

Preparazione e conservazione museale delle larve di anfibi

Edoardo Razzetti

Centro Interdipartimentale di Servizi Musei Universitari, Museo di Storia Naturale, Università degli Studi di Pavia, piazza Botta, 9. I-27100 Pavia. E-mail: razzetti@unipv.it

Carlo Violani

Franco Bernini

Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi di Pavia, via Taramelli, 24. I- 27100 Pavia. E-mail: carlo.violani@unipv.it; franco.bernini@unipv.it

RIASSUNTO

La conservazione delle larve degli anfibi, in particolare degli anuri, risulta spesso difficile perché i campioni hanno scarsa consistenza e possiedono strutture sottili ed estremamente delicate, elementi spesso utili per una corretta identificazione dei vari *taxa*. Il metodo migliore per fissare questi campioni consiste nell'utilizzare una soluzione tamponata di formaldeide al 4%, prestando attenzione che il volume del fissativo sia almeno tre o quattro volte superiore a quello dei campioni. L'uso dell'alcool etilico come fissativo e conservante è sconsigliabile perché provoca forte disidratazione degli esemplari e conseguente distorsione delle strutture più delicate. Per limitare gli effetti dell'evaporazione, particolarmente evidenti in recipienti di piccole dimensioni, è opportuno mantenere i girini in provette, a loro volta immerse in un vaso pieno di liquido conservante.

Parole chiave:

anfibi, girini, collezioni museali, conservazione.

ABSTRACT

Museum preparation and preservation of amphibian larvae.

The preservation of amphibian larvae, in particular of tadpoles, is frequently difficult, since samples have a poor consistency and have thin and extremely delicate structures, which are often useful for a correct identification of the various taxa. The best method in order to fix these samples consists in using a buffered solution of formaldehyde 4%, paying attention to the fact that the fixative volume must be three or four times higher than the samples' volume. The use of ethylic alcohol as fixative and preserver should be discouraged as it causes a strong dehydration of the specimens and therefore a distortion of the most delicate structures. In order to reduce the effect of evaporation, particularly obvious in smaller containers, it is appropriate to keep the tadpoles in test-tubes, which are completely plunged in a jar filled with the preserving fluid.

Key words:

amphibians, tadpoles, museum collections, preservation.

INTRODUZIONE

Le larve degli anfibi, in particolare quelle degli anuri, rivestono grande importanza dal punto di vista tassonomico perché possiedono frequentemente caratteristiche morfologiche che permettono di identificare i vari *taxa*. La morfologia dell'apparato boccale, il numero dei cheratodonti e la loro disposizione rappresentano gli elementi distintivi più utilizzati per fini tassonomici negli anuri (Wassersug, 1976; Guarino, 1992; Dubois, 1994; Sperling et al., 1996); altri caratteri considerati sono la posizione dello spiracolo, della cloaca, degli occhi, delle narici e lo sviluppo delle creste dorsali e ventrali (e.g. Suarez-Mayorga & Lynch, 2001). Gli stadi larvali degli anfibi sono soggetti naturalmente

a elevata mortalità e questo consente, almeno in alcuni casi, di ottenere ampie serie di individui senza influire negativamente sulle popolazioni naturali. Tuttavia, i girini raramente sono raccolti allo scopo di incrementare le collezioni e molto più frequentemente entrano a far parte delle raccolte museali indirettamente, in seguito a studi di tipo morfologico, tossicologico o genetico oppure grazie a spedizioni scientifiche e indagini faunistiche.

Il materiale utilizzato per ricerche morfologiche e tossicologiche proviene di solito da raccolte monospecifiche, spesso di provenienza locale, ed è costituito frequentemente da individui a diversi stadi di sviluppo; esso riveste quindi un'importanza scientifica relativamente modesta, anche se può essere utile sia per uso di-

dattico o di confronto, sia per scambi con altre istituzioni scientifiche.

I campioni provenienti da studi genetici sono meno frequenti; essi vengono conservati in alcool assoluto o in azoto liquido e per questo risultano fortemente distorti e scarsamente utilizzabili per analisi morfologiche. Cionondimeno, questo materiale merita di essere conservato allo scopo di costituire una raccolta finalizzata a ricerche biochimiche o genetiche.

Le larve di anfibio raccolte durante indagini faunistiche ed esplorazioni scientifiche, appartenenti solitamente a gruppi eterogenei di specie e provenienti da località anche molto distanti tra loro, sono particolarmente utili dal punto di vista tassonomico. Questo materiale può costituire il nucleo di una raccolta di studio e merita pertanto particolari riguardi che ne garantiscano un'adeguata conservazione e una buona facilità di gestione.

LA CONSERVAZIONE DELLE LARVE DI ANFIBI

Uno dei problemi connessi alle modalità di conservazione di questi reperti è la scarsità di testi che affrontino distintamente l'argomento. Non abbiamo reperito alcuna informazione specifica nei testi in lingua italiana considerati di riferimento per la preparazione e la conservazione dei materiali zoologici, quali i classici manuali di Gestro (1925) e Zangheri (1981); molte pubblicazioni che trattano della conservazione in liquido di reperti zoologici e vari testi che analizzano le modalità di preparazione di anfibio e rettili (Myers, 1956; Neill, 1961; Carter & Walker, 1998) non affrontano l'argomento, lasciando spazio all'empirismo, all'inventiva o allo scambio di informazioni tra i singoli conservatori. Indicazioni dettagliate e tecniche standardizzate sulla conservazione di larve di anfibio sono invece riportate da Lanza (1983), Simmons (1987, 2002), McDiarmid & Altig (1999).

La conservazione risulta spesso difficile perché i campioni hanno, per loro natura, scarsa consistenza e possiedono strutture sottili ed estremamente delicate quali creste dorsali, branchie esterne, papille e file di cheratodonti attorno all'apertura orale, elementi fondamentali per una corretta identificazione.

Il metodo migliore per fissare questi campioni sul campo consiste nell'utilizzare una soluzione tamponata di formaldeide al 4% (ottenuta aggiungendo nove parti di acqua alla formalina commerciale al 40%), prestando attenzione che il volume del fissativo sia almeno tre o quattro volte superiore a quello dei campioni.

Nel corso di alcune ricerche riguardanti la biologia riproduttiva e lo sviluppo di *Rana latastei* e *Rana dalmatina* (Barbieri et al., 2000; Vercesi et al., 2000), l'osservazione del disco orale in girini anestetizzati con MS 222 (Sandoz) è stata affiancata a confronti con materiale di collezione conservato in formalina; le osservazioni hanno evidenziato come questo fissativo consenta di ottenere reperti perfettamente confrontabili morfo-



Fig. 1. Girino di *Rana dalmatina* conservato in soluzione di formaldeide al 4%: le strutture del disco orale appaiono perfettamente integre e ben visibili.

logicamente con gli animali vivi (figg. 1,2).

L'uso dell'alcool etilico come fissativo e successivamente come liquido conservante è, invece, sconsigliabile perché provoca forte disidratazione degli esemplari e conseguente distorsione delle strutture più delicate (fig. 3). Nel caso di basse concentrazioni alcoliche, le osservazioni effettuate allo stereoscopio mostrano spesso il distacco di alcune file di cheratodonti; utilizzando invece alcool a elevata concentrazione (>70%) si provoca un forte irrigidimento e si danneggia in modo irreparabile la morfologia delle strutture dell'apparato boccale, analogamente a quanto osservato da McDiarmid & Altig (1999). Solo nel caso di larve di grandi dimensioni (per es. girini in stadio avanzato di sviluppo di *Rana synklepton esculenta* o di *Rana catesbeiana*) l'alcool etilico può essere adottato con discreti risultati (Gotte & Reynolds, 1998). Nelle collezioni di larve di anfibio presenti presso il Museo di Storia Naturale dell'Università di Pavia gli esemplari conservati in formalina sono generalmente in buone condizioni; una parte del materiale è invece stato trasferito in alcool (dopo un'iniziale fissazione in for-



Fig. 2. Disco orale in girino di *Rana dalmatina* fotografato vivo dopo anestesia.

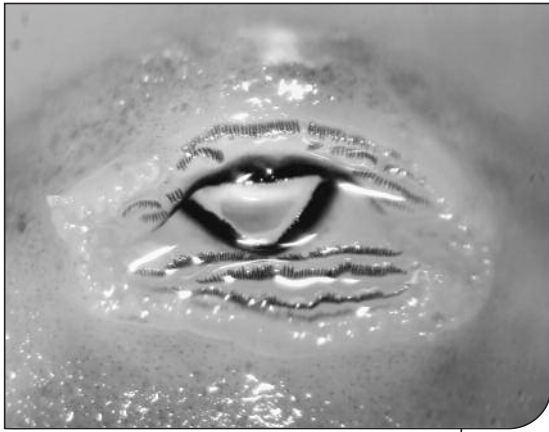


Fig. 3. Disco orale in girino di *Rana dalmatina* conservato in alcool etilico 70°: si nota la distorsione della regione orale e il parziale distacco di alcune file di cheratodonti.

malina) con risultati più o meno soddisfacenti; invece, le larve fissate e conservate in alcool sono generalmente in cattive condizioni.

Il materiale giunto in museo dovrebbe essere subito trasferito nel liquido di dimora definitivo; questa operazione è necessaria perché la soluzione di fissazione, spesso preparata sul campo in modo approssimativo utilizzando acqua raccolta direttamente sul posto e senza tampone, non offre sufficienti garanzie di affidabilità per una conservazione prolungata.

In museo è opportuno tenere separata la collezione di larve dalla collezione di esemplari adulti (generalmente conservati in alcool etilico 70%) per evitare di confondere i liquidi di conservazione durante i controlli periodici e per poter controllare con regolarità che il pH della soluzione non si abbassi eccessivamente.

Per limitare gli effetti dell'evaporazione, particolarmente evidenti in recipienti di piccole dimensioni, è opportuno conservare i girini in provette chiuse con battuffoli di cotone, a loro volta immerse in un vaso pieno di liquido conservante.

Riguardo all'etichettatura non è opportuno applicare cartellini ai singoli esemplari; vista la fragilità dei reperti è meglio inserire un'etichetta con i dati in ogni provetta e considerare il gruppo di girini del singolo contenitore come appartenente a un medesimo lotto.

BIBLIOGRAFIA

Barbieri F., Vercesi A., Lavizzari G., Bernini F., 2000. Caratteri meristici e morfologici del disco orale negli stadi larvali di *Rana latastei* e *Rana dalmatina*. *Rivista di Idrobiologia*, 38(1999) (1/2/3): 19-26.

Carter D., Walker A.K., 1998. *Care and conservation of na-*

tural history collections. Butterworth-Heinemann, London, 256 pp.

Dubois A., 1994. Keratodont formulae in anuran tadpoles: proposal for a standardization. *Journal Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 33: 1-15.

Gestro R., 1925. *Il naturalista preparatore: tassidermista*, 6. Ed. riv. ed. aum., Ulrico Hoepli, Milano, XIV + 238 pp.

Gotte S.W., Reynolds R.P., 1998. Observations on the effects of alcohol vs. formalin storage of amphibian larvae. [oral contribution presented at the workshop "Preservation and Curation of Early Life History Stages of Fishes, Amphibians, and Reptiles at the meeting of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists, held 26 June - 2 July 1997 in Seattle, Washington."] <http://www.pwrc.usgs.gov/resshow/reynold1rs/amphblarv.htm>.

Guarino F.M., 1992. Durata dello sviluppo di *Rana italica* (*Amphibia*, *Anura*, *Ranidae*) e osservazioni sul numero delle serie di cheratodonti per la determinazione del girino. *Bollettino del Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino*, 10 (1): 179-186.

Lanza B., 1983. *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane*. 27. Anfibi, Rettili (*Amphibia*, *Reptilia*). - Collana del Progetto finalizzato "Promozione della qualità dell'ambiente". AQ/1/205, CNR, Roma, 196 pp.

McDiarmid R.W., Altig R. (eds.), 1999. *Tadpoles: the biology of anuran larvae*. University of Chicago Press, Chicago, xvi + 444 pp.

Myers G.S., 1956. Brief directions for preserving and shipping specimens of fishes, amphibians and reptiles. *Natural History Museum of Stanford University, Circular* 5: 1-3.

Neill W.T., 1961. *How to preserve reptiles and amphibians for scientific study*, second edition. Ross Allen's Reptile Institute Special Publication 2: 1-19.

Simmons J.E., 1987. *Herpetological Collecting and Collections Management*. SSAR, Oxford, OH, 72 pp.

Simmons J.E., 2002. *Herpetological Collecting and Collections Management (Revised Edition)*. *Herpetological Circular* 31, SSAR, [s.l.], VI + 153 pp.

Sperling P., Vences M., Böhme W., 1996. Vorläufige Bemerkungen zum taxonomischen Status von *Rana temporaria* honnorati Heron-Royer, 1881. *Salamandra*, 32(2): 99-112.

Suarez-Mayorga A.M., Lynch J.D., 2001. Redescription of the tadpole of *Hyla vigilans* (*Anura*: *Hylidae*) and notes about possible taxonomic relationships. *Caribbean Journal of Science*, 37 (1-2): 116-119.

Vercesi A., Barbieri F., Bernini F., 2000. La sintopia di *Rana dalmatina* e *Rana latastei* nei boschi planiziali del fiume Ticino: aspetti della biologia riproduttiva. *Atti I Congresso Nazionale Società Herpetologica Italiana (Torino, 1996)*. Museo Regionale di Scienze Naturali, Torino: 353-358.

Wassersug R.J., 1976. Oral morphology of anuran larvae: terminology and general description. *Occasional papers of the Museum of Natural History, Kansas*, 48: 1-23.

Zangheri P., 1981. *Il naturalista esploratore - raccogliatore - preparatore - imbalsamatore*. Sesta edizione riveduta. Ulrico Hoepli, Milano, XXVII + 503 pp.