



University of Liège
Department of Life Sciences
Conservation Genetics Research Unit

**Study of the genetic structure of the African
buffalo populations (*Syncerus caffer*):**

**Impact of its high mobility and of the population
fragmentation on its distribution and its interactions with
humans**

NATHALIE SMITZ

Thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of
Doctor in Sciences – March 2016



Study of the genetic structure of the African buffalo populations (*Syncerus caffer*):

Impact of its high mobility and of the population fragmentation on its distribution and its interactions with humans

Thesis presented by

Nathalie SMITZ

In fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Sciences

March 2016

Supervised by Dr Johan MICHAUX

Thesis committee

Dr Johan Michaux (Thesis supervisor - ULg)

Prof Jean-Pierre Thomé (President - ULg)

Dr Alain Vanderpoorten (ULg)

Dr Philippe Chardonnet (IGF)

Dr Daniel Cornélis (CIRAD)

Dr Lise-Marie Pigneur (UNamur - ULg)

Covers

Front cover: *Syncerus caffer* from Niger (© D. Cornélis).

Back cover: *Syncerus caffer* from Chad (© D. Cornélis).

Summary

The African continent still hosts a unique diversified megafaunal community. However, phylogeographical patterns of African species have not yet been largely studied, as compared to the North American and European species. Moreover, nowadays, the African ecosystems suffer of considerable anthropogenic pressures and of severe climatic modifications. Wildlife population fragmentation resulting from habitat loss, drought, poaching and diseases is currently threatening many African species survivals. The present thesis aimed at investigating the phylogeography and the population genetic structure of the African buffalo (*Syncerus caffer*) at different spatio-temporal scales (phylogeographical scale vs demographic scale), based on different molecular markers (mtDNA *D-Loop* region, 17 microsatellites and a large set of 'Single Nucleotide Polymorphisms' (SNPs)). The African buffalo is an emblematic key species and provides a powerful model to enhance our understanding of the African biogeography and the species conservation requirements.

The aim of the first part of the present work was to reconstruct the evolutionary history of the African buffalo based on the study of the mtDNA *D-Loop* hypervariable region. More particularly, we aimed at studying the impact of the Quaternary climatic fluctuations on the species distribution (*i.e.* phylogeographical scale). Moreover, one of our purposes was also to investigate the taxonomic controversies linked to the extreme within species morphological variability, using molecular tools. From a sample set including all four morphologically recognized subspecies roaming the sub-Saharan African continent (hereafter called ecophenotypes), two taxonomic units were supported by genetics. The genetic discontinuity was located between the West-Central (*S. c. nanus*, *S. c. brachyceros* and *S. c. aequinoctialis*) and the South-Eastern populations (*S. c. caffer*). The low amount of genetic differentiation within each of these two units, or lineages, was attributed to a recent (in evolutionary term) Pleistocene expansion in both lineages, with rapid adaptation to a variety of habitats.

Using both microsatellites and a large set of SNPs, the second part of the present thesis aimed at investigating the impact of human activities and recent climatic changes on the population structure of the species (*i.e.* demographic scale). While mtDNA did not allowed to distinguish finer sub-structuration within the two identified lineages, suggesting high female

gene flow at an evolutionary timescale, these last molecular markers allowed to identify eight different populations at the continental level: two in West-Central Africa, three in Eastern and three in Southern Africa. Both ancient (Neolithic revolution) and recent anthropogenic activities were proposed to have shaped the demographic population structure observed in Southern and Eastern Africa. Recently, two of these populations were shown to be under significant genetic drift, following severe demographic bottlenecks. In these two cases, the sharp reduction in the size of the populations was proposed to be linked to disease eradication campaigns and to overharvesting during civil wars. Nevertheless, they did not display a significant loss in heterozygosity, indicating that they are still genetically healthy. Interestingly, at the contact region between the *S. c. caffer* and the *S. c. aequinoctialis* savanna ecophenotypes, a population displaying a shared genetic pool was also identified, corroborating the existence of hybrids between the different forms (intermediate morphological characteristics).

In conclusion, using various genetic approaches and molecular markers, the present work gained insights into the taxonomy and the evolutionary history of the African buffalo, as well as in its conservation management requirements.

Résumé

Le continent Africain abrite une importante diversité de mégafaune que l'on peut considérer comme unique au monde. En dépit de cela, alors que les patrons phylogéographiques des espèces Européennes et Nord Américaines ont fait l'objet de nombreuses études, l'impact des glaciations du Quaternaire sur la distribution des espèces Africaines reste encore très peu connu. Par ailleurs, suite à l'intensification des pressions anthropiques et à l'aridification de certaines régions, une dégradation progressive des écosystèmes africains s'opère. La fragmentation des populations d'espèces sauvages liée principalement à la perte de leurs habitats, aux sécheresses, aux braconnages et aux maladies, menace leur survie à long terme. Le présent travail cherche à améliorer nos connaissances de la phylogéographie ainsi que de la structuration démographique des espèces de savannes en utilisant le buffle Africain (*Syncerus caffer*) comme modèle. Cet objectif a été réalisé grâce à l'utilisation de différents types de marqueurs moléculaires, chacun caractérisés par différentes résolutions spatio-temporelles (la région *D-Loop* de l'ADN mitochondrial, 17 microsatellites et un large ensemble de 'Single Nucleotide Polymorphisms' (SNPs)) - échelle phylogéographique vs échelle démographique. Le buffle Africain étant une espèce emblématique clé des écosystèmes Africains, son étude permettra d'accroître notre compréhension de la biogéographie des espèces Africaines et d'estimer au mieux leurs exigences en terme de conservation.

Le premier objectif de cette thèse a été d'effectuer une reconstitution de l'histoire évolutive du buffle Africain basée sur l'étude de la région *D-Loop* de l'ADN mitochondrial. Le but était d'étudier l'impact des fluctuations climatiques du Quaternaire sur la distribution de l'espèce. Nous avons également cherché à voir si les données génétiques supportaient la taxonomie du buffle, celle-ci ayant été élaborée sur base de caractéristiques morphologiques. Deux unités évolutives ont pu être identifiées sur base de l'ADN mitochondrial, alors que quatre sous-espèces sont actuellement définies sur base de caractères morphologiques: une lignée incluant tous les échantillons collectés à l'Ouest et au Centre de l'Afrique (*S. c. nanus*, *S. c. brachyceros* et *S. c. aequinoctialis*) et une lignée incluant tous les échantillons collectés à l'Est et au Sud de l'Afrique (*S. c. caffer*). Le faible degré de différentiation génétique entre les populations au sein de chacune de ces lignées peut être attribué à un phénomène d'expansion ayant eu lieu au cours du Pléistocène (relativement récent d'un point de vue évolutif), suivi d'une rapide adaptation à une variété d'habitats.

Le second objectif résidait en l'étude de l'influence des activités anthropiques sur la structuration génétique des populations de buffle. Cette partie de l'étude a été réalisée sur base de marqueurs microsatellites et de SNPs. Alors que l'ADN mitochondrial n'a pas permis de distinguer une structuration plus fine au sein de chacune des deux lignées, suggérant un haut taux de migration au cours du temps, ces derniers marqueurs moléculaires ont révélé l'existence de huit populations au niveau continental: deux en Afrique de l'Ouest et du Centre, trois en Afrique de l'Est et trois en Afrique du Sud. La révolution Néolithique ainsi que les activités anthropiques récentes semblent avoir eu un impact significatif sur cette structuration. Deux populations auraient subis une dérive génétique significative suite à un sévère goulot d'étranglement lié dans un cas à des campagnes d'éradication de maladies, et dans le second cas, à un braconnage excessif durant des périodes de conflits ethniques. Cependant, aucune perte significative en hétérozygotes n'a été enregistrée, indiquant que ces populations sont encore génétiquement saines. De façon intéressante, les marqueurs moléculaires SNPs ont permis d'identifier une population présentant un pool génétique partagé entre les écophénotypes *S. c. caffer* et *S. c. aequinoctialis*. Cette population se situe géographiquement à l'intersection entre les aires de distribution de ces deux écophénotypes et présente des caractères morphologiques intermédiaires.

En conclusion, les différentes approches génétiques et les différents marqueurs moléculaires employés ont permis d'accroître nos connaissances en ce qui concerne la taxonomie, l'histoire évolutive et les besoins -en terme de conservation- de cette espèce.

Remerciements- Acknowledgments

Cette thèse est l'aboutissement de plusieurs années de travail, de centaines d'heures passées au laboratoire, notamment à isoler le bulbe de milliers de poils de buffle, de centaines d'extractions et de milliers de PCR- parfois récalcitrantes. Mais c'est surtout le bout d'un long parcours en compagnie de nombreuses personnes qui m'ont soutenues et aidées à mener à bien cet ambitieux projet. Je leur en serai toujours reconnaissante!

Je souhaite tout particulièrement remercier mon promoteur de thèse, Dr Johan Michaux, pour sa confiance, son enthousiasme et son réconfort en période de stress. Et surtout pour m'avoir proposé ce fabuleux projet sur cette espèce emblématique et tellement surprenante! Un tout grand merci de m'avoir octroyé les moyens financiers nécessaires pour mener à bien ce projet, surtout quand il a fallu remuer ciel et terre afin de trouver des milliers d'euros pour se lancer dans le séquençage NGS, une technologie tellement prometteuse.

Mes remerciements s'adressent également au FRIA pour avoir financé trois années de ma thèse, ainsi que plusieurs missions. J'aimerais également remercier l'Université de Liège pour son soutien financier lors de mes derniers mois au sein du laboratoire de génétique de la conservation.

Bien entendu, je ne manquerai pas de remercier tous les chercheurs ayant travaillé sur le terrain (et non pas sans danger!) et qui nous ont fourni les échantillons de buffles sans lesquels rien n'aurait été possible! Les moyens déployés lors de ces missions d'échantillonnage et les efforts afin d'acheminer ces derniers en Europe ont été absolument remarquables. Je tiens donc à remercier encore une fois tous ces chercheurs de m'avoir fait confiance en me fournissant ces précieux échantillons. Parmi ceux-ci, l'incontournable équipe du CIRAD: Daniel Cornélis, Alexandre Caron, Michel de Garine-Wichatitsky, Ferran Jori, et tous leurs collègues; et de l'IGF et leurs partenaires: Philippe Chardonnet, Thomas Prin, Carlos Lopes Pereira, ainsi que tous leurs collègues. Many thanks also to Mario Melletti and Kimberly L. Kanapeckas for the samples you provided to our team for this thesis!

Many thanks to Pim van Hooft, Richard Crooijmans, Martien Groenen and Ben Greyling for their kind supervision during the three months I stayed in their lab in Wageningen. Thank you

also to Rasmus Heller, Pim van Hooft and Robert Kraus for sharing their statistical analysis expertise.

Merci à toute l'équipe de l'unité de 'Génétique de la Conservation'- nos échanges auront été précieux! Merci à Virginie Hutsemekers, Alice Mouton, Alice Latinne, Maïté Cabria, François Gillet et Lise-Marie Pigneur pour votre aide et votre bonne humeur quotidienne, ainsi qu'à tous les mémorants qui sont passés au sein de l'équipe, dont Benoît Durieu et Laura Bertrand. Un tout grand merci également à Claire Remacle d'avoir accueilli l'équipe au sein de son laboratoire lors de mes premières années de thèse.

Thanks to my new team- Massimiliano Virgilio and Marc De Meyer from the 'Royal Museum for Central Africa', Gontran Sonet, Carl Vangestel and Thierry Backeljau from the 'Royal Belgian Institute of Natural Sciences', for their encouragements and for having given me the time to finish my PhD. Special thanks goes to Virginie Winant for her English revisions, for her support in the lab and above all, for sharing her love of life.

En dernier, mais pas des moindres, merci à mes parents de m'avoir toujours accompagnée et soutenue dans mes projets! Merci aussi au reste de ma famille, sans oublier mon compagnon, pour leur soutien lors de moments plus difficiles. Sans vous, rien n'aurait été possible! Je garderai un bon souvenir de nos soirées organisées pour lever des fonds pour mes recherches!

Table of contents

SUMMARY	3
RESUME	5
REMERCIEMENTS- ACKNOWLEDGMENTS	7
CHAPTER 1. GENERAL INTRODUCTION	11
1. 1. GENERAL CONTEXT	12
<i>Phylogeography</i>	13
1.2 AFRICAN SAVANNA MAMMAL'S MAIN THREATS.....	15
<i>Habitat loss</i>	15
<i>Armed conflicts</i>	16
<i>Diseases</i>	17
<i>Recent climate changes</i>	19
1.3 SPECIES DIVERSITY AND DISTRIBUTION FLUCTUATIONS.....	20
<i>The African climatic fluctuations</i>	21
<i>Human Neolithic revolution in Africa</i>	23
1. 4. GENERAL DESCRIPTION OF THE TARGET SPECIES.....	25
<i>Taxonomy and morphological characteristics</i>	25
<i>Habitat and distribution</i>	28
<i>Abundance and density</i>	29
<i>Ethology</i>	31
1. 5. GENERAL SAMPLING PROTOCOL AND METHODOLOGY.....	33
<i>General genetic diversity concepts</i>	34
1. 6. OBJECTIVES OF THE PRESENT STUDY.....	35
<i>Chapter 2. State of the art: Phylogeography and population genetics of the African buffalo</i>	35
<i>Chapter 3. Phylogeography and evolutionary history of Syncerus caffer</i>	35
<i>Chapter 4. Population genetic structure of S. c. caffer</i>	36
<i>Chapter 5. Herd genetic structure of S. c. caffer</i>	36
<i>Chapter 6. General discussion and perspectives</i>	37
CHAPTER 2. PHYLOGEOGRAPHY AND POPULATION GENETICS OF THE AFRICAN BUFFALO :	
STATE OF THE ART	38
2. 1. MANUSCRIPT	39
<i>Abstract</i>	39

CHAPTER 3. CONTINENTAL PHYLOGEOGRAPHY	63
3. 1. MANUSCRIPT	64
<i>Abstract</i>	64
 CHAPTER 4. REGIONAL POPULATION GENETICS	83
4. 1. MANUSCRIPT	84
<i>Abstract</i>	84
<i>Additional files</i>	105
 CHAPTER 5. HERD GENETIC STRUCTURE.....	110
5. 1. MANUSCRIPTS	111
<i>Abstract</i>	111
 CHAPTER 6. GENERAL DISCUSSION AND PERSPECTIVES.....	149
6.1. CONTEXT	150
6.2. CONTINENTAL SCALE PHYLOGEOGRAPHICAL PATTERN	150
<i>Comparative phylogeography of savanna species</i>	150
<i>African buffalo's phylogeographical pattern</i>	154
6.3. FINER-SCALE AFRICAN BUFFALO POPULATION STRUCTURATION.....	157
<i>Ancient population fragmentation</i>	157
<i>Recent population fragmentation</i>	158
<i>Conservation concerns</i>	159
6.4. THE IMPORTANCE OF THE AFRICAN BUFFALO.....	161
6.5. PERSPECTIVES.....	163
<i>Ancient connection between West-Central lineage and West-Southern African region</i>	163
<i>Population structure in West and Central Africa</i>	164
<i>Landscape genetics and niche modeling</i>	164
<i>Co-studying genetic variations of host and parasites</i>	165
 GLOSSARY	166
ABBREVIATIONS.....	169
REFERENCES	171

