

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE
ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ – BUCUREȘTI**

FACULTATEA DE ZOOTEHNIE

IȘFAN (DEFTA) NICOLETA

**CERCETĂRI PRIVIND POLIMORFISMUL GENETIC AL UNOR
PROTEINE SANGVINE LA SUINE**

**RESEARCHES CONCERNING THE GENETIC POLYMORPHISM
OF SOME SERUM PROTEIN OF PIGS**

**TEZĂ PENTRU OBTINEREA TITLULUI DE „DOCTOR“
ÎN DOMENIUL „ZOOTEHNIE“**

Conducător de doctorat,

Prof. univ. dr. ȘTEFAN POPESCU-VIFOR

BUCUREȘTI

CUPRINS/CONTENTS

INTRODUCERE/INTRODUCTION	4
CAPITOLUL 1	
PROTEINELE DIN SÂNGE/ BLOOD PROTEINS	8
CAPITOLUL 2	
POSSIBILITĂȚI DE STUDIERE A POLIMORFISMULUI GENETIC AL PROTEINELOR DIN SÂNGE/ POSSIBILITIES OF RESEARCHING THE GENETIC POLYMORPHISM OF BLOOD PROTEINS	14
2.1. Tehnici electroforetice	14
2.2. Tehnici imuno-serologice	25
CAPITOLUL 3	
STUDII REFERITOARE LA DETERMINISMUL GENETIC AL UNOR PROTEINE SERICE LA SUINE/ RESEARCH REGARDING THE GENETIC DETERMINATION OF SEVERAL BLOOD SERUM PROTEINS IN PIGS	29
3.1. Studii referitoare la determinismul genetic al albuminelor serice	29
3.2. Studii referitoare la determinismul genetic al globulinelor serice	31
3.3. Studii referitoare la determinismul genetic al amilazelor serice	37
CAPITOLUL 4	
MATERIAL ȘI METODĂ/ MATERIAL AND WORK TECHNIQUE	42
4.1. Material	42
4.2. Metode de lucru	42
4.2.1. Metode de laborator	43
4.2.2. Metode de prelucrare a datelor	45
CAPITOLUL 5	
POLIMORFISMUL GENETIC AL PROTEINELOR SERICE STUDIATE/ THE GENETIC POLYMORPHISM OF THE BLOOD SERUM PROTEINS STUDIED	55
5.1. Polimorfismul genetic al prealbuminelor serice	55
5.2. Polimorfismul genetic al transferinelor serice	67
5.3. Polimorfismul genetic al amilazelor serice	80
CAPITOLUL 6	
ANALIZA GENOTIPURILOR AGREGAT/ ANALYSIS OF GLOBAL GENOTYPE	92
6.1. Analiza genotipurilor agregat de la locii prealbuminelor și transferinelor serice	92
6.2. Analiza genotipurilor agregat de la locii prealbuminelor și amilazelor serice	103
6.3. Analiza genotipurilor agregat de la locii transferinelor și amilazelor serice	113
6.4. Analiza genotipurilor agregat de la locii prealbuminelor, transferinelor și amilazelor serice	123

CAPITOLUL 7

CORELAREA POLIMORFISMULUI PROTEIC CU PERFORMANȚELE DE PRODUCȚIE/ *CORRELATING PROTEIN GENETIC POLYMORPHISM WITH PRODUCTION PERFORMANCES*

7.1. Corelarea fenotipurilor prealbuminelor cu performanțele de producție	135
7.2. Corelarea fenotipurilor transferinelor cu performanțele de producție.	154
7.3. Corelarea fenotipurilor amilazelor cu performanțele de producție.	176
7.4. Corelarea genotipurilor agregat cu performanțele de producție.	194
7.4.1. Corelarea genotipurilor agregat Pa Tf cu performanțele de producție	194
7.4.2. Corelarea genotipurilor agregat Pa Am cu performanțele de producție	219
7.4.3. Corelarea genotipurilor agregat Tf Am cu performanțele de producție	238
7.4.4. Corelarea genotipurilor agregat Pa Tf Am cu performanțele de producție	261
CONCLUZII/ <i>CONCLUSIONS</i>	291
BIBLIOGRAFIE/ <i>REFERENCES</i>	300

INTRODUCERE

Termenul de polimorfism definește existența a două sau mai multe forme diferite, distincte în cadrul unei specii vegetale sau animale.

Un sistem genetic polimorf a fost definit ca unul în care există două sau mai multe variante de alele, și în care o alelă nu are o frecvență mai mare de 99% în populație.

Polimorfismul genetic poate fi de două feluri:

- Polimorfism transgenic –un anumit fenotip (respectiv genotip) are tendința să se răspândească în populație, ceea ce conduce la o modificare a raporturilor dintre fenotipuri;
- Polimorfism echilibrat în care două sau mai multe categorii de fenotipuri (respectiv genotipuri) coexistă într-un raport stabil în cadrul unei populații, fiecare dintre forme prezentând atât avantaje cât și dezavantaje.

Un exemplu evident în populațiile de animale sau vegetale îl reprezintă structurile biochimice sau sistemele biochimice.

Prin sisteme biochimice sunt denumite, de fapt, anumite structuri proteice care prezintă variabilitate discontinuă, adică indivizii pot fi separați în grupe distincte pe baza tipurilor de structuri pe care le posedă.

Polimorfismul biochimic al proteinelor este un fenomen cu o largă răspândire la toate speciile de animale și constă în faptul că la indivizii din cadrul aceleiași specii (rase, populații, chiar eșantion) o substanță proteică se poate prezenta sub mai multe forme moleculare.

În plus, pe lângă diferențele constatate în privința determinării genetice între diferitele tipuri de proteine s-au observat determinări genetice diferite ale diferitelor fracțiuni ale aceleiași proteine. Este adevărat că diferențele între aceste fracțiuni ale aceleiași proteine sunt minime. Adeseori, într-un lanț polipeptidic format din zeci sau sute de aminoacizi, ce se succed într-o ordine bine stabilită, se observă că numai într-un anumit loc, un singur aminoacid este înlocuit cu altul.

Această unică modificare poate însă schimba proprietățile componentului biochimic, îi poate mări sau micșora eficiența, cu care proteina respectivă îndeplinește un anumit rol metabolic, îi poate anula complet anumite proprietăți, după cum îi poate conferi și proprietăți noi.

Proteinele din sânge al căror polimorfism a fost cel mai studiat, până în prezent sunt hemoglobinele, grupele sangvine, albuminele (prealbumine, albumine, postalbumine), globulinele (cu importanță deosebită β globulinele sau transferinele) și amilazele.

Întrucât polimorfismul proteic se manifestă de la naștere și, cu unele excepții, se menține constant tot timpul vieții animalului există posibilitatea folosirii lui ca un instrument de selecție timpurie a reproducătorilor de mare valoare.

De asemenea, este foarte important de cunoscut determinismul genetic al proteinelor (fracțiunilor proteice). Aceasta rezidă din aplicativitatea informațiilor din acest domeniu, care reiese din următoarele:

- Sistemele biochimice oferă informații cu referire la materialul genetic specific fiecărui individ. Aceasta permite lămurirea cazurilor de origine incertă, stabilirea paternității;
- Descifrarea mecanismelor genetice care sunt responsabile de existența unui polimorfism la nivelul structurilor biochimice;
- Frecvențele genelor ce determină diferitele structuri biochimice variază în cadrul raselor, populațiilor, permițând concluzii asupra filogeniei și înrudirii dintre rase;
- Fiind vorba de gene majore, a căror manifestare este discontinuă, acestea pot fi folosite ca gene marker, stabilindu-se corelații între acestea și locii caracterelor cantitative (QTL).

Având în vedere aceste considerente încă din anii 1950 au fost dezvoltate o serie de tehnici care au permis evidențierea polimorfismului la nivel imuno-biochimic. Astfel, la baza cercetărilor din acest domeniu stau două tehnici:

a) tehnici imuno-serologice, utilizate pentru determinarea grupelor sanguine și variațiilor imunologice ale proteinelor plasmatiche (alotipuri). Pentru specia suine, tehnicile imuno-serologice au fost inițiate de *Szymanowski*, în 1934 (citată de *Granciu I*, 1973). Tehnica a fost revizuită de *Irwin* în 1976;

b) tehnici electroforetice tip gel. Aceste metode electroforetice au inițiat o adevărată revoluție în descifrarea diferitelor variații alelice ale proteinelor dintr-o populație dată.

Tinând cont de importanța ce o prezintă polimorfismul genetic al structurilor biochimice am considerat oportun un studiu referitor la caracterizarea din punct de vedere genetic a unor populații de suine, pe baza informațiilor furnizate de polimorfismul genetic de la locii **prealbuminelor, transferinelor și amilazelor** serice.

Scopul acestei caracterizări este de a obține un plus de informații în ceea ce privește genofondul raselor de suine din țara noastră, având în vedere locii proteinelor studiate.

Un alt obiectiv al tezei a fost acela de a observa dacă tipurile de fracțiuni proteice, evidențiate în câmpul electroforetic, la locii celor trei tipuri de proteine influențează sau nu unele caractere ce prezintă importanță economică în programele de ameliorare la suine. Caracterele la care s-a făcut referirea în cadrul acestui studiu sunt: **greutatea la ieșirea din testare, grosimea stratului de slănină, sporul mediu zilnic și vârsta la 100 kg** (Capitolul 7).

Având în vedere obiectivele urmărite a fost necesară o prezentare din punct de vedere biochimic a proteinelor studiate (Capitolul 1), pe lângă interesul prezentat de rolul acestor proteine. De asemenea, a fost necesară trecerea în revistă a realizărilor pe plan mondial privind determinismul genetic al structurilor biochimice analizate și a tehnicilor de evidențiere a acestora (Capitolele 2 și 3).

Materialul de studiu, tehnicile de lucru, precum și metodele de prelucrare a datelor sunt prezentate în Capitolul 4.

În Capitolul 5 și 6 este prezentată situația polimorfismului genetic pentru patru eșantioane de suine din cadrul unității Romsuintest Periș, considerând situația de la un locus și simultan de la câte doi și respectiv trei loci.

Rezultatele studiului ce a vizat corelarea polimorfismului proteic cu particularitățile de producție sunt prezentate în Capitolul 7.

Îi mulțumesc domnului prof.univ.dr. **Popescu-Vifor Ștefan**, personalitate de prestigiu în domeniul geneticii animale, în primul rând pentru sugestiile, sfaturile și îndrumările pe care mi le-a oferit de la început și până în momentul finalizării acestei lucrări.

În al doilea rând îi mulțumesc pentru modul, uneori indirect, în care m-a ajutat să-mi păstrez interesul pentru acest domeniu.

În al treilea rând îi mulțumesc pentru că mi-a inspirat modul de aranjare a vertebrelor într-o coloană, căreia, se pare că de abia am început să-i consolidez baza.

Pentru o parte din informațiile ce se găsesc în Capitolul 2 doresc să mulțumesc doamnei prof.univ.dr. *Marieta Costache*, care mi-a pus la dispoziție materialul bibliografic.

Le mulțumesc în mod deosebit doamnei dr.ing. *Mariana Rebedea* și domnului prof. univ. dr. *Horia Grosu* pentru timpul acordat în lămurirea unor probleme pe care le-am întâmpinat pe parcurs.

De asemenea, îi mulțumesc doamnei conf. univ. dr. *Tomîța Drăgotoiu*, mai ales pentru sprijinul moral pe care mi l-a acordat.

Îi mulțumesc domnului dr. ing. *Zeneci Nicolae* pentru facilitarea recoltării probelor de sânge de la suine din cadrul unității Romsuintest Periș.

De asemenea, mulțumesc colectivelor de biochime din cadrul facultății de Biologie –Universitatea București și din Institutul Pasteur, în mod deosebit colegilor *Sergiu Georgescu* și *Ana Cișmileanu*, care m-au ajutat în relizarea electroforegramelor.