ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ETTORE BIOCCA, LUCIANO BULLINI, ALAIN G. CHABAUD, GIUSEPPE NASCETTI, PAOLA ORECCHIA, LIA PAGGI

Suddivisione su base morfologica e genetica del genere Bulinus in tre generi: Bulinus Müller, Physopsis Krauss e Mandahlbarthia gen. nov.

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **66** (1979), n.4, p. 275–282. Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1979_8_66_4_275_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.



SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — Suddivisione su base morfologica e genetica del genere Bulinus in tre generi: Bulinus Müller, Physopsis Krauss e Mandahlbarthia gen. nov. Nota di Ettore Biocca (*), Luciano Bullini (**), Alain G. Chabaud (***), Giuseppe Nascetti (**), Paola Orecchia (*) e Lia Paggi (*), presentata (****) dal Socio G. Montalenti.

SUMMARY. — The taxonomy of the genus *Bulinus* is re-examined on the basis of morphology and of electrophoretic study of 20 gene-enzyme systems. The genus is at present divided into two subgenera: *Bulinus* and *Physopsis*. According to Mandahl-Barth the first subgenus is made up of three groups of species (the *tropicus*, *truncatus* and *forskalii* groups), while the species of the second subgenus are united in a fourth group (*africanus*).

We have studied various species and subspecies belonging to the two subgenera and to Mandahl-Barth's four groups of species: abyssinicus, africanus, alluaudi, forskalii, globosus, guernei, jousseaumei, natalensis, rivularis, rohlfsi, senegalensis, tropicus, truncatus and yemenensis. Enzymes encoded by 20 loci were examined as follows: Esterases (Est-1, Est-2, Est-3, Est-4), α -Glycerophosphate dehydrogenase (α -Gpdh-1, α -Gpdh-2), Isocitrate dehydrogenase (Idh-1, Idh-2), Octanol dehydrogenase (Odh), 6-Phosphogluconate dehydrogenase (Idh-1, Idh-2), Phosphoglucomutase (Idh-1, Idh-2), Adenylate kinase (Idh-1, Idh-2), Phosphoglucoisomerase (Idh-1, Idh-2), Glutamate oxaloacetate transaminase (Idh-1, Idh-2), Surfacetate transaminase (Idh-1, Idh-2), Phosphoglucoisomerase (Idh-1, Idh-2), Glutamate oxaloacetate transaminase (Idh-1, Idh-2), Surfacetate transaminase (Idh-1, Idh-2), Phosphoglucoisomerase (Idh-1, Idh-2), Glutamate oxaloacetate transaminase (Idh-1, Idh-2), Phosphoglucoisomerase (Idh-1, Idh-

The results substantially confirm the systematic validity of the three groups africanus, truncatus and forskalii proposed by Mandahl-Barth, while the tropicus group appears phylogenetically related to the truncatus group. We therefore propose dividing the genus Bulinus into three genera described as follows:

Bulinus Müller, 1781, for the species with long-spired shells, without ridge on the ventral surface of the kidney and with copulatory organ present, widely distributed in Africa and also present in Madagascar. Some of these species are considered vectors of Schistosoma haematobium. Type species: Bulinus senegalensis Müller, 1781. This genus substantially corresponds to Mandahl-Barth's forskalii group.

Physopsis Krauss, 1848, to indicate the species with wide-spired shells with characteristic microsculptures on the upper whorls and a ridge on the ventral surface of the kidney. Important vectors of S. haematobium South of the Sahara. Type species: Physopsis africana Krauss, 1848. This genus substantially corresponds to Mandahl-Barth's africanus group.

Mandahlbarthia gen. nov., to indicate the species with generally wide-spired shells, without microsculptures on the shell, having lateral teeth with broad arrowhead-shaped mesocones, without ridge in the ventral surface of the kidney, frequently aphallic. Present in the Mediterranean region, Middle East and vast areas of tropical and subtropical Africa. This genus includes important vectors of S. haematobium. Type species: Mandahlbarthia truncata (Audouin, 1827). This genus substantially corresponds to Mandahl-Barth's truncatus and tropicus groups. We propose the new name Mandhalbarthia because the use of

- (*) Istituto di Parassitologia, Facoltà di Medicina, Università di Roma.
- (**) Istituto di Genetica, Facoltà di Scienze, Università di Roma.
- (***) Laboratoire de Parasitologie, Museum d'Histoire Naturelle, Paris.
- (****) Nella seduta del 21 aprile 1979.

the old name *Isidora* Ehremberg, 1831 is problematic and may be a source of confusion. Nor can the name *Pyrgophysa* Crosse, 1879, whose type species *P. mariei* clearly belongs to the *forskalii* group, be used.

We consider these as genera rather than subgenera for the following reasons: 1) their marked morphological differences; 2) the very high values of average genetic distance $(\bar{D}>2.5)$ observed among the three groups; 3) evidence of subgeneric differences within the proposed genera.

Finally, it should be underlined that *M. rohlfsi* and *M. rivularis*, so far considered subspecies of *M. truncata*, as well as *M. alluaudi*, so far considered a subspecies of *M. tro-pica*, appear to be genetically well-differentiated species.

INTRODUZIONE

Il genere *Bulinus* viene attualmente suddiviso nei due sottogeneri *Bulinus* e *Physopsis*, cui vengono attribuiti i seguenti caratteri morfologici principali:

sottogenere *Bulinus* (*Bulinus*): columella generalmente dritta, a volte leggermente contorta, mai troncata; guscio in genere costato; cresta renale assente (fig. 1, a destra);

sottogenere *Bulinus (Physopsis)*: columella troncata; microsculture del guscio formate da serie di impressioni e piccoli noduli disposti spiralmente; cresta renale presente (fig. 1, a sinistra).

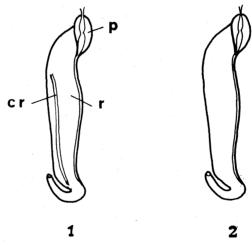


Fig. 1. – Rappresentazione schematica del rene in *Physopsis* (1) e in *Bulinus* (2): p = pericardio con il cuore; cr = cresta renale; r = rene (da Mandahl-Barth, 1958, modificato).

In una revisione approfondita di questo genere Mandahl-Barth [8] ha riconosciuto la validità di una trentina di specie e sottospecie delle oltre cento finora descritte e le ha raggruppate nei quattro gruppi seguenti: africanus, tropicus, truncatus e forskalii.

Il gruppo africanus coincide con il sottogenere *Physopsis* (vedi anche Mandahl-Barth [9]), mentre il gruppo truncatus appartiene al sottogenere *Bulinus*. Il gruppo forskalii, pur incluso con qualche esitazione da Mandahl-Barth nel sottogenere *Bulinus*, è l'unico che possa essere quasi sempre facil-

mente differenziato dagli altri perché comprende specie con conghiglia lunga e sottile e mai afalliche. Il gruppo tropicus appare poco definito nei suoi caratteri morfologici, difficilmente differenziabili da quelli attribuiti al gruppo truncatus, dal quale Mandahl-Barth ritiene che possa essere distinto soprattutto per alcuni aspetti biologici, quali la distribuzione geografica e la mancanza di specie riconosciute vettrici di schistosomiasi vescicale. Per queste ragioni è stato incluso da Mandahl-Barth, insieme al gruppo truncatus e forskalii, nel sottogenere Bulinus (Bulinus).

Ci troviamo quindi di fronte ad una situazione sistematica di notevole complessità. Infatti dal punto di vista strettamente morfologico è possibile distinguere chiaramente solo tre gruppi di specie (gruppo africanus, truncatus e forskalii) che vengono però riuniti in due sottogeneri solamente, il primo gruppo nel sottogenere Bulinus (Physopsis) e gli altri due gruppi nel sottogenere Bulinus (Bulinus), che diviene quindi estremamente comprensivo e perde i suoi caratteri sistematici di sottogenere.

Le ragioni di questa situazione sono, a nostro avviso, dovute alla grande difficoltà di trovare in questi gasteropodi caratteri morfologici ben definiti e validi per le definizioni di specie, di sottogenere e di genere. Tuttavia la corretta classificazione dei molluschi, e in particolare di quelli che trasmettono malattie così diffuse e gravi come le schistosomiasi, riveste grande interesse non solo sistematico, ma anche pratico per il riconoscimento esatto dei vettori e per l'organizzazione di una lotta efficace contro di essi. In questa nota vengono esposti i risultati di indagini morfologiche e genetiche condotte su varie specie e sottospecie del genere *Bulinus*. In particolare abbiamo voluto indagare se lo studio elettroforetico di sistemi gene—enzima potesse fornire elementi nuovi utili per la sistematica di questi gasteropodi.

MATERIALI E METODI

a) Materiale.

Sono state studiate le seguenti specie e sottospecie finora tutte classificate nel genere Bulinus e appartenenti ai quattro gruppi proposti da Mandhal-Barth: abyssinicus, africanus, alluaudi, forskalii, globosus, guernei, jousseaumei, natalensis, rivularis, rohlfsi, senegalensis, tropicus, truncatus e yemenensis. È stata, inoltre, studiata un'altra entità, probabilmente una specie nuova, attribuibile su base morfologica al gruppo forskalii e indicata in questo lavoro come Bulinus sp. Gli esemplari di tale entità provenivano dalla Somalia e sono stati raccolti in focolai naturali lungo il medio e basso Uebi Scebeli. L'origine geografica delle altre specie e sottospecie studiate è la seguente: Egitto (B. truncatus), Sardegna (B. truncatus rivularis), Ghana (B. truncatus rohlfsi), Yemen (B. yemenensis), Natal (B. natalensis), Senegal (B. guernei, B. senegalensis, B. jousseaumei), Kenia (B. forskalii, B. tropicus alluaudi), Transvaal (B. tropicus), Somalia (B. abyssinicus), Tanzania (B. africanus) e Zambia (B. globosus).

b) Tecniche elettroforetiche.

Le ricerche sui sistemi gene-enzima sono state condotte mediante elettroforesi su gel d'amido. Sono stati studiati i seguenti enzimi: esterasi (EST), α-glicerofosfato deidrogenasi (α-GPDH), isocitrico deidrogenasi (IDH), ottanolo deidrogenasi (ODH), 6-fosfogluconato deidrogenasi (6-PGDH), sorbitolo deidrogenasi (SDH), xantino deidrogenasi (XDH), fosfoglucomutasi (PGM), adenilatochinasi (ADK), fosfoglucoisomerasi (PGI), glutammato ossalacetico transaminasi (GOT) e superossido dismutasi (SOD).

Le tecniche impiegate sono, con piccole modifiche, quelle descritte da Shaw e Koen [13], Brewer [3], Selander et al. [12] e Ayala et al. [2]. I molluschi sono stati omogenati meccanicamente in toto in soluzione tampone.

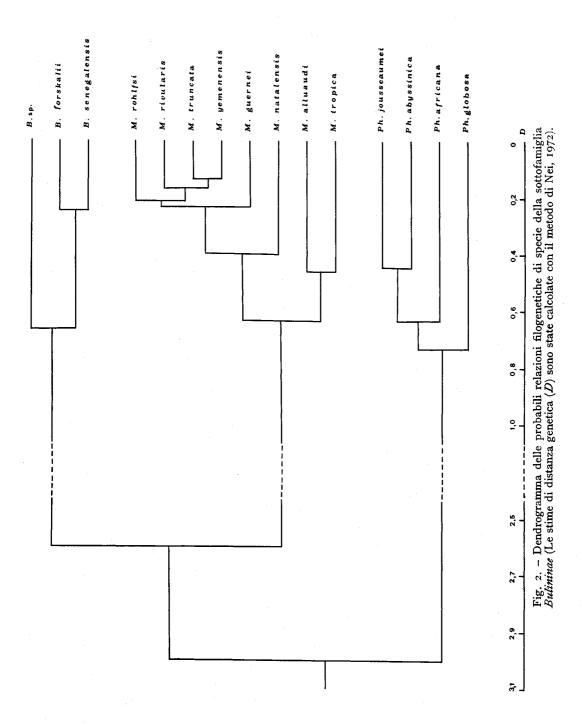
I loci enzimatici analizzati sono i seguenti: Est-1, Est-2, Est-3, Est-4, a-Gpdh-1, a-Gpdh-2, Idh-1, Idh-2, Odh, 6-Pgdh, Sdh, Xdh-1, Xdh-2, Pgm-1, Pgm-2, Adk-1, Adk-2, Pgi, Got e Sod.

Le distanze genetiche tra le popolazioni delle varie specie sono state calcolate con il metodo statistico proposto da Nei [11].

RISULTATI E CONCLUSIONI

I risultati dell'indagine morfologica e i dati sulle distanze genetiche, riassunti nella fig. 2, permettono di confermare la validità dei tre gruppi africanus, truncatus e forskalii proposti da Mandhal-Barth. Al contrario le entità del gruppo tropicus da noi studiate risultano geneticamente molto affini a quelle del gruppo truncatus. Le specie da noi esaminate possono infatti essere suddivise in tre gruppi ben distinti: B. jousseaumei, B. abyssinicus, B. africanus e B. globosus in un primo gruppo, sostanzialmente corrispondente al gruppo africanus di Mandhal-Barth; B. truncatus, B. yemenensis, B. guernei, B. natalensis e B. tropicus in un secondo gruppo, corrispondente ai gruppi truncatus e tropicus di Mandhal-Barth; infine B. sp., B. forskalii e B. senegalensis in un terzo gruppo, sostanzialmente corrispondente al gruppo forskalii di Mandhal-Barth. Va, inoltre, notato che B. truncatus rohlfsi, B. truncatus rivularis e B. tropicus alluaudi risultano dall'indagine elettroforetica entità geneticamente ben differenziate, da considerare buone specie.

Ci siamo convinti che questi tre gruppi debbano essere considerati tre generi distinti per le seguenti ragioni: 1) le nette differenze morfologiche esistenti tra loro; 2) i valori molto elevati di distanza genetica media $(\bar{D}>2,5)$, ricavati dallo studio elettroforetico dei sistemi gene-enzima, che sono salvo poche eccezioni assai superiori a quelli finora osservati tra generi appartenenti a vari gruppi sia di vertebrati che di invertebrati; 3) una serie di evidenze, sia a livello morfologico che genetico, le quali sembrano indicare l'esistenza di raggruppamenti di specie che dovranno probabilmente essere differenziati a livello di sottogenere.



Nei riguardi dei nomi da attribuire ai tre generi da noi evidenziati sono necessarie alcune considerazioni. La prima specie, descritta fin dal 1781, è Bulinus senegalensis, specie tipo del genere, filogeneticamente vicina a forskalii, con conchiglia a lunga spirale. Mandahl-Barth [8] fa giustamente osservare che secondo le regole della nomenclatura Bulinus dovrebbe essere il nome giusto per le forme a lunga spirale e che, se dovesse essere necessario separare le forme a lunga spirale da quelle a spirale corta, bisognerebbe trovare un altro nome per queste ultime. Proprio per regola di nomenclatura, quindi, il nome di genere Bulinus Müller, 1781 è il nome giusto per le specie a lunga spirale (gruppo forskalii di Mandahl-Barth); la specie B. senegalensis Müller, 1781, la prima ad essere descritta, resta la specie tipo del genere.

Il nome *Physopsis* Krauss, 1848 è stato proposto per indicare specie a spirale corta con particolari microsculture e con cresta renale evidente, e corrisponde al gruppo *africanus* di Mandahl-Barth. Il nome *Physopsis* può essere conservato e la specie tipo torna ad essere la specie *Physopsis africana* Krauss, 1848.

Più difficile risulta riesumare un vecchio nome per le specie di regola a spirale corta dei gruppi truncatus e tropicus di Mandahl-Barth, morfologicamente e geneticamente assai differenziate dalle altre. Il nome Physa, proposto nel 1801 da Draparnaud [5] per Physa fontinalis e usato fin dal 1827 da Audouin per indicare la specie truncata non è evidentemente utilizzabile. L'uso del nome Isidora, proposto nel 1831 da Ehremberg [6] per le tre specie hemprichii, brocchii e forskalii, di cui le prime due sinonime di truncutus e la terza appartenente in base a nostre osservazioni a genere diverso, appare problematico e possibile fonte di confusione. Infine il nome Pyrgophysa, proposto da Crosse nel 1879 [4], non può essere usato per il gruppo truncatus perché la specie tipo, P. mariei, appartiene senza possibilità di dubbio al gruppo forskalii. Non sembrandoci pertanto possibile riesumare un vecchio nome, proponiamo per questo gruppo di specie, in omaggio a G. Mandahl-Barth che tanto ha contribuito alla conoscenza dei molluschi vettori di schistosomiasi, il nome Mandahlbarthia gen. nov., di cui la specie tipo diviene Mandahlbarthia truncata (Audouin, 1827).

La descrizione dei tre generi: Bulinus, Physopsis e Mandahlbarthia è la seguente:

Genere Bulinus Müller, 1781.

Conchiglia piccola, sinistrorsa, abitualmente molto allungata con giri lunghi e sottili, in genere pallida e con costulazione frequente nei primi giri. Columella generalmente contorta, superficie ventrale del rene senza cresta evidente. Non risultano osservati esemplari afallici. Specie tipo Bulinus senegalensis Müller, 1781. Appartengono a questo genere le specie senegalensis, forskalii, ecc. Ampia distribuzione comprendente l'Egitto, gran parte dell'Africa a sud del Sahara e il Madagascar. Alcune specie di questo genere sono ritenute vettrici di S. haematobium.

Genere Physopsis Krauss, 1848.

Conchiglia grande, sinistrorsa, con giri larghi e spirale piuttosto corta, di altezza tra 10 e 25 mm. Microscultura caratteristica generalmente presente nella parte superiore della spirale, rappresentata da impressioni trasversali e piccoli noduli. Columella di regola tronca. Cresta in genere evidente nella superficie ventrale del rene.

Specie tipo: *Physopsis africana* Krauss, 1848. Appartengono a questo genere le specie *abyssinica*, *africana*, *globosa*, *jousseaumei*, ecc., tutte importanti vettrici di *S. haematobium* a sud del Sahara.

Genere Mandahlbarthia gen. nov.

Conchiglia sinistrorsa, alta fino a 10 mm (raramente più alta) con giri di regola larghi; mancano le caratteristiche microsculture. Columella dritta o leggermente contorta, non tronca. Superficie ventrale del rene senza cresta evidente. Denti laterali della radula in genere con mesoconi larghi a forma di punta di freccia. Esemplari afallici frequenti. Specie tipo: Mandahlbarthia truncata (Audouin, 1827). Appartengono a questo genere le specie truncata, yemenensis, rivularis, rohlfsi, guernei, natalensis, alluaudi, tropica, ecc. Alcune specie di questo genere sono vettrici importanti di S. haematobium nel Mediterraneo, nel Medio Oriente, intorno ai grandi laghi africani e nell'Africa tropicale.

Ringraziamenti. Gli autori esprimono la loro gratitudine alla Dott.ssa Shukri Ali Shiddo per aver raccolto e inviato campioni di B. abyssinicus e B. sp. dalla Somalia. Ringraziano, inoltre, la Dott.ssa R. Cianchi per aver collaborato alle ricerche elettroforetiche sui sistemi gene—enzima e all'elaborazione dei dati.

Le ricerche sono state realizzate grazie a contributi del Consiglio Nazionale delle ricerche e del Ministero della Pubblica Istruzione.

LAVORI CITATI

- [1] V. AUDOUIN (1827) Explication sommaire des planches des mollusques de l'Egypte et de la Syrie, offrant un exposé des caractères naturels des genres avec la description des espèces. J.-C. Savigny, Paris.
- [2] F. J. AYALA, J. R. POWELL, M. L. TRACEY, C. A. MOURÃO e S. PÉREZ-SALAS (1972) Enzyme variability in the Drosophila willistoni group. IV. Genic variation in natural populations of Drosophila willistoni. «Genetics», 70, 113-139.
- [3] G. J. Brewer (1970) An Introduction to Isozyme Techniques. Academic Press, New York.
- [4] M. CROSSE (1879) Description d'un genre nouveau de Mollusque fluviatile provenant de Nossi-Bé. « J. Conchyliol. », 27, 208-209.
- [5] J. DRAPARNAUD (1801) Tableau des mollusques terrestres et fluviatiles de la France. Montpellier.

- [6] C.C. EHREMBERG (1831) Symbolae Physicae seu Icones et Descriptiones Animalium. Evertebratorum, Berlin.
- [7] F. KRAUSS (1848) Die Sudafrikanischen Mollusken. Stuttgart.
- [8] G. Mandahl-Barth (1958) Intermediate hosts of Schistosoma: African Biomphalaria and Bulinus. World Health Organization, Monograph Series, 37.
- [9] G. MANDAHL-BARTH (1965) The Species of the Genus Bulinus, Intermediate Hosts of Schistosoma. « Bull. Wld Hlth Org. », 33, 33-44.
- [10] O. F. MULLER (1781) Geschichte der Perlen-Blasen. Der Naturforscher, 15, Stück, 1-20, Halle.
- [11] M. NEI (1972) Genetic distance between populations. «Amer. Natur. », 106, 283-292.
- [12] R. K. SELANDER, M. H. SMITH, S. Y. YANG, W. E. JOHNSON e J. B. GENTRY (1971) Biochemical polymorphism in the genus Peromyscus. I. Variation in the old-field mouse (Peromyscus polionotus). Studies in Genet., Univ. Texas publ., N. 7103, 49-90.
- [13] C. R. SHAW e A. L. KOEN (1968) Starch gel zone electrophoresis of enzymes. In: Chromatographic and Electrophoretic Techniques, vol. 2, 2^a ed., I. Smith e J. Wiley editors, New York.