

Metodi e tecniche per la conservazione, preparazione e studio morfologico dei Ditteri: informazioni e consigli

Lorenzo Munari

Il presente lavoro nasce da una ben precisa esigenza che coinvolge tutti coloro che per studio, ricerca o conservazione museale abbiano necessità di conoscere notizie dettagliate sui metodi e le tecniche per la conservazione e preparazione dei ditteri, vuoi per impostare correttamente una collezione scientifica vuoi per lo studio morfologico che implica necessariamente una preventiva conoscenza delle moderne tecniche di preparazione dei tegumenti per una successiva analisi microscopica.

Tutti i ricercatori entomologi ed i conservatori dei musei italiani riconoscono le enormi lacune conoscitive circa la ditterofauna italiana.

Musei ed Istituti universitari si trovano quasi sempre sprovvisti di collezioni ditterologiche impostate con criteri moderni e con materiale determinato. Come se ciò non bastasse, i tassonomisti italiani che si occupano di questo importantissimo ordine di insetti, costituiscono un gruppo incredibilmente sparuto se rapportato a quello di numerosi altri paesi europei.

Da qui nasce l'esigenza di fornire degli strumenti di base, seppur modesti, per supportare i bisogni prettamente operativi, in particolar modo rivolti agli studenti universitari, ai tecnici preparatori e, perché no, ai conservatori entomologi dei musei.

Questo articolo, come ben si potrà capire, dovrà essere forzatamente assai sintetico e di taglio divulgativo, ciò nonostante è mia opinione che esso potrà essere ben sfruttato da quanti, in un modo o nell'altro, abbiano a che fare con questi insetti.

Preparazione preliminare del materiale raccolto

Dobbiamo supporre di essere già in possesso di un certo numero di esemplari raccolti mediante le più svariate metodologie di caccia: retino entomologico, trappole cromatiche e fototropiche, trappole tipo «Malaise» ovvero interrate a caduta o ancora con esca attrattiva e così via.

A questo punto sorge una prima necessità e cioè quella di conservare temporaneamente il materiale prima di un'eventuale preparazione

permanente.

Bisognerà subito decidere se gli esemplari dovranno essere conservati in alcool ovvero a secco.

Questo tipo di decisione è anche necessariamente legata alle famiglie che si sono reperite durante la raccolta e dovrà essere presa finché il materiale è ancora fresco, entro qualche ora da quando i ditteri sono stati uccisi dalle esalazioni dell'etere acetico.

Si raccomanda in modo particolare di usare i seguenti metodi in relazione alle famiglie raccolte (cf. Irwin, 1978).

Nematocera

Microspillare subito gli esemplari di Culicidae, Chaoboridae, Bibionidae e Simuliidae. Le specie appartenenti ai Dixidae, Chironomidae, Scatopsidae, Thaumaleidae, Psychodidae e Cecidomyiidae dovrebbero invece essere tenuti per un po' in alcool per poi essere montati in modo permanente su vetrino. Tutti i rimanenti nematoceri possono essere preparati a secco (particolare attenzione deve essere posta per le lunghe e fragilissime zampe dei Tipulidae) ovvero in alcool senza alcuna particolare condizione di obbligatorietà.

Brachycera

I Phoridae possono essere conservati in alcool oppure microspillati dorsalmente per evitare così il danneggiamento delle setole pleurali. I Pipunculidae possono essere pure preparati a secco avendo cura, come consigliano alcuni specialisti, di staccare preventivamente la grande capsula cefalica per poi fissarla con un velo di colla all'apice del microspillo; secondo la mia opinione ed esperienza, risulta molto meno macchinosa e più sicura una tradizionale conservazione in alcool.

Tutti gli altri Brachycera Aschiza possono essere conservati a secco. In modo particolare questa preparazione è consigliabile per i Syrphidae onde evitare modificazioni indesiderate del pattern cromatico dei tegumenti.

Fra gli acalitteri non vi sono regole ben definite, potremmo suggerire di conservare i Braulidae in alcool mentre per le altre famiglie vedremo più avanti i vantaggi ovvero gli svantaggi dei due tipi di conservazione.

Terminiamo questo excursus consigliando di



Corretta conservazione a secco degli esemplari in attesa della preparazione (vedi spiegazioni nel testo).

tenere in alcool tutti i ditteri Pupipara (sebbene gli Hippoboscidae possano essere normalmente spillati) mentre, per quanto riguarda i Calyptratae, sarebbe sempre consigliabile la preparazione a secco.

Per tutti quegli esemplari che si possono indifferentemente conservare a secco ovvero in alcool si deve tenere presente che la permanenza in liquido favorisce in modo incredibile il rigonfiamento dei tessuti garantendo così una perfetta «leggibilità» dei caratteri diagnostici, in particolare di quelli postaddominali: spesso infatti non occorre nemmeno dissezionare i genitali dato che questi appaiono il più delle volte già molto estroflessi.

Inoltre questo tipo di conservazione garantisce l'integrità dell'esemplare e preserva lo stesso dall'accidentale perdita di setole. D'altro canto gli esemplari in alcool spesso perdono i loro colori naturali (ad esempio questo succede comunemente nei Dolichopodidae) e tendono a schiarirsi assumendo toni giallastro-testacei; il microtomo, impropriamente denominato pruinosità o pollinosità, diventa pressoché invisibile e, non per ultimo, lo studioso incontra molte difficoltà nel manipolare l'esemplare, specie quando deve osservare caratteri propri della cavità facciale o del dorso.

La preparazione a secco non dà nessun problema per quanto riguarda la manipolazione del dittero, questo può essere girato e rigirato in qualsivoglia posizione. Il rovescio della medaglia è però costituito dall'estrema fragilità dell'insetto e dal fatto che tutti i caratteri addominali abbisognano di speciali preparazioni (come vedremo più avanti) affinché lo specialista sia in grado di studiare la morfologia dei vari scleriti, primi fra tutti quelli genitali.

In ultima analisi si può affermare che la grande maggioranza dei ditteri possono essere conservati in entrambi i modi dato che uno specialista dovrebbe essere in grado di lavorare senza particolari problemi sia su materiale in alcool che su quello spillato. La scelta del metodo migliore dipenderà quasi esclusivamente dal tempo disponibile di colui che deve preparare il materiale: una grande quantità di tempo è richiesta per la preparazione a secco mentre quella in alcool è sicuramente più sbrigativa.

Un consiglio importantissimo, onde evitare spiacevoli rifiuti da parte del ditterologo specialista, consiste, per quanto riguarda esemplari conservati in alcool, nel dividere preventivamente il materiale prima di porlo in provetta; miglior cosa in assoluto sarebbe procedere come qui di seguito schematizzato: 1 esemplare - un cartellino dati - una provetta. È da tenere presente che l'alcool deve essere diluito con un po' d'acqua distillata (alcool 75-80°) e che il cartellino con i dati di cattura deve essere scritto a china o stampato in formato ridotto mediante computer.

La conservazione a secco, quando cioè non si ha tempo di spillare o incollare gli esemplari appena catturati, deve seguire una metodologia ben precisa.

Alcuni entomologi raccolgono i ditteri in provette di varia dimensione lasciandoveli per diversi mesi, a volte per anni, in attesa di poterli preparare.

È questo, a mio avviso, un metodo da sconsigliare perché il più delle volte gli esemplari, così ammicchiati, possono danneggiarsi con grande facilità ed inoltre è possibile lo sviluppo di muffe che rovinerebbero irreparabilmente il materiale.

Il metodo migliore in assoluto consiste nello

stendere il materiale su un foglietto di morbida carta di cellulosa (ottima a questo scopo quella «igienica») curando di distanziare fra loro tutti gli esemplari e ponendo attenzione che non vi siano piccoli ragni sopravvissuti alle letali esalazioni dell'acetato di etile: questi infatti ridurrebbero il materiale ad un intrico di fili e moscerini con le conseguenze che possiamo ben immaginare.

Fatto questo si ripone con cura il foglietto recante gli esemplari all'interno di una scatoletta di cartone provvista di coperchio (ho trovato ottime allo scopo quelle di alcune marche di piccoli sigari). Ogni scatoletta dovrà contenere una sola caccia e cioè esemplari e cartellino con le località di raccolta (scritto in china o matita); le varie caccie, costituite quindi da più scatoline, saranno riposte con la massima cura all'interno di una scatola entomologica nella quale si saranno preventivamente introdotti alcuni cristalli di timolo (prevenzione contro le muffe) e dei cilindretti di paradichlorobenzolo (prevenzione contro psocotteri e dermestidi).

Non vorrei sembrare contraddittorio ma viene di conseguenza che nel caso si dovesse fare una spedizione postale di materiale conservato a

secco e non preparato, oppure se si è obbligati ad intraprendere un lungo viaggio con mezzi di linea e bagaglio al seguito, allora si dovrà necessariamente optare per la provetta come contenitore degli esemplari.

Preparazione definitiva del materiale

Stadi preimmaginali

Uova e larve abbisognano di un trattamento particolare.

Le uova si potranno conservare senza particolari problemi in alcool etilico all'80% sia per fissarle che per la conservazione definitiva. Per le larve il discorso è assai più complesso. La prima condizione che deve essere soddisfatta consiste nell'avere l'individuo larvale perfettamente rilassato e disteso in fase *post mortem*.

Vi sono due metodi consigliati, uno fisico ed uno chimico.

Il metodo fisico consiste nell'immergere la larva in acqua molto calda (60-70 °C); questa operazione ucciderà all'istante l'esemplare impedendo, nel contempo, qualsivoglia contrazione della cuticola, dovuta all'azione dei sottostanti fasci muscolari.

Il metodo chimico prevede invece l'uso di alcune sostanze per l'uccisione, senza contrazione, del materiale raccolto.

Molti ditterologi usano la soluzione «KAA» così composta:

| | |
|------------------------------|---------|
| Kerosene | 1 vol. |
| Etanolo 95% | 10 vol. |
| Acido acetico glaciale | 2 vol. |

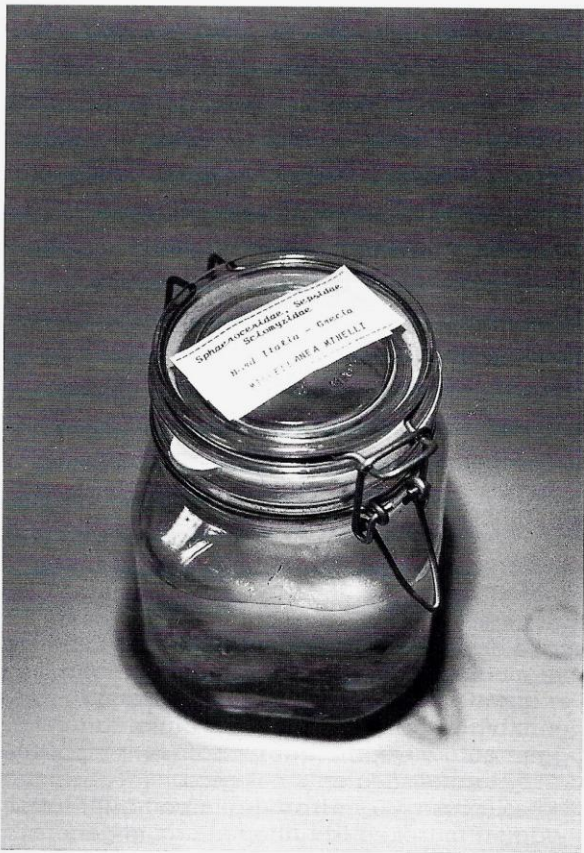
Molto usato è pure il «liquido di Kahle» che è una variante del «liquido di Pampel»:

| | |
|------------------------------|---------|
| Acido acetico glaciale | 1 vol. |
| Formaldeide 40% | 6 vol. |
| Etanolo 95% | 15 vol. |
| Acqua distillata | 30 vol. |

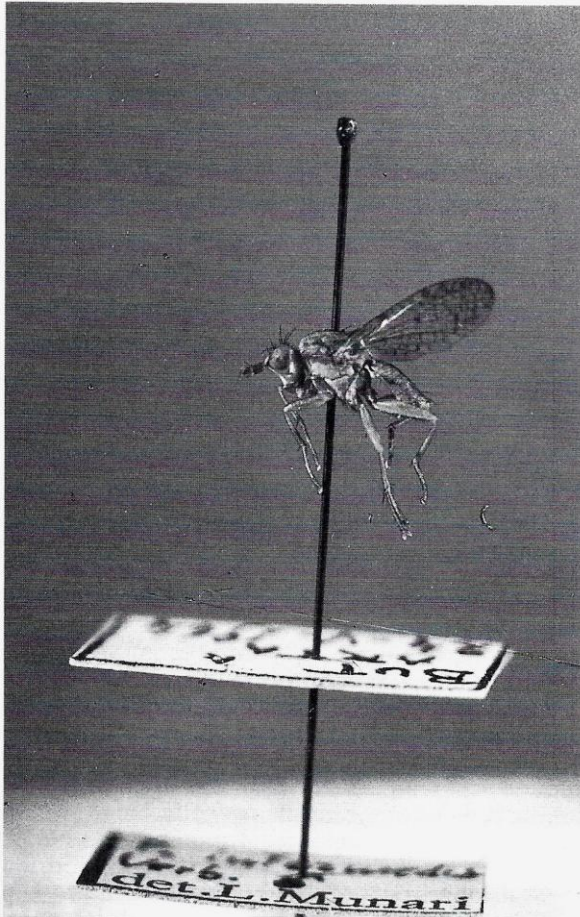
Dopo che la larva sarà stata uccisa mediante uno di questi metodi potrà semplicemente essere trasferita in alcool all'80% (ricordarsi sempre di glicerinare l'alcool onde evitare, in caso di evaporazione, che la larva si essichi) dove rimarrà così conservata definitivamente. Per quanto riguarda i ditteri che formano il pupario, questo potrà molto semplicemente essere conservato a secco, spillato o incollato assieme all'esemplare sfarfallato, ovvero in alcool.

Adulti

Per quanto riguarda la conservazione permanente in alcool non c'è molto da aggiungere a quanto già detto in precedenza. Si dovrà curare in modo particolare che il materiale sia possibilmente ben diviso per località di cattura ovvero per famiglie; se determinato da uno specialista è superfluo aggiungere che gli esemplari abbisognano di un'ulteriore divisione per taxa.



Vaso a chiusura ermetica per la conservazione permanente del materiale in alcool.



Esemplare di medie dimensioni (Sciomyzidae) preparato con un normale spillo entomologico, trapassando il torace in senso dorso-ventrale.

Le provette dovranno essere riempite di alcool sino al bordo e successivamente tappate con un batuffolo di cotone; il passo successivo consisterà nel porre queste in un contenitore di vetro provvisto di tappo a pressione con guarnizione di gomma (vanno benissimo i grossi vasi per la conservazione di alimenti sotto spirito oppure di confetture varie). Sul vaso andrà successivamente apposta un'etichetta adesiva (scritta a china o stampata) con le precise indicazioni del contenuto (non siate parsimoniosi nel descrivere il materiale conservato nel contenitore).

Prima di chiudere il vaso dovrete riempirlo completamente di alcool (sempre a 75-80°). La preparazione a secco risulta naturalmente più laboriosa. Se gli esemplari sono ancora freschi si potranno tranquillamente spillare mediante microspilli in acciaio inox (specie minute) oppure direttamente con spilli entomologici (specie di medie e grandi dimensioni) curando, a seconda del gruppo, di trapassare il torace in un punto privo di setole o altri importanti caratteri diagnostici. Per

quanto riguarda il microspillo, questo dovrà puntare l'esemplare sempre in zona pleurale trapassando completamente il torace ovvero penetrando solo per un tratto brevissimo, senza cioè fuoriuscire dall'altra parte delle pleure (per maggiori chiarimenti vedi illustrazioni).

È consuetudine, inoltre, che l'esemplare spillato lateralmente presenti sempre, all'esame ottico, il fianco sinistro: il capo quindi dovrà sempre trovarsi, nel campo ottico del microscopio, alla sinistra dell'osservatore.

Io sconsiglio, confortato anche dal parere di altri colleghi ditterologi stranieri, di reidratare in camera umida il materiale secco, dato che spesso questo errato procedimento può causare l'insorgere di una indesiderata untuosità sulla superficie tegumentale dell'insetto ed inoltre potrebbe col tempo favorire l'insorgere di muffe.

Pertanto se l'insetto è già secco sarà assai consigliabile incollare questo, mediante un velo di colla entomologica, all'apice di un cartoncino triangolare, curando che l'esemplare presenti sempre l'addome fuori dal supporto.

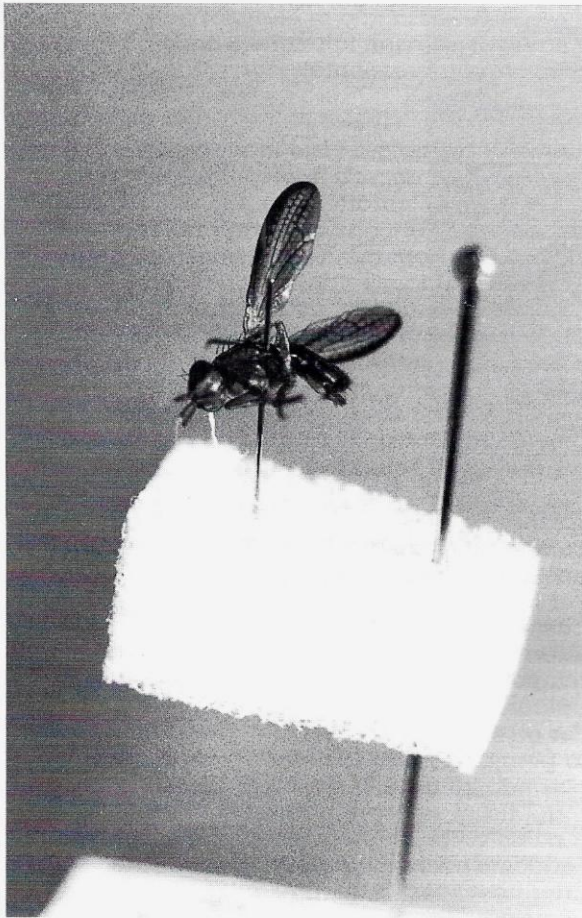
Questi due metodi presentano, nel contempo, degli aspetti positivi ed altri negativi.

L'esemplare spillato è sicuramente protetto da eventuali facili distacchi che si possono invece verificare quando la colla usata non ha fatto buona presa sui tegumenti dell'insetto, ma la spillatura ha il grosso limite di schiacciare un po' il torace del dittero e, molto spesso purtroppo, di distruggere completamente importanti caratteri diagnostici; d'altro canto questo metodo consente di esaminare entrambi i lati del dittero, cosa invece impossibile quando si opera con il collante.

Oltre a ciò, entrambi i metodi hanno un grosso limite allorché si debba operare una reidratazione del materiale allo scopo di compiere un'analisi morfologica dell'addome: quando si cercherà di distaccare l'addome dal torace, l'esemplare spillato tenderà, il più delle volte, a lacerarsi nella zona d'impianto del microspillo, provocando danni consistenti ai tegumenti toracici, mentre quello incollato si distaccherà con grande facilità dal supporto dato che anche la gomma entomologica fluidificherà a causa dell'elevata umidità. In quest'ultimo caso sarà bene togliere preventivamente l'esemplare dal supporto e stenderlo su un fondo di Plastozone o altro materiale semirigido, amputare l'addome e subito dopo reincollare l'esemplare sul suo cartoncino triangolare.

Per quanto riguarda poi la conservazione definitiva in collezione, non c'è nulla da aggiungere a quanto tradizionalmente riportato dalla manualistica entomologica.

Una sola cosa è a mio avviso importante: tutti i maggiori musei ed istituti scientifici in genere adottano un metodo standardizzato per la sistemazione del materiale determinato e cioè



Esemplare di Sciomyzidae di taglia medio-piccola preparato con microspillo in acciaio inox, trapassando il torace lateralmente e cioè in zona pleurale (preparazione tradizionale).

quello di porre sempre il cartellino con il nome del genere al di sopra di tutte le specie appartenenti a quel dato taxon, mentre il cartellino con il nome specifico va sempre posto sotto l'ultima fila di esemplari di quella specie.

Tecniche per l'esame morfo-anatomico

Questo capitolo sarà naturalmente di esclusivo interesse di coloro che avessero necessità di determinare il materiale senza per questo essere obbligati ad avvalersi in maniera costante della figura del ditterologo specialista. Tengo a precisare che ormai da un trentennio nessun ditterologo determina il materiale di sua specifica competenza (e tanto meno descrive nuove specie o compie revisioni) senza aver preventivamente analizzato in maniera, oserei dire, puntigliosa le caratteristiche morfo-genitali degli esemplari di sesso maschile e ... perché no, anche delle femmine, visto e

considerato che generalmente l'analisi del profilo morfologico degli sterniti e tergiti, la forma e setulazione dei cerci e, non certo per ultimo, il numero, la forma e le dimensioni delle spermateche (quando naturalmente queste sono visibili perché sclerificate) dà esiti molto soddisfacenti.

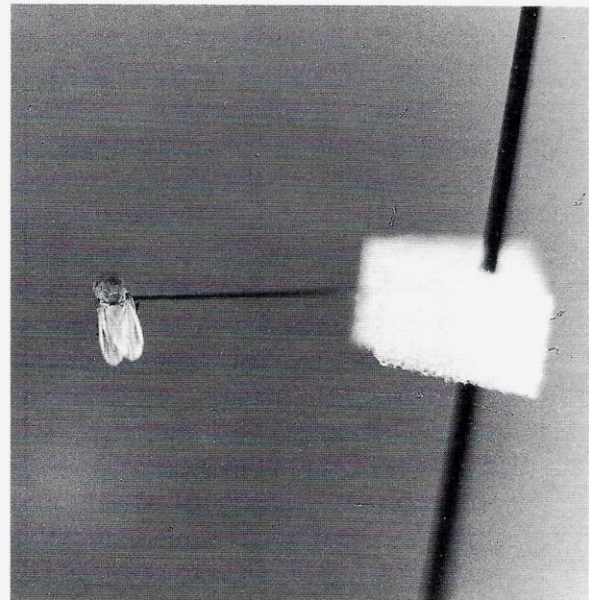
In altre parole sostengo, senza tema di smentita, che l'indagine morfologica esclusivamente basata sui soli caratteri esterni del corpo, delle zampe e delle ali appartiene ormai ad una vetusta scuola tipologica ottocentesca, metodologicamente assai superficiale e spesso generante risultati fuorvianti.

Se a quel tempo grandi progressi nella conoscenza dei ditteri furono raggiunti con questi sistemi, oggi è d'obbligo operare con criteri molto più severi e puntigliosi, indagando in modo particolare su tutti quei caratteri che assumono un particolare significato filogenetico ... ed i caratteri genitali rappresentano spesso il *Deus ex machina* per la risoluzione di tanti problemi inerenti alla sistematica di complessi di specie affini.

Stadi preimmaginali

Solitamente l'indagine sulla struttura morfologica di uova, larve ed eventualmente pupari si basa su un approccio descrittivo della morfologia esterna.

Altresì alcuni metodi di preparazione sono assolutamente indispensabili allorché si debba analizzare, come ad esempio nel caso dei ditteri muscomorfi, la complessa armatura degli



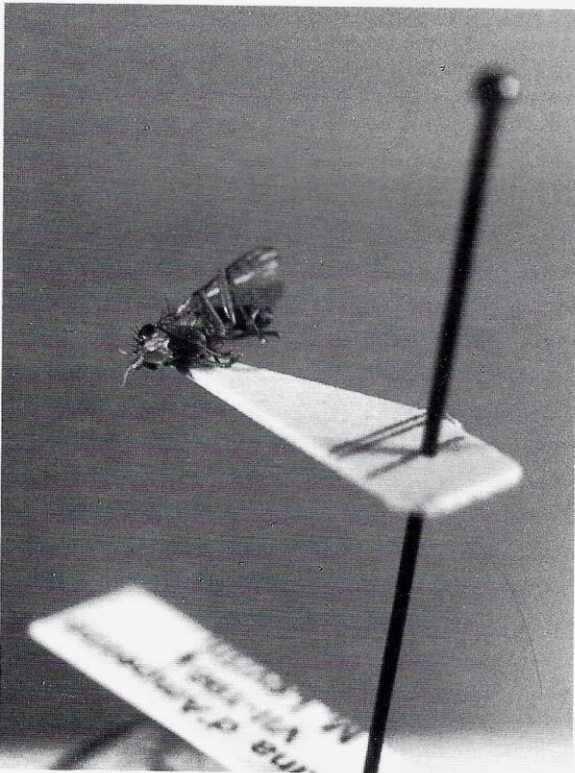
Esemplare di Ephyridae di piccole dimensioni preparato puntando il microspillo negli scleriti pleurali del lato destro, senza far fuoriuscire questo dall'altro lato del torace. La visione al microscopio consentirà di osservare il lato sinistro del corpo dell'esemplare come nei preparati spillati in modo tradizionale.

scleriti cefalo-faringei siti all'interno della regione cefalica della larva. Per un dettagliato esame di questo complesso anatomico e degli spiracoli è di solito necessario formare un preparato anatomico permanente, per cui la larva dovrà subire una macerazione a freddo in una soluzione di idrossido di potassio al 10%; è sconsigliabile infatti l'ebollizione della larva in tale soluzione data la difficoltà di arrestare tempestivamente il processo di disgregazione dei tessuti molli (ciò nonostante si potrà avvalersi di questo veloce procedimento nel caso di larve particolarmente sclerificate e di grandi dimensioni).

Le piccole larve dovranno essere preventivamente «bucate» qua e là per consentire una perfetta penetrazione della sostanza caustica.

Si consiglia di tenere, in detta soluzione a freddo, gli esemplari piccoli per circa 30-60 minuti, quelli di maggiori dimensioni anche per numerose ore.

Fatto questo, lavare il pezzo in acqua distillata o etanolo all'80%, fermare l'azione caustica della potassa con un veloce bagno in acido acetico al 20%, risciacquare nuovamente e, dopo un'eventuale disidratazione preventiva



Esemplare di Sciomyzidae di dimensioni medio-piccole fissato con una goccia di colla entomologica all'apice di un cartoncino triangolare. In questo tipo di preparazione (forse la più tradizionale e antica di tutte) il capo e l'addome devono possibilmente fuoriuscire dal supporto per consentire una più agevole analisi morfologica.

mediante passaggio in etanolo, preparare in Euparal o Polivinil-lattofenolo onde ottenere un preparato permanente.

Adulti

Come abbiamo già visto in precedenza, gli esemplari conservati in alcool presentano molto spesso i caratteri genitali ben leggibili anche senza bisogno di dissezione; altre volte però risulta comunque necessario un intervento da parte del tassonomista per eliminare tutti i tessuti e fasci muscolari che impediscono una perfetta visione dei minuscoli scleriti ipandriali o comunque interni alla capsula genitale. Pertanto si dovrà operare come di seguito esposto per gli esemplari secchi, l'unica differenza consiste nel fatto che i ditteri conservati in liquido non abbisognano di reidratazione.

Gli esemplari secchi dovranno necessariamente venire reidratati in camera umida prima di operare l'amputazione addominale.

Per i ditteri di piccole e piccolissime dimensioni basteranno circa 60-90 minuti di permanenza in ambiente saturo di umidità, oltre questo tempo si rischia di favorire la tanto temuta untuosità tegumentale di cui in precedenza. Per gli esemplari di medie o grandi dimensioni la permanenza dovrà superare le 2-3 ore, curando, di tanto in tanto, di controllare il soggetto.

Il passo successivo consisterà nel distaccare l'addome esattamente alla base, ove cioè si «innesta» al torace (impresa degna di un microchirurgo per quanto concerne i ditteri di un millimetro!). Questa operazione di ablazione totale presenta due vantaggi: il primo è quello di conservare, come vedremo più avanti, l'intero addome in un preparato a parte (seppur spillato assieme all'esemplare), il secondo offre la possibilità di esaminare le caratteristiche morfologiche degli scleriti preaddominali (primi sterniti e tergiti) che spesso possiedono caratteri da sempre trascurati nell'indagine tassonomica.

Fatto questo si immergerà il pezzo in una soluzione di idrossido di potassio al 10% e, a questo punto, si dovrà optare per una macerazione lenta a freddo ovvero veloce a caldo.

La macerazione a freddo abbisogna di parecchie ore di tempo a seconda della dimensione e della sclerificazione dell'addome. Risulta assai conveniente allorché si debbano esaminare serie numerose di esemplari. Fare massima attenzione di poter garantire in ogni caso, al termine del periodo durante il quale i pezzi sono stati immersi in KOH a freddo, il successivo recupero degli stessi.

Il metodo di gran lunga più usato è però quello della bollitura.

Si dovrà portare ad ebollizione la soluzione contenente il pezzo, ponendo la provetta sopra un fornello ad alcool. Porre grande cura,

Kit di base per la preparazione anatomica di parti esoscheletriche, in particolar modo per quelle riguardanti il postaddome. Si noti al centro lo speciale vetrino a «tripla goccia pendente» utile per i microlavaggi del pezzo in esame. Alla sinistra viene presentata una piccola camera umida per la reidratazione del materiale mentre, all'estrema destra, è visibile il fornello ad alcool per la bollitura in KOH del pezzo anatomico.



durante questa operazione, nel tenere l'apertura della provetta sempre rivolta dalla parte opposta a quella dell'operatore onde evitare pericolose lesioni oculari dovute ad improvvisi spruzzi di sostanza caustica bollente!! Occorrerà una discreta pratica per riuscire a far bollire la soluzione senza che questa fuoriesca dalla provetta portando con sé pure il pezzo da studiare; si dovrà curare di tenere la provetta inclinata (45° ca.) scuotendola costantemente onde rompere la tensione superficiale del liquido che dovrà giungere all'ebollizione. Per i ditteri di piccole dimensioni basterà un'ebollizione di circa 1 minuto mentre per quelli di media o grande taglia occorreranno sino a 3-5 minuti.

Svuotare il tutto in un contenitore per procedere al successivo lavaggio.

Se vi fosse la necessità di diafanizzare il pezzo (cosa questa molto frequente) si dovrà versare la soluzione ancora bollente entro un recipiente contenente una trentina di gocce di perossido di idrogeno a 30 volumi (acqua ossigenata per parrucchieri).

In breve il pezzo si schiarirà in modo molto evidente. Un altro metodo, questa volta a freddo, consiste nell'immergere l'addome in clorallattofenolo (cloralio idrato gr. 20, acido lattico gr. 10, acido fenico gr. 10) e lasciarvelo da poche decine di minuti a varie ore a seconda del grado di sclerificazione del tegumento.

Per procedere al lavaggio si userà un vetrino a tripla goccia pendente e cioè con tre concavità circolari allineate.

Nella prima concavità si risciacquerà il pezzo con acqua distillata, nella seconda lo si immergerà per qualche minuto in una soluzione di acido acetico al 20% (questo servirà per arrestare l'azione macerante della potassa e per rielasticizzare la chitina) ed infine, nella terza concavità, lo si risciacquerà

nuovamente in acqua distillata.

Ora l'addome, diafanizzato e privo di parti tissulari, è pronto per essere immerso in una goccia di glicerina per lo studio e per eventuali ulteriori dissezioni.

Se gli scleriti dovessero risultare troppo diafani (fenomeno molto comune in minuscoli ditteri poco sclerificati) si dovrà procedere ad una colorazione preventiva.

Fra i molti coloranti che si possono impiegare, ho trovato assai soddisfacente l'uso dell'Azo Black (clorazolo, C.I. 30235) in soluzione alcolica (etanolo 80%). Si raccomanda di utilizzare una bassa concentrazione; fare in modo cioè che l'etanolo risulti solo molto debolmente colorato in azzurro, poi introdurre il pezzo lasciandolo nella soluzione per una decina di minuti.

L'Azo Black è un colorante di tipo selettivo, i pigmenti si depositano solo sulla chitina lasciando incolore le membrane intertegumentali ed i tessuti connettivi in genere.

Metodi per lo studio e conservazione degli scleriti addominali

La maggioranza dei ditterologi tassonomisti adotta ormai da oltre un decennio una metodologia standardizzata per l'esame dei caratteri addominali.

Il pezzo dopo esser stato ulteriormente dissezionato e studiato mediante il microscopio stereoscopico, viene analizzato nei particolari usando il classico microscopio composto da laboratorio. Il preparato rimane comunque sempre libero all'interno della goccia di glicerina e perciò occorrerà una grossa dose di pazienza e grande esperienza per posizionare il pezzo come necessario.

Una volta compiuta l'analisi (solitamente in



Materiali occorrenti per la fabbricazione delle microprovette in morbido lattice di gomma per la conservazione permanente in glicerina degli scleriti addominali (vedi spiegazioni nel testo).

questa fase il pezzo viene anche disegnato o fotografato) si deve conservarlo in modo permanente assieme all'esemplare. Si adopereranno a tale scopo delle microprovette contenenti glicerina, che ospiteranno il preparato in modo che una futura ulteriore analisi possa essere comunque sempre possibile da parte di chiunque.

Le microprovette potranno essere facilmente costruite in casa od in laboratorio.

Ci si procurerà un lungo tubetto in morbido lattice di gomma (non in silicone!); personalmente io uso i tubetti «Kartell \varnothing 4» il cui diametro del lume consente lo stoccaggio di pezzi anatomici di varie dimensioni. Il lungo tubetto verrà tagliato in segmenti di qualche centimetro ed ognuno di questi verrà saldato ad una estremità usando il fornello ad alcool ed una tenaglietta tipo quelle usate dagli elettrotecnici.

Si otterranno in questo modo numerose microprovette, chiuse a caldo da una parte e aperte dall'altra.

Con una siringa si introdurrà una goccia di glicerina (necessita un po' di pratica per non formare piccole bolle che disturbano assai la visione del contenuto della microprovetta) e successivamente il pezzo da conservare. A questo punto si salderà anche l'apertura libera e, trapassando il bordo schiacciato dalla tenaglietta, si spillerà il piccolo contenitore sotto all'esemplare (possibilmente non sotto i cartellini).

In queste condizioni il preparato anatomico avrà una durata di conservazione praticamente illimitata e, nel contempo, potrà sempre essere disponibile per ulteriori osservazioni.

Se fosse invece necessario formare dei preparati su vetrino, come ad esempio nel caso di particolari studi morfologici o morfometrici, si

dovrà operare come per un qualsiasi preparato microscopico tradizionale.

Una volta estratto il pezzo dalla glicerina, questo dovrà essere immerso per qualche decina di minuti (per i pezzi di grandi dimensioni necessita qualche ora) in Olio di garofano oppure in Creosoto o ancora in Etanolo al 50% e successivamente in Etanolo al 96%, ciascuno di questi metodi è assai valido per una disidratazione del pezzo (quest'ultimo, essendo per lo più composto da chitina e non da masse tissulari, non abbisognerà della lunga tecnica tradizionale di disidratazione e fissazione del preparato).

Una volta pronto si monterà come di consuetudine, usando una delle seguenti sostanze: Eukitt, Euparal, Polivinil-lattofenolo, Liquido di Faure (quest'ultimo solubile in acqua).

Per notizie più dettagliate riguardanti la preparazione su vetrino vedi il lavoro di Munari (1984).

Sebbene quest'ultimo tipo di preparazione consenta un perfetta leggibilità del pezzo ed un'altrettanto perfetta conservazione, presenta altresì dei limiti non indifferenti quali ad esempio quello dell'inaccessibilità al preparato, quando questo abbisogna di essere esaminato in diverse posizioni, e, ancor più importante, il fatto che essendo il vetrino necessariamente separato dall'insetto spillato, è molto facile che nel tempo si creino confusioni e dubbi circa l'appartenenza del preparato (fatto questo disastroso nel caso di tipi depositati).

Metodi per la preparazione di parti dell'esoscheletro

Sino ad ora abbiamo sempre parlato di caratteri genitali o comunque addominali e

abbiamo visto il tipo di metodologia standardizzata da adottare.

Vediamo ora, in breve, come preparare per uno studio morfologico, piuttosto che sistematico, altre parti anatomiche come ad esempio il capo o le zampe ed in particolare le ali, tanto importanti ai fini diagnostici e che molto spesso debbono essere adeguatamente illustrate mediante fotografie o disegni.

Per quanto riguarda capo, torace e zampe, questi potranno essere adeguatamente preparati per una visione microscopica in un modo quanto mai inconsueto per il tassonomista, ma assai utile, se non indispensabile, a tutti coloro che devono intraprendere una qualche ricerca sulla morfologia o fisiologia dei ditteri.

Questa metodologia è naturalmente applicabile solo a specie frequenti e non certo a specie nuove o comunque molto rare, dato che l'esemplare dovrà essere praticamente smembrato.

Dopo la consueta bollitura della parte oggetto dell'esame in potassio idrossido e dopo aver lavato il pezzo in acqua, acido acetico ed ancora acqua (come per l'addome) si dovranno eliminare le bollicine che inevitabilmente si saranno formate all'interno delle cavità esoscheletriche, disturbando non poco l'analisi al microscopio.

Si dovrà immergere il pezzo in acetone anidro che, data la sua bassa tensione superficiale, penetrerà con facilità all'interno delle cavità, eliminando così le bolle d'aria. Dato, però, che questo prodotto è molto volatile, si dovrà fare in modo di aggiungere una goccia di glicole propilenico che, mescolandosi con l'acetone, riempirà a sua volta l'arto o la capsula cefalica in esame, impedendo la penetrazione dell'aria dopo che l'acetone sarà evaporato.

Metodi per la preparazione delle ali

Per quanto riguarda invece la preparazione delle ali, queste potranno essere normalmente montate in polivinil-lattofenolo senza particolari trattamenti preventivi.

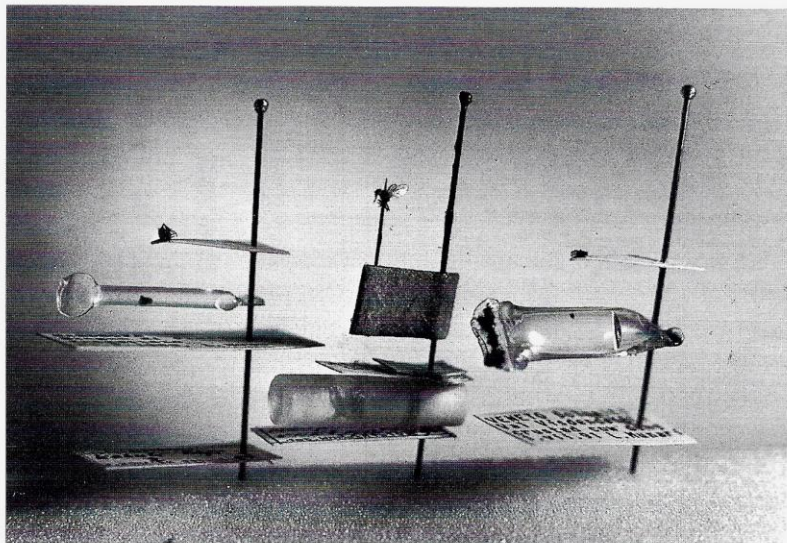
Il risultato ottenuto sarà molto buono sia per l'analisi ottica che per la riproduzione fotografica.

Un altro metodo assai consigliato è quello proposto da Winkler (1975) e che consiste in un montaggio a secco.

Questo sistema si può brevemente riassumere per punti:

- 1) - Distacco dell'ala dal torace previa reidratazione dell'esemplare in camera umida.
- 2) - Si pone questa in una soluzione di acqua acidulata (acqua più aceto da cucina) per circa 30 minuti, questo per favorire una maggiore idratazione con conseguente distensione della membrana alare.
- 3) - Si passa un fine pennellino sull'ala distesa in modo che questa si avvolga intorno ad esso e, successivamente, la si distenda su un vetrino portaoggetti.
- 4) - Si pone sopra al pezzo un vetrino coprioggetto, curando che l'ala non si pieghi in qualche zona marginale e si fa in modo di porre un leggero peso sopra il vetrino, dato che nessun liquido di montaggio è stato usato.
- 5) - Si sigillano tre lati del coprioggetto. Winkler consiglia di farlo con carta adesiva o luto di «du Noyer» onde evitare inattesi fenomeni di capillarità causati da altri tipi di sostanze per lutare. Fatto questo si toglierà il peso. Il quarto lato rimarrà aperto per favorire l'evaporazione del film liquido.

Alcuni tipi di microprovette in gomma e materiale plastico, spillati sotto gli esemplari e contenenti parti anatomiche (per lo più scleriti genitali). Le provettine a sinistra ed a destra hanno entrambe le aperture sigillate a caldo, mentre quella al centro è chiusa da un piccolo tappo in gomma. Questo metodo per la conservazione dei genitali è sicuramente il più usato al mondo dai moderni ditterologi tassonomisti.



- 6)- Essiccazione a calore moderato. In questa fase il preparato si annebbierà leggermente per via dell'evaporazione dell'acqua.
- 7)- Quando il preparato risulterà perfettamente nitido e quindi asciutto, si provvederà a sigillare anche il quarto lato del vetrino coprioggetto.

Winkler così commenta: «I preparati che si ottengono, se il procedimento viene eseguito scrupolosamente, sono perfetti sotto tutti gli aspetti».

Quanto scritto in questo, spero non troppo tedioso, *excursus* è per lo più il risultato dell'esperienza personale dell'Autore, maturata durante molti anni di lavoro nel campo della ditterologia sistematica ed inoltre frutto di continui scambi di informazioni con colleghi di altre nazionalità.

Ciò nonostante è mia convinzione che la possibilità di sperimentare nuove metodologie e tecniche innovative dipende principalmente dall'entusiasmo e dalla professionalità con le quali ci si avvicina allo studio dell'entomologia, qualità queste indispensabili per ogni tipo di attività scientifica e che solitamente conducono, oltre alla specializzazione in un determinato campo di ricerca, anche ad eleganti nuove soluzioni per una migliore conservazione e preparazione del materiale scientifico, *conditio sine qua non* per una successiva ottimizzazione dei tempi di lavoro e, non per ultimo, per garantire ai futuri ricercatori un'adeguata conservazione dei materiali depositati nelle collezioni scientifiche.

Bibliografia citata

Irwin A.G., 1978 - *Curating*, pp. 7-17. In: Stubbs A. & Chandler P. (Eds.): *A Dipterist's Handbook*. The Amateur Entomologists' Society. Vol. 15.

Munari L., 1984 - *Alcuni metodi di preparazione microscopica di tegumenti, per lo studio morfologico dei ditteri brachiceri e ciclorafi*. Lavori Soc. Ven. Sc. Nat., **9** (1): 119-127.

Winkler J.R., 1975 - *Nuovo metodo di preparazione a secco delle ali degli insetti*. Inf. Giov. Ent., n. 76-77. Suppl. Boll. Soc. Ent. It., **16** (6-8), (9-10).

L'Autore:

Lorenzo Munari
c/o Laboratorio di Entomologia
Museo Civico di Storia Naturale
S. Croce 1730 - 30135 Venezia.
