

DNA, archivi della biodiversità e musei scientifici: alcune esperienze presso la Galleria di Storia Naturale dell'Università degli Studi di Perugia

Angelo Barili
Sergio Gentili

Galleria di Storia Naturale, Centro di Ateneo per i Musei Scientifici (C.A.M.S.), Università degli Studi di Perugia, Manifattura ex tabacchi, via del Risorgimento. I-06051 Casalina (Deruta, PG). E-mail: servizi.cams@unipg.it

Livia Lucentini

Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie, Università degli Studi di Perugia, via Elce di sotto, 8. I-06123 Perugia. E-mail: livia.lucentini@unipg.it

RIASSUNTO

La Galleria di Storia Naturale del Centro di Ateneo per i Musei Scientifici dell'Università degli Studi di Perugia conserva rilevanti collezioni zoologiche risalenti al XIX e al XX secolo. La possibilità di genotipizzare tali reperti consente di "fotografare" la biodiversità del passato, affrontando quelle ambiguità tassonomiche e di distribuzione geografica impossibili da discernere sulla base dei soli campioni attuali. La collaborazione fra musei naturalistici e laboratori di ricerca bio-molecolare, sta consentendo sia di sviluppare nuove tecniche conservative di estrazione del DNA da materiale museale, sia di chiarire aspetti chiave di alcune delle specie faunistiche di maggiore interesse conservazionistico, come Starna (*Perdix perdix*) e Coturnice (*Alectoris graeca*), sia di verificare l'esistenza di particolari entità tassonomiche, come il Cavedano del Trasimeno (*Squalus albus*) o addirittura di descrivere nuove specie (*Esox flaviae*). Queste ricerche sono possibili solo grazie all'analisi genetica di esemplari museali e forniscono alle autorità competenti strumenti di implementazione di piani di gestione e valorizzazione del patrimonio faunistico. Inoltre tali attività, rimarcando il ruolo dei musei naturalistici nella promozione della ricerca scientifica applicata alla conservazione delle risorse naturali, valorizzano il lavoro di naturalisti ed esploratori del passato e "rendono vive" le collezioni storiche. I campioni tassidermizzati acquisiscono così un ruolo primario nella ricerca scientifica applicata alla conservazione della fauna selvatica, divenendo oggetto di attività educative e didattiche innovative in cui i Musei di Storia Naturale, integrano il ruolo di "Archivi della Biodiversità" con quello di Laboratori di Ricerca e centri di educazione.

Parole chiave:

DNA, collezioni storiche, musei di storia naturale, ricerca bio-molecolare, biologia della conservazione.

ABSTRACT

DNA, biodiversity archives and scientific museums: experiments performed in the Natural History Gallery of the University of Perugia

*The Natural History Gallery of the Scientific Museum Centre of the University of Perugia hosts important zoological collections dated to XIX and XX centuries. The possibility of a genotyping of museum specimens allowed to "photograph" the past biodiversity, studying taxonomic and zoogeographic ambiguities that should be impossible to be clarified basing only on contemporary samples. For these reasons, the collaboration between naturalistic museum and bio-molecular laboratories allowed the development of new conservative methodologies for DNA extraction from museum specimens, as well as clarify key-aspects of some important faunal species as *Perdix perdix* or *Alectoris graeca*, verify the existence of debated species, as *Squalus albus*, or the description of newly one, as *Esox flaviae*. Such researches are made possible by the genetic characterization of museum specimens and produce data that can be use by the management authorities to implement management plans and valorise faunal heritage. Furthermore, they underlined the role of naturalistic museums in the promotion of scientific research applied to the natural resources conservation, valorise the work of past naturalists and explorers and "make alive" the historical collections. Taxidermy samples acquired a central role in the scientific research applied to the conservation of sylvatic fauna, becoming the object of innovative educational and didactic activities in which the natural history museums complete their role of "biodiversity archives" with that of research laboratories and educational centre.*

Key words:

DNA, historical collection, natural history museums, bio-molecular research, conservation biology.

INTRODUZIONE

La Galleria di Storia Naturale (GSN) del Centro di Ateneo per i Musei Scientifici dell'Università degli Studi di Perugia (Gentili et al. 2014) conserva importanti collezioni zoologiche storiche, in gran parte risalenti alla seconda metà del XIX secolo ed ai primi decenni del XX secolo, sia relative alla fauna italiana, principalmente delle regioni centrali della penisola (Barili et al. 2008, 2009), sia esotica (Barili & Gentili, 2009). Tali raccolte, costituite da naturalisti locali come Andrea Batelli (1855-1917), Orazio Antinori (1811-1882) e Giulio Cicioni (1844-1923), rappresentando un considerevole "archivio" della biodiversità animale dell'Italia centrale a cavallo tra due secoli, hanno visto lo sviluppo negli ultimi anni di attività di ricerca scientifica rivolte ad una migliore definizione dello status tassonomico, su basi genetiche, di diverse entità zoologiche considerate di interesse critico per quanto concerne la gestione e tutela della fauna selvatica. La portata delle informazioni ricavabili in tal senso dai materiali biologici museali è stata spesso sottovalutata pensando che i reperti potessero fornire poche informazioni di limitata utilità, mentre è ormai chiaro che un "archivio" zoologico, per essere significativo, non deve solo conservare un bene, ma interessare più livelli di specifica conoscenza.

Lo sviluppo delle tecniche biomolecolari consente, ad esempio, di recuperare informazioni basilari per la ricostruzione delle relazioni filogenetiche fra specie e fra le popolazioni del passato e le attuali (Lucentini et al., 2009, 2014). Tali tecniche forniscono informazioni che sarebbero state impensabili fino a qualche decennio fa e consentono di documentare aspetti che potrebbero sembrare definitivamente perduti e non più recuperabili in un esemplare conservato. La possi-



Fig. 1. Coturnice (*Alectoris graeca*). Collezione Antinori - Galleria di Storia Naturale dell'Università degli Studi di Perugia.



Fig. 2. Starna (*Perdix perdix*). Collezione Antinori - Galleria di Storia Naturale dell'Università degli Studi di Perugia.

bilità di recuperare e studiare il DNA ancora presente nei campioni conservati permette, infatti, di indagare le caratteristiche genotipiche, fornendo informazioni uniche ed innovative sugli esemplari del passato che possono, quindi, essere confrontati con quelli attuali. Queste tecniche, benché proprie delle ricerche biologico-molecolari, possono coadiuvare altre discipline scientifiche nel fornire risposte ai quesiti più disparati, come la validazione dei dati di classificazione, il rapporto con genotipi attuali, l'analisi comparativa fra campioni museali, la definizione della dimensione effettiva della popolazione (Lucentini et al., 2009, 2014). I reperti museali divengono quindi una "fotografia" dei genotipi del passato, consentendo un confronto unico e preziosissimo fra l'assetto popolazione attuale e passato, che per molte specie corrisponde al periodo antecedente le azioni di ripopolamento massicce per scopi venatori, operate con materiale di origine incerta. La conservazione del DNA delle specie non ne previene la scomparsa, ma può compensare la grande perdita di conoscenza che accompagna l'estinzione delle specie animali. Per questo disporre delle genoteche e di una parziale genotizzazione degli esemplari delle collezioni museali può consentire di fornire a tali raccolte un inestimabile valore aggiunto. Poterne analizzare il DNA ne consente, infatti, la catalogazione, la collocazione nella

scala filogenetica, l'applicazione di qualunque marcatore molecolare.

La collaborazione fra il Laboratorio di Biodiversità Animale e Biotecnologie Naturalistiche (LaBioNat) e la GSN è nata con lo scopo di mettere a punto tecniche specifiche di analisi dei campioni museali e di genotipizzare alcune specie-chiave per la fauna Umbra, come ad esempio la Coturnice (*Alectoris graeca*) (fig. 1), la Starna (*Perdix perdix*) (fig. 2) e il Cavedano (*Squalus albus*).

METODI E RISULTATI

La presente ricerca ha consentito di migliorare il campionamento e l'estrazione del DNA da esemplari museali, minimizzando l'impatto visivo sui reperti. Per fare questo ci si è avvalsi del confronto con tecniche e metodiche di prelievo ed estrazione messi a punto presso il LaBioNat su esemplari attuali, dai quali sono stati prelevati quei campioni che possono avere applicabilità in campo museale (ad esempio penne e non sangue). Infatti, spesso i campionamenti non invasivi effettuati su esemplari attuali non possono essere ugualmente applicati ai preparati conservati nelle collezioni museali. Caso tipico è rappresentato dalla fauna ittica, dove normalmente si estrae DNA da scaglie, muco o cellule boccali (Lucentini et al., 2006 a-c, 2009, 2010a-b), ovvero campioni biologici non prelevabili da esemplari di collezione.

Dopo aver messo a punto la metodica su esemplari attuali, questa è stata traslata su esemplari museali. Un esempio è quello dell'avifauna per la quale si è proceduto prima all'individuazione della tipologia di penna migliore per l'estrazione del DNA (Lucentini et al., 2010b), cercando di ottimizzare il DNA estratto a parità di integrità del reperto, applicando solo in un secondo momento la metodologia agli esemplari museali. Nel caso della fauna ittica, abbiamo messo a punto un protocollo di estrazione basato sul prelievo di una piccolissima porzione di tessuto addominale (2-3 mg) prelevato dall'ano con delle pinzette appuntite (Lucentini et al., 2014).

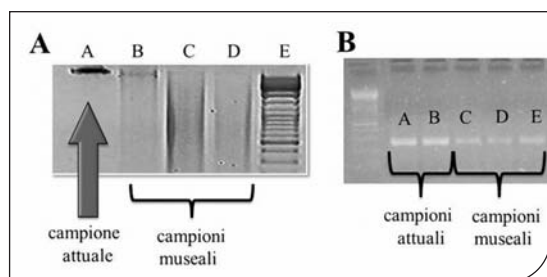


Fig. 3. (A) Corsa in gel di agarosio1% dei DNA totali estratti A: campione attuale. B-C: campioni museali. (B) Corsa in gel di agarosio2% di ampliconi di campioni attuali (A, B) e museali (C-D).

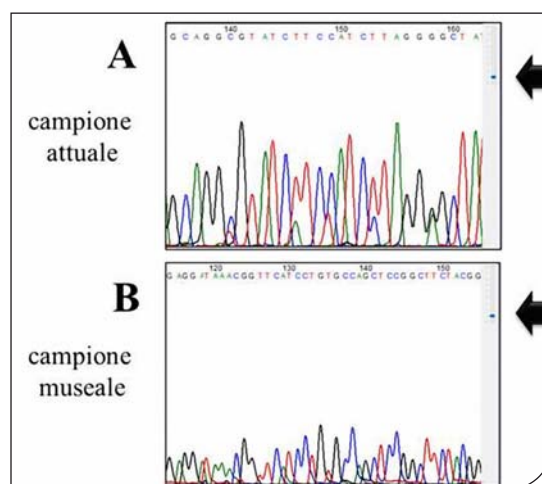


Fig. 4. Elettroferogrammi di un campione attuale (A) e uno museale (B) dai quali è evidente la diversa intensità dei picchi a parità di ingrandimento (freccie nere).

Il materiale estratto è spesso di qualità non ottimale, presentando poco DNA e frammentato. Per questo motivo non ha alcuna validità la refertazione di controlli elettroforetici (fig. 3a) e spettrofotometrici negativi, che non corrisponde all'effettiva amplificabilità dei campioni. L'ottenimento di ampliconi di buona qualità è basato su l'impiego di primer specie-specifici che amplifichino frammenti di piccole dimensioni (fig. 3b). Dai campioni museali è quindi possibile ottenere piccoli ampliconi purificabili e sequenziabili, benchè spesso gli elettroferogrammi mostrino picchi meno intensi rispetto ai campioni attuali (fig. 4).

CONCLUSIONI

In conclusione, queste attività di ricerca, tuttora in corso, rivestono un particolare rilievo perché nascono dalla stretta collaborazione tra la GSN e il Dip. di Chimica, Biologia e Biotecnologie dell'Università degli Studi di Perugia, consolidando così dei rapporti tra due tipologie di strutture di ricerca che operano per gli stessi fini ma tradizionalmente spesso separate. Inoltre forniscono alle autorità competenti territoriali (es. Osservatorio Faunistico Regione Umbria, Osservatorio Regionale per la Biodiversità, il Paesaggio Rurale e la Progettazione Sostenibile, Rete Natura 2000, Rete Ecologica della Regione Umbria, Servizio Sistemi Naturalistici e Zootecnia della Regione Umbria) indispensabili nuovi dati per l'attuazione di migliori misure di gestione, tutela, valorizzazione del patrimonio faunistico regionale, rimarcando così uno dei più importanti ruoli dei musei naturalistici, la promozione della ricerca scientifica applicata alla conservazione delle risorse naturali del territorio locale, inquadrato sempre in un ambito globale. Essi contribuiscono a "rinnovare" l'importanza del lavoro

svolto da naturalisti ed esploratori del passato, al fine di ricostruire la storia della vita attraverso campioni storici oggi spesso elementi unici e preziosi per la moderna ricerca genetica, biomolecolare e quanto di nuovo ci riserverà il futuro! La ricerca qui esposta, inoltre, offre nuove ed interessanti opportunità educative e didattiche nell'ambito dei percorsi di studio inerenti la Biologia della Conservazione, facendo dei Musei di Storia Naturale, oltre che degli "Archivi della Biodiversità", dei veri e propri Laboratori di Ricerca e centri di educazione, contribuendo, nel contempo, a rendere "vive" le collezioni zoologiche storiche ed a restituire ai campioni tassidermizzati un ruolo di primaria importanza nello sviluppo della ricerca scientifica applicata alla conservazione della fauna selvatica.

BIBLIOGRAFIA

- BARILI A., GENTILI S., PACI A. M., ROMANO C., 2008. La collezione zoologica di Monsignor Giulio Cicioni di Perugia: un recupero per la scienza. *Museologia scientifica, Memorie*, 3: 136-140.
- BARILI A., GENTILI S., 2009. Le collezioni esotiche di Storia Naturale di Orazio Antinori (1811-1882) e di Giulio Cicioni (1844-1923) conservate presso l'Università degli Studi di Perugia. *Museologia scientifica, Memorie*, 4: 24.
- BARILI A., LAPIANA F., GENTILI S., 2009. La raccolta ornitologica di Orazio Antinori a Perugia. Un esercizio di memoria. *Museologia scientifica, Memorie*, 2: 186-191.
- GENTILI S., BARILI A., ROMANO B., CHERIN M., 2014. Una collezione per tutti! La Galleria di Storia Naturale dell'Università degli Studi di Perugia. *Museologia scientifica, nuova serie*, 8: 23-28.
- LUCENTINI L., PALOMBA A., LANCIONI H., NATALI M., PANARA F., 2006a. A nondestructive, rapid, reliable and inexpensive method to sample, store and extract high-quality DNA from fish body mucus and buccal cells. *Molecular Ecology Notes*, 6: 257-260.
- LUCENTINI L., CAPORALI S., PALOMBA A., LANCIONI H., PANARA F., 2006b. A comparison of conservative DNA extraction methods from fins and scales of freshwater fish: a useful tool for conservation genetics. *Conservation Genetics*, 6: 1009-1012.
- LUCENTINI L., PALOMBA A., GIGLIARELLI L., LANCIONI H., VIALI P., PANARA F., 2006c. Genetic characterization of a putative indigenous brown trout (*Salmo trutta fario*) population in a secondary stream of the Nera River Basin (Central Italy) assessed by means of three molecular markers. *Italian Journal of Zoology*, 73(3): 263-273.
- LUCENTINI L., PALOMBA A., GIGLIARELLI L., SGARAVIZZI G., LANCIONI H., LANFALONI L., NATALI M., PANARA F., 2009. Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (*Esox lucius*) population. *Fisheries Research*, 96(2-3): 139-147.
- LUCENTINI L., GIGLIARELLI L., PALOMBA A., PULETTI M.E., PANARA F. 2010a. Temporal study of stress-induced effects caused by developmental temperature changes and water quality in an isolated northern pike (*Esox lucius* L.) population. *Journal of Water Resource and Protection (JWARP)* 2, 2: 167-180. DOI: 10.4236/jwarp.2010.22019.
- LUCENTINI L., GIGLIARELLI L., PULETTI M.E., VOLPI L., PANARA F. 2010b. Comparison of conservative DNA Extraction methods for two Galliformes: grey partridge (*Perdix perdix* Linnaeus 1758) and red-legged partridge (*Alectoris rufa* Linnaeus 1758). *Conservation Genetic Resources*, 2: 381-384.
- LUCENTINI L., CHIESA S., GIANNETTO D., POMPEI L., NATALI M., SALA P., VOLTA P., LORENZONI M., FONTANETO D., 2014. Integrative taxonomy does not support the occurrence of two species of the *Squalius squalus* complex (Actinopterygii, Cypriniformes, Cyprinidae) in Italy. *Biochemical Systematics and Ecology*, 56: 281-288.