

Le collezioni cetologiche del Museo di Medicina Veterinaria dell'Università di Padova

Maristella Giurisato
Francesca Irene Pietrantonio
Giuseppe Palmisano
Emanuele Zanetti
Michele Povinelli
Giulia Roncon
Mattia Panin
Sandro Mazzariol
Erica Mian
Bruno Cozzi

Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione dell'Università degli Studi di Padova, viale dell'Università, 16.
I-35020 Legnaro (PD). E-mail: bruno.cozzi@unipd.it

RIASSUNTO

Le collezioni cetologiche del Museo di Medicina Veterinaria del Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione dell'Università di Padova sono strettamente collegate alle attività della "Banca per i tessuti dei mammiferi marini del Mediterraneo". Le raccolte comprendono oltre 3.000 campioni di tessuti provenienti da cetacei spiaggiati lungo le coste italiane o morti in ambiente controllato e fatti pervenire al Dipartimento per la diagnostica post-mortale. Tra i materiali vi sono 35 scheletri appartenenti a sei specie di cetacei (13 dei quali completi) e 4 scheletri appartenenti a due specie di pinnipedi. È anche presente una collezione di 72 encefali (67 cetacei e 5 pinnipedi).

Parole chiave:

scheletri di cetacei, banca tessuti, cervelli di cetacei, musei universitari.

ABSTRACT

The Cetacean collections of the Museum of Veterinary Medicine of the University of Padova.

The collections are closely related to the activities of the "Mediterranean marine mammal tissue bank". The materials include over 3,000 tissue samples harvested from cetaceans stranded along the Italian coastline or from animals who died in captivity and were sent to the Department facilities for post-mortem diagnosis. Among the collections there are 35 skeletons of six cetacean species (13 of which are complete) and 4 skeletons of two species of pinnipeds. The "Mediterranean marine mammal tissue bank" houses also a unique collection of 67 cetacean brains and 5 brains of pinnipeds.

Key words:

Cetacean skeletons, tissue bank, Cetacean brain, university museum.

Il Museo di Medicina Veterinaria del Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione dell'Università degli Studi di Padova comprende centinaia di preparati di anatomia normale e patologica di mammiferi domestici e selvatici, oltre a una collezione di strumenti chirurgici veterinari d'epoca. Al Museo di Medicina Veterinaria sono annesse le collezioni della "Banca per i tessuti dei Mammiferi marini del Mediterraneo".

LA BANCA PER I TESSUTI DEI MAMMIFERI MARINI DEL MEDITERRANEO

La "Banca per i tessuti dei Mammiferi marini del Mediterraneo". (d'ora in avanti MMMTB, dalla sigla inglese "Mediterranean marine mammal tissue bank") è stata fondata nel 2001 (Cozzi, 2005) presso l'allora Dipartimento di Scienze Sperimentali Veterinarie

dell'Università degli Studi di Padova (dal 2011 divenuto Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione). La Banca è stata concepita come collezione-deposito di tessuti animali per lo scambio scientifico, ispirandosi alle "tissue" e/o "brain banks" ospedaliere statunitensi. Il sistema delle Banche di tessuti e di organi è molto vasto e copre una serie innumerevole di organizzazioni mediche, ospedaliere e veterinarie distribuite nel mondo. Per questo le raccolte iniziali della MMMTB sono consistite di frammenti di tessuto fissati in formalina e successivamente congelati o inclusi in paraffina. Esiste anche un sistema di Banche ambientali, largamente rappresentato anche nella Comunità europea, all'interno delle quali campioni di terreno, acqua, tessuti animali e vegetali vengono raccolti, classificati e conservati con tecnologie adeguate alla ricerca. Attualmente la MMMTB si sta inserendo nel contesto internazionale delle banche tessuti ambientali e umane che costituiscono l'ESSB, European, Middle Eastern and African Society for Biopreservation and Biobanking (<http://www.esbb.org/biobanks.html>), la quale nasce a sua volta dall'International Society for Biological and Environmental Repositories (<http://www.isber.org>), adeguando i propri protocolli a quelli riconosciuti a livello internazionale.

La MMMTB si serve del grande potenziale scientifico offerto dai cetacei spiaggiati per compiere ricerche sull'ecologia, sulla fisiologia, sulla biologia dei cetacei e mette le sue ricerche a disposizione della comunità scientifica per approfondire le conoscenze sui mammiferi marini. La MMMTB collabora con i patologi veterinari dello stesso Dipartimento, nell'esecuzione di esami autoptici sugli esemplari giunti alla Banca come animali interi.

La Banca è dotata di autorizzazione CITES ("Convention on International Trade in Endangered Species") per la raccolta e lo scambio dei tessuti dei mammiferi marini (CITES # IT 020) ed è stata cooptata all'interno dell'accordo ACCOBAMS ("Agreement on the Conservation of Cetaceans Of the Black And Mediterranean Seas"), per il quale è il centro di riferimento per la raccolta e la distribuzione di tessuti (Cozzi, 2010). L'Accordo ACCOBAMS nasce dal connubio di tre convenzioni: la *Convenzione di Barcellona* sulla protezione dell'ambiente marino, la *Convenzione di Bonn* sulla protezione delle specie migratorie e la *Convenzione di Berna*, relativa alla conservazione delle specie selvatiche e degli habitat, le cui commissioni decisero nel 1989 di creare un gruppo informale di ricerca sui piccoli cetacei, che si incontrò per la prima volta a Palma di Maiorca nel 1991. La convenzione di Bucarest sulla protezione del Mar Nero dall'inquinamento si aggiunse solo in seguito. L'accordo, finalizzato alla salvaguardia delle specie di cetacei (Odontoceti e Mysticeti) che vivono abitualmente o occasionalmente nel Mar Mediterraneo, entra ufficialmente in azione a Monaco il 1 Giugno

del 2001. L'area dell'Accordo comprende tutti gli stati che si affacciano sulle coste del Mar Mediterraneo, del Mar Nero, dei loro Golfi e l'Oceano Atlantico contiguo al Mediterraneo attraverso lo Stretto di Gibilterra. Nel comune intento di garantire la conservazione dei mammiferi marini, preservando il loro habitat naturale, gli stati membri si impegnano al fine di vietare ogni tipo di cattura di cetacei, adottare e rinforzare le normative nazionali per migliorare la gestione delle interazioni uomo-cetacei cooperando con le istituzioni internazionali, raccogliere ed analizzare informazioni sulle attività antropiche (pesca, traffico navale, turismo, attività industriali, sfruttamento antropico delle coste) al fine di mitigarle, valutare le dinamiche dell'inquinamento marino, monitorare e registrare gli spiaggiamenti di cetacei, elaborare, quando necessario, piani di emergenza, e infine salvaguardare gli habitat tramite la creazione di aree marine protette. L'accordo ACCOBAMS ha l'onere di coordinare le attività di salvaguardia, prediligendo le specie più minacciate nel Mediterraneo e nel Mar Nero. Nel corso degli anni la MMMTB ha stretto rapporti con diverse istituzioni, con le quali ha rapporti ufficiali. In particolare, oltre ad ACCOBAMS, si contano il Ministero per l'Ambiente e la Tutela del Territorio e del Mare (d'ora in avanti MinAmbiente) e naturalmente l'Università degli Studi di Padova. La Banca ha beneficiato nel corso degli anni, di finanziamenti da parte dei diversi Enti: Università degli Studi di Padova, Istituto Centrale per la Ricerca Applicata al Mare (ICRAM, ora ISPRA), MinAmbiente.

LE COLLEZIONI DELLA BANCA

La natura particolare della MMMTB la differenzia dalle altre collezioni museali italiane, rendendola una realtà unica a ponte tra le scienze naturali e la biomedicina. In questo senso la MMMTB è una delle pochissime realtà europee del settore e può vantare scambi di materiale con istituzioni e laboratori di tutto il mondo (vedi oltre).

Attualmente le collezioni della Banca, accessibili alla visione del pubblico esterno attraverso il portale dedicato <http://www.marinemammals.eu> contano oltre 3.600 campioni di tessuto appartenenti a più di 300 esemplari di 15 specie di mammiferi marini (Odontoceti, Mysticeti e Pinnipedi).

I campioni della MMMTB provengono fondamentalmente da tre fonti diverse:

1. campioni di tessuto prelevati da animali spiaggiati raccolti sul luogo di spiaggiamento da personale della Banca o da altro personale che ha successivamente inviato a Padova i campioni prelevati, agendo all'interno della "Rete Nazionale Spiaggiamenti";
2. campioni prelevati da animali spiaggiati i cui corpi sono arrivati al Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione dell'Università di Padova per la diagnostica cadaverica;

3. campioni prelevati da animali deceduti in ambiente controllato (oceanari, acquari) avviati al Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione dell'Università di Padova per la diagnostica cadaverica (nel sito on-line della MMTB vengono fornite, tramite brevi filmati, alcune semplici linee guida, in italiano ed in inglese, per la raccolta e la processazione dei campioni da inviare alla Banca).

Al momento del ritrovamento i corpi dei cetacei spiaggiati vengono classificati in base allo stato di conservazione della carcassa con un punteggio da 1 a 5, secondo i parametri di Geraci e Lounsbury (2005). Solo su animali appena deceduti è possibile effettuare tutti i tipi di campionamento, mentre da animali mummificati o con alto grado di decomposizione possono essere campionati solo pochi tessuti quali lo scheletro e la cute (Peruffo et al., 2010), con conseguenti limiti nelle ricerche. L'esame necroscopico e il successivo prelievo dei campioni viene eseguito direttamente da personale della Banca o sotto la supervisione di altre figure competenti (veterinari, biologi, tecnici di laboratorio). Prima dell'esame autoptico, la carcassa viene fotografata, così come tutte le eventuali lesioni esterne. Fotografie dei tessuti e degli organi possono, inoltre, essere d'aiuto al patologo per formulare una diagnosi post-mortem corretta. I parassiti eventualmente rinvenuti vengono fotografati e quindi conservati in alcool o formalina, in base ai diversi scopi e protocolli di ricerca.

Al fine di valutare l'età dell'animale, viene prelevato un dente dalla mandibola e vengono contati gli strati di dentina. La tecnica risulta difficoltosa in esemplari vecchi in cui i nuovi strati di dentina sono molto adesi

ai precedenti, nonché negli odontoceti della famiglia Ziphiidae che possiedono un numero limitato di denti (Perrin & Myrick, 1980). In alternativa può essere eseguito un esame radiografico per valutare la chiusura delle fasi di accrescimento oppure un esame densitometrico della pinna pettorale (Guglielmini et. al., 2002).

Giunti alla Banca, i campioni di tessuto prelevati sono conservati :

1. in formalina in attesa di successiva processazione per la ricerca biomedica;
2. in appositi freezer a -80 °C sia in stato naturale sia all'interno di speciali soluzioni per la conservazione del materiale genetico;
3. in liquidi di preservazione diversi (alcool etilico 70°, DMSO) per studi sul DNA.

Al momento del ritrovamento, per ogni esemplare spiaggiato, viene compilata una scheda, adottata su tutto il territorio nazionale nell'ambito della "Rete Nazionale Spiaggiamenti". Ogni scheda raccoglie le informazioni generali che identificano ciascun animale spiaggiato.

La catalogazione della collezione della Banca avviene tramite l'assegnazione di un ID progressivo per ogni esemplare e di un codice identificativo per ogni campione, composto da 6 cifre (aa/mm/gg) e da un numero progressivo per ciascun tipo di tessuto.

Per ogni campione ricevuto la MMTB raccoglie informazioni sull'animale: sesso, età, luogo dello spiaggiamento, lunghezza totale della carcassa, e quando possibile, terapia eseguita, causa del decesso e stato di decomposizione al momento del ritrovamento, secondo il protocollo necroscopico di Kuiken and

ISTITUZIONI ITALIANE	Università	Bologna, Siena, Genova, Torino, Firenze, Teramo, Napoli, Palermo, Perugia, Trieste, Bari
	Musei di Storia Naturale, Zoologia, Anatomia	Bergamo, Bologna (Veterinaria), Milano, Venezia
	Istituti Zooprofilattici Sperimentali	Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (Torino), Lombardia ed Emilia Romagna (Brescia), Puglia e Basilicata (Foggia), delle Venezie (Padova), Sicilia (Palermo), Sardegna (Sassari), Del Mezzogiorno (Salerno- Catania)
	Altre istituzioni pubbliche	ICRAM-ISPRA (Chioggia), Fondazione Cetacea (Riccione), IAMC-CNR (Mazara del Vallo)
	Istituzioni private	Parco di Oltremare (Cesenatico), Zoomarine (Roma), Tethys Research Institute (Milano), Consorzio Mario Negri (Chieti)
ISTITUZIONI EUROPEE E DEL VICINO ORIENTE	Università	University of Surrey at Guilford (UK); University of Frankfurt, Institut fur Anatomie III (Germany); University of Koln (Germany); University of Las Palmas, Gran Canaria (Spain); Universidad de Oviedo, Facultad de Medicina (Spain); University of Zagreb (Croatia); University of Tel Aviv, Department of Zoology (Israel)
	Altre istituzioni pubbliche	CRL-AP Walloon Agricultural Research Centre-Gembloux (Belgium); Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem, Figueira da Foz (Portugal)
ISTITUZIONI DEL NORD AMERICA	Università	Mount Sinai School of Medicine (New York, USA); Brock University, Dept. of Biological Sciences, St. Catharines, (Ontario, Canada)
	Altre istituzioni pubbliche	Smithsonian Institution (Washington, USA)

Tab. 1. Istituzioni che hanno richiesto campioni alla MMTB.

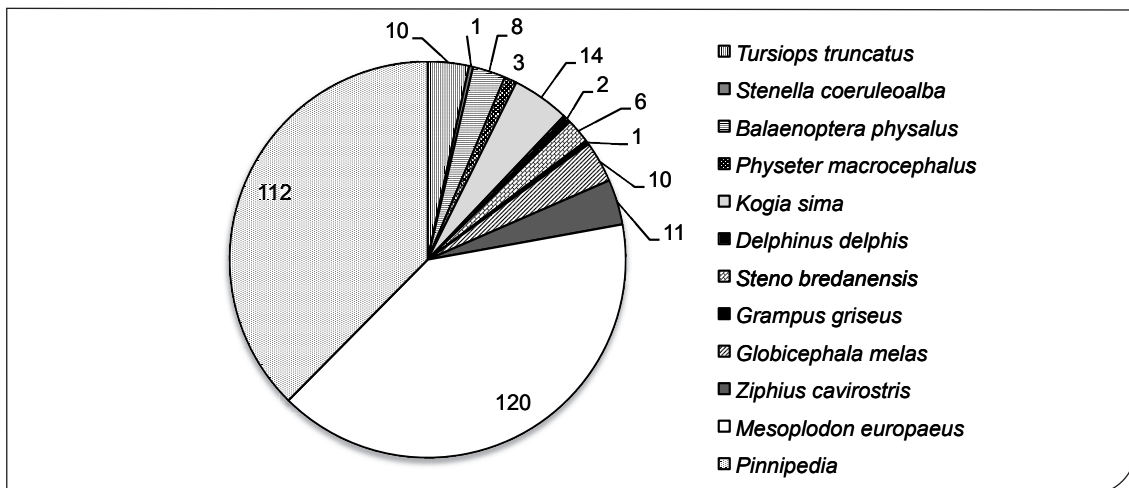


Fig. 1. Rappresentazione schematica delle specie di mammiferi marini della collezione della MMTB (Dati aggiornati a Novembre 2013).

Hartmann, (1991) (Ballarin et al., 2005). Tali dati vengono inseriti nel database della MMTB disponibile on line. La MMTB non fornisce alcuna diagnosi post-mortale. Questo servizio è svolto dai patologi dello stesso Dipartimento.

Le informazioni relative allo spiaggiamento vengono invece raccolte ed inviate alla Banca Dati Spiaggiamenti dell'Università di Pavia (<http://mamiferimarini.unipv.it/>) (Peruffo et al., 2010).

		Famiglia	Specie	N. es.
Ordine Cetacea Brisson, 1762	Sottordine Mysticeti Flower, 1864	Balaenopteridae Gray, 1864	<i>Balaenoptera physalus</i> (Linnaeus, 1758) Balenottera comune- Fin Whale	11
		Physeteridae Gray, 1821	<i>Physeter macrocephalus</i> (Linnaeus, 1758) Capodoglio - Sperm Whale	10
	Sottordine Odontoceti Flower, 1867	Kogiidae Gill, 1871	<i>Kogia sima</i> (Owen, 1866) Cogia di Owen - Dwarf Sperm Whale	1
		Delphinidae Gray, 1821	<i>Tursiops truncatus</i> (Montagu, 1821) Tursiope - Common Bottlenose Dolphin	112
			<i>Delphinus delphis</i> (Linnaeus, 1758) Delfino comune - Short-beaked Common Dolphin	6
			<i>Stenella coeruleoalba</i> (Meyen, 1833) Stenella striata - Striped Dolphin	120
			<i>Steno bredanensis</i> (G. Cuvier in Lesson, 1828) Steno - Rough Toothed Dolphin	2
			<i>Grampus griseus</i> (G. Cuvier, 1812) Grampo - Risso's Dolphin	14
			<i>Globicephala melas</i> (Traill, 1809) Globicefalo - Long Finned Pilot Whale	3
			Ziphiidae Gray, 1865	<i>Ziphius cavirostris</i> (G. Cuvier, 1823) Zifio - Cuvier's Beaked Whale
<i>Mesoplodon europaeus</i> (Gervais, 1855) Mesoplodonte di Gervais - Gervais' Beaked Whale	1			
Ordine Carnivora Bowdich, 1821	Sottordine Pinnipedia Illiger, 1811	Phocidae Gray, 1821	<i>Halicoerus grypus</i> (Fabricius, 1791) Foca grigia - Grey Seal	3
			<i>Phoca vitulina</i> (Linnaeus, 1758) Foca comune - Harbor Seal	2
	Otaridae Gray, 1825	<i>Otaria byronia</i> (de Blainville, 1820) - <i>Otaria flavescens</i> (Shaw, 1800) Otaria dalla criniera - South American Sea Lion	4	
		<i>Zalophus californianus</i> (Lesson, 1828) Otaria della California - California Sea Lion	1	

Tab. 2. Catalogo della collezione.

RAPPORTI DELLA BANCA

Come accennato sopra, la MMMTB agisce all'interno dell'accordo ACCOBAMS. Secondo le Linee Guida ACCOBAMS, tutti gli stati membri sono invitati a creare una Banca di tessuti nazionale simile alla MMMTB e tutti gli Enti, le Organizzazioni Governative e non, vengono incoraggiati ad inviare i campioni alla Banca di tessuti nazionale, o in sua assenza, alla Banca di tessuti più vicina. Idealmente dovrebbe sorgere una Banca in ogni Stato, che operi sulle sue coste di pertinenza (oltre alla Banca di Padova è attualmente attiva anche una Banca francese a La Rochelle Bank (Centre de Recherche sur les Mammifères Marins, Université de La Rochelle, France).

I campioni della MMMTB possono essere richiesti con una procedura semplice sul sito web della MMMTB. I costi della spedizione possono essere condivisi o anche sostenuti *in toto* dalla MMMTB a seconda delle Istituzioni o dei singoli ricercatori destinatari. Diagnosi patologiche ed analisi di laboratorio sono possibili su richiesta.

Le attività delle banche (campionamento e distribuzione) devono avvenire secondo i protocolli CITES e secondo le normative internazionali e nazionali relative alle specie protette. Ciascuna Banca, inoltre, deve essere in possesso di un'autorizzazione CITES per poter esportare/importare campioni da/per simili istituzioni. La CITES autorizza la Banca a distribuire sezioni di tessuti in Italia e nella Comunità Europea. Lo scambio con paesi non comunitari necessita invece dell'autorizzazione delle Autorità Governative (Ballarin et al., 2005).

Come si è detto la MMMTB riceve, elabora e conserva campioni di tessuto dei mammiferi marini spiaggiati lungo le coste italiane e in generale lungo i litorali Mediterranei. A questi si aggiungono i campioni prelevati da animali mantenuti in cattività. Questi campioni sono destinati ai laboratori scientifici italiani e stranieri che ne facciano richiesta. In particolare dalla sua istituzione ad oggi (2013) la MMMTB ha inviato tessuti alle seguenti istituzioni riportate nella tabella 1.

LE COLLEZIONI SPECIALI DELLA BANCA

Oltre alla vasta raccolta di campioni tissutali (fig. 1, tab. 2), la Banca conserva anche tre discrete collezioni particolari relative ai mammiferi marini, vale a dire la collezione di encefali, la collezione di scheletri e una raccolta di campioni ematici.

La collezione di encefali

La raccolta di encefali (tab. 3) consta ad oggi di 72 encefali di mammiferi marini, di cui 3 appartenenti a balenottera comune *Balaenoptera physalus*, 34 a tursiopo *Tursiops truncatus*, 1 a delfino comune *Delphinus delphis*,

Ordine	Famiglia	Specie	Numero encefali
Cetacea	Balaenopteridae	<i>Balaenoptera physalus</i>	3
	Delphinidae	<i>Tursiops truncatus</i>	34
		<i>Delphinus delphis</i>	1
		<i>Stenella coeruleoalba</i>	19
		<i>Grampus griseus</i>	7
	Ziphiidae	<i>Ziphius cavirostris</i>	3
Carnivora	Phocidae	<i>Halicoerus grypus</i>	3
	Otaridae	<i>Otaria byronia-Otaria flavescens</i>	2
		Totale campioni	72

Tab. 3. La collezione di encefali di mammiferi marini della MMMTB.

19 a stenella striata *Stenella coeruleoalba*, 7 a grampo *Grampus griseus*, 3 a zifio *Ziphius cavirostris*, 3 a foca grigia *Halicoerus grypus*, 2 a otaria dalla criniera *Otaria flavescens*.

Durante l'esame necroscopico l'encefalo viene rimosso per intero e successivamente suddiviso in sezioni coronali trasverse di circa 1cm di spessore, che successivamente vengono immerse in formalina o congelate per le indagini molecolari. Sezioni di specifiche aree encefaliche sono disponibili su richiesta (Ballarin et al., 2005).

La collezione osteologica

A seguito dell'intensa attività necroscopica per la diagnostica post-mortale sui mammiferi marini, è stato possibile raccogliere, preparare e conservare una collezione di materiale osteologico che comprende sia scheletri interi sia materiali parziali (crani, singole ossa) da diverse specie di mammiferi marini. Date le finalità del presente lavoro ci baseremo sostanzialmente sulla descrizione di questi ultimi reperti, dei quali è riportata una tabella schematica (tab. 4).

La collezione osteologica della Banca ha consentito importanti ricerche sullo sviluppo scheletrico dei cetacei e sugli adattamenti evolutivi alla vita acquatica, anche grazie all'ausilio di tecniche diagnostiche avanzate come la densitometria (l'esame densitometrico "DXA Dual-energy X-ray Absorptiometry" è considerato il "golden standard" per misurare il contenuto minerale e la densità ossea - o BMD dall'inglese "bone mineral density" - di una parte scheletrica, Butti et al., 2007).

Molti studi dimostrano una correlazione positiva fra la

Ordine	Famiglia	Specie	Scheletri completi	Scheletri parziali
Cetacea	Balaenopteridae	<i>Balaenoptera physalus</i>	-	2
	Delphinidae	<i>Tursiops truncatus</i>	9	15
		<i>Stenella coeruleoalba</i>	2	-
		<i>Grampus griseus</i>	1	2
		<i>Globicephala melas</i>	-	1
	Ziphiidae	<i>Ziphius cavirostris</i>	1	2
Carnivora	Phocidae	<i>Halicoerus grypus</i>	-	2
	Otaridae	<i>Otaria flavescens</i>	-	2
		Totale campioni	13	26

Tab. 4. La collezione di scheletri di mammiferi marini della MMTB. Alcuni di questi reperti osteologici sono esposti nel Museo di Medicina Veterinaria dell'Università di Padova, in questa tabella per completezza sono stati inclusi anche gli scheletri dei carnivori marini.

densità ossea delle pinne pettorali, l'età calcolata in base alla stratificazione dei denti e la lunghezza totale del corpo dell'animale spiaggiato. La densità ossea è un indice biologico che riflette la deposizione e il riassorbimento di calcio che può essere rapportato all'età dell'animale. Tali ricerche sono state eseguite su stenella striata (Guglielmini et al., 2002) e successivamente su tursiope (Butti et al., 2007). Con l'ausilio dell'esame densitometrico è inoltre stato possibile eseguire alcuni studi comparativi sulla densità ossea del rostro di cetacei di specie diverse (Zotti et al., 2009; Cozzi et al., 2010), la cui conformazione scheletrica può essere concepita come un carattere famiglia-specifico di adattamento alla vita acquatica.

Da altri recenti studi è invece emerso che l'ossificazione precoce della bolla timpanica facilita la conduzione dei suoni nell'acqua e potenzialmente potrebbe essere importante per l'interazione del neonato con la madre e dunque per la sua sopravvivenza (Cozzi et al., 2012).

I campioni di sangue

Nella Banca sono conservati anche un certo numero di campioni di sangue prelevati sia nel corso di analisi mediche condotte su animali spiaggiati, sia all'interno del monitoraggio periodico degli animali mantenuti in cattività. I campioni, conservati in EDTA, sono stoccati a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

DESCRIZIONE DI ALCUNI REPERTI OSTEOLOGICI DI PARTICOLARE SIGNIFICATO

Nel Museo di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Padova (fig. 2) sono esposti numerosi reperti appartenenti a diverse specie animali. In una sezione dedicata ai mammiferi marini, sono esposti alcuni reperti osteologici di cetacei appartenenti alle seguenti specie: Balenottera comune *Balaenoptera physalus* (figg. 3-4), Tursiope *Tursiops truncatus* (figg. 5-6), Stenella striata *Stenella coeruleoalba*, Grampo *Grampus griseus* (figg. 7-8), Globicefalo *Globicephala melas* e Zifio *Ziphius cavirostris* (fig. 9) (per riferimenti bibliografici delle singole specie si consulti Cagnolaro et al., 2014).



Fig. 2. Panoramica della collezione del Museo di Medicina Veterinaria dell'Università di Padova (sede di Legnaro).



Fig. 3. Balenottera comune, ID 109. Animale spiaggiato ad Alassio (SV) nel 2006, maschio, cucciolo di 1.200 kg, lungo 557 cm, trasportato all'Università di Padova (Legnaro) per l'esame autoptico.

CATALOGO

Ordine Cetacea Brisson, 1762
 Sottordine Mysticeti Flower, 1864
 Famiglia Balaenopteridae Gray, 1864
Balaenoptera Lacépède, 1804
Balaenoptera physalus (Linnaeus, 1758)
 Balenottera comune
 Fin Whale

- ID 109
 Alassio (Savona), 25-10-2006 (LT: 557 cm), ♂.
 Spiaggiamento.
 Cranio, bulle timpaniche, mandibola.
- ID 115
 Genova, 23-06-2007 (LT: 820 cm), ♀. Spiaggiamento.
 In fase di catalogazione.

Sottordine Odontoceti Flower, 1867
 Famiglia Delphinidae Gray, 1821
Tursiops Gervais, 1855
Tursiops truncatus (Montagu, 1821)
 Tursiope
 Common Bottlenose Dolphin

- ID 31
 Eraclea (Venezia), 06-06-2002 (LT: 184) ♀.
 Spiaggiamento.
 Colonna vertebrale, bulle timpaniche, coste, 15 emapofisi, 1 scapola.
- ID 81
 Luogo di rinvenimento n.d., 10-01-2005 (LT: stimata 200 cm) sesso n.d. Spiaggiamento. Scheletro completo.
- ID 95
 Jesolo (Venezia), 05-03-2006 (LT: 285 cm) ♀.
 Spiaggiamento.
 Cranio, bulle timpaniche, ossa ioidi, coste, mani, colonna vertebrale incompleta.
- ID 99
 Luogo di rinvenimento n.d., data n.d. (LT: stimata 180 cm), sesso n.d. Spiaggiamento.
 Cranio, bulle timpaniche, ossa ioidi, colonna vertebrale, coste, scapole.
- ID 107
 Ambiente controllato, 11-09-2006 (LT: 250 cm), ♂.
 Scheletro completo.
- ID 110
 Porto Tolle (Rovigo), 14-11-2006 (LT: 190 cm), ♂.
 Spiaggiamento. Cranio, bulle timpaniche, mandibola, colonna vertebrale, 16 emapofisi, coste, scapole.

- ID 133
 Ambiente controllato, 19-01-08 (LT: 248 cm), ♀.
 Cranio, bulle timpaniche, colonna vertebrale incompleta, 18 emapofisi, coste, una scapola.
- ID 137
 Venezia, 31-01-2010 (LT: n.d.) sesso n.d.
 Spiaggiamento.
 Cranio, bulle timpaniche, mandibola, ossa ioidi, colonna vertebrale, 17 emapofisi, coste, scapole.
- ID 138
 Luogo di rinvenimento n.d., 01-07-2008 (LT: n.d.), sesso n.d. Spiaggiamento.
 Cranio, bulle timpaniche, ossa ioidi, colonna vertebrale, arto sinistro completo, 15 emapofisi, una scapola.
- ID 139
 Ambiente controllato, 15-02-2008 (LT: 268 cm), ♂.
 Cranio, bulle timpaniche, colonna vertebrale, 18 emapofisi, mani, una scapola.
- ID 142
 Jesolo (Venezia), 23-06-2008 (LT: 276 cm), ♀.
 Spiaggiamento.
 Cranio, bulle timpaniche, mandibola, colonna vertebrale, 17 emapofisi, coste, una scapola
- ID 146
 Ambiente controllato, 18-10-2008 (LT: 226 cm), ♂.
 Cranio, bulle timpaniche, mandibola, ossa ioidi, colonna vertebrale, 17 emapofisi, scapole.
- ID 159
 Ambiente controllato, 13-02-2009 (LT: 328 cm), ♂.
 Cranio, bulle timpaniche, mandibola, colonna vertebrale, 15 emapofisi, coste, rudimenti pelvici .
- ID 162
 Comacchio (Ferrara), 15-06-09 (LT: 119 cm), ♂.
 Spiaggiamento.
 Cranio, bulle timpaniche, mandibola, colonna vertebrale, 6 emapofisi, coste, scapole.
- ID 163
 Cavallino (Venezia), 20-07-09 (LT: 300 cm), ♂.
 Spiaggiamento.
 Cranio, bulle timpaniche, ossa ioidi, colonna vertebrale, 20 emapofisi, mani, scapole, un residuo pelvico.
- ID 164
 Comacchio (Ferrara), 27-07-09 (LT: 250 cm), ♂.
 Spiaggiamento.
 Scheletro completo.



Fig. 4. Balenottera comune, ID 109. Ossa del cranio conservate presso la MMMTB.

- ID 165
Lido Adriano (Ravenna), 28-07-09 (LT: 280 cm), ♂.
Spiaggiamento. Scheletro completo.
- ID 184
Jesolo (Venezia), 11-05-2010 (LT: 270 cm), sesso n.d.
Spiaggiamento. Scheletro completo.
- ID 185
Caorle (Venezia), 08-06-2010 (LT: 292 cm), ♂.
Spiaggiamento. Scheletro completo.
- ID 192
Rosolina (Rovigo), 08-09-2010 (LT: 240 cm), ♀.
Spiaggiamento. Scheletro completo.
- ID 193
Porto Tolle (Rovigo), 25-11-2010 (LT: 280 cm), ♂.
Spiaggiamento. Scheletro completo.

- ID 195
Isola del Bacàn (Venezia), 11-04-2011 (LT: 270 cm), ♂.
Spiaggiamento.
Cranio, mandibola, colonna vertebrale, 17 emapofisi,
coste, una mano, una scapola.
- ID 196
Cervia (Ravenna), 15-05-2011 (LT: 300 cm), ♂.
Spiaggiamento.
Scheletro completo.
- ID 203
Rimini, 06-07-2011 (LT: 284 cm), ♂. Spiaggiamento.
In fase di catalogazione.

Stenella Gray, 1866
Stenella coeruleoalba (Meyen, 1833)
Stenella striata
Striped Dolphin



Fig. 5. Tursiopo, ID 107. Maschio, giovane adulto, deceduto in ambiente controllato nel 2006 ed inviato all'Università di Padova (Legnaro) per l'esame autoptico.

- ID 71
Bibione (Venezia), 08-06-2004 ♂. Spiaggiamento. Scheletro completo.
- ID 167
Colle Salvetti (Livorno), 21-09-2009 (LT: 198 cm), ♂. Spiaggiamento. Scheletro completo.

Grampus Gray, 1828
Grampus griseus (G.Cuvier, 1812)
Grampo
Risso's Dolphin

- ID 87
Ancona, 22-06-2005 (LT: 290 cm), ♀. Recuperato e deceduto in ambiente controllato. Scheletro completo.
- ID 116
Cattolica (Rimini), 30-06-07 (LT: 300 cm), ♂. Recuperato e deceduto in ambiente controllato. Cranio, bulle timpaniche.
- ID 215
Bibione (Venezia), 11-01-2012 (LT: 300 cm), ♀. Spiaggiamento. In fase di catalogazione.

Genere *Globicephala* Lesson, 1828
Globicephala melas (Traill, 1809)
Globicefalo
Long-finned Pilot Whale

- ID 126 Globicefalo
Genova, 20-08-07 (LT: 460 cm), ♂. Spiaggiamento. Cranio, bulle timpaniche, mandibola, colonna vertebrale, 16 emapofisi, coste, scapole.

Famiglia Ziphiidae Gray, 1865
Ziphius G.Cuvier, 1823
Ziphius cavirostris (G.Cuvier, 1823)
Zifio
Cuvier's Beaked Whale

- ID 103
Capalbio (Grosseto), 18-07-2006 (LT: 490 cm), sesso n.d. Spiaggiamento. Cranio, bulle timpaniche, 1 scapola.
- ID 108 Messina, 12-04-2006 (LT: n.d.), sesso n.d. Spiaggiamento. Cranio, mandibola.
- ID 217
Monasterace (Reggio Calabria), 19-01-2012 (LT: 425 cm), ♀. Spiaggiamento. Scheletro completo.

CENNI SULLE ATTIVITÀ SCIENTIFICHE DELLA MMMTB

La MMMTB è costantemente impegnata in numerose ricerche sui cetacei: studi sulla densità ossea, studi di neuroendocrinologia, studi sulla struttura delle fibre muscolari, studi sulla resistenza alla pressione della trachea. Proprio a tal proposito, alcuni studi hanno dimostrato che la trachea di stenella *Stenella coeruleoalba* possiede peculiari proprietà biomeccaniche di adattamento evolutivo alla vita acquatica e iperbarica, che le consentono di riempirsi rapidamente di sangue e di



Fig. 6. Tursiope, ID 107. Cranio, veduta ventrale.

dilatarsi in modo elastico, durante l'immersione, e di ritornare velocemente alla sua forma originaria, durante la risalita, senza il rischio di rotture (Cozzi et al., 2005). Esiste inoltre un filone di studi che riguarda le interazioni tra cetacei e le attività antropiche, comprese quelle inerenti i danni prodotti da natanti. La MMMTB conserva infatti, non solo tessuti, ma anche informazioni e immagini relative a possibili danni subiti dai cetacei (lesioni da eliche o traumi). Queste informazioni sono a disposizione dei patologi e degli altri studiosi interessati alla tematica. I campioni tissutali maggiormente adoperati appartengono a capodoglio *Physeter macrocephalus*, tursiope *Tursiops truncatus* e stenella striata *Stenella coeruleoalba*.

I più importanti mezzi diagnostici adoperati sono l'immunoistochimica, le colture cellulari primarie e continue e la biologia molecolare.

L'immunoistochimica ha consentito numerosi studi sull'anatomia, sulla biologia respiratoria, sulla fisiologia digestiva e sulla neuroscienza dei cetacei.

L'estrazione di DNA da campioni fissati in formalina di cetacei della stessa specie ma appartenenti a popolazioni diverse, consente studi sulla variabilità genetica (Peruffo et al., 2010).

Le colture cellulari primarie vengono utilizzate per eseguire studi tossicologici in vitro, testando l'effetto di contaminanti e inquinanti, ne sono esempio i metalli pesanti. Ciò nonostante le colture cellulari primarie richiedono campionamenti periodici dalle specie di interesse e i risultati possono variare in relazione alle proprietà intrinseche di ogni donatore (Peruffo et al., 2010). Le colture cellulari primarie sono allestite a partire da campioni cutanei di tursiope *Tursiops truncatus* e stenella striata *Stenella coeruleoalba*. Dopo lo stoccaggio i campioni congelati vengono rapidamente scongelati in un bagno di acqua a 37 °C; quindi per dissociare le cellule dal substrato tissutale, viene usato un kit a base di papaina (Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, NJ, USA). I frammenti ottenuti vengono fatti incubare in una soluzione a base di papaina a 37 °C per 30 minuti e poi rotti con una pipetta di Pasteur. La sospensione cellulare viene centrifugata a 300 giri per 5 minuti e i pellet risultanti sottoposti ad un gradiente di densità discontinuo per



Fig. 7. Grampo, ID 116. Esemplare spiaggiato a Cattolica (RM) nel 2007. Maschio, adulto di 321 kg, lungo 300 cm. Trasportato all'Università di Padova (Legnaro) per eseguire l'esame autoptico.

rimuovere i residui. I pellet vengono sospesi in un medium (BM) per colture cellulari costituito da una miscela 1:1 con soluzione modificata di Dulbecco's Eagle's medium (DMEM) e con Ham's F-12, con l'aggiunta di penicillina (30 mg/litro), streptomycina (50mg/litro), sodio bicarbonato (2.4 g/litro), insulina (10µg/ml), transferrina (10µg/ml), sodio selenite (10^{-8} M); in seguito viene aggiunto siero fetale bovino al 10% (GIBCO, Rockville, MD, USA) e il medium viene sostituito due volte a settimana (Peruffo *et al.*, 2008 a, b).

Le linee cellulari continue sono cellule epiteliali rese immortali tramite transfezione con SV40. Colture epiteliali primarie vengono transfettate con una soluzione contenente Lipofectamina 20000 (Invitrogen), il plasmide psv3neo codificante per gli antigeni SV40 small t e large T e il gene che induce resistenza G418. Due giorni dopo la transfezione il medium viene sostituito con un medium fresco contenente 100 µg/ml di neomicina analogo G418 (Geneticin Invitrogen). Cinque settimane più tardi, diventano visibili molte colonie G418 resistenti, le cellule appartenenti a queste colonie vengono dunque raccolte tramite tripsinizzazione usando cilindri sterili da clonazione ed espanse. Sospensioni cellulari transfettate, poste in fiasche con terreno completo e incubate a 37 °C, aderiscono alla superficie plastica in 24 ore. Dopo alcuni giorni si possono osservare diverse colonie di cellule fibroblastiche o epiteliali. Le colture vengono considerate stabili dopo 30 passaggi seriali (Peruffo *et al.*, 2010). Le linee cellulari continue, per la riproducibilità e l'attendibilità dei risultati

ottenuti, sono spesso usate per studi biomedici. Per esempio al fine di valutare la risposta cellulare a fattori stressogeni ambientali, vengono studiate le "Heat shock proteins". Dal momento che i cetacei passano gran parte della loro vita in ambiente iperbarico, le linee cellulari continue possono essere usate per studiare gli effetti dei ripetuti cambiamenti di pressione. A tal fine può essere adoperata una camera iperbarica per le colture cellulari che simula in un ambiente artificiale le variazioni di pressione che si verificano durante le immersioni (Peruffo *et al.*, 2010).

PROSPETTIVE FUTURE DI SVILUPPO DELLA MMMTB

La collezione di campioni della MMMTB e l'utilizzo sempre più diffuso di metodiche di laboratorio avanzate, come le colture cellulari e la biologia molecolare, possono fare luce sui molteplici aspetti della vita dei cetacei ancora poco chiari. I campioni di tessuto della MMMTB possono essere utilizzati per costruire modelli che aiutino a comprendere a fondo i complessi adattamenti fisiologici e funzionali della vita in mare. I cetacei inoltre pongono molti quesiti ancora irrisolti alla ricerca in neuroscienze.

Campioni di sangue, urine e liquido spermatico, prelevati da animali vivi o appena deceduti potranno essere utili in futuro per studi genetici sulla popolazione di cetacei del Mar Mediterraneo (Shroeder and Keller, 1990; Hartmann, 2000).

La transfezione delle colture cellulari primarie, la loro successiva immortalizzazione e l'uso dei substrati e piastre con microchip di registrazione possono essere interessanti strumenti di ricerca.

Al momento di andare in stampa sono pervenuti al Museo un cranio di capodoglio *Physeter macrocephalus* (ID da definire) e due encefali della stessa specie, provenienti da tre femmine spiaggiate lungo il litorale di Vasto l'11 settembre 2014.

BIBLIOGRAFIA

BALLARIN C., PAPINI L., BORTOLOTTA A., BUTTI C., PERUFFO A., SASSU R., MAZZARIOL S., COZZI B., 2005. An on-line Tissue Bank for marine mammals of the



Fig. 8. Grampo, ID 116. Cranio, veduta dorsale.

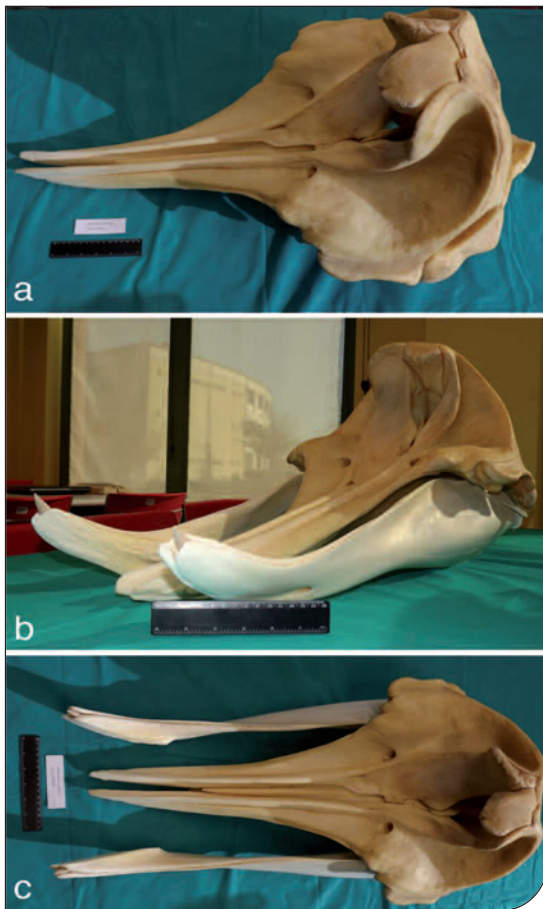


Fig. 9. Zifio, ID 108: a) cranio, veduta dorsale, b) cranio e mandibola, veduta rostro-dorsale, c) cranio e mandibola, vista dorsale.

Mediterranean sea and adjacent waters. *Hystrix*, 16: 127-133.

BUTTI C., CORAIN L., COZZI B., PODESTÀ M., PIRONE A., AFFRONTE M., ZOTTI A., 2007. Age estimation in the Mediterranean bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu 1821) by bone density of the thoracic limb. *J. Anat.*, 211: 639-46.

CAGNOLARO L., COZZI B., NOTARBARTOLO DI SCIARA G., PODESTÀ M. (eds), 2014. *Fauna d'Italia XLIX. Mammalia IV - Cetacea*. Calderini New Business Media, Bologna, pp. 1- 353.

COZZI B., BAGNOLI P., ACOCELLA F., COSTANTINO M.L., 2005. Structure and biomechanical properties of the trachea of the striped dolphin *Stenella coeruleoalba*: evidence for evolutionary adaptations to diving. *Anat Rec* 284: 500-10.

COZZI B., 2005. *Mammiferi marini del Mediterraneo. Storia naturale, Biologia, Anatomia, Patologia, Parassitologia*. Massimo Valdina Ed Milano.

COZZI B., 2010. *Progress report on the Italian Tissue Bank*. Document SC6-Doc24 presented to the 6th Meeting

of the scientific Committee of ACCOBAMS, Casablanca, 11-13 Jan 2010 p 5.

COZZI B., PANIN M., BUTTI C., PODESTÀ M., ZOTTI A., 2010. Bone density distribution patterns in the rostrum of delphinids and beaked whales: evidence of family-specific evolutive traits. *Anat Rec (Hoboken)*, 293: 235-42.

COZZI B., PODESTÀ M., MAZZARIOL S., ZOTTI A., 2012. Fetal and early post-natal mineralization of the tympanic bulla in fin whales may reveal a Hitherto undiscovered evolutionary trait. *PLoS One* 7: e37110.

GERACI J.R., LOUNSBURY V.J., 2005. *Marine Mammals Ashore: A Field Guide for Strandings, Second Edition*. National Aquarium in Baltimore, Baltimore, MD

Guglielmini C., Zotti A., Bernardini D., Pietra M., Podestà M., Cozzi B., 2002. Bone density of the arm and forearm as an age indicator in specimens of stranded striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Anat Rec*, 267: 225-230.

HARTMANN M.G., 2000. The European studbook of Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*): 1998 survey results. *Aquatic Mammals*, 26: 95-100.

KUIKEN T., HARTMANN M.G., 1991. *Cetacean pathology: dissection techniques and tissue sampling*. European Cetacean Society Newsletter 17 p 39.

PERRIN W.F., MYRICK A.C., 1980. *Age determination of toothed whales and sirenians*. Cambridge: International Whaling Commission Rep Int Whal Comm Special 3: 1-229.

PERUFFO A., BUSON G., COZZI B., BALLARIN C., 2008a. Primary cell cultures from fetal bovine hypothalamus and cerebral cortex: a reliable model to study P450Arom and alpha and beta estrogen receptors in vitro. *Neurosci Lett*, 434: 83-7.

PERUFFO A., COZZI B., BALLARIN C., 2008b. Ontogenesis of brain aromatase P450 expression in the bovine hypothalamus. *Brain Res Bull*, 75: 60-5.

PERUFFO A., PANIN M., SUMAN M., MAZZARIOL S., BALLARIN C., GIURISATO M., COZZI B., 2010. *Research Strategies and Development Possibilities of Marine Mammals Tissue Bank: Conservation Biology and Biomolecular Science*. In: T. Isobe, K. Nomiya, A. Subramanian, S. Tanabe (eds), *Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry-Environmental Specimen Bank*. Terrapub, Tokyo, pp. 87-93.

SCHROEDER J.P., KELLER K.V., 1990. *Artificial insemination of Bottlenose Dolphin*. In: Leatherwood S., Reeves R.R. (eds), *The bottlenose dolphin*. Academic Press, London, pp. 447-60.

ZOTTI A., POGGI R., COZZI B., 2009. Exceptional bone density DXA values of the rostrum of a deep-diving marine mammal: a new technical insight in the adaptation of bone to aquatic life. *Skeletal Radiol*, 38: 1223-25.