

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Análisis genómico del Bovino Cimarrón en Galápagos, estudio
preliminar para la determinación de una raza criolla bovina
ecuatoriana**

Fátima Daniela Alvaracin Cobos

Carrera: Medicina Veterinaria

Trabajo de fin de carrera presentado como
requisito para obtención del título de Médico Veterinario

Quito, 4 de mayo de 2025

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**HOJA DE CALIFICACIÓN DE
TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Análisis genómico del Bovino Cimarrón en Galápagos, estudio
preliminar para la determinación de una raza criolla bovina
ecuatoriana**

Fátima Daniela Alvaracin Cobos

Nombre del profesor, Título académico

Lenin Vinueza, DMVZ, Msc, PhD

Quito, 4 de mayo de 2025

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Fátima Daniela Alvaracin Cobos

Código: 00215093

Cédula de identidad: 1722304498

Lugar y fecha: Quito, 4 de mayo de 2025

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente a mi tutor, Ramiro Díaz, por haber confiado en mí desde el primer día, por ayudarme, ser guía y soporte para mí durante el trabajo de investigación y toda la carrera. A mis papás, por su apoyo incondicional en todas las actividades y objetivos que he tenido, por ser mi soporte emocional en estos años y por guiarme para ser quien soy ahora. A mis tíos, por ser mi guía y apoyo cuando me he sentido perdida. A mis primos, Miguel y David, por ser siempre mi alegría y recordarme la inocencia de ser niño. A mi hermano Julián Alvaracin, porque gracias a él sé que no estoy sola en este mundo y él es para mí un ejemplo de líder y de una persona que hace las cosas desde el corazón. A mis abuelitos, por siempre estar para mí y enseñarme que puedo lograr todo lo que me proponga. A mi mejor amiga Ariana Vaca, por su apoyo y compañía a lo largo de este proceso, brindándome palabras de aliento, escuchando mis inquietudes y celebrando cada pequeño logro como si fuera propio. A mis profesores de grandes especies y producción animal, por haberme motivado a aprender, hacerme amar más mi carrera e inspirarme para seguir creciendo como profesional. A mis mascotas Tango, Massimo, Chakira, Newton, Wanda, Charlie, Helsinki y Eclipse por ser mi alegría, por acompañarme en cada etapa de esta carrera, por estar a mi lado en largas noches de estudio, por aliviar mi cansancio con una mirada y recordarme cada día por qué elegí esta vocación. A Vanessa, Martina y Paul por su ayuda y paciencia durante el proceso de elaboración de la tesis. Finalmente, a todas las personas que, de una forma u otra, contribuyeron a la realización de este trabajo, quiero expresarles mi más sincero agradecimiento. Cada gesto de apoyo, cada palabra de aliento y cada momento compartido fueron fundamentales para alcanzar esta meta. Este logro no es solo mío, sino también de todos ustedes.

RESUMEN

El Ecuador no tiene reportado una raza criolla bovina. Todos los países del área andina no solo si lo han hecho, si no que algunos tienen asociaciones de criadores de razas propias. La importancia de poseer estos animales, implica diseñar proyectos que permitan preservar recursos zoogenéticos con características de adaptación propias de la zona. La aclimatación al sitio y la resistencia a enfermedades endémicas, son parte de las ventajas que se obtendría al salvaguardar estos recursos. Por otro lado, en el Ecuador no se ha realizado ningún estudio genómico en especies domésticas, por lo que el presente proyecto puede ser un incentivo para que se realicen estudios que permitan conocer mejor las características genéticas de los animales en el país. Por lo anterior, con el fin de encontrar una raza criolla, se propone realizar un estudio genómico de los bovinos cimarrones de la isla Isabela en las Galápagos.

Palabras clave: recursos zoogenéticos, adaptación, estudio genómico, bovinos cimarrones

ABSTRACT

Ecuador has never reported any existence of a native creole cattle breed; while all countries in the Andean region have not only characterized these breeds, but have also established breeder associations for their native cattle. The need to preserve these animals is based on the existence of projects to preserve zoogenetic resources with adaptation characteristics for each region. The advantages that are encountered in preserving genetic resources include acclimatization to local environments and resistance to endemic diseases. Further, there have been no genomic studies on domestic species in Ecuador, so this project may also serve as an encouragement to propel research to improve the genetic characterization of local animal populations. Consequently, to characterize potential creole cattle breed it is proposed to complete a genomic study of the free-roaming population of cattle on Isabela Island, Galápagos.

Keywords: zoogenetic resources, adaptation, genomic study, feral cattle

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	5
INTRODUCCIÓN	12
DESARROLLO DEL TEMA	13
a. Islas Galápagos – Isla Isabela	13
b. Genómica	14
b.1. Gen REN (Eje renina-angiotensina-aldosterona).....	15
b.2. Acuaporina 3.....	16
b.3. Gen SLC9A3	17
c. Bovino cimarrón de Galápagos	18
d. Hipótesis:	19
e. Objetivos del estudio	19
MATERIALES Y MÉTODOS	19
RESULTADOS	23
REN.....	23
AQP3.....	24
SLC9A3.....	25
DISCUSIÓN	25
REFERENCIAS.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Integridad de las muestras 21

Figura 2. Bovino cimarrón de Galápagos..... 23

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Árbol filogenético gen REN.....	24
Gráfico 2: Árbol filogenético gen AQP3.....	24
Gráfico 3: Árbol filogenético gen SLC9A3.....	25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Comparación identidad porcentual gen REN 23

Tabla 2: Comparación identidad porcentual gen AQP3 24

Tabla 3: Comparación identidad porcentual gen SLC9A3 25

INTRODUCCIÓN

El ecosistema del Archipiélago de Galápagos se caracteriza por su singularidad y fragilidad ecológica, producto de una evolución en aislamiento que favoreció altos niveles de endemismo; sin embargo, esta estructura natural ha sido gravemente alterada por la introducción de especies exóticas (Jiménez-Uzcátegui et al., 2007). Conocido mundialmente por su biodiversidad y su papel en el desarrollo de la teoría de la evolución. Entre estas, los bovinos cimarrones de la Isla Isabela destacan como un ejemplo de adaptación a un ambiente hostil, introducidas en el siglo XVI por los colonos españoles (Schofield, E. K. 1989) aunque, excavaciones en las islas han encontrado osamentas bovinas que indican su presencia hace 500 años (Stahl, P. W. Et al. 2020)-

Estas poblaciones bovinas han sobrevivido durante siglos en condiciones ambientales extremas, convirtiéndolas en un objeto de estudio ideal para analizar el proceso de adaptación natural y la potencial existencia de una raza criolla propia de Ecuador. De esta manera, se evidencia la necesidad de desarrollar investigaciones exhaustivas que nos permitan comprender a más profundidad los procesos naturales que han sucedido en las islas recalando el potencial genético y adaptativo de estas poblaciones bovinas. El estudio propone la comparación de factores genéticos entre animales cimarrones y domésticos registrados en el National Center of Biotechnology Information (NCBI).

La sangre es un fluido corporal propio de los vertebrados, constituido por células sanguíneas (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas), que se encuentran suspendidas en un plasma, en el que el agua, las proteínas y los solutos son abundantes y que constituye la fracción líquida de la sangre (Fdil. N. 2022). Su finalidad es la siguiente: transportar oxígeno y nutrientes a los tejidos; expulsar productos de desecho (CO₂ y urea); intervenir en la defensa inmunológica; permitir la coagulación y el control de pérdidas

hemorrágicas; y también integrarse a la comunicación en el cuerpo mediante el transporte de hormonas. La sangre, por tanto, interviene tras esta serie de funciones en la homeostasis corporal mediante el equilibrio de la cantidad de líquidos, del pH del organismo y de la temperatura.

La presencia de herramientas de diagnóstico basadas en secuenciación es fundamental para los estudios genómicos. Tanto los métodos tradicionales como la purificación de ADN a partir de sangre periférica manual, como los métodos automatizados (Naranbat. D., Et al. 2024). De esta manera, es posible realizar la comparación de genes específicos, evaluar la cercanía entre especies, razas e individuos específicos por medio de comparación de dominios en el genoma, árboles evolutivos y líneas de parentesco.

DESARROLLO DEL TEMA

a. Islas Galápagos – Isla Isabela

El entorno de las Islas Galápagos presenta desafíos únicos, tal es el caso de la isla Isabela cuyas fuentes hídricas se limitan a pozos poco profundos y captaciones superficiales de baja capacidad, altamente sensibles a la variabilidad climática. La presión demográfica y agrícola han llevado a una sobreexplotación de estos recursos, mientras que la infraestructura limitada pone en riesgo su calidad. Estas condiciones hacen que la seguridad hídrica en Isabela sea una de las más críticas del archipiélago, especialmente bajo escenarios de cambio climático (Paltán. Et al., 2023), además de las temperaturas fluctuantes y recursos alimenticios limitados. Los bovinos cimarrones han logrado adaptarse a estas condiciones, probablemente a través de la selección natural de rasgos como eficiencia metabólica y resistencia al estrés térmico. En otras razas de bovinos, se ha identificado que genes relacionados con las proteínas de choque térmico (HSP) y la regulación hídrica juegan un papel crucial en la adaptación al calor y la sequía (Tijjani et

al., 2024). La secuenciación del genoma de estas vacas podría confirmar si poseen variantes genéticas similares que expliquen su resiliencia.

Además, el aislamiento geográfico y la falta de intervención humana durante siglos han permitido que estas vacas evolucionen de manera independiente, lo que las convierte en un modelo natural de estudio de la adaptación en ecosistemas insulares. Este fenómeno es comparable a lo que ocurre con otras especies endémicas de las islas, como los famosos pinzones de Darwin, que han desarrollado características únicas en respuesta a las presiones selectivas locales (Schofield, 1989).

b. Genómica

La genómica, como disciplina que analiza la totalidad del ADN de un organismo, ha revolucionado la forma en que se comprenden los procesos evolutivos y adaptativos. En el caso del ganado bovino, esta herramienta ha permitido identificar marcadores genéticos asociados con características clave como resistencia a enfermedades, eficiencia metabólica, y tolerancia a factores ambientales extremos. Estudios recientes han demostrado que el análisis del genoma bovino puede revelar información crucial sobre cómo ciertas poblaciones logran prosperar en ambientes hostiles (Tijjani et al., 2024).

Bush (2001) justifica el uso de los árboles filogenéticos no solamente como medios de reconstrucción sobre la historia evolutiva de los genes y de los organismos, sino también como instrumentos de predicción sobre lo que habrá de suceder evolutivamente en el futuro, sobre todo en sistemas de rápido y corta historia evolutiva, por ejemplo los virus, de forma que comparando tasas de sustitución de las sinónimas (S) y las no sinónimas (NS) la existencia de una mayor tasa de sustitución NS más alta que la tasa de sustitución S se propone como prueba a favor de la existencia de una selección positiva, y que por el contrario una mayor tasa de sustitución de S comparada con la tasa de NS evidenciara una selección purificadora.

b.1. Gen REN (Eje renina-angiotensina-aldosterona)

Hay diferencias genómicas que se observan como factores característicos de un tipo de animal. El gen REN en bovinos es el encargado de codificar la renina, esta es clave en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), específicamente su función es la regulación de la presión arterial y el equilibrio hidroelectrolítico. La expresión y función de este gen se asocian a homeostasis renal bajo condiciones de estrés ambiental o nutricional. Funcionalmente la renina activa el eje renina-angiotensina-aldosterona, siendo importante para regular la presión arterial, controlar reabsorción renal de sodio y agua; las mutaciones del gen REN en mamíferos se los asocia con enfermedades renales (Instituto Valenciano de Microbiología. s. f.).

Como parte de la expresión del gen REN en bovinos se observa la función fisiológica, la renina convierte el angiotensinógeno en angiotensina 1, iniciando la cascada que regula la reabsorción de sodio y agua en los túbulos renales (Weeth & Lesperance, 1965). Además, su expresión se modula como respuesta a cambios en la osmolaridad sanguínea o daño renal. Las mutaciones del REN producen que exista una acumulación proteica intracelular, apoptosis de células renales y fibrosis intersticial como sucede en enfermedades tubulointersticiales autosómicas dominantes.

En cuanto a los efectos metabólicos asociados con la adaptación insular, se hipotetiza un incremento en la carga de sodio como resultado de una posible ingesta de agua con elevada salinidad, debido a la limitada disponibilidad de fuentes hídricas de agua dulce en entornos como la isla Floreana, dentro del Parque Nacional Galápagos. Ante un aumento en la concentración de NaCl en el agua consumida por los bovinos, se produce una mayor excreción urinaria de sodio y un incremento en la osmolaridad plasmática. No obstante, la concentración urinaria se mantiene relativamente estable, gracias a la activación compensatoria del sistema renina-angiotensina-aldosterona

(SRAA), que contribuye al mantenimiento del equilibrio iónico. Mientras que, en relación al estrés renal, el incremento de sal en el agua que consume el ganado bovino provoca aumento de urea y creatinina séricas, cambios a nivel histopatológico como atrofia glomerular y congestión intramedular siendo parte de una hiperfiltración glomerular acelerando el daño renal crónico (Weeth & Lesperance, 1965).

b.2. Acuaporina 3

La acuaporina 3 (AQP3) localizada en las membranas basolaterales de las células del túbulo distal renal (TDR) y del túbulo contorneado renal (TCR) de bovinos, además, convive con la AQP2 en las propias células del epitelio. Ambas se encuentran en los mismos tipos de células y tienen un papel coordinado en la función de transporte de agua de la siguiente manera: la AQP2 establece una entrada de agua desde la luz tubular hasta el interior celular mientras que la AQP3 permite la salida al intersticio renal a través de la membrana basolateral, por lo que la AQP3 es importante para la reabsorción del agua en la nefrona distal. La AQP3 puede ser dependiente de ADH, pero no depende de ella para su funcionamiento como lo es la AQP2 (Nielsen et al.; 1997, Hasler et al., 2006).

De forma paralela a lo que ocurre en el riñón, en bovinos se ha constatado la expresión de AQP3 en otros sitios como el epitelio respiratorio, la epidermis y el globo ocular, aunque no se ha esclarecido del todo su función. Al igual que para lo que sucede en la nefrona, se supone que AQP3 transporta agua hacia el espacio pericelular después de que ha sido reabsorbida por otra acuaporina en la membrana apical (King et al., 2004). También AQP3 se ha demostrado que es permeable al glicerol, aunque se desconoce cuál es su relevancia fisiológica en bovinos (Ishibashi et al., 2011). Desde luego, hay que apuntar a que la actividad de AQP3 puede ser modulada por el pH y es inhibida en un medio ácido, pero también su función queda sujeta a mecanismos de fosforilación, lo que

lleva a pensar en un control postraducciona con posibles implicaciones fisiológicas significativas en la homeostasis hídrica bovina.

b.3. Gen SLC9A3

El gen SLC9A3, que codifica para el intercambiador sodio/hidrógeno tipo 3 (NHE3), es fundamental en la fisiología renal e intestinal de mamíferos. Su principal función es el transporte activo de sodio hacia el interior celular a cambio de protones, proceso que contribuye significativamente a la reabsorción de sodio y al equilibrio ácido-base, particularmente en el túbulo proximal del riñón y el epitelio intestinal (Chen et al. (2023).

En contextos fisiopatológicos, se ha demostrado que la pérdida de función de SLC9A3 altera la respuesta renal al estrés osmótico, modificando la expresión de canales y transportadores involucrados en la conservación de agua y electrolitos (Spencer et al. 2014). Por lo tanto, SLC9A3/NHE3 es un objetivo terapéutico potencial para el tratamiento de la hipertensión arterial y enfermedades renales, con estudios preclínicos que han mostrado beneficios tras su inhibición en modelos animales.

En cuanto a la adaptación evolutiva, la variación en SLC9A3 se ha observado en poblaciones de mamíferos adaptadas a climas áridos o con restricciones hídricas. Este gen ha sido identificado como un posible punto de divergencia positiva en especies que requieren eficiencia en la reabsorción renal de sodio, como podría ser el caso de bovinos criollos en ambientes extremos, como las Islas Galápagos. Tales condiciones podrían ejercer una presión selectiva que favorezca alelos funcionales específicos con una mayor eficiencia en la retención electrolítica (Ivanis, Braun, & Perry, 2008).

c. Bovino cimarrón de Galápagos

En Ecuador no se ha reconocido oficialmente la existencia de razas criollas de bovinos (Parra-Cortés et al., 2021). Sin embargo, los bovinos cimarrones de Galápagos podrían representar un caso único. Su aislamiento y las condiciones particulares de su entorno han podido dar lugar a un biotipo diferenciado, con características genéticas y fenotípicas únicas que justificarían su clasificación como una raza criolla autóctona. Establecer esta clasificación requeriría estudios detallados de su genoma y comparaciones con razas bovinas domésticas como: *Bos taurus* y *Bos indicus*.

El reconocimiento de estas vacas como una raza criolla no solo tendría valor histórico y cultural, sino que también abriría nuevas posibilidades para el mejoramiento genético y la conservación. Podrían convertirse en un recurso genético clave para enfrentar desafíos globales en la producción ganadera, como el cambio climático y la creciente demanda de sostenibilidad en sistemas de producción (Tijjani et al., 2024). Siendo no solo un vestigio de la historia colonial, sino también un testimonio viviente del poder de la evolución y la adaptación.

El estudio de los bovinos cimarrones en Galápagos tiene importantes implicaciones prácticas. En primer lugar, un conocimiento más profundo de su genoma podría ayudar a diseñar estrategias de manejo que equilibren su coexistencia con el frágil ecosistema de las islas. Por otro lado, las lecciones aprendidas de su adaptación natural podrían aplicarse en el diseño de programas de mejoramiento genético para otras razas en condiciones ambientales similares (Frigolet & Gutiérrez Aguilar, 2017). Además, su conservación como recurso genético único contribuiría a preservar la biodiversidad y a garantizar la sostenibilidad de las actividades ganaderas en la región. En un mundo donde los recursos naturales son cada vez más limitados, el conocimiento generado a partir de

estas poblaciones puede ofrecer soluciones innovadoras para sistemas de producción más resilientes y sostenibles.

d. Hipótesis:

Los bovinos cimarrones de Galápagos tienen variantes genéticas específicas relacionadas con la función renal, que les ha permitido adaptarse y sobrevivir en condiciones extremas en el archipiélago.

e. Objetivos del estudio

Objetivo General:

- Describir las bases genómicas para determinar al bovino cimarrón de Galápagos dentro del género *Bos*

Objetivos Específicos:

a. Comparar genes específicos de los bovinos cimarrones galapagueños con genes específicos de bovinos *Bos* obtenidos de la base de datos NCBI mediante el programa Mega y Clustal Omega

b. Analizar el genoma del bovino cimarrón de Galápagos, por medio de genes específicos, para evidenciar cambios en el mismo debido a adaptación por medio de cuadros de porcentaje de similitud genética y árboles filogenéticos

MATERIALES Y MÉTODOS

La parte experimental se llevó a cabo desde noviembre de 2024 hasta abril de 2025 en las Islas Galápagos (la recolección de muestras), en Quito (análisis de muestras y el análisis filogenético) y en Corea del Sur (la secuenciación de ADN); con un enfoque cuantitativo.

La población de estudio está conformada por los bovinos cimarrones de la Isla Isabela (descendientes de animales domésticos introducidos por los colonos de las islas y adaptados a las condiciones de la misma). La muestra está compuesta por 3 bovinos cimarrones previamente capturados, de los cuales se van a obtener 6 muestras de 5ml de sangre para el análisis genético. Como grupo de control, se utilizarán secuencias de ADN de bovinos domésticos y silvestres (*Bos taurus*, *Bos indicus*, *Bos taurus* x *Bos indicus*, *Bos javanicus* y *Bos mutus*) disponibles en la base de datos National Center of Biotechnology Information (NCBI) para comparar la variabilidad genética y evaluar adaptaciones de los bovinos cimarrones. Aunque la muestra es pequeña, el uso de datos de referencia permitirá realizar un análisis comparativo y generar una hipótesis sobre la diversidad genética y evolución de estos bovinos en el entorno insular.

La recolección de sangre se realiza de la vena coccígea en bovinos inmovilizando al animal en un brete o mediante sujeción manual adecuada para evitar estrés. Se desinfecta la base de la cola con alcohol al 70%, se deja secar y luego se localiza la vena coccígea en la cara ventral de la base de la cola y se introduce la aguja del vacutainer en un ángulo aproximado de 30°. El tubo con EDTA se conecta al vacutainer logrando así la recolección automática de sangre. Se retira el vacutainer y se aplica presión para evitar el sangrado. El tubo con la muestra se homogeniza con el anticoagulante, luego se almacenan las muestras en congelación para preservar la integridad del ADN. Para el transporte aéreo se colocan las muestras congeladas en un cooler asegurando la cadena de frío.

Se extrae el ADN genómico total de la muestra biológica utilizando un método de columna giratoria (Genejet Genomic DNA purification). La calidad y cantidad del ADN se evalúan mediante métodos electroforéticos. Después de evaluar la calidad del ADN, se prepara una biblioteca de ADN_g utilizando kits especializados con adaptadores

compatibles con TruSeq (Illumina). Se emplean 50 mg de cada ADNg, diluido con EB Buffer hasta alcanzar un tamaño de pico objetivo de 200 bp con la enzima de fragmentación. A la fragmentación le sigue la reparación de los extremos y la adición de la cola «A». Posteriormente, los adaptadores de índice Twist UDI se ligan a los fragmentos.

Tras evaluar la eficacia de la ligación, el producto ligado al adaptador se amplifica por PCR. El producto final purificado se cuantifica mediante TapeStation DNA screentape D1000 (Agilent). Para la captura del exoma, cada reacción de hibridación requiere un total de 1500 ng de bibliotecas indexadas. Luego, se mezclan con Hybridization mix, Twist Human Core Exome probe, RefSeq probe, Blocker solution y Universal Blocker, Hybridization Enhancer. El ADN capturado se lava y amplifica. El producto purificado final se cuantifica mediante qPCR y TapeStation DNA screentape D1000 (Agilent). A continuación, se secuencia utilizando la plataforma NovaSeq6000 (Illumina, San Diego, EE.UU.), y los datos de la secuencia se transforman en formato FASTQ.

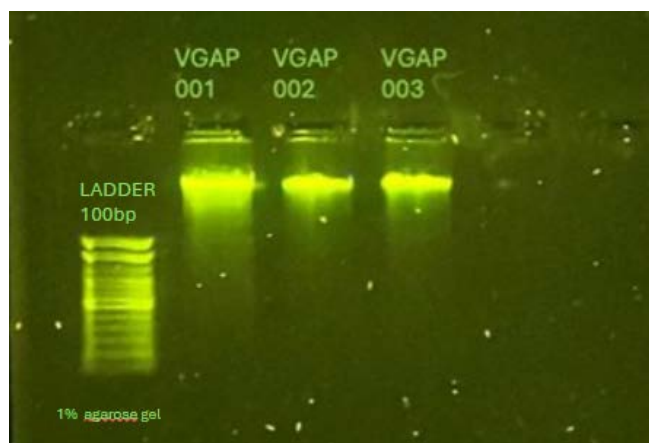


Figura 1: Integridad de las muestras

ADN genómico. Al lado izquierdo se evidencia la escalera, esta indica el tamaño de las bandas que tiene el ADN. ADN genómico está más arriba porque es de mayor tamaño, se evidencia ADN abundante y de calidad de las 3 muestras.

El análisis bioinformático comienza con el control de calidad de las lecturas de secuencias sin procesar. Se realizan lecturas de secuencia limpia de cada muestra y se mapean en el genoma de referencia *Bos taurus*. Para la alineación de lectura se utiliza el software Burrows-Wheeler Aligner (BWA-MEM). El marcado de lectura duplicado, la realineación local alrededor de indeles, la recalibración de la puntuación de calidad base y la llamada de variantes se llevan a cabo mediante algoritmos GATK (Sentieon). El contenido del panel se corta a partir de datos de secuenciación del exoma de alta calidad adquiridos previamente. La profundidad de secuenciación y la cobertura de la muestra analizada se calculan en función de las alineaciones. El ciclo de secuenciación incluye muestras de referencia en proceso para el control de calidad, que superan los umbrales de sensibilidad y especificidad.

La muestra del paciente se sometió a rigurosas medidas de control de calidad, después de lo cual las lecturas de secuencias sin procesar se transformaron en variantes mediante un pipeline bioinformático patentado. La diferencia entre la profundidad de secuenciación observada y esperada en el objetivo se calculó en las regiones genómicas y estas se dividieron en segmentos con número de copias de ADN variable. La profundidad de secuenciación esperada se obtuvo utilizando otras muestras procesadas en el mismo análisis de secuencia como referencia guía. Los datos de la secuencia se ajustaron para tener en cuenta los efectos de la variación de guanina y citosina. Después de realizar WES, se identificaron variantes que causan cambios no sinónimos, stopgain, splicing site y frameshift; se seleccionaron aquellas con frecuencia alélica menor (<0.05) en varias bases de datos.

Del genoma obtenido de las 3 muestras de bovinos cimarrones, se extrajeron los 3 genes que se compararon con los de la base de datos. Esto se realizó con el programa Clustal Omega y Mega donde se realizaron los respectivos alineamientos y creación de

árboles filogenéticos para posterior análisis. Los árboles filogenéticos fueron de ayuda para ver la cercanía que tienen entre especies en dependencia de el gen que se está comparando.

RESULTADOS



Figura 2. Bovino cimarrón de Galápagos

Ejemplar de bovino cimarrón, hembra. Posee colores y fenotipo característico: patrón café cobrizo y obscuro.

REN

Comparación del gen REN entre: *Bos taurus*, *Bos indicus*, *Bos taurus* x *Bos indicus*, *Bos javanicus*, *Bos mutus* y las muestras de bovinos cimarrones (13 muestras)

REN	<i>Bos mutus</i>	<i>Bos javanicus</i>	<i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> [AngusxBrahman]	<i>Bos indicus</i>	CimarronaV3	<i>Bos taurus</i> [Hereford]	CimarronaV1	CimarronaV2
<i>Bos mutus</i>	100.00	99.11	99.05	99.03	99.02	99.00	98.96	99.02
<i>Bos javanicus</i>	99.11	100.00	99.02	99.01	98.99	98.99	98.94	99.00
<i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> [AngusxBrahman]	99.05	99.02	100.00	99.87	99.61	99.61	99.53	99.65
<i>Bos indicus</i>	99.03	99.01	99.87	100.00	99.73	99.74	99.62	99.76
CimarronaV3	99.02	98.99	99.61	99.73	100.00	99.76	99.79	99.81
<i>Bos taurus</i> [Hereford]	99.00	98.99	99.61	99.74	99.76	100.00	99.74	99.87
CimarronaV1	98.96	98.94	99.53	99.62	99.79	99.74	100.00	99.85
CimarronaV2	99.02	99.00	99.65	99.76	99.81	99.87	99.85	100.00

Tabla 1: Comparación identidad porcentual gen REN

Con la matriz de identidad porcentual se analiza la similitud que tiene el gen REN entre los bovinos de género *Bos*. Siendo el más lejano porcentualmente el *Bos javanicus* y con el que se encuentra mayor similitud el *Bos taurus*.

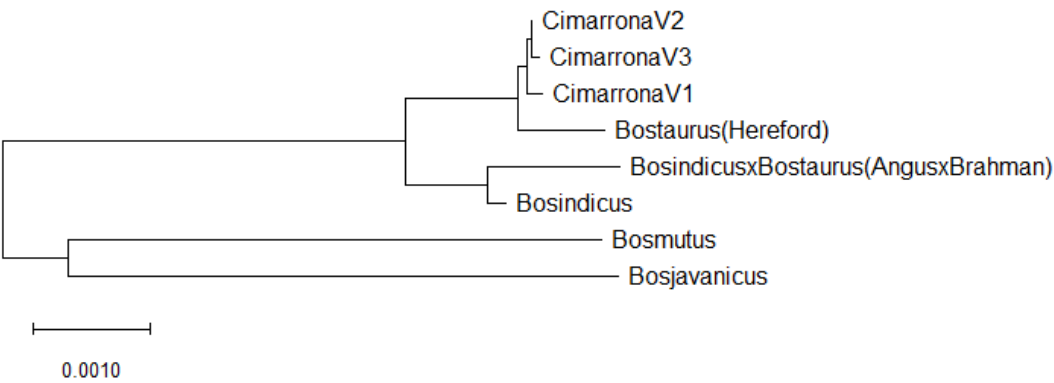


Gráfico 1: Árbol filogenético gen REN

Árbol filogenético del gen REN donde se comparan rumiantes del género *Bos*

AQP3

AQP3	<i>Bos javanicus</i>	<i>Bos indicus</i> [SahiwalxTharparkar]	<i>Bos mutus</i>	<i>Bos indicus x Bos taurus</i> [Angusx Brahman]	<i>Bos Taurus</i> [Hereford]	CimarronV1	CimarronV3	CimarronV2
<i>Bos javanicus</i>	100.00	99.58	99.00	99.08	99.14	99.13	99.13	99.13
<i>Bos indicus</i> [SahiwalxTharparkar]	99.58	100.00	99.09	99.21	99.28	99.29	99.29	99.29
<i>Bos mutus</i>	99.00	99.09	100.00	99.25	99.31	99.29	99.29	99.29
<i>Bos indicus x Bos taurus</i> [AngusxBrahman]	99.08	99.21	99.25	100.00	99.87	99.82	99.82	99.82
<i>Bos Taurus</i> [Hereford]	99.14	99.28	99.31	99.87	100.00	99.88	99.88	99.88
CimarronV1	99.13	99.29	99.29	99.82	99.88	100.00	100.00	100.00
CimarronV3	99.13	99.29	99.29	99.82	99.88	100.00	100.00	100.00
CimarronV2	99.13	99.29	99.29	99.82	99.88	100.00	100.00	100.00

Tabla 2: Comparación identidad porcentual gen AQP3

AQP3 entre los bovinos de género *Bos*. Siendo el más lejano porcentualmente el *Bos javanicus* y con el que se encuentra mayor similitud el *Bos taurus*.

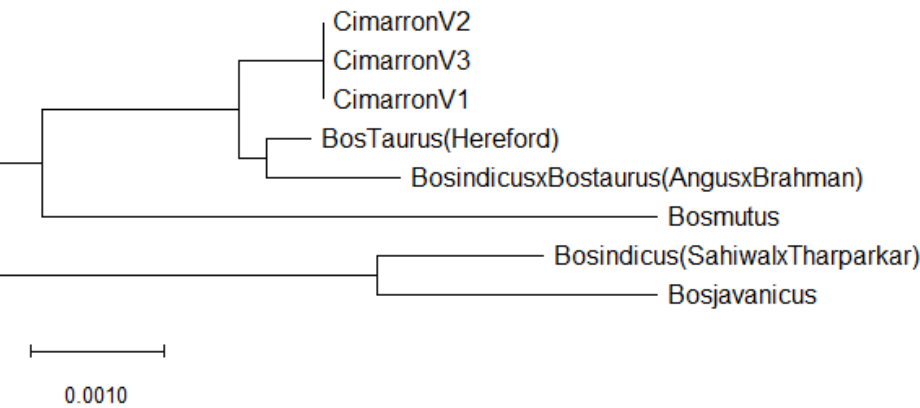


Gráfico 2: Árbol filogenético gen AQP3

Árbol filogenético del gen AQP3 donde se comparan rumiantes del género *Bos*

SLC9A3

SLC9A3	<i>Bos javanicus</i>	<i>Bos mutus</i>	<i>Bos indicus</i> [Sahiwal x Tharparkar]	<i>Bos taurus</i> [Hereford]	CimarronV1	CimarronV3	<i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> [Angus x Brahman]	CimarronV2
<i>Bos javanicus</i>	100.00	98.73	98.77	98.80	98.70	98.70	98.84	98.72
<i>Bos mutus</i>	98.73	100.00	99.37	99.20	99.24	99.24	99.23	99.26
<i>Bos indicus</i> [Sahiwal x Tharparkar]	98.77	99.37	100.00	99.76	99.72	99.72	99.78	99.72
<i>Bos taurus</i> [Hereford]	98.80	99.20	99.76	100.00	99.91	99.91	99.90	99.93
CimarronV1	98.70	99.24	99.72	99.91	100.00	100.00	99.98	100.00
CimarronV3	98.70	99.24	99.72	99.91	100.00	100.00	99.98	100.00
<i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> [Angus x Brahman]	98.84	99.23	99.78	99.90	99.98	99.98	100.00	100.00
CimarronV2	98.72	99.26	99.72	99.93	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabla 3: Comparación identidad porcentual gen SLC9A3

SLC9A3 entre los bovinos de género *Bos*. Siendo el más lejano porcentualmente el *Bos mutus* y con el que se encuentra mayor similitud el *Bos taurus*.

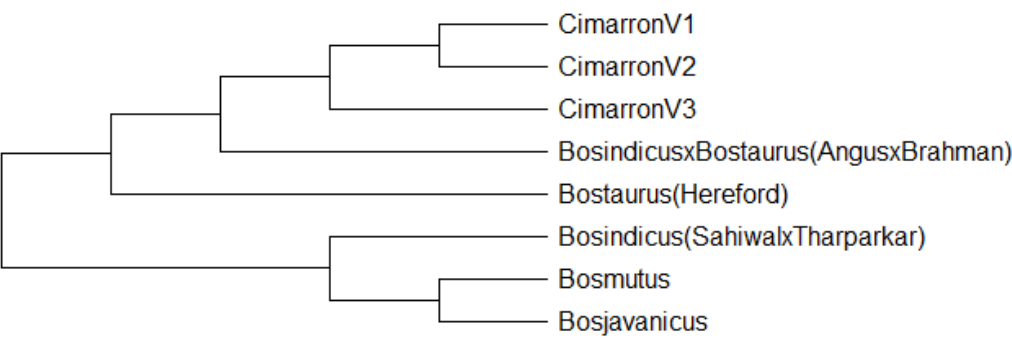


Gráfico 3: Árbol filogenético gen SLC9A3

Árbol filogenético del gen SLC9A3 donde se comparan rumiantes del género *Bos*

DISCUSIÓN

La diversidad genética es un factor clave para los bovinos cimarrones de Galápagos, las 3 muestras analizadas representan a 3 generaciones diferentes de estos bovinos cuya diversidad genética se evidencia en los distintos arboles filogenéticos. Así como sucedió con el ganado Criollo Mixteco presenta una alta diversidad genética, con una heterocigosidad esperada de 0.7700 y observada de 0.7170 (Domínguez Martínez, Et al. 2023). Estos valores indican una variabilidad genética significativa dentro de la población, lo que es esencial para su adaptación y resiliencia. La baja consanguinidad observada sugiere que la población ha mantenido su diversidad genética a lo largo del

tiempo, posiblemente debido a prácticas de manejo tradicionales que evitan el apareamiento entre parientes cercanos.

El análisis filogenético comparativo de los genes REN, AQP3 y SLC9A3 pone de manifiesto patrones evolutivos diferenciados en bovinos seleccionados y adaptados a ambientes extremos, y especialmente en el grupo Cimarrón. La implicación de estos genes en la función renal y la homeostasis hídrica se traduce en árboles filogenéticos tanto de su conservación como en aquellos grupos que podrían ser resultado de eventos de divergencia adaptativa.

El árbol filogenético del gen REN que codifica la renina (la enzima más relevante relacionada con la regulación de la presión sanguínea y el equilibrio de sodio), exhibe que las tres muestras Cimarronas (V1, V2, V3) presentan un clado suficientemente estrecho con *Bos taurus* (Hereford), lo que pone de manifiesto la fuerte conservación del alelo ancestral europeo. Este agrupamiento tan estrecho se puede interpretar como que no han podido llegar a producirse mutaciones relevantes en el locus REN en estas poblaciones, algo que podría estar asociado a una presión de selección baja en este locus. Siendo que el gen REN es el responsable de la codificación de la enzima renina, fundamental en el eje renina-angiotensinal-aldosterona (SRAA), Ksiazek et al. (2024) confirma que el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) es uno de los pilares fisiológicos más antiguos y adaptativos de los vertebrados. Es decir que, el sistema renina-angiotensina-aldosterona es una red hormonal clave para la retención de sodio y agua mediante la acción coordinada sobre el epitelio intestinal, el túbulo renal y la vasculatura sistémica.

La angiotensina II y la aldosterona, principales efectores del sistema, optimizaron la absorción intestinal de sal, la reabsorción tubular de sodio y agua y la eliminación selectiva de protones y potasio, generando así un entorno interno estable frente a condiciones externas variables. Desde una perspectiva evolutiva, los estudios

filogenéticos citados en el artículo revelan que los genes constituyentes del RAAS (como *ren*, *agt*, *ace* y *nr3c2*) han sido conservados en vertebrados óseos, y adaptados funcionalmente en linajes marinos, dulceacuícolas y terrestres (Ksiazek et al., 2024). Este patrón sugiere que el RAAS no solo permitió la conquista de tierra firme, sino que también facilitó la expansión ecológica hacia hábitats de alta osmolaridad, como los ambientes hipersalinos, al modular la homeostasis de agua y electrolitos.

Por otro lado, el árbol del gen AQP3, relacionado con el transporte de agua y glicerol en la membrana renal muestra un árbol prácticamente idéntico al que se muestra para el gen REN, de modo que el grupo Cimarrón se mantiene estrechamente relacionado con *Bos taurus*, aunque con una ligera proximidad al híbrido *Bos indicus* × *Bos taurus* (Angus × Brahman). Tal patrón podría indicar un inicio del proceso de divergencia por polimorfismos adaptativos de AQP3 en ganado con estrés hídrico. Si bien el análisis se hizo enfocándose en la divergencia del gen AQP3 y su función renal, los individuos muestreados fueron hembras; entonces basándose en otra función fisiológica del gen siendo identificada como una proteína con amplia distribución y expresión dinámica a lo largo del desarrollo del sistema reproductor masculino bovino.

Su expresión se evidencia en epitelios del túbulo seminífero, células de Sertoli, y en estructuras extragonadales como el epidídimo (principalmente la región de la cauda) y el conducto deferente. Oberska et al. (2024) evidencia que, en el desarrollo postnatal, AQP3 mostró un aumento significativo en su expresión, lo que sugiere un papel fundamental en la maduración funcional del aparato reproductor; correlacionándose con el inicio de la espermatogénesis activa y el incremento en las demandas de transporte de agua y glicerol, esenciales para la homeostasis del entorno espermático. Es decir que, AQP3 no solo regula el equilibrio hídrico relacionado con la función renal, sino también del microambiente testicular y epididimario participando activamente en el transporte de

solutos osmóticamente activos como el glicerol, contribuyendo así al metabolismo celular y la preservación de la función espermática.

Por otro lado, el árbol del gen SLC9A3, que codifica para un intercambiador Na^+/H^+ de especial importancia en la reabsorción de sodio en túbulos renales, muestra un patrón topológico muy distinto. En este árbol, las muestras Cimarronas aparecen agrupadas entre sí, pero muy separadas de *Bos taurus* y mucho más cercanas al híbrido *Bos indicus* $\times$ *Bos taurus*. Esto podría ser el reflejo de una presión de selección positiva sobre SLC9A3 en el entorno hostil de Galápagos, donde una alta eficiencia en el manejo electrolítico es una adaptación clave para sobrevivir en un ambiente extremo. Walsh et al. (2019) demostró que el gen SLC9A3, codificante para un intercambiador sodio/hidrógeno tipo 3 (NHE3), presenta señales claras de selección positiva en las poblaciones de *Melospiza georgiana* (gorrión de pantano) adaptadas a ambientes de marisma salina. Esta evidencia es particularmente relevante considerando la función esencial de SLC9A3 en la osmorregulación epitelial, un mecanismo crítico en entornos donde la homeostasis hídrica y el equilibrio iónico se ven comprometidos por la alta salinidad.

La señal genómica en torno a SLC9A3 sugiere que la presión selectiva ejercida por los hábitats hipersalinos ha favorecido variantes funcionales que optimizan la capacidad del epitelio intestinal y renal para conservar sodio y expulsar protones, manteniendo así la estabilidad osmótica (Walsh et al., 2019). Este hallazgo vincula directamente la divergencia ecológica adaptativa con un mecanismo fisiológico específico, apoyando la hipótesis de que la evolución de funciones renales y epiteliales ha sido clave en la colonización exitosa de ambientes salinos por parte de esta especie. Además, el hecho de que SLC9A3 no aparezca como gen bajo selección en las otras

especies de gorriones estudiadas refuerza el argumento de que la adaptación genética puede seguir trayectorias distintas, incluso bajo presiones ambientales convergentes.

La importancia el análisis genómico va por la caracterización genética de una raza que constituye a una herramienta fundamental para su conservación y manejo sostenible, siendo la raza la unidad operativa principal en los programas de preservación de los recursos genéticos animales. El estudio de Margulies et al. (2005) demuestra que, en análisis genómicos comparativos, la divergencia en la secuencia de ADN entre especies de mamíferos varía considerablemente, generalmente entre un 1% y un 5%, dependiendo del grupo taxonómico y de la tasa evolutiva específica de cada linaje. Estas diferencias reflejan la historia evolutiva independiente de cada especie y son cruciales para elegir modelos animales adecuados en estudios funcionales y filogenéticos. Esta caracterización permite identificar la diversidad genética intra e inter-poblacional, reconstruir la historia evolutiva de las razas, detectar eventos de introgresión o consanguinidad y orientar decisiones en programas de mejora genética (FAO. 2011).

En el caso del presente estudio, centrado en la caracterización genética preliminar del bovino cimarrón de la isla Isabela (Galápagos), se utilizó una muestra compuesta por tres individuos. Aunque el tamaño de muestra es reducido en términos estadísticos, esto se justifica por la naturaleza remota y de difícil acceso de la población objeto de estudio, así como por las limitaciones logísticas y éticas implicadas en la captura y manipulación de fauna feral dentro del Parque Nacional Galápagos. En contextos donde las poblaciones son pequeñas, dispersas o poco estudiadas, como es el caso de esta raza potencialmente única, estudios exploratorios con muestras limitadas pueden ofrecer una primera aproximación al acervo genético presente y sentar las bases para futuras investigaciones de mayor alcance (Nazareno. Et al. 2017). Si bien se recomiendan un mínimo de 25 individuos para análisis poblacionales robustos, también reconocen que en poblaciones

raras o amenazadas es válido iniciar con muestras pequeñas, siempre que se reconozcan las limitaciones asociadas (Hale., Burg., Steeves. 2012). El análisis de los datos incluye métodos como F-statistics, AMOVA, árboles filogenéticos, y enfoques bayesianos como STRUCTURE, los cuales permiten visualizar la estructura genética y priorizar razas para conservación. Factores como diversidad original, evolución separada, fenotipos únicos o presencia de alelos funcionales deben ser considerados al establecer el valor de una raza. Es decir, un análisis genómico no solo protege la biodiversidad ganadera, sino que garantiza la disponibilidad futura de rasgos adaptativos y productivos clave para enfrentar los desafíos del sector agropecuario.

CONCLUSIÓN

El presente estudio constituye al primer acercamiento científico al análisis genómico de los bovinos cimarrones de la Isla Isabela, Galápagos, con el propósito de establecer fundamentos técnicos para su potencial reconocimiento como la raza primera raza criolla ecuatoriana. Por medio de la secuenciación y análisis comparativo de genes clave implicados en la adaptación fisiológica a entornos externos: REN, AQP3 y SLC9A3; se ha evidenciado una alta similitud genética entre las muestras analizadas, esto sugiere que existe una población estructurada, genéticamente cohesionada y sometida a presiones selectivas específicas del ecosistema insular.

Los resultados filogenéticos indican cercanía evolutiva consistente entre los bovinos cimarrones y razas europeos del tipo *Bos taurus*, esto concuerda con registros históricos acerca de la introducción del ganado durante la colonización. Sin embargo, la divergencia observada en el gen SLC9A3 sugiere la acción positiva de mecanismos asociados a la homeostasis hídrica y al equilibrio de pH en ambientes con alta carga salina, lo que sugiere adaptación local. Este hallazgo es particularmente relevante, considerado la limitación de recursos hídricos dulces en las Islas Galápagos.

De igual manera, los árboles filogenéticos contruidos para cada gen confirman que las variantes Cimarronas conforman un clado genético diferenciado, con evidencia de conservación de funciones fisiológicas esenciales, junto con indicios de divergencia adaptativa. Estos elementos aportan evidencia sólida para argumentar que los bovinos cimarrones representan un recurso zoogenético particular, que tiene implicaciones para la biodiversidad ganadera, conservación genética y desarrollo de programas de mejoramiento adaptativo en el contexto del cambio climático.

En conjunto, esta investigación establece las bases para el avance a la declaración y registro del primer bovino criollo ecuatoriano. Aunque, es recomendable ampliar el estudio por medio del análisis de marcadores mitocondriales y el análisis de la estructura poblacional. Con este enfoque se puede consolidar el conocimiento acerca del origen, evolución y adaptación de la población bovina con la finalidad de identificar estrategias integrales de conservación y aprovechamiento sostenible del patrimonio genético.

REFERENCIAS

- Ayalew, W., Xiaoyun, W., Tarekegn, G. M., Tessema, T. S., Chu, M., Liang, C., Naboulsi, R., Van Damme, R., Bongcam-Rudloff, E., & Ping, Y. (2024). Whole-genome sequencing of copy number variation analysis in Ethiopian cattle reveals adaptations to diverse environments. *BMC Genomics*, 25, 10936. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10936-5>
- Bush. R. (2001). *Predicting adaptive evolution*. Nature reviews genetics. <https://www.nature.com/articles/35072023>

Chen, K.-C., Chang, M.-L., Lin, C.-S., Rajneesh, C. P., Liao, C.-H., You, W.-C., Maa, H.-C., & Wu, Y.-N. (2023). *Insight into SLC9A3 deficiency-mediated micturition dysfunction caused by electrolyte imbalance.*

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S075333222201544X>

Cooper, G. M., Brudno, M., NISC Comparative Sequencing Program, Green, E. D.,

Batzoglou, S., & Sidow, A. (2005). *Quantitative estimates of sequence divergence for comparative analyses of mammalian genomes.*

[Domínguez Martínez, M. Á., Hernández Núñez, V., Mariscal Méndez, A., Martínez Martínez, A., & Fuentes-Mascorro, G. \(2023\). Análisis genético del bovino Criollo Mixteco de Oaxaca. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 14\(2\), 475–484.](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242023000200434&script=sci_arttext)

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242023000200434&script=sci_arttext

FAO. (2011). *Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 9. Rome.*

<https://www.fao.org/4/i2413e/i2413e00.pdf>

Fdil. N. (2022). *Blood Physiology and its Functions.* Journal of Contemporary Medical Education.

<https://www.jcmedu.org/jcmedu-articles/blood-physiology-and-its-functions.pdf?utm>

Hale, M. L., Burg, T. M., & Steeves, T. E. (2012). *Sampling for microsatellite-based population genetic studies: 25 to 30 individuals per population is enough to accurately estimate allele frequencies.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045170>

Hasler, U., Nielsen, S., Féraillé, E., & Martin, P. Y. (2006). *Posttranscriptional control of aquaporin-2 abundance by vasopressin in renal collecting duct principal cells.*

<https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajprenal.00056.2005>

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC430923/>

Instituto Valenciano de Microbiología. (s. f.). *Renal relacionada con REN, Enfermedad ..., (REN-related kidney disease) - Gen REN.* IVAMI. Recuperado de

<https://www.ivami.com/es/pruebas-geneticas-mutaciones-de-genes-humanos->

[enfermedades-neoplasias-y-farmacogenetica/2451-pruebas-geneticas-renal-relacionada-con-ren-enfermedad-ren-related-kidney-disease-gen-ren](#)

Ishibashi, K., Kondo, S., Hara, S., & Morishita, Y. (2011). *The evolutionary aspects of aquaporin family.*

<https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpregu.90464.2008?utm>

Ivanis, G., Braun, M., & Perry, S. F. (2008). *Renal expression and localization of SLC9A3 sodium/hydrogen exchanger and its possible role in acid-base regulation in freshwater rainbow trout (Oncorhynchus mykiss).* <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90328.2008>

Jiménez. G., Carrión. V., Zabala-Albizua. J., Buitrón. P., Milstead. B. (2007). *Status of introduced vertebrates in Galápagos.*

https://www.researchgate.net/publication/274958978_Status_of_introduced_vertbrates_in_Galapagos

King, L. S., Kozono, D., & Agre, P. (2004). *From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology.* https://www.esalq.usp.br/lepse/imgs/conteudo_thumb/mini/From-structure-to-disease--the-evolving-tale-of-aquaporin-biology-1.pdf

Ksiazek, S. H., Hu, L., Andò, S., Pirklbauer, M., Säemann, M. D., Ruotolo, C., Zaza, G., La Manna, G., De Nicola, L., Mayer, G., & Provenzano, M. (2024). *Renin–Angiotensin–Aldosterone System: From history to practice of a secular topic.* *International Journal of Molecular Sciences.* <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/7/4035?utm>

Naranbat, D., à Brassard, L., Lawandy, N., & Tripathi, A. (2024). *Peripheral blood to next-generation sequencing ready DNA library: A novel engineering design for automation.* <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11494769/>

Nazareno, A. G., Bemmels, J. B., Dick, C. W., & Lohmann, L. G. (2017). *Minimum sample sizes for population genomics: An empirical study from an Amazonian plant species.*

<https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/136081/Nazareno%20et%20al.%202017a.pdf>

Nielsen, S., Chou, C. L., Marples, D., et al. (1997). *Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine.*

<https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00024.2001>

Oberska, P., Grabowska, M., Marynowska, M., Murawski, M., Gączarzewicz, D., Syczewski, A., & Michałek, K. (2024). *Cellular distribution of aquaporin 3, 7 and 9 in the male reproductive system: A lesson from bovine study (Bos taurus)*. <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/3/1567>

Paltán, H., Benítez, F., Narvaez, M., Mateus, C., Mena, C. (2023). *Water security and agricultural systems in the Galapagos Islands: vulnerabilities under uncertain future climate and land use pathways*. *Frontiers*. Vol 5-2023.

<https://www.frontiersin.org/journals/water/articles/10.3389/frwa.2023.1245207/full>

Parra-Cortes, R. I., Martínez Correal, G., & Valderrama-Rodas, M. (2021). *Situación actual y perspectivas de la ganadería de bovinos criollos en América Latina: Situación actual y perspectivas de los bovinos criollos*. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 29(3-4), 79-90. <https://doi.org/10.53588/alpa.293401>

Rodero, E., & Herrera, M. (2000). El concepto de raza: Un enfoque epistemológico. *Archivos de Zootecnia*, 49(186), 5-16. Universidad de Córdoba. <https://www.redalyc.org/pdf/495/49518602.pdf>

Spencer, A. G., Labonte, E. D., Rosenbaum, D. P., Plato, C. F., Carreras, C. W., Leadbetter, M. R., Kozuka, K., Kohler, J., Koo-McCoy, S., He, L., Bell, N., Tabora, J., Joly, K. M., Navre, M., Jacobs, J. W., & Charmot, D. (2014). *Intestinal inhibition of the Na⁺/H⁺ exchanger 3 prevents cardiorenal damage in rats and inhibits Na⁺ uptake in humans*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24622516/>

Stahl, P. W., Astudillo, F. J., Jamieson, R. W., Quiroga, D., & Delgado, F. (2020). *Historical ecology and archaeology in the Galápagos Islands: A legacy of human occupation*. University of Florida Press. <https://exhibits.library.uvic.ca/spotlight/galapagos/about/about>

Tijjani, A., Kambal, S., Terefe, E., Njeru, R., Ogugo, M., Ndambuki, G., Missohou, A., Traore, A., Salim, B., Ezeasor, C., D'Andre, C. H., Obishakin, E. T., Diallo, B., Talaki, E., Abdoukarim, I. Y., Nash, O., Osei-Amponsah, R., Ravaorimanana, S., Issa, Y., ... Hanotte, O. (2024). Genomic reference resource for African cattle: Genome sequences and high-density array variants. *Scientific Data*. <https://doi.org/10.1038/s41597-024-03589-2>

Walsh, J., Benham, P. M., Deane-Coe, P. E., Arcese, P., Butcher, B. G., Chan, Y. L., Cheviron, Z. A., Elphick, C. S., Kovach, A. I., ... & Lovette, I. J. (2019). *Genomics of rapid ecological divergence and parallel adaptation in four tidal marsh sparrows*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/evl3.126>