattori esterni come ad esempio il rischio di predazione, la facilità di accesso alle risorse o il rapporto tra i sessi che a sua volta può influenzare la competizione sessuale, anche lo stato di recettività della femmina in quanto questo influisce direttamente sulla probabilità del maschio di accoppiarsi con successo o, nel caso di copule coercitive, di fecondare le uova se ovulazione e recettività sessuale coincidono. Infatti, in molte specie il periodo di recettività sessuale della femmina coincide con l'ovulazione ed è più

probabile per il maschio riuscire a fecondare un numero maggiore di uova anche nelle specie nelle quali gli spermatozoi rimangono vitali all'interno della femmine per periodi lunghi, come per esempio in molti insetti, rettili, uccelli e pesci a fecondazione interna.

La preferenza maschile quindi è rivolta preferenzialmente o verso le femmine vergini (quando cioè il loro set di uova è pronto per essere fecondato e i maschi risultano avere un chiaro vantaggio nell'essere i primi a fecondarle in termini di competizione spermatica e rischio di contrarre malattie sessualmente trasmissibili) oppure verso le femmine mature sessualmente recettive quando questo fattore correla con il momento dell'ovulazione. La preferenza maschile per le femmine vergini è stata evidenziata attraverso vari studi condotti su invertebrati come i ragni o negli insetti quali le farfalle o i coleotteri, ma esistono ancora poche evidenze per quel che riguarda i vertebrati (Seather *et al.*, 2001).

Per quel che riguarda più specificatamente i pecilidi, i maschi mostrano una forte preferenza per le femmine di grandi dimensioni (Herdman *et al.*, 2004), non familiari (Kelley *et al.*, 1999) e recettive (Guevara-Fiore *et al.*, 2010). Le femmine, avendo uno specifico ciclo riproduttivo, sono recettive o quando sono vergini o nella fase immediatamente successiva al parto per alcuni giorni (Liley & Wishlow, 1974). Il maschio quindi risulta essere avvantaggiato nella sua scelta se è in grado di distinguere le femmine vergini e recettive piuttosto che "sprecare" i suoi tentativi verso una femmina gravida (sessualmente non recettiva e lontana dal momento dell'ovulazione). A tal proposito è stato osservato che i maschi di *Poecilia reticulata* sono in grado di individuare le femmine recettive utilizzando come segnale un feromone che queste ultime emettono solo nella fase di recettività. Quando i maschi entrano in contatto con tali ormoni generalmente rispondono aumentando i loro sforzi riproduttivi in termini di corteggiamento rivolto verso le femmine che li hanno secreti (Crow & Liley, 1979).

Una serie di recenti ricerche condotte da Guevara-Fiore e i colleghi (2009; 2010) proprio sui maschi di *P. reticulata* hanno dimostrato che essi sono in grado di distinguere le femmine vergini dalle femmine gravide e quindi non recettive. In particolare i maschi mostrano un tasso di corteggiamento più intenso nei confronti delle femmine vergini mentre modificano la loro tattica nei confronti delle

femmine gravide aumentando solamente il numero di copule coercitive (i maschi di *P. reticulata*, come quelli di molte altre specie di pecilidi, possono adottare in modo intercambiabile due strategie di accoppiamento, una basata sul corteggiamento, nella quale la femmina coopera all'accoppiamento e una coercitiva, basata sulla capacità dei maschi di inseminare forzatamente la femmina utilizzando il lungo organo copulatore, sfruttando le ridotte dimensioni corporee e avvicinandosi furtivamente alle femmine (si veda la Parte 1 della sezione sperimentale). Inoltre i maschi investono maggiormente nell'interazione aggressiva con altri maschi quando si trovano in presenza di una femmina recettiva di cui percepiscono l'odore. Questa scelta sembra essere guidata quindi da una distinzione basata soprattutto sulle informazioni olfattive in quanto i maschi, quando viene data loro la possibilità di distinguere tra femmine recettive e non, simili per altre caratteristiche, in base alla sola componente visiva, non dimostrano una preferenza accentuata. La risposta risulta essere netta, invece quando i maschi hanno accesso ad una combinazione di entrambe le tipologie di informazione, olfattiva e visiva indicando come la scelta dipenda da un sistema di integrazione delle informazioni che i maschi mettono in atto rispetto alle possibili femmine con cui accoppiarsi. Questo costituisce un'ulteriore evidenza del fatto che la loro scelta non sia casuale.

6.3 GRUPPI DI FEMMINE DI NUMEROSITÀ DIFFERENTE

La famiglia Poeciliidae comprende specie gregarie ed è ragionevole pensare di conseguenza che i maschi incrementino il loro successo riproduttivo nel momento unendosi a gruppi in cui è presente un elevato numero di femmine. Il significato adattativo di questa preferenza è ovvio. Tuttavia, questa preferenza per essere esercitata richiede che i maschi possiedano le capacità cognitive numeriche necessarie per discriminare tra gruppi di diversa numerosità. È stato infatti dimostrato che nei maschi vi è la capacità di discriminare tra gruppi di femmine recettive da gruppi di femmine non recettive quando sia l'informazione visiva che olfattiva relativa a questi gruppi di femmine erano disponibili (Guevara-Fiore *et al.*, 2010). Tuttavia essendo stati posti a confronto gruppi della

stessa dimensione, mancano delle informazioni riguardanti il vantaggio selettivo derivante dalla capacità di selezionare per gruppi più o meno grandi di femmine. Queste capacità cognitive sono state studiate invece in dettaglio in *Gambusia holbrooki*, utilizzando sia i maschi che le femmine.

In uno studio condotto sulle femmine di *G. holbrooki* (Agrillo *et al.*, 2008 b) è stato dimostrato che le femmine di questa specie sono in grado di distinguere quale tra due gruppi di conspecifici sia quello più numeroso quando i gruppi posti a confronto differiscono tra loro di una unità fino ad un massimo di 4 individui. Oltre questo numero, il rapporto numerico tra i gruppi (ad esempio uno il doppio dell'altro) diventa il fattore fondamentale per la scelta. La capacità di distinguere tra gruppi più o meno grandi di conspecifici e quindi di poter riconoscere potenzialmente i gruppi contenenti un maggior numero di femmine, per quanto riguarda la scelta maschile, è risultata un'abilità cognitiva innata e la precisione di tale abilità aumenta con l'età e l'esperienza sociale (Bisazza *et al.*, 2010). Queste abilità cognitive legate alla discriminazione numerica sono state osservate, sostanzialmente conservate, in tutte le classi di vertebrati così come nei pesci anche nei mammiferi, negli uccelli e negli anfibi.

Si può ipotizzare che il successo riproduttivo di un maschio possa variare oltre che in relazione al numero di femmine presenti anche in base alla strategia riproduttiva adottata. A tal riguardo in uno studio condotto da Agrillo e colleghi (2008-a) in *Gambusia holbrooki* è stato osservato che la preferenza dei maschi in questa specie è rivolta verso il gruppo più numeroso quando viene data loro la possibilità di scegliere tra piccoli gruppi di femmine. La preferenza viene mantenuta verso gruppi costituiti da sole femmine quando la scelta avviene tra due gruppi costituiti dallo stesso numero di femmine ma in uno dei quali sono presenti anche dei maschi. Non si osserva invece alcuna preferenza significativa quando in presenza di uno stesso numero di femmine varia il numero di maschi presenti. In altri termini, in presenza di uno stesso numero di femmine i maschi non discriminano tra gruppi nei quali sono presenti altri maschi competitori in numero variabile e dal momento che in natura si osservano gruppi composti da un numero diverso di femmine è quindi plausibile che le strategie di scelta dei maschi siano state plasmate in senso adattativo. Dal momento che i maschi di

questa specie adottano una strategia di copula forzata con le femmine, non si può escludere che la preferenza sia rivolta verso gruppi con un numero maggiore di femmine dove il successo riproduttivo potrebbe aumentare senza dover imbattersi nei costi della competizione con altri maschi per l'accesso alle femmine.

7 OBIETTIVI DELLA RICERCA

Gli studi qui citati suggeriscono che vi siano diversi contesti in cui per maschi e femmine possa essere adattativo utilizzare delle strategie che portino ad una scelta rapida ed ottimale al fine di diminuire i costi della scelta stessa. Esperimenti condotti nell'ambito della psicologia delle decisioni hanno dimostrato che gli esseri umani spesso ricorrono a delle semplici euristiche quando si trovano a valutare più opzioni che variano per diversi caratteri anche se questa strategia spesso porta a scelte che violano i principi della razionalità. A tal riguardo nell'ultimo decennio in ambito etologico si è cominciata a considerare l'ipotesi che di fronte a numerose opzioni anche per un animale sia cognitivamente difficile utilizzare una strategia di valutazione assoluta per definire quale tra le opzioni sia la più rilevante. Dagli studi riguardanti i meccanismi che guidano il comportamento alimentare, è stato confermato che in questo contesto gli animali farebbero affidamento a meccanismi di scelta di tipo comparativo che consentirebbero loro di compiere una scelta ottimale ma che al tempo stesso richiederebbe un minor sforzo cognitivo dato dal confronto tra le varie opzioni in gioco sulla base di alcune caratteristiche più rilevanti. L'utilizzo di "scorciatoie" può permettere in molti casi una semplificazione del problema superando i limiti del *trade-off* tra velocità e accuratezza della scelta.

Non si può escludere tuttavia che simili strategie possano venire adottate anche in altri contesti ecologici. La scelta sessuale del partner rappresenta l'esempio di una situazione in cui un animale si trova a compiere delle scelte rapide, per evitare i costi di un mancato accoppiamento ma che al tempo stesso devono risultare vantaggiose in termini di successo riproduttivo.

La presente ricerca quindi si proponeva di indagare se, nell'ambito della scelta del partner sessuale, i limiti cognitivi che guidano la scelta siano gli stessi

osservati nella nostra specie. In particolare nella prima parte di questo lavoro si è voluto verificare se i limiti cognitivi nella scelta sessuale femminile in un piccolo pesce teleosteo di acqua dolce, *Poecilia reticulata*, possano essere ricondotti all'utilizzo di semplici strategie di tipo comparativo. La scelta del partner sessuale nelle femmine di questa specie infatti implica l'esame simultaneo di più caratteristiche morfologiche e comportamentali del maschio (colorazione arancio e iridescente, dimensioni, intensità del corteggiamento). Applicando un paradigma sperimentale ampiamente utilizzato nella letteratura in ambito economico e nella psicologia delle scelte, *l'asymmetrically dominated decoy*, ho indagato se la preferenza tra due maschi che differiscono per più tratti viene modificata in presenza di una terza opzione che dovrebbe essere irrilevante ai fini della scelta.

Inoltre, durante un periodo di ricerca svolto all'estero presso la Texas A&M University (College Station; Texas), sempre nell'ambito della scelta sessuale femminile ho condotto degli esperimenti preliminari utilizzando una specie affine *Xiphophorus birchmanni* e con il supporto di animazioni video editate al computer, si è voluto verificare se la scelta basata sulla valutazione contemporanea di caratteri sessuali multipli nei maschi sia comparabile in specie vicine filogeneticamente.

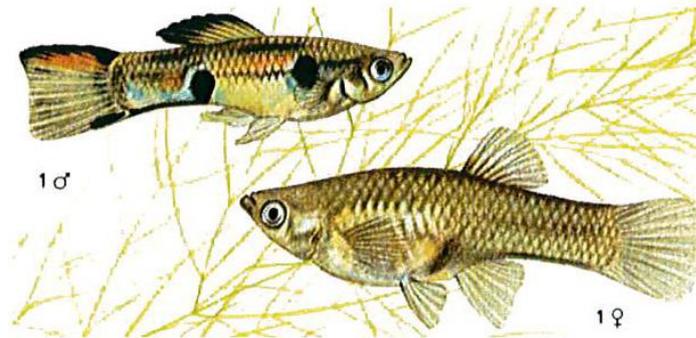
In un secondo momento l'attenzione è stata invece rivolta alle scelte sessuali maschili. In particolare si è voluto verificare se, in risposta al comportamento di scelta femminile, i maschi siano in grado di modificare a loro volta la loro strategia scegliendo il contesto migliore dove corteggiare la femmina. Se la valutazione femminile si basa su criteri di scelta comparativi, ci si aspetta che per un maschio sia più vantaggioso corteggiare una femmina che si trova in prossimità di maschi meno attraenti assicurandosi un aumento del successo riproduttivo.

Un ultimo studio infine era volto a verificare i meccanismi cognitivi che guidano la scelta sessuale nel maschio applicando un paradigma sperimentale simile a quello utilizzato nel primo studio. In particolare si intendeva studiare la preferenza del maschio tra due gruppi di femmine che variavano per due caratteristiche (la numerosità del gruppo e la dimensione delle femmine che lo componevano). L'obiettivo di questa parte del lavoro non è stato portato a termine

poiché, in una prima fase di analisi delle possibili caratteristiche che possono essere valutate dai maschi nella scelta delle femmine, i maschi di *Poecilia reticulata*, a differenza di altre specie prese in considerazione in precedenza in altri studi, non hanno dimostrato alcuna preferenza per gruppi di femmine di diversa numerosità nei quali invece si supponeva potessero avere un diverso successo riproduttivo. La parte conclusiva della ricerca quindi è orientata ad identificare le possibili spiegazioni per quanto riguarda le differenze interspecifiche nella preferenza per gruppi di diverse dimensioni.

PARTE SPERIMENTALE

1. BIOLOGIA DI POECILIA RETICULATA



TASSONOMIA:

ORDINE: Ciprinodontiformes

FAMIGLIA: Poeciliidae

GENERE: *Poecilia*

SPECIE. *Poecilia reticulata*

Fig. 1: Maschio (sopra) e femmina (sotto) adulti di *Poecilia reticulata*

1.1 CARATTERISTICHE GENERALI

Gli esemplari utilizzati come principale modello sperimentale negli esperimenti che verranno descritti in seguito appartengono alla specie *Poecilia reticulata* (**Fig. 1**). Si tratta di un piccolo pesce teleosteo di acqua dolce appartenente alla famiglia Poeciliidae costituita da un gruppo di pesci a fecondazione interna, vivipari e in cui i maschi sono caratterizzati da un organo copulatore, il gonopodio, che consente loro il trasferimento degli spermatozoi all'interno del gonodotto femminile. La famiglia Poeciliidae comprende 30 generi (i. e. *Gambusia*, *Girardinus*, *Xiphophorus*, *Poecilia* ecc.) e quasi 300 specie. Nello specifico il genere *Poecilia* comprende 43 specie (Parenti & Rauchenberger, 1989) che sono distribuite all'interno di un areale che si estende dal sud degli Stati Uniti al sud del Brasile occupando un *range* di habitat piuttosto diversificati (**Fig. 2**). Tra queste specie, *Poecilia reticulata*, è caratteristica delle isole di Trinidad e Tobago, della Guyana e del Venezuela ma è stata introdotta in tutto il mondo allo

scopo di controllare la diffusione delle zanzare e delle malattie ad essa legate dal momento che, in natura, questi pesci si nutrono anche delle larve di questi insetti. La popolazione presa in considerazione in questa ricerca proviene precisamente dal fiume Tacarigua, nell'isola di Trinidad. Questa specie è nota comunemente come “guppy” o “pesce milione” perché a causa della sua elevata prolificità è in grado di colonizzare e di adattarsi a diversi tipi di ambiente e proprio la notevole capacità di adattamento a diverse condizioni ambientali le consente di sopravvivere anche in condizioni dove il tasso di inquinamento è piuttosto elevato (Houde, 1997). L'habitat tipico di questa specie però comprende corsi d'acqua dolce (anche se è in grado di tollerare ampie variazioni di salinità) dove l'acqua è poco profonda, limpida e specialmente le zone prossime alle rive dove la vegetazione consente di ripararsi e dove il flusso è più lento e sono presenti meno predatori (Meffe & Snelson, 1989). La specie è presente, anche se in popolazioni di minori dimensioni, anche in fiumi dalla portata maggiore.

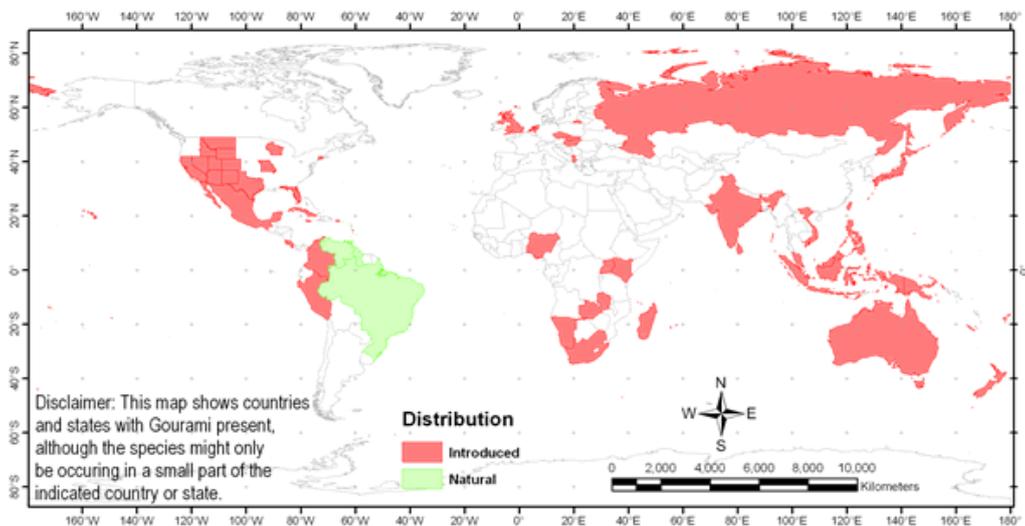


Fig. 2: Areale di distribuzione di *Poecilia reticulata*.

E' una specie onnivora: la sua dieta comprende principalmente larve di insetti e di altri invertebrati, vegetali (come alghe o piccole bacche cadute in acqua) e a volte i propri avannotti o quelli di altre specie di pesci (Dussault & Kramer, 1981) e a sua volta conta diversi predatori naturali che variano per

distribuzione geografica lungo il corso di uno stesso fiume. Questo significa che è possibile individuare zone con regimi diversi di predazione. Generalmente nella parte alta dei fiumi la pressione predatoria è più bassa e *P. reticulata* condivide l'habitat con predatori meno pericolosi mentre nella parte bassa dei fiumi i predatori sono più abbondanti. La popolazione utilizzata negli esperimenti di seguito descritti, proviene nello specifico dalla parte bassa del fiume Tacarigua caratterizzata appunto da una elevata pressione predatoria che rappresenta uno dei fattori che maggiormente influisce su numerosi aspetti della biologia di *P. reticulata* e in particolar modo sia sulla scelta sessuale del partner da parte delle femmine, sia sul comportamento sessuale dei maschi e sul mantenimento della variabilità fenotipica delle loro livree (Magurran, 2005). *P. reticulata* è caratterizzata infatti da un marcato dimorfismo sessuale: le femmine sono generalmente più grandi del maschio, presentano un tasso di accrescimento continuo cioè un aumento di dimensioni costante durante tutto il corso della vita dell'animale, e da una colorazione grigio verde che permette loro di mimetizzarsi facilmente sul fondale. Sono contraddistinte da una macchia nera in corrispondenza della regione anale e da un annerimento a livello del bordo delle squame che conferisce loro il tipico aspetto "a rete" da cui deriva il nome della specie. I maschi invece sono di dimensioni ridotte rispetto alle femmine e presentano una livrea fortemente colorata con macchie che variano per numero forma e dimensioni e che sono distinguibili in tre tipologie principali: macchie a carotenoidi (di colore variabile tra il rosso, l'arancione e il giallo), macchie melaniche (nere) e macchie iridescenti (con sfumature verdi, blu e viola). La colorazione maschile ha una forte componente genetica e presenta una grande variabilità individuale. I geni che sono responsabili del *color pattern* di ciascun individuo o almeno buona parte di essi, sono localizzati sul cromosoma Y e mostrano una forte ereditabilità paterna (Postma *et al.*, 2011). L'intensità della colorazione invece è estremamente variabile a livello di popolazione e dipende sia dalla condizione di salute del maschio (capacità di foraggiamento, stato di stress ecc.) sia, come precedentemente accennato, dalla diversa pressione predatoria locale (Endler, 1980; 1983; 1987; 1991). Ad esempio un maschio con una

colorazione intensa sarà quindi più svantaggiato in un ambiente ad alto rischio di predazione perché facilmente individuabile dai predatori stessi.

1. 2 BIOLOGIA RIPRODUTTIVA

Poecilia reticulata è una specie ovovivipara, lecitotrofica e a fecondazione interna e il ciclo riproduttivo è continuo durante tutto l'anno (Constanz, 1989). L'assetto cromosomico è costituito da 23 cromosomi e il sesso eterogametico (XY) è quello maschile (Magurran, 2005).

IL MASCHIO

I maschi di questa specie, si differenziano dalle femmine oltre che per la diversità nella colorazione della livrea e nelle dimensioni anche per la presenza di una struttura chiamata gonopodio, attraverso il quale avviene il trasferimento degli spermatozoi. Il gonopodio deriva da una modificazione della pinna anale i cui ultimi tre raggi subiscono un ispessimento per poi allungarsi e formare un canale attraverso cui, durante la copula, viene trasferito l'ejaculato direttamente nel gonoporo femminile. La differenziazione e il successivo sviluppo del gonopodio comincia a cinque-sei settimane di età in corrispondenza della comparsa delle prime macchie colorate a livello della livrea (Constanz, 1989; Rosen & Bailey, 1963). Il gonopodio è dotato di strutture accessorie (**Fig. 3**): sul lato ventrale è presente una protuberanza chiamata *hood* costituita da un piccolo rigonfiamento che si estende oltre l'estremità del gonopodio una volta che l'individuo ha raggiunto la maturità sessuale. Questa protuberanza sembra avere una funzione sensoriale (Clark & Aronson, 1951; Constanz, 1989) e anche se non sembra essenziale per il successo finale dell'inseminazione, solamente quando l'*hood* si è sviluppato completamente e ha superato in lunghezza la punta del gonopodio, i maschi sono in grado di trasferire con successo gli spermatozoi alla femmina. Sul gonopodio sono inoltre presenti, nella zona mediano-distale, una serie di piccole strutture uncinate (*hooks*) che hanno la probabile funzione di facilitare l'aggancio del maschio alla femmina durante la copula (Houde, 1997). Per quanto riguarda

gli spermatozoi, questi si trovano raggruppati in pacchetti spermatici detti spermatozeugmata (o *sperm bundles*), che vengono prodotti nelle gonadi del maschio e poi immagazzinati nel canale testicolare. Sono costituiti da gruppi di spermi mantenuti uniti da una matrice gelatinosa costituita per lo più da mucine. Le *sperm bundles* misurano tra 135 e 235 μm e contengono circa 27,000 spermi (Billard, 1969) i quali presentano le teste rivolte verso l'esterno e le code verso l'interno della spermatozeugma (Kuckuck & Greven, 1997). La produzione di spermi e altri aspetti qualitativi come la velocità in vitro sono influenzati positivamente dalla presenza delle femmine (Bozynski & Liley, 2003; Gasparini *et al.*, 2009).

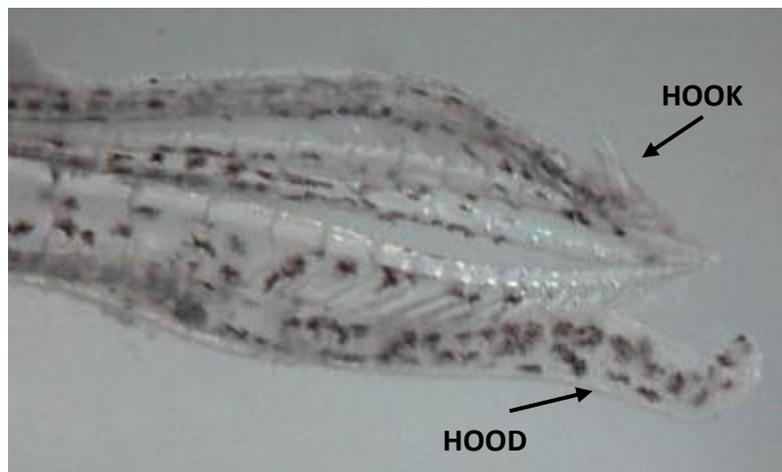


Fig. 3: gonopodio di un maschio sessualmente maturo in cui si distinguono, completamente sviluppate, le strutture dell' *hook* e dell'*hood*.

LA FEMMINA

La differenziazione morfologica esterna tra maschi e femmine comincia ad essere evidente intorno alla quarta settimana dalla nascita quando nelle femmine, a livello della regione anale, compare una caratteristica macchia nera che viene utilizzata come parametro distintivo tra i due sessi (Houde, 1997). La parte terminale dell'apparato urogenitale femminile è costituita da una papilla carnosa che, al momento dell'accoppiamento, viene spostata dal gonopodio del maschio e al di sotto della quale è presente il gonoporo da cui si diparte un corto gonodotto,

estroflessione dell'ovario. Una volta che il maschio ha trasferito gli spermatozoi, questi possono essere conservati per mesi nel gonodotto o tra le pliche dell'ovario (Constanz, 1989) ricevendo nutrimento principalmente tramite zuccheri extracellulari prodotti dai tessuti ovarici stessi (Gardiner, 1978). In questo modo la femmina, mantenendo vitali gli spermatozoi, può fecondare le proprie uova al momento più opportuno partorendo più figliate anche in assenza dei maschi. Il numero di piccoli nati in seguito a queste figliate multiple, diminuisce con il passare del tempo e per questa ragione, le femmine nel fecondare le uova, danno la precedenza agli spermatozoi più recenti aumentando il successo di fecondazione (Houde, 1997; Winge, 1937). Il numero di avannotti partoriti è estremamente variabile (tra 1 e 50 avannotti) e dal momento che il tempo che intercorre tra un parto e il successivo è molto breve (un mese circa) è facilmente intuibile come il potenziale riproduttivo di questa specie sia enorme.

Una volta avvenuta la fecondazione, gli embrioni si sviluppano all'interno della madre fino allo sviluppo completo che termina con il riassorbimento del sacco vitellino e alla nascita i piccoli sono quindi completamente indipendenti. Dopo il parto, un nuovo set di uova giunge a maturazione ed è pronto per essere fecondato. Le femmine sono recettive sessualmente solo quando sono vergini oppure nei 2-3 giorni successivi al parto, in corrispondenza dell'ovulazione (Liley, 1966). Durante questo periodo le femmine sono solite accoppiarsi con più maschi dando origine a figliate con paternità multipla (Hain & Neff, 2007; Neff *et al.*, 2008).

1. 3 COMPORTAMENTO SESSUALE

Poecilia reticulata è caratterizzata da un alto livello di promiscuità sessuale, sia maschile sia femminile, per cui ciascun individuo si accoppia con più individui del sesso opposto. Non avendo un sistema nuziale basato su benefici diretti (doni nuziali o cure parentali) i maschi contribuiscono alla riproduzione solamente con il trasferimento degli spermatozoi. La diversità nelle strategie di accoppiamento adottate hanno quindi una forte componente sul comportamento di maschi e femmine che risulta essere estremamente diverso.

COMPORAMENTO SESSUALE MASCHILE

Dal momento che il sistema nuziale è promiscuo e non prevede doni nuziali, comportamenti di difesa del territorio o delle risorse e cure parentali ne consegue che le femmine ricevano dai maschi durante l'accoppiamento solamente il contributo genetico dei gameti. Di scarso rilievo è la competizione maschile, infatti le interazioni aggressive tra i rivali si riducono generalmente al *mate-guarding* della compagna (cioè i maschi continuano a stare in prossimità della femmina con cui si sono appena accoppiati per evitare che si accoppi successivamente con altri maschi) o allo scacciare l'avversario che si intromette durante un'esibizione di corteggiamento già in corso (Liley, 1966; Houde, 1997). I maschi piuttosto investono la maggior parte del loro tempo in tentativi di accoppiamento verso le femmine (Magurran, 2005). I maschi sessualmente maturi di *P. reticulata* mettono in atto due tattiche riproduttive alternative: il corteggiamento (*sigmoid display* o semplicemente *display*) seguito da accoppiamento cooperativo e le copule coercitive attraverso il *gonopodial thrust* (GT).

Il corteggiamento della femmina da parte del maschio si può descrivere in diverse fasi (**Fig. 4**). Inizialmente, il maschio insegue la femmina finché non riesce a porsi all'interno del suo campo visivo, inarca il proprio corpo e assume una caratteristica forma ad "S" (da cui il nome *sigmoid display*), in modo da mettere bene in evidenza la colorazione della propria livrea ed inoltre allarga la coda, estende ed innalza la pinna dorsale e mediante contrazioni ritmiche della muscolatura corporea, vibra davanti alla potenziale compagna, spesso compiendo un giro su stesso per meglio far risaltare la livrea di entrambi i lati del corpo. Nel corso di questa esibizione le dimensioni delle macchie melaniche (nere) aumentano così come le strisce nere intorno alle macchie arancioni tendono ad aumentare di spessore (Baerends *et al.*, 1955), facendole risultare più grandi. Se la femmina a cui è rivolto il corteggiamento è sessualmente recettiva e accetta di accoppiarsi con il maschio, essa risponde al corteggiamento: inclina il corpo, si accosta leggermente al maschio (*gliding*) e si dispone parallelamente a lui. A questo punto seguono rapide rotazioni dei partner l'uno intorno all'altro e avviene

la copula vera e propria durante la quale il maschio trasferisce gli spermatozoi e al termine della quale la coppia si separa bruscamente. La durata della copula e di conseguenza la quantità di spermatozoi trasferiti dal maschio è correlata, almeno in parte alla preferenza della femmina per cui in genere maschi più colorati e quindi preferiti, riescono a trasferire un numero maggiore di spermatozoi (Pilastro *et al.*, 2007). Se la femmina non è recettiva, viceversa, cerca di ignorare il maschio o di allontanarlo in modo tale che il tentativo di corteggiamento si concluda.

Ad accoppiamento avvenuto, il maschio manifesta un comportamento caratteristico: rimanendo nelle vicinanze della compagna, rilassa le pinne ed effettua dei piccoli saltelli detti *jerks* la cui durata e frequenza sono variabili e calano nel tempo. Questo comportamento sembra essere legato al trasferimento degli spermatozoi e sembra essere un indice del successo della copula (Liley, 1966). Il numero di *jerks* eseguiti dal maschio infatti correla con il numero di spermatozoi trasferiti (Pilastro *et al.*, 2008). Il *jerking* è un comportamento caratteristico dei guppies, perchè in altre specie appartenenti alla famiglia Poeciliidae questo comportamento non si osserva. Il suo ruolo tuttavia è ancora poco chiaro in quanto si tratta di un comportamento molto vistoso e che aumenta il rischio di visibilità del maschio ai predatori (Pocklington & Dill, 1995).

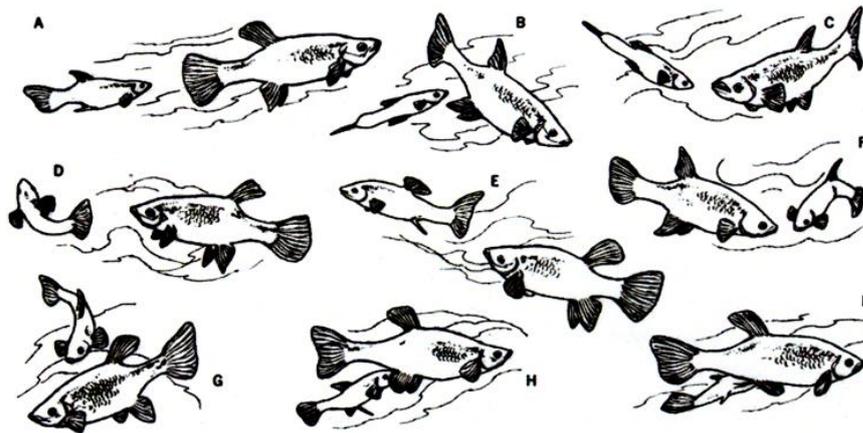


Fig. 4: schematizzazione del corteggiamento e del successivo accoppiamento cooperativo in *P. reticulata*. A e B: inseguimento della femmina; C, D, E e F: corteggiamento; G, H e I: tentativi di copula.

La copula coercitiva o *sneaky* invece viene adottata dai maschi soprattutto quando le femmine non sono nella fase recettiva del ciclo riproduttivo o quando esse non accettano il corteggiamento. Il maschio allora tenta di inseminarle forzatamente e avvicinandosi da un'angolazione che non rientra nel loro campo visivo inserisce il gonopodio nel gonoporo (*gonopodial thrust* o GT) (Fig. 5).

Questo comportamento ha più successo quando, per esempio, la femmina è impegnata a procurarsi il cibo, è spaventata o addirittura mentre risponde al corteggiamento di un altro maschio (Houde, 1997). La maggior parte dei tentativi di accoppiamento coercitivo però non si concludono con il trasferimento di spermatozoi ma anche in questo caso l'effettiva riuscita della copula è identificabile con i *jerks* eseguiti da parte del maschio.

Il successo delle due tattiche è diverso sia in termini di riuscita della copula (il successo di inseminazione dell'accoppiamento cooperativo è circa tre volte superiore a quello ottenuto con la copula coercitiva) (Pilastro & Bisazza, 1999; Matthews & Magurran, 2000) che nel numero di spermatozoi trasferiti (Pilastro & Bisazza, 1999). Entrambe le strategie però possono essere utilizzate dallo stesso individuo in successione ma la scelta tra le due è determinata da diversi fattori, sia comportamentali che ambientali anche se vi sono marcate differenze sia individuali che a livello di popolazione nella frequenza con cui vengono utilizzate (Magurran & Seghers, 1990; Luyten & Liley, 1985). Ad esempio un'alta pressione predatoria implica che i maschi effettuino più frequentemente le copule coercitive; i *display* infatti aumentano il rischio di essere individuati dai predatori e dal momento che le femmine investono del tempo nel tentativo di evitarli, i maschi, adottando una strategia di copula forzata aumentano la loro probabilità di successo (Evans *et al.*, 2002). Similmente individui di piccole dimensioni e/o poco colorati e quindi meno attraenti per le femmine, adottano più frequentemente la strategia del GT (Bisazza & Pilastro, 1997; Pilastro & Bisazza, 1999) per ovviare allo scarso successo che otterrebbero eseguendo dei *display* in presenza di maschi più colorati. Anche una scarsa visibilità (trasparenza dell'acqua) è uno dei fattori che aumentano la frequenza degli accoppiamenti coercitivi. Dato che i colori dei maschi risultano meno visibili, nell'acqua torbida, diminuisce la probabilità di una buona riuscita di un *display* e aumenta di conseguenza la

possibilità di riuscita di un GT (Luyten & Liley, 1991). La stessa recettività della femmina comunque induce i maschi ad adottare preferenzialmente una o l'altra tattica: il corteggiamento quando sono recettive o i GT quando non lo sono (Houde, 1997).

In generale, siccome il *display* risulta essere molto costoso in termini di tempo ed energia spesa, il GT viene spesso preferito anche in relazione alle condizioni di salute del maschio e alla disponibilità di risorse. Ad esempio in caso di scarsità di cibo questa tattica viene ovviamente favorita (Abrahamas, 1993).

In generale comunque la preferenza maschile è rivolta verso le femmine di maggiori dimensioni poiché nei pesci, le dimensioni del corpo correlano positivamente con la fecondità della femmina (Charnov, 1993; Wootton, 1990). E' stato dimostrato in *P. reticulata* (Herdman *et al*, 2004) che le femmine più grandi oltre a produrre un numero maggiore di piccoli e di miglior qualità (Berkeley *et al.*, 2004) producono figlie di paternità multipla a dimostrazione che i maschi preferiscono accoppiarsi con queste ultime piuttosto che con femmine giovani, più piccole e quindi meno feconde. In generale comunque i maschi che incontrano una femmina recettiva, soprattutto in assenza di altri individui, solo raramente non adottano la tattica del corteggiamento. La presenza di maschi rivali aumenta l'utilizzo delle copule forzate (Matthews, 1998) e in natura o in acquari in cui siano presenti femmine non recettive, è stato stimato che una femmina subisce un tentativo di copula al minuto per tutta la sua vita (Magurran & Seghers, 1994) sottolineando come l'efficacia della strategia utilizzata sia strettamente legata al contesto.

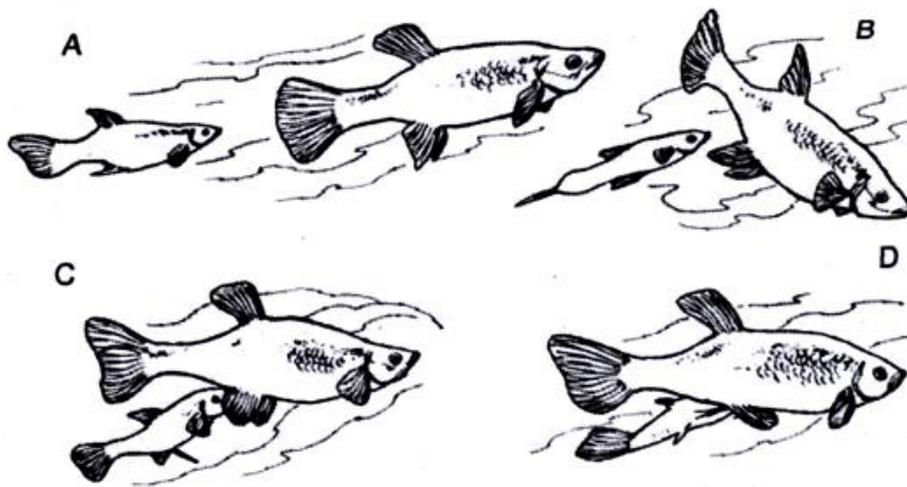


Fig. 5: accoppiamento coercitivo in *P. reticulata*. A e B: inseguimento della femmina; C e D: tentativo di copula.

COMPORAMENTO SESSUALE FEMMINILE

La scelta femminile ha sicuramente un ruolo fondamentale nel determinare il successo riproduttivo dei maschi ma dal punto di vista femminile rappresenta un costo per la femmina che deve sottrarre tempo ad altre attività come ad esempio la ricerca del cibo (*trade-off* fra tempo dedicato alla ricerca del cibo e tempo dedicato alla ricerca di partner sessuali, Magurran & Seghers, 1994) e si espone ad un maggior rischio di predazione (le femmine non possono contemporaneamente prestare attenzione ai predatori e ai continui tentativi di copula da parte dei maschi) (Magurran & Nowak, 1991). Considerato che le femmine mostrano di preferire alcuni maschi rispetto ad altri e non ottengono nessuna risorsa materiale da questi, è plausibile che esse ottengano benefici di tipo indiretto (genetici) dalla scelta del partner tali da compensare i costi che derivano dai tentativi di accoppiamento multipli che subiscono. I criteri di cui si avvalgono le femmine per la loro scelta si basano su diversi fattori ma la colorazione del maschio sembra essere di primaria importanza (Endler & Houde 1995; Evans *et al.*, 2004). Le femmine infatti mostrano una spiccata preferenza per i maschi con un'estesa colorazione arancione (Pilastro *et al.*, 2004), che potrebbe essersi originariamente sviluppata attraverso un meccanismo di *sensory bias* secondo il

quale le macchie arancioni dei maschi ricorderebbero alla femmina il colore dei frutti arancioni ad elevato valore nutritivo che occasionalmente cadono nei corsi d'acqua (Rodd *et al.*, 2002). In realtà gli individui con estese macchie arancioni sarebbero preferiti perché queste sono considerate un segnale onesto della condizione del maschio in quanto solo i maschi in buona salute, con un buon sistema immunitario e maggiormente capaci di reperire cibo sono in grado di esibire e mantenere una colorazione arancione brillante (Houde, 1997; Brooks & Endler, 2001), dato che i carotenoidi non sono sintetizzabili dall'organismo e devono essere assunti attraverso la dieta (Kodric-Brown, 1985). Inoltre data l'elevata ereditabilità paterna dei geni associati all'espressione della colorazione nei maschi, i figli di maschi attraenti verranno a loro volta scelti con maggior frequenza dalle femmine, ottenendo un maggior successo riproduttivo (Brooks, 2000). L'estensione delle macchie arancioni inoltre correla con la qualità dell'eiaculato (Locatello *et al.*, 2006), dimostrando come questa sia anche indice della qualità dei tratti post-copulatori dei maschi. Le femmine, utilizzando questo segnale come criterio per scegliere il partner, hanno quindi maggiori probabilità di produrre una prole di migliore qualità genetica. Sono preferiti anche quei maschi che hanno caratteristiche fenotipiche rare; il vantaggio consiste nel diminuire i costi dovuti all'*inbreeding* (Zajitschek *et al.*, 2006; Zajitschek & Brooks, 2008): le femmine, in successivi cicli riproduttivi, tendono a non accoppiarsi con gli stessi maschi ma preferiscono piuttosto cambiare partner (Becher & Magurran, 2004) o accoppiarsi con un maschio dal fenotipo raro diminuendo la probabilità che questo sia imparentato con loro (Hughes *et al.*, 1999). I cambiamenti nella scelta però potrebbero essere dovuti anche al fatto che le femmine più giovani ed inesperte imitano le scelte effettuate dalle femmine più anziane e con più esperienza (Dugatkin & Godin, 1993), oppure che nel tempo cambiano le loro preferenze e a tal proposito è stato osservato che femmine vergini dell'età di sei o dodici mesi mostrano preferenze diverse per gli ornamenti maschili (Kodric-Brown & Nicoletto, 2001). Le femmine comunque tendono ad accoppiarsi con il primo maschio che incontrano per ogni ciclo riproduttivo (presumibilmente per ottenere una quantità di spermatozoi sufficiente a fecondare tutte le loro uova), e diventano poi più selettive in accoppiamenti successivi: dopo una prima copula, la

probabilità che la femmina si accoppi con un nuovo maschio è direttamente proporzionale alla qualità del maschio stesso (Pitcher *et al.*, 2003). Dato pertanto che gli accoppiamenti multipli in guppy non sono simultanei ma sequenziali, la poliandria può essere un mezzo per migliorare la qualità del maschio che feconderà le uova della femmina. Dal momento che gli ultimi spermatozoi trasferiti vengono utilizzati preferenzialmente per fecondare le uova, il primo accoppiamento casuale eviterebbe solo alla femmina di pagare il costo di ritardare l'inizio della riproduzione (Pitcher *et al.*, 2003).

Anche il tasso di corteggiamento esibito da un maschio è una caratteristica considerata nella scelta femminile. I maschi infatti si espongono maggiormente ai rischi di predazione nel tentativo di ottenere una risposta cooperativa da parte delle femmine esibendosi nei *display* e quindi solo i maschi in migliori condizioni sono in grado di sfuggire ai predatori nel tentativo di massimizzare gli sforzi volti all'accoppiamento (Nicoletto, 1993; Farr, 1980).

Analogamente, la dimensione corporea del maschio può guidare la scelta femminile, dal momento che è stato riscontrato che in alcune popolazioni le femmine preferiscono i maschi di taglia superiore o dalle code più lunghe (Reynold & Gross, 1992; Endler & Houde, 1995).

SELEZIONE SESSUALE POST-COPULATORIA

Poecilia reticulata è una specie caratterizzata da un elevato tasso di promiscuità sessuale determinato dal fatto che le femmine si accoppiano attivamente con più maschi e che questi riescono inoltre ad ottenere copule forzate con una certa frequenza. Gli accoppiamenti multipli sono molto frequenti, in particolare nelle popolazioni soggette ad un'elevata pressione predatoria e si riflettono nella paternità multipla della prole di una stessa figliata (Becher & Magurran, 2004). Come conseguenza dell'elevata promiscuità in questa specie la selezione sessuale opera anche a livello post-copulatorio.

E' presente una spiccata competizione spermatica secondo la quale gli spermatozoi di due o più maschi competono per fecondare uno stesso set di uova alla quale consegue una frequente paternità multipla della prole (Magurran, 2005).

Parallelamente anche la preferenza femminile espressa verso un maschio a livello pre-copulatorio può comunque essere mantenuta a livello post-copulatorio (selezione direzionale). Se ad esempio l'estensione delle macchie a carotenoidi è favorita in fase pre-copulatoria è probabile che tale preferenza sia associata anche a livello post-copulatorio secondo i parametri che correlano positivamente con la qualità del maschio, quali la quantità delle riserve spermatiche (Matthews *et al.*, 1997; Pilastro & Bisazza, 1999) o con altri aspetti qualitativi quali la velocità e la vitalità degli spermatozoi prodotti (Locatello *et al.*, 2006, Boschetto *et al.*, 2011). In *P. reticulata* comunque sono ancora poco noti alcuni aspetti che concernono la selezione post-copulatoria non direzionale per cui se nella selezione direzionale la scelta criptica femminile si basa sugli stessi criteri assoluti di selezione del maschio a livello pre-copulatorio, dall'altro lato se la selezione non fosse direzionale, le femmine potrebbero invece favorire gli spermatozoi di maschi genotipicamente compatibili. La poliandria quindi si sarebbe evoluta nel tentativo di evitare gli effetti negativi sulla fitness che deriverebbero dall'accoppiamento con maschi imparentati e la scelta criptica femminile non sarebbe quindi influenzata dalle caratteristiche del maschio di per sé, ma piuttosto dipenderebbe da un confronto delle caratteristiche della coppia a livello genetico. Le ricerche in questo campo comunque sono ancora scarse e sembrano dimostrare che la selezione direzionale è più forte di quella non direzionale in *P. reticulata* (Evans *et al.*, 2008; Gasparini & Pilastro, 2011).

2 Parte 1: VALUTAZIONE COMPARATIVA NELLA SCELTA SESSUALE FEMMINILE IN *Poecilia reticulata*

2. 1 STRATEGIE DI SCELTA COMPARATIVA E SCELTA SESSUALE

Fino a questo momento, per quanto riguarda la scelta del partner sessuale in ambito animale, la ricerca si è occupata quasi esclusivamente di identificare quali caratteri maschili vengano preferiti dalle femmine e i vantaggi selettivi che essi potrebbero comportare (Gibson & Langen, 1996). Per contro i meccanismi cognitivi implicati nella scelta e gli effetti dei limiti cognitivi sulla fitness dei maschi e delle femmine stesse sono stati finora sostanzialmente ignorati, ad eccezione di due studi (Royle *et al.*, 2008; Reaney, 2009) in cui in modo analogo agli studi condotti in altri contesti (foraggiamento), per verificare l'irrazionalità della scelta sessuale si è ricorsi al paradigma sperimentale dell'ADD.

Nella ricerca condotta da Reaney (2009) ad esempio è stato osservato che la preferenza femminile nel granchio violinista, *Uca mjoebergi*, è rivolta principalmente verso i maschi con chele di maggiori dimensioni e con una elevata frequenza di movimento della chela stessa. In questo specifico caso sono stati utilizzati come stimoli dei bracci meccanici che, muovendosi, simulavano una chela variabile per dimensioni e frequenza di movimento. In due successivi test di scelta spontanea, le femmine potevano scegliere prima tra una chela di maggiori dimensioni e una che si muoveva più velocemente per poi, nella seconda prova, scegliere tra queste stesse due in presenza di un terzo stimolo *decoy* relativo alla chela di maggiori dimensioni. Il *decoy* ha l'effetto di aumentare significativamente la preferenza femminile per lo stimolo con la chela più grande rispetto allo stimolo che si muove con una frequenza più alta. Questo risultato sembra accordarsi con quanto osservato in natura durante la stagione degli accoppiamenti in cui può capitare che più maschi corteggino contemporaneamente le femmine e il movimento delle loro chele sia sincronizzato. Le femmine quindi non riuscirebbero a fare una distinzione per la frequenza del movimento ma farebbero piuttosto una scelta più fine basata sulla grandezza delle chele. Vista

l'elevata variabilità per questi due tratti, le femmine si troverebbero a valutare, in un sistema di segnali complesso, ciascun tratto singolarmente e il criterio di scelta di conseguenza risulterebbe fondamentale nelle dinamiche del comportamento sessuale in questa specie. Se le femmine adotteranno una strategia comparativa per valutare e infine scegliere il proprio partner, il contesto nel quale la scelta viene effettuata e l'esperienza passata potrebbero essere condizioni fondamentali nel processo di valutazione.

Per quanto riguarda l'importanza del contesto nel quale viene effettuata una scelta, Royle e collaboratori (2008), utilizzando il pecilide *Xiphophorus helleri* come modello sperimentale, hanno dimostrato come questo fattore effettivamente sia legato a meccanismi di scelta comparativi coinvolti nella scelta femminile stessa. In questa specie le femmine utilizzano molteplici caratteri maschili come parametro per la scelta sessuale ed in particolare la dimensione corporea dei maschi e la lunghezza della spada, caratteristica modificazione della pinna caudale presente nei soli maschi. Anche in questo caso, l'aggiunta di un terzo maschio *decoy* alle opzioni principali tra cui scegliere (maschi di grandi dimensioni ma con la spada corta oppure maschi di piccole dimensioni ma con la spada lunga) sposta la preferenza rispetto a quella dimostrata per un determinato fenotipo in un test di scelta binaria. Anche se la scelta femminile sembra essere comparativa in questa specie e dipendente dal contesto, l'effetto del *decoy* non risulta quello previsto. I soggetti, diversamente da quanto atteso, diminuiscono anziché aumentare la propria preferenza verso il maschio inizialmente preferito in presenza del rispettivo *decoy*, dimostrando piuttosto una diluizione della preferenza in presenza di un nuovo maschio che presenta un fenotipo nuovo, raro. Gli autori di questa ricerca per interpretare i risultati, suggeriscono che le femmine ,per mantenere la variabilità genetica propria della specie, sceglierebbero i maschi che presentano caratteri rari così come è stato riportato ad esempio in *Poecilia reticulata* (Brooks, 2002).

Entrambi questi studi presentano degli aspetti metodologici che rendono difficile l'interpretazione dei risultati. In Reaney (2009), sono infatti stati utilizzati come stimoli dei modelli robotici e un solo tipo di *decoy*. Nel secondo studio (Royle *et al.*, 2008) invece sono stati utilizzati maschi stimolo la cui lunghezza

totale era mantenuta costante. Variando la lunghezza relativa del corpo o della spada, si ottengono così stimoli che hanno una “forma” globale diversa, modificando quindi anche una terza proprietà rispetto alle due già manipolate sperimentalmente. Allo stato attuale in che misura la valutazione comparativa giochi un ruolo nella scelta sessuale femminile rimane ancora poco chiaro.

Nel tentativo di comprendere come i limiti cognitivi influenzino le scelte sessuali femminili in *Poecilia reticulata*, nella prima parte del mio studio ho verificato se nelle femmine la preferenza sessuale sia espressa indipendentemente dalla presenza di maschi con caratteristiche fenotipiche che dovrebbero essere irrilevanti nella scelta se questa fosse basata su criteri di valutazione razionali.

Ho condotto quindi un primo esperimento volto a verificare se nelle femmine della popolazione specifica presa in esame la preferenza sessuale verso un particolare maschio fosse consistente nel tempo.

Per questo a ciascuna femmina posta in una vasca sperimentale veniva data la possibilità di scegliere tra due maschi adulti posizionati in due settori diametralmente opposti tra loro all’interno della vasca in cui si trovava la femmina stessa. Per verificare se la misura della preferenza sessuale sia costante entro la stessa femmina, il test è stato ripetuto due volte per ciascun soggetto utilizzando gli stessi maschi stimolo e correlando poi la risposta dei soggetti nei due diversi test.

Verificare la ripetibilità della scelta mi ha consentito di proseguire con il secondo esperimento per verificare se la scelta femminile sia indipendente dalla presenza di alternative irrilevanti. Se la scelta tra due opzioni è consistente nel tempo e la presenza di una terza opzione irrilevante influisce sulla scelta iniziale, si fornirebbe una prima evidenza dell’utilizzo di strategie di scelta comparative nella scelta sessuale in *P. reticulata* secondo gli stessi limiti cognitivi dimostrati dall’uomo. Ho quindi utilizzato il paradigma sperimentale dell’ADD. Come precedentemente detto, maschi di questa specie sono caratterizzati da una elevata diversità nei caratteri sessuali secondari in particolare per quanto riguarda le dimensioni corporee, l’intensità del corteggiamento ma soprattutto nella colorazione della livrea e le femmine tendono a preferire nell’accoppiamento i maschi in cui queste caratteristiche sono più spiccate (Houde, 1997). Mentre

colorazione, taglia corporea e corteggiamento tendono a covariare, le due componenti della colorazione arancio e iridescente variano tra loro in modo indipendente (vi sono cioè maschi con macchie arancioni estese e macchie iridescenti ridotte e viceversa). Sono stati quindi selezionati quattro gruppi di maschi stimolo sulla base della colorazione arancio e iridescente della livrea: maschi che presentavano una estesa colorazione arancio ma una ridotta colorazione iridescente (A); maschi che presentavano una estesa colorazione iridescente e una ridotta colorazione arancio (I), e i loro rispettivi *decoy*, (D_A e D_I). La preferenza sessuale femminile è stata misurata in tre prove sequenziali: 1) test di scelta binaria A vs. I, 2) test di scelta trinatoria (utilizzando gli stessi maschi stimolo A e I), in presenza del *decoy* D_A e 3) in presenza del *decoy* D_I . In ciascuna prova la preferenza espressa da ciascuna femmina è stata calcolata come di tempo che la femmina trascorrevva in prossimità dello stimolo A rispetto al tempo trascorso in prossimità del maschio I e degli altri stimoli.

2.2 MATERIALI E METODI

Esperimento 1: ripetibilità della scelta femminile

SOGGETTI

Gli esemplari di *Poecilia reticulata* utilizzati negli esperimenti sono stati allevati presso il Dipartimento di Biologia dell'Università degli studi di Padova in vasche da 70 litri. Queste vasche, dette vasche stock, sono state allestite in modo da riprodurre un ambiente il più possibile simile al loro ambiente naturale di provenienza. Per tale motivo è stato disposto sul fondo della vasca un sottile strato di ghiaio multicolore e della vegetazione sia naturale, come ad esempio il muschio *Vesicularia dubyana*, sia artificiale. L'acqua è stata mantenuta a una temperatura costante di $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ed è stato predisposto un sistema di luci fitostimolanti secondo un fotoperiodo di dodici ore, dalle 8.00 alle 20.00. Le vasche erano dotate di un sistema di filtraggio dell'acqua e venivano pulite

periodicamente o all'occorrenza. I pesci venivano quotidianamente alimentati, il cibo veniva somministrato due volte al giorno, al mattino e al pomeriggio, alternando cibo secco per pesci tropicali (Duplarin) a nauplii vivi di *Artemia salina*.

Sono state utilizzate per gli esperimenti un totale di 17 femmine adulte *post-partum* selezionate dalle vasche stock e che, nei giorni antecedenti al parto, venivano trasferite in vaschette singole (11x18x28 cm) e monitorate tre volte al giorno per stabilire con precisione la data del parto. Il giorno successivo al parto le femmine venivano spostate in una vasca d'ambientamento dove sono state ricreate le stesse condizioni dell'apparato sperimentale (si veda sotto). I maschi stimolo venivano scelti dalle vasche stock casualmente e isolati nelle 24 ore precedenti al test.

APPARATO SPERIMENTALE

L'apparato sperimentale era costituito da una vasca quadrata (68x68x36 cm di altezza) (Fig. 6) suddivisa al suo interno in cinque diversi settori: un settore centrale, in cui veniva inserita la femmina oggetto del test (53x53x36 cm) e quattro settori posti ciascuno su un lato al cui interno, a loro volta, è stato ricavato un alloggio delle dimensioni di 11x11 cm in cui venivano inseriti i maschi stimolo durante il test.

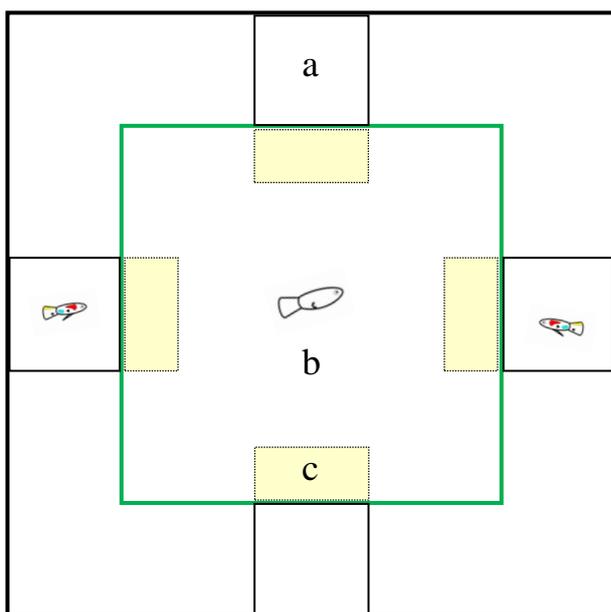


Fig. 6: rappresentazione schematica dell'apparato sperimentale visto dall'alto.

- (a) settori dove venivano inseriti i maschi stimolo
- (b) settore centrale dove veniva inserita la femmina test
- (c) aree di scelta utilizzate come criterio per definire la preferenza dei soggetti

Le pareti laterali e il fondo dell'apparato erano rivestite rispettivamente di Poliplack ® nero e verde (fogli di plastica facilmente modellabili) mentre i settori laterali, nei quali venivano inseriti gli stimoli, sono stati ricavati utilizzando vetro e vetro sintetico. Ciascuno dei quattro settori, ad esclusione quindi del settore centrale, era illuminato con una lampada alogena (per ambienti esterni e resistente all'acqua) da 75W posta a 50 cm di altezza rispetto al fondo della vasca. Il fascio luminoso era posizionato in modo tale da illuminare esclusivamente l'interno del settore permettendo alla femmina test di vedere i maschi stimolo.

L'apparato è stato collocato in un ambiente buio e isolato rispetto all'esterno da un telo coprente nero. Le luci venivano accese o spente nelle diverse fasi dell'esperimento grazie all'uso di interruttori posti in modo tale da limitare un eventuale disturbo da parte dell'osservatore. Una videocamera (Sony Handycam DCR-SR57E), posta a circa 1.5 m di altezza sopra l'apparato, permetteva la registrazione del comportamento del soggetto per tutta la durata dell'esperimento.

APPARATO DI AMBIENTAMENTO

A fianco all'apparato sperimentale è stato costruito un apparato per l'ambientamento delle femmine oggetto del test. Questo era costruito come l'apparato sperimentale, ma, a differenza del precedente, era munito di un sistema di timer grazie al quale le luci al di sopra dei settori laterali si accendevano e si spegnevano automaticamente ogni venti minuti durante il ciclo di luce del laboratorio. Questo secondo apparato è stato costruito al fine di abituare la femmina test all'accensione e allo spegnimento delle luci negli scompartimenti laterali così che, una volta inserita nell'apparato sperimentale, durante il test, questo fattore non costituisse un motivo di disturbo.

PROCEDURA SPERIMENTALE

Nel primo esperimento le femmine sono state sottoposte ad un test di scelta in cui, una volta inserite nella vasca centrale dell'apparato sperimentale,

potavano scegliere tra due maschi situati in due settori in posizioni opposte. I maschi stimolo venivano inseriti nei rispettivi scompartimenti laterali e lasciati in ambientamento 10 minuti. In seguito, nel settore centrale dell'apparato sperimentale veniva posizionata la femmina da testare. Ciascun soggetto veniva lasciato in ambientamento per 15 minuti in seguito ai quali le luci degli alloggi contenenti i maschi stimolo venivano accese. In questo caso venivano effettuati due test successivi della durata di 15 minuti ciascuno condotti a distanza di un ora l'uno dall'altro, tempo durante il quale venivano spente le luci dei maschi stimolo ed invertite le loro posizioni. La preferenza di ciascuna femmina è stata calcolata come la proporzione di tempo trascorso davanti ad uno dei due maschi stimolo rispetto al tempo complessivo trascorso in prossimità degli stimoli.

Esperimento 2: scelta comparativa

SOGGETTI

Nel secondo esperimento sono state sottoposte a test un totale di 43 femmine adulte *post-partum* di *P. reticulata* allevate secondo le condizioni descritte nell'esperimento precedente. I maschi stimolo invece sono stati scelti dalle vasche stock e, una volta fotografati e opportunamente misurati, sono stati inseriti in vaschette singole (11x18x28 cm), ciascuno con una femmina, in modo da permetterne il riconoscimento individuale determinato in base a specifici *range* di colorazione che verranno discussi in dettaglio nella sezione "ANALISI MORFOLOGICA DEI MASCHI". I quattro gruppi che sono stati definiti erano:

maschi arancio (A)

maschi iridescenti (I)

maschi *decoy* arancio (D_A)

maschi *decoy* iridescenti (D_I)

APPARATO SPERIMENTALE

L'apparato sperimentale e l'apparato di ambientamento erano gli stessi utilizzati nell'esperimento precedente.

PROCEDURA SPERIMENTALE

Il secondo esperimento consisteva in tre prove effettuate in successione dalla stessa femmina test entro i tre giorni successivi al parto.

Ciascun soggetto è stato sottoposto a tre test durante i quali sono stati loro presentati: i) due maschi (uno con estesa colorazione arancio e ridotta colorazione iridescente (A) e uno con estesa colorazione iridescente e ridotta colorazione arancio (I)); ii) gli stessi maschi A e I in presenza di un terzo maschio *decoy* che presentava entrambe le caratteristiche inferiori al maschio A (maschio D_A) o iii) al maschio I (maschio D_I). Secondo quanto atteso, l'aggiunta di un maschio *decoy* dovrebbe spostare la preferenza verso il maschio *target* che domina il *decoy* per entrambi i caratteri (il maschio *target* A per il *decoy* D_A e il maschio *target* I per il *decoy* D_I). L'ordine di successione delle tre prove è stato alternato tra i soggetti in modo tale da ottenere gruppi di uguale numerosità per ciascun ordine seguito. Durante il test inoltre, in uno degli scompartimenti laterali, veniva posizionata una femmina adulta per valutare la propensione dei soggetti a fare scuola con un conspecifico indipendentemente dalla motivazione sessuale.

Ventiquattro ore prima dell'inizio dell'esperimento i maschi stimolo venivano deprivati sessualmente prelevando la femmina compagna dalla vaschetta di stabulazione mentre le femmine test venivano prelevate dalla vaschetta dotata di sala parto ed inserite all'interno dell'apparato di ambientamento. I soggetti utilizzati venivano nutriti mezz'ora prima dell'inizio dei test in modo da ridurre la probabilità che manifestassero poco interesse nei confronti dei maschi stimolo dovuto al non sufficiente apporto di cibo (Houde, 1997).

Dopo aver spento le luci del laboratorio, per limitare possibili disturbi esterni, venivano inseriti nell'apparato sperimentale gli stimoli: una femmina e due o tre maschi stimolo, in accordo con l'ordine di successione delle tre prove. Gli stimoli venivano lasciati in ambientamento per 10 minuti in seguito ai quali veniva inserita nella vasca centrale la femmina test. Ai soggetti veniva data la possibilità di acclimatarsi per 15 minuti, periodo durante il quale veniva illuminato solamente lo scompartimento contenente la femmina stimolo. Le luci

dei restanti scompartimenti laterali, contenenti i maschi stimolo invece venivano accese contemporaneamente tramite un interruttore esterno all'inizio del test. L'esperimento iniziava nel momento in cui la femmina test ricominciava a nuotare con tranquillità all'interno dell'apparato e il suo comportamento veniva registrato per 20 minuti. Alla fine di ogni esperimento le luci venivano spente e durante una pausa di 10 minuti venivano effettuati gli scambi degli stimoli e in seguito aveva inizio il secondo test secondo le stesse modalità precedentemente descritte. Il procedimento sopra descritto è stato mantenuto inalterato nel corso dei tre esperimenti svolti per ciascun soggetto.

Le videoregistrazioni sono state successivamente analizzate al computer mediante l'utilizzo di un software (Cyclic Timer 1. 4), per misurare con esattezza il tempo di permanenza della femmina test in prossimità di ciascun settore in corrispondenza dei maschi stimolo. Più precisamente per la misura della preferenza è stato preso in considerazione il tempo trascorso quando distavano non più di 5 cm dagli stimoli, una distanza che corrisponde mediamente a due lunghezze totali del maschio.

Come misura di preferenza è stata utilizzata per convenzione la proporzione di tempo trascorsa presso il maschio arancione (A), e tale misura poteva variare da un minimo di 0 (che rappresentava una scelta totale verso il maschio iridescente) fino ad un massimo di 1 (indice, invece, di una scelta completa verso il maschio arancio). Un valore di 0.5 rappresentava, di conseguenza, una scelta casuale.

ANALISI MORFOLOGICA DEI MASCHI

I maschi utilizzati come stimoli sono stati selezionati dalle vasche stock e scelti secondo criteri basati sulla distribuzione della colorazione nella popolazione (si veda ad esempio Pilastro *et al.*, 2004). Per effettuare le foto, ciascun maschio è stato anestetizzato, utilizzando l'anestetico MS222 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) disciolto in acqua, posto su di un supporto di carta millimetrata al fine di avere una lunghezza di riferimento per le successive misurazioni al computer e

fotografato con una fotocamera digitale Canon EOS450D, fissata ad un cavalletto ad un'altezza costante.

Successivamente le immagini sono state trasferite sul computer e analizzate utilizzando il programma Image Tool (scaricabile da: <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>). Per ciascun individuo sono state registrate (Fig. 7):

- La lunghezza standard (SL): dalla parte anteriore del muso alla base della pinna caudale;
- La lunghezza totale (TL): dalla parte anteriore del muso all'estremità della pinna caudale;
- L'area totale del corpo, compresa la pinna caudale;
- L'area e il numero di tutte le macchie colorate presenti sul corpo (divise in macchie arancio, iridescenti e nere ad esclusione però delle linee scure tipiche della livrea maschile poiché possono modificarsi durante il corteggiamento o in condizioni di stress (Houde, 1997).

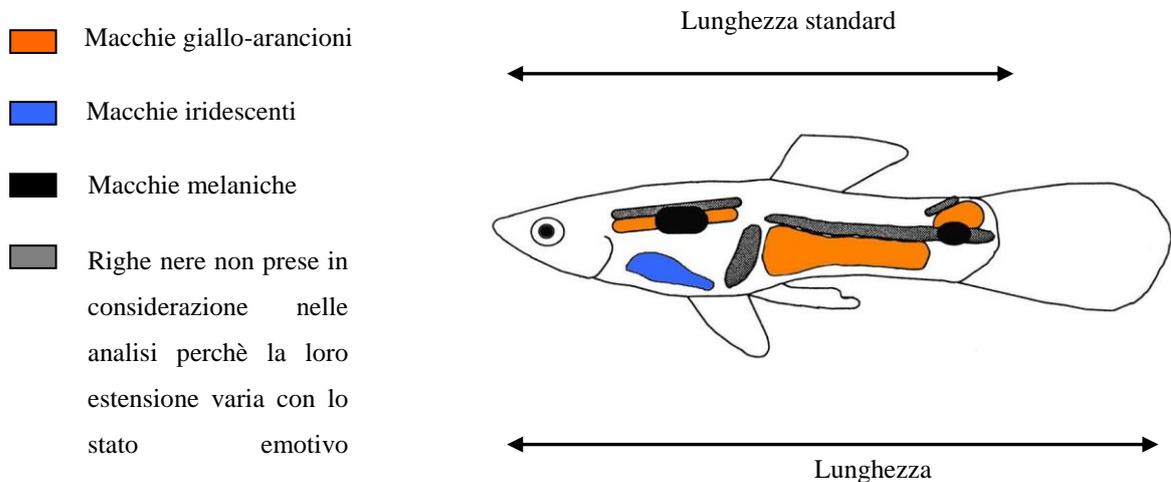


Fig. 7: disegno schematico di un esemplare maschio in cui vengono evidenziati i tratti considerati nell'analisi morfologica.

Per quanto riguarda l'area delle macchie, è stata considerata la loro dimensione relativa, cioè la percentuale della loro estensione in relazione all'area totale (in mm²) del soggetto considerato. In seguito all'analisi morfologica dei

maschi sono stati definiti quattro gruppi di stimoli in base all'estensione della colorazione delle macchie arancioni e iridescenti.

- Maschi arancioni (A): estensione della colorazione arancione $\geq 20\%$, estensione della colorazione iridescente 8-11.2%;
- Maschi iridescenti (I): estensione della colorazione arancione 9-13.9%, estensione della colorazione iridescente 15-19%;
- *Decoy* arancio (D_A): estensione della colorazione arancione 13.9-20%, estensione della colorazione iridescente 4-8%;
- *Decoy* iridescente (D_I): estensione della colorazione arancione 5-9%, estensione della colorazione iridescente 11.2-15%.

2.3 RISULTATI

Le analisi statistiche dei dati sono state condotte utilizzando il programma PASW Statistics18 per Windows. La soglia di significatività è stata posta a $p=0.05$. Tutte le medie sono state presentate con le relative deviazioni standard (Media \pm DS).

Esperimento 1: ripetibilità della scelta femminile

E' stata condotta un ANOVA univariata utilizzando come variabile dipendente la preferenza relativa di ciascuna femmina nei due test di scelta e come fattore casuale l'identità della femmina stessa. I risultati hanno evidenziato che la preferenza per un dato maschio ha una ripetibilità significativa (misurata secondo il modello di Lessells & Boag, 1987) $R.\pm.SE: 0.47\pm 0.21$; $F_{(1,14)} = 2,929$, $p = 0.027$ consentendo quindi di effettuare il successivo esperimento.

Esperimento 2: scelta comparativa

Selezione degli stimoli

In primo luogo sono state analizzate le caratteristiche della colorazione di un sottocampione costituito da 67 maschi per valutarne la distribuzione all'interno della popolazione presente in laboratorio.

La lunghezza standard (SL) e la lunghezza totale (TL) sono espresse in mm, l'area corporea in mm², mentre l'estensione delle macchie colorate distinte in macchie a carotenoidi (macchie arancio), macchie melaniche (macchie nere) e macchie iridescenti è riportata come percentuale rispetto all'area corporea (**Tabella 1**).

	MINIMO	MASSIMO	MEDIA	DS	MEDIANA
SL (mm)	14.09	20.22	16.86	1.40	/
TL (mm)	18.00	27.31	22.52	2.06	/
AREA (mm²)	46.17	98.33	67.97	17.76	/
MACCHIE ARANCIO(%)	4.89	37.59	15.25	6.50	13.97
MACCHIE IRIDESCENTI(%)	3.78	21.85	11.20	3.48	11.20
MACCHIE NERE(%)	0.92	9.26	3.59	1.73	

Tabella 1 caratteristiche fenotipiche dei maschi stimolo utilizzati negli esperimenti con relative medie e deviazioni standard.

In base a questa prima analisi, i maschi che sono stati utilizzati come stimoli nell'esperimento successivo sono stati selezionati secondo i criteri descritti nella sezione "Analisi morfologica dei maschi" e quindi suddivisi in quattro

gruppi: maschi arancio (A) maschi iridescenti (I), *decoy* arancio (D_A) e *decoy* iridescente (D_I) (**Fig. 8**).

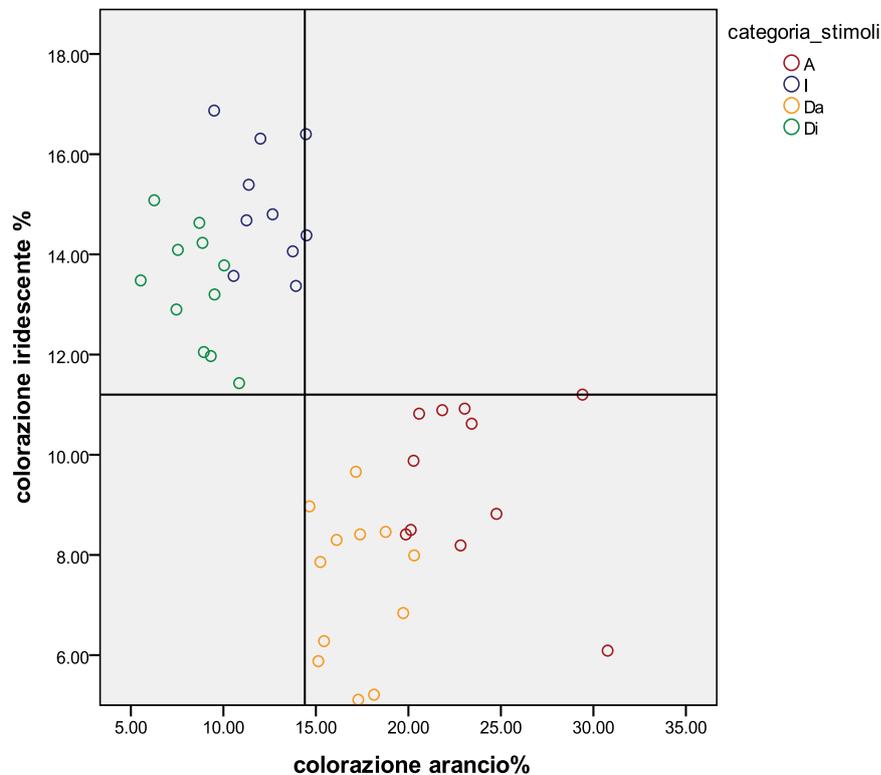


Fig 8: rappresentazione grafica della suddivisione dei maschi stimolo in base alla percentuale di colorazione arancio e iridescente, grazie alla quale sono stati distinti in quattro gruppi: arancio (A), iridescente (I), *decoy* arancio (D_A), *decoy* iridescente (D_I).

Una volta definiti gli intervalli di appartenenza, è stata analizzata la colorazione di un totale di 166 individui ottenendo un totale di 44 maschi stimolo distribuiti tra i quattro gruppi e utilizzati in modo casuale tra le diverse prove. I quattro gruppi di maschi stimolo (A, I, D_A e D_I) non differivano significativamente tra loro in dimensioni (lunghezza standard, $F_{(3,42)} = 2.481$; $p = 0.075$).

Risultati

Allo scopo di capire se il tipo di trattamento a cui erano sottoposte le femmine (binario, in presenza del *decoy* D_A , in presenza del *decoy* D_I) e l'ordine

con cui venivano eseguiti gli esperimenti fossero importanti nella scelta, i dati sono stati analizzati con un *modello misto lineare* in cui la variabile dipendente era la proporzione di tempo trascorso verso il maschio arancio e in cui i fattori fissi erano appunto il tipo di trattamento e l'ordine di degli esperimenti. Come fattore casuale è stata inserita l'identità dei soggetti. Nessuno dei fattori è risultato significativo nella scelta ($p > 0.05$).

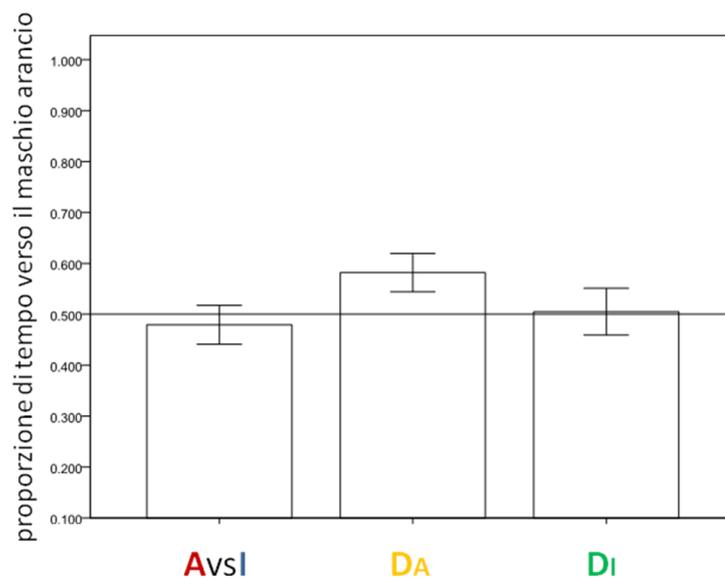


Fig. 9: rappresentazione grafica della preferenza femminile calcolata verso il maschio arancio (A) nei tre diversi test di scelta (scelta binaria; scelta in presenza del *decoy* arancio= D_A ; scelta in presenza del *decoy* iridescente= D_I). La linea orizzontale rappresenta la linea del caso.

Successivamente è stato analizzato il comportamento delle femmine in presenza del *decoy*. (**Fig. 9**). E' stata condotta una ANOVA univariata utilizzando come variabile dipendente l' indice di preferenza verso il maschio arancio e come fattore il tipo di trattamento. L' analisi *post-hoc* ha evidenziato che rispetto al test di scelta binario (Media \pm DS: 0.479 ± 0.251) in presenza del *decoy* arancio D_A aumenta la preferenza per il maschio arancio (Media \pm DS: 0.581 ± 0.246) mentre in presenza del *decoy* iridescente D_I si sposta di poco la preferenza (Media \pm DS: 0.505 ± 0.3). Le differenze non sono comunque statisticamente significative. Complessivamente comunque la differenza tra i diversi trattamenti non è significativa ($p = 0.184$). Dalle analisi è però emerso che circa il 50% dei soggetti

preferiva, nel test di scelta binario i maschi arancioni (preferenza relativa > 0.50, N=23) mentre il rimanente 50% mostrava una preferenza per il maschio iridescente (preferenza relativa < 0.50, N=20, **Fig. 10**). Analizzando separatamente i due gruppi, l'effetto del *decoy* è risultato diverso a seconda che la femmina preferisca, nel test binario, il maschio A o il maschio I (**Fig. 11**).

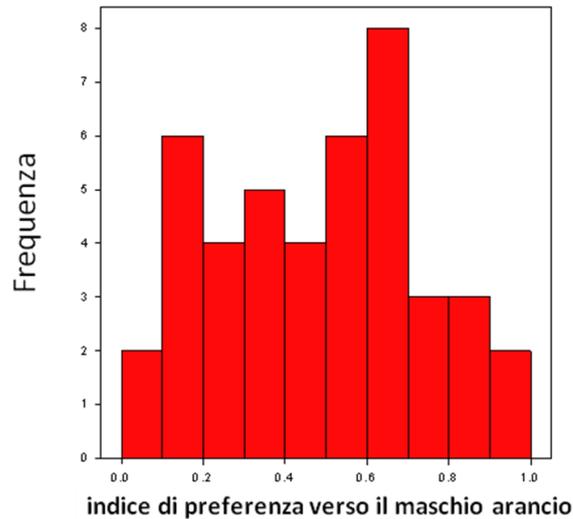


Fig 10: distribuzione della frequenza di preferenza nella scelta femminile espressa come preferenza verso i maschi arancio

Analizzando separatamente l'effetto del *decoy* per le femmine che dimostravano una preferenza per il maschio A o quello I, si evidenziano due effetti opposti. E' stata condotta un' ANOVA univariata dividendo i soggetti in base alla preferenza relativa nel test di scelta binario utilizzando come variabile dipendente la proporzione di tempo verso il maschio arancio e come fattore il tipo di trattamento. Nel caso delle femmine che nel test binario hanno preferito il maschio arancio, A (**Fig. 11-a**), non vi è un effetto significativo del tipo di trattamento ($F_{(2,68)} = 1,253$, $p = 0.292$) e di conseguenza la presenza del *decoy arancio* riduce leggermente la preferenza per il maschio A anche se in modo non significativo (Scheffè *post-hoc test* $p = 0.394$). Viceversa, nelle femmine che nel test binario avevano preferito il maschio iridescente I il tipo di trattamento influisce significativamente sulla scelta ($F_{(2,59)} = 8,019$, $p = 0.001$) e in presenza del *decoy* D_A si riscontra una differenza statisticamente significativa nella

preferenza per il maschio arancio A (Scheffè *post-hoc test* $p = 0.01$, **Fig. 11-b**). Anche in presenza del *decoy* iridescente D_I si osserva uno spostamento, anche se meno pronunciato, della preferenza femminile verso il maschio A.

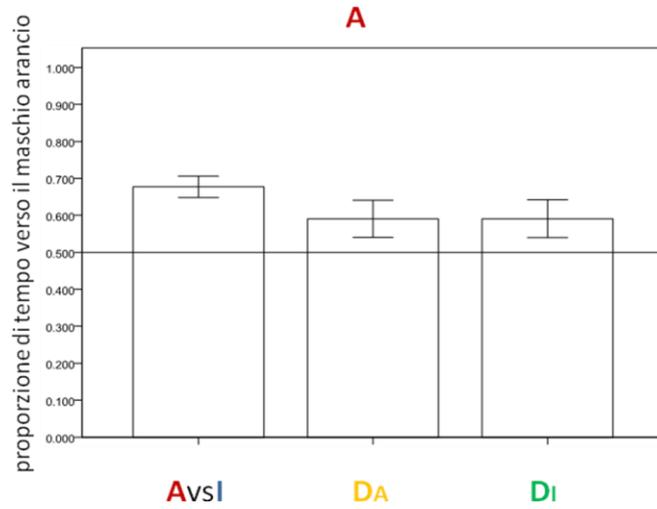


Fig. 11-a: preferenza relativa per il maschio *target* A in presenza del *decoy* A e del *decoy* I quando la preferenza femminile nel test binario era rivolta verso il maschio arancio (A).

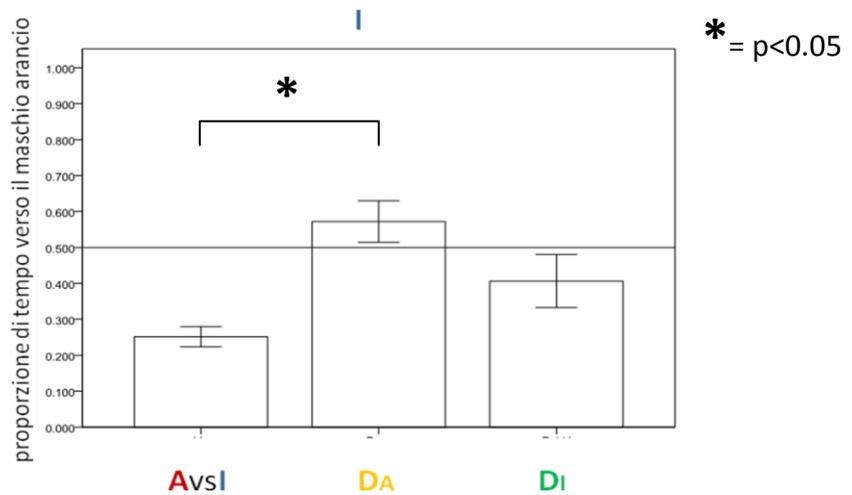


Fig. 11-b: preferenza relativa per il maschio *target* A in presenza del *decoy* A e del *decoy* I quando la preferenza femminile nel test binario era rivolta verso il maschio iridescente (I).

2. 4 DISCUSSIONE

Con gli esperimenti condotti in questa prima parte si è voluto verificare se la scelta sessuale femminile in *Poecilia reticulata* si basa su una valutazione comparativa o razionale. Partendo dall'ipotesi proposta da Bateson e Healy (2005) nella scelta sessuale del partner le femmine potrebbero aver sviluppato un meccanismo di valutazione comparativa. A tale scopo sono stati condotti due esperimenti: nel primo esperimento di scelta binaria è stato dimostrato che la scelta femminile è individuale e ripetibile nel tempo in questa popolazione, mentre nel secondo si è dimostrato che la scelta femminile è influenzata dalla presenza di alternative irrilevanti, uno dei principi che indica che i meccanismi di valutazione coinvolti nella scelta potrebbero essere di tipo comparativo e non assoluto.

In particolare, nel primo esperimento i soggetti sono stati sottoposti a test in due esperimenti in successione durante i quali veniva data loro la possibilità di scegliere fra gli stessi due maschi. I risultati dimostrano che la scelta femminile è significativamente ripetibile nel tempo in questo contesto (anche se la ripetibilità è relativamente bassa) e questo mi ha permesso di procedere con il secondo esperimento.

Nel secondo esperimento è stata analizzata la preferenza sessuale in tre prove sequenziali. In una prima prova la femmina, poteva scegliere tra i due maschi *target* selezionati in base al colorazione arancio e iridescente (A e I). Successivamente la stessa femmina si trovava a scegliere in altri due test tra tre maschi, gli stessi maschi A e I e in un caso il *decoy* relativo al maschio arancio (D_A) e nell'altro quello relativo al maschio iridescente (D_I). È stato evidenziato, secondo quanto previsto, che la presenza del *decoy* aumenta la preferenza per i maschi *target*, anche se in modo non significativo. Tuttavia le femmine mostrano una preferenza bimodale nel test di scelta binario tra maschi arancio e iridescenti, dimostrando alcune una preferenza per il maschio arancio e altre per il maschio iridescente. Analizzando separatamente questi due gruppi di femmine, l'effetto del *decoy* risulta diverso a seconda che la femmina preferisca una o l'altra tipologia di maschio. Nel caso delle femmine che nel test binario hanno preferito il maschio

arancio, la presenza del *decoy* (indipendentemente dal tipo di *decoy*) riduce leggermente la preferenza per il maschio arancio. Viceversa, la presenza del *decoy* arancio aumenta significativamente la preferenza per il maschio arancio nelle femmine che nel test binario avevano preferito il maschio I così come, la presenza del *decoy* I, anche se quest'ultimo in modo non significativo. Quindi, dal momento che le femmine mostrano una preferenza individuale per uno specifico maschio *target* (A o I) ma la risposta al *decoy* si discosta rispetto a quanto atteso dal modello si potrebbe concludere che la scelta femminile non è semplicemente influenzata dalla valutazione comparativa ma che vi sia un'interazione significativa tra funzione di preferenza femminile e risposta al contesto. Questo suggerisce che vi sia un ulteriore "strato" di complessità nella preferenza femminile. È noto infatti che la preferenza femminile ha una base genetica (Brooks, 2002) e questi risultati suggeriscono che vi possa essere una interazione significativa genotipo-ambiente mediata dai limiti cognitivi imposti dalla valutazione comparativa.

Globalmente questo risultato suggerisce che la preferenza femminile è influenzata dalla presenza di un'alternativa irrilevante, violando uno dei principi di razionalità della scelta. L'effetto del *decoy* è opposto a seconda che nel test binario la femmina avesse preferito il maschio A o il maschio I. Nel primo caso, la presenza del *decoy* ha l'effetto di diminuire la preferenza per il maschio A, mentre nel secondo caso ha l'effetto di aumentare la preferenza per il maschio A. L'effetto della presenza di un'alternativa irrilevante è meno forte nel caso di femmine che hanno una preferenza per il maschio A, mentre è molto forte e significativa nelle femmine che hanno una preferenza per maschi iridescenti. In entrambi i casi si osserva comunque che la presenza di un *decoy* influisce sulla preferenza relativa per i maschi *target* A ed I, ma 1) l'effetto è statisticamente visibile solo nel caso di femmine che preferiscono il *target* I, 2) l'effetto in queste femmine è opposto a quello che si osserva nelle femmine che preferiscono il *target* A e 3) l'effetto riguarda la presenza del *decoy* piuttosto che il tipo di *decoy* (i due tipi di *decoy* dovrebbero avere effetti opposti), anche se il *decoy* A in entrambi i casi sposta la preferenza per il maschio *target* A in modo più pronunciato del *decoy* I.

I risultati potrebbero avere diverse interpretazioni. È possibile che il risultato complessivo sia conforme alle aspettative del paradigma dell'ADD ma che la dimensione del campione sia insufficiente a raggiungere la completa significatività statistica nei dati distinti sulla base della preferenza per i maschi A e I. Per verificare questa ipotesi sarebbe necessario ampliare il campione al fine di ottenere un più elevato potere statistico. D'altra parte, è possibile che esista nella popolazione femminile, accanto al polimorfismo della preferenza per il colore (arancione vs. iridescente), anche una differenza in reazione al contesto (cioè nella "regola" adottata nella valutazione comparativa). Per esempio, se le femmine che hanno una preferenza per l'arancio tendono a valutare con maggiore attenzione l'estensione delle macchie arancioni, in presenza di tre maschi questo processo è più difficile e richiede alla femmina di trascorrere più tempo davanti a tutti i maschi, riducendo di conseguenza la preferenza relativa per il maschio A. Viceversa, le femmine che prediligono i maschi *target* I, inizialmente meno attratte dal maschio arancione, potrebbero risentire in modo più forte della presenza del *decoy* arancio, secondo le previsioni del modello ADD.

Infine, non si può escludere che la differenza per le caratteristiche per le quali sono stati selezionati i maschi stimolo potessero essere troppo esigue per permettere alla femmina una immediata discriminazione fra il maschio *target* e il suo corrispettivo *decoy*. Di conseguenza, in presenza di quest'ultimo, le femmine modificherebbero la scelta in favore di un terzo maschio dalle caratteristiche fenotipiche diverse (*random dilution effect*). Questo risultato concorda anche con quanto precedentemente riscontrato da Royle e collaboratori (2008) sulle scelte sessuali compiute dalle femmine di *Xiphophorus helleri* in relazione al contesto. Dal momento che queste due specie appartengono alla stessa famiglia, si può ipotizzare, anche nel caso di *Poecilia reticulata*, che l'indipendenza dalle alternative irrilevanti si sia evoluta in favore dei maschi che presentano un fenotipo raro e la plasticità di questo comportamento potrebbe essere alla base dei meccanismi che consentono il mantenimento della variabilità fenotipica nei maschi di questa specie.

Dal momento che i dati relativi all'esistenza di un meccanismo di scelta comparativa nella scelta sessuale non sono interpretabili in modo univoco,

ulteriori studi saranno necessari per fornire altri indizi a favore di una scelta di tipo irrazionale.

3 Parte 2: VALUTAZIONE FEMMINILE DEI CARATTERI MULTIPLI NELLA SPECIE AFFINE *Xiphophorus birchmanni*

Durante un periodo di ricerca che ho svolto presso la Texas A&M University (College Station, Texas) sotto la supervisione del Professor Gil Rosenthal, utilizzando come modello sperimentale *Xiphophorus birchmanni*, una specie appartenente alla stessa famiglia di *Poecilia reticulata*, ho condotto uno studio il cui scopo era quello di valutare l'importanza dei caratteri multipli nella scelta sessuale delle femmine di *X. birchmanni* tra maschi conspecifici e maschi ibridi che derivano dall'incrocio con la specie simpatica *Xiphophorus malinche*.

3. 1. BIOLOGIA DELLA SPECIE

IL GENERE XIPHOPHORUS

Il genere *Xiphophorus* a cui appartengono anche i pesci portatori di spada più comunemente noti come “swordtails”, comprende 26 specie di piccoli pesci d'acqua dolce, vivipari e a fecondazione interna che coprono un areale di distribuzione che si estende dal nord del Messico, attraverso il Guatemala ed il Belize, fino all'Honduras. Come *P. reticulata* anche questo genere appartiene alla famiglia dei pecilidi.

Si tratta di specie gregarie che in natura vivono in gruppi con *sex-ratio* variabile. Si nutrono principalmente di alghe e di piccoli invertebrati bentonici e per questo prediligono le zone in cui le acque sono limpide e poco profonde lungo i corsi dei fiumi oppure le pozze d'acqua o le aree antistanti la riva. La loro popolarità come pesci da acquario è aumentata in anni recenti e di conseguenza oggi sono largamente diffusi anche al di fuori del loro habitat naturale. Attualmente, grazie alla loro ampia distribuzione e alla semplicità di gestione in condizioni di cattività, questi pesci sono diventati un comune modello sperimentale negli studi di genetica e di comportamento sessuale dei teleostei (Rosenthal, 2010). In laboratorio infatti maschi e femmine mantengono il loro

innato comportamento sociale e, in aggiunta, dato che il loro habitat è facilmente raggiungibile, è possibile effettuare parallelamente studi in natura.

Per quanto riguarda il genere *Xiphophorus*, l'etimologia del nome proviene dal greco e significa "portatore di pugnale". Il nome, contrariamente a quanto si pensi comunemente, deriva dalla conformazione del gonopodio maschile, la caratteristica modificazione della pinna anale che funge da organo copulatore nei maschi (Kallman & Kazianis, 2006).

CARATTERI SESSUALI SECONDARI

Maschi e femmine presentano un marcato dimorfismo sessuale. Mentre le femmine presentano una colorazione mimetica e possono raggiungere dimensioni corporee che superano i 4 cm di lunghezza, i maschi, presentano un ampio *range* per quanto riguarda le dimensioni corporee (3-6cm) e si distinguono nella maggior parte delle specie per la presenza di un' estensione degli ultimi raggi della pinna caudale che origina una struttura allungata a cui si associa appunto il nome comune di questi pesci (portatori di spada). La lunghezza della spada è estremamente variabile a livello individuale e interspecifico. I maschi tuttavia si differenziano anche per un una varietà di altri caratteri sessuali secondari che svolgono un ruolo per quanto riguarda la scelta sessuale femminile, le interazioni aggressive tra maschi o in entrambe. In primo luogo essi presentano una colorazione gialla (derivata dall'assunzione di carotenoidi attraverso la dieta) che può essere distribuita come colorazione di base su tutto il corpo o più intensamente in aree più ristrette come ad esempio la pinna caudale e la pinna dorsale. Un'altra caratteristica sono le macchie nere melaniche localizzate in genere alla base della pinna caudale o in prossimità della zona anale, quasi a mimare la macchia nera melanica tipica delle femmine gravide, ed in alcune specie, come ad esempio *X. helleri*, le striature di colorazione iridescente (giallo, verde, viola). I maschi presentano inoltre delle barre verticali di colore nero sui fianchi che possono differire in numero tra il fianco destro e sinistro dell'individuo e le cui dimensioni e intensità del colore variano in relazione al contesto sociale in cui si trovano e alle condizioni dei maschi stessi dal momento

che anche questo carattere si trova sottoposto a selezione sessuale in più specie (Morris *et al.*, 1995; Fisher *et al.*, 2009). Infine, un altro tratto distintivo di questo genere, consiste nella forma delle pinne e in particolare della pinna dorsale che presenta una tipica forma a vela trapeziodale le cui dimensioni e la cui colorazione variano tra le specie.

Xiphophorus birchmanni x *Xiphophorus malinche* E I LORO IBRIDI

Xiphophorus birchmanni, utilizzato come modello sperimentale in questo studio, è originario del Messico. Il suo areale di diffusione copre tutto il bacino idrico della Sierra Madre Orientale di cui occupa le zone a minor altitudine (Rauchenberger *et al.*, 1990). Si tratta di una specie a fecondazione interna in cui le femmine dopo circa quattro settimane di gestazione, partoriscono un numero variabile di piccoli (da 20 fino a 40 circa in alcuni casi). La maturità sessuale si raggiunge intorno alla quinta-sesta settimana di vita dopo la quale è possibile distinguere chiaramente gli individui dei due sessi. Le femmine presentano una colorazione mimetica grigia ad eccezione delle macchie melaniche nere che si trovano posizionate principalmente alla base della pinna caudale e al di sopra della pinna anale e possono presentare dimensioni variabili in base all'età e alla condizioni ambientali raggiungendo anche i 6 cm di lunghezza. Anche in questa specie si riscontra un marcato dimorfismo sessuale. I maschi sono più grandi delle femmine e possono raggiungere gli 8 cm di lunghezza. Oltre ad essere di dimensioni maggiori, i maschi sono caratterizzati dalla presenza di barre verticali di colore nero sui fianchi. L'intensità del colore e le dimensioni così come il numero possono risultare asimmetrici tra il fianco destro e sinistro dell'individuo e in relazione alla condizione. Durante il corteggiamento o le interazioni aggressive con altri maschi infatti la dimensione delle macchie tende ad aumentare e la colorazione diventa più intensa (Morris *et al.*, 1995). Il numero di barre invece è estremamente variabile, alcuni individui possono presentare fino a 12 barre mentre in altri questo carattere è assente. Rispetto agli altri porta-spada, *X. birchmanni* è caratterizzato da una forma del corpo più tozza che nei maschi è ancora più pronunciata dalla presenza di una gobba sul capo. Anche la pinna

dorsale, che presenta la tipica forma a vela trapezoidale ha una forma visibilmente più allungata rispetto alle altre specie. Infine un carattere che distingue chiaramente i maschi di *X. birchmanni* è la mancanza della spada, caratteristica invece presente in modo più o meno sviluppato nelle altre specie appartenenti a questo genere.

Il corteggiamento si svolge secondo un preciso schema comportamentale (Clark *et al.*, 1954). Inizialmente il maschio comincia a nuotare posizionandosi perpendicolarmente rispetto alla femmina. Una volta in posizione comincia a muoversi a piccoli scatti avanti e indietro. Le femmine rispondono al corteggiamento secondo la loro condizione di recettività. Se la femmina non è recettiva solitamente ignora il corteggiamento del maschio e si allontana. Nel caso in cui il maschio continui ad inseguirla la femmina può reagire aggredendo il maschio e mordendolo. Quando le femmine sono recettive invece solitamente si immobilizzano e questa risposta consente al maschio di affiancarsi alla femmina e di compiere successivamente la copula. Durante il corteggiamento i maschi innalzano la pinna dorsale per apparire percettivamente più grandi alle femmine. La frequenza con cui questo carattere viene esibito dipende dalla presenza di altri maschi, possibili competitori (Fisher & Rosenthal, 2007).

Un aspetto della biologia di *X. birchmanni* di particolare interesse è che questa specie condivide il proprio habitat con la specie simpatica *Xiphophorus malinche*.

X. malinche è diffuso nella stessa area geografica di *X. birchmanni* ma a differenza di questo occupa soprattutto le parti alte dei fiumi ad altitudini maggiori. Morfologicamente le due specie si distinguono perché le dimensioni di *X. malinche* sono più ridotte (difficilmente si trovano individui che superano i 6 cm di lunghezza) e la forma globale del corpo in questa specie risulta più allungata. Le femmine mostrano una colorazione grigia mimetica mentre i maschi presentano un pronunciato allungamento degli ultimi raggi della pinna caudale (spada) delineata da strisce nere melaniche, una pinna dorsale dalla caratteristica forma a vela anche se meno pronunciata rispetto ai maschi di *X. birchmanni* e dalla presenza di barre verticali di forma ovale distribuite irregolarmente sui fianchi (Rosenthal *et al.*, 2003).

Nelle zone in cui le due specie coesistono si trovano popolazioni ibride interfeconde i cui maschi si distinguono grazie ad una combinazione estremamente variabile dei caratteri propri delle due specie parentali (**Fig. 12**). I maschi ibridi sono variabili per dimensioni corporee, numero di barre verticali, la presenza in alcuni individui di un abbozzo di spada e dimensioni della pinna dorsale.

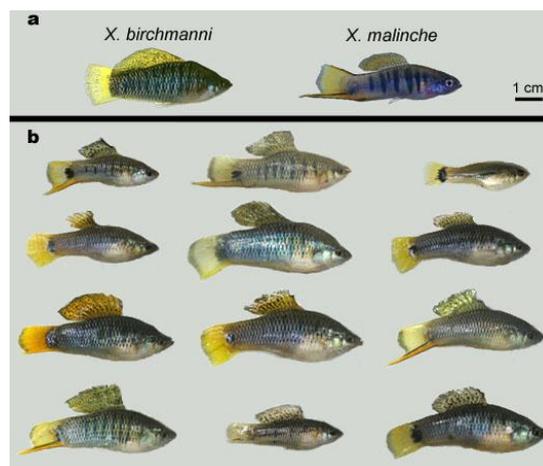


Fig. 12: nella sezione a) della figura le due specie parentali (*X. birchmanni* e *X. malinche*). Nella sezione b) della figura alcuni dei possibili fenotipi che si possono osservare negli individui ibridi e che spesso presentano caratteri al di fuori del naturale *range* delle specie parentali (immagine tratta da *Fisher et al.*, 2006)

Numerosi aspetti riguardanti la biologia del comportamento sessuale di *X. birchmanni* in questo particolare contesto ecologico sono ancora da indagare e lo scopo degli esperimenti di seguito descritti costituiscono un primo tentativo di individuare i criteri su cui, in queste condizioni, si basa la scelta sessuale femminile.

3.2 SCELTA SESSUALE FEMMINILE PER CARATTERI MULTIPLI IN *Xiphophorus birchmanni*

Nei sistemi ibridi si osserva una distribuzione piuttosto eterogenea delle possibili combinazioni fenotipiche e gli effetti dell'ibridazione sull'espressione dei segnali sessuali secondari potrebbe comportare delle conseguenze dal punto di vista della scelta sessuale.

Recentemente infatti sono state riportate le prime evidenze genetiche che dimostrano come le femmine di *X. birchmanni*, a differenza di quanto accade nella specie simpatica *X. malinche*, non sono in grado di distinguere tra maschi conspecifici e maschi ibridi accoppiandosi indiscriminatamente con entrambi (Culumber, 2011).

In generale la preferenza femminile in *X. birchmanni* è rivolta, così come si osserva in altri pecilidi (Bisazza & Pilastro, 1997; Houde, 1997), verso i maschi di maggiori dimensioni. (Fisher *et al.*, 2009). In questa specie la dimensione corporea correla positivamente con le dimensioni della pinna dorsale (Rosenthal *et al.*, 2003) e Fisher e Rosenthal (2007) utilizzando delle animazioni video di conspecifici in cui è stata manipolata la dimensione della pinna dorsale hanno dimostrato appunto che, se possibile, le femmine preferiscono i maschi che, a parità di dimensioni corporee, presentano una pinna dorsale ridotta. Tale preferenza deriva dal fatto che i maschi, nel corteggiare la femmina si posizionano vicino a quest'ultima e durante il corteggiamento innalzano la pinna dorsale. Inoltre questo segnale fornisce un'ulteriore informazione: la frequenza con cui i maschi sollevano la pinna dorsale infatti costituisce anche un segnale di aggressività nella competizione intra-sessuale ed è più alta in presenza di altri maschi. Questa differenza nella ricezione implica che le femmine mostrino una preferenza verso i maschi che, entro il *range* di variabilità noto nella specie per questo carattere, presentano una pinna dorsale più piccola (Fisher & Rosenthal, 2007).

La femmine di *X. birchmanni* inoltre mostrano, contrariamente a quanto è stato osservato in altre specie, una preferenza per l'assenza della spada nei maschi. In uno studio condotto da Wong e Rosenthal (2006) è stato confermato

che la preferenza femminile è rivolta verso maschi conspecifici (senza spada) rispetto a maschi eterospecifici (*X. malinche*, con spada). Questa preferenza però non dipende solo dal riconoscimento del conspecifico in quanto rimane invariata anche quando alle femmine viene data la possibilità di scegliere tra due maschi conspecifici, identici morfologicamente se non per la presenza della spada, aggiunta artificialmente in uno di essi. Secondo una delle diverse ipotesi che sono state proposte per spiegare i risultati di questo lavoro il comportamento delle femmine avrebbe selezionato tale tratto portando ad una perdita secondaria della spada nei maschi (Morris *et al.*, 2005).

Infine anche il numero di barre verticali è risultato essere un carattere sottoposto alla selezione sessuale e, così come è stato osservato in altre specie appartenenti a questo genere (Morris *et al.*, 1995; 2005), recentemente è stato dimostrato che in *X. birchmanni* le femmine, potendo scegliere tra maschi di uguali dimensioni ma con un numero di barre verticali diverso, preferiscono i maschi con un numero maggiore di barre (Fisher *et al.*, 2009).

Poichè le femmine non evitano l'ibridazione in natura è possibile ipotizzare che i maschi ibridi presentino dei tratti sessuali che vengono preferiti nella scelta sessuale femminile. Per verificare questa ipotesi ho studiato quali tratti multipli siano preferiti dalle femmine in un sistema di scelta dove sono stati messi a confronto maschi ibridi con maschi conspecifici. In base ai risultati ottenuti negli esperimenti precedentemente descritti, sono stati presi in considerazione i tratti che di norma determinano la preferenza tra diversi maschi conspecifici (lunghezza standard, ampiezza della pinna dorsale, numero di barre verticali e lunghezza della spada). Se la scelta tra maschi ibridi e conspecifici si basa su uno di questi tratti è possibile ipotizzare che la preferenza sarà rivolta ai maschi ibridi quando questi sono di maggiori dimensioni; oppure nel caso che i maschi siano della stessa dimensione, è possibile ipotizzare che la preferenza sarà per i maschi ibridi che presentano una pinna dorsale più piccola e un numero maggiore di barre verticali. Infine si può ipotizzare che la presenza della spada possa far evitare l'accoppiamento con i maschi ibridi facendo diminuire la preferenza verso questi ultimi.

La particolarità degli esperimenti condotti è data dalla procedura sperimentale seguita: sono stati infatti utilizzati maschi stimolo costituiti da animazioni video costruite sulla base delle caratteristiche morfologiche e comportamentali della specie. Questo tipo di metodologia è già stato adottato in numerosi studi (Fisher & Rosenthal, 2007; Fisher *et al.*, 2006; 2009; Wong & Rosenthal, 2006) in cui è stato dimostrato che non vi è alcuna differenza nella preferenza femminile tra stimoli visivi presentati con animazioni video e stimoli vivi (Fisher *et al.*, 2009). L'utilizzo di questa tipologia di stimoli presenta il grande vantaggio di poter manipolare in modo controllato le caratteristiche di interesse sia dal punto di vista fenotipico che comportamentale.

In un primo esperimento quindi è stata osservata la preferenza femminile mettendo a confronto un maschio appartenente ad una popolazione ibrida e uno stimolo costituito da una animazione computerizzata rappresentante un maschio conspecifico (*X. birchmanni*) con un livello medio di espressione dei tratti tipici di questa specie. Dal momento che le caratteristiche dello stimolo video conspecifico erano standardizzate nei diversi esperimenti, questo ha permesso di ridurre l'effetto della variabilità propria dei maschi conspecifici sulla scelta femminile. Questo esperimento costituisce un primo tentativo di stabilire quali tratti dei maschi ibridi vengano preferiti dalle femmine nei processi di scelta sessuale.

Infine per confermare che non vi fosse un *bias* della preferenza dovuto all'effetto del confronto tra maschi vivi e animazioni, è stato condotto un esperimento di controllo in cui ad un altro gruppo di femmine è stata data la possibilità di scegliere tra un conspecifico (vivo) ed una animazione video di un conspecifico. Se gli assunti di base sono esatti e lo stimolo video viene percepito effettivamente come un conspecifico non si dovrebbe osservare una differenza nella preferenza per uno dei due.

3. 3 MATERIALI E METODI

SOGGETTI

I soggetti sperimentali (*X. birchmanni*) utilizzati negli esperimenti descritti in seguito provenivano da una popolazione campionata nel Rio Garces, Hidalgo, Messico ed in seguito trasportati presso il Dipartimento di Biologia della Texas A&M University (College Station, Texas) nel 2009. I pesci appartenenti alla popolazione ibrida utilizzati come stimoli invece sono stati campionati nel Rio Tlatelmaco nella stessa regione. In laboratorio i pesci venivano stabulati in gruppi di circa 15 individui con un rapporto approssimativo di 1:1 tra i sessi per evitare che si instaurasse un eccesso di interazioni di tipo aggressivo tra i maschi. Le vasche di stabulazione (40 litri) erano dotate ciascuna di un sistema filtrante e di un sistema di aerazione per l'ossigenazione dell'acqua. Le vasche erano illuminate da dei neon fitostimolanti (36 W) con un fotoperiodo di 12h (7.00-19.00), la temperatura era mantenuta costante a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e sul fondo di ciascuna vasca venivano disposti dei pezzi di laterizio in modo tale da fornire riparo ai pesci. L'acqua delle vasche veniva cambiata settimanalmente.

Sono state sottoposte a test un totale di 42 femmine adulte di *X. birchmanni* (SL: Media \pm DS: 35 ± 2.88 mm): 22 nel primo esperimento e 20 nell'esperimento di controllo. Per assicurarsi che le femmine utilizzate negli esperimenti fossero sessualmente mature e recettive sono state isolate per le tre settimane precedenti al test (Wong *et al.*, 2005). I pesci venivano alimentati quotidianamente con mangime in fiocchi (TetraMin) e larve di chironomidi (*Chironomidae tetans*) e regolarmente nutriti poco prima dell'inizio degli esperimenti. Ciascuna femmina test è stata osservata una sola volta nel corso della ricerca.

APPARATO SPERIMENTALE

L'apparato sperimentale (**Fig. 13**) era costituito da una vasca rettangolare (75x30x30 cm di altezza ciascuna) detta "vasca del soggetto". All'interno della

vasca sono state tracciate due linee equidistanti a 25 cm di distanza che suddividono l'area interna della vasca in tre settori. I due settori prossimi alle estremità della vasca sono stati considerati come le aree di scelta dei soggetti nelle successive analisi delle registrazioni. Le vasche erano costituite da materiale plastico di colore bianco opaco ad esclusione del lato che permetteva la visione degli stimoli, così che i soggetti sperimentali e gli stimoli relativi fossero isolati visivamente dall'ambiente esterno. Alle estremità della vasca, venivano posizionati i maschi stimolo costituiti da maschi ibridi nel primo esperimento e da conspecifici nel secondo esperimento, posti all'interno di una vaschetta di plastica trasparente (30x25x20 cm di altezza) da un lato. In posizione opposta venivano presentati su uno schermo dei filmati editati che rappresentavano un maschio conspecifico.

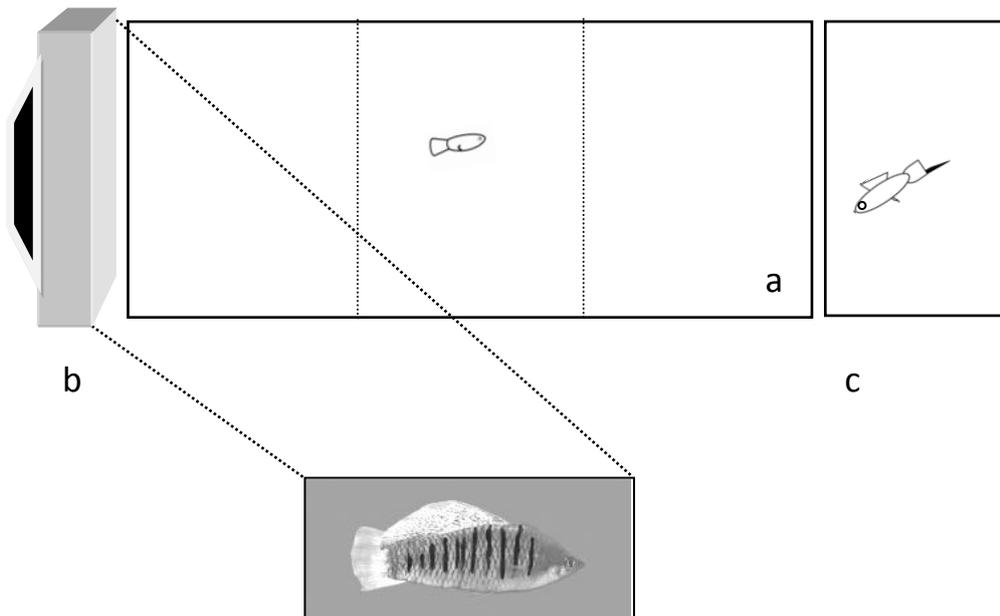


Fig. 13: rappresentazione schematica dell'apparato sperimentale. Al centro la vasca del soggetto dove venivano inserite le femmine da testare. La vasca è divisa in tre aree e le due aree antistanti gli stimoli (a) rappresentano le aree di scelta. Da un lato veniva posizionato lo schermo con l'animazione video del conspecifico (b), dall'altra, si trovava una vaschetta contenente il maschio stimolo vivo(c).

Utilizzando un protocollo precedentemente impiegato in altre ricerche, nel primo esperimento da un lato veniva posizionato in una vasca di plastica trasparente un maschio ibrido scelto casualmente all'interno della popolazione presente in laboratorio, mentre dall'altro lato veniva presentata su un monitor (IBM CRT) ampio 35 cm un'animazione rappresentante un maschio conspecifico (*X. birchmanni*) con i tratti sessuali secondari espressi mediamente in questa specie (Fisher & Rosenthal, 2006; 2007; Fisher *et al.*, 2006, 2009; Wong & Rosenthal, 2006). Nell'esperimento di controllo invece venivano presentati un maschio conspecifico ed il video del conspecifico stesso.

PROCEDURA SPERIMENTALE

Inizialmente una femmina veniva prelevata dalla vasca di stoccaggio, dove erano stati isolati i soggetti, ed inserita al centro della vasca del soggetto dove veniva lasciata in ambientamento per 10 minuti libera di nuotarvi all'interno. Trascorso tale periodo di tempo, il maschio stimolo, scelto casualmente dalle vasche di stabulazione e usato una sola volta per esperimento, veniva inserito all'interno della vaschetta e lasciato in ambientamento per altri 10 minuti. Durante questo periodo di tempo, lo stimolo non era visibile alla femmina. Davanti alla vasca veniva posto un pannello di plastica blu e, nel caso della presentazione animata, la schermata veniva mantenuta dello stesso colore. Al termine del periodo di ambientamento, i pannelli venivano sollevati tramite un sistema di fili collegati ad una carrucola per non disturbare i soggetti sperimentali, la registrazione dello stimolo animato veniva fatta partire e il comportamento della femmina veniva registrato per 20 minuti. Terminata la registrazione la femmina veniva liberata in una nuova vasca di stoccaggio dove erano presenti anche dei maschi ed un nuovo soggetto veniva inserito nell'apparato. Dal momento che sono stati allestiti due apparati identici che potevano essere utilizzati in parallelo, la posizione degli stimoli veniva invertita ad ogni prova.

Per la misura della preferenza sessuale è stato preso in considerazione il tempo trascorso dai soggetti in corrispondenza dei due stimoli e in particolare quando si trovavano entro i due settori antistanti gli stimoli (25 cm) all'interno

delle due aree di scelta. La preferenza è stata calcolata come la proporzione di tempo trascorsa verso il maschio ibrido nel primo esperimento e verso il maschio conspecifico nel secondo esperimento. Tale misura poteva andare da un minimo di 0 che indicava una preferenza totale verso il maschio opposto rispetto a quello su cui veniva calcolata la preferenza fino ad un massimo di 1 che indicava una preferenza totale per il maschio considerato. Durante i primi 5 minuti di presentazione degli stimoli, se i soggetti non effettuavano tre spostamenti all'interno dell'apparato visitando quindi le tre aree contrassegnate all'interno dell'apparato stesso, venivano automaticamente esclusi dal campione. In seguito a questa prima selezione cominciava la registrazione del test per i successivi 20 minuti.

ANALISI MORFOLOGICA DEI MASCHI STIMOLO.

Al termine di ogni esperimento, sono state misurate le caratteristiche dei maschi stimolo per poter meglio comprendere quali siano selezionate nei maschi ibridi da parte delle femmine. La misura della colorazione dei maschi stimolo è stata effettuata secondo una procedura analoga a quella utilizzata per *Poecilia reticulata* (si veda paragrafo 2. 2. per maggiori dettagli) secondo cui ciascun maschio veniva prima anestetizzato in una soluzione in cui era disciolto l'anestetico MS 222 (Sigma Aldrich, St Louis, MO) e poi fotografato con una fotocamera digitale Nikon D90 su un supporto di tessuto bianco e con un righello posto vicino che è stato utilizzato come riferimento nelle successive misurazioni. Ciascuna foto è stata poi analizzata tramite il programma Image Tool (scaricabile da: <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>). Per ciascun individuo sono state registrate la lunghezza totale (TL), la lunghezza standard (SL), l'ampiezza della pinna dorsale (calcolata come la distanza tra i due punti d'intersezione della pinna sul dorso), il numero di barre nere verticali e la presenza e lunghezza della spada nei maschi ibridi.

3. 4 RISULTATI

Esperimento 1: preferenza per i maschi ibridi

Per le analisi sono stati presi in considerazione i tratti sessuali secondari che potrebbero favorire la scelta femminile verso i maschi ibridi (lunghezza standard, ampiezza relativa della pinna dorsale, numero di barre verticali, lunghezza della spada). E' stata condotta una regressione lineare per passi inserendo nel modello i diversi tratti sessuali secondari come predittori e utilizzando come variabile dipendente la proporzione di tempo trascorsa verso il maschio ibrido. L'unico predittore della preferenza sessuale è risultata essere la lunghezza del maschio (Regressione lineare per passi: $F_{(1,21)} = 158.613$, $p < 0.001$) essendo i maschi più grandi preferiti rispetto ai più piccoli. Non sono invece risultati significativamente correlati con la scelta l'ampiezza relativa della pinna dorsale ($p = 0.591$), il numero di barre verticali ($p = 0.302$) e la lunghezza della spada ($p = 0.071$).

Esperimento di controllo: preferenza tra animazioni video e stimoli reali

La preferenza è stata calcolata come la proporzione di tempo trascorsa in prossimità del maschio conspecifico vivo rispetto al tempo totale trascorso nelle aree di scelta. I risultati hanno evidenziato che non vi è una preferenza statisticamente significativa per uno dei due tipi di stimolo (test- t per campioni unici: $\text{Media} \pm \text{DS} = 0.653 \pm 0.366$; $t(19) = 1.870$, $p = 0.077$).

3. 5 DISCUSSIONE

Gli esperimenti svolti in questa parte della mia ricerca costituivano un primo tentativo per verificare se vi fossero tratti morfologici dei maschi ibridi (*X. birchmanni* x *X. malinche*) preferiti dalle femmine e che potessero spiegare il fatto che le femmine di questa specie non evitano gli accoppiamenti con i maschi ibridi come invece accade per le femmine di *X. malinche*. A questo scopo, è stata data la

possibilità a femmine di *X. birchmanni* di scegliere tra un maschio conspecifico e un maschio ibrido per studiare quali caratteri dei maschi ibridi potessero essere predittori di una preferenza verso questi ultimi. Utilizzando un procedura sperimentale già adottata in precedenza, per ridurre al minimo l'influenza delle caratteristiche del maschio conspecifico sulla preferenza è stato messo a confronto un maschio ibrido con un' animazione video rappresentante un maschio conspecifico dalle caratteristiche mediamente espresse in questa specie.

In un primo esperimento sono stati confrontati un maschio appartenente ad una popolazione ibrida e il video di un maschio conspecifico. Per capire come ogni singolo tratto possa influire sulla preferenza femminile, sono stati presi in considerazione quindi i caratteri sessuali secondari che determinano di norma la preferenza femminile verso i conspecifici (lunghezza standard, ampiezza relativa della pinna dorsale, numero di barre verticali e lunghezza della spada). Tra questi solo la lunghezza standard è risultata influire in modo significativo sulla preferenza e i risultati ottenuti dall'esperimento di controllo confermano la validità della procedura sperimentale adottata. I risultati indicano che la preferenza femminile è rivolta, così come accade con i maschi conspecifici, verso i maschi ibridi di grandi dimensioni.

Inoltre, a differenza di quanto ipotizzato, non è stata trovata alcuna relazione tra la preferenza sessuale e gli altri tratti considerati. Il fatto che in questo esperimento non si riscontri una preferenza anche in relazione agli altri tratti considerati non esclude che uno di questi possa essere importante nel determinare la scelta femminile verso i maschi ibridi. Infatti, trattandosi di un esperimento preliminare, è possibile che sia stato utilizzato un campione troppo piccolo di individui per dimostrarlo. Inoltre, a causa delle dimensioni del campione, i maschi ibridi scelti potrebbero non essere rappresentativi rispetto a tutto il *range* di possibili combinazioni dei tratti sessuali presenti nella popolazione ibrida.

Un' ipotesi plausibile potrebbe essere che le femmine riescano a discriminare tra conspecifici e eterospecifici ma non tra conspecifici e ibridi perché questi presentano caratteristiche troppo simili ai maschi di *X. birchmanni*.

Infine non si può escludere che il fattore che spiega perché le femmine non evitino gli accoppiamenti con i maschi ibridi non sia tra quelli considerati in questo esperimento. Infatti, in questo esperimento, sono stati considerati solo i tratti fenotipici su cui si basa normalmente la preferenza femminile verso i maschi conspecifici. Qualche altro carattere non preso in considerazione potrebbe invece influire sulla preferenza. Ad esempio è risaputo che la scelta sessuale avviene anche attraverso il riconoscimento olfattivo (Fisher & Rosenthal, 2006) e quindi le femmine potrebbero non essere in grado di distinguere i maschi conspecifici dai maschi ibridi sulla base delle sole informazioni visive, soprattutto in un sistema ecologico dove più specie vivono simpatricamente. Inoltre molti aspetti del comportamento sessuale dei maschi ibridi sono ancora sconosciuti. Ad esempio non si conosce se la frequenza con cui viene innalzata la pinna dorsale sia la stessa della specie parentale nella competizione tra maschi. Non essendoci ancora informazioni su come i maschi ibridi utilizzino questo segnale e come venga interpretato dalle femmine, non si può escludere che i maschi ibridi siano più aggressivi rispetto ai conspecifici impedendo a questi ultimi l'accesso alle femmine.

Ulteriori studi quindi saranno necessari per approfondire altri aspetti del comportamento dei maschi ibridi. Gli studi in laboratorio ad esempio potrebbero venire facilmente integrati con osservazioni in natura che utilizzino lo stesso modello sperimentale. Un quadro più completo sul comportamento di questa specie consentirebbe di condurre studi più complessi in cui considerare altri possibili fattori coinvolti nella discriminazione tra maschi ibridi e conspecifici.

4 Parte 3: SCELTA SESSUALE CONTESTO DIPENDENTE NEI MASCHI DI *Poecilia reticulata*

4. 1. ADATTAMENTI DELLA SCELTA SESSUALE MASCHILE ALLE STRATEGIE FEMMINILI

Gli esperimenti condotti nella prima parte della mia ricerca suggeriscono che la scelta sessuale femminile in *Poecilia reticulata* sia basata su meccanismi di valutazione comparativa dei potenziali partner. Appare probabile infatti che le femmine percepiscano gli ornamenti di un maschio in relazione a quelli di altri maschi presenti piuttosto che basandosi su un criterio di valutazione razionale ed assoluto.

Una delle conseguenze della scelta comparativa è che uno stesso individuo può risultare più o meno attraente a seconda del contesto in cui si trova. Riadattando l'illusione ottica di Ebbinghaus-Titchener alla scelta sessuale (**Fig. 14**), così come due figure di uguali dimensioni vengono percepite diversamente a seconda della grandezza degli altri elementi che le circondano (*contrast illusion*), sembrando più grandi se circondate da piccoli oggetti e più piccole se circondate da oggetti di maggiori dimensioni, ci si attende che un maschio sia percepito da una femmina come più o meno attraente in relazione agli altri competitori presenti. Se questa ipotesi è attendibile, i maschi potrebbero scegliere il contesto a loro più favorevole per corteggiare la femmina modellando la loro strategia di scelta in accordo con i limiti cognitivi delle femmine e la qualità dei loro competitori (Bateson & Healy, 2005). Allo stato attuale in letteratura sono state riportate le prime evidenze di come la valutazione comparativa influisca sulla scelta del partner sia in ambito umano (Bateson & Healy, 2005; Sedikides *et al.*, 1999), che in ambito animale (Royle *et al.*, 2008) mentre, come i maschi siano in grado di sfruttare a proprio vantaggio i limiti cognitivi e percettivi delle femmine, è un aspetto che deve ancora essere indagato nell'ambito della scelta sessuale maschile.

L'effetto illusorio del contesto può risultare più accentuato quando riguarda la percezione dei colori (Beau-Lotto, 2004) e dal momento che la

preferenza femminile in *P. reticulata* si basa soprattutto sulla colorazione maschile, è plausibile che il contesto sia determinante nello scegliere quale maschio sia più o meno attraente. La preferenza femminile quindi può cambiare ogni qual volta il contesto in cui viene osservato il maschio cambia e, come conseguenza, uno stesso maschio non sempre risulterebbe quello preferito.

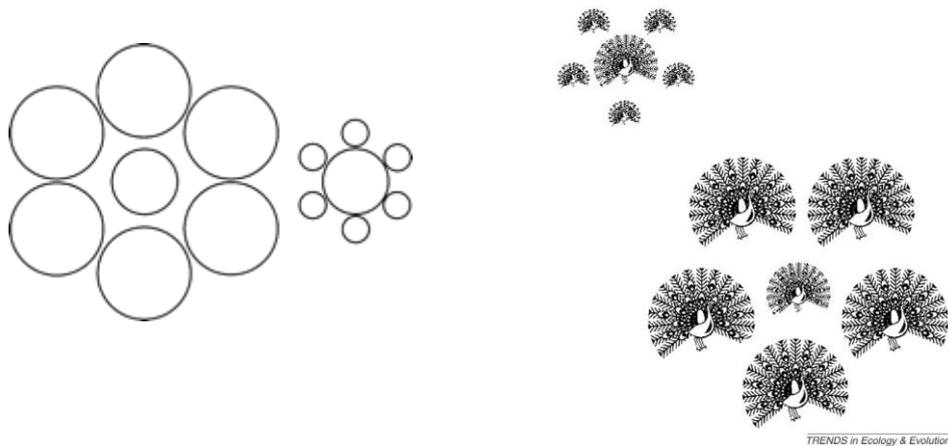


Fig. 14: A sinistra l'illusione ottica di Ebbinghaus-Titchener. A destra (tratto da Bateson & Healy, 2005) un esempio di come la percezione visiva possa influenzare una strategia di tipo comparativo nella scelta sessuale. Così come i due cerchi anche i pavoni che si trovano al centro della figura a destra pur essendo delle stesse dimensioni corporee sembrano diversi in relazione agli altri esemplari che li circondano.

Facendo riferimento ai risultati della prima parte di questa ricerca, lo scopo del primo dei seguenti esperimenti è stato quello di verificare se i maschi di *P. reticulata*, quando viene data loro la possibilità di scegliere tra due femmine, una in prossimità di maschi molto colorati e quindi molto attraenti e una in prossimità di maschi poco colorati, viceversa poco attraenti, scelgano il contesto migliore nel quale corteggiare una delle due. Se la loro strategia coincide con quanto atteso, i maschi e in particolar modo i maschi che presentano una colorazione poco estesa, dovrebbero dimostrare una preferenza per le femmine che si trovano vicine ai maschi poco colorati dal momento che la loro probabilità di corteggiare con

successo una femmina risulta minore. Un maschio poco colorato avrà un vantaggio maggiore dal saper scegliere il miglior contesto in cui corteggiare poiché la percezione della sua attrattività da parte della femmina cambierà in relazione alla colorazione dei competitori. Lo scopo del secondo esperimento invece era di verificare se la scelta del contesto migliore in cui corteggiare le femmine dipenda dall'esperienza. Per questo motivo i soggetti sono stati divisi in due gruppi. Un gruppo è stato allevato in presenza sia di maschi che di femmine mentre il secondo gruppo è stato allevato solo in presenza di femmine. In questo secondo caso ci si aspetta che i maschi, non avendo una precedente esperienza di altri possibili competitori per l'accesso alle femmine, non dimostrino alcuna preferenza verso le femmine in relazione al tipo di maschi che le circondano. Ciascun soggetto inoltre è stato osservato in due successivi test di scelta spontanea, in cui poteva scegliere tra due femmine, una in prossimità di due maschi molto colorati e una in prossimità di due maschi poco colorati. Le osservazioni sono state effettuate una volta in presenza della femmina e una volta in assenza. I maschi sono stati testati in entrambe le condizioni per verificare se la loro scelta dipendesse esclusivamente dalla presenza della femmina in relazione ai maschi che la circondavano oppure se lo stesso comportamento venisse mantenuto anche in assenza della femmine. Un problema da non sottovalutare era infatti la possibilità che il maschio test scegliesse preferibilmente la femmina circondata da maschi poco colorati rispetto a quella vicina ai maschi molto colorati non per un interesse rivolto verso la femmina stessa e basato sulla scelta comparativa femminile ma perché i maschi poco colorati potrebbero essere meno aggressivi. Nonostante in letteratura per quanto riguarda *Poecilia reticulata* non siano state riportate evidenze di comportamenti aggressivi e di competizione diretta tra maschi (Houde, 1997; Price & Rodd, 2006) l'eventualità che la colorazione dei maschi influisse sul livello di aggressività e quindi sulla loro scelta non poteva essere ignorata.

Per verificare questa ultima ipotesi, è stato condotto un terzo esperimento in cui a due maschi veniva data la possibilità di interagire direttamente. Anche in questo caso il comportamento è stato osservato in presenza e in assenza della femmina.

4. 2 MATERIALI E METODI

Esperimento 1: scelta sessuale maschile in *P. reticulata* in relazione al contesto

SOGGETTI

I soggetti sperimentali utilizzati per i seguenti esperimenti sono stati allevati presso il Dipartimento di Biologia dell'Università degli Studi di Padova. In laboratorio i pesci sono stati stabulati in gruppi misti con un rapporto approssimativo di 1:1 tra i sessi e in condizioni analoghe a quanto descritto nella Parte 1. Ogni vasca di stoccaggio era quindi dotata di un sistema filtrante e di neon fitostimolanti, la temperatura era mantenuta costante a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ con un ciclo luce:buio di 12:12 ore. Sul fondo di ciascuna vasca era presente del ghiaio per acquari ed, inoltre, veniva disposta sia vegetazione artificiale che naturale per fornire ai pesci un riparo.

Sono stati sottoposti a test un totale di 20 maschi adulti di *P. reticulata*. I pesci venivano quotidianamente alimentati con mangime secco per pesci tropicali (DuplaRin) e naupli vivi di *Artemia salina* e regolarmente nutriti poco prima dell'inizio delle osservazioni. Ciascun soggetto è stato osservato solamente in uno dei 3 esperimenti sotto descritti nel corso della ricerca. Tutti gli individui utilizzati erano sessualmente maturi (4-6 mesi di età) al momento del test.

APPARATO SPERIMENTALE

L'apparato sperimentale utilizzato per i test di scelta spontanea era costituito da una vasca quadrata (68x68x36 cm di altezza) al cui centro veniva inserito il maschio test da osservare. Su ciascun lato della vasca sono stati ricavati tre alloggi di base 11x11 cm al cui interno venivano posizionati i maschi e le femmine stimolo isolati singolarmente (**Fig. 15**). L'apparato sperimentale era mantenuto alla temperatura delle vasche stock di stabulazione ($26 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Ogni

singolo scompartimento in cui venivano alloggiati gli stimoli era dotato di una lampada alogena (per ambienti esterni e resistente all'acqua) da 75W posta a 50 cm di altezza rispetto al fondo della vasca. Il fascio luminoso era posizionato in modo tale da illuminare esclusivamente l'interno del settore permettendo al maschio test di vedere gli stimoli ma non viceversa.

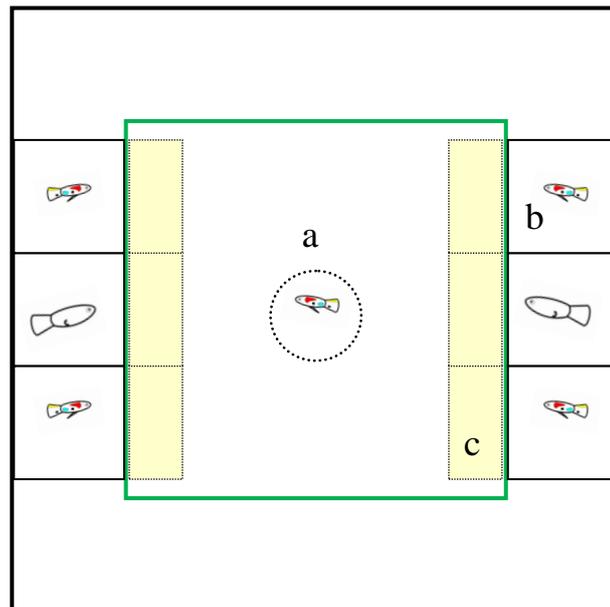


Fig. 15: rappresentazione schematica dell'apparato sperimentale utilizzato negli esperimenti 1 e 2. a) settore centrale in cui veniva inserito il soggetto sperimentale, b) scompartimenti laterali in cui venivano inseriti i maschi (lateralmente) e le femmine (scomparto centrale) stimolo, c) aree antistanti gli stimoli definite aree di scelta.

L'apparato è stato collocato in un ambiente buio e isolato rispetto all'esterno da un telo coprente nero. Le luci venivano accese o spente nelle diverse fasi dell'esperimento grazie a degli interruttori esterni posti in modo tale da limitare il disturbo creato dallo sperimentatore. Una videocamera (Sony Handycam DCR-SR57E), posta a circa 1.5 m di altezza sopra l'apparato, permetteva la registrazione del comportamento del soggetto per tutta la durata dell'esperimento.

PROCEDURA SPERIMENTALE

Inizialmente le femmine stimolo venivano prelevate dalla vasca di stabulazione, inserite nei due alloggi in posizione centrale su lati opposti dell'apparato sperimentale e lasciate in ambientamento per 60 minuti. Trascorso tale periodo, venivano inseriti i maschi stimolo: rispettivamente due maschi poco colorati venivano inseriti negli alloggi ai lati di quello contenente una delle due femmine stimolo mentre due maschi molto colorati venivano posizionati ai lati dell'altra femmina. La posizione dei maschi stimolo (destra/sinistra) è stata invertita in modo casuale al termine di ogni prova, così da escludere possibili *bias* dovuti alla struttura dell'apparato. I maschi e le femmine stimolo erano isolati tra loro visivamente e fisicamente. Infine, per ridurre possibili artefatti dovuti all'introduzione diretta del soggetto all'interno dell'apparato, al centro della vasca è stato posizionato un cilindro di plastica trasparente (12 cm di diametro) dove i maschi test venivano lasciati in ambientamento per 10 minuti durante i quali avevano la possibilità di osservare gli stimoli. Al termine del periodo di ambientamento, le luci poste al di sopra degli alloggi dei maschi stimolo venivano spente il cilindro veniva lentamente sollevato tramite un sistema di fili collegati ad una carrucola e il maschio test veniva liberato. Dal momento in cui il maschio ricominciava a nuotare con tranquillità nella vasca (periodo in genere non superiore ai 10 secondi) il suo comportamento veniva osservato direttamente dallo sperimentatore per 10 minuti e la sua posizione veniva registrata ad intervalli di 5 secondi.

Per la misura della preferenza sessuale è stato preso in considerazione il numero di volte in cui il maschio si trovava all'interno dell'area di scelta (entro 5 cm di distanza dagli stimoli, circa *3 body lengths*) in corrispondenza del lato della femmina precedentemente in prossimità dei maschi poco colorati rispetto al numero totale di osservazioni all'interno di entrambe le aree di scelta.

Esperimento 2: scelta sessuale maschile in relazione al contesto e all'esperienza

SOGGETTI

Sono stati sottoposti a test un totale di 73 maschi adulti di *P.reticulata*. Prima dell'esperimento i soggetti erano mantenuti in condizioni standard di laboratorio.

I maschi test, selezionati assicurandosi che fossero attivi sessualmente provenivano da due condizioni di stabulazione diverse. Un primo gruppo di soggetti (N=50) definiti come maschi "con esperienza" era stato allevato in vasche in cui erano presenti sia maschi che femmine avendo così la possibilità di fare esperienza di competizione con altri maschi. Un secondo gruppo di soggetti (N=23) invece, è stato allevato in vasche in cui erano presenti solamente femmine. A questi soggetti ci si riferirà in seguito come maschi "naïve" dal momento che pur avendo esperienza sessuale, non potevano avere invece la percezione di un maschio più o meno attraente non avendo mai fatto esperienza di altri possibili competitori. La preferenza è stata calcolata come nell'esperimento precedente come il numero di osservazioni effettuate per ogni soggetto nell'area di scelta dal lato dei maschi stimolo poco colorati rispetto al numero totale di osservazioni in prossimità degli stimoli.

APPARATO SPERIMENTALE

In questo esperimento è stato utilizzato il medesimo apparato sperimentale descritto nel precedente esperimento.

PROCEDURA SPERIMENTALE

Anche la procedura sperimentale era simile a quella descritta precedentemente e prevedeva un confronto simultaneo tra due femmine ciascuna vicina a maschi poco o molto colorati. In questo esperimento però ciascun

maschio veniva testato due volte a tre giorni di distanza una dall'altra. In un primo caso le femmine stimolo erano visibili ai maschi durante il test mentre nel secondo caso venivano oscurate e il maschio poteva solamente osservare i maschi stimolo poco o molto colorati. L'ordine delle due prove (in presenza o in assenza delle femmine) e la posizione dei maschi stimolo (destra/sinistra all'interno dell'apparato) sono stati cambiati al termine di ogni prova mantenendo però l'ordine di presentazione degli stimoli entro lo stesso soggetto.

Esperimento 3: relazione tra colorazione del maschio e interazioni aggressive

SOGGETTI

Per quanto riguarda l'ultimo esperimento di questa parte della mia ricerca, per comprendere quali siano gli effetti della competizione intrasessuale sulla scelta maschile in *P. reticulata*, 24 coppie di maschi adulti sono state sottoposte ad un test di interazione diretta. Due maschi scelti casualmente con un pattern di colorazione non troppo simile in modo da distinguerli facilmente (differenza per l'estensione della colorazione arancio: Media \pm DS: 5.7% \pm 1.01, differenza per dimensioni corporee (SL): Media \pm DS: 1.03 \pm 0.15 cm) venivano lasciati interagire all'interno della vasca sperimentale e il loro comportamento osservato in due sessioni successive, in presenza o in assenza di una femmina. I due maschi non dovevano provenire dalla stessa vasca di stabulazione, un'accortezza usata per escludere che scarse interazioni aggressive potessero dipendere da una familiarità già acquisita o dalla parentela tra i maschi utilizzati.

APPARATO SPERIMENTALE

Per quanto riguarda il terzo esperimento, è stato utilizzato un apparato sperimentale costituito da una vasca (24x20x30 altezza cm) in cui sono state osservate e registrate le interazioni dirette tra due maschi in presenza o in assenza

di una femmina (si veda di seguito PROCEDURA SPERIMENTALE per i dettagli)

PROCEDURA SPERIMENTALE

I due maschi venivano inizialmente inseriti nella vasca e il loro comportamento veniva registrato per 20 minuti. Dopo una pausa di 20 minuti in cui i maschi rimanevano insieme nella vasca, veniva aggiunta una femmina adulta e non recettiva ed i maschi venivano osservati ulteriormente per altri 20 minuti. Sono stati osservati e registrati il numero di interazioni aggressive tra i maschi e, in presenza della femmina, sono stati registrati anche i comportamenti rivolti verso queste ultime (Price & Rodd, 2006):

Per le successive analisi tutti i comportamenti osservati e registrati, sono stati distinti in due categorie: le interazioni di tipo sessuale,

Gonopodial thrust (GT): tentativo di copula forzata da parte di un maschio.

Display: il maschio effettua un *sigmoid display* verso la femmina corteggiandola.

e le interazioni aggressive espresse come la differenza delle interazioni aggressive ricevute e intraprese da ciascun maschio rispetto al numero di osservazioni totali nei 20 minuti di test.

Physical contact: ogni contatto fisico, fatto o subito, tra i due maschi o verso la femmina, inclusi eventuali morsi.

Following: inseguimento tra maschi. Il maschio che insegue nuota a non più di tre lunghezze di distanza dal maschio inseguito.

Chase: Un maschio scatta verso l'altro maschio e lo insegue per un certo periodo di tempo.

Charging: i due maschi nuotano uno verso l'altro e si fronteggiano da vicino.

Interruption: un maschio scatta verso l'altro e gli si posiziona davanti interrompendo la sua attività.

Parallel swimming: i maschi nuotano l'uno al fianco dell'altro nella stessa direzione, approssimativamente a non più di una lunghezza di distanza.

ANALISI MORFOLOGICA DEGLI STIMOLI

La misura della colorazione dei maschi stimolo è stata effettuata secondo una procedura consolidata (si veda 2.2. per maggiori dettagli). Brevemente: ciascun maschio veniva prima anestetizzato in una soluzione in cui era disciolto l'anestetico MS 222 (Sigma Aldrich, St Louis, MO) e poi fotografati con una fotocamera digitale Canon EOS 450D su un supporto di carta millimetrata usato in seguito come riferimento per le misurazioni. Ciascuna foto è stata in seguito analizzata tramite il programma Image Tool (scaricabile da: <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>). Per ciascun individuo sono state registrate la lunghezza totale (TL), la lunghezza standard (SL), l'area relativa delle macchie arancio (estensione delle macchie arancio, gialle e rosse rispetto all'area totale) e la colorazione totale (somma dell'estensione delle macchie arancio, nere e iridescenti). In seguito all'analisi morfologica, in base ai criteri utilizzati anche in uno studio precedente (Pilastro *et al.*, 2004), i maschi selezionati (N=91) sono stati suddivisi in due gruppi di stimoli a seconda della percentuale di colorazione arancio: maschi poco colorati, la cui percentuale di colorazione arancio era < 9% (N=46; Media \pm DS: 4,84 \pm 2.89) e maschi molto colorati con una percentuale di colorazione arancio > 20% (N=45; Media \pm DS: 25.13 \pm 3.73). Maschi poco e molto colorati non differivano significativamente tra loro in dimensioni (test-*t* a campioni indipendenti: $t(90) = 1.330$; $p = 0.194$). I maschi stimolo sono stati scelti casualmente a coppie dallo stesso gruppo durante le prove e venivano usati una sola volta fin tanto che tutti i maschi di uno stesso gruppo non fossero stati utilizzati. Ciascuno stimolo quindi può essere stato utilizzato più volte nel corso degli esperimenti

Le femmine stimolo invece venivano prelevate da un *pool* costituito da femmine vergini mature sessualmente scelte secondo una lunghezza standard

variabile tra i 23 e i 25 mm (N=30 Media \pm DS: 22.93 \pm 1.48 mm). La coppia di femmine stimolo comunque era scelta in modo tale che, vista la rilevanza delle dimensioni delle femmine nella scelta sessuale maschile, la loro lunghezza standard non differisse per più di 1 mm.

4.3 RISULTATI

Le analisi statistiche dei dati sono state condotte utilizzando il programma PASW Statistics18 per Windows. La soglia di significatività è stata posta a $p = 0.05$ (Media \pm DS)

Esperimento 1: scelta sessuale maschile in *P. reticulata* in relazione al contesto

I maschi hanno trascorso circa l'80% del tempo all'interno delle due aree di scelta (N=20, Media \pm DS: 78% \pm 10.5) dimostrando di poter distinguere le femmine stimolo. E' stato condotto un *t*-test a campione unico utilizzando come variabile dipendente la proporzione di osservazioni effettuate in prossimità della femmina che si trovava vicino ai maschi stimolo poco colorati rispetto al numero di osservazioni totali all'interno delle aree di scelta. Dalle analisi statistiche condotte emerge una preferenza statisticamente significativa per le femmine che si trovavano vicine ai maschi poco colorati (Media \pm DS: 0.698 \pm 0.232; $t(19) = 3.809$, $p = 0.001$) (**Fig. 16**).

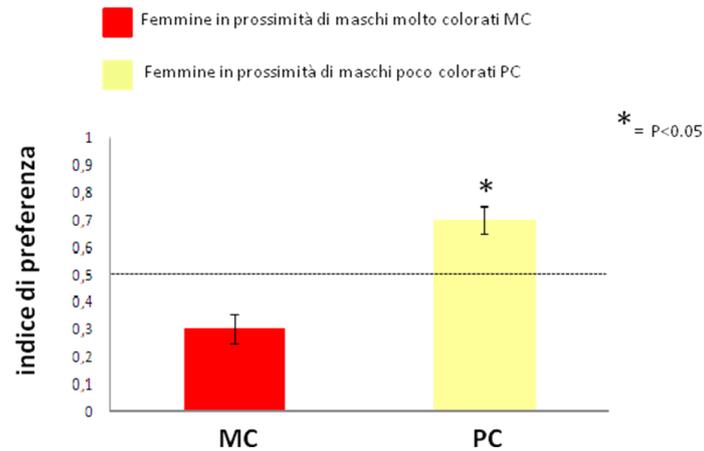


Fig. 16: risultati dell'Esperimento 1

Inoltre secondo quanto predetto, la preferenza maschile è negativamente correlata all'estensione della colorazione degli individui per cui individui poco colorati tendono a trascorrere più tempo in prossimità delle femmine precedentemente osservate vicino ad altri maschi poco colorati sia in base all'estensione delle macchie arancio (Spearman test: $\rho_s = -0.534$, $p = 0.015$; **Fig. 17**) che in base alla colorazione totale (estensione delle macchie arancio, iridescenti e nere, Spearman test: $\rho_s = -0.634$, $p = 0.003$)

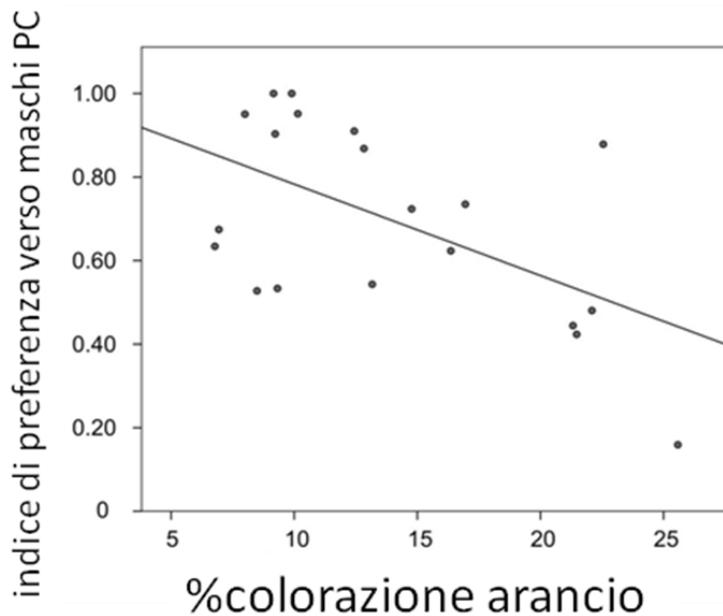


Fig. 17: grafico della correlazione tra estensione della colorazione arancio nei maschi test e l'indice di preferenza espresso verso la femmina in prossimità dei maschi poco colorati.

Esperimento 2: scelta sessuale maschile in relazione al contesto e all'esperienza

In questo esperimento i maschi hanno trascorso più dell'80% del tempo all'interno delle due aree di scelta (N=73, Media \pm DS: 84% \pm 11.7) dimostrando di distinguere gli stimoli. E' stato condotto un *t*-test a campione unico utilizzando come variabile dipendente il numero di osservazioni effettuate per ogni maschio in prossimità del lato dove erano presenti i maschi poco colorati sul numero di osservazioni totali in prossimità degli stimoli. Dalle analisi risulta che nei maschi con esperienza non vi è una preferenza significativa verso il lato dei maschi stimolo poco colorati in assenza delle femmine ($t(49)= 0.429$, $p = 0.670$) mentre emerge una preferenza statisticamente significativa in presenza delle femmine ($t(49)= 3.050$, $p = 0.004$). (**Fig. 18**).

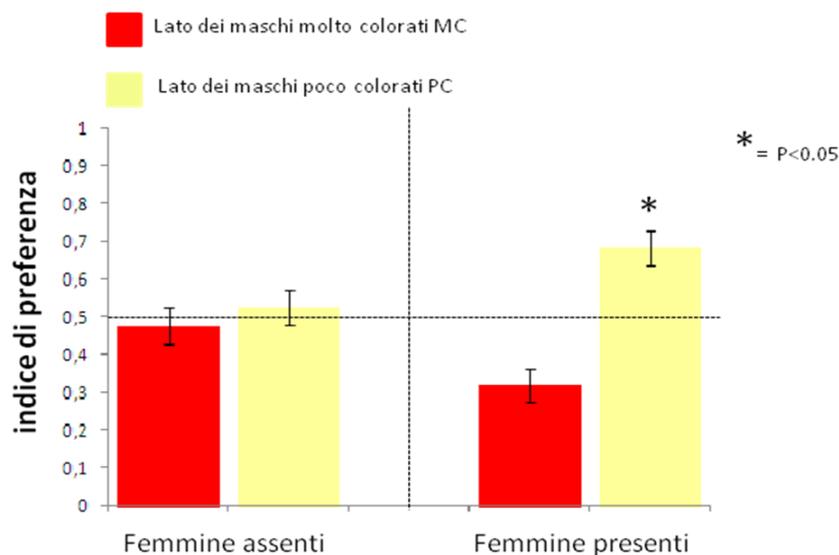


Fig. 18: risultati dell'esperimento 2 per maschi con esperienza

Anche in questo caso si riscontra una correlazione negativa sia tra l'estensione della colorazione arancio e la preferenza verso il lato dei maschi poco colorati (Spearman test, $\rho_s = -0.336$, $p = 0.017$) sia tenendo in considerazione l'estensione totale della colorazione (macchie arancio, iridescenti e nere) (Spearman test, $\rho_s = -0.113$, $p = 0.435$).

Per quanto riguarda i maschi naïve, privi di esperienza, la preferenza invece non risulta statisticamente significativa né in assenza ($t(22)= 0.283$, $p = 0.780$) né in presenza delle femmine ($t(22)= 1.278$, $p = 0.215$) (**Fig. 19**).

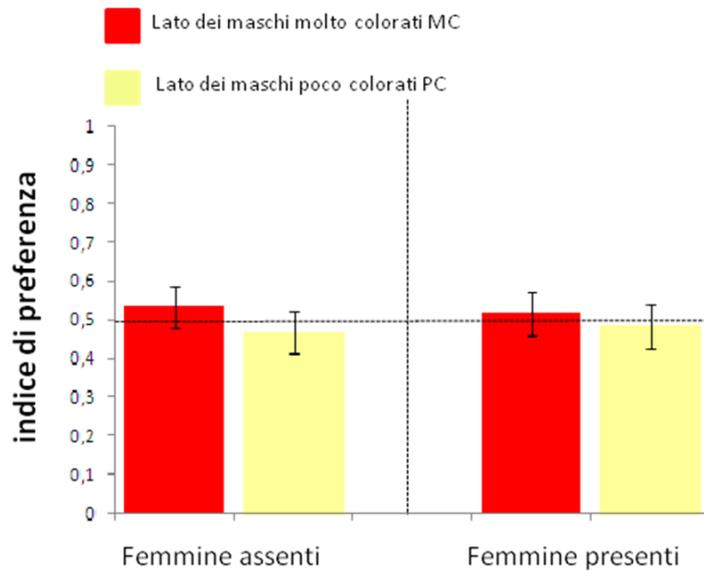


Fig 19: risultati dell'esperienza 2 per maschi naïve

Esperimento 3: relazione tra colorazione del maschio e interazioni aggressive

Per verificare se la colorazione dei maschi influisce sul loro livello di aggressività, è stato condotto un test non parametrico per dati appaiati che ha evidenziato come non vi sia una variazione significativa nel livello di aggressività dei maschi in presenza o meno di una femmina per cui competere ($W= 62.5$, $p = 0.78$ test Wilcoxon per dati appaiati). La differenza di colorazione tra i maschi non correla con il grado di aggressività né in assenza (Spearman test, $\rho_s= -0.10$, $p = 0.64$) né in presenza della femmina (Spearman test, $\rho_s = 0.10$, $p = 0.63$). Inoltre in presenza della femmina la differenza di colorazione tra i maschi test non correla con la differenza nell' intensità delle interazioni sessuali, né per quanto riguarda il numero di GT (Spearman test, $\rho_s= 0.12$, $p = 0.58$) né per quanto riguarda il numero di *display* (Spearman test, $\rho_s=0.20$, $p = 0.35$).

4.4 DISCUSSIONE

Lo scopo di questa terza parte del mio progetto di dottorato era quello di verificare l'ipotesi secondo cui i maschi di *Poecilia reticulata* sarebbero in grado di sfruttare la scelta comparativa femminile in modo a loro favorevole al fine di massimizzare il loro successo riproduttivo. Se le femmine scelgono il proprio partner sessuale paragonando i maschi che osservano è possibile di conseguenza che i maschi abbiano evoluto delle strategie per sfruttare tale meccanismo di scelta comparativa a loro favore corteggiando la femmina nel contesto in cui le loro qualità vengono risaltate.

Il primo esperimento era volto a verificare se i maschi scelgono o meno il contesto sociale a loro più favorevole in modo da essere percepiti dalla femmina come più attraenti rispetto agli altri competitori. E' possibile che un maschio poco colorato scelga di corteggiare una femmina che si trova in un gruppo con altri maschi poco colorati in modo da apparire più attraente e aumentare le possibilità di essere scelto per l'accoppiamento. I maschi test mostrano una preferenza statisticamente significativa verso la femmina che si trovava in prossimità dei maschi poco colorati e tale preferenza è risultata correlare con la colorazione arancio del maschio stesso per cui maschi meno colorati trascorrerebbero significativamente più tempo in prossimità di queste ultime.

Il secondo esperimento si proponeva innanzitutto di verificare se la scelta maschile del contesto in cui corteggiare la femmina dipende dalla precedente esperienza di interazione con altri maschi. Dai risultati si osserva che solo i maschi precedentemente allevati in gruppi misti di maschi e femmine mostrano una preferenza per le femmine che si trovano in prossimità di maschi poco colorati vicino ai quali si suppone possano avere un maggior successo riproduttivo. I maschi naïve, privi di esperienza, non hanno invece mostrato alcuna preferenza né per le femmine che si trovavano vicino a maschi poco colorati né per femmine vicine a maschi molto colorati. In secondo luogo con questo esperimento si è voluto verificare se tale preferenza dipenda esclusivamente dalla presenza delle femmine o se i maschi più colorati vengano evitati indipendentemente dal contesto della scelta sessuale. Il test precedente

quindi è stato ripetuto per ogni soggetto in assenza delle femmine. In questa seconda condizione però non è stata riscontrata alcuna preferenza per una delle due tipologie di competitori. Infine per escludere completamente la possibilità che l'evitamento dei maschi molto colorati dipendesse dalla loro maggiore aggressività è stato condotto un terzo esperimento in cui due maschi potevano interagire direttamente tra loro in presenza o meno di una femmina. I risultati hanno evidenziato che il livello di aggressività non cambia nelle due condizioni e in relazione alla differenza di colorazione tra i maschi test.

In generale, i risultati di questo lavoro forniscono una prima evidenza che i maschi di *P. reticulata* sarebbero in grado di scegliere il contesto sociale che aumenta la percezione della loro qualità nelle femmine. Dal momento che la preferenza maschile è rivolta verso femmine che si trovano vicine a maschi poco colorati si può supporre che i maschi siano in grado di valutare la qualità dei maschi con cui competere. Bisogna sottolineare comunque che una capacità potrebbe semplicemente derivare da un processo cognitivo in cui i maschi associano il grado di colorazione dei loro competitori al rispettivo successo riproduttivo e, come suggeriscono i risultati dell'Esperimento 2, la componente esperienziale potrebbe influenzare la scelta maschile a tal riguardo (Fawcett & Bleay, 2009). Tuttavia capire quali siano i meccanismi e i limiti cognitivi che permettono ai maschi di percepire il proprio livello qualitativo e di fare la conseguente scelta non rientrava negli scopi di questo esperimento mentre uno studio preliminare a tal riguardo è stato condotto nella successiva parte di questa ricerca.

5 Parte 4: LIMITI COGNITIVI E SCELTA SESSUALE MASCHILE

Come detto precedentemente, le informazioni sui criteri di scelta maschile sono molto più scarse rispetto a quelle disponibili per la scelta femminile. Tuttavia è sempre più evidente che in molte circostanze sia vantaggioso anche per i maschi essere selettivi nella scelta della femmina con cui accoppiarsi (Amundsen, 2000).

Nelle specie sociali, gli individui si muovono in gruppi che possono variare per dimensioni, formando gruppi più o meno numerosi, per la composizione e per il rapporto numerico tra i sessi (Lindenfors *et al.*, 2004). Poiché nei maschi solitamente il successo riproduttivo cresce all'aumentare delle opportunità di accoppiamento, ci si aspetta che la scelta da parte di un maschio di associarsi con un gruppo dalle caratteristiche specifiche possa avere dei benefici sul suo successo riproduttivo.

Nei pecilidi in particolare le femmine si muovono di solito in gruppi sociali che possono comprendere anche decine di individui (Bisazza & Marin, 1995) mentre i maschi tendono a nuotare isolatamente associandosi ad un gruppo di femmine o ad un altro. Si può ipotizzare che, in questa situazione, per i maschi potrebbe essere vantaggioso evolvere dei meccanismi che consentano di scegliere il gruppo più vantaggioso a cui unirsi per incrementare il loro successo riproduttivo, come ad esempio il gruppo dove è presente un numero maggiore di femmine o il gruppo in cui non vi siano altri maschi con cui competere.

In uno studio che ho condotto in precedenza con alcuni ricercatori del Laboratorio di Psicologia Animale e Comparata dell'Università degli Studi di Padova (Agrillo *et al.*, 2008a) abbiamo sottoposto a verifica queste ipotesi utilizzando maschi adulti di *Gambusia holbrooki* come modello di ricerca. In un primo esperimento si è voluto verificare se i maschi preferissero un gruppo costituito da tre femmine rispetto ad una femmina singola. I maschi in questa condizione mostrano una preferenza statisticamente significativa verso il gruppo di femmine piuttosto che verso la femmina isolata. In un secondo esperimento si è voluto verificare se la preferenza dipendesse gruppi più o meno grandi di femmine

poste a confronto. Per questo motivo i maschi potevano scegliere tra un piccolo gruppo costituito da due femmine e un gruppo più numeroso costituito da quattro femmine. Anche in questo caso si è osservata una preferenza dei maschi verso il gruppo più numeroso di femmine. Dai risultati di questi primi due esperimenti sembrerebbe quindi che per i maschi sia più vantaggioso scegliere il gruppo più numeroso di femmine. È stato in seguito verificato se la preferenza maschile possa variare in relazione alla presenza di altri maschi possibili competitori nel gruppo. È stata osservata la preferenza dei maschi tra un gruppo costituito da tre femmine e un gruppo costituito da tre femmine e due maschi. Dai risultati di questo esperimento si osserva una preferenza dei maschi è rivolta verso il gruppo costituito da sole femmine dove si può ipotizzare che i maschi abbiano una maggior probabilità di accoppiamento. Infine, per valutare se la preferenza fosse influenzata anche dalla *sex ratio* dei gruppi posti a confronto, i maschi sono stati osservati in un test di scelta spontanea tra due gruppi costituiti dallo stesso numero di femmine (tre femmine in ciascun gruppo) ma da un numero di maschi diversi (quattro maschi in un gruppo e due maschi nell'altro gruppo). I maschi tuttavia non hanno mostrato alcuna preferenza in questa condizione. È stato ipotizzato in questo caso che per i maschi possa essere cognitivamente complesso stimare simultaneamente il numero di femmine e il numero di maschi presenti in due gruppi separati allo scopo di determinare quale gruppo sia più vantaggioso.

In natura, i gruppi di conspecifici non variano solo per numerosità ma anche per la qualità delle femmine che lo compongono. Ad esempio è noto che i maschi di *P. reticulata* preferiscano le femmine di dimensioni maggiori (Herdman *et al.*, 2004) e vicine al periodo dell'ovulazione. Lo scopo di questa ultima parte del mio lavoro era di metter a punto un esperimento sulla scelta razionale nei maschi di *P. reticulata* riadattando il paradigma dell'*asymmetrically dominated decoy* utilizzato nella prima parte della ricerca, per confrontare gruppi di femmine di diversa qualità.

5.2 SEZIONE 1: preferenza maschile per gruppi di femmine vs femmine singole e per la numerosità del gruppo.

Dal momento che non è stata riportata ancora alcuna evidenza sulla preferenza maschile in *P. reticulata* per gruppi di femmine che differiscono per numerosità, presupposto per poter procedere con l'esperimento *decoy*, la prima parte di questo lavoro era volta a verificare se la numerosità delle femmine tra cui scegliere per l'accoppiamento sia un fattore che influenza la scelta maschile.

Prendendo spunto dal lavoro di Agrillo e collaboratori (2008-a) condotto su *G. holbrooki* ho voluto verificare se anche i maschi di *P. reticulata* mostrano una preferenza per gruppi di femmine più o meno numerosi. Sono stati utilizzati due diversi confronti numerici. In un primo esperimento è stata osservata la preferenza maschile tra un gruppo costituito da tre femmine e una femmina singola mentre in un secondo esperimento sono state confrontati un gruppo costituito da due femmine e un gruppo più numeroso costituito da quattro femmine.

5.2.1 MATERIALI E METODI

Esperimento 1: preferenza per gruppi di femmine vs una femmina singola

I SOGGETTI

È stata osservata la preferenza spontanea rispettivamente di 20 adulti di *P. reticulata*.

Gli individui sono stati stabulati all'interno di vasche di volume variabile tra i 25 e i 125 litri presso il Dipartimento di Psicologia Generale dell'Università degli Studi di Padova dove sono stati svolti gli esperimenti. Le vasche erano dotate di ghiaino per acquari sul fondale, di vegetazione naturale (*Vesicularia dubyana* e *Ceratophyllum demersum*) e artificiale e la temperatura è stata mantenuta costante a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ per ricreare un habitat il più possibile simile a quello naturale. L'acqua è stata mantenuta in condizioni ideali grazie a filtri

biologico-meccanici costituiti da canalicchi con batteri azoto-fissatori e da uno strato di lana artificiale attraverso cui veniva fatta filtrare progressivamente l'acqua della vasca in modo da depurarla. Un adeguato apporto d'ossigeno era fornito da aeratori con pietre porose, mentre l'illuminazione proveniva da lampade a neon poste al di sopra delle vasche e regolate con un ciclo luce/buio di 12 ore (08:00 – 20:00) rispettando il naturale fotoperiodo della specie. I pesci venivano quotidianamente alimentati con mangime in scaglie (DuplaRin S, GVG Sera) o cibo fresco costituito da nauplii di *Artemia salina*, e regolarmente nutriti circa 30 minuti prima delle osservazioni. Ciascun soggetto è stato osservato una sola volta nel corso degli esperimenti mentre le femmine stimolo provenivano da un *pool* di 20 individui e pertanto possono essere state utilizzate più volte

APPARATO SPERIMENTALE

L' apparato utilizzato negli esperimenti di scelta spontanea era composto da tre vasche adiacenti

Nella vasca centrale, chiamata "vasca del soggetto" di misura 60x40x35 cm veniva inserito il soggetto sperimentale. Al suo interno è stato posto un cilindro di plastica trasparente, controllato tramite un sistema a carrucola che è stato utilizzato per permettere l'ambientamento del maschio nel periodo precedente al test (**Fig. 20**).

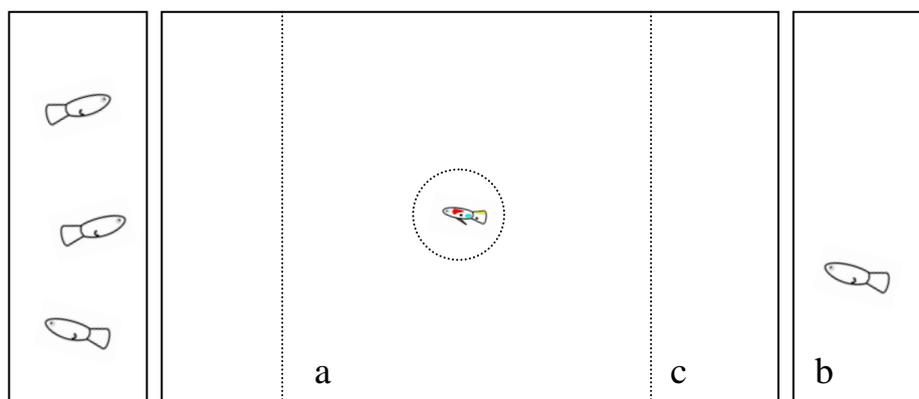


Fig. 20: rappresentazione schematica dell'apparato sperimentale utilizzato negli esperimenti 1-a e 1-b e poi modificato negli esperimenti 2-a, 2-b e 2-c. a) vasca del soggetto, b) vasca degli stimoli, c) area di scelta.

Ai due estremi rispetto alla vasca del soggetto erano invece posizionate due vasche più piccole di misura 20x50x32cm, chiamate “vasche degli stimoli”.

La temperatura dell’acqua all’interno di queste vasche è stata mantenuta costante a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e ciascuna è stata illuminata con un neon da 18W posto centralmente (ad eccezione della vasca del soggetto negli Esperimenti 2-a e 2-b; si veda in seguito). Le vasche degli stimoli sono state fornite inoltre di ghiaio per acquari mentre, la parte esterna delle vasche e il fondo della vasca del soggetto sono stati rivestiti da un foglio di poliplack di colore verde (un materiale plastico facilmente modellabile) in modo da isolare l’apparato sperimentale dall’ambiente esterno. E’ stato creato inoltre un isolamento ulteriore grazie a dei tendaggi scuri nella stanza degli esperimenti per evitare che altre fonti di luce e fattori esterni potessero influire sul normale comportamento dei soggetti sperimentali.

Una videocamera (Sony DCR-SR 15E) posta a circa un metro sopra l’apparato sperimentale permetteva la registrazione del comportamento del soggetto durante tutta la durata dell’esperimento.

PROCEDURA SPERIMENTALE

Gli esperimenti condotti in questa prima sezione consistevano in un test di scelta spontanea nel quale i maschi potevano scegliere tra un gruppo costituito da 3 femmine e 1 femmina singola. A tal fine le femmine stimolo, tutte sessualmente non recettive, venivano prelevate da una vasca di stoccaggio nella quale erano state inserite una volta selezionate in base ad un *range* limitato di dimensioni corporee. È noto infatti che tale carattere in questa specie correla con la fecondità e che i maschi preferiscano le femmine di dimensioni maggiori. Nello specifico sono state selezionate tra un totale di 58 femmine adulte e sessualmente non recettive, 20 femmine secondo un *range* di grandezza tra i 20 e i 22 mm (S. L. =Media \pm DS: 20.78 ± 0.73 mm).

I maschi test, invece, una volta scelti dalle vasche di stoccaggio, assicurandosi che fossero sessualmente attivi, venivano isolati in una vasca 24 ore prima del test in modo da incrementare il loro interesse sessuale nei confronti delle femmine stimolo al momento del test.

Ad ogni esperimento venivano inserite rispettivamente 3 femmine e 1 femmina nelle vasche degli stimoli lasciate poi in ambientamento per 15 minuti affinché si potessero abituare al nuovo ambiente. La loro condizione veniva monitorata prima di cominciare il test. Trascorso tale periodo un maschio test veniva prelevato dalla vasca in cui i soggetti erano stati precedentemente isolati ed inserito nella vasca del soggetto all'interno del cilindro trasparente. Passati 10 minuti in modo che il maschio potesse osservare le femmine nelle vasche laterali e abituarsi al nuovo ambiente, il cilindro veniva sollevato e il maschio test veniva rilasciato. Dopodiché il suo comportamento veniva registrato per un totale di 20 minuti tramite la videocamera posta al di sopra dell'apparato.

Per la misura della preferenza sessuale, è stato preso in considerazione il tempo (misurato in secondi) trascorso dai soggetti nelle due aree limitrofe ai settori degli stimoli. Queste aree, chiamate aree di scelta, erano ciascuna di 11 cm. In particolare è stata utilizzata come misura della preferenza la proporzione di tempo trascorsa verso il gruppo di stimoli costituito da 3 femmine. Tale misura poteva variare da un minimo di zero, che indicava una totale preferenza per la femmina singola, fino ad un massimo di 1, che indicava una preferenza per il gruppo costituito da 3 femmine. Un valore di 0.5 rappresentava di conseguenza una scelta casuale.

In un secondo momento i dati sono stati analizzati escludendo, in tutti gli esperimenti, i soggetti che non hanno attraversato la vasca del soggetto da una estremità all'altra per almeno tre volte nel corso dei primi 15 minuti di osservazione o che hanno trascorso meno del 7% o più del 93% del tempo totale di scelta in prossimità degli stimoli e sono stati quindi esclusi dalle statistiche. Questi criteri permettevano di escludere quei soggetti che non erano risultati attivi durante il test e che di conseguenza non avevano visitato almeno una volta entrambi i gruppi di stimoli.

Esperimento 2: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (4vs2)

SOGGETTI

Un totale di 24 maschi adulti di *Poecilia reticulata* è stato sottoposto a test. Prima degli esperimenti i soggetti erano mantenuti in condizioni standard di laboratorio così come descritto nell'Esperimento 1.

APPARATO SPERIMENTALE

In questo esperimento è stato utilizzato il medesimo apparato sperimentale descritto nell'Esperimento 1.

PROCEDURA SPERIMENTALE

Anche la procedura era simile a quella descritta per l'Esperimento 1. L'unica differenza consisteva nel fatto che i gruppi stimolo di femmine posti a confronto erano costituiti da 2 e 4 individui.

5.2.2 RISULTATI

Esperimento 1: preferenza per gruppi di femmine vs una femmina singola

È stato condotto un test-*t* a campione unico utilizzando come variabile dipendente la proporzione di tempo trascorso verso il gruppo di femmine più numeroso. Non è stata evidenziata una preferenza statisticamente significativa per uno dei due gruppi (preferenza per il lato con tre femmine, Media \pm DS: 0.483 \pm 0.293; $t(19) = 0.258$, $p = 0.799$).

In secondo luogo sono state ricondotte le analisi escludendo dal campione i soggetti che non erano risultati idonei secondo i due criteri di scelta prestabiliti (3 spostamenti all'interno della vasca del soggetto nei primi 15 minuti di test e un

indice di preferenza superiore a 0.07 e inferiore a 0.93). Anche escludendo questi casi estremi, la preferenza non è risultata statisticamente significativa (Media \pm DS: 0.521 ± 0.246 ; $t(12) = 0.307$, $p = 0.764$) (**Fig. 21**)

Esperimento 2: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (4vs2)

È stato condotto un test-*t* a campione unico utilizzando come variabile dipendente la proporzione di tempo trascorso verso il gruppo più numeroso. Dalle analisi non è stata evidenziata una preferenza significativa per uno dei due gruppi (Media \pm DS: 0.596 ± 0.248 ; $t(23) = 1.897$, $p = 0.071$) anche escludendo dal campione i soggetti che non rispettavano i due criteri di esclusione (N=19, Media \pm DS: 0.526 ± 0.207 ; $t(18) = 0.540$, $p = 0.596$) (**Fig. 21**).

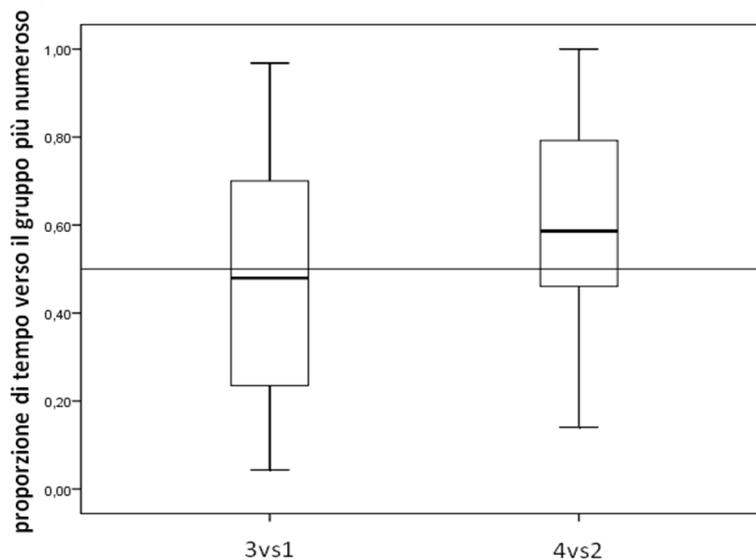


Fig. 21: risultati degli esperimenti 1 e 2.

5.3 SEZIONE 2: controllo dei fattori che possono aver influito sul test di preferenza

I due esperimenti precedenti sembrano suggerire che la preferenza nei maschi di *P. reticulata* non dipenda dalla numerosità dei gruppi di femmine

disponibili. Tuttavia la mancanza di preferenza riscontrata negli esperimenti potrebbe dipendere da qualche limite sperimentale o dal fatto che i maschi di *P.reticulata* potrebbero rispondere in modo diverso rispetto ai maschi di *G.holbrooki* alla stessa procedura sperimentale. Per verificare questa ipotesi ho condotto tre esperimenti utilizzando come condizione il confronto tra gruppi stimolo costituiti da una femmina singola e tre femmine.

Di volta in volta è stato controllato un fattore diverso del disegno sperimentale che potrebbe aver influito sul comportamento di scelta maschile.

5.3.1 MATERIALI E METODI

Esperimento 3: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo della socialità degli stimoli

Le femmine di *Poecilia reticulata* sono sociali e nell'Esperimento 1 la femmina singola, trovandosi in un ambiente nuovo, avrebbe potuto comportarsi in modo innaturale (ad esempio assumendo un comportamento di *freezing* quando cioè la femmina si immobilizza). È stato dimostrato inoltre che le femmine spaventate possono essere oggetto di maggiore attenzione da parte dei maschi perché più facilmente soggette a copule forzate, una delle strategie attraverso le quali i maschi di questa specie riescono ad accoppiarsi (Evans *et al.*, 2002). Per evitare che il comportamento della femmina singola influenzasse la scelta del maschio test, nel primo esperimento all'interno della vasca degli stimoli è stato posizionato uno specchio. La scelta di utilizzare uno specchio è dovuta al fatto che precedenti lavori mostrano che l'immagine riflessa nello specchio può fungere da rinforzo sociale (Bisazza & de Santi, 2003)

SOGGETTI

Prima degli esperimenti i soggetti sono stati mantenuti in condizioni standard di laboratorio come descritto nel paragrafo 5.2.1.

Sono stati sottoposti a test un totale di 29 maschi adulti di *Poecilia reticulata*.

APPARATO SPERIMENTALE

In questo esperimento è stato utilizzato il medesimo apparato sperimentale descritto nell'Esperimento 1.

In questo caso sono stati posizionati due specchi (10x10 cm) lateralmente, all'interno delle vasche degli stimoli. La loro posizione era tale che solo gli stimoli si potessero vedere riflessi così da ridurre il possibile stress da isolamento sociale e non alterare la percezione del numero di femmine presentate al maschio test.

PROCEDURA SPERIMENTALE

La procedura sperimentale era la medesima di quella descritta nell'Esperimento 1. I maschi potevano scegliere tra un gruppo di tre femmine ed una femmina isolata.

Esperimento 4: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo del fattore luminosità

Una possibile critica potrebbe scaturire dal fatto che, la precedente condizione di illuminazione dell'apparato consentiva al soggetto di vedere gli stimoli ma al tempo stesso anche gli stimoli potevano vedere il soggetto e non è possibile escludere che la differenza nel comportamento di una o tre femmine in risposta alla presenza del maschio fosse diversa. Per questo motivo le condizioni di illuminazione dell'apparato sperimentale sono state modificate in modo tale che il maschio vedesse le femmine ma che, a sua volta, non fosse visibile. Questa condizione consentiva ai maschi test di osservare le femmine stimolo posizionate nelle due vasche adiacenti ma, viceversa, non consentiva loro di vedere il maschio e di rispondere ai suoi possibili tentativi di corteggiamento

SOGGETTI

Prima degli esperimenti i soggetti sono stati mantenuti in condizioni standard di laboratorio come descritto nel paragrafo 5.2.1.

Sono stati sottoposti a test un totale di 20 maschi adulti di *Poecilia reticulata*.

APPARATO SPERIMENTALE

In questo esperimento è stato utilizzato il medesimo apparato sperimentale descritto nell'Esperimento 1 ma all'interno della vasca del soggetto è stata creata una condizione di penombra. La luce posizionata sopra la vasca del soggetto è stata quindi spenta in modo che le femmine stimolo non vedessero il maschio.

PROCEDURA SPERIMENTALE

La procedura sperimentale era la medesima di quella descritta nell'Esperimento 1. I maschi potevano scegliere tra un gruppo di tre femmine ed una femmina isolata..

Esperimento 5: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo della componente olfattiva

Un' ultima ipotesi che è stata fatta riguardo una possibile mancanza nella precedente procedura sperimentale riguarda il fatto che il comportamento sessuale dei maschi in alcune specie potrebbe essere incrementato dalla possibilità di accedere alle informazioni olfattive riguardo le femmine. Un indizio che questo potrebbe valere anche in *P.reticulata* giunge dai risultati di un recente esperimento in cui è stato dimostrato che i maschi risponderebbero diversamente a femmine recettive e non recettive aumentando il loro numero di tentativi di accoppiamento quando hanno accesso sia all'informazione visiva sia a quella olfattiva delle femmine (Guevara-Fiore *et al.*, 2010).Per questo motivo quindi, in

questo quinto esperimento, nella vasca del soggetto l'acqua proveniente da una vasca contenente sole femmine veniva fatta percolare nella vasca del soggetto con un flusso costante in due punti diametralmente opposti al centro della vasca. In questo modo si voleva rinforzare l'informazione nel maschio riguardo la presenza delle femmine senza influenzare la preferenza per uno dei due lati dell'apparato.

SOGGETTI

Prima degli esperimenti i soggetti sono stati mantenuti in condizioni standard di laboratorio come descritto nel paragrafo 5.2.1.

Sono stati sottoposti a test un totale di 20 maschi adulti di *Poecilia reticulata*.

APPARATO SPERIMENTALE

In questo esperimento è stato utilizzato il medesimo apparato sperimentale descritto nell'Esperimento 1. Una vasca supplementare di misura 60x36x24 cm, dotata di filtro e sistema di aerazione, è stata sistemata in posizione sopraelevata ma isolata visivamente rispetto all'apparato sperimentale. All'interno di questa vasca, sono state isolate per una settimana 10 femmine adulte, in modo tale che nell'acqua si concentrasse una forte componente olfattiva. In seguito, durante gli esperimenti, tramite un sistema costituito da un tubicino che si biforcava regolato da un rubinetto, l'acqua veniva fatta scendere all'interno della vasca del soggetto in modo simmetrico e con un flusso costante.

PROCEDURA SPERIMENTALE

La procedura sperimentale era la medesima di quella descritta nell'Esperimento 1. I maschi potevano scegliere tra un gruppo di tre femmine ed una femmina isolata.

5.3.2 RISULTATI

Esperimento 3: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo della socialità degli stimoli

E' stato condotto un test *t*- a campione unico utilizzando come variabile dipendente la proporzione di tempo trascorso verso il gruppo più numeroso. Dalle analisi non è stata evidenziata una preferenza statisticamente significativa per uno dei due gruppi (Media \pm DS: 0.6 ± 0.324 ; $t(28) = 1.661$, $p = 0.108$). Anche in questo caso, escludendo i soggetti che non rientravano nei criteri, non si è osservata alcuna scelta significativa (Media \pm DS: 0.558 ± 0.218 ; $t(16) = 1.097$, $p = 0.289$) (**Fig. 22**)

Esperimento 4: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo del fattore luminosità

E' stato condotto un test-*t* a campione unico utilizzando come variabile dipendente la proporzione di tempo trascorsa verso il gruppo più numeroso. Anche in questo caso le analisi non hanno evidenziato una preferenza statisticamente significativa per uno dei due gruppi (Media \pm DS: 0.49 ± 0.231 ; $t(19) = 0.183$, $p = 0.857$). Nessun soggetto in questo caso è stato scartato in base ai criteri di esclusione (**Fig. 22**)

Esperimento 5: preferenza verso gruppi di femmine di diversa numerosità (3vs1). Controllo della componente olfattiva

È stato condotto un test-*t* a campione unico utilizzando come variabile dipendente la proporzione di tempo trascorsa verso il gruppo più numeroso, ma anche in questo caso le analisi non hanno evidenziato una preferenza statisticamente significativa per uno dei due gruppi (Media \pm DS: 0.526 ± 0.291 ; $t(19) = 0.401$, $p = 0.693$). Anche escludendo i soggetti che non superavano i criteri

di esclusione, non si è osservata alcuna scelta significativa (Media \pm DS: 0.476 ± 0.215 ; $t(15) = -0.451$, $p = 0.659$) (**Fig. 22**)

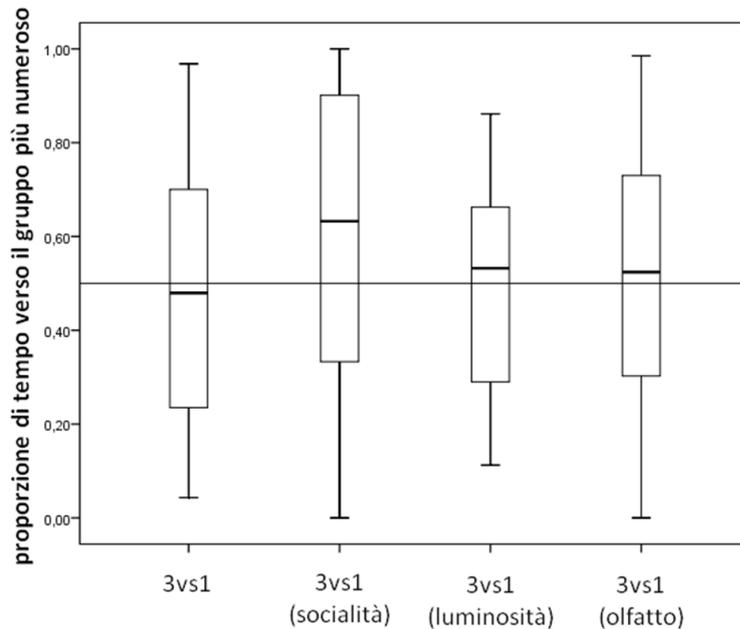


Fig. 22: risultati degli esperimenti 1, 3, 4 e 5.

5.3.3 ANALISI GENERALE DEGLI ESPERIMENTI

Dal momento che in nessuno dei singoli esperimenti è risultato che i maschi dimostrassero una preferenza verso uno dei due gruppi di femmine stimolo, è stata condotta un'analisi complessiva dei dati per massimizzare il potere statistico. Prendendo in considerazione i quattro esperimenti in cui il confronto era tra 1 e 3 femmine è stata condotta un'ANOVA univariata utilizzando come variabile dipendente la proporzione di tempo trascorsa verso il gruppo di femmine più numeroso e come fattore tra i soggetti il tipo di esperimento a cui sono stati sottoposti. L'effetto del fattore esperimento non è risultato influente sulla scelta ($F_{(3,88)} = 0.855$; $p = 0.468$) (**Fig. 22**). In seguito è stato considerato anche come fattore l'estensione della colorazione arancio dei maschi per verificare se questa potesse influenzare il loro comportamento ma è risultato che anche questo fattore è influente sulla scelta così come l'interazione

tra la colorazione e il tipo di esperimento ($p > 0.05$). È stato quindi condotto un test- t a campione unico su tutti i dati, il quale ha confermato l'assenza di una preferenza per il gruppo più numeroso (Media \pm DS: 0.533 ± 0.290 ; $t(88) = 1.057$, $p = 0.293$). È stato ottenuto un risultato simile anche scartando i soggetti esclusi in base ai criteri prestabiliti (Media \pm DS: 0.510 ± 0.224 ; $t(65) = 0.374$, $p = 0.709$).

5.4 SEZIONE 3: confronto del successo di accoppiamento dei maschi di *P.reticulata* con femmine singole o con gruppi di femmine

Dalle analisi degli esperimenti precedenti sembrerebbe che i maschi di *Poecilia reticulata* non mostrino una preferenza per gruppi di femmine più o meno numerosi. Una possibile ipotesi del fatto che i maschi non scelgono tra una femmina singola e un gruppo costituito da 3 femmine o tra gruppi di femmine di diversa numerosità (2 vs 4), potrebbe essere che non siano in grado di compiere una simile discriminazione. Questa spiegazione è tuttavia abbastanza improbabile dal momento che, la capacità di discriminare tra queste stesse quantità è stata riscontrata sia nelle femmine (Piffer *et al.*, 2011) che negli avannotti di questa specie (Bisazza *et al.*, 2010). È quindi possibile che in *P. reticulata* non ci sia come in *Gambusia holbrooki* nessun vantaggio riproduttivo in relazione ad un numero maggiore o minore di femmine da corteggiare e che la numerosità non sia una condizione discriminante per la scelta sessuale.

Questa ipotesi è resa plausibile dal fatto che i maschi nelle due specie differiscono notevolmente per le tattiche riproduttive adottate. I maschi di *G. holbrooki* si accoppiano esclusivamente utilizzando la copula coercitiva (GT) mentre i maschi di *P. reticulata* adottano soprattutto una strategia di corteggiamento (*display*). In *P. reticulata* il successo di inseminazione ottenuto attraverso il corteggiamento è mediamente tre volte superiore rispetto al successo che si ottiene attraverso le copule forzate (Matthews & Magurran 2000, Pilastro & Bisazza, 1999).

Per il successo nelle copule forzate è cruciale che la femmina non si accorga che il maschio le si sta avvicinando furtivamente da dietro (Pilastro *et al.*, 1997) ed è quindi necessario che l'attenzione della femmina sia distolta dal

maschio (Evans *et al.*, 2002). Questo suggerisce che se il gruppo di femmine è numeroso vi sono maggiori probabilità che almeno una femmina sia distratta e il maschio possa di conseguenza riuscire a fecondarla. Tuttavia dal momento che la strategia di corteggiamento risulta avere maggior successo rispetto alle copule forzate in *P. reticulata* la dimensione del gruppo potrebbe non essere un fattore rilevante per i maschi nella scelta sessuale.

Lo scopo di questo ultimo esperimento era quello di misurare se il successo di accoppiamento di un maschio varia in presenza di una singola femmina o di tre femmine. Per verificare questa ipotesi ai maschi test veniva data la possibilità di interagire direttamente in un caso con una femmina singola ed una seconda volta con tre femmine per misurare se il successo di accoppiamento varia nelle due condizioni.

5.4.1 MATERIALI E METODI

Esperimento 6: confronto del successo di accoppiamento dei maschi di *P. reticulata* con femmine singole o con gruppi di femmine

SOGGETTI

Prima degli esperimenti i soggetti sono stati mantenuti in condizioni standard di laboratorio così come descritto nel paragrafo 5.2.1.

Sono stati sottoposti a test un totale di 24 maschi adulti di *Poecilia reticulata*.

APPARATO SPERIMENTALE

L' apparato sperimentale era formato da un'unica vasca quadrata (65x65x37cm). Il fondo della vasca è stato ricoperto con uno strato di ghiaio per acquari sopra cui è stata posizionata una rete a maglia fine di colore verde per aumentare il contrasto tra i pesci e il fondale e facilitare il loro riconoscimento nei filmati registrati. Su due angoli della vasca in posizione opposta si trovavano

rispettivamente un sistema per filtrare l'acqua e un alloggio all'interno del quale veniva posizionato il maschio stimolo nel periodo di ambientamento. Entrambe queste strutture erano costruite in poliplack di colore verde e apparivano esternamente uguali in modo tale da mantenere la simmetria dell'apparato. Lo scompartimento in cui veniva inserito il maschio test era dotato di una finestra di plastica trasparente che gli permetteva di osservare le femmine durante il periodo di ambientamento e che poteva essere alzata e abbassata dall'esterno dallo sperimentatore tramite un filo che scorreva su una carrucola per evitare di disturbare i pesci. Sul fondale infine sono state sistemate 3 strutture rettangolari costruite in poliplack verde che fungevano da riparo simile a quello costituito normalmente dalla vegetazione.

Le pareti esterne dell'apparato sono state avvolte da una rete di maglia fine di colore grigio-verde ad esclusione del lato attraverso cui venivano fatte le osservazioni. Su ogni lato dell'apparato, sulla parete esterna sono stati posizionati dei neon da 18W al di sopra del livello dell'acqua per evitare che la luce riflessa all'interno dell'apparato interferisse sulla registrazione.

Anche in questo caso sopra l'apparato è stata posizionata una videocamera per registrare i soggetti da esaminare, ad una altezza tale da poter permettere l'inquadratura dell'intero apparato (1,5 metri).

La raccolta dei dati è stata effettuata anche attraverso l'osservazione diretta e l'apparato e lo sperimentatore sono stati isolati dall'ambiente esterno con delle tende scure.

PROCEDURA SPERIMENTALE

In questo ultimo esperimento di osservazione diretta dell'interazione tra il maschio e le femmine, la procedura sperimentale era diversa rispetto alla precedente. I test venivano effettuati in due giorni successivi a 24 di distanza. I soggetti venivano isolati sessualmente 24 ore prima del test e nell'intervallo tra i due esperimenti mentre le femmine stimolo venivano lasciate ambientare la notte precedente all'interno dell'apparato sperimentale in modo tale che l'ambiente fosse loro familiare al momento del test. Anche in questo caso, le femmine

venivano scelte casualmente da un *pool* costituito da femmine adulte tutte di dimensione compresa tra i 20 e i 22 mm (S. L. = Media \pm DS: 20.78 \pm 0.73 mm).

Metà dei soggetti interagiva con la femmina singola nel primo giorno di test e con le tre femmine nel secondo giorno. L'ordine di presentazione dei due gruppi è stato invertito tra i soggetti. Le femmine stimolo venivano inserite nell'apparato sperimentale 20 minuti prima dell'inizio della prova. In seguito il maschio veniva introdotto all'interno dell'alloggio posto all'angolo dell'apparato e attraverso la finestra mobile poteva osservare il comportamento delle femmine stimolo per 10 minuti. Trascorso questo periodo, la finestra veniva sollevata permettendo al maschio di uscire e poi richiusa. Una volta che il soggetto era libero di interagire con gli stimoli, anche la registrazione e l'osservazione diretta da parte dello sperimentatore iniziavano.

In questo esperimento venivano rilevati e presi in considerazione per le successive analisi i seguenti comportamenti:

Il tempo (in secondi) che il maschio trascorrevva con ciascuna femmina;

Il numero di *display* (*sigmoid display* rivolti verso la femmina durante il corteggiamento);

Il numero di tentativi di copula forzata o *gonopodial thrust* (GT) che a loro volta venivano distinti secondo il seguente schema (Pilastro & Bisazza, 1999) in:

GT1: il maschio insegue la femmina a non più di 2 lunghezze di distanza (*body lengths*), nello scattare verso di lei alza il gonopodio fermandosi a livello della coda (senza contatto fisico);

GT2: il maschio scatta verso la femmina ed arriva ad avvicinarsi con la testa a livello del gonoporo;

GT3: il maschio si avvicina con il gonopodio al gonoporo della femmina, in questo caso il contatto fisico è evidente;

GT4 o copula: il maschio ottiene una copula seguita dai *jerks*;

Il numero e la durata dei *jerks*

Nelle analisi è stata utilizzata come variabile dipendente rispettivamente la proporzione di tempo trascorsa inseguendo le femmine, il numero totale di *display*

e il numero totale di *gonopodial thrusts* (GT) nelle due condizioni (1 e 3 femmine).

In seguito alle due prove, il maschio test veniva fotografato e successivamente la sua analisi morfologica veniva effettuata come già descritto precedentemente (Par 2.2).

5.4.2 RISULTATI

Esperimento 6: confronto del successo di accoppiamento dei maschi di *P. reticulata* con femmine singole o con gruppi di femmine

Dai test per campioni appaiati è risultato che non c'è una differenza statisticamente significativa tra il tempo trascorso all'inseguimento della/le femmine nei due diversi esperimenti ($W = 144$, $p = 0.877$, test Wilcoxon per dati appaiati) e nemmeno tra il numero di GT realizzati ($W=119$, $p = 0.386$). Anche nel caso del numero di display, comunque non è emersa alcuna differenza significativa nei due diversi esperimenti ($W = 89.50$, $p = 0.718$). Il numero di copule e il numero e la durata dei “jerks” non sono stati presi in considerazione nelle analisi in quanto un solo maschio è riuscito nella copula nel corso degli esperimenti. I risultati sono riportati in **Fig. 23**. Infine, la proporzione di GT3 sui GT totali (un indice del possibile successo delle copule forzate) non è risultata significativamente diversa nei due gruppi ($W = 109$, $p = 0.570$) e semmai più alta nei test con una femmina (10.1% rispetto allo 8.4%).

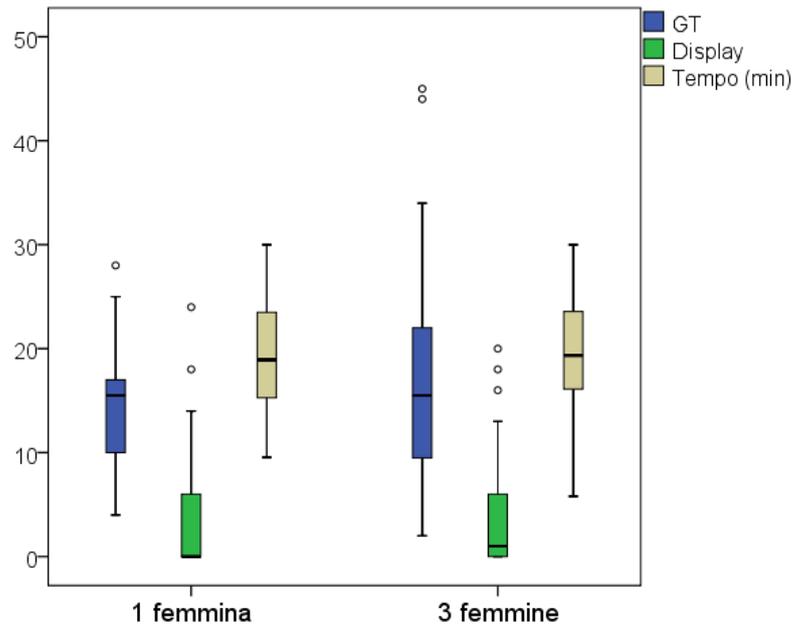


Fig. 23: numero di tentativi di copula forzata (GT), di display compiuti da maschi di *P. reticulata* e tempo passato inseguendo le femmine in presenza di 1 o 3 femmine. Le scatole rappresentano il 50% delle osservazioni, la linea orizzontale la mediana e le barre il range (i punti sono outlier)

5.4 DISCUSSIONE

Questa ultima parte del mio lavoro era finalizzata a studiare la razionalità della scelta sessuale maschile utilizzando il paradigma sperimentale dell' *asymmetrically dominated decoy* mettendo a confronto gruppi di femmine che variavano per numerosità e qualità delle femmine stesse. Tuttavia il presupposto per utilizzare questo paradigma sperimentale implicava la capacità dei maschi di confrontare gruppi di femmine di diversa numerosità e di diversa dimensione. Mentre vi sono informazioni relative alla capacità dei maschi di discriminare in base alla qualità della femmina (Herdman *et al*, 2004) la preferenza dei maschi di *P. reticulata* per gruppi di femmine di diversa numerosità non era ancora stata studiata. Dal momento che i risultati ottenuti non corrispondono a quanto atteso, questo esperimento non è stato portato a termine mentre invece è stato approfondito l'argomento delle preferenze sessuali maschili in questa specie in relazione al numero di femmine presenti.

Negli esperimenti della prima sezione è stata osservata la preferenza maschile in presenza di una femmina singola o di tre femmine o in presenza di due e quattro femmine. In entrambi i casi non si osserva una preferenza dei maschi per il gruppo più numeroso di femmine così come ipotizzato

L'assenza di preferenza molto probabilmente non dipende dalla mancanza di capacità da parte dei maschi di discriminare tra le diverse numerosità dei gruppi confrontati, dato che le numerosità presentate in questo lavoro rientrano nel bagaglio di competenze numeriche di diverse specie, pesci inclusi (Agrillo *et al.*, 2008-b). È possibile invece che altri fattori legati alla procedura sperimentale siano responsabili dell'assenza di una preferenza significativa verso il gruppo più numeroso.

Per verificare la validità della procedura sperimentale sono stati condotti altri tre esperimenti nei quali sono state controllate rispettivamente: la condizione delle femmine stimolo (Esperimento 3), la condizione di illuminazione della vasca del soggetto (Esperimento 4) e, nell'ultimo esperimento, è stato aggiunto un indizio olfattivo riguardante le femmine nella vasca del soggetto (Esperimento 5) confrontando una femmina singola con un gruppo costituito da tre femmine.

I risultati di questi esperimenti suggeriscono che la preferenza sessuale nei maschi di *P. reticulata* non sia basata su un numero più o meno grande di potenziali femmine da corteggiare, diversamente da quanto osservato in *G.holbrooki*. È quindi possibile che la mancata preferenza per il gruppo più numeroso dipenda da una mancanza di vantaggi riproduttivi per il maschio nella scelta del gruppo di 3 femmine rispetto alla femmina singola. Una possibile spiegazione potrebbe risiedere nella strategia di corteggiamento utilizzata dai maschi di questa specie. Per verificare questa ipotesi è stato condotto il sesto esperimento. I risultati mostrano che le opportunità di accoppiamento dei maschi di *guppy* non aumentano in modo significativo quando essi hanno la possibilità di interagire con 3 femmine rispetto ad una singola. Il maschio compie in media lo stesso numero di tentativi di accoppiamento forzato e di *display* con una o con tre femmine. Inoltre, la proporzione di tentativi di copula forzata che hanno avuto successo (cioè che si sono conclusi con un contatto tra il gonopodio e il gonoporo) non è diversa nei due gruppi.

Al contrario dei maschi di *G. holbrooki* i maschi di *P. reticulata* si basano principalmente sul corteggiamento e per ottenere accoppiamenti con le femmine. Questi comportamenti sono più costosi dei tentativi di copula forzata e probabilmente la frequenza con la quale i maschi possono eseguirli non dipende dal numero di femmine presenti. Anche se le femmine mostrano una preferenza per i maschi che esibiscono un tasso di *display* maggiore (Houde 1997) il maschio ne può eseguire un numero limitato. Analizzando i risultati si può osservare a riguardo che la differenza nel tasso di corteggiamento tra 3 femmine e la femmina singola non è risultata significativamente diversa. Tuttavia, la proporzione di GT che hanno avuto successo (GT3) è leggermente più alta, anche se in modo non significativo, nel test con una femmina, suggerendo che l'efficienza dei GT non aumenta, ma semmai diminuisce quando sono presenti più femmine. È possibile che in *P. reticulata*, in cui la strategia di GT è meno importante che in *G. holbrooki*, i maschi non riescano a massimizzare le opportunità offerte dalla presenza contemporanea di più femmine. Se queste considerazioni sono corrette, è possibile che i maschi di *P. reticulata* ottengano un successo di accoppiamento maggiore con gruppi di femmine più numerosi solo quando esse sono tutte sessualmente recettive, una condizione nella quale il corteggiamento diventa la tattica prevalente. Questo potrebbe risultare anche in una scelta maschile preferenziale per gruppi più numerosi. Va tuttavia sottolineato che questa condizione è abbastanza irrealistica in natura, dato che la proporzione di femmine sessualmente recettive in una popolazione è generalmente inferiore al 10%.

I risultati complessivi suggeriscono che i maschi di *P. reticulata*, contrariamente a quanto predetto e a quanto osservato in *G. holbrooki*, non dimostrano una preferenza sessuale per gruppi di femmine più numerose.

CONCLUSIONI

Con la presente ricerca si è voluto indagare quali siano i meccanismi cognitivi che sottendono alla scelta sessuale negli animali utilizzando come principale modello sperimentale il teleosteo *Poecilia reticulata*.

Gli studi di marketing riportano che spesso quando dobbiamo compiere una scelta tra più opzioni che differiscono tra loro per più caratteristiche contemporaneamente la nostra scelta finale non corrisponde alla scelta ottimale attesa (Zhang & Zhang, 2007). Questi risultati suggeriscono come gli esseri umani di fronte a scelte complesse facciano uso di euristiche che consentirebbero di superare i limiti cognitivi dettati dal *trade-off* tra velocità ed efficienza della scelta. Numerose evidenze sperimentali mostrano che anche gli animali ricorrerebbero a strategie simili quando devono compiere delle scelte di tipo alimentare (Bateson *et al.*, 2003). Tuttavia esistono altre condizioni in natura per cui gli animali si trovano a compiere delle scelte ottimali in modo rapido e la scelta del partner sessuale potrebbe rientrare tra questi esempi (Bateson & Healy, 2005).

La prima parte di questo lavoro è stata condotta per verificare se le femmine, nei loro processi di scelta sessuale, manifestino gli stessi limiti di razionalità che caratterizzano la nostra specie. I risultati suggeriscono che la scelta femminile non è razionale e che le femmine di *P. reticulata* nello scegliere tra diversi maschi adotterebbero una strategia di tipo comparativo confrontando i diversi maschi presenti almeno secondo le caratteristiche della colorazione. Si può ipotizzare che, data la scelta comparativa da parte delle femmine, un maschio possa risultare più o meno attraente a seconda del contesto in cui si trova e un simile meccanismo di scelta potrebbe spiegare parzialmente perché la variabilità fenotipica venga mantenuta nei maschi di questa specie per quanto riguarda la colorazione. Nonostante questi risultati siano in accordo con quanto riportato in letteratura per altre specie (Royle *et al.*, 2008; Reaney, 2009) e abbiano permesso di approfondire un aspetto della scelta sessuale ancora poco indagato, ad oggi non si può escludere che le femmine, nel valutare i potenziali partner sessuali, utilizzino anche delle euristiche più complesse. I risultati del primo esperimento, in questo senso, sono di difficile spiegazione e lasciano spazio a molteplici interpretazioni su quali siano i fattori effettivamente considerati dalle femmine

nella scelta sessuale e attraverso quali processi cognitivi vengano elaborati. Se gli studi effettuati utilizzando il paradigma sperimentale delle scelte spontanee hanno permesso di identificare quali siano i caratteri che mediano la scelta sessuale, sarà necessario adottare paradigmi sperimentali più complessi per comprendere a fondo come informazioni sensoriali, cognitive e neurali interagiscano influenzando sull'espressione delle preferenze sessuali (Ryan *et al.*, 2007). Gli unici studi riguardanti quali strategie ottimali potrebbero essere adottate dalle femmine nella scelta del partner provengono da simulazioni al computer che sono state eseguite al fine di esemplificare le funzioni matematiche che descriverebbero i processi di scelta femminile (Hutchinson & Halupka, 2004).

Similmente a quanto osservato in *P. reticulata*, in una specie affine, *Xiphophorus birchmanni*, le femmine, che si trovano a scegliere sulla base di diversi tratti sessuali tra maschi conspecifici e maschi ibridi, potrebbero affidarsi a strategie di scelta comparativa al fine di individuare i maschi con i quali sia più vantaggioso accoppiarsi. Le femmine, infatti, non evitano gli accoppiamenti con i maschi ibridi e i risultati dell'esperimento condotto sembrano suggerire che i maschi ibridi, in alcuni casi, presenterebbero una combinazione di tratti sessuali tali da renderli estremamente attraenti alle femmine. Trattandosi di un esperimento preliminare, i risultati ottenuti rappresentano solamente un punto di partenza, ciononostante proprio sfruttando la diversità fenotipica che caratterizza i maschi ibridi rispetto ai conspecifici, e con il supporto di animazioni video che sono già state utilizzate in esperimenti simili, il sistema ibrido *X. birchmanni*-*X. malinche* potrebbe rappresentare un modello sperimentale ideale per meglio definire i meccanismi cognitivi che guidano la scelta femminile.

Nella terza parte del mio lavoro, in considerazione del fatto che le femmine scelgono tramite una valutazione comparativa, sono state riportate le prime evidenze che questo tipo di criterio valutativo adottato dalle femmine, avrebbe favorito nei maschi l'evoluzione di strategie che permettono loro di aumentare le probabilità di essere scelti dalle femmine e quindi di aumentare il loro successo riproduttivo. I maschi di *P. reticulata* sembrerebbero in grado di valutare qualitativamente i loro competitori sulla base della colorazione e di scegliere di conseguenza le femmine in prossimità di quei maschi che

assicurerebbero loro una maggior probabilità di accoppiamento. La scelta del miglior contesto in cui corteggiare la femmina non dipenderebbe dalle interazioni aggressive con altri maschi ma esclusivamente dalla presenza della femmina *per sé*.

Se i maschi usino, così come sembrano fare le femmine, delle particolari strategie di scelta legate alle loro abilità cognitive, è un aspetto che deve ancora essere indagato nell'ambito della scelta sessuale.

Un primo tentativo è stato effettuato nell'ultima parte di questo lavoro. In *P. reticulata* le femmine sono gregarie e formano gruppi più o meno numerosi. I maschi di questa specie però sembrano non essere in grado di distinguere quale gruppo sia più numeroso, anche quando questi gruppi sono piccoli e dovrebbero essere facilmente distinguibili. La mancanza di preferenza per gruppi più numerosi e quindi teoricamente più vantaggiosi sembra non dipendere da un problema metodologico. D'altro canto è stato documentato come le numerosità messe a confronto vengono correttamente riconosciute in molte altre specie ed è difficile pensare che i maschi di *P. reticulata* non siano in grado di compiere una simile discriminazione. Una possibile spiegazione è che in base alle differenti strategie riproduttive adottate da maschi di *P. reticulata*, questi ultimi potrebbero non avere alcun vantaggio nello scegliere gruppi numerosi di femmine. L'ultimo esperimento che ho condotto ha, infatti, evidenziato proprio come, anche avendo la possibilità di corteggiare e accoppiarsi con le femmine direttamente, il successo che i maschi ottengono in presenza di 1 o 3 femmine non cambia e questo fornirebbe una possibile spiegazione al loro comportamento

Se l'interpretazione di questo risultato è esatta, si può prevedere che la preferenza numerica si osservi ad esempio in altre specie di pecilidi che utilizzano esclusivamente le copule forzate (per esempio: *Girardinus falcatus*) e non si osservi in altre specie nelle quali, come nei *guppy*, la tattica del corteggiamento è prevalente (per esempio nei porta spada, genere *Xiphophorus*). Una previsione che potrebbe facilmente essere testata in futuro.

Diversi punti di domanda relativamente ai meccanismi che sottostanno alla scelta sessuale restano ancora in sospeso, ciononostante i dati presentati in questa tesi forniscono un primo contributo utile ad identificare quali siano i meccanismi

più semplici suggerendo però che la complessità dell'argomento è tale per cui ulteriori indagini saranno necessarie con il contributo proveniente da più aree di ricerca (psicologia, biologia e matematica).

BIBLIOGRAFIA

Abrahams, M.V. (1993). The trade-off between foraging and courting in male guppy. *Animal Behaviour*, 45, 673-681.

Agrillo, C., Dadda, M., & Serena, G. (2008-a). Choice of female groups by male mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Ethology*, 114, 479-488.

Agrillo, C., Dadda, M., Serena, G., & Bisazza, A. (2008-b). Do fish count? Spontaneous discrimination of quantity in female mosquitofish. *Animal Cognition*, 11(3), 495-503

Amundsen, T. (2000). Why are female birds ornamented? *Trends in Ecology and Evolution*, 15, 149-155.

Amundsen, T., & Forsgren, E. (2001). Male mate choice selects for female coloration in a fish. *Proceedings of the National Academic Science of USA*, 98, 13155-13160.

Andersson, M. (1982). Female choice for extreme tail length in widow bird. *Nature*, 299, 818-820.

Andersson, M. (1986). Evolution of condition dependent sex ornaments and mating preferences: sexual selection based on viability differences. *Evolution*, 40, 804-816.

Andersson, M. (1994). *Sexual selection*. Princeton, N.J.: Princeton University Press.

Andersson, M. & Simmons, L.W. (2006). Sexual selection and mate choice. *Trends in Ecology and Evolution*, 21, 296-302.

Baerends, G.P., Brouwer, R., & Waterbolk, H.T. (1955). Ethological studies on *Lebistes reticulatus* (Peters). An analysis of the male courtship pattern. *Behaviour*, 8, 249-334.

Barber, I., Arnott, S.A., Braithwaite, V.A., Andrew, J., & Huntingford, F.A. (2001). Indirect consequences of mate choice in sticklebacks: offspring of brighter males grow slowly but resist parasitic infections. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B- Biological Sciences*, 268, 71-76.

Barbosa, M., & Magurran, A.E. (2006). Female mating decisions: maximizing fitness? *Journal of Fish Biology*, 68, 1636-1661.

Bateson, M. (2004). Mechanisms of decision-making and the interpretation of choice test. *Animal Welfare*, 13, 115-120.

Bateson, M., Healy, S.D. & Hurly T.A. (2002). Irrational choices in hummingbird foraging behaviour. *Animal Behaviour*, 63, 587-596.

Bateson, M., Healy, S.D., & Hurly T.A. (2003); Context-dependent foraging decisions in rufous hummingbirds. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B-Biological Sciences*, 270, 1271-1276.

Bateson, M. & Healy, S.D. (2005). Comparative evaluation and its implications for mate choice. *Trends in Ecology and Evolution*, 20, 659-664.

Beau Lotto, R. (2004). Visual development: experience puts the colour in life. *Current Biology*, 14, R619-R621

Becher, S.A., & Magurran, A.E. (2004). Multiple mating and reproductive skew in Trinidadian guppies. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B-Biological Sciences*, 271, 1009-1014.

Berkeley, S.A., Chapman, C., & Sogard, S.M. (2004). Maternal age as a determinant of larval growth and survival in a marine fish, *Sebastes melanops*. *Ecology*, 85, 1258-1264.

Billard, R. (1969). La sperm spermatogenese de *Poecilia reticulata*. *Annales de Biologie animale Biochimie Biophysique*, 9, 251-271.

Birkhead, T.R., & Pizzari, T. (2002). Postcopulatory sexual selection. *Nature Reviews- Genetics*, 3, 262-273.

Bisazza, A., & De Santi, A. (2003). Lateralization of aggression in fish. *Behavioural Brain Research*, 141, 131-136.

Bisazza, A., Marconato, A., & Marin, G. (1989). Male mate preferences in the mosquitofish *Gambusia holbrooki*. *Ethology*, 83, 335-343.

Bisazza, A., & Marin, G. (1995). Sexual selection and sexual size dimorphism in the eastern mosquitofish *Gambusia holbrooki* (Pisces Poeciliidae). *Ethology Ecology & Evolution*, 7, 169-183.

Bisazza, A., Piffer, L., Serena, G., & Agrillo, C. (2010). Ontogeny of numerical abilities in fish. *PLoS ONE*, 5(11), 15516. doi:10.1371/journal.pone.0015516.

Bisazza, A., & Pilastro, A. (1997). Small male mating advantage and reversed size dimorphism in Poeciliid fishes. *Journal of Fish Biology*, 50, 397-406.

Bonduriansky, R. (2001). The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. *Biological Reviews*, 76, 305-339.

Boschetto, C., Gasparini, C., & Pilastro, A. (2011). Sperm number and velocity affect sperm competition success in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behavioural Ecology and Sociobiology*, *65*, 813-821

Bozynski, C.C., & Liley, N.R. (2003). The effect of female presence on spermiation, and of male sexual activity on ready sperm in the male guppy. *Animal Behaviour*, *65*, 53-58.

Brooks, R. (2000). Negative genetic correlation between male sexual attractiveness and survival. *Nature*, *406*, 67-70.

Brooks, R. (2002). Variation in female mate choice within guppy populations: population divergence, multiple ornaments and the maintenance of polymorphism. *Genetica*, *116*, 343-358.

Brooks, R., & Endler, J.A. (2001). Females guppies agree to differ: Phenotypic and genetic variation in mate-choice behaviour and the consequence for sexual selection. *Evolution*, *55*, 1644-1655.

Candolin, U. (2003). The use of multiple cues in mate choice. *Biological Reviews*, *78*(4), 575-595.

Charnov, E.L. (1993). *Life history invariants*. Oxford: Oxford University Press.

Charnov, E. L. (2001). Reproductive efficiencies in the evolution of life histories. *Evolutionary Ecology Research*, *3*, 873-876.

Clark, E., & Aronson, L.R. (1951). Sexual behavior in the guppy, *Lebistes reticulatus* (Peters). *Zoological Science*, *36*, 49-66.

Clark, E., Aronson, L.R., & Gordon, M. (1954). Mating behavior patterns in two sympatric species of xiphophorin fishes: their inheritance and significance in sexual isolation. *Bulletin of American Museum of Natural History*, 103, 135–226.

Clutton-Brock, T. (2007). Sexual selection in males and females. *Science*, 318, 1882-1885.

Constantz, G.D. (1989). Reproductive biology of Poeciliid fishes. In: Meffe, G.K., & Snelson F.F. (Eds), *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)* (pp. 33-50). Englewood Cliffs, N.J, Prentice Hall.

Crow, R.T., & Liley, N.R. (1979). Sexual pheromone in the guppy *Poecilia reticulata* (Peters). *Canadian Journal of Zoology*, 57, 184-188.

Culumber, Z. (2011). Mate choice, genetic variation and population structure in hybrid zones. *PhD-Thesis*, Texas A&M University

Darwin, C. (1871). *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. London: Murray.

Dugatkin, L.A., & Godin, J.G. (1993). Female mate copying in the guppy (*Poecilia reticulata*): age-dependent effects. *Behavioral Ecology*, 4, 289-292.

Dussault, G.V., & Kramer, V.L. (1981). Food and feeding behaviour of the guppy, *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae). *Canadian Journal of Zoology*, 59, 684-701.

Eberhard, W.G. (1996). *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton, N. J.: Princeton University Press.

Endler, J.A. (1980). Natural selection on colour pattern in *Poecilia reticulata*. *Evolution*, 34, 76-91.

Endler, J.A. (1983). Natural and sexual selection on colour pattern in poeciliid fishes. *Environmental Biology of Fishes*. 9, 173-190.

Endler, J.A. (1987). Predation, light intensity and courtship behaviour in *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae). *Animal Behaviour*, 35, 1376-1385.

Endler, J.A. (1991). Variation in the appearance of guppy colour patterns to guppies and their predators under different visual conditions. *Vision Research*, 31, 587-608.

Endler, J.A., & Houde, A.E. (1995). Geographic variation in female preferences for male traits in *Poecilia reticulata*. *Evolution*, 49, 456-468.

Evans, J.P., Bisazza, A., & Pilastro, A. (2004). Female mating preferences for colourful males in a population of guppies subject to high predation. *Journal of Fish Biology*, 65, 1154-1159.

Evans, J.P., Brooks, R., Zajitschek, S.R., & Griffith, S.C. (2008). Dose genetic relatedness of mates influence competitive fertilization success in guppies? *Evolution*, 31:162-168.

Evans, J.P., Kelley, J.L., Ramnarine, I.W., & Pilastro, A. (2002). Female behaviour. Mediates male courtship under predation risk in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 52, 496–502.

Evans, J.P., Pilastro, A., & Schlupp, I. (2011). *Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes*. Chicago, Chicago University Press.

Farr, J.A. (1980). The effect of sexual experience and female receptivity on courtship-rape decision in male guppies, *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae). *Animal Behaviour*, 28(4), 1195-1201.

Fawcett, T.W., & Bleay, C. (2009). Previous experiences shape adaptive male preferences. *Behavioral Ecology*, 20, 68-78.

Fawcett, T.W., & Johnstone, R.A. (2003). Optimal assessment of multiple cues. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B-Biological Sciences*, 270, 1637-1643.

Fisher, R.A. (1915). The evolution of sexual preference. *Eugenics reviews*, 7, 184-192.

Fisher, H., Mascuch, S.J., & Rosenthal G.G. (2009). Multivariate male traits misalign with multivariate female preferences in the swordtail fish, *Xiphophorus birchmanni*. *Animal Behaviour*, 78, 265-269.

Fisher, H., & Rosenthal, G.G. (2006). Hungry females show stronger mating preference. *Behavioral Ecology*, 17, 979-981.

Fisher, H., & Rosenthal, G.G. (2007). Male swordtails court with an audience in mind. *Biology Letters*, 3, 5-7.

Fisher, H., Wong, B.B.M., & Rosenthal, G.G. (2006). Alteration of the chemical environment disrupts communication in a freshwater fish. *Proceedings of the Royal Society of London Series B- Biological science*, 273, 1187–1193.

Gasparini, C., Peretti, A.V., & Pilastro, A. (2009). Female presence influences sperm velocity in the guppy. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 6, 792-794.

Gasparini, C., & Pilastro, A. (2011). Cryptic female preference for genetically unrelated males by ovarian fluid in the guppy. *Proceedings of the Royal Society of London Series B- Biological science*, 278, 2495–2501.

Gardiner, D.M. (1978). Utilization of extracellular glucose by spermatozoa of two viviparous fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 59, 165-168.

Gibson, R.M., & Langen, T.A. (1996). How do animals choose their mates? *Trends in Ecology and Evolution*, 11, 468-470.

Gigerenzer, G., Todd, P.M., & The ABC research group (1999). *Simple heuristics that make us smart*. New York: Oxford University Press.

Gong, A. & Gibson, R.M. (1996). Reversal of a female preference after visual exposure to a predator in the guppy *Poecilia reticulata*. *Animal Behaviour*, 52, 1007–1015.

Griggio, M., Devigili, A., Hoi, H., & Pilastro A. (2009). Female ornamentation and directional male mate preference in the rock sparrow. *Behavioral Ecology*, 20(5), 1072-1078.

Guevara-Fiore, P., Skinner, A., & Watt, P.J. (2009). Do males guppies distinguish virgin females from recently mated ones? *Animal Behaviour*, 77, 425-431.

Guevara-Fiore, P., Stapley, J., Krause, J., Ramnarine, I.W., & Watt, P.J. (2010). Male mate searching strategies and female cues: how do male guppies find receptive females? *Animal Behaviour*, 79, 1191-1197.

Hain, T.J., & Neff, B.D. (2007). Multiple paternity and kin recognition mechanisms in a guppy population. *Molecular Ecology*, 16, 3938-3946.

Herdman, E.J., Kelly, C.D., & Godin, J.G. (2004). Male mate choice in the guppy (*Poecilia reticulata*): do males prefer larger females as mates? *Ethology*, *110*, 97-111.

Hill, G.E. (1993). Male mate choice and the evolution of plumage coloration in the house finch. *Evolution*, *47*:1515-1525.

Höglund, J. & Alatalo, R.V. (1995). *Leks*. Princeton, N.J.: Princeton University Press.

Houde, A.E. (1997). *Sex, color, and mate choice in guppies*. Princeton, N.J.: Princeton University Press.

Huber, J., Payne, J.W., & Puto, C. (1982). Adding asymmetrically dominated alternatives: violations of regularity and the similarity hypothesis. *Journal of consumer research*, *9*, 90-98

Hughes, K.A., Du, L., Rodd, F.H., & Reznick, D.N. (1999). Familiarity leads to female mate preference for novel males in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Animal Behaviour*, *58*, 907-916.

Hunter, F. M., Harcourt, R., Wright, M., & Davis, L. (2000). Strategic allocation of ejaculates by male Adélie penguins. *Proceedings of the Royal Society of London Series B- Biological science*, *267*, 1541–1545.

Hutchinson, J.M.C., & Gigerenzer G. (2005). Simple heuristics and rules of thumb: where psychologists and behavioural biologists might meet. *Behavioural Processes*, *69*, 97-124.

Hutchinson, J.M.C., & Halupka, K. (2004). Mate choice when males are in patches: optimal strategies and good rules of thumb. *Journal of Theoretical Biology*, 231, 129-151.

Iyengar, S.S., & Lepper, M.R. (2000); When choice is demotivating: can one desire too much of a good thing?. *Journal of personality and social psychology*, 79, 995-1006.

Jones, I.L. & Hunter, F.M. (1993). Mutual sexual selection in a monogamous seabird. *Nature*, 362, 238-239.

Jones, K.M., Monaghan, P. & Nager, R.G. (2001). Male mate choice and female fecundity in zebra finches. *Animal Behaviour*, 62, 1021-1026.

Kacelnick, A. (2005). Meanings of rationality. In: Hurley, S., & Nudds, M. (Eds), *Rational Animals?* (pp.87-106). Oxford: Oxford University Press

Kallman, K.D., & Kazianis, S. (2006). The Genus *Xiphophorus* in Mexico and Central America. *Zebrafish*, 3(3), 271-285

Kelley, J.L., Graves, J.A., & Magurran, A.E. (1999). Familiarity breeds contempt in guppies. *Nature*, 401, 661-662.

Kelso, J.L., & Vervell, P.A. (2002). Do male veiled chameleons, (*Chamaleo calyptratus*), adjust their courtship displays in response to female reproductive status? *Ethology*, 108, 495-512.

Kodric-Brown, A. (1985). Female preference and sexual selection for male coloration in the guppy. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 17, 199-205.

Kodric-Brown, A., & Nicoletto, P.F. (2001). Age and experience affect female choice in the guppy (*Poecilia reticulata*). *American Naturalist*, 157, 316-323.

Kuckuck, C., & Greven, H. (1997). Notes on the mechanically stimulated discharge of spermiozeugmata in the guppy, *Poecilia reticulata*: a quantitative approach. *Zeitschrift fur Fischkunde*, 4, 73-78.

Lenton, A.P., Fasolo, B., & Todd, P.M. (2009). The relationship between number of potential mates and mating skew in humans. *Animal Behaviour*, 77(1), 55-60.

Lessells, C.M., & Boag, P.T. (1987). Unrepeatable repeatabilities: a common mistake. *The Auk*, 104, 116-121.

Liley, N.R. (1966). Ethological isolating mechanisms in four sympatric species of Poeciliid fishes. *Behaviour, Supplement (13)*, 1-197.

Liley, N.R., & Wishlow, W. (1974). Interaction of endocrine and experiential factors in regulation of sexual behavior in female guppy *Poecilia reticulata*. *Animal Behaviour*, 48, 185-214.

Lindenfors, P., Fröberg, L., & Nunn, C.L.(2004). Females drive primate social evolution. *Proceedings of Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 271(3), S101-S103.

Locatello, L., Rasotto, M.B., Evans, J.P., & Pilastro, A. (2006). Colourful male guppies produce faster and more viable sperm. *Journal of Evolutionary Biology*, 19, 1595-1602

Luce, R.D.(1959). *Individual choice behaviour*. New York: Wiley and Sons.

Luce, R.D. (1977). The choice axiom after twenty years. *Journal of mathematical psychology*, 15, 215-233.

Luyten, P.H., & Liley, N.R., (1985). Geographic variation in the sexual behaviour of the guppy, *Poecilia reticulata* (Peters). *Behaviour*, 95, 164-179.

Luyten, P.H., & Liley, N.R., (1991). Sexual selection and competitive mating success of male guppies (*Poecilia reticulata*) from Trinidad populations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 28: 329-336.

Magurran, A.E. (2005). *Evolutionary Ecology: The Trinidadian Guppy*. Oxford: Oxford University Press.

Magurran, A.E., & Nowak, M.A. (1991). Another battle of the sexes: the consequence of sexual asymmetry in mating cost and predation risk in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 2546, 31-38.

Magurran, A.E., & Seghers, B. H. (1990). Risk sensitive courtship in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behaviour*, 112, 194–201.

Magurran, A.E., & Seghers, B.H. (1994). Sexual conflict as a consequence of ecology: evidence from guppy, *Poecilia reticulata*, populations in Trinidad. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 255, 31-36.

Marsh, B. (2002), Do animals use heuristics?. *Journal of Bioeconomics*, 4, 49-56.

Massironi, M., Rasotto, M.B., & Mazzoldi, C. (2005). A reliable indicator of female fecundity: the case of the yellow belly in *Knipowitschia panizzae* (Teleostei: gobiidae) *Marine Biology*, 147, 71-76.

Matthews, I.M. (1998). Mating behaviour and reproductive biology of the guppy, *Poecilia reticulata*. *PhD thesis*: University of St. Andrews.

Matthews, I.M., Evans, J.P., & Magurran, A.E. (1997). Male display rate reveals ejaculate characteristics in the Trinidadian guppy *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 264, 695-700.

Matthews, I.M., & Magurran, A.E. (2000). Evidence for sperm transfer during sneaky mating in wild Trinidadian guppies. *Journal of Fish Biology*, 56, 1381-1386.

Meffe, G.K., & Snelson, F.F. (1989). An ecological overview of poeciliid fishes. In: Meffe, G.K., & Snelson F.F. (Eds), *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)* (pp. 13-31). Englewood Cliffs, N.J.: Prentice Hall.

Miller, G.F., & Todd, P.M. (1998). Mate choice turns cognitive. *Trends in Cognitive Sciences*, 2, 190-198.

Morris, M.R., Moretz, J.A., Farley, K., & Nicoletto P. (2005). The role of sexual selection in the loss of sexually selected traits in the swordtail fish *Xiphophorus continens*. *Animal Behaviour*. 69, 1415-1424.

Morris, M.R., Mussel, M., & Ryan, M., (1995). Vertical bars on male *Xiphophorus multilineatus*: a signal that deters rival males and attract females. *Behavioral Ecology*. 6, 274-279.

Neff, B.D., Pitcher, T.E., & Ramnarine, I.W. (2008). Inter-population variation in multiple paternity and reproductive skew in the guppy. *Molecular Ecology*, 17, 2975-2984.

Nicholls, E. H., Burke, T., & Birkhead, T. R. (2001) Ejaculate allocation by male sand martins *Riparia riparia*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B- Biological science*, 268, 1265–1270.

Nicoletto, P.F. (1993). Female sexual response to condition dependent ornaments in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Animal Behaviour*, 46, 441-450.

Olsson, M. (1993). Male preference for large females and assortative mating for body size in the sand lizard (*Lacerta agilis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32, 337-341.

Parenti, L.R., & Rauchenberger, M. (1989). Systematic overview of the Poeciliines. In: Meffe, G.K., & Snelson F.F. (Eds), *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)* (pp. 3-12). Englewood Cliffs, N.J.: Prentice Hall.

Parker, G.A. (1970). Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biological Reviews*, 45, 525-567.

Parker, G.A. (1983). Mate quality and mating decisions. In. P. Bateson (Ed), *Mate choice*. (pp. 141-166). New York: Cambridge University Press.

Piffer, L., Agrillo, C., & Hyde, D.C. (2010). Small and large number discrimination in guppies. *Animal Cognition*, DOI: 10.1007/s10071-011-0447-9.

Pilastro, A., & Bisazza, A. (1999). Insemination efficiency of two alternative male mating tactics in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Proceeding of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 266, 1887-1891.

Pilastro, A., Gasparini, C., Boschetto, C., & Evans, J.P. (2008). Colourful male guppies do not provide females with fecundity benefits. *Behavioral Ecology*, 19(2), 374-381.

Pilastro, A., Giacomello E., & Bisazza, A. (1997). Sexual selection for small size in male mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Journal of Fish Biology*, 1385, 1125-1129.

Pilastro, A., Mandelli, M., Gasparini, C., Dadda, M., & Bisazza A. (2007). Copulation duration, insemination efficiency and male attractiveness in guppies. *Animal Behaviour*, 74, 321-328.

Pilastro, A., Simonato, M., Bisazza, A., & Evans J.P. (2004). Cryptic female preference for colorful males in guppies. *Evolution*, 58, 665-669.

Pitcher, T.E., Neff, B.D., Rodd, F.H., & Rowe, L. (2003). Multiple mating and sequential mate choice in guppies: females trade up. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270, 1623-1629.

Pocklington, R., & Dill, L. (1995). Predation on females or males: who pays for bright male traits. *Animal Behaviour*, 49, 1122-1124.

Postma, E., Spyrou, N., Rollins, L.A., & Brooks, R. (2011). Sex-dependent selection differentially shapes genetic variation on and off the guppy Y chromosome. *Evolution*, 65, 2145-2156.

Price, A.C., & Rodd, F.H. (2006). The effect of social environment on male-male competition in guppies (*Poecilia reticulata*). *Ethology*, 112, 22-32.

Rauchenberger, M., Kallaman, K.D., & Morizot, D.C. (1990). Monophyly and geography of the Rio Panuco Basin swordtails (genus *Xiphophorus*) with description of four new species. *American Museum Novitates*, 2975, 1-41.

Reaney, L.T. (2009). Female preference for male phenotypic traits in a fiddler crab: do females use absolute or comparative evaluation. *Animal Behaviour*, 77, 139-143.

Reynolds, J.D., & Gross, M.R. (1992). Female Mate Preference Enhances Offspring Growth and Reproduction in a Fish, *Poecilia Reticulata*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 250, 57-62.

Rodd, F.H., Hughes, K.A., Grether, G.F., & Baril, C.T. (2002). A possible non-sexual origin of mate preference: are male guppies mimicking fruit? *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 269, 475-481.

Romero-Pujant, M., Hoi, H., Blomqvist, D., & Valera, F. (2002). Tail length and mutual mate choice in bearded tits (*Panarus biarmicus*). *Ethology*, 108, 885-895.

Rosen, D.E., & Bailey, R.M. (1963). The poeciliid fishes (Cyrinodontiformes), their structure, zoogeography and systematics. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 126, 1-176.

Rosenthal, G.G. (2010). Swordtails and Platyfishes. In: Breed, M.D., & Moore, J.(Eds.), *Encyclopedia of Animal Behavior* (volume 3, pp. 363-367). Oxford: Academic Press.

Rosenthal, G.G., de la Rosa Reyna, X.F., Kazianis, S., Stephens, M.J., Morizot, D.C., Ryan, M.J., & Garcia de Leon, F.J. (2003). Dissolution of sexual signal complexes in a hybrid zone between the swordtails *Xiphophorus birchmanni* and *X. malinche* (Poeciliidae). *Copeia*, 2003, 299–307.

Royle, N. J., Lindström, J., & Metcalfe, N.B. (2008). Context-dependent mate choice in relation to social composition in green swordtails *Xiphophorus helleri*. *Behavioral Ecology*, 19, 1-8.

Ryan, M.J., Akre, K.L., & Kirkpatrick, M. (2007). Mate choice. *Current Biology*, 17, R313-R316.

Saeki, Y., Kruse, K.C., & Switzer, P.V. (2005). Male preference for large females and female reproductive condition in the Japanese beetle, *Popilia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Kansas Entomology Society*, 78, 13-19.

Seather, S.A., Fiske, P., & Kalas, J.A. (2001). Male mate choice, sexual conflict and strategic allocation of copulations in a lekking bird. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological*, 268, 2097-2102.

Sedikides, C., Ariely, D., & Olsenet, N. (1999). Contextual and procedural determinations of partner selection: of asymmetric dominance and prominence. *Social Cognition*, 17, 118-139.

Shafir, S., Waite, T.A., & Smith B.H. (2002). Context-dependent violations of rational choice in honeybees (*Apis mellifera*) and gray jays (*Perisoreus canadensis*). *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 51, 180-1878.

Shanteau, J., & Thomas, R.P. (2000) Fast and frugal heuristics: what about unfriendly choice environments? *Behavioral and Brain Sciences*, 23, 762-763.

Simmons, L.W., Llorens, T., Schinzig, M., Hosken, D., & Cariag, M. (1994). Sperm competition select for male mate choice and protandry in the bushcricket, *Requena verticalis* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Animal Behaviour*, 47, 117-122.

Simonson, I., & Tversky, A. (1992). Choice in context: trade-off contrast and extremeness aversion. *Journal of marketing research*, 29, 231-95.

Stephens, D.W., & Krebs, J.R. (1986). *Foraging theory*. Princeton N.J.: Princeton University press.

Thornhill, R. & Alcock, J. (1983). *The evolution of insects mating system*. Cambridge: Harvard University Press.

Tilley, S.G. (1968). Size fecundity relationships and their evolutionary implications in five desmognathine salamanders. *Evolution*, 22, 806-816.

Trivers, R.L. (1972). Parental investment and sexual selection. In B. Campbell (Ed), *Sexual selection and Descent of man, 1871-1971* (pp. 136-179). Chicago: Aldine Publishing.

Tversky, A., & Simonson, I. (1993). Context-dependent preferences. *Management Science*, 39, 1179-1189

Verrell, P.A. (1995). Males choice larger female in the salamander *Desmognathus santeelah*. *Ethology*, 99, 162-171.

Werner, N.Y., & Lotem, A. (2003). Choosy males in a haplochromine cichlid: first experimental evidence for mate male choice in a lekking species. *Animal Behaviour*, 66, 293-298.

Winge, O. (1937). Succession of broods in *Lebistes*. *Nature*, 149, 573-584.

Wong, B.B.M., & Rosenthal, G.G. (2006). Female disdain for swords in a swordtail fish. *American Naturalist*, 167, 136–140.

Wong, B.B.M., Fisher, H., & Rosenthal, G.G. (2005). Species recognition by male swordtails via chemical cues. *Behavioral Ecology*, 16, 818-822.

Wootton, R.J. (1990). *Ecology of teleost fishes*. London: Chapman & Hall.

Zahavi, A. (1975). Mate selection-a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*, 53, 205-214.

Zajitschek, S.R., & Brooks, R. (2008). Distinguishing the effect of familiarity, relatedness and colour pattern rarity on attractiveness and measuring their effects on sexual selection in guppies (*Poecilia reticulata*). *The American Naturalist*, 172(6), 843-854.

Zajitschek, S.R., Evans, J.P., & Brooks R. (2006). Independent effects of familiarity and mating preferences for ornamental traits on mating decisions in guppies. *Behavioral Ecology*, 17, 911-916.

Zhang, T., & Zhang, D. (2007). Agent-based simulation of consumer purchase decision-making and the decoy effect. *Journal of Business Research*, 60, 912–922.