

Polimorfizmi MTNR1A gena u populaciji dalmatinske pramenke

Držaić, Valentino; Ramljak, Jelena; Kasap, Ante; Širić, Ivan; Jukić Grbavac, Marija; Mioč, Boro

Source / Izvornik: **58. hrvatski i 18. međunarodni simpozij agronoma : zbornik radova, 2023, 314 - 319**

Conference paper / Rad u zborniku

Publication status / Verzija rada: **Published version / Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:534244>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



Polimorfizmi MTNR1A gena u populaciji dalmatinske pramenke

Valentino Držaić¹, Jelena Ramljak¹, Ante Kasap¹, Ivan Širić¹, Marija Jukić Grbavac², Boro Mioč¹

¹Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska (vdrzaic@agr.hr)

²Sveučilište u Mostaru Agronomski i prehrambeno tehnološki fakultet, Bilkupa Čule bb, Mostar, Bosna i Hercegovina

Sažetak

Cilj je bio utvrditi frekvencije genotipova i alela na lokusima 606 i 612 MTNR1A gena te distribuciju janjenja po sezonama u ovaca pasmine dalmatinska pramenka. U tu je svrhu genotipizirano 40 jedinki PCR-RFLP metodom i utvrđeni su sljedeći genotipovi na lokusu 606: CC 0,10; CT 0,48 i TT 0,42, a na lokusu 612: GG 0,90 i GA 0,10. Na osnovu utvrđenih genotipova frekvencije alela bile su sljedeće: C 0,34; T 0,66; G 0,95 i A 0,05. Bez obzira na utvrđeni genotip na istraživanim lokusima, dominantna sezona janjenja bila je zima. Nejednaka prevalencija povoljnih alelnih varijanti na oba istraživana lokusa otežava donošenje zaključka o genetskoj preddisponiranosti dalmatinske pramenke za vansezonska janjenja.

Ključne riječi: genotip, alel, MTNR1A, dalmatinska pramenka, janjenje

Uvod

Sezonska reprodukcija česta je odlika većine divljih vrsta koja omogućuje partus u optimalno doba godine (obično u proljeće) te rast mladunčadi u povoljnim temperaturnim uvjetima uz dostupnost dostatnih količina hrane prije sljedeće zime (Thiéry i sur., 2002.). Proces pripitomljivanja doveo je do gotovo potpunog gubitka navedene prilagodbe u goveda i svinja, ali je ona uglavnom još uvijek zadržana u većine pasmina ovaca, koza i konja koji potječu s umjerenog klimatskog područja. Stoga je, u većine pasmina ovaca razdoblje spolne aktivnosti regulirano duljinom dana, odnosno fotoperiodom, a informacije o promjeni fotoperioda organizam prima putem hormona melatonina. Količina izlučenog melatonina ovisi o izmjenama dana i noći jer je trajanje sekrecije melatonina u pozitivnoj korelaciji s brojem noćnih sati (Karsch i sur., 1984.). Melatonin na ciljna tkiva i organe dijeluje putem specifičnih G-proteinskih receptora, MT1 i MT2, koji imaju visok afinitet za melatonin, a od kojih je samo MT1 receptor uključen u regulaciju reproduktivskih funkcija (Dubocovich i sur., 2003., Mura i sur., 2010.). Gen koji kodira MT1 receptor ili MTNR1A gen u ovaca se nalazi na 26 kromosomu između mikrosatelita CSSM43 i BM6526 (Messer i sur., 1997.). Navedeni gen se sastoji od dva egzona podjeljena s velikim intronom, a polimorfna mjesta na pozicijama 606 i 612 (Reppert i sur., 1994.) drugog egzona omogućila su detekciju poželjnih alela u različitim pasmina ovaca (Chu i sur., 2006.; Carcangiu i sur., 2009.; Mateescu i sur., 2009.; Mura i sur., 2010.; Martínez-Royo i sur., 2012.; Saxena i sur., 2014.; Avanus i Altinel, 2016.; Vlahek i sur., 2017.; Držaić i sur. 2016., 2017., 2019. i 2020.; Starić i sur., 2020.). Detekcijom poželjnih varijanti MTNR1A gena i odabirom jedinki s favoriziranim genotipovima nastoje se ublažiti izravne posljedice sezonske reprodukcije kao što su neravnomjerna ponuda ovčjih proizvoda tijekom godine, osobito janječeg mesa i ovčjeg mlijeka. Sezonska ponuda ovčjih proizvoda prisutna je i u Hrvatskoj obzirom da većinu uzgajanih pasmina odlikuje sezonska reproduktivska aktivnost. Skupini takvih pasmina pripada i dalmatinska pramenka koja se uzgaja na širem priobalnom području Dalmacije, u Dalmatinskoj zagori, Bukovici, te na nekim srednjedalmatinskim otocima (Brač, Hvar, Vis, Kornati i dr.). Dalmatinska pramenka pripada skupini kasnozrelih ovaca, a ovce uglavnom pripuštaju ujesen tako da se većinom ojanje u razdoblju od siječnja do ožujka (Caput i sur., 2010.). Iako pasminu odlikuje sezonska reproduktivska aktivnost, navedeni autori, naglašavaju mogućnost dvokratnog godišnjeg janjenja ili tri janjenja u dvije godine u boljim hranidbenim uvjetima. Utvrđivanje poželjnih alelnih varijanti MTNR1A gena omogućilo bi uvid u gentsku predispoziciju pasmine za izvansezonsku reprodukciju. Stoga je cilj predmetnog istraživanja bio utvrditi frekvencije genotipova i alela na lokusima 606 i 612 MTNR1A gena PCR-RFLP metodom te distribuciju janjenja po sezonama u stadu ovaca dalmatinske pramenke.

Materijal i metode

Predmetnim je istraživanjem bilo obuhvaćeno 40 odraslih, tjelesno potpuno razvijenih i zdravih ovaca pasmine dalmatinska pramenka koje su odabrane iz stada s ukupno oko 200 rasplodnih grla s područja Vrljike. Kriterij za odabir rasplodnih ovaca bio je postojanje podataka o barem tri janjenja. Za potrebe izolacije DNK uzet je uzorak tkiva s ruba ušne školjke, a podatci o datumu rođenja pojedine jedinke te podatci o janjenjima (redosljed i datum janjenja) ustupljeni su od strane Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske. Izolacija DNK iz tkiva provedena je GenElute® Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit-om (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), a uspješnost izolacije i kvaliteta DNK provjereni su elektroforezom na 1% gelu agaroze (Lonza, Rockland, ME, USA). Lančana reakcija polimeraze (eng. *polymerase chain reaction* PCR) provedena je prema protokolu proizvođača Promega sa GoTaq® G2 Hot Start Green Master Mix (Promega Corporation, Madison, WI, USA). PCR u ukupnom volumenu od 25 µL uključivao je 1,0 µL tj. 50 ng genomske DNK, 12,5 µL GoTaq® G2 Hot Start Green Master Mix, 0,75 µL pojedine oligonukleotidne početnice 10 µM, i 10,0 µL vode slobodne od nukleaza. Oligonukleotidne početnice: prema naprijed (eng. *forward*): 5'-TGTGTTTGTGGTGAGCCTGG-3' i prema natrag (eng. *reverse*): 5'-ATGGAGAGGGTTTGCCTTA-3' (Sigma-Aldrich) preuzete su od Messer i sur. (1997.). Uvjeti PCR reakcije bili su sljedeći: reakcija aktivacije Taq polimeraze na 94°C/5 min, 35 ciklusa umnažanja ciljne DNK sekvence (94°C/30 s, 55°C/30 s, 72°C/45 s) te krajnje produljenje umnožene željene sekvence DNK na 72°C/5 min. Umnažanje ciljnog DNK odsječka provedeno je u 35 ciklusa. Navedeni uvjeti omogućili su amplifikaciju glavnog dijela drugog egzona MTNR1A gena (GenBank Acc. No. U14109) duljine 824 bazna para (bp; Reppert i sur., 1994.). Provjera uspješnosti PCR reakcije obavljena je pomoću elektroforeze na 1% gelu agaroze paralelno s biljegom od 100 bp (PCR 100bp Low Ladder; Sigma-Aldrich). Nakon uspješne PCR amplifikacije genotipizacija za lokus 606 i lokus 612 MTNR1A gena provedena je PCR-RFLP metodom s *RsaI* i *MnII* restrikcijskim endonukleazama (New England Biolabs, Beverly, MA, USA). Restrikcijsko cijepanje PCR produkata provedeno je u ukupnom volumenu od 20 µL sadržavajući 10 µL PCR produkta i 10 µL reakcijskog miksa pojedine restrikcijske endonukleaze. *RsaI* reakcijski miks sastojao se od: 5,85 µL demineralizirane vode, 2,0 µL 10 x pufer T, 2,0 µL 0,1% BSA i 0,12 µL *RsaI* 1U, a *MnII* reakcijski miks od: 6,88 µL demineralizirane vode, 3,0 µL 10 x NEB pufera i 0,12 µL *MnII* 5U. Inkubacija PCR produkata i restrikcijskog miksa je provedena u vodenoj kupelji u ukupnom trajanju od 5 sati na 37°C za obje restrikcijske endonukleaze. Rezultati enzimatskog cijepanja analizirani su elektroforezom na 3% gelu agaroze paralelno s biljegom od 50 bp (DNA Step Ladder, Promega Corporation, Madison, WI, USA). Genotipizacija uzoraka na lokusu 606 bila je: CC (267 bp, 23 bp), CT (290 bp, 267 bp, 23 bp) i TT (290 bp), a na lokusu 612: GG (236 bp, 67 bp), GA (303 bp, 236 bp, 67 bp) i AA (303 bp) (Carcangiu i sur., 2009.; Držaić i sur., 2017., 2019., 2020.).

Frekvencije alela i genotipova te frekvencije janjenja po sezonama za utvrđene genotipove izračunate su korištenjem statističkog programa R (R Core Team, 2008). Sezone su definirane na sljedeći način: proljeće (od 21. 3. do 20. 6.), ljeto (od 21. 6. do 20. 9.), jesen (od 21. 9. do 20. 12.) i zima (od 21. 12. do 20. 3.). Testiranje odstupanja frekvencija utvrđenih genotipova od očekivanih za populaciju u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži u promatranom uzorku izvršeno je Hi-kvadrat testom (χ^2).

Rezultati i rasprava

Kod svih istraživanih ovaca, analizom polimorfizama na osnovu dužine restrikcijskih fragmenata (RFLP), identificirani su polimorfizmi MTNR1A gena na pozicijama 606 i 612 referentne sekvence (U14109). U tablici 1 prikazane su utvrđene frekvencije genotipova i alela na lokusima 606 i 612 MTNR1A gena i rezultati Hi-kvadrat testa. Na lokusu 606 MTNR1A gena utvrđena su sva tri genotipa, a najzastupljeniji je bio heterozigotni genotip CT s frekvencijom 0,48, zatim homozigotni genotip TT s frekvencijom 0,42, dok je frekvencija homozigotnog genotipa CC bila 0,10. Na drugom istraživanom lokusu (lokus 612) utvrđena su samo dva genotipa i to homozigotni genotip GG i heterozigotni genotip GA s frekvencijama 0,90 i 0,10. Genotip AA na lokusu 612 MTNR1A gena nije utvrđen u istraživanim uzorcima ovaca dalmatinske pramenke. Utvrđena je viša frekvencija alela T (0,66) u odnosu na alel C (0,34) na lokusu 606, te znatno viša frekvencija alela G (0,95) u odnosu na alel A (0,05) na lokusu 612.

Tablica 1. Utvrđene frekvencije genotipova i alela na lokusima 606 i 612 MTNR1A gena te rezultati χ^2 -testa

Frekvencija genotipova						Frekvencija alela				HWE	
Lokus 606			Lokus 612			Lokus 606		Lokus 612		Lokus 606	Lokus 612
CC	CT	TT	GG	GA	AA	C	T	G	A	χ^2	χ^2
0,10	0,48	0,42	0,90	0,10	0,00	0,34	0,66	0,95	0,05	0,155 ^{nz}	0,111 ^{nz}

HWE – Hardy-Weinberg equilibrium; $\chi^2_{0,05,1} = 3,84$; nz – nije značajno

Chu i sur. (2006.) navode značajno više frekvencije C i G alela u poliestričnih pasmina (Small tail Han i Hu ovca) u odnosu na sezonski poliestrične pasmine (Suffolk, Dorset i njemački merino). Navedeno potkrepljuju Saxena i sur. (2014.) navodeći visoke frekvencije C (0,87) i G (0,88) alela u poliestričnih Chokla ovaca. Više frekvencije C i G alela utvrđene su i u Sarda ovaca (0,66 i 0,78; Carcangiu i sur., 2009.) te u turske Kivircik pasmine (0,68 i 0,89; Avanus i Altinel, 2016.) koje odlikuje duža pripusna sezona u odnosu na tipične sezonski poliestrične pasmine ovaca. I dok su u poliestričnih pasmina i pasmina s produženom pripusnom sezonom utvrđene više frekvencije alela G na lokusu 612 MTNR1A gena, u divlje ovce (*Ovis Gmelini Musimon*) koju odlikuje izrazita sezonska pojava estrusa i janjenja utvrđene su više frekvencije alela A (0,66) u odnosu na alel G (0,34) te posljedično i više frekvencije genotipa AA (0,50) u odnosu na genotip GG (0,18; Carcangiu i sur., 2010.). U sezonski poliestričnih pasmina ovaca, kao što je travnička pramenka utvrđene su jednake frekvencije C (0,50) i T (0,50) alela te znatno više frekvencije G (0,88) u odnosu na A (0,12) alel (Držaić i sur., 2016.). Nadalje, u ovaca dalmatinske pramenke Vlahek i sur. (2017.) navode veću frekvenciju alela T (0,72) na lokusu 606 i veću frekvenciju alela G (0,90) na lokusu 612 uz izostanak genotipa AA, što je potvrđeno predmetnim istraživanjem (Tablica 1). U istarske ovce, također sezonski poliestrične pasmine, utvrđene su više frekvencije T (0,63) u odnosu na C (0,37) alel te više frekvencije G (0,80) u odnosu na A (0,20) alel (Držaić i sur., 2020.). U slovenskih pasmina ovaca: istarske pramenke i bovške ovce utvrđene su više frekvencije C (0,59) u odnosu na T (0,41) alel te više frekvencije G (0,64 i 0,68) u odnosu na A (0,36 i 0,32) alel (Starić i sur., 2020.), dok su u jezersko-solčavske pasmine isti autori utvrdili više frekvencije alela T (0,64) i alela G (0,64) premda razlike u frekvencijama alela koje autori navode nisu bile toliko izražene kao u ranije navedenim istraživanjima. Razlike u frekvencijama alela na istraživanim lokusima MTNR1A gena u različitim pasmina ovaca posljedica su različitog selekcijskog pritiska koji je prisutan u pojedinim uzgojima (Martínez-Royo i sur., 2012., Starić i sur., 2020.).

Iz rezultata χ^2 -testa je razvidno da utvrđeni genotipovi MTNR1A gena u istraživanoj populaciji ovaca dalmatinske pramenke na lokusima 606 i 612 statistički ne odstupaju značajno od očekivanih frekvencija genotipova populacije u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži (Tablica 1). Navedeno je i očekivano obzirom da se radi o najbrojnijoj populaciji ovaca u Hrvatskoj u koje zbog ekstenzivnog sustava uzgoja nije provođena intenzivnija selekcija. Distribuciju genotipova na lokusima 606 i 612 MTNR1A gena unutar Hardy-Weinbergove ravnoteže navode Saxena i sur. (2014.) za Chokla pasminu, Držaić i sur. (2016.) za travničku pramenku, Držaić i sur. (2019.) za cigaju te Držaić i sur. (2020.) za istarsku ovcu. Distribucija frekvencija janjenja ovaca dalmatinske pramenke temeljem genotipa na istraživanim lokusima MTNR1A gena po sezonama prikazane su u tablici 2. U istraživanoj populaciji evidentirana su ukupno 142 janjenja, a od toga 88 janjenja bilo tijekom zime (61,97%), 53 tijekom proljeća (37,33%), dok je jedno janjenje (0,7%) evidentirano tijekom jeseni.

Tablica 2. Distribucija frekvencija janjenja dalmatinske pramenke po sezonama obzirom na genotipove lokusa 606 i 612 MTNR1A gena

Genotip	Sezona janjenja								UKUPNO		
	Proljeće		Ljeto		Jesen		Zima				
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Lokus 606	CC	7	4,93	0	0,00	0	0,00	9	6,34	16	11,27
	CT	31	21,83	0	0,00	1	0,70	36	25,35	68	47,89
	TT	15	10,57	0	0,00	0	0,00	43	30,28	58	40,85
Σ		53	37,33	0	0,00	1	0,70	88	61,97	142	100,00
Lokus 612	GG	47	33,10	0	0,00	1	0,70	78	54,93	126	88,73
	GA	6	4,23	0	0,00	0	0,00	10	7,04	16	11,27
	AA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Σ		53	37,33	0	0,00	1	0,70	88	61,97	142	100,00

S obzirom na genotip na lokusu 606 po broju janjenja dominirale su jedinke heterozigotnog genotipa CT sa 68 janjenja, zatim jedinke homozigotnog genotipa TT sa 58 janjenja te jedinke homozigotnog genotipa CC sa 16 janjenja što je sukladno utvrđenim frekvencijama genotipova na navedenom lokusu (Tablica 1). Jedinke sva tri genotipa na lokusu 606 MTNR1A gena najveći broj janjenja ostvarile su tijekom zime. Navedena distribucija janjenja po sezonama utvrđena je i s obzirom na genotip na lokusu 612 gdje je dominantna sezona janjenja, bez obzira na genotip, bila zima. Po broju janjenja dominirale su jedinke GG genotipa zimi (78 janjenja) i u proljeće (47 janjenja) što je sukladno visokim frekvencijama navedenog genotipa u istraživanoj populaciji ovaca dalmatinske pramenke.

Carcangiu i sur. (2009.) navode veći udio janjenja Sarda ovaca CC i GG genotipa u razdoblju rujan-prosinac (68% i 80%) u odnosu na razdoblje siječanj-travaj (35% i 20%), dok za ovce TT i AA genotipa navode veći udio janjenja u razdoblju siječanj-travanj (55% i 78%) u odnosu na razdoblje rujan-prosinac (45% i 22%). Autori dalje navode podjednake udjele janjenja ovaca heterozigotnih genotipova CT i GA u oba razdoblja. Nadalje, jedinke GG genotipa Sarda ovaca odlikuje veća plodnost te brža pojava estrusa nakon proljetnog janjenja i tretmana melatoninom (Mura i sur., 2019.) te značajan utjecaj mužjaka na pojavu estrusa tijekom anestrnog razdoblja bez obzira na dob i tjelesnu masu ovaca (Luridiana i sur. 2015.). Izostanak jasnijeg utjecaja istraživanih polimorfizama MTNR1A gena u ovaca dalmatinske pramenke na pojavu janjenja uvelike je uvjetovan menadžmentom u komercijalnom stadu iz kojeg su prikupljeni uzorci. U proizvodnji mesa uzgajivačima je cilj da se ovce janje tijekom zime i u rano proljeće kako bi glavina janjadi za tržište bila spremna u vrijeme Uskrsa kad je i najveća potražnja za janječim mesom. Uz navedeno, distribucija genotipova na istraživanim lokusima nije bila ujednačena, tko je na lokusu 606 zastupljenost CC genotipa bila samo 0,10, dok je u istoj frekvenciji bio zastupljen genotip GA na lokusu 612, a genotip AA je izostao što dodatno otežava interpretaciju dobivenih rezultata.

Zaključak

Obje povoljne varijante alela MTNR1A gena za mogućnost vansezonske reprodukcije (606 C i 612 G) nisu bile dominantne na oba lokusa, već samo na lokusu 612, što otežava donošenje zaključka o podobnosti pasmine za provedbu selekcije na van-sezonska janjenja. Nadalje, zastupljenost genotipova nije bila ravnomjerna već je bila izrazita prevalencija genotipova CT i GG što je imalo dodatni nepovoljni učinak u donošenju zaključaka. Daljnja istraživanja koja bi uključivala genotipiziranje većeg broja jedinki, a osobito onih kod kojih su povijesno poznate incidencije vansezonskih janjenja, značajno bi doprinjela boljem razumijevanju ove problematike i donošenju konkretnijih zaključaka o vezi između genotipa i fenotipa u dalmatinske pramenke.

Literatura

- Avanus K., Altinel A. (2016). Identification of Genetic Variation of Melatonin Receptor 1A (MTNR1A) Gene in Kivircik Breed Ewes by MnlI and RsaI Restriction Enzymes. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 22 (4): 571-576.

- Caput P., Ivanković A., Mioč B. (2010). Dalmatinska pramenka. Objavljeno u Očuvanje biološke raznolikosti u stočarstvu. Volarić, V., Bašić Z. (eds.), 229-231. Zagreb, Hrvatska: Hrvatska mljekarska udruga.
- Carcangiu V., Mura M.C., Vacca G.M., Pazzola M., Dettori M.L., Luridiana S., Bini P.P. (2009). Polymorphism of the melatonin receptor MT1 gene and its relationship with seasonal reproductive activity in the Sarda sheep breed. *Animal Reproduction Science*. 116 (1-2): 65-72.
- Carcangiu V., Mura M.C., Vacca G.M., Dettori M.L., Pazzola M., Daga C., Luridiana S. (2010). Characterization of the Melatonin Receptor Gene MT1 in Mouflon (*Ovis Gmelini Musimon*) and Its Relationship With Reproductive Activity. *Molecular Reproduction and Development*. 77: 196.
- Chu M.X., Cheng D.X., Liu W.Z., Fang L., Ye S.C. (2006). Association between Melatonin Receptor 1A Gene and Expression of Reproductive Seasonality in Sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 19 (8): 1079-1804.
- Držaić V., Kasap A., Širić I., Mioč B. (2016). Polimorfizmi MTNR1A gena u populaciji travničke pramenke. Objavljeno u *Proceedings: 51st Croatian and 11th International Symposium on Agriculture*, Pospišil M., Vnučec I. (eds.), 324-238. Opatija, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Držaić V., Kasap A., Širić I., Prpić Z., Mioč B. (2017). Utjecaj polimorfizma MTNR1A gena na sezonsku pojavu janjenja Suffolk pasmine. Objavljeno u *Proceedings: 52st Croatian and 12th International Symposium on Agriculture*, Vila S., Antunović Z. (eds.), 494-498. Dubrovnik, Hrvatska: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Držaić V., Kasap A., Širić I., Mioč B. (2019). Povezanost polimorfizma MTNR1A gena i izvansezonskih janjenja cigaja ovaca. Objavljeno u *Proceedings: 54th Croatian and 14th International Symposium on Agriculture*, Mioč B., Širić I. (eds.), 453-457. Vodice, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Držaić V., Ramljak J., Kasap A., Širić I., Antunović Z., Mioč B. (2020). Polimorfizmi MTNR1A gena u populaciji istarske ovce. Objavljeno u *Proceedings: 55th Croatian and 15th International Symposium on Agriculture*, Mioč B.; Širić I. (eds.), 424-428. Vodice, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Dubocovich M.L., Rivera-Bermudez M.A., Gerdin M.J., Masana M.I. (2003). Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. 1 (8): 1093-1108.
- Karsch F.J., Bittman E.L., Foster D.L., Goodman R.L., Legan S.J., Robinson J.E. (1984). Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Hormone Research*. 40: 185-232.
- Luridiana S., Mura M.C., Daga C., Diaz M.L., Bini P.P., Cosso G., Carcangiu V. (2015). The relationship between melatonin receptor 1A gene (MTNR1A) polymorphism and reproductive performance in Sarda breed sheep. *Livestock Science*. 171: 78-83.
- Martínez-Royo A., Lahoz B., Alabart J.L., Folch J., Calvo J.H. (2012). Characteristics of the Melatonin Receptor 1A (MTNR1A) gene in the Rasa Aragonesa sheep breed: Association with reproductive seasonality. *Animal Reproduction Science*. 133 (3-4): 169-175
- Mateescu R.G., Lunsford A.K., Thonney M.L. (2010). Association between melatonin receptor 1A gene polymorphism and reproductive performance in Dorset ewes. *Journal of Animal Science*. 87: 2485-2488.
- Messer L.A., Wang L., Tuggle C.K., Yerle M., Chardon P., Pomp D., Womack J.E., Barendse W., Crawford A.M., Notter D.R., Rothschild M.F. (1997). Mapping of the melatonin receptor 1a (MTNR1A) gene in pigs, sheep, and cattle. *Mammalian Genome*. 8: 369-370.
- Mura M.C., Luridiana S., Vacca G.M., Bini P.P., Carcangiu V. (2010). Effect of genotype at the MTNR1A locus and melatonin treatment on first conception in Sarda ewe lambs. *Theriogenology*. 74: 1579-1586.

- Mura M.C., Luridiana S., Pulinas L., Di Stefano M.V., Carcangiu V. (2019). Reproductive response to male joining with ewes with different allelic variants of the MTNR1A gene. *Animal Reproduction Science*. 200: 67-74.
- Reppert S.M., Weaver D.R., Ebisawa T. (1994). Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron*. 13: 1177-1185.
- Saxena V.K., Jha B.K., Meena A.S., Naqvi S.M.K. (2014). Sequence analysis and identification of new variation in the coding sequence of melatonin receptor gene (MTNR1A) of Indian Chokla sheep breed. *Meta Gene*. 2: 450-458.
- Starič J., Farci F., Luridiana S., Mura M.C., Pulinas L., Cosso G., Carcangiu V. (2020). Reproductive performance in three Slovenian sheep breeds with different alleles for the MTNR1A gene. *Animal Reproduction Science*. 216: 106352.
- Thiéry J.C., Chemineau P., Hernandez X., Migaud M., Malpoux B. (2002). Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domestic Animal Endocrinology*. 23: 87-100.
- Vlahek I., Starčević K., Ekert Kabalin A., Mioč B., Špehar M., Menčik S., Maurić M., Džakula S., Mikulec Ž., Sušić V. (2017). Polymorphism of the MTNR1A gene in seasonal and nonseasonal estrous sheep breed. Objavljeno u *Book of Abstracts of the 7th International Congress "Veterinary Science and Profession"*, Brkljača Botegarro N., Zdolec N., Vrbanac Z. (eds.), 62. Zagreb, Hrvatska. University of Zagreb Faculty of Veterinary Medicine.

MTNR1A gene polymorphisms in Dalmatian pramenka

Abstract

The aim was to determine the frequency of genotypes and alleles at loci 606 and 612 of the MTNR1A gene and the distribution of lambing by season in Dalmatian pramenka. For this purpose, 40 individuals were genotyped using the PCR-RFLP method and the following genotypes were determined at loci 606: CC 0.10, CT 0.48, and TT 0.42 and loci 612: GG 0.90 and GA 0.10. Based on the determined genotypes, allele frequencies were as follows: C 0.34, T 0.66, G 0.95, and A 0.05. Regardless of genotype at the loci, the predominant lambing season was winter. Different prevalence of the favorable allelic variants at both loci makes it difficult to draw a firm conclusion about the genetic predisposition of Dalmatian pramenka for out-of-season lambing.

Keywords: genotype, allele, MTNR1A, Dalmatian pramenka, lambing