

Contributo preliminare sulle collezioni di botanica in liquido in Italia

Stefano Armiraglio

Museo Civico di Scienze Naturali, via Ozanam, 4. I-25128 Brescia. E-mail: botanica@comune.brescia.it

Renata Perego

Dipartimento di Scienze dell'Antichità, Sezione di Archeologia, Università degli Studi di Milano, via Festa del Perdono, 7. CNR-IDPA, Laboratorio di Palinologia e Paleoecologia, piazza delle Scienze, 1. I-20126 Milano. E-mail: renaperego1@virgilio.it

Francesca Giacinti

Scuola Media Statale "E. Rinaldini", viale Aldo Moro, 109. I-25020 Flero (BS). E-mail: francescagiacinti@libero.it

RIASSUNTO

Con il presente lavoro si intende fornire un primo contributo sulle collezioni di botanica in liquido esistenti in Italia. È stata condotta un'indagine per censire le collezioni esistenti e per individuare i principali liquidi utilizzati. Per ciascuno di essi è stata redatta una scheda che riporta i vantaggi e gli svantaggi per la conservazione del materiale vegetale, gli effetti collaterali che possono impedire ulteriori studi a livelli biomolecolare e ultrastrutturale, i rischi ai quali sono sottoposti gli operatori e le norme di sicurezza previste per il loro utilizzo. Nella seconda parte di questo lavoro vengono proposte alcune tecniche di conservazione in liquido di collezioni subfossili e fossili; in particolare si fa riferimento alle collezioni palinologiche e carpologiche, e al trattamento preventivo all'impregnazione dei legni saturi di acqua.

Parole chiave:

collezioni in liquido, collezioni botaniche, palinoteca, carpoteca, legni subfossili saturi d'acqua.

ABSTRACT

Preliminary report on preserved fluid plant collections in Italy.

A first list of Italian plant collections preserved in fluid media is presented here. Two kinds of collections have been recognized: the first ones, i.e. the "historical collections", are mostly constituted by miscellanea of specimens picked up by researchers in past times. These collections are of historical worth and in most cases they are still used for a didactic and exhibitional scope in museums. The second ones, i.e. the "modern collections", consist mainly of reference collections, used by botanist and palaeobotanist for plant remains identification. Each liquid preservative has been discussed, analyzing its advantages and disadvantages for specimen preservation (e.g. maintenance of morphology and ultrastructural features), for safety of researchers and technicians, and laws regulating their use. Finally we describe the main methods in use for preserving subfossil and fossil plant remains in collections. Collections of pollen, fruits, seeds and waterlogged woods have been specifically treated.

Key words:

preserved fluid collection, plant collection, pollen collection, fruits and seeds collection, waterlogged woods.

INTRODUZIONE

La conservazione in liquido di materiale vegetale deteriorabile, ben prima che per scopi museologici, è avvenuta nel corso della storia per ragioni alimentari o terapeutiche. Nel papiro di Eberts (1550 a.C.) viene citata la macerazione di piante per ottenere prodotti curativi (Bardinet, 1995), la conservazione dei cibi in salamoia è riportata da Apicius (Buzzi, 1946) e da Plinio (Conte, 1988), durante questo periodo i frutti venivano conservati anche immersi nel miele (Thorne, 1986).

L'esistenza della parete cellulare, in cui si accumula lignina, conferisce una naturale predisposizione delle piante a essiccare mantenendo inalterata la forma. Inol-

tre la facilità con la quale le parti erbacee possono venire pressate e disposte su un piano, hanno fatto sì che la conservazione delle parti vegetali in liquido venisse utilizzata solo per particolari *phyla* privi di tessuti o di strutture di sostegno, e per corpi "molli", come frutti carnosì (Caruel, 1866). Nel XIX secolo la conservazione in liquido trovava largo impiego nelle campagne naturalistiche che si svolgevano in regioni con climi molto umidi, sfavorevoli all'essiccazione dei vegetali (Penzig, 1894; Fosberg & Sachet, 1965). Penzig (1894) sottolinea inoltre come la conservazione in liquido fosse legata al bisogno di mantenere intatta la morfologia dei reperti vegetali per ragioni didattiche ed espositive, per studi istologici e organogenetici.

Diversamente questa pratica ha sempre trovato vasta diffusione in campo zoologico (Eger-Lessona, 1877), data la necessità di preservare la tridimensionalità delle strutture anatomiche. Di conseguenza si dispone di una più ampia letteratura attinente.

Attualmente le problematiche relative alla conservazione in liquido di vegetali interessano:

- la manutenzione di collezioni botaniche allestite in epoche passate, meritevoli di essere preservate per il loro significato scientifico e storico-museologico;
- la conservazione di alcuni gruppi di alghe, di reperti vegetali subfossili e fossili, e di micropreparati come collezioni di confronto.

Il presente contributo, frutto non solo di ricerche bibliografiche, ma anche di esperienze dirette e di testimonianze fornite da Istituti che conservano vegetali in liquido, intende fornire un quadro sulle collezioni di botanica in liquido attualmente presenti in Italia, e sulla loro evoluzione. Si vuole inoltre fornire una prima valutazione dell'efficacia dei liquidi impiegati, dei vantaggi e degli svantaggi che questi comportano alle collezioni, sia a livello morfo-anatomico che biomolecolare, degli eventuali rischi a cui gli operatori sono sottoposti e delle norme di sicurezza che regolamentano l'utilizzo di queste sostanze.

LE COLLEZIONI DI VEGETALI IN LIQUIDO IN ITALIA

Nella tabella 1 è riportato un primo elenco delle collezioni di botanica in liquido esistenti in Italia (aggiornato al 2003). Per censire tali collezioni è stata inviata una scheda compilativa alle istituzioni che potenzialmente potevano possedere materiale vegetale conservato in liquido. La scheda è stata inoltrata per posta elettronica attraverso le segreterie dell'Associazione Nazionale dei Musei Scientifici e della Società Botanica Italiana. I risultati ottenuti, da considerarsi del tutto preliminari, hanno messo in evidenza l'esistenza di diverse collezioni, costituite sia da campioni attuali che fossili. Si possono riconoscere generalmente due principali tipologie di collezioni: quelle "storiche" e quelle "attuali".

Le collezioni storiche, allestite tra il 1800 e il 1950 e oggi non più incrementate, sono perlopiù collezioni che venivano e vengono tuttora utilizzate per scopi didattici ed espositivi, oppure sono frutto di campagne di raccolta dei ricercatori di quel periodo. Queste collezioni, che non sempre sono catalogate, sono generalmente costituite da fiori, semi, frutti e parti vegetative di piante vascolari (fig. 1). A volte contengono campioni di alghe e muschi, spesso si tratta di raccolte di diversi autori riunite in miscellanee. Di norma sono conservate in alcool o formalina, è però piuttosto frequente trovare liquidi diversi, a volte non ben identificati, usati nella stessa collezione (tab. 1). I problemi connessi a queste collezioni riguardano principalmente la mancanza di documenti che illustrino la prassi se-

gnita per la preparazione dei campioni, lo stato di conservazione dei campioni stessi e soprattutto l'identificazione e la concentrazione dei fluidi utilizzati originariamente per la conservazione. La conoscenza di quest'ultimo aspetto risulta estremamente importante per poter impostare le operazioni preliminari di restauro delle collezioni in liquido (Fulcheri et al., 2008). Le "collezioni attuali" a differenza di quelle descritte in precedenza sono costituite da campioni appartenenti a uno o pochi gruppi sistematici, sono molto specifiche nei contenuti e, trattandosi di collezioni in corso di allestimento, sono ben documentate in particolar modo per quanto riguarda i protocolli di conservazione, i liquidi impiegati e la concentrazione con cui vengono utilizzati questi ultimi. Esse divengono strumenti indispensabili di confronto per l'identificazione dei campioni raccolti durante campagne di ricerca e biomonitoraggio (es. studi algali), e per la determinazione di esemplari fossili, il più delle volte frammentati dai processi biostratinomici e di fossilizzazione.

Le collezioni "attuali" citate in questo contributo rappresentano probabilmente solo una piccola parte di quelle realmente esistenti in Italia. Allo stato odierno delle conoscenze le collezioni più consistenti risultano essere quelle algali, costituite da macro e micropreparati. Tra queste segnaliamo la collezione di alghe marine



Fig. 1. Infiorescenza di *Cycas* sp. conservata presso la Sezione di Botanica Sistemática e Geobotanica del Dip. di Biologia dell'Università degli Studi di Milano. Preparato conservato in una soluzione di acqua e formalina al 4% (Foto Enrico Sala).

Collezioni vegetali in liquido (aggiornamento al 2003)					Tipologia collezione								Liquido conservativo				Luogo					
					Alghe	Briofite	Funghi	Licheni	Piante vascolari													
Istituzione / Citazione bibliografica	Nome collezione	N° campioni (indicativo)	dal	al					Pteridofite	Gimnosperme	Angiosperme	Fiori	Frutti	Semi	P/vegetative	Alcool (%)	Formalina (%)	Glicerina	Altro	Sale espositive	Depositi collezioni	Armadi appositi
Università di Firenze, Museo di Storia Naturale, Sezione Botanica (Moggi, 1994)	Carpoteca	8000	fine 700	2003	x	x			x	x	x	x	x		x	x						x
	Palinoteca	400																				
Fondazione Scienza e Tecnica di Firenze	Collezione botanica	67	800	900	7	2			2	1	55		x	x	x		x					x
"Università di Siena, Erbario Dip. Scienze Ambientali "G.Sarfatti"	Spermatoteca e Collezione in formalina e alcool	85	1873	1920	29	2	13	1	x	x	x		x		x	Br	x			x		
Università di Firenze, Dip. Biologia Vegetale, Scienze MFN		100	1890	1950	x	x			x	x	x		x	x	x	x	x		a secco		vetrine	
Università di Pavia, Dip. Ecologia del territorio	Collezione anatomica	224	1890 ?	1950 ?	4		43		8	15	154	x	x	x	x				liquido Pollacci?			x
Università di Firenze, Dip. Biologia Vegetale, Scienze Agrarie (Signorini, 1993)		250	1900	1936	x		x				x		x	x	x							
Università di Pisa, Museo Botanico	Collezione Micologica	315	1904	1991			x									x						x
	Collezione di vegetali in vitro	250	1910	1975						x	x		x	x	x	x						x
Università degli Studi di Padova, Orto Botanico		40	900		x						x		x	x	x	x			CuSO4			
Museo Civico di Scienze Naturali, Venezia	Racc. Michelangelo Minio		1930													60						x
	Miscellanea	200			x											x	x					x
	Racc. Giorgio Coen (Capo di Buona Speranza)		1930		x						x		x			x						x
Università di Catania, Dip. Botanica		5000	1968	2002	5000						20					x		x			x	
Museo Tridentino di Scienze Naturali, Trento	Collezione algologica	50	1993	1996	x												2/4					x
	Fitoplancton (Lago di Tovel)	60	1997	2002	x														x			x
	Collezione diatomologica	>300			x												x		x			x
Università di Ferrara, Dip. Risorse Naturali e Culturali	<i>Herbarium Horti Ferrariensis</i>	200	1970	2003	100					1	70		20			x	x			x	x	
C.N.R. Istituto per la Dinamica dei Processi Ambientali- Dalmine (Arsuffi et al., 1996)	Palinoteca e collezioni in liquido di macroresti vegetali	673	1990	2003					6	40	627					289		268	Isoamile			x

Tab. 1. Elenco delle Istituzioni censite che possiedono collezioni di botanica in liquido. Le Istituzioni elencate sono solo quelle che hanno inviato i dati relativi alle loro collezioni in seguito alla richiesta inoltrata attraverso l'ANMS e la SBI (Società Botanica Italiana).

del Dipartimento di Botanica di Catania e la collezione, articolata in sottocollezioni, di alghe delle acque interne del Museo Tridentino di Scienze Naturali. Un'altra tipologia di collezione, atipica rispetto a quelle descritte sinora, è rappresentata dalle collezioni palinologiche. Queste ultime sono indispensabili per avviare studi paleobotanici e sono costituite da campioni sia di polline fresco che fossile, come per esempio la collezione allestita presso la sezione di Milano del CNR-IDPA, molto simile a quelle presenti nelle sedi universitarie che conducono ricerche palinologiche (Arobba, 1977; Caramiello & Fossa, 1993; Accorsi et al., 1980) e non trattate diffusamente in questo contributo.

LA CONSERVAZIONE IN LIQUIDO DEI VEGETALI

Le prime collezioni di botanica in liquido venivano allestite immergendo semplicemente i campioni in soluzioni sovrassature di sale marino (Caruel, 1866) oppure in liquidi ottenuti dalla fermentazione alcolica e dalla distillazione, come spirito di vino e alcool etilico (Caruel, 1866; Eger-Lessona, 1877; Penzig, 1894). Per i preparati microscopici si utilizzavano invece olio, glicerina, o una soluzione di cloruro di calcio e acqua distillata in rapporto 1:3 (Caruel, 1866). Verso la fine del secolo XIX venne introdotto e accolto con entusiasmo, dapprima in Germania (Blum, 1893), e poi in Italia (Penzig, 1894), un nuovo prodotto, ritenuto all'epoca ideale per la preparazione e la conservazione dei materiali organici: la formalina. Questo liquido, oltre ad essere un ottimo conservante per quell'epoca, aveva il grosso vantaggio di essere molto più economico delle soluzioni a base di alcool. La formalina è attualmente uno dei liquidi ampiamente impiegato per la conservazione dei vegetali; esso viene consigliato anche per le collezioni di funghi macromiceti (Zangheri, 1981). All'inizio del secolo scorso venne proposto come liquido di conservazione l'anidride solforosa, dopo aver preventivamente trattato i campioni con solfato di rame per alcuni giorni (Pollacci, 1900, 1905; Tredici, 1934), operazione che fissava indelebilmente il colore dei campioni, secondo quanto esposto da Pollacci (1905). Attualmente la conservazione dei vegetali in liquido, soprattutto per quanto riguarda i preparati microscopici, prevede di sottoporre i campioni a due passaggi: la fissazione e la successiva conservazione.

La fissazione è un processo che provoca la morte delle cellule che vanno a costituire i tessuti e stabilizza i diversi componenti cellulari (Forman & Bridson, 1989; Arnò & Delmastro, 2002). Per questo procedimento viene normalmente utilizzata una miscela di alcool metilico, formalina e glicerina (Forman & Bridson, 1989), o più semplicemente etanolo o formalina che agiscono stabilizzando le proteine e gli acidi nucleici attraverso la loro precipitazione (alcoli) o la formazione di legami molecolari (formalina).

I preparati microscopici possono subire una ulteriore fissazione con prodotti a base di glutraldeide. Questa è un fissativo più forte della formaldeide, ma ha minore potere di penetrazione nei tessuti. Infatti la presenza della parete cellulosica che circonda le cellule vegetali può ostacolare l'entrata dei fissativi. Generalmente formaldeide e glutraldeide sono utilizzati in sequenza o in una stessa miscela per migliorare l'efficienza della fissazione.

I campioni vengono inoltre trattati con soluzioni di glucosio per pochi minuti (Glauert, 1974) per diminuire il turgore dei vacuoli, facilitando l'ingresso dei fissativi. Durante la fissazione è importante neutralizzare i liquidi fissativi che potrebbero altrimenti sciogliere caratteri diagnostici di natura carbonatica presenti sulla superficie degli esemplari da fissare (Forman & Bridson, 1989; Arnò & Delmastro, 2002).

La fase che segue la fissazione è la conservazione definitiva in un liquido, che non è necessariamente identico a quello utilizzato per la fissazione (Arnò & Delmastro, 2002). In generale i liquidi ancora oggi impiegati sono soluzioni a base di alcool, formalina e in parte glicerina. Esistono numerose combinazioni e miscele di prodotti utilizzati, la cui documentazione è ampiamente riportata in Forman & Bridson (1989) e Arnò & Delmastro (2002).

I liquidi utilizzati: vantaggi e svantaggi

L'immersione in liquido consente di conservare nel tempo le strutture morfologiche dei reperti vegetali nel loro aspetto tridimensionale; essa però può comportare la perdita del colore, l'irrigidimento dei tessuti con conseguente aumento della fragilità dei reperti o la possibile alterazione delle strutture molecolari (ad esempio, questi fissativi non preservano i lipidi con conseguente danneggiamento delle membrane cellulari).

I liquidi oggi impiegati possono infatti avere effetti negativi su proteine e acidi nucleici, soprattutto a livello strutturale, fatto che preclude la possibilità di compiere in un futuro alcuni tipi di indagini molecolari su questo stesso materiale, come ad esempio analisi strutturali sulle proteine.

L'impiego di alcuni prodotti chimici nell'allestimento di collezioni botaniche in liquido comporta anche rischi legati alla tossicità di queste sostanze sia per il personale tecnico che interagisce regolarmente con le collezioni sia per coloro che per motivi di studio o altro ne devono prendere visione (Simmons, 1995).

Tra i liquidi conservativi la formalina è sicuramente la più nociva alla salute dell'uomo (la formaldeide è infatti classificata come prodotto cancerogeno potenziale, Arnò & Delmastro, 2002), mentre l'impiego di alcool in genere e acido acetico glaciale necessita di particolari misure di cautela per le loro caratteristiche di infiammabilità e/o il loro potere corrosivo.

La tabella 2 riporta in sintesi i vantaggi e gli svantaggi dei liquidi conservativi rispetto alle collezioni di botanica e agli operatori. Dall'analisi di questa tabella è possibile trarre le seguenti considerazioni.

Alcool etilico: è ritenuto un liquido con alta capacità conservativa (Arnò & Delmastro, 2002). L'alcool viene anche impiegato per analisi molecolari nei protocolli di estrazione degli acidi nucleici, tramite lavaggi a concentrazione decrescente; esso tuttavia fa precipitare le molecole di DNA causandone la frammentazione. Anche le proteine quando vengono in contatto con l'alcool precipitano e per tale ragione sui materiali biologici immersi in alcool diviene impossibile effettuare studi ultrastrutturali. Nei confronti degli operatori l'alcool non è particolarmente tossico, tuttavia il suo impiego a causa dell'elevata infiammabilità prevede l'utilizzo di appositi armadi in cui collocare le collezioni (tab. 2).

Formalina: è un prodotto ad alta capacità fissativa grazie ai forti legami che instaura con le proteine e gli acidi nucleici. Questa sua proprietà è talmente efficace che allo stato attuale delle conoscenze rende estremamente difficili le operazioni di estrazione o di separazione sia di DNA e RNA che delle proteine per analisi molecolari e biochimiche. La formalina, come già ricordato sopra, è una sostanza fortemente tossica per gli operatori; la collocazione delle collezioni in formalina deve avvenire in appositi armadi muniti di vasche di contenimento e di particolari impianti di aspirazione. Inoltre il locale in cui si trovano questi armadi dovrebbe disporre di macchinari per il ricambio periodico dell'aria (Ratti, comm. pers., Museo civico di Venezia).

Glicerina: ha una bassa capacità conservativa. La glicerina viene generalmente utilizzata per micropreparati, il suo impiego per la conservazione di campioni di grandi dimensioni è poco pratico per i costi troppo elevati. Essa viene utilizzata come crioprotettore nelle fasi di surgelamento di frammenti vegetali, nelle fasi preliminari delle indagini biomolecolari. La glicerina non ha importanti effetti negativi sugli operatori che lavorano a contatto con le collezioni.

CONSERVAZIONE IN LIQUIDO DI MATERIALE FOSSILE E SUBFOSSILE

Le collezioni fossili

Anche le collezioni di materiale vegetale fossile vengono frequentemente conservate in liquido. Queste collezioni vengono allestite non solo con lo scopo di preservare nel tempo i reperti fossili rinvenuti durante scavi e carotaggi, ma anche con l'intenzione di creare collezioni di confronto per aiutare la determinazione di nuovo materiale fossile da parte di paleoecologi vegetali e archeobotanici.

Il materiale vegetale che si conserva allo stato fossile può derivare sia da parti vegetative che riproduttive di una pianta; esso viene distinto in megafossili, macrofossili e microfossili. I megafossili vegetali hanno dimensioni metriche (es. tronchi fossili, pali di palafitte, ecc.). I macrofossili vegetali sono resti di dimensioni tali da poter essere visti ad occhio nudo e manipolati

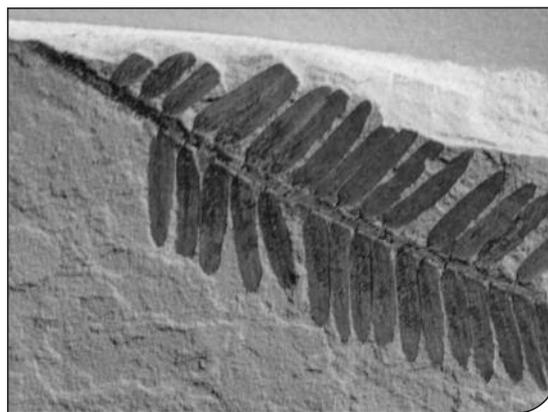


Fig. 2. Ramo di *Metasequoia* proveniente dal deposito fossilifero eocenico di Republic (Washington State, USA) inclusa in una roccia pelitica.



Fig. 3. Accumulo di materiale vegetale post-medievale in un piccolo sbarramento di un torrente montano in Val Lujo (Abbazia di Albino, BG). Si nota del detrito vegetale (frammenti di rami e castagne) immerso in una matrice limoso-sabbiosa. Se non dovessero intervenire fenomeni di erosione, questo materiale potrebbe andare incontro a processi di fossilizzazione.

tramite pinzette o pennelli sotto uno stereomicroscopio. Essi comprendono: frutti, semi, foglie, frammenti di cuticole, spine, gemme, perule, fiori, bulbilli, rizomi, radici, frammenti di tessuti, galle, corteccia, legno, ecc. I microfossili, visibili solo tramite un microscopio ottico, comprendono granuli pollinici, spore, stomi, microparticelle di carboni, alghe, ecc.

Nella seguente trattazione escludiamo il materiale più vecchio, che di regola è preservato in rocce litificate (fig. 2) e viene mantenuto sul supporto lapideo. Le condizioni di fossilizzazione dei vegetali possono essere molto diversificate. Gli ambienti di deposizione più favorevoli alla fossilizzazione sono quelli inizialmente umidi come torbiere, laghi o anse di fiumi (fig. 3). La compattazione del sedimento determina poi l'espulsione dell'acqua e il passaggio a un contesto diagenetico asciutto (e quasi disidratato) (fig. 4).

Sulla conservazione di questo materiale, una volta estratto, non esiste documentazione bibliografica approfondita; è d'obbligo quindi rifarsi all'esperienza em-

Liquido	Formula	Capacità conservativa	Proprietà conservative/alterazione molecolare				Tossicità operatori	Norme di conservazione
			Alterazione tessuti	Colore	Proteine	Acidi nucleici		
Alcool etilico	C2H6O	Alta	raggrinzimento per disidratazione	perdita rapida	Fissazione per precipitazione	precipitazione	R11 Facilmente infiammabile armadi speciali per sostanze infiammabili con vasche di contenimento interne	
Formalina	CH2O	Alta		perdita graduale	difficoltà estrazione	difficoltà estrazione R40-possibilità di effetti irreversibili R34-provoca ustioni R43-puo' provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle R23/24/25-Tossico per inalazione, contatto con la pelle e per ingestione TOSSICO CANCEROGENO POTENZIALE	armadi speciali per sostanze tossiche e nocive con vasche di contenimento /apparato di aspirazione vapori	
Acido acetico glaciale	CH3COOH	Alta			Fissazione per precipitazione	separazione DNA Lab.	R11 Facilmente infiammabile armadi speciali per sostanze infiammabili con vasche di contenimento interne R35 Provoca gravi ustioni	
Glicerina	C3H8O3	Bassa		perdita graduale	Crioprotettore	Crioprotettore		

Tab. 2. Principali liquidi utilizzati per la conservazione delle collezioni di botanica, per ognuno vengono riportate in sintesi le proprietà conservative e le norme vigenti in materia di tossicità e sicurezza.

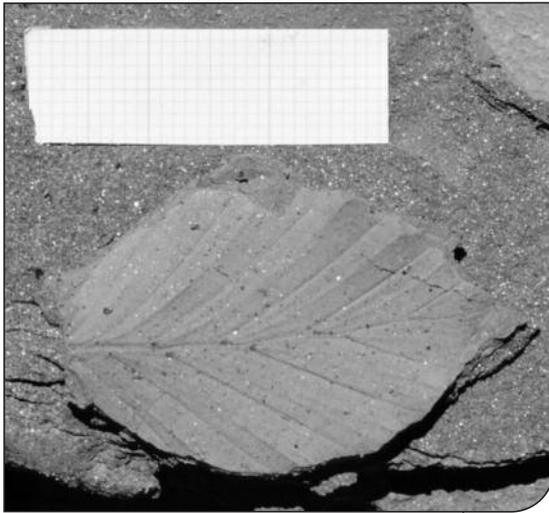


Fig. 4. Impronta di foglia di *Fagus* nei depositi lacustri compressi di età pleistocenica di Re, Val Vigizzo (VB).

pirica e a quanto si può raccogliere come testimonianza orale da parte di enti o istituzioni che operano in questo settore da lungo tempo.

Macrofossili: frutti e semi

Per quanto riguarda frutti, semi e altri macroresti in frammenti (detrito vegetale) di età quaternaria, non vi sono trattamenti particolari che precedono il loro studio, se non una setacciatura per estrarli dal sedimento che li ingloba. Tuttavia se si tratta di materiale torboso particolarmente compresso che non si disgrega solo con l'acqua, è necessario, prima della setacciatura, metterlo a bagno in una soluzione al 10% di pirofosfato di sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) o di soda (NaOH), sempre al 10% (Birks, 1980, 2001). Quando il materiale organico è molto compatto e indurito (ligniti, soprattutto di età pre-quaternaria), per accelerare i tempi, anziché lasciarlo a bagno, il campione in soda può essere bollito finché non appare completamente disgregato (Ravazzi, 2002). Questa seconda soluzione è ovviamente più ra-

pidata, ma è da effettuarsi con dovuta cautela perché potrebbe compromettere l'integrità del materiale fossile, sempre piuttosto delicato. Qualora il deposito sia invece costituito da sabbie e ghiaie fini, indurite per effetto di processi di diagenesi (es. cementazione incipiente) il campione viene immerso in acqua ossigenata (H_2O_2) diluita al 3-8 %, in questo modo i resti vegetali, essendo leggeri, salgono in superficie per flottazione e possono essere separati dalla frazione minerale che resta al fondo (Martinetto, 1995; Ravazzi, 2002). Una volta disgregato, il materiale viene lavato sotto un getto d'acqua a spruzzo e fatto passare attraverso generalmente tre setacci con maglie di 1 mm di diametro per la frazione più grossolana (fig. 5), 0,500 mm per la frazione media e 0,250 mm per la frazione più fine. Quest'ultimo setaccio, in base alle esigenze di studio, può essere di maglie ancora più fini (0,125 mm) per poter raccogliere anche i semi più piccoli come per esempio quelli di *Juncus*, *Saxifraga*, Ericaceae e Pyrolaceae.

La conservazione nel tempo del materiale geologicamente più recente, essendosi preservato in ambienti ancora umidi e risultando quindi fortemente impregnato d'acqua, è preferibile che non avvenga tramite essiccazione perché ciò ne determinerebbe la frantumazione. La conservazione avviene di preferenza in glicerina pura, o in una miscela composta da glicerina, alcool e acqua con l'aggiunta di un antifungino (es. timolo). Ciò impedisce la formazione di muffe pur mantenendo in condizione umide il materiale (fig. 6). Il quantitativo di glicerina da usare può essere anche limitato: è sufficiente infatti che i reperti fossili siano coperti da un sottile velo di glicerina. Se la conservazione avviene, anziché in piccole scatole di plastica, in provette di vetro la quantità di glicerina è di norma maggiore per rendere più agevole l'eventuale prelievo del reperto senza manipolarlo. Altri liquidi che possono essere impiegati sono l'alcool e, tra i consolidanti, il polietilenglicole.

Per quanto riguarda i materiali organici conservati in condizioni di totale assenza di acqua, per evitare che una volta estratti dal sedimento si inumidiscano innescando formazione di muffe e/o processi di fermentazione, si può procedere al congelamento. Innanzitutto



Fig. 5. Fase di setacciatura per la separazione di macroresti vegetali di un campione prelevato in un sito archeologico dell'età del Bronzo.

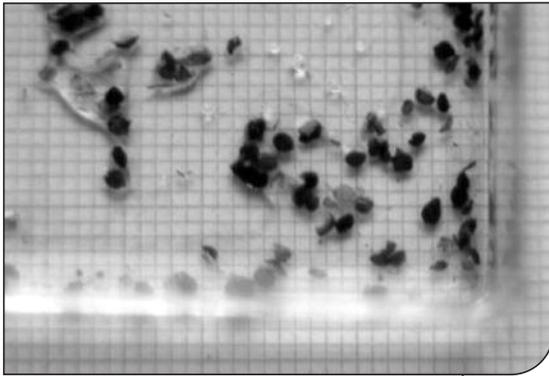


Fig. 6. Resti vegetali fossili (fruttificazioni) di *Menjanthes* e *Nymphaea* conservati in piccole scatole di plastica e ricoperti da un sottile velo di glicerina.

però bisogna procedere alla completa espulsione dell'acqua, assorbita anche solo semplicemente in atmosfera secca. Solo successivamente si può congelare il materiale. Infatti il congelamento in presenza di acqua porta alla frammentazione dei reperti per l'azione meccanica esercitata dalla formazione del ghiaccio sulle strutture istologiche. Un'alternativa al congelamento è l'immersione del materiale in alcool in contenitori ermeticamente chiusi per impedirne l'evaporazione.

Microfossili: polline e spore

Un caso particolare è rappresentato dal materiale microscopico, soprattutto polline e spore, che viene conservato in liquido, montato su vetrini, oppure in provette. Polline e spore fossili subiscono una serie di trattamenti chimici per essere estratti dal sedimento che li ingloba. La preparazione per analisi palinologica comprende generalmente tre fasi (demineralizzazione, macerazione e acetolisi) che liberano i palinomorfi dalla matrice (Moore et al., 1991; Ravazzi, 1994; Bennett & Willis, 2003). La demineralizzazione si compone a sua volta di diversi trattamenti: 1) rimozione dei carbonati (attacco con HCl concentrato); 2) rimozione dei silicati (attacco con HF e HCl); 3) eventuale rimozione della frazione inorganica residua con liquidi pesanti; 4) de-

floculazione delle argille con pirofosfato di sodio. La macerazione prevede l'estrazione della sostanza organica solubile in NaOH diluito e l'eventuale ossidazione della sostanza organica non solubile (ligniti) mediante ossidazione blanda con NaClO + HCl concentrato. Infine il processo dell'acetolisi elimina la sostanza organica e i composti argillo-humici residui alla macerazione e rende più leggibili i granuli pollinici, che assumono una colorazione bruno-marrone. Al termine dell'acetolisi, al residuo può essere aggiunta glicerina. La scelta della glicerina come mezzo di montaggio è dettata dal fatto che essa impedisce la formazione di muffe, e inoltre presenta un indice di rifrazione prossimo a quello del polline. Una leggera differenza dell'indice di rifrazione consente una buona definizione dei profili al microscopio ottico (fig. 7).

Per il montaggio dei vetrini una procedura molto usata è la seguente. Si pone al centro del vetrino portaoggetto una goccia dosata di glicerina (tra 0,10 e 0,20 ml) contenente granuli di polline e lo si riscalda sopra una fiamma, sciogliendo la paraffina attorno alla goccia di glicerina. Una volta sciolta la paraffina si allontana il vetrino dalla fonte di calore e si pone il vetrino coprioggetto sul preparato, prima che la paraffina si consolidi. A consolidazione avvenuta si elimina con una lametta la paraffina in eccesso. È importante che la paraffina circondi completamente la goccia di preparato, in modo che non ci siano spazi aperti in cui possa entrare dell'aria. Lo spessore del liquido pollinifero tra i due vetrini deve essere compreso tra 0,15-0,20 mm per consentire l'uso degli obiettivi ad immersione e permettere di variare l'orientazione del granulo pollinico durante l'analisi al microscopio.

Collezioni di confronto di materiale fresco

Dato che il materiale fossile risulta spesso incompleto e danneggiato, per un corretto riconoscimento delle specie, come già ricordato sopra, risulta di fondamentale importanza confrontare il materiale fossile con quello conservato nelle collezioni di materiale fresco, purché quest'ultimo provenga da piante correttamente determinate e rappresenti bene la variabilità della specie.

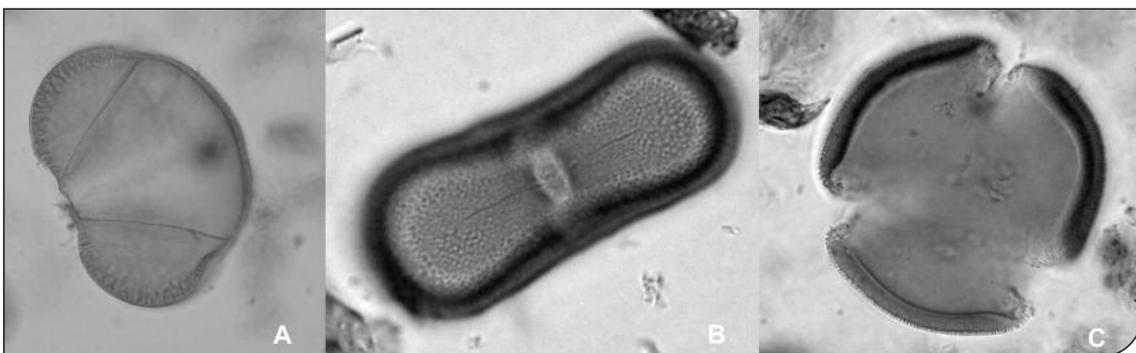


Fig. 7. Esempi di granuli pollinici fossili osservati al microscopio ottico. Il colore bruno è prodotto dall'acetolisi.

Da sinistra a destra: a) *Picea abies* (90 μm); b) *Orlaya grandiflora* (visione equatoriale, 50 μm); c) *Linum usitatissimum* (visione polare, 60 μm) (foto di E. Arpenti, CNR-IDPA, sezione di Milano).



Fig. 8. Esempio di una collezione di confronto di frutti e semi attuali, conservati dopo essiccazione (Collezione del CNR - Istituto per la Dinamica dei Processi Ambientali, sede di Dalmine).

Le collezioni di confronto di frutti e semi o di altre parti della pianta vengono allestite non in liquido, ma con materiale il più possibile essiccato (fig. 8).

Le collezioni in liquido riguardano invece le collezioni di confronto di polline. Allo stato fresco, per l'osservazione al microscopio ottico, i granuli di polline devono subire una colorazione (tramite fucsina) o una reazione di acetolisi. Una volta preparato, questo materiale può essere montato in maniera analoga ai preparati fossili, cioè immerso in glicerina e poi chiuso in vetrino tramite paraffina. A lungo termine i granuli pollinici possono subire alterazioni nel loro stato di turgore (rigonfiamenti o collassamenti) che ne alterano la forma.

TRATTAMENTO DI LEGNI SATURI IN ACQUA

I legni rinvenuti in siti marini o in depositi sedimentari lacustri o torbigeni si presentano completamente o parzialmente imbevuti d'acqua, con composizione chimica e proprietà fisiche e meccaniche diverse dal legno attuale. Secondo Hoffmann & Jones (1990) l'immersione in acqua del legno determina un assottigliamento progressivo e uniforme della parete cellulare, in direzione centripeta, per idrolisi dei carboidrati (emicellulose, cellulosa) che compongono la parete. Al termine della degradazione la parete cellulare presenta un'elevata concentrazione di lignina che ne costituisce lo scheletro ed è solo parzialmente deteriorata dall'attacco di alcuni batteri anaerobi. Il legno, pur mantenendo la forma originaria e una certa resistenza, almeno finché resta in condizioni di saturazione, assume quindi una consistenza spugnosa, e diviene molto fragile una volta tolto dall'acqua o dal sedimento e posto in ambiente aereo. Il legno saturo richiede perciò trattamenti transitori in liquido sia al momento del ritrovamento, sia nell'inter-

vallo di tempo che intercorre tra questo e il trattamento conservativo, necessario per effettuare osservazioni macro e microscopiche ed analisi chimiche di tipo diretto ed indiretto (analisi gravimetriche) al fine di valutare il trattamento conservativo più efficace (prevalentemente effettuato attraverso tecniche conservative di impregnazione e di freeze-drying (Watson, 1982; Grattan et al., 1990).

La conservazione dei reperti lignei inizia già in fase di scavo, dove vengono infatti prelevati con molta cautela e posti in luoghi riparati e umidi, onde evitare una veloce evaporazione, con conseguente frattura dei campioni (crepe, cipollatura, frammentazione). Il brusco cambiamento delle condizioni di pressione, temperatura e umidità, subiti dai campioni in seguito alla riesumazione, determina un'ingente perdita di acqua e il rilascio della tensione, favorendo l'insorgere di fratture nelle zone più deboli.

I legni vengono quindi immersi in apposite vasche, contenenti soluzioni costituite da acqua distillata con aggiunta di sostanze micostatiche (cloruri di alchil-dimetil-benzil ammonio) che consentano la preservazione in attesa della preparazione.

Attualmente l'etica della conservazione si sta orientando verso il mantenimento dell'oggetto in condizioni controllate, che alterino il meno possibile la struttura chimico-fisica del campione (si propone addirittura il risepellimento), nell'attesa di sviluppare dei trattamenti conservativi reversibili, ma duraturi, e non intrusivi.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

L'indagine svolta ha consentito di fornire un quadro della situazione attuale in Italia delle collezioni di botanica in liquido. In passato questa tecnica conservativa era ampiamente impiegata anche alle nostre latitudini per conservare intatte le forme di reperti vegetali di grosse dimensioni, utilizzate soprattutto come strumento didattico o come oggetti per l'esposizione. Attualmente questa funzione è supportata da strumenti di comunicazione più efficaci rispetto alle semplici collezioni esposte. La conservazione e l'esposizione delle collezioni esistenti prevedono inoltre il rispetto di norme che salvaguardino la salute degli operatori e la sicurezza degli ambienti. Per questi motivi la conservazione dei vegetali in liquido, tranne che per rari casi, è una pratica poco utilizzata per i preparati macroscopici. La conservazione e la valorizzazione delle collezioni esistenti è sicuramente un impegno da mantenere, data la loro unicità e l'importanza che rivestono nella storia della ricerca scientifica e della museologia italiana.

Dall'indagine condotta è emerso inoltre che la conservazione in liquidi trova oggi largo impiego nelle collezioni di alghe attuali e in quelle di materiale fossile e subfossile, dove non è necessario usare ingenti quantità di liquidi conservativi. Tuttavia, almeno attualmente, la maggior parte delle sostanze che consentono di poter recuperare materiale per effettuare studi in campo mo-

lecolare, non soddisfano interamente il criterio di reversibilità delle collezioni in campo conservativo.

La glicerina potrebbe attualmente essere il liquido conservativo più indicato per ovviare a questo inconveniente. La sua bassa capacità di conservazione potrebbe essere ovviata con tecniche di surgelazione del campione, e in questo caso la glicerina stessa funzionerebbe da crioprotettore. Le tecniche di crioconservazione, con l'ausilio di glicerina o di altri composti organici crioprotettori, sono tuttavia applicabili solo per piccoli frammenti di materiale.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano la Società Botanica Italiana e l'ANMS per aver diffuso la scheda per il censimento delle collezioni di botanica in liquido. Un sentito ringraziamento è rivolto a tutte le Istituzioni e ai colleghi che con le loro risposte ci hanno consentito di compilare questo primo elenco delle collezioni esistenti in Italia. Si ringraziano il dr. Ratti (Museo Civico di Scienze Naturali di Venezia) per la precisione e l'accuratezza delle informazioni fornite sulle normative, la dr.ssa Elisabetta Onelli (Dip. di Biologia, Sez. di Botanica Sistemica e Geobotanica) e il prof. Gianni Binelli (Università dell'Insubria di Varese) per le informazioni sull'azione dei prodotti conservativi. Infine si ringrazia il dr. John E. Simmons del Museo di Storia Naturale dell'Università del Kansas per aver messo a disposizione il suo elenco bibliografico inedito sulle collezioni in liquido.

BIBLIOGRAFIA

Accorsi C.A., Bandini Mazzanti M., Cocchi M.G., 1980. *La Palinoteca*. In: AAVV (eds.), *Le raccolte dell'Istituto Orto Botanico dell'Università di Bologna*. *Notiziario periodico della vita dell'Associazione Nazionale Musei Scientifici*, 7: 27-30.

Arnò C., Delmastro G.B., 2002. Annotazione su alcune sostanze chimiche utilizzate nella costituzione e conservazione delle collezioni biologiche. *Rivista Piemontese Storia Naturale*, 23: 243-280.

Arobba D., 1977. *La realizzazione di una palinoteca*. *Raccolta e preparazione di pollini e spore attuali*. *Natura Alpina*, 12: 305-315.

Arsuffi S., Mangili C., Ravazzi C., Andreis C., Caccianiga M., Ghiotto P., Perego R., Pini R., Sala E., Speranza A., 1996. *Constitution of a new reference collection for palynology. presentation and proposal of exchange fresh and fossil material*. *Giornale Botanico Italiano*, 130(1): 313.

Bardinet T., 1995. *Les papyrus médicaux de l'Égypte pharaonique*. *Traduction intégrale et commentaire*. Fayard, Paris, 591 pp.

Bennett K.D., Willis K., 2003. *Pollen analysis*. In: Smol J.P., Birks H.J.B., Last W.M. (eds.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments*, Kluwer, Dordrecht, pp. 5-32.

Birks H.H., 1980. *Plant macrofossils in Quaternary lake sediments*. *Archiv. für Hydrobiologie*, 15: 1-60.

Birks H.H., 2001. *Plant macrofossil*. In: Smol J.P., Birks H.J.B., Last W.M. (eds.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 3.

Blum F., 1893. *Formol als konservierungsflüssigkeit*. *Zoologischer Anzeiger*, 16: 450-452.

Buzzi P., 1946. *Apicii De re coquinaria libri / Apicius, Coelius*. *Testo originale e traduzione italiana a fronte*, Ed. Garzanti Milano, 240 pp.

Caramiello R., Fossa V., 1993. *La palinoteca nella ricerca scientifica*. *Webbia*, 48: 197-208.

Caruel T., 1866. *Guida del Botanico principiante, ossia compendio di consigli ed istruzioni per quelli che vogliono iniziare nello studio della botanica*. Firenze, 104 pp.

Conte G.B. (ed.), 1988. *Gaio Plinio Secondo/ Storia naturale*. *Testo latino e trad. italiana a fronte*. Con la collaborazione di Alessandro Barbiesi e Giuliano Ranucci, Einaudi, Torino, 5 voll.

Eger-Lessona L., 1877. *Il raccoglitore naturalista: guida pratica per raccogliere, preparare, conservare i corpi naturali organici e inorganici, prima traduzione italiana autorizzata, fatta sotto la direzione di Michele Lesiona*. Ermanno Loescher, Roma, Torino, 123 pp.

Forman L., Bridson D., 1989. *The Herbarium Handbook*. Royal Botanic Gardens, Kew.

Fosberg F.R., Sachet M.H., 1965. *Manual for Tropical Herbaria*. *Regnum Vegetabile*. International Bureau for Plant Taxonomy and Nomenclature, Utrecht, 39: 132.

Fulcheri E., Micalizio S., Ferrari L., 2008. *Valore museale delle soluzioni di dimora nelle preparazioni anatomia che umane*. In: Barbagli F. (ed.), *Atti dei seminari ANMS di Pavia. Preparazione, conservazione e restauro dei reperti naturalistici: metodologie ed esperienze*. *Museologia Scientifica Memorie*, 3: 88-92.

Glauert A.M., 1974. *Fixation, dehydration and embedding of biological specimens*. In: Andrey M. (ed.), *Practical Method in Electron microscopy*, 3.

Grattan D., Cook C., David W., 1990. *A method of calculating the concentration of PEG for freeze-drying Waterlogged Wood*. In: Hoffmann P. (ed.), *Proceeding of the 4th ICOM WWW Group*. ICOM-Committee for conservation working Group on wet organic archaeological materials conference. Bremerhaven: 239-252.

Hoffmann P., Jones M.A., 1990. *Structure and Degradation Process for Waterlogged Archaeological Wood*. In: Rowell R.M., Barbour R.J. (eds), *Archaeological Wood Properties, Chemistry, and Preservation*. American Chemical Society, Washington, DC.

Martinetto E., 1995. *Significato cronologico e paleoambientale dei macrofossili vegetali nell'inquadramento stratigrafico del "Villafrafranciano" di alcuni settori del Piemonte (Italia NW)*. *Tesi di Dottorato di Ricerca*, Università di Torino.

Moggi G. (ed.), 1994. *Guida agli Erbari della Toscana* (coord.). Dip. Istruzione e Cultura. Regione Toscana.

Moore P.D., Webb J.A., Collison M.E., 1991. *Pollen Analysis*. Blackwell, London.

Neickelio C.F., 1727. *Museographia Oder Anleitung Zum rechten Begriff und nützlicher Anlegung der Museorum, Oder Raritäten-Kammern*. Leipzig und Breslau, Hubert.

Penzig O., 1894. *La formalina come liquido conservatore dei preparati vegetali*. *Malpighia*, 6 pp.

Pollacci G., 1900. *Il biossido di zolfo come mezzo conservatore di organi vegetali*. *Atti dell'Istituto Botanico di Pavia*, 2 (4).

Pollacci G., 1905. *Nuovo metodo per la conservazione di organi vegetali*. *Bollettino della Società Botanica Italiana*: 242-243.

Ravazzi C., 1994. *Lo studio del polline fossile per la ricostruzione*

- degli ambienti del passato. *Didattica delle Scienze*, 174: 20-26.
- Ravazzi C., 2002. *Evoluzione delle piante vascolari e storia della vegetazione nel Quaternario. Dispense del corso di Paleontologia Vegetale per Scienze Naturali, Università degli Studi di Milano. A.A. 2001/2002.*
- Signorini M., 1993. *L'erbario dei Laboratori di Botanica Agraria di Firenze (EIAF): Notizie sulle collezioni e sull'ordinamento. Webbia*, 48: 305-320.
- Simmons E.J., 1995. *Storages in fluid preservative. In: Rose C.L., Hawks C.A., Genoways H.H. (eds.), Storage of Natural History Collections: A Preventive Conservation Approach, Society for the Preservation of Natural History Collections. Iowa city*, 1: 161-181.
- Tredici V., 1934. *Sul metodo proposto dal prof. Gino pollacci per la conservazione degli organi vegetali. Atti dell'Istituto Botanico Università di Pavia*, 4(5): 23-31.
- Thorne S., 1986. *The history of food preservation. Parthenon publishing*, 181 pp.
- Zangheri P., 1981. *Il naturalista. Esploratore, raccoglitore, preparatore, imbalsamatore. Ulrico Hoepli ed., Milano*, 503 pp.
- Watson J., 1982. *The application of freeze-drying on British hardwoods from archaeological excavation. In: Grattan D. (ed.), Proceeding of the ICOM WWW Group Conference. ICOM-Committee for conservation working Group on wet organic archaeological materials conference. Ottawa*. 237-242.