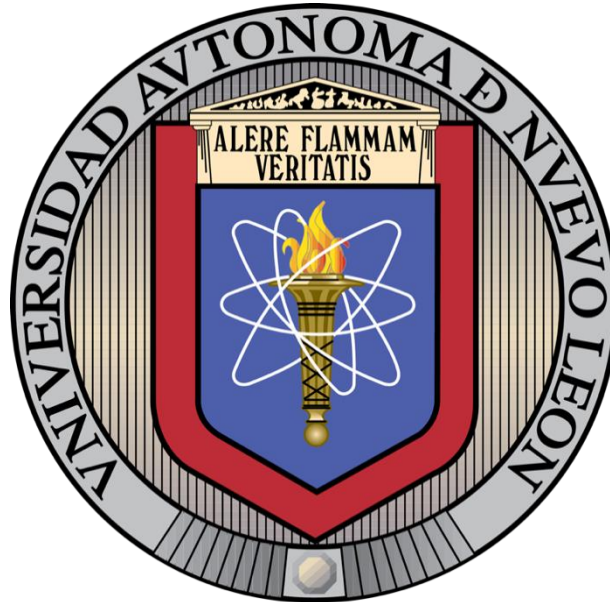


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
POSGRADO CONJUNTO EN CIENCIA ANIMAL**



**DIVERSIDAD ALÉLICA Y EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL GEN  
TBX20 SOBRE EL TEMPERAMENTO EN BOVINOS DE CARNE**

**TESIS  
QUE PRESENTA**

**M.V.Z. VÍCTOR MANUEL DEL REAL GARCÍA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**GRAL. ESCOBEDO, NUEVO LEÓN, MÉXICO**

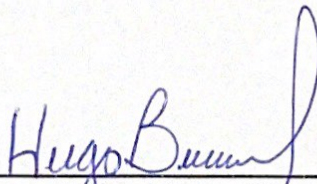
**JULIO 2021**

**DIVERSIDAD ALÉLICA Y EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL GEN  
TBX20 SOBRE EL TEMPERAMENTO EN BOVINOS DE CARNE**

**Tesis**  
**Que como requisito parcial para obtener el grado de**  
**MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**PRESENTA:**  
**M.V.Z. VÍCTOR MANUEL DEL REAL GARCÍA**

**Comité de Tesis**



---

**Dr. sc. agr. Hugo Bernal Barragán**  
**Director de Tesis**



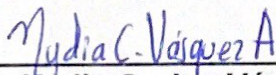
---

**Dra. Estela Garza Brenner**  
**Codirectora de Tesis**



---

**Dra. Ana María Sifuentes Rincón**  
**Codirectora de Tesis**



---

**Dra. Nydia Corina Vásquez Aguilar**  
**Codirectora de Tesis**

## ABREVIATURAS

<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AN</b>	Angus
<b>BR</b>	Brangus
<b>CBG</b>	Centro de Biotecnología Genómica
<b>CH</b>	Charolais
<b>CS</b>	<i>Chute score</i> (Puntuación en prensa)
<b>EV</b>	<i>Exit velocity</i> (velocidad de salida)
<b>FC</b>	Frecuencia cardiaca
<b>GWAS</b>	<i>Genomic wide association studie</i> (Estudio de asociación de genoma completo)
<b>IPN</b>	Instituto Politécnico Nacional
<b>Kb</b>	Kilobase
<b>MMC</b>	Media de mínimos cuadrados
<b>PCR</b>	<i>Polymerase chain reaction</i> (Reacción en cadena de la polimerasa)
<b>PS</b>	<i>Pen score</i>
<b>RSB</b>	<i>Resuspension buffer</i> (Buffer de resuspensión)
<b>SNP</b>	<i>Single nucleotide polymorphism</i> (Polimorfismo de nucleótido único)
<b>TS</b>	<i>Temperament score</i> (Puntaje de temperamento)
<b>UANL</b>	Universidad Autónoma de Nuevo León
<b>VS</b>	Velocidad de salida

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>Pág</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivos	2
1.2. Hipótesis	2
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
2.1. Evaluación de temperamento	3
2.2. Factores genéticos y ambientales que afectan el temperamento bovino	5
2.2.1. Ambientales	5
2.2.2. Genéticos	6
2.3. La genómica como estrategia de selección	9
2.4. El gen TBX20 y su relación con el temperamento	12
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>16</b>
3.1. Área de trabajo	16
3.2. Material biológico	16
3.3. Evaluación de temperamento	16
3.4. Colecta de muestras, extracción y cuantificación de ADN	20
3.5. Genotipificación	21
3.5.1. Frecuencias alélicas y genotípicas	27
3.6. Análisis estadístico	27
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>29</b>
4.1. Fenotipificación de temperamento	29

<b>4.2.</b>	<b>Diversidad alélica y estimación del efecto de TBX20-191081</b>	<b>30</b>
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>34</b>
<b>5.1.</b>	<b>Diversidad alélica del marcador TBX20-191081</b>	<b>34</b>
<b>5.2.</b>	<b>Temperamento y TBX20-191081</b>	<b>35</b>
<b>5.3.</b>	<b>Influencia de la raza sobre el temperamento</b>	<b>35</b>
<b>5.4.</b>	<b>Impacto de SNPs intrónicos</b>	<b>36</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>38</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>39</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág
1	Información de procedencia, raza y número de animales utilizados en el estudio	19
2	Información de los primers para el SNP del genTBX20	22
3	Composición general para llevar a cabo la amplificación en la primera etapa de PCR	22
4	Composición general para llevar a cabo la amplificación en la segunda etapa de PCR	23
5	Programa de condiciones aplicadas en el termociclador para realizar la primera PCR	23
6	Programa de condiciones aplicadas en el termociclador para realizar segunda PCR	24
7	Programa que indica el proceso en diferentes etapas; realizado para la PCR, según el sistema MiniSeq	25
8	Medias y desviación estándar de la población animal total de acuerdo con las tres pruebas de temperamento, velocidad de salida (VS), comportamiento en corral o <i>pen score</i> (PS) y puntaje de temperamento ( <i>Temperament score</i> , TS)	29
9	Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador 191081 en la población estudiada (n=89)	31
10	Medias de mínimos cuadrados $\pm$ error estándar del efecto de la raza sobre características de temperamento	32
11	Medias de mínimos cuadrados $\pm$ error estándar (MMC) y efecto sustitución alélica (G $\beta$ ) de locus 191081 en el gen TBX20 sobre características de temperamento	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig</b>		<b>Pág</b>
<b>1</b>	<b>Diagrama que indica el flujo de trabajo realizado para llevar a cabo la genotipificación sobre la plataforma Galaxy</b>	<b>27</b>

## **RESUMEN**

El temperamento en el ganado bovino se define como la respuesta conductual de los animales al manejo por el hombre, la cual se ve influenciada por elementos del tipo de manejo, el contexto social, los estímulos novedosos y el entorno físico. La expresión del temperamento bovino depende de factores ambientales y genéticos. La edad, raza, peso, estación del año, grupo de estudio, el peso a los 18 meses (edad que permite a los sistemas de crianza alcanzar tasas más rápidas de mejoramiento genético) y la edad de la vaca al parto son considerados factores ambientales, mientras que dentro de los efectos genéticos, se incluyen las variaciones en el genoma del animal. Algunos genes han sido asociados con el temperamento bovino. De ellos, el gen TBX20 es un gen candidato con un polimorfismo de un solo nucleótido (TBX20-191081), localizado en una región no codificante del gen, que tiene un efecto significativo en la expresión del temperamento. El objetivo de este trabajo fue determinar la variabilidad genética de tres razas de bovinos de carne (Angus, Brangus, Charolais), con el fin de confirmar el efecto de TBX20-191081 en ganado de carne. Se encontró que el SNP TBX20-191081 muestra una amplia variabilidad genética en las razas analizadas. El análisis de asociación mostró relación del alelo G, que disminuye los parámetros de temperamento evaluados, por lo que se evidencia su asociación con la docilidad del ganado bovino de carne.

**Palabras Clave:** bovinos de carne, SNP, temperamento, TBX20



## **ABSTRACT**

Temperament in cattle is defined as a behavioral response to human handling, which is influenced by handling elements, social context, novel stimuli, and the physical environment. The expression of bovine temperament depends on environmental and genetic factors. The age, breed, weight, season of the year, study group, weight at 18 months (age that allows systems to achieve faster rates of genetic improvement), age of the cow at calving are considered environmental factors, whereas genetic effects include variations in the genome of the animal. Several genes have been associated with bovine temperament, of which the TBX20 gene is a candidate gene, with a single nucleotide polymorphism (TBX20-191081) located in a non-coding region of the gene, that has a significant effect on temperament. The objective of this work was to determine the genetic variability of three breeds of beef cattle (Angus, Brangus, Charolais), to confirm the effect of TBX20-191081 in beef cattle. Results obtained show that the three breeds studied show a wide allelic diversity. The association analysis indicated that there is an effect of the studied marker. It was found that the SNP TBX20-191081 shows a wide genetic variability in the breeds analyzed. The association analysis showed that the substitution of the G allele reduces the temperament parameters evaluated, so its association with the docility of beef cattle is evidenced.

**Key words:** Beef cattle, SNP, temperament, TBX20.

## 1. INTRODUCCIÓN

La ganadería de carne es una de las actividades pecuarias más desarrolladas y practicadas en México, ya que, utilizando más del 50% de la superficie nacional se crían alrededor de 32 millones de cabezas de ganado bovino (SIAP, 2020). La producción de ganado bovino para carne, principalmente en los sistemas extensivos, debe tener eficiencia en la reproducción y la ganancia de peso.

En el sistema de ganado de carne existen múltiples interacciones de los animales con los humanos, debido a la variedad de prácticas de manejo que se llevan a cabo, tales como: registro de parámetros productivos, destete, transporte y eventos relacionados con la salud del animal (Schmidt *et al.*, 2014).

En los hatos se han observado diferencias en el comportamiento, que frecuentemente tienen efectos sobre la eficiencia de crecimiento y de reproducción, calidad de la canal y bienestar en general (Parham *et al.*, 2019), por estas razones el temperamento ha tomado importancia en la producción cárnica bovina.

El temperamento del ganado se ha descrito, desde décadas atrás con estudios donde se evaluaron las diferencias de temperamento entre razas bovinas, como la respuesta del animal al manejo por parte de los humanos (Tulloh, 1961; Burrow, 1997), y así como la variación en la respuesta de comportamiento a eventos estresantes (Cafe *et al.*, 2011). El material genético de cada animal tiene un papel importante en la expresión del temperamento. Hohenboken (1987) describió que el ganado *Bos indicus* se comporta de manera más excitable en corrales e instalaciones de trabajo en comparación con el ganado *Bos taurus*. Tomando en cuenta estas diferencias, Paredes-Sánchez *et al.* (2019), identificaron un marcador genético (TBX20-191081) en la raza Brahman, ubicado en una región intrónica del

gen TBX20, siendo el alelo A relacionado con aumentos en el temperamento excitable.

Esta investigación se avocó a determinar el efecto y la variación de las frecuencias alélicas del mencionado marcador genético en una población de tres diferentes razas, Angus, Brangus y Charolais, relacionando esta información con aspectos de la importancia del temperamento en la ganadería y el impacto en los programas de mejoramiento genético.

### **1.1. Objetivo**

El objetivo de este trabajo consistió en determinar la variabilidad alélica del marcador TBX20-191081 en poblaciones de tres razas de bovinos de carne y evaluar su efecto sobre el temperamento, evaluado por tres pruebas de temperamento.

### **1.2. Hipótesis**

Los individuos evaluados pertenecientes a las tres diferentes razas a estudiar poseerán variabilidad genética (diferencia entre los genotipos AA, AG y GG) que se asociará a la expresión de temperamentos, pudiendo estos ser dóciles o agresivos, evaluados por pruebas de comportamiento, como la velocidad de salida (VS) y la puntuación en corral (*pen score*, PS), así como el puntaje de temperamento (*temperament score*, TS)

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Evaluación de temperamento

La respuesta de comportamiento al manejo realizado por el hombre es la definición de temperamento en el ganado bovino (Bruno *et al.*, 2018). La importancia de esta respuesta se manifiesta en el hecho de que incrementos en el temperamento afectan negativamente rasgos de importancia económica para la producción cárnica, pues el temperamento evaluado con dos pruebas, la velocidad de salida (VS) y la puntuación en prensa o *chute score* (CS), han indicado que aumentos en los registros de CS y VS tiene efecto perjudicial sobre el peso de la canal ( $P < 0.001$  y  $P = 0.001$ , respectivamente) (Cafe *et al.*, 2011).

El temperamento puede ser evaluado mediante diferentes técnicas que pueden ser denominadas restrictivas y no restrictivas, según la clasificación de Burrow (1997). También pueden ser clasificadas como técnicas objetivas y subjetivas, según el modo de obtención de la información que resulta de ellas (Hulsman Hanna, 2018). Ambos tipos de pruebas valoran el temperamento de los animales, las pruebas objetivas obtienen información imparcial y numérica que es conseguida con un margen de error menor al de pruebas subjetivas, este margen de error es creado por el sesgo del observador que lleva a cabo la prueba. Las pruebas subjetivas producen resultados relativos, según la perspectiva del evaluador (Parham, 2018). Algunos ejemplos de estas técnicas objetivas para evaluar temperamento de bovinos son: la velocidad de salida (VS) (*exit velocity*, EV), así como dispositivos medidores del movimiento, evaluador de tensión, y la medición objetiva de prensa o *chute*. Estas técnicas de medición del temperamento producen información objetiva y cuantificable.

Las técnicas subjetivas, se centran en trabajar con información cualitativa, que atribuye, ya sea un nivel (1= dócil, 2= ligeramente alarmado, 3= moderadamente alarmado, 4= muy alarmado, 5= agresivo) o estado de temperamento (por ejemplo, agitación, agresividad, calma o huida) para obtener un solo puntaje final, teniéndose en cuenta la importante experiencia del evaluador u observador. De acuerdo con Yu (2020), algunas de las técnicas subjetivas son: la prueba de docilidad o comportamiento en corral (*pen score*, PS; Le Neindre *et al.*, 1995), puntuación en prensa o *chute score* (CS; Tulloh, 1961), distancia de huida (*flight distance*; Fordyce *et al.*, 1982), puntuación de carrera (*race score*; Turner *et al.*, 2011) y evaluación cualitativa de comportamiento (*Qualitative behavior assessment*, QBA; Sant-Anna y da Costa, 2013).

También existen las evaluaciones fenotípicas, basadas en la observación de características físicas del animal que previamente han sido relacionadas con el temperamento, consideradas como evaluaciones indirectas de docilidad (Grandin *et al.*, 1995; Norris *et al.*, 2014).

El puntaje de temperamento o *temperament score* (TS), utilizado en el presente estudio, fue creado a partir del análisis estadístico realizado por King *et al.*, en 2006, y nombrado en dicha investigación como “Temperament index”, el cual se utiliza para poder clasificar a los animales como calmados, intermedios y temperamentales. Esta medida combina el método subjetivo, PS, y el método objetivo, VS, para obtener un dato que clasifica el comportamiento de los animales, para clasificar a los animales como calmados y temperamentales, convirtiéndose así en una herramienta útil para la evaluación del temperamento. De acuerdo con

King *et al.*, (2006), Burdick *et al.*, (2010) y Schmidt *et al.*, (2014), esto proporciona una medida más útil de temperamento que cualquiera de los métodos con un dato individual, dado que permite observar los mismos rangos de distribución numérica para asignación del temperamento.

## **2.2. Factores genéticos y ambientales que afectan el temperamento bovino**

La expresión del temperamento está regulada por factores ambientales y características de manejo, así como de factores genéticos (Fordyce *et al.*, 1988; Cooke, 2014).

### **2.2.1. Ambientales**

Cooke *et al.*, (2014) mencionan algunos factores ambientales, como el sexo, edad y manejo, como ejemplos de los elementos ambientales que tienen influencia sobre la expresión del temperamento bovino. Las diferencias de temperamento debidas al sexo mencionadas por Brouček *et al.*, (2008), indican que las hembras presentan temperamentos con mayor dificultad para realizar prácticas de manejo que los machos. Así mismo, los resultados de Lees *et al.*, (2020), indican que en la raza Angus, las hembras demostraron temperamento más excitable que los machos, pues los registros de las hembras fueron mayores para las pruebas de VS y CS.

Sin embargo, Estévez *et al.*, (2021), mencionan características de la raza ganadera de los Pirineos, en los que las hembras tienden a volverse más dóciles que los machos, conforme la edad del animal avanza, y el manejo diario se va realizando; en contraste, los machos presentan temperamentos más variables y las experiencias tempranas marcan en mayor grado el temperamento.

Se ha documentado que los toros también pueden tener procesos de adaptación que mejoran el temperamento a través del tiempo y con el manejo realizado en ellos, como lo demuestran Braz *et al.*, (2020), en el estudio realizado con un grupo de toros de la raza Nellore. Según Littlejohn *et al.*, (2016), las experiencias a temprana edad después del nacimiento determinan en un grado importante el temperamento, pero también son importantes las experiencias vividas previo al nacimiento, ya que los becerros nacidos de hembras de la raza Brahman, que fueron expuestas a situaciones de estrés en la gestación, notificaron temperamentos más excitables.

El manejo implementado en las unidades de producción pecuaria a cierta edad y de cierta manera, tienen, sin duda, un importante papel en el desarrollo de temperamentos para los bovinos, y esto determinará en la etapa adulta las respuestas o conductas que puedan desarrollar los bovinos frente al manejo que realizan los humanos, pues en unidades de producción donde los eventos son menos estresantes, los animales con el paso del tiempo presentan temperamentos más dóciles, afectando en menor manera factores que son económicamente relevantes para la industria de la carne (Parham *et al.*, 2020; Hoppe *et al.*, 2010).

### **2.2.2. Genéticos**

Los efectos de los factores genéticos han sido evaluados en diferentes ocasiones, realizando una asociación de información del temperamento del ganado bovino con marcadores genéticos. Reportes en la literatura asocian la información del temperamento en ganado bovino relacionado con marcadores genéticos y con efectos de diferentes loci de caracteres cuantitativos en diversos genes que se correlacionan con la variabilidad del temperamento y por lo tanto diferencias en los

rasgos productivos (Hulsman Hanna *et al.*, 2014; Lindholm-Perry *et al.*, 2014; Gutiérrez-Gil *et al.*, 2008).

Un estudio comparativo elaborado por Costilla *et al.* (2020), de genes ortólogos en bovinos y humanos estuvo centrado en conocer los factores genéticos que contribuyen a las variaciones de temperamento entre individuos de diferentes especies, así como para investigar la asociación del temperamento bovino con polimorfismos en genes relacionados con neuroticismo o inestabilidad emocional, esquizofrenia, desorden del espectro autista, y con desarrollo de retraso mental en humanos. Se llevó a cabo la fenotipificación, obteniéndose tres grupos que en conjunto con la prueba de comportamiento VS como parámetro analizado y el GWAS realizado se determinó que la VS tiene una heredabilidad genética de moderada (0.26) a alta (0.49); de acuerdo con el rango general de 0.05 a 0.70 (Costilla *et al.*, 2020) y un promedio general de las estimaciones de la heredabilidad del temperamento bovino de 0.36.

Así mismo, reportes en la literatura indican un complejo control de diferentes rasgos en diferentes especies de mamíferos por parte de genes ortólogos. Esto explica que diversos genes en diferentes especies mamíferas controlan un mismo o diferentes rasgos, convirtiéndose en procesos múltiples para un mismo fin (Costilla *et al.*, 2020).

En una investigación realizada con bovinos de cruce Nellore-Angus, se evaluaron los siguientes cinco aspectos de temperamento, los cuales fueron agresividad, nerviosismo, volatilidad, comportamiento gregario y temperamento general. Los resultados de heredabilidad fueron considerables, para agresividad 0.51,



nerviosismo 0.40, volatilidad 0.45, comportamiento gregario 0.49 y temperamento general 0.47 (Riley *et al.*, 2014).

Los resultados de heredabilidad en relación con tres diferentes pruebas de temperamento determinaron una heredabilidad moderada, pues para VS el puntaje fue de 0.26, para PS de 0.33 y para TS un resultado de 0.34, dentro de una población de ganado cruza Brahman y razas británicas (Littlejohn *et al.*, 2018). Estos datos ayudan a comprender y demuestran que el temperamento en bovinos es un rasgo que se puede heredar de manera considerable, y que, por lo tanto, es viable tomarlo en cuenta para programas de mejoramiento genético, ya que podrán observarse cambios fenotípicos, según el temperamento que se desea observar.

Diferentes investigaciones (Cooke *et al.*, 2014, 2017; Friedrich *et al.*, 2015; Olson *et al.*, 2019) han señalado que el temperamento excitable de los purasangres de *Bos indicus* o sus cruzas (principalmente de la raza Brahman) afecta negativamente el rendimiento del ganado, la seguridad humana y el bienestar de los animales. Debido a ello, a veces se evita su inclusión y uso en programas de empadre, perdiendo con ello los beneficios de su mejor adaptabilidad a regiones agroclimáticas extremas (Riley *et al.*, 2016).

En un estudio realizado con ganado Simmental, se analizó el desempeño de los animales según la clasificación de temperamento, registrando el ganado con temperamento dócil diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ), un peso mayor (597.5 kg), al del grupo intermedio o moderados (578.0 kg) y del grupo excitable (575.7 kg), es decir una diferencia de 19.5 kg y 21.8 kg respectivamente (Cziszter *et al.*, 2016).

En vacas Nellore se encontraron efectos negativos del temperamento excitable, sobre aspectos de reproducción y manejo y de ganancia de peso, pues vacas identificadas como excitables destetaron crías con un peso 16 kg menor, en comparación al de las vacas identificadas como dóciles. (Cooke *et al.*, 2017).

### **2.3. La genómica como estrategia de selección**

Los esfuerzos por aplicar la genómica como una estrategia de selección han incluido la estimación de la heredabilidad del temperamento a partir de haber utilizado la velocidad de salida (EV) como prueba objetiva de temperamento (Schmidt *et al.*, 2014; Haskell *et al.*, 2014), y haber aplicado el uso de diferentes herramientas biotecnológicas, para determinar la base molecular de este rasgo, como el genotipado mediante técnicas de última generación que ha permitido identificar genes candidatos relacionados con el comportamiento bovino (Friedrich *et al.*, 2015; Garza-Brenner *et al.*, 2017; 2019, 2020; Hulsman Hanna *et al.*, 2014).

En cuanto a las características del temperamento, este es un rasgo de difícil integración a los programas de reproducción, pues se asume como un rasgo multidimensional, lo que quiere decir que para medirse se deben tomar en cuenta dos factores, factores ambientales, como la edad, manejo y condicionamiento o habituación del animal, y factores genéticos, como la heredabilidad del temperamento, no olvidando que para los rasgos de temperamento no existe un único método de medición capaz de evaluar integralmente el comportamiento animal (Friedrich *et al.*, 2015; CRC For Beef Genetic Technologies, 2012). Además, para que para la evaluación del temperamento sea exitosa se requiere la obtención de datos de los fenotipos a estudiar, así como del conocimiento de la

selección asistida por marcadores genéticos, basándose esta en aprovechar genotipos asociados a características productivas favorables (Rezende *et al.*, 2012)

Es de gran importancia remarcar el impacto que tiene la identificación de genes y de los alelos favorables ligados a rasgos productivos dentro de una población de estudio, pues la selección de animales con estos alelos o con los rasgos de interés presentes en los programas de mejoramiento genético otorga mayor eficiencia productiva, mejora la seguridad laboral, y enriquece el bienestar animal que se puede traducir a beneficios económicos (Valente *et al.*, 2017).

La genómica selectiva revela la asociación de genes y el temperamento bovino, así como de otros rasgos de importancia productiva. Eusebi *et al.*, (2019), estudiaron la región BTX del cromosoma X, que contiene el gen *MAOA*, y dentro de este descubrieron polimorfismos en repetición en tándem de citosina que se relacionan con la presentación de temperamento agresivo. Hulsman Hanna *et al.*, (2014), estudiaron la asociación de 54,609 SNP (SNP50 bovino) con el temperamento bovino en una población de Nellore-Angus, midieron el temperamento general al destete (basado en la separación social), e identificaron 37 regiones genómicas asociadas con el temperamento y localizaron 172 genes e identificaron términos significativos de ontología genética, relacionados con el transporte de iones de sodio.

En otra investigación enfocada al temperamento, Lindholm-Perry *et al.*, (2014), mediante un estudio de asociación de genoma completo determinaron la asociación de regiones genómicas (BTA9 y 17) conteniendo los genes *quaking* (QKI), *glutamate receptor, ionotropic, AMPA 2* (GRIA2) y *glycine receptor  $\beta$*  (GLRB), y con

la genotipificación identificaron SNPs dentro o flanqueando estos genes, determinándolos como candidatos en los efectos del temperamento. En un estudio de asociación del rasgo de temperamento y genes, Valente *et al.*, (2016) utilizó la velocidad de salida para medir el temperamento bovino y la matriz 777K en una población de Nellore, identificando 6 nuevos genes candidatos (NCKAP5, PARK2, ANTXR1, GUCY1A2, CPE y DOCK1) para participar en este rasgo.

El temperamento también es importante en el ganado bovino productor de leche (Chen *et al.*, 2020), en donde se ha reportado relación existente entre ocho diferentes genes (GRIN3A, KCNJ3, BOSTAUV1R417, BOSTAUV1R419, MAP2K5, KCTD3, GAP4, y LSAMP) y el temperamento del ganado norteamericano Holstein. Con la información de estos estudios se entiende que ayudan a detectar, en primera instancia, genes asociados a rasgos de importancia en la producción, y posteriormente los alelos de estos genes con características favorables, que contribuyen a mejorar la producción ganadera, obteniendo mayores beneficios económicos.

Esta herramienta de selección para el mejoramiento del ganado tiene un amplia variedad de aplicaciones, no solamente se limita a la identificación y selección de temperamentos deseables, también es útil en otros parámetros de producción y para seleccionar genes con rasgos de interés, como es el caso de la identificación de cuatro SNPs y diferentes alelos (g.24169C > T, g.24256T > A, g.24267 G > C y g.24413T > A) dentro del gen *LEPR* en ganado chino, realizada por Raza *et al.*, (2020), que favorecen la deposición de grasa en músculo. Zhao *et al.*, (2020), descubrieron cuatro SNPs y sus variantes alelos (g.5785C > T, g.5816A > G and g.6535A > G y el diplotipo H1H3) en el gen *MYF5*, que influyen de manera

positiva rasgos de crecimiento y rasgos de la calidad de la carne. En objetivo de esta herramienta es el conocer cómo se comporta el rasgo de *scurs* en ganado bovino alemán Holstein, para poder seleccionar animales que tengan únicamente genotipos determinados a no presentar cuernos, que es un rasgo importante relacionado con el manejo en las diferentes granjas y su impacto en el bienestar animal (Gehrke *et al.*, 2020).

Para llevar a cabo esta estrategia de selección asistida es necesario que se defina el objetivo de crianza que se desea alcanzar y hasta qué punto de este mismo objetivo se quiere llegar, basándose en la factibilidad y viabilidad para registrar información acerca del fenotipo a evaluar, así como analizar la correlación genética del rasgo a estudiar, la heredabilidad y la importancia económica del mismo (Chang, 2020), permitiendo así la creación de programas integrales de mejoramiento genético, donde se pueden tomar en cuenta diversos rasgos de importancia económica, y hacer que se perpetúen o se eleven las frecuencias de alelos favorables en las poblaciones de animales.

#### **2.4. El gen TBX20 y su relación con el temperamento**

En el contexto de estudiar la predisposición genética a presentar temperamentos más excitables Paredes-Sánchez, *et al.*, (2019), identificaron mediante un análisis de GWAS en la raza Brahman, un SNP ubicado en una región intrónica del gen TBX20, asociado a rasgos de temperamento como la velocidad de salida (VS), comportamiento en el corral (*Pen Score*, PS) y un *score* de temperamento (*Temperament Score*, TS). Este gen forma parte de la familia de factores de

transcripción T-box y se expresa en estados de desarrollo del corazón, extremidades, ojos y el tubo neural ventral.

Este gen es un candidato fuerte para asociarse a la expresión de temperamento, como el marcador TBX20-191081, ya que el alelo A asociado con aumentos en el temperamento excitable mostró efecto sobre la VS ( $P < 0.0001$ ) y sobre el TS ( $P = 0.0003$ ), aunque no mostró asociación con el comportamiento registrado en el corral o *pen score* (PS). El genotipo GG de este marcador se asoció con el temperamento más tranquilo registrado mediante la medición de la velocidad de salida, ya que el genotipo GG fue 1.20 y 1.76 m/s más lento que los genotipos heterocigotos AG y homocigotos AA, respectivamente. Respecto a la prueba de VS ( $P < 0.0001$ ) el genotipo GG tuvo en efecto significativo, que fue 1.35 y 1.95 m/s más lento que los genotipos AG y AA, respectivamente; y en la prueba de TS el genotipo GG tuvo una puntuación menor, la diferencia fue 1.41 y 1.24 puntos para los genotipos AG y AA, correspondientemente. El genotipo AA exhibió un Score de Temperamento de 0.25 y 1.25 más alto que los de los genotipos AG y GG (Paredes-Sánchez *et al.*, 2019).

El aumento del temperamento excitable, asociado con la presentación del alelo A en el marcador, conlleva alteraciones metabólicas y fisiológicas que tienen un impacto en lo productivo y en lo económico de la cadena de producción cárnica.

El estrés producido conduce al sistema nervioso simpático a activar al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Eje HHA), elevando las concentraciones séricas de cortisol. Estos cambios fisiológicos tienen impactos negativos en el consumo de alimento que se traduce a una disminución en la disponibilidad de nutrientes para

mantener de manera óptima el funcionamiento del cuerpo y el crecimiento en los animales, y en lo que a reproducción se refiere disminuye el desempeño reproductivo. Este temperamento implica un manejo difícil y tardado del ganado, aumentando el riesgo de lesiones tanto para el ganado como para el personal de las unidades de producción pecuarias (Francisco, 2020; Mello, 2020).

El gen del factor de transcripción T-box (TBX20) ha sido estudiado en algunas especies. Johnson *et al.* (2015) utilizaron un banco de 48,200 SNPs, para analizar la composición genética de dos cepas de zorro (*Vulpes vulpes*) respecto al factor de transcripción T-Box (TBX20). Diferenciaron la llamada cepa domesticada (ansiosa por establecer contacto humano) y la denominada cepa agresiva (agresiva y difícil de manejar). Los resultados revelaron que se debe a una divergencia genética entre las dos cepas y los SNP con diferencias significativas en la frecuencia de los alelos entre las poblaciones domesticadas y agresivas. El gen TBX20 se localizó cerca o dentro (~ 50 Kb) de estos marcadores, proponiéndolo como un gen candidato para participar en la regulación del comportamiento, identificándolo como un rasgo en zorros plateados.

Según UniprotKB (Uniprot Consortium, 2020), la proteína codificada por el TBX20 humano (Q9UMR3), actúa como un activador y represor transcripcional requerido para el desarrollo cardíaco y puede tener papeles clave en el mantenimiento de fenotipos funcionales y estructurales en el corazón adulto. En otro estudio realizado en humanos dentro del mencionado gen, Eppinga *et al.* (2016) descubrieron la asociación de todo el genoma en humanos e identificaron 46 nuevos loci asociados con la frecuencia cardíaca (FC, latidos por minuto) en reposo, señalando que uno

de estos loci está ubicado en un intrón del gen TBX20 (rs58437978), proponiendo este gen como un gen candidato asociado con la FC en reposo.

En el ganado bovino, la frecuencia cardíaca (latidos por minuto) se ha utilizado también para distinguir entre diferentes temperamentos. Sutherland *et al.*, (2012), investigaron el efecto del temperamento en la frecuencia cardíaca de vacas frisonas cruzadas multíparas al encontrarse ya fuera en salas de ordeño rotativas previamente conocidas, o en salas de ordeño novedosas, con diseño de espina de pescado. Sutherland *et al.*, (2012) definieron el temperamento en función de la velocidad de salida de un dispositivo de retención (prensa de manejo), como alta respuesta, media respuesta o baja respuesta. Sus resultados indicaron que, tanto en los entornos familiares como en los novedosos, las frecuencias cardíacas fueron más altas en vacas de alta respuesta que en vacas de baja respuesta antes y durante el ordeño.

Kovács *et al.*, (2015) investigaron la frecuencia cardíaca de vacas Holstein-Friesian, agrupadas por temperamento (dócil y temperamental), tanto en condiciones de presión ejercida en la línea de ordeño o en condiciones de ordeño sin perturbaciones. Ellos observaron una FC más alta en vaca temperamentales y una FC más baja en vacas dóciles durante el descanso y el ordeño. La proteína TBX20 bovina (E1BGZ6) se anota con el proceso biológico del desarrollo del corazón (GO: 0007507), y función del corazón a lo largo del tiempo, desde su formación hasta la estructura madura.



### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Área de trabajo**

El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Animal del Centro de Biotecnología Genómica (C.B.G.) del Instituto Politécnico Nacional (I.P.N.) en Reynosa, Tamaulipas, México.

#### **3.2. Material biológico**

Los datos utilizados en la presente investigación proceden de la evaluación de parámetros productivos del ganado que se obtuvieron de dos pruebas de comportamiento realizadas (Garza-Brenner, 2017) a las tres razas incluidas en el estudio (Angus, Brangus y Charolais), en el Complejo Palomas, como parte de un programa de producción de carne bovina de la Unión Ganadera Regional de Chihuahua (UGRCH) así como del banco de información del C.B.G. - I.P.N., del cual se tomaron datos de algunos animales pertenecientes a la raza Charolais.

#### **3.3. Evaluación de temperamento**

Los parámetros de evaluación del temperamento fueron tomados de la base de datos del Laboratorio de Biotecnología Animal del Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional.

El rasgo de temperamento de los animales fue evaluado en el Complejo Palomas, situado en el municipio de Santa Isabel, Chihuahua, al momento de arribar el ganado al Centro de Pruebas, con un peso inicial de  $264.87 \pm 37.67$  kg.

Dos métodos fueron utilizados para evaluar el temperamento de los animales:

1).- Comportamiento en corral o *pen score*, (por sus siglas en inglés, PS), que es una técnica no restrictiva, en la cual el ganado es separado en un corral en grupos pequeños (de tres a cinco animales), y ahí se observa la reacción de estos al ser abordados por un evaluador dentro del corral.

Se consideró una escala del 1 a 5, (Burdick *et al.*, 2010) donde:

1= animal dócil, camina lentamente lejos del evaluador,

2=ligeramente alarmado, trota lejos del evaluador,

3=moderadamente alarmado, se aleja corriendo del evaluador,

4=muy alarmado, se aproxima con la cabeza en alto hacia el evaluador en señal de defensa,

5=animal muy alarmado y agresivo, donde se requieren de acciones evasivas por parte del evaluador para evitar contacto.

2).- La velocidad de salida (VS), es considerada como una medida objetiva, debido a que es calculada por un aparato electrónico (Schmidt *et al.*, 2014), está definida como el tiempo necesario de un animal para atravesar 1.83 m (6 pies) de distancia al ser liberado de la prensa de manejo. Es medida con 2 sensores infrarrojos (Farmtek Inc., North Wylie, TX), que se accionan al salir el animal de la prensa. La velocidad es calculada como [(velocidad = distancia (m)/tiempo(s)] y es expresada en metros por segundo. Una alta velocidad (<0.7 segundos) refleja a un animal temperamental mientras que una baja velocidad (>0.9 segundos) es reflejo del temperamento dócil en un animal (Burrow 1991).

Estudios recientes (King *et al.*, 2006; Burdick *et al.*, 2010; Schmidt *et al.*, 2014) han permitido la integración de medidas de temperamento tanto subjetivas como

objetivas para obtener un *score* o puntaje de temperamento (TS), que permite obtener valores más precisos sobre este rasgo. Para registrar esta variable, se promediaron los valores de velocidad de salida y comportamiento en corral  $((VS+PS)/2)$ , para obtener un *score* de temperamento.

El análisis estadístico descriptivo de los datos obtenidos del Laboratorio de Biotecnología Animal del C.B.G. - I.P.N., se realizó en la Facultad de Agronomía de la U.A.N.L., el cual se basó en la evaluación de frecuencia de medias y desviación estándar de todos los animales y todos los parámetros de temperamento (Cuadro 1), con los cuales se trabajaron durante la toma de datos en las diferentes unidades de producción pecuaria en la República Mexicana, durante dos años consecutivos en la misma estación del año.

**Cuadro 1.** Información de procedencia, raza y número de animales utilizados en el estudio.

<b>Rancho/Propietario</b>	<b>Raza</b>	<b>Cantidad</b>
Alonso Duarte	Angus	6
César Chávez	Charolais	1
Claudio González	Angus	2
Enrique Medina	Brangus	1
Estrategia Agropecuaria y Ecología	Angus	3
Francisco Romero	Charolais	3
Ganadería El Cordereño	Charolais	2
Hipólito Hernández Cano	Charolais	1
Jesús Aarón Aguirre	Angus	5
Jorge Baca	Angus	4
José Fernández	Brangus	4
Josefina Fernández	Brangus	4
Juan Fernández Anchondo	Brangus	9
Las Adjuntas	Charolais	11
Luis Alfredo Lozano Coronado	Charolais	2
Marcela Álvarez	Brangus	3
Marco Cuesta	Charolais	1
María Anchondo	Brangus	4
Mario Medina	Charolais	1
Mundo Orozco	Angus	3
Oscar Corral	Charolais	2
Oscar Corral	Angus	2
Rancho El Tarahumar	Brangus	2
Rancho Wamoo	Angus	7
Refugio Olivas	Angus	7
San Rafael	Charolais	3
<b>Total:</b>		<b>89</b>

Se realizaron dos estudios de asociación de medias entre los grupos de la población según la clasificación de temperamento obtenida con aspectos de temperamento (dócil, intermedio y temperamental), y con datos productivos (ver apartado 3.3).

#### **3.4. Colecta de muestras, extracción y cuantificación de ADN**

Se trabajó con muestras de pelo de 89 bovinos de carne de las razas Angus, Brangus y Charolais, pertenecientes al banco de razas cárnicas del Laboratorio de Biotecnología Animal del C.B.G. - I.P.N. Todos los animales seleccionados tienen registros de identificación y temperamento.

El aislamiento del ADN de las muestras de pelo se realizó siguiendo el protocolo especificado en el estuche comercial Genelute Mammalian Genomic DNA (Cat. G1N350 (Sigma-Aldrich Co. LLC, St. Louis, Missouri, EUA), a partir de los folículos capilares obtenidos de muestras de pelo extraídos de la porción final de la cola de los animales en las instalaciones del Complejo Palomas de la UGRCH, al momento de realizarse las pruebas de eficiencia productiva estando estos en la prensa de manejo.

El aislamiento del ADN de las muestras de pelo se realizó colocando los folículos obtenidos en tubos Eppendorf (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EUA) de 2ml, a los cuales se les añadieron 180 $\mu$ l de solución de lisis T, así como 120 $\mu$ l de proteinasa K, y posteriormente fueron mezclados empleando mezclados un vórtex tipo MaxiMix I (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EUA). Los cuales fueron incubaron a 55°C durante la noche (4-8 horas).

Una vez concluida la incubación, se añadieron 200 $\mu$ l de solución de Lisis C y fueron mezclados en durante 15 segundos e incubados posteriormente en un mezclador-incubador tipo Eppendorf ThermoMixer C (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EUA) a 70°C durante 10 minutos. En el siguiente paso se agregaron 20 $\mu$ l de RNAsa, se homogenizó y se dejaron incubar a una temperatura ambiente durante 2 minutos. Se utilizó la centrifugadora Centrifuge 5424 R (Eppendorf AG, Hamburgo, Hamburgo, Alemania) para homogenizar las muestras durante 10 segundos a 12,000 rpm para posteriormente colocar el sobrenadante a un nuevo tubo Eppendorf. A este nuevo tubo se le agregaron 200 $\mu$ l de etanol al 100% y 20 $\mu$ l de acetato de sodio y se mezclaron empleando un vórtex durante 20 minutos. En un segundo lavado se centrifugó y se descartó el sobrenadante. Se realizó un lavado con 200 $\mu$ l EtOH al 70% y se homogenizó. Se descartó el etanol centrifugando la muestra durante 3 minutos a 12,000 rpm para finalmente resuspender en 50 $\mu$ l en solución de elusión. (Sigma-Aldrich, 2021).

### **3.5. Genotipificación**

Se empleó el sistema MiniSeq (Illumina, Inc., San Diego, California, EUA) para realizar la amplificación de secuencias que tienen como objetivo regiones del genoma, sitios llamados locus específicos. Como lo indica el proceso “16S Metagenomic Sequencing Library Preparation” para dicho sistema. Fue necesario el uso de secuencias sobresalientes que se adhirieron a los *primers* locus específicos de la región a amplificar, obteniéndose una secuencia en conjunto de estas dos partes (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Información de los *primers* para el SNP del gen TBX20.

<b>Nombre del primer</b>	<b>Secuencia del primer</b>
	F: TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG- AGCACTTCTCTTTCCTGTCC
2TBX20	R: GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG- CTCCTTGCCATCCATT

La generación de amplicones mediante PCR (Polymerase Chain Reaction) se llevó a cabo en el termociclador (MJ Research, Saint Bruno, Quebec, Canadá) y en Miniseq (Illumina, Inc., San Diego, California, EUA) con reactivos, concentraciones y volúmenes específicos en dos etapas (Cuadro 3 y Cuadro 4, respectivamente), bajo las condiciones solicitadas en el manual para la preparación de librerías (Cuadro 5).

**Cuadro 3.** Composición general para llevar a cabo la amplificación en la primera etapa de PCR.

<b>Reactivos</b>	<b>Volumen /Reacción</b>
ADN	5 µl
Nextera XT Index Primer 1 (N7xx)	5 µl
Nextera XT Index Primer 2 (S5xx)	5 µl
2X KAPA HiHi HotStart Ready Mix	25 µl
Agua con grado para PCR	10 µl
Volumen total:	50 µl

**Cuadro 4.** Composición general para llevar a cabo la amplificación en la segunda etapa de PCR.

Reactivos	Concentración	Volumen /Reacción
Buffer	5X	3 $\mu$ l
MgCl <sub>2</sub>	25mM	1.2 $\mu$ l
dNTPs	10mM	0.45 $\mu$ l
Primer F'	5mM	1.2 $\mu$ l
Primer R'	5mM	1.2 $\mu$ l
Taq		0.5 $\mu$ l
ADN		5 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O		2.4 $\mu$ l
Volumen total:		15 $\mu$ l

**Cuadro 5.** Programa de condiciones aplicadas en el termociclador para realizar primera PCR.

<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 95°C durante 3 minutos</li> </ul>
25 ciclos de:
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 95°C durante 30 segundos (Desnaturalización)</li> <li>▪ 55°C durante 30 segundos (Alineamiento)</li> <li>▪ 72°C durante 30 segundos (Elongación)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 72°C durante 5 minutos</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Conservar a 4°C</li> </ul>



A esto siguió un proceso de limpieza de PCR, en el cual se eliminan *primers* y dímeros de *primers*, un subproducto de la reacción. La amplificación por PCR y limpieza del producto se repitió una vez más, en el sistema Miniseq (Illumina, Inc., San Diego, California, EUA). La segunda ocasión las condiciones fueron ligeramente diferentes, según las condiciones estipuladas en el proceso mencionado anteriormente (Cuadro 6), y la limpieza se realizó de la misma manera con el mismo objetivo (Cuadro 7).

**Cuadro 6.** Programa de condiciones aplicadas en el termociclador para realizar segunda PCR.

▪ 95°C durante 3 minutos
8 ciclos de:
▪ 95°C durante 30 segundos (Desnaturalización)
▪ 55°C durante 30 segundos (Alineamiento)
▪ 72°C durante 30 segundos (Elongación)
▪ 72°C durante 5 minutos
▪ Conservar a 4°C

**Cuadro 7.** Programa que indica el proceso en diferentes etapas, realizado para la PCR, según el sistema MiniSeq.

<b>Fase</b>	<b>Actividad</b>
1	1era. Etapa de PCR
2	1era. Limpieza de PCR Reactivos <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Resina Ampure XP</li> <li>▪ EtOH fresco 80%</li> <li>▪ Búfer de resuspensión, (Resuspension buffer, RSB)</li> </ul>
3	2da. etapa de PCR
4	2da. Limpieza de PCR <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Resina Ampure XP</li> <li>▪ EtOH fresco 80%</li> <li>▪ RSB</li> </ul>
5	Cuantificación de librerías y normalización
6	Desnaturalización de librería y carga de muestras a MiniSeq

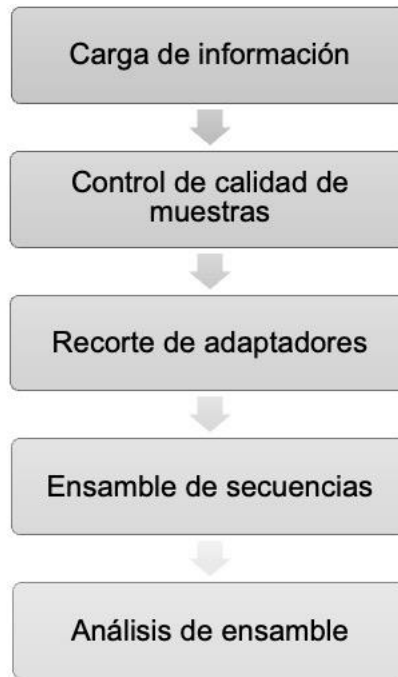
Los amplicones fueron utilizados como moldes (templates) para llevar a cabo la secuenciación mediante la formación de librerías, por medio del protocolo Nextera® XT DNA Library Preparation Kit. Con las librerías se procedió a ejecutar el protocolo de secuenciación para MiniSeq Illumina (Illumina, Inc., San Diego, California, EUA). Las secuencias obtenidas fueron sometidas a análisis bioinformáticos para la asignación de los genotipos en cada muestra.

Para realizar la discriminación de los alelos encontrados en la población de estudio, en la Facultad de Agronomía – U.A.N.L., se utilizó primeramente la plataforma

informática Galaxy (versión 21.01, GitHub, Inc., San Francisco, CA, EUA), con el fin de realizar el control de calidad de muestras.

La verificación de la calidad de muestras se basó en la puntuación Phred, la cual indica el valor de calidad de cada base que fue secuenciada. Un valor de 30 es indicativo que la precisión de la base secuenciada es del 99.9% (Hernández, 2020). La puntuación Phred conseguida de las muestras se obtuvo de la información que es entregada por la plataforma informática Galaxy como parte de las lecturas de la composición de las muestras evaluadas.

Después de un recorte de adaptadores que acompañan a los *primers*, propios del proceso de la PCR, se realizó una alineación de secuencias para poder ser estas analizadas posteriormente, donde se utilizaron los programas de cómputo UGene (versión 37.0, UniPro, Surgut, Tiumén, Rusia), para poder realizar el análisis de secuencias, y Atom (versión 1.54.0, GitHub, Inc., San Francisco, CA, EUA), programa en el cual se llevó a cabo la cuantificación de los nucleótidos pertenecientes al SNP estudiado, para poder determinar el genotipo de cada animal (AA, AG y GG).



**Figura 1.** Diagrama indicando el flujo de trabajo realizado para llevar a cabo la genotipificación sobre la plataforma Galaxy.

### **3.5.1. Frecuencias alélicas y genotípicas**

Las frecuencias alélicas por población de raza fueron calculadas con el programa GENEPOP en línea versión 4.0. Las frecuencias alélicas de la población en total se determinaron utilizando el programa Cervus versión 3.0.

### **3.6. Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de la evaluación de temperamento del ganado fueron analizados mediante el programa SPSS (versión 17.0 Inc., Chicago, IL), utilizando estadística descriptiva a través de un análisis simple de frecuencias, así como de un análisis de varianza y Tukey para evaluar las diferencias en las variables del temperamento.

Para determinar el efecto del marcador 191081 en el gen TBX20 sobre las características de temperamento estudiadas (VS, PS y TS), se ajustó un modelo mixto, considerando los efectos fijos del genotipo (AA, GA, GG), sexo del animal (macho, hembra) y raza (Angus, Brangus y Charolais). Debido a que los animales provenían de 26 hatos, este efecto fue considerado como aleatorio.

Las medias de mínimos cuadrados de raza, sexo y genotipo fueron estimadas para cada variable y se compararon con la prueba de mínima diferencia significativa. Adicionalmente, se estimó el efecto de sustitución alélica para el marcador, considerando los genotipos como covariables en el modelo antes descrito. El análisis de asociación se realizó utilizando el software SAS on Demand for Academics (SAS Institute Inc., Cary NC, EUA).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Fenotipificación del temperamento

En el Cuadro 8 se presenta la información obtenida de las tres pruebas de temperamento realizadas, así como de las tres razas estudiadas en específico, el cual nos da un panorama del comportamiento por raza y de manera general de la población de estudio en cuanto a parámetros de temperamento.

**Cuadro 8.** Medias y desviación estándar de la población animal total de acuerdo con las tres pruebas de temperamento, velocidad de salida (VS), comportamiento en corral o *pen score* (PS) y puntaje de temperamento (*Temperament score*, TS).

	n	VS		PS		TS	
		<i>(P&lt;0.05)</i>		<i>(P&lt;0.05)</i>		<i>(P&lt;0.05)</i>	
		Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
<b>Total</b>	74	2.03	0.756	2.10	0.523	2.06	0.621
<b>AN</b>	31	1.78	0.767	1.95	0.517	1.87	0.633
<b>BR</b>	24	2.32	0.782	2.28	0.487	2.30	0.624
<b>CH</b>	19	2.06	0.582	2.11	0.532	2.08	0.508

AN: Angus; BR: Brangus; CH: Charolais

VS: velocidad de salida; PS: *pen score*.

TS: *temperament score*.

Valor de *P* entre paréntesis.

La raza Angus obtuvo las puntuaciones más bajas en las tres pruebas de temperamento, para velocidad de salida se obtuvo un puntaje de  $1.78 \pm 0.77$ , para comportamiento en corral  $1.95 \pm 0.52$  puntos, y para la prueba de puntaje de temperamento la cifra registrada fue de  $1.87 \pm 0.63$ .

La raza Brangus resultó con valores opuestos a la raza Angus, pues obtuvo los puntajes más altos,  $2.32 \pm 0.78$  para velocidad de salida,  $2.28 \pm 0.48$  para comportamiento en corral y para puntaje de temperamento la cifra fue de  $2.30 \pm 0.62$ .

La raza Charolais registró puntajes intermedios, para velocidad de salida el puntaje obtenido fue de  $2.06 \pm 0.58$ ,  $2.11 \pm 0.53$  puntos para comportamiento en corral, y para la prueba de puntaje de temperamento el registro fue de  $2.08 \pm 0.51$ .

#### **4.2. Diversidad alélica y estimación del efecto de TBX20-191081**

Los resultados de la evaluación de calidad de todas las secuencias obtenidas mostraron un valor Phred mayor a 30, lo cual indica una probabilidad de error de 1 en 1,000 bases analizadas y una certeza de 99.9% en la lectura de bases (Illumina, Inc., 2021).

Se encontró que las frecuencias alélicas del marcador intrónico de TBX20 (Cuadro 9), aparecieron en menor proporción para el alelo G, en las razas Angus (0.314), Brangus (0.481) y Charolais (0.444), el cual ha sido reportado como el alelo favorable para docilidad y con mayor la frecuencia para el alelo A, para las tres razas bovinas estudiadas (Angus: 0.685, Brangus: 0.518, Charolais: 0.555), lo cual es asociado a temperamentos excitables (Paredes-Sánchez *et al.*, 2019).

En la raza Angus la frecuencia del genotipo AA fue mayor (0.4857), el genotipo AG obtuvo una frecuencia intermedia (0.4000), y la frecuencia menor fue para el genotipo GG (0.1142). en la raza Brangus el genotipo AG fue el que se presentó con mayor frecuencia (0.5185), los resultados para el genotipo AA fueron de 0.2592, y el genotipo de menor frecuencia fue GG (0.2222). En el caso de la raza Charolais el genotipo AA presentó la frecuencia mayor (0.4074) y los genotipos AG y GG se presentaron con una frecuencia idéntica (0.2962).

**Cuadro 9.** Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador 191081 en la población estudiada (n=89).

<b>Alelos/Genotipos</b>	<b>Angus</b>	<b>Brangus</b>	<b>Charolais</b>
<b>A</b>	0.685	0.518	0.555
<b>G</b>	0.314	0.481	0.444
<b>AA</b>	0.4857	0.2592	0.4074
<b>AG</b>	0.4000	0.5185	0.2962
<b>GG</b>	0.1142	0.2222	0.2962

Los resultados del análisis de asociación del marcador intrónico TBX20 en los parámetros de temperamento evaluados mostraron que la raza tiene un efecto importante en los parámetros evaluados y estadísticamente significativos, pues la



raza Angus obtuvo valores inferiores en las tres pruebas de temperamento (VS:  $1.59 \pm 0.18$ ; PS:  $1.70 \pm 0.13$ ; TS:  $1.65 \pm 0.15$ ). Los resultados de la raza Charolais fueron intermedios (VS:  $1.83 \pm 0.13$ ; PS:  $1.81 \pm 0.10$ ; TS:  $1.82 \pm 0.12$ ), y la raza Brangus obtuvo valores superiores (VS:  $2.36 \pm 0.19$ ; PS:  $2.17 \pm 0.13$ ; TS:  $2.27 \pm 0.16$ ) (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Medias de mínimos cuadrados  $\pm$  error estándar del efecto de la raza sobre características de temperamento.

<b>Raza</b>	<b>n</b>	<b>VS</b> (0.0012)	<b>PS</b> (0.0003)	<b>TS</b> (0.0003)
<b>Angus</b>	35	$1.59 \pm 0.18^a$	$1.70 \pm 0.13^a$	$1.65 \pm 0.15^a$
<b>Brangus</b>	27	$2.36 \pm 0.19^b$	$2.17 \pm 0.13^b$	$2.27 \pm 0.16^b$
<b>Charolais</b>	27	$1.83 \pm 0.13^a$	$1.81 \pm 0.10^a$	$1.82 \pm 0.12^a$

VS: velocidad de salida; PS: *pen score*; TS: *temperament score*.

Valor de *P* entre paréntesis.

Medias con diferente superíndice a, b, c... son significativamente diferentes ( $P < 0.01$ ).

En la población total con la genotipificación realizada se encontró que el efecto de sustitución del alelo G fue considerable para los tres parámetros (Cuadro 10) y en todos se esperaba una disminución de las puntuaciones obtenidas de los parámetros analizados, para la prueba de VS una disminución de  $-0.20 \pm 0.09$ , en la

prueba de PS una disminución de  $-0.09 \pm 0.05$  y para TS disminución de  $-0.15 \pm 0.07$  para TS (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Medias de mínimos cuadrados  $\pm$  error estándar (MMC) y efecto sustitución alélica ( $G\beta$ ) de locus 191081 en el gen TBX20 sobre características de temperamento.

Genotipo	n	VS		PS		TS	
		MMC (0.1365)	$G\beta$ (0.0462)	MMC (0.2469)	$G\beta$ (0.0949)	MMC (0.1355)	$G\beta$ (0.0450)
<b>AA</b>	35	1.73 $\pm$ 0.15	-0.20 $\pm$ 0.09	1.80 $\pm$ 0.10	-0.09 $\pm$ 0.05	1.77 $\pm$ 0.13	-0.15 $\pm$ 0.07
<b>AG</b>	36	1.91 $\pm$ 0.15		1.90 $\pm$ 0.11		1.91 $\pm$ 0.13	
<b>GG</b>	18	2.14 $\pm$ 0.18		1.98 $\pm$ 0.12		2.06 $\pm$ 0.15	

VS: velocidad de salida.

PS: *pen score*.

TS: *temperament score*.

Valor de *P* entre paréntesis.

Medias con diferente superíndice a, b, c... son significativamente diferentes ( $P < 0.01$ ).

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. Diversidad alélica del marcador TBX20-191081

Es importante conocer la diversidad de los alelos A y G dentro de las tres razas bovinas que fueron estudiadas, para poder relacionar los datos de las pruebas de temperamento con dichos alelos y los genotipos presentes, y de esta manera aportar información de la actividad de este marcador genético. De manera general, tomando en cuenta los datos de las tres razas, el alelo G se encuentra en menor proporción en la población estudiada, este alelo está ligado a características favorables de temperamento y el alelo A, asociado a características altamente temperamentales no deseadas (Paredes-Sánchez *et al.*, 2019). De llevarse a cabo un programa de mejoramiento genético este respondería a la selección positivamente, favoreciendo la frecuencia del alelo G e incrementarla, puesto que no hay ningún alelo fijado en la población, y así mejorar el temperamento de los animales, aprovechando los beneficios del temperamento dócil en bovinos (Paredes-Sánchez *et al.*, 2020), tal es el caso del presente estudio, el alelo G en la raza Angus se encontró en menor medida, por lo tanto, se esperaría que sea esta la población bovina con temperamento dócil en mayor presencia, pues los resultados de esta raza en las pruebas de temperamento demostraron una menor reactividad, y aumentar la presencia del alelo G mejoraría estos datos. La raza Brangus sería la más beneficiada de un programa de mejora genética, logrando disminuir los temperamentos excitables registrados a través del aumento de la frecuencia del alelo G, temperamentalmente favorable.

## **5.2. Temperamento y TBX20-191081**

La estimación efecto del marcador molecular de TBX20 sobre el comportamiento en la población estudiada obtuvo diferencias pero no fueron estadísticamente significativas en estas pruebas de comportamiento, tal como lo mencionan Paredes-Sánchez *et al.*, (2019), quienes determinaron este gen como un candidato fuerte para asociarse a la expresión del temperamento, analizando el marcador TBX20-191081, ya que el alelo A asociado con aumentos en el temperamento excitable mostró efecto sobre la VS ( $P < 0.0001$ ), y sobre el TS ( $P = 0.0003$ ), aunque no mostró asociación con el comportamiento registrado en el corral o *pen score* (PS).

## **5.3. Influencia de la raza sobre el temperamento**

El análisis de asociación realizado entre el marcador intrónico de TBX20 (TBX20-191081) y los parámetros de temperamento evaluados por razas (Angus, Brangus, Charolais) demuestran que los resultados obtenidos en la raza Brangus, que obtuvo los resultados superiores para las tres pruebas de temperamento, son atribuidos al material genético compartido, pues la raza Brahman, perteneciente a *Bos indicus*, con tendencias a presentar temperamentos excitables, forma parte de ese fondo genético que determina el temperamento en las razas bovinas (Burdick *et al.*, 2011; Garza-Brenner *et al.*, 2019), mientras que las razas Angus y Charolais alcanzaron puntuaciones inferiores e intermedias, respectivamente. Es similar el patrón de resultados obtenidos en el presente estudio comparados con los de Garza-Brenner *et al.*, (2019), pues la raza Brangus obtuvo resultados superiores en las tres pruebas de temperamento (VS, PS y TS), la raza Charolais presentó resultados intermedios e inferiores, respectivamente.

#### 5.4. Impacto de SNPs intrónicos

Se encuentran albergados en las regiones intrónicas polimorfismos determinados como funcionales que pueden influir en la expresión de los genes donde se localizan, actuando como potenciadores o silenciadores del proceso de *splicing* (corte y empalme) (Cooper, 2010). Este pudiera ser el caso del marcador 191081 de TBX20, pues los estudios realizados en dicho marcador apuntan una clara influencia de este SNP intrónico sobre el temperamento bovino, ya sea de animales pertenecientes a *B. taurus* o *B. indicus*.

En otros estudios (Lin *et al.*, 2019; Hane *et al.*, 2016) se reporta la influencia por asociación de los SNP de regiones intrónicas sobre regiones codificantes a través de la interacción con elementos regulatorios como los sitios de unión de factores de transcripción, donde alteran el punto de reconocimiento del *splicing*, también en sitios potenciadores o sitios de metilación, entre otros elementos, teniendo en cuenta que la posición del SNP es importante, pues influye si está cercano a la unión entre exones e intrones o si se encuentra lejos o cerca de de los sitios de empalme.

Es importante mencionar el efecto que tienen los SNPs en enfermedades neurodegenerativas, se ha estudiado en humanos que, por efecto acumulado, posicionados en diferentes genes, o en solitario, pueden propiciar la aparición de estas afecciones, como el mal de Parkinson o el mal de Alzheimer (Bellou *et al.*, 2020; Costa Sa *et al.*, 2019; Ibañez *et al.*, 2019). También en bovinos, polimorfismos intrónicos del gen PRNP muestran relación con la susceptibilidad a la forma clásica de encefalopatía espongiforme bovina (EEB) (Yun *et al.*, 2017). TBX20 se relaciona en cierta forma con enfermedades neurodegenerativas, como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o la demencia frontotemporal (DFT), pues

este gen tiene relevancia en la diferenciación de neuronas motoras que pueden ser afectadas por dichas enfermedades (Flitsch *et al.*, 2020; Guo *et al.*, 2017), y debido a esta relación con la diferenciación de neuronas motoras se puede tener su efecto sobre el temperamento en bovinos.

## **6. CONCLUSIONES**

Se encontró que el SNP TBX20-191081, muestra una amplia variabilidad genética en las razas analizadas, presentándose en estas razas variaciones en el temperamento en distintas proporciones, siendo la raza Angus la más dócil y la raza Brangus la más reactiva o temperamental, según los datos obtenidos.

El análisis de asociación mostró que la sustitución del alelo G disminuye los parámetros de temperamento evaluados por lo que se genera más información de este gen y su asociación con la docilidad del ganado bovino de carne y, por ende, la importancia de este SNP intrónico en la presentación del temperamento. Es importante aumentar el número de muestra para validar su asociación y utilidad en las estrategias de manejo asistido por marcadores.

## 7. LITERATURA CITADA

- Bellou, E., Stevenson-Hoare, J., & Escott-Price, V. (2020). Polygenic risk and pleiotropy in neurodegenerative diseases. *Neurobiology of Disease*, *142*, 104953. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.104953>
- Braz, K. M. G., Monteiro, F. M., Fernandes, L. G., Rodrigues, N. N., Peixoto Jr, K. D. C., Green, R. E., Cortez, A., & Crespilho, A. M. (2020). Does bull temperament impact growth performance and semen quality? *Livestock Science*, *236*, 104038. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104038>
- Broucek, J., Uhrincat, M., Soch, M., & Kisac, P. (2008). Genetics of behaviour in cattle. *Slovak J. Anim. Sci*, *4*, 166–172.
- Bruno, K., Vanzant, E., Vanzant, K., Altman, A., Kudupoje, M., & McLeod, K. (2018). Relationship between quantitative measures of temperament and other observed behaviors in growing cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, *199*, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.10.009>
- Burdick, N. C., Carroll, J. A., Hulbert, L. E., Dailey, J. W., Willard, S. T., Vann, R. C., Welsh, T. H., & Randel, R. D. (2010). Relationships between temperament and transportation with rectal temperature and serum concentrations of cortisol and epinephrine in bulls. *Livestock Science*, *129*(1–3), 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.020>
- Burdick, N. C., Randel, R. D., Carroll, J. A., & Welsh, T. H. (2011). Interactions between Temperament, Stress, and Immune Function in Cattle. *International Journal of Zoology*, *2011*, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2011/373197>
- Burrow, H. M. (1991). Effect of intensive handling of zebu crossbred weaner calves on temperament. *Proceedings of the Australian Association of Animal Breeding and Genetics*, *9*, 208–211.
- Burrow, H. M., & Corbet, N. J. (2000). Genetic and environmental factors affecting temperament of zebu and zebu-derived beef cattle grazed at pasture in the tropics. *Australian Journal of Agricultural Research*, *51*(1), 155–162. <https://doi.org/10.1071/ar99053>
- Burrow, H. M., & Dillon, R. D. (1997). Relationships between temperament and growth in a feedlot and commercial carcass traits of *Bos indicus* crossbreds. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, *37*(4), 407–411. <https://doi.org/10.1071/ea96148>



- Cafe, L. M., Robinson, D. L., Ferguson, D. M., McIntyre, B. L., Geesink, G. H., & Greenwood, P. L. (2011). Cattle temperament: Persistence of assessments and associations with productivity, efficiency, carcass and meat quality traits<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, *89*(5), 1452–1465. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3304>
- Chang, Y., Brito, L. F., Alvarenga, A. B., & Wang, Y. (2020). Incorporating temperament traits in dairy cattle breeding programs: challenges and opportunities in the phenomics era. *Animal Frontiers*, *10*(2), 29–36. <https://doi.org/10.1093/af/vfaa006>
- Chen, S.-Y., Oliveira, H. R., Schenkel, F. S., Pedrosa, V. B., Melka, M. G., & Brito, L. F. (2020). Using imputed whole-genome sequence variants to uncover candidate mutations and genes affecting milking speed and temperament in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, *103*(11), 10383–10398. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18897>
- Cooke, R. F. (2014). BILL E. KUNKLE INTERDISCIPLINARY BEEF SYMPOSIUM: Temperament and acclimation to human handling influence growth, health, and reproductive responses in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, *92*(12), 5325–5333. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8017>
- Cooke, R. F., Schubach, K. M., Marques, R. S., Peres, R. F. G., Silva, L. G. T., Carvalho, R. S., Cipriano, R. S., Bohnert, D. W., Pires, A. V., & Vasconcelos, J. L. M. (2017). Effects of temperament on physiological, productive, and reproductive responses in *Bos indicus* beef cows. *Journal of Animal Science*, *95*(1), 1. <https://doi.org/10.2527/jas2016.1098>
- Costa Sa, A. C., Madsen, H., & Brown, J. R. (2019). Shared Molecular Signatures Across Neurodegenerative Diseases and Herpes Virus Infections Highlights Potential Mechanisms for Maladaptive Innate Immune Responses. *Scientific Reports*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45129-8>
- Costilla, R., Kemper, K. E., Byrne, E. M., Porto-Neto, L. R., Carvalheiro, R., Purfield, D. C., Doyle, J. L., Berry, D. P., Moore, S. S., Wray, N. R., & Hayes, B. J. (2020). Genetic control of temperament traits across species: association of autism spectrum disorder risk genes with cattle temperament. *Genetics Selection Evolution*, *52*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12711-020-00569-z>
- CRC FOR BEEF GENETIC TECHNOLOGIES. (2012). *Selecting for Improved Temperament and the Benefits for Beef Production*.

<http://www.beefcrc.com/documents/publications/fact-sheets/FS15-SelectingforImprovedTemperament.pdf>

- Cziszter, L. T., Gavojdian, D., Neamt, R., Neciu, F., Kusza, S., & Ilie, D. E. (2016). Effects of temperament on production and reproductive performances in Simmental dual-purpose cows. *Journal of Veterinary Behavior*, *15*, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2016.08.070>
- Eppinga, R. N., Hagemeyer, Y., Burgess, S., Hinds, D. A., Stefansson, K., Gudbjartsson, D. F., van Veldhuisen, D. J., Munroe, P. B., Verweij, N., & van der Harst, P. (2016). Identification of genomic loci associated with resting heart rate and shared genetic predictors with all-cause mortality. *Nature Genetics*, *48*(12), 1557–1563. <https://doi.org/10.1038/ng.3708>
- Estévez-Moreno, L. X., Miranda-de La Lama, G. C., Villarroel, M., García, L., Abecia, J. A., Santolaria, P., & María, G. A. (2021). Revisiting Cattle Temperament in Beef Cow-Calf Systems: Insights from Farmers' Perceptions about an Autochthonous Breed. *Animals*, *11*(1), 82. <https://doi.org/10.3390/ani11010082>
- Eusebi, P. G., Sevane, N., Cortés, O., Contreras, E., Cañon, J., & Dunner, S. (2019). Aggressive behavior in cattle is associated with a polymorphism in the MAOA gene promoter. *Animal Genetics*, *51*(1), 14–21. <https://doi.org/10.1111/age.12867>
- Flitsch, L. J., Laupman, K. E., & Brüstle, O. (2020). Transcription Factor-Based Fate Specification and Forward Programming for Neural Regeneration. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00121>
- Fordyce, G., Dodt, R. M., & Wythes, J. R. (1988). Cattle temperaments in extensive beef herds in northern Queensland. 1. Factors affecting temperament. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, *28*(6), 683–687. <https://doi.org/10.1071/ea9880683>
- Fordyce, G., Goddard, M., & Seifert, G. (1982). The measurement of temperament in cattle and the effect of experience and senotype. *Animal Production in Australia*, *14*, 329–332.
- Francisco, C. L., Castilhos, A. M., Silva, D. C. M., Silva, F. M., Meirelles, P. R. L., Cooke, R. F., & Jorge, A. M. (2020). Temperament of Nelore growing-steers receiving supplementation in grazing system: Performance, ultrasound

- measures, feeding behavior, and serum parameters. *Livestock Science*, 241, 104203. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104203>
- Friedrich, J., Brand, B., & Schwerin, M. (2015). Genetics of cattle temperament and its impact on livestock production and breeding – a review. *Archives Animal Breeding*, 58(1), 13–21. <https://doi.org/10.5194/aab-58-13-2015>
- Garza-Brenner, E. (2017). Análisis genético-molecular del temperamento en ganado bovino: búsqueda y asociación de polimorfismos en genes candidatos. *Instituto Politécnico Nacional. Centro de Biotecnología Genómica*. Published. <http://rdcb.cbg.ipn.mx/handle/20.500.12273/640>
- Garza-Brenner, E., Sifuentes-Rincón, A. M., Randel, R. D., Paredes-Sánchez, F. A., Parra-Bracamonte, G. M., Arellano Vera, W., Rodríguez Almeida, F. A., & Segura Cabrera, A. (2016). Association of SNPs in dopamine and serotonin pathway genes and their interacting genes with temperament traits in Charolais cows. *Journal of Applied Genetics*, 58(3), 363–371. <https://doi.org/10.1007/s13353-016-0383-0>
- Garza-Brenner, E., Sifuentes-Rincón, A. M., Rodríguez Almeida, F. A., Randel, R. D., Parra-Bracamonte, G. M., & Arellano Vera, W. (2019). Influence of genetic markers on the feeding behavior of yearling bulls. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 32(1), 14–20. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v32n1a02>
- Garza-Brenner, E., Sifuentes-Rincón, A. M., Rodríguez-Almeida, F. A., Randel, R. D., Parra-Bracamonte, G. M., & Arellano-Vera, W. (2020). Influence of temperament-related genes on live weight traits of Charolais cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 49(e20180121), 1–10. <https://doi.org/10.37496/rbz4920180121>
- Gehrke, L. J., Capitan, A., Scheper, C., König, S., Upadhyay, M., Heidrich, K., Russ, I., Seichter, D., Tetens, J., Medugorac, I., & Thaller, G. (2020). Are scurs in heterozygous polled (Pp) cattle a complex quantitative trait? *Genetics Selection Evolution*, 52(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12711-020-0525-z>
- Grandin, T., Deesing, M., Struthers, J., & Swinker, A. (1995). Cattle with hair whorl patterns above the eyes are more behaviorally agitated during restraint. *Applied Animal Behaviour Science*, 46(1–2), 117–123. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(95\)00638-9](https://doi.org/10.1016/0168-1591(95)00638-9)
- Greenwood, P. L., Cafe, L. M., McIntyre, B. L., Geesink, G. H., Thompson, J. M., Polkinghorne, R., Pethick, D. W., & Robinson, D. L. (2013). Molecular value

predictions: Associations with beef quality, carcass, production, behavior, and efficiency phenotypes in Brahman cattle<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 91(12), 5912–5925. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6960>

Guo, W., Fumagalli, L., Prior, R., & van den Bosch, L. (2017). Current Advances and Limitations in Modeling ALS/FTD in a Dish Using Induced Pluripotent Stem Cells. *Frontiers in Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00671>

Gutierrez-Gil, B., Ball, N., Burton, D., Haskell, M., Williams, J. L., & Wiener, P. (2008). Identification of Quantitative Trait Loci Affecting Cattle Temperament. *Journal of Heredity*, 99(6), 629–638. <https://doi.org/10.1093/jhered/esn060>

Haskell, M. J., Simm, G., & Turner, S. P. (2014). Genetic selection for temperament traits in dairy and beef cattle. *Frontiers in Genetics*, 5, 368. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00368>

Hernández, M., Quijada, N. M., Rodríguez-Lázaro, D., & Eiros, J. M. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.06.003>

Hohenboken, W. D. (1987). Behavioral Genetics. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 3(2), 217–229. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)31149-x](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)31149-x)

Hoppe, S., Brandt, H. R., König, S., Erhardt, G., & Gauly, M. (2010). Temperament traits of beef calves measured under field conditions and their relationships to performance<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 88(6), 1982–1989. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1557>

Hulsman Hanna, L. L., Dahlen, C., Gonda, M., Morota, G., Sun, X., Wagner, S., Riley, D., & Yu, H. (2018). *Evaluation of methods to measure temperament in cattle and their impacts on predictions of genetic merit, 2018 NDSU Central Grasslands Research Extension Center*. North Dakota State University. <https://www.ag.ndsu.edu/CentralGrasslandsREC/cgrec-annual-reports-1/2018-annual-report/2018CGRECAAnnualReport.pdf>

Hulsman Hanna, L. L., Garrick, D. J., Gill, C. A., Herring, A. D., Riggs, P. K., Miller, R. K., Sanders, J. O., & Riley, D. G. (2014). Genome-wide association study of temperament and tenderness using different Bayesian approaches in a

Nellore–Angus crossbred population. *Livestock Science*, 161, 17–27.  
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.12.012>

Ibanez, L., Farias, F. H. G., Dube, U., Mihindikulasuriya, K. A., & Harari, O. (2019). Polygenic Risk Scores in Neurodegenerative Diseases: a Review. *Current Genetic Medicine Reports*, 7(1), 22–29.  
<https://doi.org/10.1007/s40142-019-0158-0>

Johnson, J. L., Wittgenstein, H., Mitchell, S. E., Hyma, K. E., Temnykh, S. V., Kharlamova, A. V., Gulevich, R. G., Vladimirova, A. V., Fong, H. W. F., Acland, G. M., Trut, L. N., & Kukekova, A. V. (2015). Genotyping-By-Sequencing (GBS) Detects Genetic Structure and Confirms Behavioral QTL in Tame and Aggressive Foxes (*Vulpes vulpes*). *PLOS ONE*, 10(6), e0127013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127013>

King, D. A., Schuehle Pfeiffer, C. E., Randel, R. D., Welsh, T. H., Oliphint, R. A., Baird, B. E., Curley, K. O., Vann, R. C., Hale, D. S., & Savell, J. W. (2006). Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle. *Meat Science*, 74(3), 546–556.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.004>

Kovács, L., Kézér, F. L., Tőzsér, J., Szenci, O., Póti, P., & Pajor, F. (2015). Heart Rate and Heart Rate Variability in Dairy Cows with Different Temperament and Behavioural Reactivity to Humans. *PLOS ONE*, 10(8), e0136294.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136294>

Le Neindre, P., Trillat, G., Sapa, J., Ménissier, F., Bonnet, J. N., & Chupin, J. M. (1995). Individual differences in docility in Limousin cattle. *Journal of Animal Science*, 73(8), 2249–2253. <https://doi.org/10.2527/1995.7382249x>

Lin, H., Hargreaves, K. A., Li, R., Reiter, J. L., Wang, Y., Mort, M., Cooper, D. N., Zhou, Y., Zhang, C., Eadon, M. T., Dolan, M. E., Ipe, J., Skaar, T. C., & Liu, Y. (2019). RegSNPs-intron: a computational framework for predicting pathogenic impact of intronic single nucleotide variants. *Genome Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1847-4>

Lindholm-Perry, A. K., Kuehn, L. A., Freetly, H. C., & Snelling, W. M. (2014). Genetic markers that influence feed efficiency phenotypes also affect cattle temperament as measured by flight speed. *Animal Genetics*, 46(1), 60–64.  
<https://doi.org/10.1111/age.12244>

- Littlejohn, B. P., Price, D. M., Banta, J. P., Lewis, A. W., Neuendorff, D. A., Carroll, J. A., Vann, R. C., Welsh Jr., T. H., & Randel, R. D. (2016). Prenatal transportation stress alters temperament and serum cortisol concentrations in suckling Brahman calves. *American Society of Animal Science*, *94*, 602–609. <https://doi.org/10.2527/jas2015-9635>
- Littlejohn, B. P., Riley, D. G., Welsh, T. H., Randel, R. D., Willard, S. T., & Vann, R. C. (2018). Use of random regression to estimate genetic parameters of temperament across an age continuum in a crossbred cattle population1. *Journal of Animal Science*, *96*(7), 2607–2621. <https://doi.org/10.1093/jas/sky180>
- Mello, B. P., Maturana Filho, M., Lemes, K. M., Gonçalves, R. L., Lollato, J. P. M., Zanella, A. J., Ferreira, T. F. V., Pugliesi, G., Madureira, E. H., Gonella-Díaz, A., & Membrive, C. M. B. (2020). Importance of temperament in the pregnancy by timed insemination in bovine females *Bos taurus indicus*. *Livestock Science*, *240*, 104104. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104104>
- Norris, D., Ngambi, J. W., Mabelebele, M., Alabi, O. J., & Benyi, K. (2014). Genetic selection for docility: A review. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *24*(2), 374-379.
- Olson, C. A., Carstens, G. E., Herring, A. D., Hale, D. S., Kayser, W. C., & Miller, R. K. (2019). Effects of temperament at feedlot arrival and breed type on growth efficiency, feeding behavior, and carcass value in finishing heifers. *Journal of Animal Science*, *97*(4), 1828–1839. <https://doi.org/10.1093/jas/skz029>
- Paredes-Sánchez, F. A., Casas, E., Parra-Bracamontes, G. M., Arellano-Vera, W., Riley, D. G., Welsh, T. H., Sifuentes Rincón, A. M., & Randel, R. D. (2019). Identification of candidate genes related to temperament in Brahman cattle. *American Society of Animal Science*, *97*(3).
- Parham, J. T. (2018). Subjective measures of temperament in beef heifers are reliable indicators of physiological stress and indicate acclimation to repeated handling.
- Parham, J. T., Blevins, S. R., Tanner, A. E., Wahlberg, M. L., Swecker, W. S., & Lewis, R. M. (2021). Subjective methods of quantifying temperament in heifers are indicative of physiological stress. *Applied Animal Behaviour Science*, *234*, 105197. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2020.105197>
- Parham, J. T., Tanner, A. E., Wahlberg, M. L., Grandin, T., & Lewis, R. M. (2019). Subjective methods to quantify temperament in beef cattle are insensitive to

the number and biases of observers. *Applied Animal Behaviour Science*, 212, 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.01.005>

Quality Scores for Next-Generation Sequencing. Assessing sequencing accuracy using Phred quality scoring (2011). Consultado el 20 de marzo, 2021. [https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote\\_Q-Scores.pdf](https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf)

Raza, S. H. A., Liu, G.-Y., Zhou, L., Gui, L.-, Khan, R., Jinmeng, Y., Chugang, M., Schreurs, N. M., Ji, R., & Zan, L. (2020). Detection of polymorphisms in the bovine leptin receptor gene affects fat deposition in two Chinese beef cattle breeds. *Gene*, 758, 144957. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144957>

Rezende, F., Ferraz, J., Eler, J., Silva, R., Mattos, E., & Ibáñez-Escriche, N. (2012). Study of using marker assisted selection on a beef cattle breeding program by model comparison. *Livestock Science*, 147(1–3), 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.03.017>

Riley, D. G., Gill, C. A., Boldt, C. R., Funkhouser, R. R., Herring, A. D., Riggs, P. K., Sawyer, J. E., Lunt, D. K., & Sanders, J. O. (2016). Crossbred Bos indicus steer temperament as yearlings and whole genome association of steer temperament as yearlings and calf temperament post-weaning<sup>12</sup>. *Journal of Animal Science*, 94(4), 1408–1414. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-0041>

Riley, D. G., Gill, C. A., Herring, A. D., Riggs, P. K., Sawyer, J. E., Lunt, D. K., & Sanders, J. O. (2014). Genetic evaluation of aspects of temperament in Nellore–Angus calves<sup>1,2</sup>. *American Society of Animal Science*, 3223–3230. <https://doi.org/10.2527/jas2014-7797>

S.-A. (2017). *GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit*. Sigma-Aldrich. <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/386/432/g1n350bul.pdf>

Sant’Anna, A. C., & Paranhos da Costa, M. J. (2013). Validity and feasibility of qualitative behavior assessment for the evaluation of Nellore cattle temperament. *Livestock Science*, 157(1), 254–262. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.08.004>

Schmidt, S. E., Neuendorff, D. A., Riley, D. G., Vann, R. C., Willard, S. T., Welsh, T. H., & Randel, R. D. (2014). Genetic parameters of three methods of temperament evaluation of Brahman calves 1. *Journal of Animal Science*, 92(7), 3082–3087. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7494>

- Silveira, I. D. B., Fischer, V., Farinatti, L. H. E., Restle, J., Alves Filho, D. C., & Menezes, L. F. G. (2012). Relationship between temperament with performance and meat quality of feedlot steers with predominantly Charolais or Nelore breed. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *41*(6), 1468–1476. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982012000600022>
- Sistema de Información Agrícola y Pesquero (SIAP). (n.d.). SIAP - SAGARPA. Consultada en marzo, 2020, de <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>
- Sutherland, M. A., Rogers, A. R., & Verkerk, G. A. (2012). The effect of temperament and responsiveness towards humans on the behavior, physiology and milk production of multi-parous dairy cows in a familiar and novel milking environment. *Physiology & Behavior*, *107*(3), 329–337. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.07.013>
- Tulloh, N. M. (1961). Behaviour of cattle in yards. II. A study of temperament. *Animal Behaviour*, *9*(1–2), 25–30. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(61\)90046-x](https://doi.org/10.1016/0003-3472(61)90046-x)
- Turner, S. P., Navajas, E. A., Hyslop, J. J., Ross, D. W., Richardson, R. I., Prieto, N., Bell, M., Jack, M. C., & Roehe, R. (2011). Associations between response to handling and growth and meat quality in frequently handled *Bos taurus* beef cattle. *Journal of Animal Science*, *89*(12), 4239–4248. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3790>
- UniProtKB. UniProt. Consultada en marzo, 2020, de <https://www.uniprot.org/help/uniprotkb>
- Valente, T., Albito, O., Sant'Anna, A., Carvalheiro, R., Baldi, F., Albuquerque, L., & da Costa, M. (2017). Genetic parameter estimates for temperament, heifer rebreeding, and stayability in Nelore cattle. *Livestock Science*, *206*, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.10.010>
- Valente, T. S., Baldi, F., Sant'Anna, A. C., Albuquerque, L. G., & Paranhos da Costa, M. J. R. (2016). Genome-Wide Association Study between Single Nucleotide Polymorphisms and Flight Speed in Nelore Cattle. *PLOS ONE*, *11*(6), e0156956. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156956>
- Vargas-Cázares Á., Rodríguez-Almeida F. A., Pérez-Álvarez J. G., Cabrera-González A. E., García-Galicia I. A., Luna-Corral A. (2014). Evaluación de la eficiencia alimenticia en toretes Angus. XLI Reunión de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria A.C. (AMPA)



y VII Reunión Nacional de Sistemas Agro y Silvopastoriles. Mérida, Yucatán, México. 274-278

- Yu, H., Morota, G., Celestino, E. F., Dahlen, C. R., Wagner, S. A., Riley, D. G., & Hulsman Hanna, L. L. (2020). Deciphering Cattle Temperament Measures Derived From a Four-Platform Standing Scale Using Genetic Factor Analytic Modeling. *Frontiers in Genetics, 11*, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00599>
- Yun, C. H., & Jeong, B. H. (2017). Calcium homeostasis modulator 1 ( CALHM1 ) polymorphisms in cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira, 37*(6), 582–586. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2017000600008>
- Zhao, C., Raza, S. H. A., Khan, R., Sabek, A., Khan, S., Ullah, I., Memon, S., El-Aziz, A. H. A., Shah, M. A., Shijun, L., Wang, L., Liu, X., Zhang, Y., Gui, L., & Zan, L. (2020). Genetic variants in MYF5 affected growth traits and beef quality traits in Chinese Qinchuan cattle. *Genomics, 112*(4), 2804–2812. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.03.018>