

# Evaluación de microsatélites para la verificación de paternidad de las razas Beefmaster y Charolais en el noreste de México

## Evaluation of microsatellite markers for parentage verification in Beefmaster and Charolais cattle from northeast of Mexico

Elma Laura Salazar Marroquín<sup>a</sup>, Maurilio González Paz<sup>a</sup>, Alejandro del Bosque González<sup>b</sup>,  
Diana Reséndez-Pérez<sup>a</sup>, Hugo A. Barrera-Saldana<sup>a</sup>, Ana María Sifuentes-Rincón<sup>a</sup>

### RESUMEN

En la industria pecuaria, la identificación o asignación de paternidad se ha basado en el uso de sistemas de tipificación sanguínea. Actualmente, el uso de marcadores moleculares basados en microsatélites ha demostrado ser una herramienta altamente específica para la identificación de individuos. En el presente trabajo se evaluaron nueve marcadores microsatélites de los recomendados por la Sociedad Internacional de Genética Animal, los cuales demostraron ser altamente polimórficos en poblaciones de las razas Charolais y Beefmaster. Para determinar la eficiencia de estos marcadores se estableció el número y tamaño de alelos por locus. Se determinó la heterocigocidad esperada y el poder de exclusión. Se encontró que la heterocigocidad esperada fue de 0.825 para Beefmaster y 0.732 para la Charolais. Las probabilidades de exclusión fueron 0.999935 y 0.999677 para Beefmaster y Charolais, respectivamente, mientras se conozca el genotipo de uno de los padres. El panel de marcadores probado fue informativo en ambas razas, lo que hace posible su uso en la verificación de paternidad.

**PALABRAS CLAVE:** Microsatélites, Bovinos, Paternidad, Ganado de carne.

### ABSTRACT

In animal production, traditionally the verification of the paternity was based on blood typing system. Nowadays, the use of molecular markers has been demonstrating to be a valuable tool for the exact genetic identification of each individual. In this project, a panel of nine microsatellite markers from those recommended by the International Society of Animal Genetics were evaluated in Beefmaster and Charolais cattle. Expected heterozygosity was 0.825 for Beefmaster and 0.732 for Charolais cattle. These results indicate that the panel of microsatellite markers was informative in individuals from both breeds, with a high exclusion power (0.999935 and 0.999677 for Beefmaster and Charolais, respectively). Therefore it can be used in the paternity verification.

**KEY WORDS:** Microsatellite, Bovine, Paternity, Beef cattle.

El principal interés de la industria ganadera es el mejoramiento genético de los hatos para aumentar su producción y calidad, y así competir con mejores ventajas en los mercados nacionales e internacionales. La correcta identificación de los individuos que conforman una población, es un

Cattle industry is mainly focused on genetic improvement of breeds in order to increase their production and quality, and thus better compete in domestic and international markets. Proper identification of the individuals that form a particular population is indispensable for estimating the

---

Recibido el 23 de junio de 2003 y aceptado para su publicación el 18 de febrero de 2004.

a Laboratorio de Biotecnología Animal. Centro de Biotecnología Genómica. Instituto Politécnico Nacional. Boulevard del Maestro esq. Elias Pina, Col. Narciso Mendoza, 77810, Cd. Reynosa, Tam. Teléfono (899) 925 39 96, Fax (899) 925 16 56, ana@mail.cb.g.ipn.mx. Correspondencia al último autor.

b Facultad de Agronomía UANL.

Proyecto apoyado por PAIDEC, CGPI-IPN

requisito indispensable para la estimación de parámetros que permitan el diseño de estrategias de mejoramiento genético más efectivas<sup>(1)</sup>.

El enorme progreso en el mapeo de genomas de especies de interés económico<sup>(2)</sup>, ha provisto a la industria pecuaria con marcadores moleculares que permiten la identificación genética de los individuos<sup>(3,4)</sup>; su aplicación en la verificación o asignación de pedigrí está reemplazando a las pruebas clásicas de indentificación basadas en la tipificación de grupos sanguíneos<sup>(5)</sup>.

Los microsatélites (elementos repetitivos de di, tri y tetra nucleótidos) son marcadores que se encuentran distribuidos a lo largo del genoma, y tienen la característica de ser altamente polimórficos, razón por la cual se han establecido entre otras aplicaciones, como una herramienta valiosa para el diseño de pruebas de laboratorio para la identificación de individuos<sup>(4,6)</sup>. En un esfuerzo por estandarizar el uso de estos marcadores, la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG, por sus siglas en inglés) ha recomendado un panel de marcadores microsatélites, para el estudio de diversidad genética del ganado bovino<sup>(7)</sup>; sin embargo, su uso como marcadores genéticos, requiere el establecimiento de sus frecuencias alélicas y genotípicas en las poblaciones donde serán utilizados<sup>(8)</sup>, ya que esta información permitirá establecer la probabilidad de que dos individuos compartan un genotipo específico por casualidad o porque existe una relación real de filiación entre ambos<sup>(5)</sup>. Basándose en el hecho de que no existe información genotípica de la raza Beefmaster y que tanto ésta como la Charolais son las más comercializadas en el noreste de México, se estableció como objetivo del presente trabajo la evaluación de nueve marcadores microsatélites, para establecer su eficiencia en la identificación de individuos de las razas Beefmaster y Charolais, en la zona norte del estado de Tamaulipas, México.

Se obtuvieron muestras de sangre de individuos de diferentes edades, procedentes de dos ranchos ubicados en Reynosa, Tam. En el caso de la raza Beefmaster se muestrearon 40 hembras y 39 machos

parameters that allow design of more effective genetic improvement strategies<sup>(1)</sup>.

Progress in the genome mapping of economically important species<sup>(2)</sup> has provided the livestock industry with molecular markers that can genetically identify individuals<sup>(3,4)</sup>. Use of these markers in pedigree verification and assignment is replacing the classic testing based on blood types<sup>(5)</sup>.

Microsatellites (i.e. repetitive elements of di-, tri- and tetranucleotides) are highly polymorphic markers, distributed throughout the genome. This makes them a valuable tool in design of individual identification laboratory tests, among other uses<sup>(4,6)</sup>. In an effort to standardize the use of these markers, the International Society of Animal Genetics (ISAG) has recommended a microsatellite markers panel for study of bovine cattle genetic diversity<sup>(7)</sup>. However, their use as genetic markers requires that their allelic and genotypic frequencies be established for the subject population<sup>(8)</sup>, in order to demonstrate the probability of two individuals sharing a specific genotype, be it by chance or due to filial relationship between them<sup>(5)</sup>.

In northeast of Mexico, Beefmaster and Charolais cattle are the most important beef-breeds exploited. Until now, does not exist genotypic information for these breeds. This study aimed at evaluating nine microsatellite markers to establish their efficiency in the individuals' identification of Beefmaster and Charolais breeds from the north region of Tamaulipas, Mexico.

Blood samples were obtained from individuals of different ages from two ranches in Reynosa, Tamaulipas. For the Beefmaster breed 40 females and 39 males (n= 79) were sampled, and for the Charolais 45 females and 4 males (n= 49) were sampled. The genealogy of the individuals in the study was unknown for both populations.

Genomic DNA was extracted from the samples using a precipitation technique with salts, as described by Salazar-Marroquín<sup>(9)</sup>. The microsatellite markers used in genotyping were: SPS115 (also known as D156), BM1824 (a.k.a. D1S34), BM2113 (a.k.a.

(n= 79), mientras que de la Charolais se muestrearon 45 hembras y 4 machos (n= 49). En ninguna de las poblaciones se conoce la genealogía de los individuos utilizados en este estudio.

Se extrajo el DNA genómico utilizando la técnica de precipitación con sales, descrita por Salazar-Marroquín<sup>(9)</sup>. Los marcadores microsatélites utilizados para la genotipificación fueron SPS115, BM1824, BM2113, ETH10, ETH225, TGLA53, TGLA126, INRA037 e INRA023, los cuales también pueden ser identificados con la siguiente nomenclatura: D15, D1S34, D2S26, D5S3, D9S1, D16S3, D20S1, D10S12 y D3S10, respectivamente. Seis de estos marcadores, pertenecen a la lista de los nueve marcadores recomendados por la ISAG para llevar a cabo pruebas de paternidad en bovinos<sup>(7)</sup>. La secuencia de todos los marcadores utilizados, se encuentra disponible en bases de datos de dominio público<sup>(7)</sup>. La optimización de las PCR's se llevó a cabo evaluando un marcador por reacción, y variando parámetros como son las concentraciones de los iniciadores y del DNA. Los iniciadores fueron marcados con IRD 800, marcaje recomendado por el distribuidor del secuenciador (The Global IR<sup>2</sup> System, LICOR. Inc)<sup>(3)</sup>. Todas las reacciones se hicieron en un volumen final de 10 ml, utilizando 0.125 U/ml de *Taq* DNA polimerasa y 0.4 mM de dNTPs. Se utilizó un termociclador programable de la compañía Perkin Elmer (PT 9700) para las amplificaciones, con el método "Touchdown"<sup>(10)</sup>, el cual consistió en un ciclo de 10 min a 95 °C, 5 ciclos de tres pasos: 95 °C 45 seg, 62 °C 45 seg (la temperatura se disminuyó 2 °C cada ciclo), 72 °C 45 seg, 25 ciclos con los siguientes pasos 95 °C 45 seg, 55 °C 45 seg, 72 °C 45 seg y, finalmente, un ciclo a 72 °C por 10 min.

Para el análisis de los tamanos alélicos, los productos de PCR se corrieron en geles de poliacrilamida-bisacrilamida desnaturalizante al 6.5% y posteriormente fueron analizados en el secuenciador semiautomatizado de la marca LICOR y con el software SAGA se obtuvo el tamaño y número de alelos<sup>(3)</sup>.

Se estimaron dos tipos de probabilidad de exclusión por locus. El tipo 1 ( $P_{E1}$ ) es la probabilidad de

D2S26), ETH10 (a.k.a. D5S5), ETH225 (a.k.a. D9S1), TGLA53 (a.k.a. D16S3), TGLA126 (a.k.a. D20S1), INRA037 (a.k.a. D10S12) and INRA023 (a.k.a. D3S10). Six of these markers are from the list of nine markers recommended by the ISAG for bovine parentage tests<sup>(7)</sup>. The sequence of utilized markers is available in public domain databases<sup>(7)</sup>. Optimization of the PCR's was done by evaluating one marker per reaction and varying parameters such as primers and DNA concentrations. Primers were label with IRD800, as recommended by the sequencer manufacturer (The Global IR<sup>2</sup> System, LICOR. Inc.)<sup>(3)</sup>. Final volume for each PCR reaction was 10 ml, using 0.125 U/ml *Taq* DNA polymerase and 0.4 mM dNTPs. Touchdown procedure was performed on a Perkin-Elmer PT9700 thermal cycler<sup>(10)</sup>. Briefly, this consists of one 10 min cycle at 95 °C; 5 three-step cycles of 95 °C 45 sec, 62 °C 45 sec (temperature was reduced 2 °C each cycle), 72 °C 45 sec; 25 cycles with the following steps 95 °C 45 sec, 55 °C 45 sec, 72 °C 45 sec; and finally one cycle at 72 °C 10 min.

For allelic size analysis, the PCR products were electrophoresed on a 6.5% denaturing polyacrylamide-bisacrilamide gel and then analyzed in a LICOR sequencer. Allelic size and number were obtained with the SAGA software<sup>(3)</sup>.

Two types of exclusion probability were estimated per locus. Type 1 ( $P_{E1}$ ) means the exclusion probability if a second parent is absent and Type 2 ( $P_{E2}$ ), is the exclusion probability if a second parent genotype is present. These parameters were obtained from the observed allelic frequencies, using the Cervus 2.0 program<sup>(11,12,13)</sup>. Observed heterozygosity ( $H_o$ ), expected heterozygosity ( $H_e$ ) and polymorphic information content (PIC)<sup>(15)</sup> were also calculated with Cervus 2.0.

The analysis revealed that the markers were polymorphic. The largest number of alleles for both breeds was 12 in the TGLA53 loci, while the smallest number was 6 in the TGLA126 locus

Cuadro 1. Tamaños y frecuencias de los alelos de los loci estudiados en cada una de las razas

Table 1. Allele size and frequency of studied loci in Beefmaster and Charolais cattle

| Loci          | Allele size | Frecuency  |           | Loci           | Allele size | Frecuency  |           | Loci           | Allele size    | Frecuency  |           |        |
|---------------|-------------|------------|-----------|----------------|-------------|------------|-----------|----------------|----------------|------------|-----------|--------|
|               |             | Beefmaster | Charolais |                |             | Beefmaster | Charolais |                |                | Beefmaster | Charolais |        |
| <b>D15</b>    | 240         |            | 0.0612    | <b>ETH10</b>   | 202         | 0.5577     |           | <b>INRA037</b> | 114            | 0.1218     |           |        |
|               | 242         | 0.1373     | 0.3367    |                | 204         | 0.2436     |           |                | 118            |            | 0.0204    |        |
|               | 244         | 0.2157     | 0.0918    |                | 206         | 0.2692     |           |                | 120            | 0.0064     | 0.0102    |        |
|               | 246         | 0.0392     | 0.1327    |                | 208         | 0.2372     |           |                | 122            | 0.0705     | 0.0102    |        |
|               | 248         | 0.0490     | 0.1327    |                | 210         | 0.0577     |           |                | 124            | 0.0192     |           |        |
|               | 250         | 0.0882     | 0.2245    |                | 212         | 0.1026     | 0.9286    |                | 126            | 0.1026     | 0.4592    |        |
|               | 252         | 0.0686     | 0.0204    |                | 214         | 0.0064     | 0.0306    |                | 128            | 0.3782     | 0.2245    |        |
|               | 254         | 0.1078     |           |                | 216         | 0.0256     | 0.0408    |                | 130            | 0.0897     | 0.0204    |        |
|               | 258         | 0.0784     |           |                |             |            |           |                | 132            | 0.1410     | 0.2245    |        |
| <b>D1S34</b>  | 176         | 0.0385     | 0.2041    | <b>ETH225</b>  | 137         | 0.0833     |           |                | 134            | 0.0449     |           |        |
|               | 178         | 0.0833     | 0.0714    |                | 139         | 0.1303     | 0.0408    |                | 136            | 0.0064     |           |        |
|               | 180         | 0.1731     | 0.3776    |                | 141         | 0.0192     | 0.0408    |                | 138            | 0.0064     |           |        |
|               | 182         | 0.4359     | 0.0102    |                | 143         | 0.0128     | 0.1735    |                | 146            | 0.0128     | 0.0306    |        |
|               | 184         | 0.0513     | 0.0102    |                | 145         | 0.1346     | 0.2347    |                | <b>BM2113</b>  | 123        | 0.0064    |        |
|               | 186         | 0.0577     | 0.2449    |                | 147         | 0.3077     | 0.2347    |                |                | 125        | 0.1218    | 0.1429 |
|               | 188         | 0.1346     | 0.0816    |                | 149         | 0.0449     | 0.1531    |                |                | 127        | 0.0064    |        |
|               | 190         | 0.0256     |           |                | 151         | 0.0769     | 0.0510    |                |                | 129        | 0.0256    | 0.0306 |
|               |             |            |           |                | 153         | 0.0705     |           |                |                | 131        | 0.0256    | 0.3367 |
|               |             |            | 155       | 0.1026         | 0.0408      |            | 133       | 0.2115         |                | 0.1939     |           |        |
|               |             |            | 157       | 0.0192         |             |            | 135       | 0.1603         |                | 0.0918     |           |        |
|               |             |            |           |                |             |            | 137       | 0.1218         |                | 0.1020     |           |        |
|               |             |            |           |                |             |            | 139       | 0.0833         |                | 0.0612     |           |        |
| <b>TGLA53</b> | 151         | 0.0128     | 0.0408    | <b>INRA023</b> | 193         | 0.0128     | 0.0102    |                | 141            | 0.2179     | 0.0408    |        |
|               | 153         | 0.0128     | 0.1429    |                | 195         | 0.0128     | 0.0204    |                | 143            | 0.0192     |           |        |
|               | 155         | 0.1154     | 0.0408    |                | 197         | 0.0577     | 0.0408    |                | <b>TGLA126</b> | 117        | 0.2821    | 0.2347 |
|               | 157         | 0.2051     | 0.1122    |                | 199         | 0.0256     | 0.0510    |                |                | 119        | 0.2308    | 0.3367 |
|               | 159         | 0.2308     | 0.1020    |                | 201         | 0.1538     | 0.1429    |                |                | 121        | 0.2115    | 0.0612 |
|               | 161         | 0.1154     | 0.0918    |                | 203         | 0.1923     | 0.0714    |                |                | 123        | 0.1410    | 0.0816 |
|               | 163         | 0.0385     | 0.0816    |                | 205         | 0.1090     | 0.1735    |                |                | 125        | 0.0705    | 0.2041 |
|               | 165         | 0.0557     | 0.1633    |                | 207         | 0.0513     | 0.1020    |                |                | 127        | 0.0641    | 0.0816 |
|               | 167         | 0.0256     | 0.1429    |                | 209         | 0.1410     | 0.1122    |                |                |            |           |        |
|               | 169         | 0.0449     | 0.05102   |                | 211         | 0.2244     | 0.0204    |                |                |            |           |        |
|               | 171         | 0.1090     |           |                | 213         |            | 0.1939    |                |                |            |           |        |
|               | 175         |            | 0.0306    |                | 215         | 0.0192     | 0.0612    |                |                |            |           |        |
| 177           |             |            |           |                |             |            |           |                |                |            |           |        |
| 179           | 0.0321      |            |           |                |             |            |           |                |                |            |           |        |

exclusión de un locus en ausencia del genotipo de un segundo padre. El tipo 2 ( $P_{E2}$ ) es la probabilidad de exclusión dado el genotipo de un segundo padre; estos parámetros se obtuvieron a partir de las frecuencias alélicas observadas, utilizando el programa Cervus 2.0. (11,12,13). La heterocigocidad observada ( $H_o$ ), la heterocigocidad esperada ( $H_e$ ) y el contenido de información polimórfica (PIC)<sup>(15)</sup>, también fueron calculadas con el programa CERVUS 2.0.

El análisis reveló que todos los marcadores fueron polimórficos. El número mayor de alelos para ambas razas fue de 12 en los loci TGLA53, mientras

en el Beefmaster y 3 en el ETH10 locus en el Charolais (Table 1).

Average expected heterocigocity for the panel of 9 loci was 0.825 for Beefmaster and 0.732 for Charolais cattle. PIC values for the panel of 9 loci were 0.798 for Beefmaster and 0.699 for Charolais. The number of homozygotic and heterozygotic individuals, as well as the PIC for each locus is shown in Figure 1. The Beefmaster cattle presented a higher number of alleles (9.78) per locus as compared to Charolais cattle (7.89). This could be explained by the hybridosis of Beefmaster cattle (Hereford, Shorthorn and Brahaman breeds).

que el número menor de alelos fue de seis para el locus TGLA126 en la raza Beefmaster y de tres para el locus ETH10 en la raza Charolais (Cuadro 1).

El promedio de heterocigocidad esperada para los loci en conjunto fue de 0.825 para Beefmaster y de 0.732 para Charolais, y el valor de PIC para todos los loci fue de 0.798 y de 0.699, respectivamente. El número de individuos homocigotos y heterocigotos, así como el PIC obtenido para cada uno de los loci se muestra en la Figura 1. La raza Beefmaster presentó mayor variabilidad genética que la Charolais, con promedios de alelos por locus de 9.78 y 7.89, respectivamente; esto puede deberse al hecho de que la Beefmaster es producto de la mezcla de tres razas (Shorthorn, Hereford y Brahman). Los datos obtenidos de las frecuencias alélicas revelan el polimorfismo de los microsatélites indicando su grado de informatividad. Este parámetro varía de una raza a otra, así como entre hatos; por ejemplo, Stockburger<sup>(16)</sup> reporta la presencia de sólo tres alelos para el locus D1S34 en la raza Hereford, con una frecuencia de 0.774, por lo que este marcador se considera poco informativo; por el contrario, en las dos razas analizadas en nuestro estudio, este locus resultó ser informativo, ya que en la raza Beefmaster se presentaron ocho alelos, todos con una frecuencia no mayor de 0.43, en tanto que en la raza Charolais se encontraron siete alelos con frecuencias hasta de 0.37. Los marcadores denominados TGLA53 e INRA023, resultaron ser altamente polimórficos e informativos en las dos razas estudiadas, presentando de 11 a 12 alelos, todos con una frecuencia menor de 0.3.

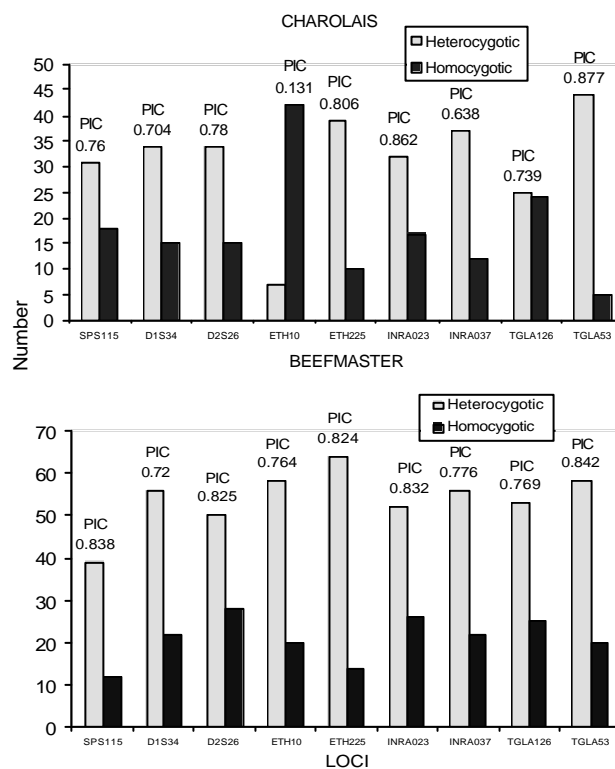
Es importante mencionar que a mayor número de heterocigotos mayor variabilidad genética; sin embargo, también influye el número de individuos con genotipos homocigotos por locus; por ejemplo, en la raza Charolais el locus TGLA126 presenta un PIC de 0.739, con un total de 24 individuos homocigotos cuyos genotipos se componen de cuatro alelos diferentes; por el contrario, el locus INRA037 que presenta un total de 12 individuos homocigotos, se esperaría mayor informatividad, sin embargo este presenta un PIC de 0.638 debido a que el número total de genotipos homocigotos está dado

Allelic frequencies obtained for the tested microsatellites indicate a high informative content. This parameter varies among breeds and herds. For example, Stockburger in 1999 reported only three alleles for locus D1S34 on Hereford cattle, with an allelic frequency of 0.774, hence concluding that it has a low informative content. However, the same locus was highly informative for the two breeds tested in this work, Beefmaster cattle had eight different alleles, and with frequency values less than 0.43; for Charolais cattle we obtained seven alleles, with frequency values less than 0.37. Markers TGLA053 and INRA026 were the most polymorphic, having between 11 and 12 alleles, with frequency values less than 0.3.

The number of heterocigotes influences the genetic variability; however the individuals carrying homocigotic genotype also affect this parameter. For example, in Charolais cattle locus TGLA126

Figura 1. Contenido de información polimórfica de dos razas de ganado bovino productor de carne

Figure 1. Polymorphic information content (PIC) for two beef-breeds



por sólo dos alelos diferentes. El locus con menor contenido de información polimórfica fue el ETH10 en la raza Charolais, ya que 42 de los individuos analizados, fueron homocigotos para el alelo 212, por lo que se considera poco informativo (Figura 1).

La estimación del  $P_{E1}$  y  $P_{E2}$  para el panel completo de marcadores fue de 0.997483/0.999935 para Beefmaster y de 0.992729/0.999677 para Charolais. Durante el análisis se pudo observar que en la raza Charolais, algunos de los loci evaluados, la prueba de desviación al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) no fue realizada por el programa Cervus; la explicación más probable es el tamaño de muestra, ya que la prueba no procede cuando hay pocos individuos a analizar<sup>(11)</sup>. Sin embargo, tal y como se especifica por los autores del programa, esto no significa que los loci cumplan las expectativas de equilibrio H-W, por lo que se recomienda incrementar el tamaño de muestra, o bien tomar con cautela los resultados de exclusión obtenidos.

En la raza Beefmaster, tres loci BM2113, ETH10 e INRA23, presentaron desviación al equilibrio de H-W con un nivel de significancia de 1%. Puesto que esta desviación se presenta en tres loci, una de las explicaciones podría ser que estos loci están siendo seleccionados en el hato estudiado. Existen reportes en donde los loci ETH10 y BM2113, han sido asociados con crecimiento y ganancia de peso al nacer, respectivamente<sup>(17,18)</sup>; sin embargo, se deberán hacer pruebas específicas para descartar otros factores que afectan el equilibrio H-W, tales como tamaño de muestra, consanguinidad, etc.<sup>(14)</sup>.

Uno de los principales requerimientos para la aplicación de estrategias de mejoramiento genético exitosas son el conocimiento de la paternidad de los individuos. En el presente trabajo se logró evaluar la utilidad de un panel de nueve marcadores microsatélites para la identificación de individuos de las razas Charolais y Beefmaster. La aplicación del panel evaluado permite el establecimiento de un servicio de prueba de paternidad, que sirva a los criadores de ganado para resolver los problemas asociados a la falta o incorrecta asignación de identidad de los animales que conforman un hato.

has a PIC value of 0.739, having 24 homocytotic individuals with four different alleles, meanwhile the INRA037 locus has 12 homocytotic individuals but its PIC value was 0.638 due to the fact that all the homocytotes were represented for two different alleles.

The locus with the lowest polymorphic information content was ETH10 in the Charolais, since 42 of the analyzed individuals were homozygotic for allele 212, making it relatively uninformative (Figure 1).

Estimation of  $P_{E1}$  and  $P_{E2}$  for the complete panel of markers was 0.997483/0.999935 for Beefmaster and 0.992729/0.999677 for Charolais. During the analysis the Hardy-Weinberg (H-W) Equilibrium deviation test was not done by the Cervus program for some of the evaluated Charolais loci. Small sample size is the most likely explanation for this as the test is not run when only a few individuals are to be analyzed<sup>(11)</sup>. As specified by the program's authors, this does not necessarily mean that the loci meet H-W Equilibrium expectations, and if this occurs it is recommended that sample size be increased or that the resulting exclusion results be used with caution.

Three loci (BM2113, ETH10 and INRA23) in the Beefmaster breed had an H-W Equilibrium deviation with a 1% significance level. Given that this deviation occurs in three loci it may be that these loci are being selected for in the studied herd. There are reports associating BM2113 with weight gain at birth and ETH10 with growth<sup>(17,18)</sup>. However, specific tests must be done to discount other factors that can affect the H-W Equilibrium, such as sample size, consanguinity, etc.<sup>(14)</sup>.

One of the main requirements for application of successful genetic improvement strategies is knowledge of individual parentage. In the present study the applicability of a panel of nine microsatellite markers for identification of individuals in the Beefmaster and Charolais cattle breeds was evaluated. Application of the evaluated panel allows establishment of a parentage test service for cattle breeders to resolve problems associated with incorrect assignment of parentage in animals from a herd.

**AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el financiamiento de la CGPI-IPN para el proyecto clave 20011088 así como el apoyo de PAIDEC.

**ACKNOWLEDGMENTS**

The authors thank the CGPI-IPN for financing project 20011088, as well as the support of the PAIDEC.

*End of english version*

---

**LITERATURA CITADA**

- Ron M, Blanc M, Ezra E, Weller JI. Misidentification rate in the israeli dairy cattle population and its implications for genetic improvement. *J Dairy Sci* 1996;79:676-681.
- Kappes SM, Keele JW, Stone RT, McGraw RA, Sonstegard TS, Smith TPL. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Res* 1997;(7):235-249.
- Kovak J. Bovine microsatellite multiplexing for herd evaluation and parentage. LI\_COR. 2001. [on line] [http://bio.licor.com/Posters/PAG\\_520\\_Mat.html](http://bio.licor.com/Posters/PAG_520_Mat.html). Accessed Jun, 2001.
- Peelman LJ, Mortiaux F, Van Zeveren A, Dansercoer A, Mommns G, Coopman F, Bouquet Y, *et al.* Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. *Anim Genetics* 1998;29:161-167.
- Cunningham EP, Meghen CM. Biological identification systems:genetic markers. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 2001;20(2):491-199.
- Goldstein DB, Schlötterer C. Microsatellites and other simple sequences:genomic context asnd mutational mechanisms. *Evolution and Applications*. Oxford University Press. Microsatellites 1998:2-6.
- Cattle diversity database. Selected DNA markers. [on line] [www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/accessdb.html](http://www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/accessdb.html). Accessed, Oct, 2003.
- Cerit H. Use of DNA typing methods in parentage testing of cattle, [abstracts]-XXII World Buiatrics Congress [on line] [www.tiho\\_hannover.de/eineicht/rilali/wbc/genetics.pdf](http://www.tiho_hannover.de/eineicht/rilali/wbc/genetics.pdf)
- Salazar MEL. Evaluación de nueve marcadores microsatélites para la genotipificación de ganado bovino [tesis maestría]. Reynosa, Tam. México: Instituto Politécnico Nacional; 2001.
- Hecker KH, Roux KH. High and low annealing temperatures increase both specificity and yield in touchdown and stepdown PCR. *Bio Techniques* 1996;20:478-485.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton JM. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 1998;(7):639-655.
- Slate J, Marshall TC, Pemberton. JM. A retrospective assessment of the accuracy of the paternity inference program Cervus. *Molecular Ecology* 2000;(9):801-808.
- Luis C, Gus Cothran E, Oom MM. Microsatellites in Portuguese autochtonous horse breeds: usefulness for parentage testing. *Genet Molec Biol* 2002;25:2:131-134.
- Weir BS. *Disequilibrium*. Sinauer Associates, Inc. Genetic data analysis II. 1996.
- Chakraborty R. Statistical basis of risk calculations. In: Balding DJ, Bishop M, Cannings E editors. *Handbook of statistical genetics* West Sussex: John Wiley & Sons, LTD. UK, 2001.
- Stockburger EM, Green RD, Wood WO, Holm T, McNeil MD, Shafer DW, Yemm RS, *et al.* Determination of the stringency of DNA microsatellite marker genotypes for use in individual animal identification. Beef Program Report. Colorado Sate University. 1999.
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Moore SS. The identification of common haplotypes on bovine chromosome 5 within commercial lines of *Bos taurus* and their associations with growth traits. *J Anim Sci* 2002;(20):1187-1194.
- Grosz MD, McNeil D. Putative quantitative trait locus affecting birth weight on bovine chromosome 2. *J Anim Sci* 2001;(79):68-72.

