



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Genetic diversity in the lion (*panthera leo* (Linnaeus 1758)) : unravelling the past and prospects for the future

Bertola, L.D.

Citation

Bertola, L. D. (2015, March 18). *Genetic diversity in the lion (*panthera leo* (Linnaeus 1758)) : unravelling the past and prospects for the future*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/32419>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/32419>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/32419> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Bertola, Laura Diana

Title: Genetic diversity in the lion (*panthera leo* (Linnaeus 1758)) : unravelling the past and prospects for the future

Issue Date: 2015-03-18

Inzicht in de ruimtelijke verdeling van genetische diversiteit draagt bij aan het begrijpen van de evolutionaire geschiedenis die deze patronen heeft gevormd. Maar het voorziet ons ook van richtlijnen hoe deze diversiteit effectief te behouden valt. Dit kan dienen als richtlijn voor het prioriteren van populaties voor soortbehoud. Het doel is hierbij om het verlies aan genetische diversiteit te minimaliseren en genetisch verschillende lijnen te behouden. In dit proefschrift wordt de intraspecifieke genetische diversiteit van de leeuw (*Panthera leo*) onderzocht. Het is bekend dat top predatoren een cruciale rol vervullen in het ecosysteem die bijdraagt aan zowel de soortenrijkdom als de veerkracht van het systeem. Niettemin worden er, als gevolg van antropogene factoren, in veel grote carnivoren sterke afnames in aantallen waargenomen. Hieronder valt ook de leeuw. Het belang als sleutelsoort en de kwetsbaarheid van grote carnivoren zijn argumenten om deze soorten als model te gebruiken voor het ontwikkelen van strategieën voor soortbehoud.

Op dit moment worden binnen de leeuw officieel twee ondersoorten erkent door de IUCN: de Afrikaanse leeuw (*Panthera leo leo*), die verspreid voorkomt in sub-Sahara Afrika behalve in dicht regenwoud, en de Aziatische leeuw (*Panthera leo persica*), beperkt tot een enkele populatie in India. Andere soorten met een soortgelijk verspreidingsgebied over het Afrikaanse continent laten in veel gevallen een basale dichotomie zien waarbij populaties uit West/Centraal Afrika onderscheiden worden van populaties uit Oost/Zuidelijk Afrika. Dit patroon wordt vaak weerspiegeld in de taxonomie van deze soorten. Morfologische data van leeuwen, die oorspronkelijk hebben geleid tot het onderscheid van acht "ondersoorten", lijken de verschillende genetische lijnen in Afrika te bevestigen. Aangezien niet in alle morfologische studies leeftijds- en geslachtsgebonden variatie adequaat is meegewogen, moeten deze resultaten met voorzichtigheid worden geïnterpreteerd. Meer recente studies waarbij ook genetische data gebruikt zijn, hebben eveneens bevestigd dat de genetische variatie in de leeuw groter is dan de taxonomie impliceert. In de Afrikaanse ondersoort kunnen diverse genetische lijnen herkend worden. Aangezien taxonomie vaak wordt weerspiegeld in strategieën voor soortbescherming, is het van belang dat de bestaande genetische variatie degelijk is gedocumenteerd.

In eerdere studies over de fylogenie van de leeuw zijn met name leeuwen uit Oost en Zuidelijk Afrika meegenomen. De focus lag op de positie van de Aziatische ondersoort ten opzichte van deze Afrikaanse populaties. Daarnaast werden in populaties in West en Centraal Afrika bijzonder sterke dalingen in aantallen waargenomen, zowel voor de leeuw als voor andere soorten. Daarom werd de leeuw in West Afrika op de Rode Lijst van het IUCN gecategoriseerd als 'Regionaal Bedreigd', en recent werd voorgesteld om deze zelfs als 'Ernstig Bedreigd (Kritiek)' aan te zien. De combinatie van de urgente noodzaak voor soortbehoud in deze regio en de notie dat West en Centraal Afrika unieke genetisch lijnen zou kunnen herbergen, zijn de belangrijkste redenen voor de focus op de West en Centraal Afrikaanse leeuw in dit proefschrift. Hiervoor werden monsters verzameld uit elke LCU in West en Centraal Afrika met een recentelijk bevestigde leeuwenpopulatie.

In Hoofdstuk 2 wordt de kenniskloof voor de West en Centraal Afrikaanse leeuw gevuld door het analyseren van populaties die niet eerder deel uit hadden gemaakt van fylogenetische studies. De fylogeografie van de leeuw is onderzocht door middel van het analyseren van cytochroom *b* en een gedeelte van de controle regio. Hierdoor was het mogelijk om data van twee eerdere studies op te nemen in de analyses. De fylogenetische bomen laten gedifferentieerde genetische lijnen zien in Oost/Zuidelijk Afrika, met daarnaast een sterke genetische verwantschap tussen de West/Centraal Afrikaanse leeuw met de Aziatische ondersoort. Dit zou het resultaat kunnen zijn van zeer droge periode in het westelijke gedeelte van het verspreidingsgebied van de leeuw, wat kan hebben geleid tot een sterke genetische bottleneck of zelfs lokale extinctie van deze populaties. Latere herkolonisatie, mogelijk vanuit Noord Afrika of het Midden Oosten, zou de sterke genetische verwantschap met de Aziatische ondersoort verklaren. Belangrijkste conclusie is dat de huidige taxonomie de genetische diversiteit van de leeuw niet adequaat weerspiegelt en dat mogelijkheden voor een taxonomische revisie verkend moeten worden, met name met oog op de positie van de West/Centraal Afrikaanse leeuw.

Fylogenieën gebaseerd op mitochondriale markers geven niet de volledige genomische complexiteit weer vanwege verschillende wijze van overerving en verschillen in coalescentietijd ten opzichte van autosomale markers. Daarom moet een herziening van de taxonomie, met mogelijk verstrekkende gevolgen voor management, gebaseerd zijn op de combinatie van niet gekoppelde genetische markers. In Hoofdstuk 3 wordt de congruentie onderzocht van fylogenetische patronen gebaseerd op mitochondriale en autosomale markers door het toevoegen van data van 20 microsatellieten en mtDNA voor 15 leeuwen populaties. Resultaten laten zien dat vier genetische clusters onderscheiden kunnen worden: 1) West/Centraal Afrika, 2) Oost Afrika, 3) Zuidelijk Afrika, en 4) de Aziatische ondersoort. Hoewel microsatellieten geschikte markers zijn voor het bepalen van populatie structuur, geven zij weinig inzicht in de fylogenetische verwantschappen. De verminderde genetische diversiteit van de Aziatische populatie, als gevolg van sterke genetische bottlenecks, zorgt voor een duidelijk onderscheid van deze ondersoort, terwijl dit niet noodzakelijkerwijs een lange evolutionaire afstand weergeeft. Daarom is het niet mogelijk om met microsatelliet data de sterke evolutionaire verwantschap tussen de populaties in West/Centraal Afrika en de Aziatische ondersoort zichtbaar te maken, zoals het geval is met de mtDNA data. Er is nog geen indicatie van een verminderde genetische diversiteit in West/Centraal Afrikaanse populaties, hoewel dit voorspeld was op basis van recente negatieve populatie trends in deze regio. Waarschijnlijk is de afname in aantallen leeuwen te recent om op dit moment als genetische signatuur zichtbaar te zijn. Niettemin laten voorbeelden van intensief beheerde leeuwen populatie zien hoe snel inteelt kan optreden in kleine en geïsoleerde populaties. In de toekomst zouden daarom management ingrepen nodig kunnen zijn om deze populaties te beschermen tegen verdere afname van de genetische diversiteit en de daarop volgende fitness effecten.

Aangezien autosomale data de fylogenetische patronen gebaseerd op mtDNA niet tegenspreken, werd de mtDNA dataset verder uitgebreid met monsters van meerdere locaties, gedocumenteerd in Hoofdstuk 4. Specimen uit natuurhistorische collecties werden opgenomen voor gebieden waar leeuwen uitgestorven zijn (i.e. Noord Afrika en het Midden Oosten) en voor gebieden van waar het niet mogelijk was nieuwe monsters van wilde leeuwen te bemachtigen. Een methode voor het verwerken van historische monsters (ancient DNA) is gebruikt voor de genetische analyse. In totaal zijn 194 monsters uit 22 landen meegenomen en zijn complete mitogenomen geanalyseerd voor 14 individuen, verdeeld over de belangrijkste fylogeografische groepen. Fylogenetische bomen van

deze data laten een sterk ondersteunde basale dichotomie zien met leeuwen van het noordelijke gedeelte van hun verspreidingsgebied, inclusief de Aziatische ondersoort (Noord groep) op de ene tak, en populaties van het zuidelijke gedeelte van het verspreidingsgebied (Zuid groep) op de andere. Zes voornaamste haplogroepen worden onderscheiden: drie in de Noord groep (1) West Afrika, 2) Centraal Afrika, 3) Noord Afrika/Azië) en drie in de Zuid groep (4) Noord Oost Afrika, 5) Oost/Zuidelijk Afrika, en 6) Zuid West Afrika). Het basale onderscheid in deze twee fylogenetische groepen en het onderscheid in de overige haplogroepen wordt in verscheidene zoogdiersoorten van de savanne teruggevonden. Dit wijst in de richting van omgevingsfactoren, zoals veranderingen in het klimaat, als de drijvende kracht waarbij soortgelijke factoren de fylogeografische patronen van soorten met overlappende verspreidingsgebieden hebben beïnvloed. Voor de leeuw wordt de meest recente gemeenschappelijke voorouder van deze twee hoofdlijnen geschat op ~300 duizend jaar geleden. Radiatie van de haplogroepen vond waarschijnlijk plaats gedurende de laatste ~100 duizend jaar. Het wordt verondersteld dat dit veroorzaakt wordt door een cyclische expansie van het regenwoud en de woestijn, met als gevolg een reductie in gene flow tussen populaties. Het tijdelijk terugdringen van populaties in lokale refugia zou geleid kunnen hebben tot duidelijk onderscheidbare clades vanwege de snelle coalescentie van mtDNA markers. Het voorgestelde scenario wordt verder bevestigd door eerder gepubliceerde resultaten van modellen gebaseerd op bioklimatologische envelop methoden. Hierin worden refugia voorspeld die overeenkomen met de haplogroepen beschreven in dit proefschrift. De mate van divergentie tussen de Noord Groep en de Zuid Groep, en met name de genestelde positie van de Aziatische ondersoort binnen West en Central Afrika, ondersteunt het idee dat de huidige taxonomie niet overeenkomt met de evolutionaire geschiedenis van de leeuw. Een herziening van de taxonomie is daarom gerechtvaardigd.

In Hoofdstuk 5 ontwikkelen we een nieuwe leeuw-specifieke marker door het sequencen van het complete genoom van 10 leeuwen, verspreid over de belangrijkste fylogenetische groepen. De genoom data zijn gemijnd voor het identificeren van variabele posities en in totaal zijn ~18.000 leeuw-specifieke SNPs ontdekt. Fylogenetische analyses gebaseerd op deze SNPs resulteren in een boom met een hiërarchische structuur waarbij geen reciproke monofyletische clades herkend kunnen worden. Ook in dit geval is de Aziatische ondersoort genesteld in populaties uit West en Centraal Afrika, hetgeen de resultaten op basis van mtDNA bevestigt. De SNPs die in dit hoofdstuk geïdentificeerd zijn, zijn een bron voor het ontwikkelen van een SNP panel waarmee een groter aantal leeuwen kosteneffectief onderzocht kan worden. Dit kan bijdragen aan high-throughput genetische analyses van wilde leeuwen, maar ook aan het in kaart brengen van genetische lijnen die aanwezig zijn in populaties in gevangenschap ter ondersteuning van fokprogramma's.

De datasets in dit proefschrift tonen consistent aan dat de Aziatische ondersoort een genestte positie heeft binnen de Afrikaanse leeuw. Zowel de mtDNA data als de microsatelliet dataset laten zien dat de West en Centraal Afrikaanse leeuw als aparte groep erkent kan worden. In Oost en Zuidelijk Afrika is een geografische discrepantie zichtbaar tussen de clades gebaseerd op mtDNA en microsatelliet data. Dit kan het gevolg zijn van gene flow die gedomineerd wordt door mannelijke individuen, aangezien bij leeuwen dispersie tussen de seksen niet gelijk is en mannelijke leeuwen sterkere dispersie vertonen dan leeuwinnen. De snelle coalescentietijd van mtDNA draagt er verder toe bij dat clades gebaseerd op deze data duidelijk herkenbaar zijn. De topologie van de boom gebaseerd op SNPs geeft een continentwijd patroon van gene flow aan. Verschillen in de mutatiesnelheden tussen SNPs en microsatellieten suggereren dat SNP data een ouder patroon van gene flow weerspiegelen, voordat populaties geïsoleerd raakten in lokale refugia.

Om deze patronen te vertalen naar aanbevelingen voor soortbehoud, verdient het de aanbeveling om eenheden onder het ondersoortsniveau te onderscheiden, zoals ESUs of MUs. Mogelijkerwijs is het te restrictief om reciproke monofyletische groepen te vereisen voor zowel mtDNA als autosomale markers. Desalniettemin, zou een zekere graad van divergentie van nucleaire allelen aanwezig moeten zijn, om misclassificatie te voorkomen van groepen die alleen door nucleaire en niet door mitochondriale gene flow verbonden zijn. Bovendien zou divergentie gebaseerd op uitsluitend mtDNA een afspiegeling kunnen zijn van historische isolatie, die alleen in stand wordt gehouden door vrouwelijke filopatrie. Daarom wordt voorgesteld om de monofyletische mtDNA groepen als ESUs te behandelen en om deze niet verheffen tot aparte ondersoorten. Om te verzekeren dat de taxonomie de evolutionaire geschiedenis van de leeuw weerspiegelt, wordt voorgesteld om de huidige taxonomie te herzien en de volgende eenheden te onderscheiden:

Panthera leo leo (Linnaeus, 1758)

Unit 1: Azië (+ Noord Afrika & Midden Oosten, uitgestorven)

Unit 2: Centraal Afrika

Unit 3: West Afrika

Panthera leo melanochaita (Hamilton Smith, 1848)

Unit 4: Noord Oost Afrika

Unit 5: Oost/Zuidelijk Afrika

Unit 6: Zuid West Afrika

Het is aan te bevelen om een pragmatische aanpak te volgen, waarbij de schaal-afhankelijkheid van de problemen en mogelijke oplossingen voor het management van deze eenheden erkend wordt. Dit geldt zowel voor leeuwen in het wild, als voor het beheer van populaties in gevangenschap. De data die in dit proefschrift gepresenteerd zijn, geven een completer overzicht van de verdeling van de genetische diversiteit in de leeuw. Dit is bewerkstelligd door het toevoegen van data van meer populaties, met name uit West en Centraal Afrika, en door het analyseren van een aantal verschillende genetische markers. De gedetailleerde fylogeografie van de leeuw geeft inzicht in evolutionaire drivers die deze genetische opmaak hebben gevormd, maar zal ook bijdragen aan het ontwikkelen van effectieve management plannen voor het behoud van de volledige genetische diversiteit van de leeuw.