

# Povezanost polimorfizama MTNR1A gena i sezonske poliestričnosti ovaca

Association of the MTNR1A gene polymorphisms and seasonal reproduction in sheep

**Držaić, V., Mioč, B.**

**Poljoprivreda/Agriculture**

ISSN: 1848-8080 (Online)

ISSN: 1330-7142 (Print)

DOI: <http://dx.doi.org/10.18047/poljo.21.2.12>



**Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Poljoprivredni institut Osijek**

Faculty of Agriculture in Osijek, Agricultural Institute Osijek

# POVEZANOST POLIMORFIZAMA MTNR1A GENA I SEZONSKE POLIESTRIČNOSTI OVACA

Držaić, V., Mioč, B.

Stručni članak  
Professional paper

## SAŽETAK

*Sezonska poliestričnost ovaca uvelike ograničava mogućnosti kontinuirane cjelogodišnje proizvodnje i ravnomjerne ponude ovčjih proizvoda na tržištu. Početak rasplodne sezone u ovaca povezan je s pojačanim lučenjem hormona melatonina pod utjecajem mraka. Na ciljna tkiva i organe melatonin djeluje preko specifičnih MT<sub>1</sub> i MT<sub>2</sub> G proteinskih receptora. U ovaca se MTNR1A gen nalazi na 26 kromosomu te posjeduje dva polimorfna mjesta. Prisutnost polimorfizama (M/M i R/R genotip) povezuje se s nesezonskom pojavom estrusa, dok se izostanak polimorfizama (m/m i r/r genotip) povezuje sa sezonskom pojavom estrusa. Jedinke s „M“ ili „R“ alelom u homozigotnom ili heterozigotnom obliku karakterizira uspješnija reprodukcija za vrijeme duljega fotoperioda, odnosno izvan uobičajene sezone.*

**Ključne riječi:** *ovce, sezonska poliestričnost, melatonin, MTNR1A gen, polimorfizam*

## UVOD

U umjerenoj klimatskoj zoni, kojoj pripada Republika Hrvatska, ovce su sezonski poliestrične životinje, tj. tjeraju se i janje u određeno vrijeme godine, i sezonost im je regulirana svjetlošću, odnosno duljinom trajanja dana, dok su u tropima ovce poliestrične i tjeraju se tijekom cijele godine (Samardžija i sur., 2010.). Sezonska reprodukcija fiziološki je proces prilagodbe korišten od divljih životinja, u svrhu lakšega suočavanja sa sezonskim promjenama temperature i dostupnosti hrane. Pripitomljavanje je dovelo do gotovo potpunoga gubitka navedene prilagodbe u goveda i svinja, ali je, uglavnom, još uvijek zadržana u većine pasmina ovaca, koza i konja koji potječu s umjerene zemljopisne širine, gdje je fotoperiod glavni okolišni čimbenik koji određuje početak i trajanje pripusne sezone (Malpoux i sur., 1996.). Fotoperiod najprije percipira mrežnica oka, koja prima te, preko vidnoga živca, prenosi svjetlosni podražaj do *nucleus supraopticus* smješten u prednjem dijelu hipotalamusa. Od *nucleus supraopticus* podražaj se prenosi do *nucleus paraventricularis*, potom do gornjih cervikalnih ganglija i dalje preko autonomnoga živčanoga sustava do epifize, koja potiče ili inhibira lučenje melatonina (Swenson i Reece, 1993., cit. Rupić, 2010.).

Budući da su ovce „životinje kratkoga dana“, pokretanje spolnoga ciklusa započinje smanjenjem razine dnevnog osvjetljenja, a u našim područjima to je krajem

ljeta, odnosno početkom jeseni. Za pokretanje spolnoga ciklusa u ovaca ključan je hormon melatonin (indolemin), kojega sintetizira i izlučuje žlijezda epifiza. Količina izlučenoga melatonina ovisi o izmjenama dana i noći, jer je trajanje sekrecije melatonina u pozitivnoj korelaciji s dužinom mraka (Karsch i sur., 1984.). Melatonin se smatra kemijski odgovornom tvari, putem koje se regulira sinteza i izlučivanje FSH (folikulostimulirajući hormon) i LH (luteinizirajući hormon) iz prednjega režnja hipofize, ovisno o dužini trajanja dana (Samardžija i sur., 2010.).

Sezonske promjene u razdoblju spolne aktivnosti (estrus) i spolne neaktivnosti (anestrus) važan su čimbenik koji utječe na učinkovitost ovčarske proizvodnje, posebno ako se radi o proizvodnji mesa. Navedene promjene u hrvatskom ovčarstvu uvjetuju neravnomjernu ponudu janječega mesa na tržištu, s obzirom na to da se ovce najčešće pripušta krajem ljeta, odnosno početkom jeseni, da bi se janjile krajem zime, odnosno početkom proljeća. Sezonska ponuda janjadi na tržištu često je glavna prepreka povećanju intenziteta ovčarske proizvodnje. Odstupanja u vremenu i duljini pripusta između i unutar pasmine sugeriraju da je janjenje izvan sezone uglavnom pod genetskom kontrolom (Mateescu i sur., 2009.). Detekcija odgovornih alela i genotipizacija

*Valentino Držaić, mag. ing. agr. (vdrzai@agr.hr), prof. dr. sc. Boro Mioč – Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 24, 10000 Zagreb*

ovaca te odabiranje poželjnih genotipova omogućile bi stvaranje populacija ovaca koje bi imale mogućnost kontinuiranoga spontanoga tjeranja tijekom cijele godine. MTNR1A gen je obećavajući kandidat za uporabu u selekciji putem markera za poboljšanje izvan sezonske plodnosti.

## MELATONIN I MELATONINSKI RECEPTORI

Melatonin (N-acetil-5-metoksitriptamin) je prvi put izoliran iz pinealne žlijezde (epifize) goveda i kemijski identificiran od Lerner i Case (1960.; cit. Dubocovich, 1988.). Prisutnost i/ili sinteza melatonina također je opisana izvan epifize i to u mrežnici oka (Zawilska i Nowak, 1991.; cit. Dubocovich i Markowska, 2005.), harderovoj žlijezdi (Djeridane i Touitou, 2001.; cit. Dubocovich i Markowska, 2005.), probavnome sustavu (Bubenik, 2002.; cit. Dubocovich i Markowska, 2005.), testisima (Tijmes i sur., 1996.; cit. Dubocovich i Markowska, 2005.) i limfocitima čovjeka (Carrillo-Vico i sur., 2004.; cit. Dubocovich i Markowska, 2005.). Melatonin je sintetiziran od serotonina nakon biokemijskoga slijeda od dva koraka (Dubocovich, 1988.). Sinteza i izlučivanje melatonina u opću cirkulaciju pod utjecajem su „ritma“ dana i noći, a karakterizirani su niskim ili nemjerljivim koncentracijama (< 10 pg/ml) tijekom dana te povećanjem razine sekrecije na 200-400 pg/ml tijekom noći (Bittman i sur., 1983.).

Melatonin u kralježnjaka regulira brojne biološke funkcije kroz tri različita podtipa G proteinskih receptora (GPCR – G protein-coupled receptors): MT<sub>1</sub>, MT<sub>2</sub> i MTNR1C. MT<sub>1</sub> i MT<sub>2</sub> prisutni su u čovjeka i ostalih sisavaca, dok je dodatni melatoninski receptor MTNR1C identificiran u riba, vodozemaca i ptica (Li i sur., 2013.). Trenutačna nomenklatura klasificira dva klonirana melatoninska receptora u dva tipa: MT<sub>1</sub> (prvobitno Mel<sub>1a</sub>, MEL<sub>1A</sub>, ML<sub>1A</sub>), odnosno prvi klonirani melatoninski receptor u sisavaca i MT<sub>2</sub> (prvobitno Mel<sub>1b</sub>, MEL<sub>1B</sub>, ML<sub>1B</sub>), odnosno drugi klonirani melatoninski receptor u sisavaca (Dubocovich i sur., 2010.). Dugo se smatralo da ovce imaju samo jedan melatoninski receptor (MT<sub>1</sub>), sve dok prije nekoliko godina nije kloniran i drugi melatoninski receptor (MT<sub>2</sub>; Cogé i sur., 2009.). Oba melatoninska receptora imaju osnovnu strukturu sastavljenu od sedam transmembranskih razgranatih α-uvojitih segmenata spojenih na naizmjenične unutarstanične i izvanstanične petlje, s amino (NH<sub>2</sub>) završetkom smještenim s izvanstanične strane i karboksi (COOH) krajem s unutarstanične strane (Dubocovich i sur., 2010.).

MT<sub>1</sub> i MT<sub>2</sub> melatoninski receptori diskretno su raspoređeni u područjima središnjega živčanoga sustava i ciljnih perifernih tkiva. Tkiva u kojima su pronađeni funkcionalni MT<sub>1</sub> i/ili MT<sub>2</sub> melatoninski receptori su mrežnica, *suprachiasmatic nucleus, pars tuberalis*, cerebralne i periferne arterije, bubrezi, gušterača, kora nadbubrežne žlijezde, testisi i imunološke stanice (Dubocovich i Markowska, 2005.). Upravo *pars tuberalis* adenohipofize, smješten u čvoru između hipotalamusa i hipofize (potencijalno povoljan položaj za utjecaj na hipotalamo-hipofizne funkcije), sadrži visoku gustoću melatoninskih receptora

te predstavlja najvažnije mjesto djelovanja melatonina na sezonost reprodukcije (Malpoux i sur., 1996.).

## POLIMORFIZMI MTNR1A GENA

MTNR1A gen mapiran je u čovjeka za kromosom 4q35.1, proksimalni dio kromosoma 8 u miša (Slaugenhaupt i sur., 1995.), kromosom 17q1.2 u svinje, ovčji kromosom 26 i goveđi kromosom 27 (Messer i sur., 1997.). U ovaca se navedeni gen nalazi između mikrosatelita CSSM43 i BM6526 (Messer i sur., 1997.), a sastoji se od dva egzona podijeljena velikim intronom (Reppert i sur., 1994.). Prvi egzon pokazuje nizak stupanj polimorfizma (Trecherel i sur., 2010.), dok je drugi egzon MTNR1A gena koji kodira ovčji MT<sub>1</sub> receptor visoko polimorfan (Barrett i sur., 1997.; Messer i sur., 1997.; Pelletier i sur., 2000.). Drugi egzon posjeduje dva polimorfna (RFLP - restriction fragment length polymorphism) mjesta, na pozicijama 606 i 612 referentne sekvence U14109 (Reppert i sur., 1994.), od toga jedno za *RsaI* (pozicija 606), a drugo za *MnII* (pozicija 612) restriksijsku endonukleazu. Polimorfizam na poziciji 606 očituje se prisutnošću citozina (C) umjesto timina (T) (C606T), dok je polimorfizam na poziciji 612 prouzročen prisutnošću gvanina (G) umjesto adenina (A) (G612A). Razgradnja s *RsaI* restriksijskom endonukleazom nakon elektroforeze proizvodi dva polimorfna fragmenta od 267 bp i 23 bp (Chu i sur., 2003. i 2006.; Carcangiu i sur., 2009.), kada je restriksijsko mjesto prisutno (alel *R* ili *C*) ili jedan fragment od 290 bp (Chu i sur., 2003. i 2006.; Carcangiu i sur., 2009.), kada je restriksijsko mjesto izostalo (alel *r* ili *T*) te omogućuje identifikaciju triju genotipova: *R/R* (267 bp/267 bp), *R/r* (267 bp/290 bp) i *r/r* (290 bp/290 bp). Razgradnja s *MnII* restriksijskim enzimom nakon elektroforeze proizvodi dva fragmenta od 236 bp i 67 bp (Pelletier i sur., 2000.; Chu i sur., 2003. i 2006.; Carcangiu i sur., 2009.), kada je prisutno restriksijsko mjesto (alel *M* ili + ili *G*) ili jedan fragment od 303 bp (Pelletier i sur., 2000.; Chu i sur., 2003. i 2006.; Carcangiu i sur., 2009.), kada je restriksijsko mjesto izostalo (alel *m* ili – ili *A*) te omogućuje identifikaciju tri genotipa: *M/M* (236 bp/236 bp), *M/m* (236 bp/303 bp) i *m/m* (303 bp/303 bp).

Mutacija na poziciji 612 odgovorna za izostanak *MnII* restriksijskoga mjesta uvijek je povezana s tri preostale mutacije na pozicijama 453, 706 i 891 u *m/m* genotipa (Pelletier i sur., 2000.; Chu i sur., 2003.; Tablica 1.). Mutacije na pozicijama 706 i 893 dovode do promjene aminokiselina na pozicijama 220 i 282, ali one nisu dio transmembranske domene MT1 melatoninskoga receptora i ne bi trebale mijenjati funkcionalnost receptora (Barrett i sur., 2003.). Navedene promjene u aminokiselinama (V220I; A282D), osim u Merino d' Arles (Pelletier i sur., 2000.), pronađene su i u Sarda (Carcangiu i sur., 2009.) te Rasa Aragonesa pasmine (Martínez-Royo i sur., 2012.). Carcangiu i sur. (2009.) utvrdili su osam, a Chu i sur. (2006.) pet mutacija identičnih s mutacijama prikazanim u Tablici 1., dok su Martínez-Royo i sur. (2012.) utvrdili samo tri identične mutacije te osam novih na pozicijama 363, 383, 385, 423, 453, 522, 706 i 1047.

**Tablica 1. Pozicije mutacija te promjene baza i aminokiselina MTNR1A gena nekih pasmina ovaca (Pelletier i sur., 2000.)**

Table 1. Position of mutations and base and amino acid change in MTNR1A gene in some sheep breeds

Pozicija mutacije Position of mutations	Promjena baze Base change	Promjena aminokiseline i pozicija* Amino acid change and position*
426	C → T	Nema - None
456	G → T	Nema - None
555	G → A	Nema - None
606	C → T	Nema - None
612	G → A	Nema - None
706	G → A	Val → Ile 220
783	G → A	Nema - None
801	G → A	Nema - None
891	C → T	Nema - None
893	C → A	Ala → Asp 282

\*Pozicija baze ili aminokiseline prema Reppert i sur. (1994.); Base or amino acid positions according to Reppert et al. (1994)

## FREKVENCIJE ALELA I GENOTIPOVA MTNR1A GENA

Frekvencije *M/M* i *R/R* genotipova su više, dok su frekvencije *m/m* i *r/r* genotipova niže u poliestričnih pasmina u odnosu na sezonski poliestrične pasmine ovaca, što potvrđuje povezanost *M/M* i *R/R* genotipova i nesezonske pojave estrusa te *m/m* i *r/r* genotipova i sezonske pojave estrusa u ovaca (Chu i sur., 2006.). Reprodukcijska sposobnost ovaca s *M/M* genotipom za vrijeme dužega fotoperioda uspješnija je u odnosu na ovce s *m/m* genotipom (Pelletier i sur., 2000.; Mateescu i sur., 2009.). Isto tako, divlje i primitivnije domaće sezonski poliestrične pasmine, u pravilu, imaju više frekvencije *m/m* genotipa (Carcangiu i sur., 2010.). Polimorfizam na MTNR1A lokusu analiziran je u mnogih pasmina ovaca, a frekvencije alela i genotipova prikazane su u Tablici 2.

**Tablica 2. Frekvencije alela i genotipova za *Mnll* i *Rsal* polimorfizam različitih pasmina ovaca**

Table 2. Allelic and genotypic frequency for *Mnll* and *Rsal* polymorphism in different sheep breeds

Pasma Breed	Frekvencije alela Alleles frequencies				Frekvencije genotipova Genotype frequencies						Literaturni izvor References
	<i>M</i>	<i>m</i>	<i>R</i>	<i>r</i>	<i>M/M</i>	<i>M/m</i>	<i>m/m</i>	<i>R/R</i>	<i>R/r</i>	<i>r/r</i>	
RA <sup>1</sup>	0,87	0,13	0,51	0,49	–	–	–	–	–	–	Martínez-Royo i sur., 2012.
Sarda	0,77	0,23	–	–	0,68	0,19	0,13	–	–	–	Carcangiu i sur., 2011.
Sarda	–	–	–	–	0,62	0,19	0,19	0,53	0,30	0,17	Mura i sur., 2010.
Muflon	0,34	0,66	–	–	0,18	0,32	0,50	–	–	–	Carcangiu i sur., 2010.
Sarda	0,78	0,22	0,66	0,34	0,68	0,205	0,115	0,535	0,26	0,205	Carcangiu i sur., 2009.
Dorset	0,64	0,36	0,35	0,65	0,43	0,44	0,13	0,13	0,43	0,44	Mateescu i sur., 2009.
STH <sup>2</sup>	0,75	0,25	0,71	0,29	0,52	0,47	0,01	0,46	0,50	0,04	Chu i sur., 2006.
Hu	0,80	0,20	0,65	0,35	0,63	0,33	0,04	0,41	0,48	0,11	
Suffolk	0,56	0,44	0,42	0,58	0,33	0,46	0,21	0,04	0,75	0,21	
Dorset	0,57	0,43	0,48	0,52	0,23	0,67	0,10	0,13	0,70	0,17	
GMM <sup>3</sup>	0,55	0,45	0,48	0,52	0,19	0,71	0,10	0,24	0,48	0,28	

<sup>1</sup>Rasa Aragonesa; <sup>2</sup>Small Tail Han; <sup>3</sup>German Mutton Merino

Rezultati u Tablici 2. pokazuju znatnu raznolikost alela na *Mnll* i *Rsal* restrikcijskome mjestu MTNR1A gena u različitim pasmina ovaca. Navedeni rezultati sugeriraju da se pasmine s visokim udjelima alela *M* i *R* nalaze pod određenom selekcijom, u svrhu reduciranja sezonske reprodukcije. Mateescu i sur. (2009.) navode da su ovce nositeljice *M/M* ili *M/m* genotipa ostale 136 dana ranije gravidne i imale 124 dana kraći interval između prvoga i drugoga janjenja u odnosu na ovce *m/m* genotipa. Carcangiu i sur. (2009.) utvrdili su veći postotak ojanjenih ovaca pasmine Sarda *M/M* (80%) i *R/R* (65%) genotipa u razdoblju listopad-prosinac u odnosu na ovce *m/m* (22%) i *r/r* (45%) genotipa, dok je postotak ojanjenih ovaca *M/m* i *R/r* genotipa bio podjednak u razdoblju listopad-prosinac i siječanj-travanj. U iste pasmine Carcangiu i sur. (2011.) utvrdili su veći broj gravidnih ovaca i višu stopu janjenja životinja s *M/M* i *M/m* genotipom u odnosu na one s *m/m* genotipom nakon sinkronizacije i umjetne oplodnje u proljeće. Povezanost *M/M*

genotipa i estrusne aktivnosti u proljeće u Merino d'Arles pasmine utvrdili su Pelletier i sur. (2000.), dok su Chu i sur. (2006.) zabilježili cjelogodišnju estrusnu aktivnost u kineskih pasmina ovaca s prisutnošću navedenog genotipa. Notter i sur. (2005.) utvrdili su da je samo jedan *M* alel dovoljan za utjecaj na sezonsku reprodukciju aktivnosti nekoliko pasmina ovaca iz Sjeverne Amerike. Važnost genotipa za reprodukciju odgovor na tretman melatoninom utvrdili su Mura i sur. (2010.), pokazujući da su životinje *M/M* genotipa osjetljivije na melatoninske implantate. Navedeni autori pretpostavljaju da su životinje *M/M* genotipa osjetljivije na melatonin i da im je potrebno kraće vrijeme stimulacije za postizanje početka reprodukcije aktivnosti, dok životinje *m/m* genotipa možebitno vežu veće količine melatonina, ali je, isto tako, moguće da je prijenos signala nižeg intenziteta te takve životinje trebaju dužu izloženost melatoninu. Navedene bi pretpostavke objasnile jaku vezu između *m/m* genotipa i fotoperioda, budući da životinje *m/m* genotipa trebaju

visoke i dugotrajne vrijednosti melatonina u krvi da bi bile stimulirane kratkim fotoperiodom. Carcangiu i sur. (2011.) tvrde da polimorfizam na MTNR1A genu može modificirati utjecaj melatonina na jajnik. Zbog prisutnosti melatoninskih receptora u granulosa stanicama jajnika, moguće je da je utjecaj melatonina na jajnike povećan u ovaca s *M/M* genotipom, što rezultira većom plodnosti za vrijeme dužeg fotoperioda.

## ZAKLJUČAK

Sezonske varijacije u plodnosti važan su čimbenik koji ograničava učinkovitost ovčarske proizvodnje, rezultirajući sezonskom ponudom mesa i mlijeka. S obzirom na prikazane rezultate, polimorfizam na *MTNR1A* genu zasigurno ima važnu ulogu u regulaciji sezonalnosti reprodukcije ovaca. Prisutnost *M* ili *R* alela u homozigotnom ili heterozigotnom obliku povoljno utječe na pojavu estrusa izvan uobičajene sezone, skraćuje međujanjidenobeno razdoblje te pospešuje estrusnu aktivnost ovaca nakon tretmana melatoninskim implantatima. Navedene prednosti polimorfizma na *MTNR1A* genu samo su jedan korak prema kontinuiranoj godišnjoj proizvodnji ovčjega mesa i mlijeka. S obzirom na potencijal navedenoga polimorfizma za pojavu estrusa izvan uobičajene sezone pripusta, zanimljivo bi bilo utvrditi njegovu zastupljenost u hrvatskih pasmina ovaca.

## LITERATURA

- Barrett, P., Conway, S., Morgan, P.J. (2003): Digging deep-structure-function relationship in the melatonin receptor family. *Journal of Pineal Research*, 35(4): 221-230.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-079X.2003.00090.x>
- Barrett, P., Conway, S., Jockers, R., Strosberg, A.D., Guardiola-Lemaitre, B., Delagrang, P., Morgan, P.J. (1997): Cloning and functional analysis of a polymorphic variant of the ovine Mel 1a melatonin receptor. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1356(3): 229-307.  
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4889\(96\)00179-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4889(96)00179-6)
- Bittman, E.L., Dempsey, R.J., Karsch, F.J. (1983): Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. *Endocrinology*, 113(6): 2276-2283.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1210/endo-113-6-2276>
- Bubenik, G.A. (2002): Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance. *Digestive Diseases & Sciences*, 47(10): 2336-2348.
- Carcangiu, V., Luridiana, S., Vacca, G.M., Daga, C., Mura, M.C. (2011.): A polymorphism at the melatonin receptor 1A (*MTNR1A*) gene in Sarda ewes affects fertility after AI in the spring. *Reproduction, Fertility and Development*, 23(2): 376-380.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1071/RD10014>
- 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 mullon (*Ovis Gmelini Musimon*) and its relationship with reproductive activity. *Molecular Reproduction and Development*, 77(3): 196.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1002/mrd.21125>
- 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.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.01.005>
- Carrillo-Vico, A., Calvo, J.R., Abreu, P., Lardone, P.J., García-Mauriño, S., Reiter, R.J., Guerrero, J.M. (2004): Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *The FASEB Journal*, 18(3): 537-539.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1096/fj.03-0694fje>
- 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.  
doi: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2006.1079>
- Chu, M.X., Ji, C.L., Chen, G.H. (2003): Association between PCR-RFLP of Melatonin Receptor 1a Gene and High Prolificacy in Small Tail Han Sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 16(12): 1701-1704.  
doi: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2003.1701>
- Djeridane, Y., Touitou, Y. (2001): Melatonin Synthesis in the Rat Harderian Gland: Age- and Time-related Effects. *Experimental Eye Research*, 72(4): 487-492.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1006/exer.2000.0973>
- Cogé, F., Guenin, S.P., Fery, I., Migaud, M., Devavry, S., Slugocki, C., Legros, C., Ouvre, C., Cohen, W., Renault, N., Nosjean, O., Malpoux, B., Delagrang, P., Boutin, J.A. (2009): The end of a myth: cloning and characterization of the ovine melatonin MT<sub>2</sub> receptor. *British Journal of Pharmacology*, 158(5): 1248-1262.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00453.x>
- Dubocovich, M.L., Delagrang, P., Krause, D.N., Sugden, D., Cardinali, D.P., Olcese, J. (2010): International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXV. Nomenclature, Classification, and Pharmacology of G Protein-Coupled Melatonin Receptors. *Pharmacological Reviews*, 62(3): 343-380.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1124/pr.110.002832>
- Dubocovich, M.L., Markowska, M. (2005): Functional MT1 and MT2 Melatonin Receptors in Mammals. *Endocrine*, 27(2): 101-110.
- Dubocovich, M.L. (1988): Pharmacology and function of melatonin receptors. *The FASEB Journal*, 2(12): 2765-2773.
- 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.
- Lerner, A.B., Case, J.D. (1960.): Melatonin. *Federation Proceedings* 19: 590-592.
- Li, D.Y., Smith, D.G., Hardeland, R., Yang, M.Y., Xu, H.L., Zhang, L., Yin, H.D., Zhu, Q. (2013): Melatonin Receptor Genes in Vertebrates. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6): 11208-11223.  
doi: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms140611208>
- Malpoux, B., Viguié, C., Skinner, D.C., Thiéty, J.C., Pelletier, J., Chemineau, P. (1996): Seasonal breeding

- in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Animal Reproduction Science*, 42(1-4): 109-117.  
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01505-9](http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320(96)01505-9)
20. 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.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.06.018>
  21. Mateescu, R.G., Lunsford, A.K., Thonney, M.L. (2009): Association between melatonin receptor 1A gene polymorphism and reproductive performance in Dorset ewes. *Journal of Animal Science*, 87(8): 2485-2488.  
doi: <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2008-1688>
  22. 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(5): 369-370.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s003359900444>
  23. 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(9): 1579-1586.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.06.028>
  24. Notter, D.R., Cockett, N.E. (2005): Opportunities for detection and use of QTL influencing seasonal reproduction in sheep: a review. *Genetics selection Evolution*, 37(Suppl.1): S39-S53.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1297-9686-37-S1-S39>
  25. Pelletier, J., Bodin, L., Hanocq, E., Malpoux, B., Teyssier, J., Thimonier, J., Chemineau, P. (2000): Association Between Expression of Reproductive Seasonality and alleles of the Gene for Mel<sub>1a</sub> Receptor in the Ewe. *Biology of Reproduction*, 62(4): 1096-1101.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod62.4.1096>
  26. 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(5): 1177-1185.  
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90055-8](http://dx.doi.org/10.1016/0896-6273(94)90055-8)
  27. Rupić, V. (2010): Zaštita zdravlja domaćih životinja 3: Fiziologija i patologija reprodukcije. Vlastita naklada.
  28. Samardžija, M., Đuričić, D., Dobranić, T., Herak, M., Vince, S. (2010.): Rasplodivanje ovaca i koza. Veterinarski fakultet Zagreb.
  29. Slaugenhaupt, S.A., Roca, A.L., Liebert, C.B., Altherr, M.R., Gusella, J.F., Reppert, S.M. (1995): Mapping of the gene for the Mel<sub>1a</sub>-melatonin receptor to human chromosome 4 (*MTNR1A*) and mouse chromosome 8 (*MTNR1A*). *Genomics*, 27(2): 355-357.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1006/geno.1995.1056>
  30. Swenson, M.J., Reece, W.O. (1993): *Dukes Physiology of Domestic Animals*. 11<sup>th</sup> ed. Cornell University Press. New York.
  31. Tijmes, M., Pedraza, R., Valladares, L. (1996): Melatonin in the rat testis: Evidence for local synthesis. *Steroids*, 61(2): 65-68.  
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0039-128X\(95\)00197-X](http://dx.doi.org/10.1016/0039-128X(95)00197-X)
  32. Trecheral, E., Batailler, M., Chesneau, D., Delagrangé, P., Malpoux, B., Chemineau, P., Migaud, M. (2010): Function characterization of polymorphic variants for ovine MT1 melatonin receptors: Possible implication for seasonal reproduction in sheep. *Animal Reproduction Science*, 122(3-4): 328-334.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.10.007>
  33. Zawilska, J., Nowak, J.Z. (1991): Regulation of melatonin biosynthesis in vertebrate retina: Involvement of dopamine in the suppressive effects of light. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 29(1): 3-13.

## ASSOCIATION OF THE MTNR1A GENE POLYMORPHISMS AND SEASONAL REPRODUCTION IN SHEEP

### SUMMARY

**Seasonal reproduction in sheep greatly limits the possibilities of continuous year-round production and equitable supply of sheep products on the market. The begging of breeding season in sheep is associated with melatonin secretion under the darkness influence. Melatonin, through specific G protein coupled receptors, MT1 and MT2, affects target tissues and organs. *MTNR1A* gene is located on 26<sup>th</sup> chromosome and has two polymorphic sites in sheep. The presence of polymorphism (M/M, R/R) is related to non-seasonal presence of estrus, while absence of polymorphism (m/m, r/r) is related to seasonal estrus presence. Individuals with "M" or "R" allele in homozygous or heterozygous form are characterized by more successful reproduction during long photoperiod or outside the usual breeding season.**

**Key-words:** sheep, seasonal reproduction, melatonin, *MTNR1A* gene, polymorphism

(Primljeno 20. svibnja 2015.; prihvaćeno 18. studenoga 2015. - Received on 20 May 2015; accepted on 18 November 2015)