

Allestimento di una banca biologica del DNA di primati: un nuovo approccio alle collezioni storiche

Paolo Guaschi

Museo di Storia Naturale, Sistema Museale di Ateneo, Università di Pavia, Piazza Botta, 9. I-27100 Pavia.
 E-mail: paolo.guaschi@unipv.it

Enrica Capelli

Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia, via Taramelli, 21. I-27100 Pavia.
 E-mail: enrica.capelli@unipv.it

Francesco Zambuto

Via Ruggero Normanno, 179. I-92016 Ribera (AG). E-mail: francescozambuto@hotmail.it

RIASSUNTO

Il Museo di Storia Naturale dell'Università di Pavia, fondato nel 1771 da Lazzaro Spallanzani, rivestì un ruolo molto importante in seno alle strutture scientifiche dell'Ateneo. Nel dopoguerra perse via via il suo ruolo fino a essere abbandonato. Dal 1989 l'Università ha iniziato il recupero delle collezioni con il fine di riavvicinare il Museo alle istituzioni scientifiche. Nel 2014 in collaborazione con il Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente è stato avviato un lavoro per l'allestimento di una banca biologica del DNA della collezione di primati che ha comportato la messa a punto di procedure di estrazione e di analisi del DNA antico.

Parole chiave:

Museo di Storia Naturale, scheletri di primati, DNA.

ABSTRACT

Assembling a biological DNA primates bank: a new approach to historical collections

The "Museo di Storia naturale dell'Università di Pavia" was founded in 1771 by Lazzaro Spallanzani. The Museum had an important role within the scientific institutes of the University. After the Second World War the Museum lose its role and it was abandoned. Since 1989 the University has begun the restoration of the collections to reconnect the Museum to the scientific departments. In 2014 a protocol for the extraction of ancient DNA has been developed in collaboration with the "Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente". Museum and department have been working together on the primates skeletons collection to create a GenBank.

Key words:

Museo di Storia Naturale, skeletons of primates, DNA.

La fondazione del Museo di Storia Naturale dell'Università di Pavia risale al 1771, data in cui Lazzaro Spallanzani, che da due anni ricopriva la Cattedra di Storia Naturale, ricevette il primo nucleo di materiale proveniente da Vienna (Galeotti & Rovati, 1999). Nelle intenzioni dello scienziato il Museo doveva essere il collettore delle attività legate alla ricerca e all'insegnamento. Un luogo dove conservare i reperti, frutto dei viaggi e oggetto delle ricerche, che per loro natura racchiudevano intimamente la risposta a quella curiosità scientifica che doveva essere soddisfatta. Le collezioni o i singoli esemplari divenivano infine un libro aperto con il quale si impartiva l'insegnamento. Con questa impostazione il Museo divenne rapidamente un'istituzione assai prestigiosa sulla quale non mancarono di investire sia i governi che l'Ateneo pavese.

I successori di Spallanzani: Giuseppe Mangili, Gian Maria Zandrini, Giuseppe Balsamo Crivelli, Leopoldo

Maggi e Pietro Pavesi, eminenti rappresentanti delle Scienze Naturali, continuarono a considerare il Museo come ausilio fondamentale procurando sempre nuovi e importanti reperti. Anche dopo la riforma Casati del 1875, che suddivise la Cattedra di Storia Naturale in quelle di Mineralogia, Zoologia e Anatomia Comparata, le relative collezioni vennero innalzate a musei indipendenti e continuamente incrementate.

Il culmine della loro magnificenza si raggiunse tra la fine dell'Ottocento e il primo decennio del Novecento. Dopo questo periodo le tre istituzioni eredi del Museo di Storia Naturale andarono incontro alla crisi che interessò i musei universitari i quali forse più di altri ne patirono le conseguenze. Già nel 1939 Carlo Jucci, direttore dell'Istituto di Zoologia, scriveva: "se il Museo rappresenta l'eredità di un passato glorioso il Centro di Genetica che oggi fondiamo costituisce la sicura promessa di un avvenire fecondo" (Jucci, 1939).

Questo conferma come l'attenzione degli studiosi, sempre più orientata alle indagini microscopiche, portò a un progressivo disinteresse verso i musei che persero il loro legame con la ricerca ricoprendo un ruolo sostanzialmente didattico. Gli acquisti del Museo di Anatomia Comparata dal 1920 circa furono, ad esempio, quasi tutti improntati sui preparati didattici. Il culmine arrivò nel dopoguerra quando le stanze occupate dalle raccolte considerate decisamente scollegate dalla ricerca e didatticamente ritenute ormai obsolete vennero sgombrate per far posto ai nuovi laboratori. I tre musei vennero quindi nuovamente raggruppati sotto l'originario nome di Museo di Storia Naturale e il materiale fu traslocato nel castello della città di Pavia con l'intento di formare un Museo Civico di Storia Naturale. L'idea non si concretizzò e il Museo venne di fatto dimenticato per un trentennio.

Alla fine degli anni Ottanta del XX secolo, con la creazione del CISMU (Centro Interdipartimentale Servizi Musei Universitari), l'Università di Pavia prese coscienza del patrimonio storico e scientifico dimenticato che, per l'incuria, andava rapidamente disfacendosi. Il CISMU, divenuto in seguito SMA (Sistema Museale d'Ateneo), intraprese il recupero, il restauro e la catalogazione del materiale; un lavoro che vista la quantità dei reperti non è ancora terminato.

La comunità scientifica ticinese accolse con entusiasmo il rinnovato Museo e l'Ateneo individuò una parte dell'allora Dipartimento di Biologia Animale quale sede degli uffici e dei laboratori. Nonostante la vicinanza,

non solo fisica, del Dipartimento, il Museo non riuscì subito a recuperare quelle collaborazioni che lo avevano legato originariamente alle strutture di ricerca. Il Museo di Storia Naturale fu visto troppo spesso quale luogo della memoria custode di un sapere antico e, come era accaduto circa un secolo prima, venne considerato essenzialmente dal punto di vista didattico.

Il CISMU, sotto la direzione di Clementina Rovati, fece un grande sforzo per rivitalizzare il rapporto che aveva legato il Museo alle strutture scientifiche e alla cittadinanza, a cominciare dall'attività divulgativa esplicata con molte mostre a tema che contribuì a ricordare l'esistenza della rinata istituzione scientifica. Attraverso il corso di Museologia, attivo nel percorso di Laurea in Scienze Naturali, molti studenti decisero di svolgere le loro tesi di laurea presso il Museo occupandosi del restauro e dello studio delle raccolte e ancora oggi vi sono laureandi che scelgono questo percorso.

Questo fu senza dubbio positivo e forse rappresentò il passaggio obbligato per rilanciare l'istituzione; senza il contributo degli studenti il lavoro di recupero delle collezioni sarebbe stato impossibile.

La svolta si registra a partire dai primi anni Duemila, quando il Museo iniziò a collaborare attivamente nelle ricerche. Nel 2005 prese parte a una spedizione scientifica sul lago Turkana e nel 2009-2013 sull'isola di Socotra. Oltre alle pubblicazioni, queste ricerche hanno permesso di catalogare diversi reperti che oggi sono in parte conservati in Museo e tra cui figura l'olotipo



Fig. 1. La collezione di scheletri di primati.

di *Hemidactylus barbierii*, un gecko della famiglia Gekkonidae. Anche dal punto di vista della conservazione museale si sono intrapresi passaggi significativi come ad esempio un lavoro di studio degli agenti micologici infestanti le collezioni a secco e in liquido, eseguito in collaborazione con il laboratorio micologico dell'Orto Botanico dell'Ateneo pavese.

Nel 2014, inoltre, si presentò l'occasione di collaborare con il Laboratorio di Analisi Genetiche del Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente dell'Università di Pavia, interessato a mettere a punto un protocollo per l'estrazione del DNA antico da reperti ossei, con il fine di allestire una banca biologica. Si decise di impostare la ricerca sulla collezione di scheletri di primati. Il Museo ospita infatti una consistente collezione primatologica composta da esemplari tassidermizzati, crani e scheletri. Alcuni di questi reperti anatomici e zoologici compaiono già nel catalogo del 1786, ma i maggiori incrementi che portarono alla formazione della raccolta degli scheletri si realizzarono nel 1875 (Formenti et al., 2006).

Il catalogo del Museo di Anatomia Comparata, aggiornato al 1931, elenca 67 scheletri di primati, mentre attualmente ne sono presenti 77 che rappresentano 35 specie di 20 generi. Tra essi si segnalano 4 esemplari di *Homo sapiens sapiens* indicati già nel catalogo ottocentesco. Le indagini sono state effettuate su tutti gli esemplari.

Il materiale biologico è stato ottenuto sotto forma di polvere prelevandolo dalla parte interna delle ossa del femore o dell'omero. Solo nei casi delle specie più minute, essendo impossibile campionare in questi punti, sono stati usati minuscoli frammenti di osso asportati dalle costole fluttuanti.

Il protocollo di indagine adottato ha previsto una preventiva igienizzazione dell'area interessata con ipoclorito di sodio e la rimozione dello strato superficiale di tessuto nel punto di prelievo.

La polvere d'osso è stata ricavata praticando un foro per mezzo di un trapano a lenta velocità dotato di una punta (\varnothing 1,2 mm) preventivamente depirogenata. Da ogni esemplare è stata recuperata una quantità di polvere di osso variabile tra 0,2 e 0,5 g.

Per l'estrazione ci si è orientati sull'utilizzo del kit "Promega DNA IQ system", modificando in laboratorio il protocollo consigliato per adattarlo alle ossa antiche ponendo particolare attenzione nella decalcificazione e nella prevenzione dei processi degenerativi a carico degli acidi nucleici. Il DNA ottenuto è stato quantificato con metodo fluorimetrico e la resa media per campione è risultata pari a 1,4 ng/ml. Si è quindi passati all'amplificazione, condotta seguendo il metodo WGA (Whole genome amplification) e impiegando il kit "Ready to go genomiPhi V3 DNA amplification kit". Per verificare la qualità del DNA ottenuto è stata effettuata, su una serie di 12 campioni casuali, l'amplificazione con primers disegnati su sequenze di scimmie depositate nei databases. La scelta è caduta sul gene HGPRT (ipoxantina-guanina

fosforibosil transferasi) e in particolare è stato utilizzato il tratto genico dell'introne 2 per il disegno dei primers. Questo gene, che codifica per un enzima coinvolto nel metabolismo delle purine, è uno dei più studiati per la variabilità intra/inter-specifica dei primati. I risultati ottenuti hanno confermato l'appartenenza dei campioni alle specie indicate, tranne che in un caso. Questa eccezione, che conferma la bontà del protocollo impiegato, riguarda un esemplare di orango indicato come *Pongo pygmaeus*, che non ha dato positività al saggio di amplificazione (PCR). L'analisi morfologica dello scheletro ha permesso di confermare l'appartenenza dell'esemplare al genere *Pongo* e con le dovute precauzioni si può attribuire il reperto all'altra specie di orango, il *Pongo abelii* (orango di Sumatra) per il quale non ci si attende un risultato positivo se si confrontano le sequenze del tratto genico considerato delle due diverse specie presenti nel database NCBI. Il DNA di tutti i reperti della collezione è stato infine stoccato su carte FTA, un sistema di conservazione ampiamente sperimentato in campo forense e adatto per la conservazione a temperatura ambiente (Lee et al., 2010). Il risultato di questo lavoro ha permesso di realizzare una raccolta del DNA delle scimmie che potrà essere utilizzato con le tecnologie di analisi genetica di ultima generazione, ad esempio per studi filogenetici (Wildman et al., 2009), e dimostra come le collezioni storiche possono svolgere tuttora importanti funzioni per lo studio della biodiversità e dei processi evolutivi vedendo così rinnovato l'originale valore scientifico e didattico.

Questo nuovo approccio alle collezioni ha gettato le basi per una nuova collaborazione con i dipartimenti scientifici dell'Ateneo. La biologia molecolare che fu la causa del declino del Museo di Storia Naturale potrebbe paradossalmente diventare il motore della rinascita scientifica del Museo stesso.

BIBLIOGRAFIA

FORMENTI D., ROVATI C., MARETTI S., RAZZETTI E., 2006. *La collezione primatologica del Museo di Storia Naturale dell'Università degli Studi di Pavia*. In: Bruner E., Gippoliti S. (a cura di), *Le Collezioni Primatologiche Italiane*. Istituto Italiano di Antropologia, Roma, pp. 97-110.

GALEOTTI P., ROVATI C., 1999. *Il Museo di Lazzaro Spallanzani 1771-1799. Una camera delle meraviglie tra l'Arcadia e Linneo*. Greppi Editore, Cava Manara (PV), 123 pp.

JUCCI C., 1939. *L'Istituto di Zoologia "Lazzaro Spallanzani" della R. Università di Pavia*. Tipografia già cooperativa, Pavia, 150 pp.

LEE S.B., COURSE C.A., KLINE M.C., 2010. Optimizing Storage and Handling of DNA Extracts. *Forensic Science Review*, 22(2): 131-144.

WILDMAN D.E., JAMESON N.M., OPAZO J.C., YI S.V., 2009. A fully resolved genus level phylogeny of neotropical primates (Platyrrhini). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53(3): 694-702.