



Estructura y variabilidad genética del bisonte americano (*Bison bison*) en México



Joel Domínguez-Viveros ^a

Guadalupe Nelson Aguilar-Palma ^{a*}

Rafael Villa-Angulo ^b

Nancy Hernández-Rodríguez ^c

José Manuel Pérez-Cantú ^c

Flora Moir ^d

Pedro Calderón-Domínguez ^d

^a Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia y Ecología. Periférico Francisco R. Almada Km. 1, CP 31453. Chihuahua, Chihuahua, México.

^b Universidad Autónoma de Baja California. Instituto de Ingeniería. Baja California, México.

^c Fondo Cuenca Los Ojos, Rancho El Uno. Chihuahua, México.

^d Fondo Mexicano para Conservación de la Naturaleza. Chihuahua, México.

*Autor de correspondencia: naguilar@uach.mx

Resumen:

Los objetivos fueron analizar la estructura y variabilidad genética del bisonte americano con marcadores genéticos de tipo SNP. Se muestrearon 174 bisontes y se analizaron 42,366 SNP distribuidos en los 29 cromosomas. Se estimó la heterocigosis esperada (H_e) y observada (H_o), contenido de información polimórfica (CIP), índice de fijación (FIS), índice de Shannon (IS), desequilibrio de ligamiento y relación de parentesco (R_{ij} ; %), así como el tamaño efectivo de población (N_e). Se realizó un análisis de estructura genética para inferir

cuántas líneas o genomas (k) definen la población. Se identificó y seleccionó un panel con 2,135 SNP polimórficos, con un promedio de 74 SNP por cromosoma. En el proceso de exclusión, 84.5 % fueron monomórficos, 8.5 % con porcentaje de usables menor a 90 %, 6.3 % con frecuencia del alelo menor inferior a 0.01 y 0.70 % por desequilibrio Hardy-Weinberg ($P < 0.05$). Las estimaciones de IS , H_o , H_e , FIS y CIP fueron de 0.30, 0.187, 0.182, -0.029 y 0.152, respectivamente. Se generaron 15,051 estimaciones de R_{ij} , el valor promedio de éstas fue 7.6 %, y el 45.1 % de ellas fue igual a cero. El N_e fue de 12.5, señalando un posible incremento de consanguinidad por generación de 4 %. Se identificaron tres líneas genéticas, con proporciones de 0.730, 0.157 y 0.113; dado el origen de la población, se asocian a selección natural o deriva genética. La variabilidad genética, así como los niveles de la R_{ij} , se deben de considerar en esquemas de conservación.

Palabras clave: Heterocigosis, Recursos genéticos, Tamaño efectivo de población, Consanguinidad, Conservación, SNP.

Recibido: 29/05/2022

Aceptado: 05/10/2022

Introducción

El género *Bison* (bisonte) es originario de Asia y la región central de Europa. Su llegada al continente americano fue a partir de las migraciones del bisonte estepario (*Bison priscus*) y del bisonte gigante (*Bison latifrons*). El actual bisonte americano (BA; *Bison bison*) es una población producto de los procesos de adaptación, evolución y selección natural; además, es una población alopátrica, definida por las líneas bisonte de las llanuras (*Bison bison*) y bisonte de las montañas (*Bison athabascae*). Datos históricos y arqueológicos muestran el desarrollo del BA en las praderas de Norteamérica, con estimaciones de hasta 60 millones de individuos; no obstante, la cacería para la alimentación y el comercio de pieles, fueron las principales causas de la gran disminución de esta población, colocándola en riesgo de extinción^(1,2,3,4).

En México, los informes históricos mencionan la presencia del BA en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango y Sonora; la manada de Janos-Hidalgo, fue una manada transfronteriza que se movía entre Chihuahua y Nuevo México^(5,6). En el rancho El Uno, ubicado en la reserva de la biosfera de Janos (Chihuahua, México), se generó una manada de conservación con 23 individuos procedentes del parque nacional Wind Cave de Estados Unidos⁽⁷⁾. El BA, como recurso genético, forma parte de la biodiversidad con sus componentes de tiempo y espacio, así como los valores de uso y opción. Los componentes

de tiempo y espacio se determinan por la evolución y cambios de los niveles de riqueza, abundancia relativa y dominancia de la especie. El valor de uso se establece por los beneficios que aporta el recurso genético, el valor de opción está definido por el papel o aporte del recurso genético en la estabilidad del ecosistema^(8,9).

La biodiversidad de las poblaciones es la propiedad de adaptación e integración a los ecosistemas, como resultado de las fuerzas evolutivas y de la genética de las poblaciones; caso particular, los posibles efectos de selección natural, deriva y migración genética. La diversidad genética, como componente de la biodiversidad, comprende las diferencias en el material genético heredable. La variabilidad genética, es una medida de la diferenciación de los genotipos, en función del tamaño de la población y los criterios que definen la herencia del material genético. La estructura genética de una población está determinada por su historia evolutiva, expresa la cantidad de diversidad genética que alberga y cómo se reparte dentro de la población. No obstante, la pérdida de diversidad genética es el principal problema de las poblaciones en riesgo, concepto que se debe considerar en el diseño de esquemas de conservación^(10,11). Los objetivos del presente estudio fueron analizar la estructura y variabilidad genética, con base en marcadores genéticos de tipo SNP (Polimorfismo de Nucleótido Simple), de la manada de BA del rancho El Uno.

Material y métodos

La manada de bisontes del rancho El Uno se desenvuelve en un entorno agreste y nula proximidad con el humano, aislada y protegida de interacciones con poblaciones bovinas u otras especies que pudieran alterar su desarrollo, con instalaciones y personal especializado; cada año se realiza el conteo e identificación de la manada. Se muestrearon 174 bisontes (80 % del total), 102 hembras y 72 machos nacidos a partir de 2012; la obtención de ADN fue a partir de sangre depositada en tarjetas especializadas en el laboratorio GeneSeek de la empresa Neogen. Se analizaron los genotipos de 42,366 SNP distribuidos en los 29 cromosomas y definidos en el chip GGP Bovine 50K. En la fase de edición, se descartaron los loci con porcentaje de usables menor a 90 % (PSUM), monomórficos, con frecuencia del alelo menor (FAM) inferior a 0.01 y en desequilibrio Hardy-Weinberg (HW; $P < 0.05$).

Posterior al proceso de edición, con el panel de SNP seleccionados como polimórficos se estimó de forma general, y por cromosoma, la heterocigosis esperada (H_e) y observada (H_o), el contenido de información polimórfica (CIP), el índice de fijación (FIS), el índice de Shannon (IS) y el desequilibrio de ligamiento (DL), como indicadores de variabilidad genética^(12,13). El DL se evaluó con base en la correlación (r^2) entre frecuencias de haplotipos a través de loci⁽¹⁴⁾; la r^2 fluctúa de cero a uno; valores cercanos a cero indican ausencia de DL y segregación independiente, conforme se acerca a 1, indica asociación no aleatoria entre loci. Adicionalmente, se estimó la relación de parentesco (R_{ij} ; %) a través de todos los

individuos, así como el tamaño efectivo de población (N_e) con base en la r^2 promedio ajustada aplicando el método de Waples⁽¹⁴⁾. Las estimaciones de r^2 se realizaron con el programa FSTAT⁽¹⁵⁾; para H_e , H_o , CIP y FIS se utilizó el programa GenAlex⁽¹⁶⁾; LDNE⁽¹⁷⁾ se utilizó para el análisis de N_e y ML-Relate⁽¹⁸⁾ en la estimaciones de R_{ij} .

Para determinar la estructura genética se utilizó el programa para análisis genéticos Structure⁽¹⁹⁾, el cual utiliza un agrupamiento bayesiano para inferir cuantas líneas o genomas (k) conforman la población a partir del análisis de genotipos utilizando marcadores genéticos. El procedimiento supone que los individuos son de ascendencia pura ($k=1$) vs ascendencia de dos o más líneas ($k \neq 1$), asignando proporcionalmente un genoma a cada línea. El agrupamiento bayesiano para inferir k se deriva de la distribución de probabilidad a *posteriori* generada por el método de Monte Carlo basado en Cadenas de Markov. Se evaluaron cinco posibles líneas, donde los individuos fueron asignados probabilísticamente. El número de líneas (k) que proporciona el mejor ajuste se deriva a partir de la verosimilitud logarítmica de cada paso en el muestreo y el valor máximo u óptimo se obtuvo con el planteamiento de Evanno *et al*⁽²⁰⁾ y el programa Structure Harvester⁽²¹⁾.

Resultados y discusión

Como resultado del proceso de edición, se identificó y seleccionó un panel con 2,135 SNP polimórficos (5.04 % de rendimiento, con respecto al total de SNP evaluados), con un promedio de 74 SNP por cromosoma. En el proceso de edición se descartaron 40,231 SNP, distribuidos de la siguiente forma: 84.5 % fueron monomórficos, 8.5 % por PSUM, 6.3 % por FAM y 0.70 % por HW. Para el panel de SNP polimórficos, las estimaciones de IS, H_o , H_e , FIS y CIP fueron de 0.30, 0.187, 0.182, -0.029 y 0.152, respectivamente. Los valores de H_e , H_o y CIP determinan la viabilidad de un marcador genético en estudios de variabilidad genética; el número de SNP por cromosoma, así como los estimadores de variabilidad genética, se describen en el Cuadro 1. Estimaciones del IS cercanas a cero se pueden asociar con homogeneidad en la población, lo cual reduce la incertidumbre para predecir la probabilidad de asignación de un individuo a la población que pertenece. El FIS, a través de los cromosomas, presentó valores de -0.002 a -0.062; éste mide los niveles de heterocigosis y homocigosis, cuyos valores van de -1 a 1; presenta valores positivos cuando hay un déficit de heterocigotos y valores negativos cuando hay un exceso de heterocigotos, los valores cercanos a cero indican una estabilidad en la relación de homocigosis y heterocigosis. La R_{ij} oscila de 0 a 100 %, en 174 individuos se generaron 15,051 estimaciones con un valor promedio de 7.61 %. Las estimaciones de la R_{ij} se describen en los siguientes cinco estratos: el 45.1 % de las estimaciones fue igual a cero; el 14.5 % presentaron valores de 0.01 a 4.9; el 27.3 % de 5.0 a 19.9; el 11.8 % de 20.0 a 49.9; y el 1.3 % fue igual o mayor a 50.0. La consanguinidad (F) de un individuo es la mitad de la R_{ij} de los padres, con las estimaciones

de la R_{ij} es posible la selección de subpoblaciones para esquemas de reproducción y conservación, con el planteamiento de mantener los niveles de F .

Cuadro 1: Número de SNP polimórficos y estimadores de variabilidad genética por cromosoma

Cr	ni	nf	CIP	Ho	He	FIS	IS	r ²
1	2587	88	0.155	0.194	0.186	-0.034	0.304	0.022
2	2199	52	0.153	0.193	0.186	-0.029	0.302	0.019
3	2072	56	0.211	0.263	0.260	-0.011	0.403	0.023
4	1933	170	0.117	0.140	0.136	-0.035	0.241	0.222
5	2173	160	0.105	0.126	0.122	-0.025	0.215	0.205
6	2056	70	0.193	0.240	0.234	-0.025	0.372	0.020
7	1858	232	0.195	0.240	0.226	-0.062	0.376	0.324
8	1832	47	0.186	0.228	0.225	-0.024	0.359	0.021
9	1818	57	0.230	0.298	0.289	-0.032	0.437	0.026
10	1736	205	0.089	0.107	0.103	-0.028	0.189	0.288
11	1766	52	0.143	0.174	0.170	-0.019	0.282	0.019
12	1418	49	0.218	0.281	0.270	-0.034	0.415	0.031
13	1544	65	0.151	0.192	0.187	-0.020	0.295	0.127
14	1483	61	0.156	0.190	0.189	-0.013	0.307	0.105
15	1395	59	0.176	0.221	0.212	-0.034	0.342	0.022
16	1302	40	0.194	0.247	0.235	-0.044	0.372	0.024
17	1233	41	0.195	0.246	0.239	-0.021	0.375	0.026
18	1219	33	0.210	0.267	0.255	-0.039	0.399	0.028
19	1218	65	0.124	0.147	0.146	-0.016	0.251	0.210
20	1335	50	0.192	0.238	0.232	-0.031	0.370	0.026
21	1183	33	0.185	0.235	0.228	-0.032	0.358	0.024
22	1017	23	0.197	0.242	0.239	-0.017	0.379	0.029
23	943	35	0.223	0.274	0.275	-0.010	0.425	0.074
24	1081	56	0.162	0.197	0.198	-0.002	0.317	0.113
25	749	115	0.083	0.099	0.094	-0.031	0.179	0.504
26	879	145	0.096	0.108	0.107	-0.015	0.204	0.256
27	724	26	0.248	0.313	0.308	-0.024	0.466	0.036
28	785	21	0.209	0.265	0.263	-0.015	0.401	0.022
29	828	29	0.200	0.254	0.247	-0.025	0.383	0.026

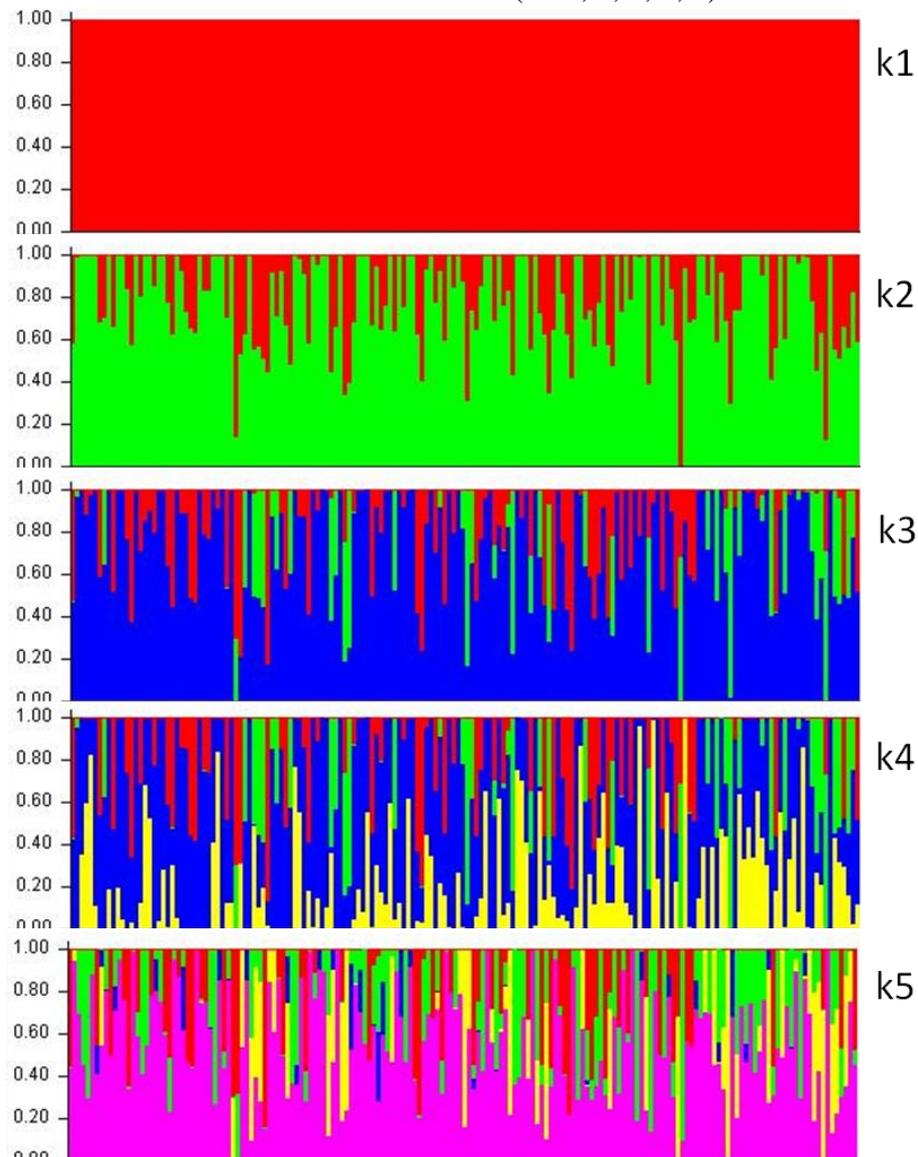
Cr= cromosoma, ni= número de loci evaluados, nf= número de loci polimórficos, CIP= contenido de información polimórfica, Ho= heterocigosis observada, He= heterocigosis esperada. FIS= índice de fijación, IS= índice de Shannon, r²= correlación promedio entre frecuencias de haplotipos a través de loci.

El N_e fue de 12.5 y la r^2 promedio general fue de 0.099, en el Cuadro 1 se presenta la r^2 promedio por cromosoma. El análisis de estructura genética mostró que la población de estudio está conformada por tres líneas, con proporciones de 0.730, 0.157 y 0.113; en la Figura 1 se presenta la estructura y composición de la población analizada a través de las cinco líneas evaluadas. Con base en el N_e , el posible cambio o incremento en los niveles de consanguinidad, por generación, pueden ser del orden del 4.0% ($\Delta F = 1/(2*N_e)$). En poblaciones pequeñas bajo esquemas de conservación el incremento de los niveles de F es un indicador de pérdida de variabilidad genética; sus efectos, a partir de la depresión consanguínea, trasciende en rasgos de viabilidad, supervivencia, reproducción, resistencia a enfermedades, estrés ambiental, entre otros^(22,23). Para el desarrollo de poblaciones en esquemas de conservación, es recomendable un N_e igual o mayor a 50⁽¹⁰⁾, con el objetivo de mantener el incremento de la consanguinidad igual o menor a 1 % por generación. Tokarska *et al*⁽²⁴⁾ en una población de bisonte europeo obtuvieron estimaciones de N_e de 7.0 a 28.4 a través de cinco generaciones, observando que el aumento de la población no trascendió en el incremento del N_e ; además, señalan que el N_e puede estar influenciado por el tamaño de la población fundadora y que bajos niveles de N_e se pueden asociar a deriva genética, con mayor pérdida de diversidad. El potencial evolutivo de una población depende de la variabilidad genética y del N_e ; si el N_e es pequeño, la deriva genética tiene trascendencia, con posible impacto en el potencial evolutivo de la población⁽²⁵⁾.

En estudios afines, utilizando el chip Bovine SNP50K, Pertoldi *et al*⁽²⁶⁾ y Pertoldi *et al*⁽²⁷⁾ en tres poblaciones de bisontes (una de Europa y dos de América) obtuvieron porcentajes de SNP polimórficos de 1.8, 2.6 y 2.9, con estimaciones de H_e de 0.135, 0.197 y 0.199. En otro trabajo⁽²⁸⁾ identificaron 2.8 % de SNP polimórficos; Eugeniu *et al*⁽²⁹⁾ reportaron un rendimiento del 9.35 % en SNP polimórficos, con estimaciones de H_o y H_e de 0.306 y 0.250, respectivamente. En bisonte europeo⁽³⁰⁾ identificaron 1,536 SNP polimórficos, distribuidos por cromosoma en el intervalo de 8 a 136 SNP y un valor promedio de 51.2.

La actual población de BA de los Estados Unidos de América se derivó de un proceso de cuello de botella con trascendencia en su variabilidad y estructura genética^(31,32). El presente trabajo muestra tres líneas genéticas que definen la población de estudio; dado su origen, se puede atribuir que la línea de mayor proporción corresponde al bisonte de las llanuras; en las líneas complementarias, se puede señalar una posible contribución del bisonte de las montañas y una tercera línea generada por la separación y desarrollo de la población de estudio. La posible diferenciación de la población de estudio puede estar en función de la interacción genotipo–ambiente, así como su adaptación y contribución al ecosistema. El aislamiento genético entre subpoblaciones afecta algunos procesos demográficos y evolutivos; el reducido flujo de genes puede conducir a la acumulación de diferencias genéticas entre las subpoblaciones, debido a las normas de la genética de poblaciones⁽³³⁾.

Figura 1: Análisis de la estructura de la población de bisonte americano en México, a través de cinco líneas ($k= 1, 2, 3, 4, 5$)



Cada línea vertical representa a un individuo y el segmento de color representa la proporción de cada grupo.

Conjuntamente, las diferencias a través de poblaciones se pueden derivar de la diversidad genética contenida en los ancestros fundadores y su aportación relativa, así como del N_e y su evolución a través del tiempo⁽³²⁾. La subestructura genética no siempre coincide con las diferencias morfológicas o geográficas obvias entre las subpoblaciones. Con información de marcadores genéticos se requieren estudios complementarios para contrastar la población de estudio con otras poblaciones, identificar las posibles fuentes u origen del material genético, o en su caso, definir la posible diferenciación. Halbert y Derr⁽³²⁾, en once poblaciones de bisontes, identificaron la diferenciación genética a través de ocho clústeres; En otro trabajo⁽³³⁾ detectaron dos subpoblaciones genéticamente distintas en el hato del parque nacional

Yellowstone. Cronin *et al*⁽³⁴⁾, analizando la estructura de 12 hatos, encontraron tres líneas o subestructuras genéticas, con una constitución promedio de 0.412, 0.303 y 0.285.

Conclusiones e implicaciones

Se identificaron tres líneas genéticas; donde, dos líneas se pueden asociar a las poblaciones de origen y una tercera por el proceso de separación y los efectos de selección natural o deriva genética. La variabilidad genética, así como los niveles de parentesco, se deben de considerar en el diseño de esquemas de reproducción y conservación.

Literatura citada:

1. Halbert ND, Terje R, Bhanu PC, James ND. Conservation genetic analysis of the Texas state bison herd. *J Mammalogy* 2004;85:924-931.
2. Freese CH, Aune KE, Boyd DP, Derr JN, Forrest SC, Gates CC, *et al*. Second chance for the plains bison. *Biol Conser* 2007;136:175-184.
3. Hedrick PW. Conservation genetics and North American bison (*Bison bison*). *J Heredity* 2009;100:411-420.
4. Gates CC, Curtis HF, Peter JPG, Mandy K. American Bison: Status survey and conservation guidelines. American Bison Specialist Group. 2010.
5. Anderson S. Mammals of Chihuahua: taxonomy and distribution. *B Amer Mus Nat Hist* 1972;148:149-410.
6. List R, Ceballos G, Curtin C, Gogan PJP, Pacheco J, Truett J. Historic distribution, and challenges to Bison recovery in the northern Chihuahuan desert. *Conser Biol* 2007;21:1487-1494.
7. List R, Pacheco J, Ponce E, Sierra-Corona R, Ceballos G. The Janos Biosphere Reserve. Northern Mexico. *I J Wilderness* 2010;16:35-41.
8. Solbrig OT. The origin and function of biodiversity. *Environment: Sci Pol Sust Develop* 1991;33:16-38.
9. Segura-Correa JC, Montes-Pérez RC. Razones y estrategias para la conservación de los recursos genéticos animales. *Rev Biom* 2001;12:196-206.
10. FAO. Management of small populations at risk: Secondary guidelines for development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. 1998.
11. Toro MA, Caballero A. Characterization and conservation of genetic diversity in subdivided populations. *Phil Trans Royal Soc B: Biol Sci* 2005;360:1367-1378.

12. Toro MA, Fernández J, Caballero A. Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livest Sci* 2009;120:174-195.
13. Lenstra JA, Groeneveld LF, Eding H, Kantanen J, Williams JL, Taberlet P, *et al.* Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity. *Anim Genet* 2012;43:483-502.
14. Waples RS. A bias correction for estimate of effective population size base on linkage disequilibrium at unlinked loci. *Cons Genet* 2006;7:167-184.
15. Goudet J. FSTAT: A computer program to calculate F-Statistics. *J Heredity* 1995;86:485-486.
16. Peakall R, Smouse PE. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 2012;28:2537-2539.
17. Waples RS, Do CHI. LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Mol Ecol* 2008;8:753-756.
18. Kalinowski ST, Wagner AP, Taper ML. ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Mol Ecol Notes* 2006;6:576-579.
19. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 2000;155:945–959.
20. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 2005;14:2611–2620.
21. Earl DA, vonHoldt BM. Structure Harvester: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Res* 2012;4:359-361.
22. Keller LF, Waller DM. Inbreeding effects in wild populations. *Trends Ecol Evol* 2002;17:230–241.
23. Skotarczak E, Szwaczkowski T, Cwiertnia P. Effects of inbreeding, sex, and geographical region on survival in an American bison (*Bison bison*) population under a captive breeding program. *Europ Zool J* 2020;87:402-411.
24. Tokarska M, Kawałko A, Wojcik JM, Pertoldi C. Genetic variability in the European bison (*Bison bonasus*) population from Białowieża forest over 50 years. *Biol J Linnean Soc* 2009;97:801-809.

25. Pertoldi C, Bijlsma R, Loeschke V. Conservation genetics in a globally changing environment: present problems, paradoxes and future challenges. *Biod Conserv* 2007;16:4147–4163.
26. Pertoldi C, Wojcik JM, Tokarska M, Kawalko A, Kristensen TN, Loeschke V, *et al.* Genome variability in European and American bison detected using the bovine SNP50 BeadChip. *Conserv Genet* 2010;11:627-634.
27. Pertoldi C, Tokarska M, Wojcik JM, Kawalko A, Randi E, Kristensen TN, *et al.* Phylogenetic relationships among the European and American bison and seven cattle breeds reconstructed using the Bovine SNP50 Illumina genotyping BeadChip. *Acta Theriol* 2010;55:97-108.
28. Kaminski S, Olech W, Olenski K, Nowak Z, Rusc A. Single nucleotide polymorphism between two lines of European bison (*Bison bonasus*) detected by the use of Illumina Bovine 50K BeadChip. *Conserv Genet Res* 2012;4:311-314.
29. Eugeniu MA, Adrian IO, Acatincai S, Neamt RI, Valentin CM, Ilie DE. Single nucleotide polymorphism in Bison identified by GGP Bovine 50K SNP assay. *Anim Sci Biotech* 2019;52:47-55.
30. Wojciechowska M, Nowak Z, Gurgul A, Olech W, Drobik W, Szmatoła T. Panel of informative SNP markers for two genetic lines of European bison: Lowland and Lowland-Caucasian. *Anim Biod Conserv* 2017;40.1:17-25.
31. Boyd DP, Gates CC. A brief review of the status of plains bison in North America. *J West* 2006;45:15-21.
32. Halbert ND, Derr JN. Patterns of genetic variation in US federal bison herds. *Mol Ecol* 2008;17:4963-4977.
33. Halbert ND, Gogan PJP, Hedrick PW, Wahl JM, Derr JN. Genetic population substructure in bison at Yellowstone national park. *J Heredity* 2012;103:360-370.
34. Cronin MA, MacNeil MD, Vu N, Leesburg V, Blackburn HD, Derr JN. Genetic variation and differentiation of bison (*Bison bison*) subspecies and cattle (*Bos taurus*) breeds and subspecies. *J Heredity* 2013;104:500-509.