

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Ecología



**CONTROL FOTOPERIÓDICO Y REGULACIÓN
ENDOCRINA DEL CRECIMIENTO DEL
CUERNO EN EL MACHO MONTÉS (CAPRA
PYRENAICA HISPÁNICA) Y EL MUFLÓN**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR
Adolfo Toledano Díaz

Bajo la dirección de los doctores:
Antonio López Sebastián y Julián Santiago Moreno

Madrid, 2007

ISBN: 978-84-669-3094-9

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dpto. de ECOLOGÍA

**Control fotoperiódico y regulación
endocrina del crecimiento del cuerno
en el macho montés (*Capra
pyrenaica hispanica*) y el muflón
(*Ovis orientalis musimon*)**

ADOLFO TOLEDANO DÍAZ
MADRID, 2006

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dpto. de ECOLOGÍA

**Control fotoperiódico y regulación endocrina del
crecimiento del cuerno en el macho montés
(*Capra pyrenaica hispanica*) y el muflón (*Ovis
orientalis musimon*)**

Directores de la Tesis:

Dr. Antonio López Sebastián

Dr. Julián Santiago Moreno

Memoria presentada por el Ldo. Adolfo Toledano Díaz para aspirar al grado de Doctor.

Madrid, 2006

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la concesión de una beca FPI del Ministerio de Educación y Ciencia, en septiembre de 2002

Los resultados del presente trabajo han sido obtenidos mediante los proyectos del Plan Nacional AGL2001-0335 y AGL2004-03439.

A los directores de esta tesis, el Dr. Antonio López Sebastián y el Dr. Julián Santiago Moreno, por su dedicación y orientación en la realización de la tesis y sobre todo por su esfuerzo en mi formación en investigación.

A la Dra. Amelia Gómez Brunet, por la realización de los análisis hormonales, sin los cuales la tesis no hubiera salido adelante. A su constante enseñanza en el manejo de los equipos del laboratorio y a las largas horas de discusiones, comentarios e interpretaciones de todos y cada uno los resultados experimentales. Por demostrar con el ejemplo que siempre se puede luchar.

Al Dr. Antonio González de Bulnes por su aportación, comentarios y discusiones durante todos los procesos de realización de la tesis. Por estar siempre disponible y su ayuda.

A Antonio Pulido Pastor, por su inestimable ayuda para que se pudieran llevar a cabo la captura, recogida y transporte de los animales hasta nuestras instalaciones, y por su colaboración en el diseño experimental.

A la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía por la cesión de los animales.

A la Dra. Almudena Veiga Cid, compañera becaria durante estos 4 años, por su ayuda en el trabajo, comprensión y cercanía. Por esos ratos de reflexión sobre la investigación, la vida y nuestras metas. Por esas tardes de diversión y risas.

A mis compañeros becarios y ex becarios, la Dra. Rosa García, la Dra. Verónica Plaza, a Celia Díaz Delfa, Ana del Campo, Ignacio Contreras, y Claudia Lettelier por su ayuda, comprensión y horas de relajación vividas dentro y fuera del INIA.

A Claudio Benito, Juan Carlos González, Andrés Pereira y Eugenia Pacheco, por su gran profesionalidad y cuidado de los animales. Por su colaboración en el largo periodo de manejo y toma de muestras de los animales.

A la Dra. M^a Jesús Cocero, y el resto del personal del INIA por su compañerismo y colaboración.

A Amaya, por su paciencia y su constante apoyo durante estos años. A María, la alegría y vitalidad de la casa.

A mis padres por su dedicación y esfuerzo en enseñarme y en hacer todo lo posible por conseguir mis metas. A mi padre por ser el instigador de mi dedicación a la ciencia y a la naturaleza.

A mis hermanos y familia, por su interés y opinión durante estos 4 años, por su cariño.

INDICE

	Pag.
1- INTRODUCCIÓN	1
 2- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	 6
2.1- Características generales de la cabra montés:	7
2.1.1- Origen y Evolución	7
2.1.2- Taxonomía	8
2.1.3- Morfología	9
2.1.4- Distribución	10
 2.2- Características generales del muflón:	 13
2.2.1- Origen y Evolución	13
2.2.2- Taxonomía	14
2.2.3- Morfología	16
2.2.4- Distribución	16
 2.3- Fotoperiodo y Reproducción	 18
2.3.1- Características Reproductivas:	18
2.3.1.1- Cabra Montés	18
2.3.1.2- Muflón	20
2.3.2- Fotoperiodo y Control neuro-endocrino de la reproducción	22
 2.4- Formación y desarrollo del cuerno	 29
2.4.1- Ontogenia	29
2.4.2- Dinámica del crecimiento del cuerno	30
2.4.3- Control endocrino del crecimiento del cuerno	32
2.4.4- Factores ambientales que influyen en el crecimiento del cuerno	35
2.4.5- Factores genéticos	38

3- MATERIAL Y MÉTODOS	40
3.1- Animales: procedencia y condiciones de estabulación	41
3.2- Alimentación y control sanitario	45
3.3- Experimento previo	46
3.4- Diseño experimental.....	48
3.5- Determinaciones morfológicas y hormonales	50
3.6- Análisis hormonal	54
3.7- Análisis estadístico	55
4- RESULTADOS	57
4.1.-Dinámica del crecimiento del cuerno, la secreción de prolactina y la actividad testicular en el macho montés y en el muflón en condiciones de fotoperiodo natural	58
4.1.1- Crecimiento del cuerno	58
4.1.2- Secreción de Prolactina	61
4.1.3- Actividad testicular	62
4.1.4- Correlación entre el crecimiento del cuerno, la actividad testicular y la secreción de prolactina	66

4.2.- Crecimiento del cuerno, secreción de prolactina y actividad testicular en el macho montés y en el muflón en condiciones de un fotoperiodo artificial constante de días largos (15 horas de luz: 9 horas de oscuridad)	67
4.2.1- Crecimiento del cuerno	67
4.2.2- Secreción de Prolactina	71
4.2.3- Actividad testicular	72
4.2.4- Correlación entre el crecimiento del cuerno, la actividad testicular y la secreción de prolactina	74
4.2.5- Análisis comparativo del crecimiento del cuerno, secreción de prolactina y actividad testicular entre condiciones de fotoperiodo natural y condiciones de un fotoperiodo artificial de días largos (15 horas de luz:9 horas de oscuridad).....	75
4.3- Efecto de la administración de bromocriptina durante la primavera sobre el crecimiento del cuerno, la secreción de prolactina y la actividad testicular en el macho montés y en el muflón	80
4.3.1- Validación del protocolo de administración de bromocriptina	80
4.3.2- Crecimiento del cuerno	81
4.3.3- Secreción de Prolactina	84
4.3.4- Actividad testicular	84
4.3.5- Correlación entre el crecimiento del cuerno, la actividad testicular y la secreción de prolactina	86
4.3.6- Análisis comparativo del crecimiento del cuerno, secreción de prolactina y actividad testicular entre condiciones de fotoperiodo natural y bajo tratamiento con bromocriptina	87

5- DISCUSIÓN	90
5.1- Dinámica del crecimiento del cuerno y su control endocrino	91
5.2.- Fotoperiodo y actividad reproductiva	103
6- CONCLUSIONES	108
7- RESUMEN	111
8- SUMMARY	114
9.- ANEXO	117
10- BIBLIOGRAFÍA	119

ABREVIATURAS Y UNIDADES:

BCR : Bormocriptina

CE : Circunferencia Escrotal

CM : Cabra Montés

e.s. : Error Estandar

H / h : Horas

FTP : Fotoperiodo

FSH : Hormona Folículo Estimulante

GnRH.: Hormona liberadora de gonadotropinas

L : Luz

LC : Longitud del Cuerno

LH : Hormona Luteinizante

M : Muflón

mci : Milicurio

O : Oscuridad

PB : Tampón Fosfato

PRL : Prolactina

r.p.m. : Revoluciones por minuto

SMAL : Suero de morueco anticonejo

SI : Solsticio de Invierno

SV : Solsticio de Verano

T : Testosterona

TRABAJOS CIENTÍFICOS DERIVADOS DE LOS RESULTADOS DE LA TESIS:

Contribuciones a congresos:

- Toledano-Díaz, A.; J. Santiago-Moreno ;A. Gómez-Brunet.; A. López-Sebastián. "Influencia de la inhibición de la secreción de la prolactina sobre el desarrollo del cuerno y la actividad testicular en el muflón". Comunicación Oral. Congreso AIDA 2005. ITEA Vol. Extre, 26 (Tomo 1): 428-430.
- Toledano-Díaz A., Santiago-Moreno J., Pulido-Pastor A., Gómez-Brunet A. and López-Sebastián A. "Seasonal variations in testicular activity and horn growth in two Mediterranean wild ruminant species: Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) and European mouflon (*Ovis orientalis musimon*)" Póster. Congreso IUGB, Hannover 2005. Abstract
- Toledano-Díaz A., Santiago-Moreno J., Gómez-Brunet A. and López-Sebastián A. "Bromocriptine-induce inhibition of the seasonal increase of prolactin secretion does not prevent horn growth in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*)" Póster. ESDAR 9th Annual Conference Murcia 2005. Abstracts P90. *Reprod Domest. Anim.*
- Toledano-Díaz A., Santiago-Moreno J., Gómez-Brunet A. and López-Sebastián A. "Efecto de un fotoperiodo artificial de días largos en el crecimiento del cuerno y actividad testicular del muflon (*Ovis orientalis musimon*)". Póster. VII Jornadas S.E.C.E.M. Valencia 2005
- Toledano-Díaz A., J. Santiago-Moreno, A. Gómez-Brunet, A. Pulido-Pastor, A. López-Sebastián. "Influencia de un fotoperiodo artificial constante de días largos sobre el crecimiento del cuerno y actividad testicular del macho montés (*Capra pyrenaica*)". Comunicación Oral Congreso de ciencias Veterinarias y biosanitarias, Madrid. 2006
- Toledano-Díaz, A.; Santiago-Moreno, J.; Gómez-Brunet, A.; Pulido-Pastor, A. y López-Sebastián, A. "Efecto de un fotoperiodo artificial constante de días largos sobre el crecimiento del cuerno y la actividad testicular en rumiantes silvestres" Poster. SEOC 2006, Zamora.

Publicaciones:

- Toledano-Díaz A., J. Santiago-Moreno, A. Gómez-Brunet, A. Pulido-Pastor, A. López-Sebastián. 2006. "Horn growth related to testosterone secretion in two wild Mediterranean ruminant species: The Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) and European mouflon (*Ovis orientalis musimon*)". *Animal Reproduction Science*, (PubMed as supplied by publisher)
- Toledano-Díaz A., J. Santiago-Moreno, A. Gómez-Brunet, A. López-Sebastián. 2006. "Evidencia de un control fotoperiódico en el crecimiento del cuerno del muflón (*Ovis orientalis musimon*)" *Galemys*. En Prensa

1.- INTRODUCCIÓN

La red de Espacios Naturales Protegidos ha sido creada con el principal objetivo de proteger zonas singulares por sus ecosistemas y por su biodiversidad. El carácter público de estas áreas y la normativa legal actual hace que sean las administraciones autonómicas las principales responsables del mantenimiento íntegro de los Parques Naturales y, por tanto, de su gestión. Una importante alternativa de concepción global de la gestión de estos espacios es el aprovechamiento sostenible y racional de los propios recursos de los Parques, combinando así la misión principal de conservar y proteger los ecosistemas que lo forman con la explotación de estos recursos. Diversas son las actividades que se pueden desarrollar dentro del parque y que, repercutiendo en un beneficio económico para éste, no dañen sus ecosistemas y ayuden a su protección.

La actividad cinegética, planteada como una herramienta de gestión para la conservación y explotación de la fauna, genera a su vez un beneficio económico y un desarrollo social. Además, este beneficio social mejora la aceptación del Parque por parte de la población de la zona, implicándola en mayor medida en su protección. Por otro lado, la caza racional selectiva, bien gestionada, es compatible y necesaria para el mantenimiento de los niveles tróficos en estos ecosistemas, donde la ausencia de depredadores genera situaciones muy peligrosas de sobrepoblación y propagación de enfermedades transmisibles, como la sarna, que ha sido en el pasado la responsable de la práctica desaparición de algunas de estas poblaciones.

En los rumiantes silvestres, el trofeo está representado por la cuerna en el caso de los cérvidos y por el cuerno en los rumiantes cavicornios (bóvidos). En los cérvidos (ciervo, gamo y corzo), la cuerna caduca cae cada año (desmogue) y crece una nueva al año siguiente, más grande y robusta que la anterior. A diferencia de los cérvidos, en las especies cavicornias (muflón, macho montés, arruí, rebeco), los cuernos son estructuras perennes que crecen a lo largo de la vida del animal. La función principal de la cuerna de los cérvidos y del cuerno de los rumiantes cavicornios es su utilización como instrumento de lucha durante el periodo reproductivo para el establecimiento de las jerarquías, de tal manera que sólo participen en los apareamientos los mejores dotados. Además, un buen

desarrollo del cuerno es un claro carácter fenotípico de vigor genético, por lo que la participación más activa durante el apareamiento de aquellos individuos con mejor desarrollo cornual se reflejará en una mayor viabilidad de la descendencia. Por tanto, la selección de ejemplares con buen desarrollo de este carácter faneróptico no sólo tiene implicaciones económicas, derivadas de un mayor valor del trofeo dentro del ámbito cinegético, sino que, además, se reflejará en el desarrollo de poblaciones genéticamente más viables.

La influencia de los factores medioambientales y el control endocrino del desarrollo de las cuernas de los cérvidos ha sido muy estudiada, tal como refleja la amplia bibliografía disponible a este respecto. En cambio, es escaso el conocimiento de los diferentes factores que inciden en la dinámica del crecimiento del cuerno, así como su regulación hormonal, en las especies silvestres cavicornias. Los cambios significativos de las características morfológicas de los cuernos, tales como la longitud, perímetro de la base, envergadura y curvatura, están directamente influenciados por diferentes factores medioambientales, de los cuales, la nutrición y el fotoperiodo son los más relevantes. La interacción de estos factores exógenos con los derivados de componente genético determina el desarrollo final y las características de un determinado tipo de cuerno.

La relación temporal entre las variaciones estacionales de secreción de prolactina y el crecimiento del cuerno, observados en el muflón, sugieren un papel de esta hormona como factor modulador del crecimiento del cuerno en rumiantes silvestres cavicornios. Sin embargo, no está bien establecido si la relación temporal entre la secreción de prolactina y el crecimiento del cuerno, es realmente causal. Aunque el desarrollo de grandes cuernos se muestra como un claro carácter secundario masculino, el crecimiento del mismo ocurre, en los ungulados cavicornios estudiados, durante el periodo de inactividad reproductiva, cuando el tamaño testicular y las concentraciones plasmáticas de testosterona son bajas, apreciándose uno de los mayores índices de crecimiento durante el periodo prepuberal. En base a estas observaciones, el modelo de regulación sugerido se basa en que los bajos niveles circulantes de testosterona, pero todavía

fisiológicamente activos, se asocian a un correcto desarrollo del cuerno, favoreciendo el depósito de sales cálcicas y la queratinización, que confiere al cuerno unas características de resistencia para su utilización en las luchas intra-sexuales durante el periodo reproductivo, mientras que la ralentización del crecimiento del cuerno en otoño sería reflejo de una acción inhibidora ejercida por un incremento de las concentraciones de testosterona.

El objetivo del presente estudio incluye el análisis de la influencia del fotoperiodo y de los sistemas de regulación endocrina del crecimiento del cuerno, en dos de las especies cavicornias de rumiantes más representativas de la fauna española (el macho montés y el muflón) con el fin de aportar nuevos conocimientos sobre los mecanismos implicados en el desarrollo de este carácter sexual secundario y sus relaciones y dependencias con los factores ambientales y la actividad reproductiva.

Los objetivos específicos son los siguientes:

1. Caracterizar el patrón de crecimiento anual del cuerno en el macho montés y en el muflón, en condiciones de fotoperiodo natural.
2. Establecer la relaciones temporales entre los cambios anuales del crecimiento del cuerno con los perfiles de secreción de testosterona y prolactina, en el macho montés y el muflón en condiciones de fotoperiodo natural.
3. Determinar la influencia de un fotoperiodo artificial constante de días largos en el crecimiento estacional del cuerno en ambas especies.
4. Analizar las correlaciones entre los cambios anuales del crecimiento del cuerno con los perfiles de secreción hormonal de testosterona y prolactina en el macho montés y el muflón en condiciones de un fotoperiodo artificial constante de días largos.

5. Estudiar el efecto de la inhibición de la secreción de prolactina durante la primavera en la tasa de crecimiento cornual durante este periodo.

2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1- Características generales de la Cabra Montés:

2.1.1- Origen y Evolución

El origen evolutivo del género *Capra*, se encuentra, como en el resto del grupo de los Artiodactilos, en el género *Archaeomerix*, ya extinguido, que apareció en el Eoceno Superior (Schaller, 1977). Posteriormente, la evolución del género *Capra* es difícil de rastrear, debido a la escasez de restos y su difícil ubicación taxonómica. Se cree que la tribu "Caprini" empezó a dispersarse desde China por todo el Paleártico y Nordeste de África (Schaffer y Reed, 1972). Todas las especies del género *Capra* presentan parámetros corporales muy similares y una misma dotación cromosómica ($2n = 60$), lo que hace posible el cruce entre ellas, por lo que se puede decir que es un grupo que no ha alcanzado su culmen evolutivo (Granados et al., 2001). Debido a esto, durante las últimas décadas se ha descrito un número variable de especies y subespecies, desde una única especie reconocida por Herre y Hóhrs (1955) hasta las nueve descritas por Lydekker (1912). Actualmente la UNEP-WCMC (2006) establece diez especies del género *Capra*: *C. aegagrus*, *C. caucásica*, *C. cylindricornis*, *C. falconeri*, *C. hircus*, *C. ibex*, *C. nubiana*, *C. sibirica*, *C. walie* y *C. pyreniaca*.

Existen dos teorías sobre el posible origen único de la especie silvestre del género *Capra* presente en la Península Ibérica, la especie *Capra pyrenaica*. La primera teoría expone que hace unos 80.000 años aparece una primera cabra próxima a la especie *C. caucásica* en los Pirineos franceses, la cual se diferencia sucesivamente hasta dar origen a la especie *C. pyrenaica* después de la glaciación de Würm, hace 15.000 años (Pérez et al., 2002). La otra teoría supone que fue la especie *C. ibex*, proveniente de los Alpes, la que entró por los Pirineos entre las glaciaciones de Riss y Würm y dio origen a la *C. pyrenaica* (Pérez et al., 2002).

Lo que sí parece claro es que durante los periodos Paleolítico y Neolítico la cabra montés ocupaba casi toda la Península Ibérica y en abundante número (Alados, 1985).

2.1.2- Taxonomía

Desde que la cabra montés fue descrita por Schinz en 1838, su clasificación taxonómica ha sido varias veces modificada y actualmente sigue en discusión su ubicación más correcta.

Los caracteres en los que se basan la mayoría de las clasificaciones taxonómicas son principalmente el diseño del pelaje y la morfología de los cuernos (Cabrera, 1911).

Schinz, tras el estudio de unos ejemplares procedentes de los Pirineos, describe la *Capra pyrenaica*. Posteriormente Schimper, en 1848, describió otra especie que poblaba los montes andaluces de Sierra Nevada, a la que denominó *Capra hispanica*. Mas tarde, en 1872, Schlegel describe otra especie, *Capra lusitanica* localizada en Portugal. Fue Cabrera (1911) quien unifica las tres especie en una única, el taxón *Capra pyreniaca*, formado por cuatro sub-especies, *C. p. pyrenaica*, *C. p. hispanica*, *C. p. lusitanica* y una nueva que describe él mismo, la *Capra pyrenaica victoriae*, localizada en el Sistema Central.

Dado que la base de esta última clasificación mencionada son los caracteres morfológicos y geográficos, algunos autores no la consideran como suficientemente fundamentada, justificando sus críticas en que los caracteres morfológicos diferenciales, como el tamaño corporal y del cuerno, están directamente influenciados por la disponibilidad de alimento y las condiciones ambientales (Fandos y Vigal, 1988), opinando por tanto que sólo existe una especie con variaciones locales, pero no sub-especies (Couturier, 1962), Sin embargo, la IUCN acepta la especie *C. pyrenaica* con sus cuatro sub-especies, quedando por tanto la clasificación (Granados et al., 2001):

Orden: Artiodactila
Suborden: Ruminantia
Infraorden: Pecora
Superfamilia: Bovoidea
Familia: Bovidae

Subfamilia: Caprinae

Tribu: Caprini

Genero: Capra Linnaeus, 1758

Especie Capra pyrenaica, Schinz 1838

Sub-especies: *C.p. pyrenaica*, Schinz 1838

C.p. hispanica, Schimper 1848

C.p. lusitanica, Schlegel 1872

C.p. victoriae, Cabrera 1911

2.1.3- Morfología

La cabra montés es un ungulado de tamaño medio (Schaller, 1977) con un pronunciado dimorfismo sexual, que se acentúa cuanto más adulto es el ejemplar y que se aprecia principalmente en el tamaño corporal, el color del pelaje y las dimensiones del cuerno.

Los datos biométricos publicados por diferentes autores son muy abundantes, correspondiendo a varias poblaciones y a esas mismas poblaciones pero en distintos periodos y años. Estos estudios han encontrado variaciones en morfología y en longitudes y pesos medios del cuerpo y del cuerno. Hay que recordar que éstos son los caracteres que, junto con el color del pelaje, fueron usados por Cabrera para distinguir las distintas sub-especies. Así, tenemos que a grandes rasgos, el peso de un adulto macho (más de cuatro años) oscila entre 50 y 90 kg y el de una hembra adulta (más de cuatro años) entre 30 a 50 kg. La longitud cabeza cuerpo está comprendida entre 1 m y 1,6 m en el macho y entre 0,9 m y 1,2 m en la hembra. La altura a la cruz oscila entre 0,65 y 0,85 m y entre 0,65 y 0,70 m en machos y hembras, respectivamente.

El cuerno es una estructura perenne que aparece tanto en hembras como en machos, aunque en los machos, como carácter sexual secundario, es más grande, robusto y con suave forma en espiral y curvatura hacia atrás, marcada por una quilla que se inicia en la cara interna de la base. De la Cerda y De la Peña (1971a, b) proponen cuatro morfotipos de cuerno: forma de arco, forma acarnerada, forma de lira alta y abierta y forma de

lira, que se distribuyen por la zona Ronda, la de Almirajara, la de Beceite y la del resto de la Península, cada morfotipo respectivamente. En la hembra el cuerno es corto, más recto y puntiagudo. Así en un macho, a lo largo de su curvatura externa, la longitud varía desde 0,45 a 1 m y en las hembras desde 0,13 a 0,30 m.

La longitud del pelaje en verano es corto y difiere en relación con el de invierno, el cual está formado por un pelo largo de cobertura y un subpelo o borra. Con relación al color, en verano suele ser pardo gris o canela cervuno y en invierno entre gris y ante. El vientre y caras internas y posteriores de las patas es blanco. En las hembras la parte anterior de las cuatro extremidades y la cola tienen coloración negra. En los machos, a medida que van madurando, aumentan las manchas negras hasta ocupar casi el 50% de la superficie (Fandos, 1991). Ya en el primer año presentan la parte anterior de las patas, parte de la cabeza y la cola negra, y luego esta coloración va aumentando por pecho, cuello, la parte dorsal del lomo, y las bandas ventrales.

Cabrera (1914) describe a *C. p. pyrenaica* como la más grande de las 4 sub-especies, con zonas negras más extensas y cuernos más grandes, de sección más redonda y con una quilla más ancha y poco saliente. A la *C.p. victoriae* se la describe con las manchas negras de menor extensión y cuernos más pequeños, aplastados y con una marcada y saliente quilla. A la *C.p. hispanica* la describe de color más suave, manchas negras poco extensas, cuernos casi sin quilla y muy extendidos hacia fuera. Por ultimo, a la *C. p. lusitanica* casi tan grande como la *C. p. pyrenaica*, pero con las marcas negras más reducidas, y los cuernos más pequeños de las cuatro.

2.1.4- Distribución

La cabra montés es un endemismo de la Península Ibérica. Era muy abundante en el Paleolítico y Neolítico (Alados, 1985) pero con el tiempo ha ido reduciéndose su distribución por diversos factores, entre otros, la competencia con otros ungulados, la destrucción del hábitat y la presión humana (Granados et al., 2001), llegando a extinguirse en determinadas

zonas algunas sub-especies originales. Aunque debido al aumento de los espacios naturales protegidos, los programas de recuperación de la diversidad y el aumento del valor cinegético del trofeo de la cabra montés, esta siendo reintroducida en numerosas áreas y aumentando sus efectivos en otras (Figura 1).

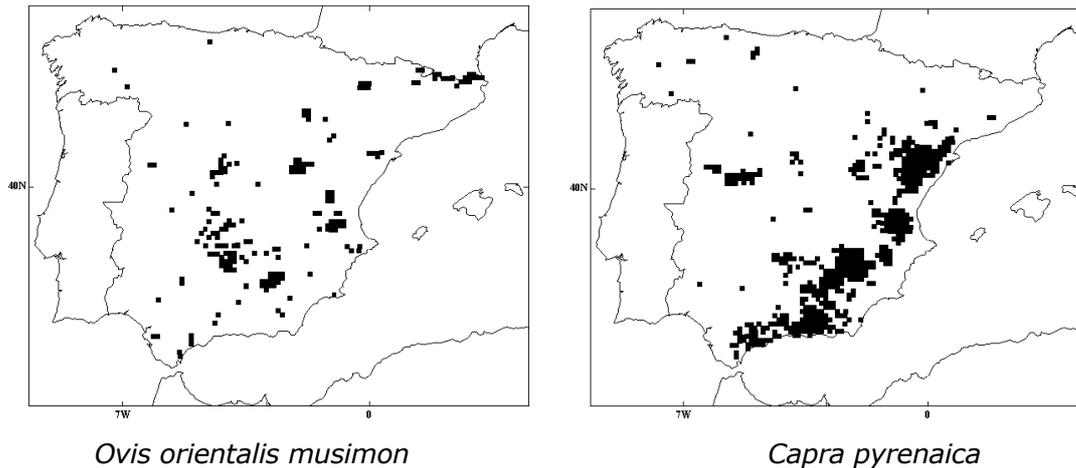


Figura 1. Mapa de distribución de la cabra montés (derecha) y del muflón (izquierda) en la Península Ibérica. Atlas de los mamíferos terrestres de España 2002, SECEM.

De forma resumida la distribución y evolución de cada sub-especies es la siguiente:

***C. p. lusitanica*:** ocupaba todas las montañas del Noroeste, fue reduciéndose su distribución a la Sierra de Geres (Portugal) y a algunas montañas gallegas a finales del siglo XVIII, hasta que se extinguió a principios del XIX (Granados et al., 2001).

***C. p. pyrenaica*:** ocupaba en el siglo XIV la mayor parte de la cordillera Cantábrica y los Pirineos, fue desapareciendo progresivamente, primero de la cordillera Cantábrica y de la parte francesa de los Pirineos (Crampe y Cregut-Bonnoure, 1993), hasta finalmente desaparecer el último ejemplar en el Pirineo Aragonés en el año 2000.

C. p. victoriae: se distribuía en la Cordillera Carpetovetónica y Montes de Toledo (Cabrera, 1914), disminuyó su población hasta casi su extinción en su último reducto en la Sierra de Gredos. Cuando, en 1905, fue proclamado Coto Nacional, paulatinamente recuperó su población partiendo de 12 ejemplares hasta alcanzar los 4.000 en 1976 (Ortuño y Peña, 1979) y los 8.000 en 1993 (Pérez et al., 2002). Actualmente, debido a las reintroducciones con cabras de esta subespecie, se han establecido poblaciones en la Reserva Nacional de Caza de Las Batuecas (que cuenta con 900 ejemplares), norte de León (con 200), Montes de Orense (Invernadeiro; con 60) y Madrid (La Pedriza; que cuenta con 300 animales) (Pérez et al., 2002). Recientemente, desde el año 2001 se han asentado una población procedente de los montes de Orense en el norte de Portugal, en el Parque Nacional de Gerês-Xurés, con unos 75 ejemplares (Moço et al., 2005).

C. p. hispanica: presentaba una amplia distribución por todos los montes mediterráneos y Sierra Morena, reduciéndose ostensiblemente en 1900. En Andalucía, con el mayor censo de la subespecie (30.000 ejemplares), sus principales núcleos se encuentran en Sierra de Grazalema (1.600), Sierra Bermeja (300), Parque Natural Sierra de las Nieves (1.500), Sierra Sur Antequera (200), Reserva Nacional de Caza de Sierra de Tejeda-Almijara (1.500), La Resinera (400), Sierra de Loja (500), Sierra de Lujar (300), Contraviesa (500), Parque Nacional de Sierra Nevada (14.000), Parque Natural de Sierra de Huétor (900), Parque Natural de Sierra de Baza (200), Sierra de Gádor (600), Subbético jienense (2.800), además de otros 17 núcleos menores, con censos de no más de 100 ejemplares. En 1987, las poblaciones de la Sierra de Cazorla sufrieron una epidemia de sarna, con un ratio de mortalidad de 95-99%, quedando la población reducida a 150 individuos cuatro años después (Fandos, 1991). Aunque la enfermedad sigue afectando a ésta población, se ha conseguido controlar, y existe una clara recuperación de la misma. Actualmente se cuenta con más de 1.300 individuos. Otras localizaciones de esta sub-especie son el Parque Nacional de Cabañeros con unos 20 ejemplares; Sierra Madrona con 1.500; Sierra de Albacete (Montañas de Alcaraz) con 500; Serranía de Cuenca con 500; en

Valencia (Muela del Cortes y aledaños) con más de 1.500; Maestrazgo y sierras de Tarragona con más de 7.000 ejemplares; Barcelona (Sierra de Montserrat) con 20 y una pequeña población en la Sierra de Guara en Huesca y la Sierra de Moratalla en Murcia (Pérez et al., 2002).

En definitiva, la distribución de la cabra montés ha ido aumentando en los últimos años, tanto en número, en total casi unos 50.000 ejemplares, como en área ocupada. Pero debido a ciertos factores como competencia, enfermedades, fragmentación del hábitat, alto grado de consanguinidad y la presión humana, siguen estando ambas sub-especies dentro de la "Lista roja de especies amenazadas" de la IUCN (2006), consideradas dependientes de programas de conservación y concretamente la *C. p. victoriae* como "Vulnerable".

2.2 Características Generales del Muflón.

2.2.1 Origen y Evolución

El género *Ovis* apareció en Asia en el periodo Plio-Pleistoceno hace 1,8 - 2,4 millones de años (Kordos, 2000). En el sur del continente europeo, el descubrimiento de fósiles de ovinos salvajes indica la existencia de muflones en Europa desde la mitad del periodo Pleistoceno. Según Perco (1977), el muflón se encontraba distribuido por todo el continente Europeo, hasta el periodo Neolítico. Debido a los efectos de las glaciaciones, la presión cinegética y, posiblemente, la acción del hombre sobre su domesticación, se redujo el hábitat del muflón a Córcega, Cerdeña y Chipre y posiblemente a algunas regiones de Grecia (Clark, 1964).

Los primeros procesos de domesticación de animales del género *Ovis*, posiblemente comenzaron en regiones del Este de Europa durante el octavo milenio a.C. Se considera al muflón como el más probable ancestro de las especies doméstica de ovinos (Bunch et al., 1977). Durante el periodo Neolítico, 6.000-7.000 años a.C., fue semidomesticado un muflón anatoliano (*Ovis gmelini gmelini*) en Córcega y Cerdeña, el cual

posteriormente retorna a su estado silvestre dando origen al muflón de Córcega (Cugnasse, 1994).

A partir de las poblaciones originarias de estas islas mediterráneas, el muflón comienza a ser introducido en diferentes países del continente europeo a partir del siglo XVIII.

2.2.2- Taxonomía

El género *Ovis*, que engloba poblaciones muy polimorfos (Tzalkin, 1951), ha provocado una variada y diferente taxonomía según los diversos autores, siendo aún más compleja la situación taxonómica del muflón europeo.

Van den Brink y Barruel (1971), consideraron a todas las ovejas salvajes de Europa, Asia y América como una sola especie (*Ovis aries*), siendo los únicos autores que separan al muflón de Chipre (*Ovis aries ophion*) de la variedad de Córcega. Geist (1971), distinguió un total de cinco especies (*Ovis musimon*, *Ovis orientalis*, *Ovis ammon* y *Ovis nivicola* en Eurasia y *Ovis canadiensis* en Norteamérica).

Otros autores (Tzalkin, 1951; Pfeffer, 1967; Corbet, 1978, 1984), han considerado dos especies (*Ovis ammon* y *Ovis canadiensis*) basándose en criterios genéticos, morfológicos, osteológicos (principalmente del cráneo) y de fertilidad tras cruzamiento de las diversas poblaciones. *Ovis canadiensis* se localiza en la región paleártica, las montañas del noreste de Siberia y los montes de Putorana, y en Norteamérica se distribuye a lo largo de las montañas occidentales, desde Alaska hasta el norte de México. En cuanto a la segunda especie, *Ovis ammon*, se aprecia una gran variación individual y geográfica de los animales que la constituyen, consecuencia, principalmente, de los diferentes hábitats en los que se desarrollan (Pfeffer, 1967). Su distribución geográfica se sitúa en todas las montañas del Asia central, desde Manchuria hasta Irán, y del Asia Menor. También se localiza en Omán (península arábiga), Europa y en las islas mediterráneas de Córcega, Cerdeña y Chipre. En esta especie quedaría integrada el muflón europeo como la

subespecie *Ovis ammon musimon* (muflón de Córcega). Posteriormente se propuso la denominación del muflón Europeo, originario de las islas de Córcega y Cerdeña como *Ovis gmelini musimon*, la cual ha sido utilizada en los últimos años (Geist, 1991; Cugnasse, 1994, IUCN 1997).

A pesar de todo lo expuesto, una más reciente re-clasificación (IUCN, 2004) ha incluido al muflón dentro del género *Ovis orientalis*, quedando como: "*Ovis orientalis musimon*":

Orden: Artiodactila

Suborden: Ruminantia

Infraorden: Pecora

Superfamilia: Bovoidea

Familia: Bovidae

Subfamilia: Caprinae

Genero: *Ovis* Linné

Especie *Ovis orientalis*, Gmelin 1774

Sub-especies:

Ovis orientalis blanfordi urial de Blanford

Ovis orientalis orientalis muflon rojo

Ovis orientalis severtzovi urial de Severtzovi

Ovis orientalis musimon: muflón europeo

Ovis orientalis ophion: muflón de Chipre

Ovis orientalis arkal: urial transcaspiano

Ovis orientalis bocharensis: urial de Bukhara

Ovis orientalis cycloceros: urial afgano

Ovis orientalis punjabiensis: urial de Punjab

Ovis orientalis vignei: urial de Ladakh.

Ovis orientalis gmelinii: muflón de Armenia

Ovis orientalis isphahanica: muflón de Esfahan

Ovis orientalis laristanica: muflón de Laristan

2.2.3- Morfología

El muflón Europeo es uno de los ovinos silvestres más pequeños del mundo (Asdell, 1964; Clark, 1964; Lydekker, 1912; Pfeffer, 1967), con una alzada a la cruz de 65-75 cm en las hembras y 70-80 cm en los machos adultos (de más de 3 años). El peso oscila en las hembras entre 25-35 kg y en los machos entre 35-55 kg. La longitud total de cabeza y tronco es de 120-140 cm. En los machos, es característica la presencia de cuernos en espiral, de gran tamaño (hasta 90 cm de longitud y 4,5-6 kg de peso), asentados en una cabeza relativamente pequeña. Las hembras carecen de cuernos, si bien en algunos casos pueden presentarse unas apófisis cornuales rudimentarias que rara vez sobrepasan los 6-12 cm.

El color, longitud y espesor del pelaje viene determinado por el fotoperiodo (Santiago-Moreno et al., 1997), siendo más oscuro (marrón chocolate) y presentando mayor longitud y densidad en invierno (Ryder, 1960). En todos los casos, el color en las hembras es más claro. En los machos, aparece una mancha blanca a cada lado del dorso, denominada "silla", de forma y dimensión variable. La región del vientre, de color blanco, está delimitada de la región dorsal por una línea negra en la zona abdominal. Las regiones perineal, mandibular y facial, así como la cara interna de las extremidades, son de color blanco.

El pelaje del muflón también está constituido por dos tipos de pelo. El primero, denominado de cobertura, es largo y actúa como protección mecánica, y el sub-pelo o vellón, más fino que confiere una protección térmica (Allain et al., 1994).

2.2.4- Distribución

Como en el resto de Europa, todas las poblaciones de muflón en la Península tienen su origen en las poblaciones de Córcega y Cerdeña. En el año 1953 se produce la primera re-introducción del muflón en España, mediante la liberación en la Sierra de Cazorla, de dos machos y tres hembras procedentes de Chambord (Francia) y una pareja procedente de Luxemburgo.

La repoblación se completó con dos parejas traídas de Alemania, en 1956 (Niethammer, 1963; Wéller, 2001). Desde entonces, se ha producido una notable proliferación de la especie en la Península. La capacidad de adaptación a los más variados hábitats ha sido determinante en la rápida expansión de esta especie en nuestro país. Entre los años 1970 y 1975, se asiste a un importante número de repoblaciones, principalmente con ejemplares procedentes de Alemania y Austria. Por ejemplo, en 1971 se introdujeron 13 ejemplares en el Parque Nacional del Teide, en Tenerife, en donde la falta de competidores y su extremada capacidad de adaptación ha determinado su progresiva expansión, llegando a representar una amenaza para la biodiversidad de la isla (Rodríguez-Luengo, 1993). A partir de 1975 la mayoría de las introducciones de muflones en diferentes áreas de nuestro territorio se realizó con animales procedentes del Parque Cinegético de El Hosquillo (Cuenca) y Nava de San Pedro (Jaén). La población inicial de 27 muflones en el Hosquillo, procedentes de dos introducciones de Alemania y una de Austria (Mena, 1972), permitió, en los 11 años siguientes, la salida del parque de 226 muflones para la repoblación de diferentes zonas. Cabe añadir que, en algunos núcleos la falta de renovación genética, la hibridación y la ausencia de caza selectiva en estos primeros tiempos, ha desencadenado la presencia de algunas poblaciones con procesos de homocigosis y alteraciones del cuerno (Montoya-Oliver, 1993).

Actualmente se estima un censo en España de unos 15.000 ejemplares (Santiago-Moreno et al., 2000a), distribuidos, preferentemente, en cotos privados de caza. Los núcleos más estables de muflón en España se localizan en la Reserva Nacional de los Puertos de Tortosa y Beceite (Teruel, Tarragona), Reserva Nacional de Muela de Cortes (Valencia), Parque Cinegético de El Hosquillo y Reserva Nacional de la Serranía de Cuenca (Cuenca), Ciudad Real, Montes de Toledo (Toledo), Montes de Extremadura (Cáceres) y Sierra Morena (Jaén y Córdoba) (Figura 1).

2.3.- Fotoperiodo y reproducción:

2.3.1- Características Reproductivas.

En la mayoría de las especies animales mantenidas en su hábitat natural, las variaciones de horas luz/día a lo largo del año (fotoperiodo), la situación geográfica (latitud), la temperatura, la disponibilidad de alimento y las interacciones sociales determinan los periodos de actividad reproductiva estacional. La adaptación genética a las condiciones medioambientales donde se desarrolla una especie o población determinada, conduce al establecimiento de estrategias reproductivas encaminadas a condicionar la época de partos en aquella estación del año donde las condiciones ambientales, climáticas y de alimentación son las más favorables para el crecimiento y desarrollo de las crías (Bronson, 1985; Martinet y Mondain-Monval, 1991). Los periodos de actividad reproductiva y de anestro estacional están, a su vez, mediatizados por la duración de la gestación en las diferentes especies, ajustándose, en el caso de los herbívoros, el inicio de la actividad ovulatoria cíclica, con los periodos que permiten el establecimiento de la paridera en la primavera. Así, especies con una mayor duración de la gestación (bovinos y equinos) comienzan su actividad reproductiva durante los días de primavera de fuertes incrementos de horas de luz al día, mientras que aquellos con gestaciones más reducidas (ovinos, caprinos, cérvidos) inician su periodo reproductivo con los días de luz decreciente del otoño. En definitiva, la consecución de la mayor tasa de supervivencia de las crías y, por tanto, la supervivencia de la población, obliga a las especies silvestres a concentrar los partos en la época del año en las que existen las mejores condiciones ambientales y alimenticias (Bronson, 1985; Karsch et al., 1984). Para ello tienen que adaptar a fechas predeterminadas sus estrategias reproductivas de comportamiento sexual, celo, gestación y partos.

2.3.1.1 Cabra Montés.

Al igual que en la mayoría de los rumiantes silvestres, la poliginia es el carácter reproductivo que define el comportamiento sexual de la cabra montés. La poliginia es una forma de poligamia caracterizada por el hecho

de que dentro del grupo de machos se establece un orden jerárquico donde los machos dominantes, con mayor desarrollo del cuerno, fecundan el mayor número de hembras.

Los primeros datos referidos al periodo de reproducción de esta especie han venido establecidos mediante estudios etológicos del comportamiento sexual en su medio natural. Mediante esta metodología la actividad sexual de la cabra montés se encuadró en el periodo comprendido desde finales de otoño a principios de invierno (Alados y Escós, 1996). Posteriormente, la monitorización de la actividad reproductiva mediante métodos más objetivos y precisos, tales como la determinación de hormonas esteroides en plasma, han permitido una definición más precisa del inicio y finalización de los periodos de actividad ovulatoria y del anestro estacional. En este sentido, la evolución de las concentraciones plasmáticas de progesterona en cabras montés, mantenidas en cautividad y en ausencia de machos, muestra un periodo de actividad ovulatoria que se sitúa entre diciembre y enero. Esta actividad ovulatoria se caracteriza por el establecimiento de 1 a 3 ciclos de 19 días de duración media (rango = 17-23 días), en algunos casos precedidos de 1 ciclo corto de 10-14 días (Santiago-Moreno et al., 2003c). Recientes trabajos han puesto de manifiesto que esta actividad cíclica puede verse influenciada por diferentes factores de índole social. De este modo el inicio de la actividad ovulatoria puede verse sensiblemente adelantado tras la exposición de las hembras al efecto macho (Santiago-Moreno et al., 2006), de igual manera que se ha descrito para los caprinos domésticos (Chemineau, 1987). Este hecho explicaría la observación de actividad sexual en noviembre, en ciertas poblaciones de cabra montés, fruto de un establecimiento precoz de los grupos mixtos. Junto a este proceso de bioestimulación, las interacciones sociales pueden ejercer un efecto inhibitorio de la actividad ovulatoria, tal como ha sido descrito en ciertas especies de roedores y primates (Barret et al., 1993; Clarke et al., 2001). Concretamente, en condiciones de cautividad, el incremento de las interacciones sociales determina un fenómeno de dominancia por parte de las hembras más adultas inhibiendo la actividad ovulatoria de las cabras subordinadas mediante un estrés social (Santiago-Moreno et al., 2003c), habiéndose sugerido que este fenómeno

de bioinhibición puede tener relación con el retraso del inicio de la pubertad en esta especie, aún en condiciones silvestres (Santiago-Moreno et al., 2006).

El periodo de gestación tiene una duración de 23-24 semanas (Alados y Escos, 1985, 1996; Alados, 1986; Santiago-Moreno et al., 2003c). Los partos se producen en primavera, y al igual que en el periodo de celo, presentan una variación latitudinal y local, situándose entre los meses de abril a junio. Cercano al momento del parto, la hembra se aparta del grupo y se aísla. Las gestaciones suelen ser simples. Tras el parto, la cría permanecerá junto a la madre al menos hasta los 6 meses de vida (Alados y Escos, 1988). En contraste con lo establecido para otras especies de rumiantes silvestres, como el muflón, los partos tienen lugar en pleno anestro estacional, determinando que el anestro postparto se solape con dicho anestro, de tal manera que las primeras ovulaciones postparto acontecen coincidiendo con el inicio de la actividad reproductiva definida para esta especie (diciembre) (Santiago-Moreno et al., 2006).

El establecimiento de la pubertad, viene determinado por la consecución de un desarrollo corporal mínimo umbral, que coincidiendo con lo descrito en la mayoría de ungulados silvestres, suele superar los dos tercios del peso adulto. El comienzo de la pubertad, caracterizada por el establecimiento de una primera ovulación seguida de celo, se sitúa hacia los dos años y medio, cuando pesan 24 kg aproximadamente (Fandos, 1991).

2.3.1.2 Muflón

Las características de la estrategia reproductiva en el muflón denotan ciertas diferencias en los periodos de actividad ovulatoria cíclica, con respecto a la cabra montés, aún a pesar de ser originarias de la misma latitud, y que radican en una mayor duración del periodo eficaz de fecundaciones en esta especie. El muflón es un animal reproductor de días cortos, dado que coincide su periodo de actividad reproductiva con la disminución de horas de luz/día durante el otoño. Su gran adaptabilidad a diferentes medios, que varían desde la dehesa a zonas más montañosas, se ha expresado en una mayor extensión

de su periodo de actividad ovulatoria cíclica por parte de las hembras (Santiago-Moreno et al., 2003a).

En muflonas mantenidas en cautividad en su latitud de origen (40°N), el estudio del perfil anual de secreción de progesterona, determinado en muestras seriadas de sangre, muestra la existencia de un periodo de actividad ovulatoria, que se inicia de forma sincronizada en el mes de octubre y que llega hasta el mes de febrero-mayo según la edad del animal, siendo las hembras más jóvenes (≤ 2 años) las que finalizan antes su actividad ovulatoria, con una duración media de alrededor de 123 días, mientras que las de edades superiores a 2 años finalizan en mayo, con un periodo de actividad cíclica de alrededor de 239 días (Santiago-Moreno et al., 2001a).

El ciclo sexual tiene una duración media de 17 días, con rangos que oscilan de 16 a 18 días, no siendo necesaria la presencia de ciclos de corta duración que precedan al comienzo de la actividad cíclica (Santiago-Moreno et al., 2001a). La tasa de ovulación es mayoritariamente monovular, por lo que solo una cría suele nacer en cada parto (Gonzalez-Bulnes et al., 2001). El periodo de receptividad sexual (celo) tiene una duración de 24 a 36 horas, y está caracterizado, fundamentalmente, por la expresión del reflejo de inmovilidad ante el cortejo del macho (Santiago-Moreno et al., 2003a).

El macho también presenta una estacionalidad en su actividad reproductiva, la cual ha sido bien definida mediante el análisis de las variaciones en las concentraciones plasmáticas de testosterona y el tamaño testicular (Lincoln, 1998; Santiago-Moreno et al., 2005a). La máxima actividad testicular se aprecia en los meses de septiembre a diciembre. El inicio del incremento del tamaño testicular y secreción de testosterona, en el mes de septiembre, coincide con el establecimiento de los grupos mixtos y las luchas entre machos que establecerán el orden en la cubrición de las hembras en el mes de octubre. Este mecanismo adaptativo está orientado a conseguir los mayores niveles de testosterona y la mayor producción espermática, concentrados en el periodo de mayor competitividad y desgaste. Sin embargo, aunque a partir de diciembre se detecta una disminución de las características cualitativas y cuantitativas seminales y se

vea mermada la producción seminal (López-Sáez et al., 1999), los machos siguen manteniendo una capacidad de fecundación aceptable, y siguen siendo capaces de cubrir a aquellas hembras que no quedaron gestantes con las primeras ovulaciones de otoño, y que aún presentan actividad ovulatoria cíclica hasta la primavera.

La duración media de la gestación en la muflona en cautividad es de 155 días, presentando un rango de 152 a 157 días (Santiago-Moreno et al., 1999). El parto, que suele producirse en los meses de marzo-abril, viene seguido de un periodo de lactación que tiene una duración media de tres meses, prolongándose en algunos casos hasta los cinco meses (Santiago-Moreno et al. 1995). La primera ovulación post-parto puede establecerse a los 45 días en hembras con edades superiores a los 2 años y que llegan al parto con una buena condición corporal (Santiago-Moreno et al., 2000d).

El comienzo de la pubertad en las hembras tiene lugar en su primera estación reproductiva, sólo si han alcanzado el peso medio de 24 kg (82% del peso adulto) entre noviembre y diciembre del mismo año en que nacen, es decir a los 8 meses de edad (Santiago-Moreno et al. 2001a). En aquellas muflonas que no alcanzan este peso, el periodo prepúber se continúa con el anestro estacional, retrasándose el comienzo de la pubertad hasta su segunda estación reproductiva. (19 meses de edad y unos 27 kg). En los muflones macho, la pubertad se establece en el mes de octubre, a los 7 meses de edad y un peso corporal de 32 kg (80% del peso de un macho adulto). Si no alcanza ese peso dentro de su primera estación reproductiva, su pubertad se retrasa hasta la siguiente estación, a los 16 meses.

2.3.2. Fotoperiodo y Control neuro-endocrino de la reproducción.

Los cambios fotoperiódicos a lo largo del año (ritmos circanuales) y su variación en función de la latitud geográfica, son el elemento más estable y constante en la regulación de la estacionalidad reproductiva en la mayoría de las especies. Esto mismo se puede considerar en el caso de los pequeños rumiantes tanto domésticos como silvestres, donde el fotoperiodo es el factor de mayor influencia en estas variaciones estacionales, tanto de

la actividad ovulatoria en hembras, como de la producción espermática en machos (Hafez, 1952; Lincoln y Short, 1980).

En el muflón y la cabra montés, la disminución de las horas de luz induce la activación del eje neuro-endocrino-gonadal, determinando el establecimiento de los celos, ovulaciones y posibilidad de cubriciones fértiles en los días cortos del año (Lincoln y Short, 1980). Son abundantes los estudios experimentales basados en la manipulación artificial del fotoperiodo, que muestran esta capacidad reguladora de la evolución de las horas de luz/día sobre la estacionalidad reproductiva. En especies domésticas de ovejas o cabras con marcada estacionalidad, el cambio a un fotoperiodo artificial de días cortos desde un fotoperiodo de días largos, estimula la actividad reproductiva; mientras que el cambio contrario induce el anestro (Lincoln y Davidson, 1977; D'occhio et al., 1984; Barrell et al., 2000), habiendo sido esto mismo observado en especies silvestres como el ciervo (*Cervus elaphus*) (Simpson et al., 1984) y el gamo (*Dama dama*) (Gosch y Fischer, 1989).

En moruecos, la aplicación de un fotoperiodo constante de días largos determina una inhibición de la actividad reproductiva, pero esta situación no se mantiene de forma permanente, ya que, finalmente, una pérdida de sensibilidad al efecto inhibitorio de los días largos induce una reactivación del eje hipotálamo-hipofisario, iniciándose un periodo de actividad reproductiva (Robinson et al., 1985). Este hecho sugiere que la transición desde la estación desfavorable de reproducción al periodo reproductivo es debida a un proceso de refractariedad al efecto inhibitorio de los días largos.

La pérdida de respuesta a un estímulo fotoperiódico continuado (fotorrefractariedad) tanto estimuladorio (días cortos) como inhibitorio (días largos), suponen la existencia de un ritmo endógeno de la actividad reproductiva estacional (Karsch et al., 1989). En este contexto, el anestro estacional, bajo condiciones de un fotoperiodo natural, sería producido y mantenido por la acción secuencial de la fotorrefractariedad al fotoperiodo

estimulante de días cortos y la fotosupresión, siendo estos dos procesos mediados por diferentes sistemas neuronales (Kao et al., 1992).

La aplicación de un fotoperiodo constante de días largos durante largos periodos de tiempo (3 años), determina la expresión de ciclos de inicio y parada de la actividad reproductiva de aproximadamente un año de duración, reflejado en las variaciones anuales de la secreción de distintas hormonas (LH, testosterona) y del tamaño testicular (Howles et al., 1982; Almeida y Lincoln, 1984; Lincoln y Ebling, 1985; Martin et al., 1999). Similares observaciones pueden hacerse cuando los animales se someten a un fotoperiodo constante de días cortos, en donde tras un periodo de exposición tiene lugar una parada de la actividad reproductiva que se reanuda casi al año siguiente (Howles et al., 1982; Jackson et al., 1988; Karsch et al., 1989). Los ciclos endógenos de actividad reproductiva se caracterizan por una desincronización entre individuos, en los periodos de inicio y finalización de la actividad reproductiva (Karsch et al., 1989). Las características de estos ciclos circanales de actividad neuroendocrino-gonadal, en condiciones de fotoperiodo constantes (*free-running*), denotan, de forma clara, la existencia de ritmos endógenos reproductivos, en los que el fotoperiodo actuaría como "zeitgeber" (Sincronizadores), es decir, como referencia temporal ambiental para la sincronización de dichos ciclos (Legan y Karsch, 1980; Howles et al., 1982; Robinson et al., 1985; Karsch et al., 1986; Malpoux et al. 1989).

En la actualidad, el modelo aceptado de regulación de la estacionalidad reproductiva, consiste en que la información fotoperiodica de los días de luz creciente de primavera y verano, sincroniza el inicio de la actividad reproductiva en el otoño, y que los días cortos son los responsables de mantener la duración normal de esta actividad (Malpoux et al., 1989; Figura 2). Esto supone que discretos periodos de información fotoperiódica anuales son suficientes para sincronizar el ritmo circanual de la reproducción (Woodfill et al., 1991).

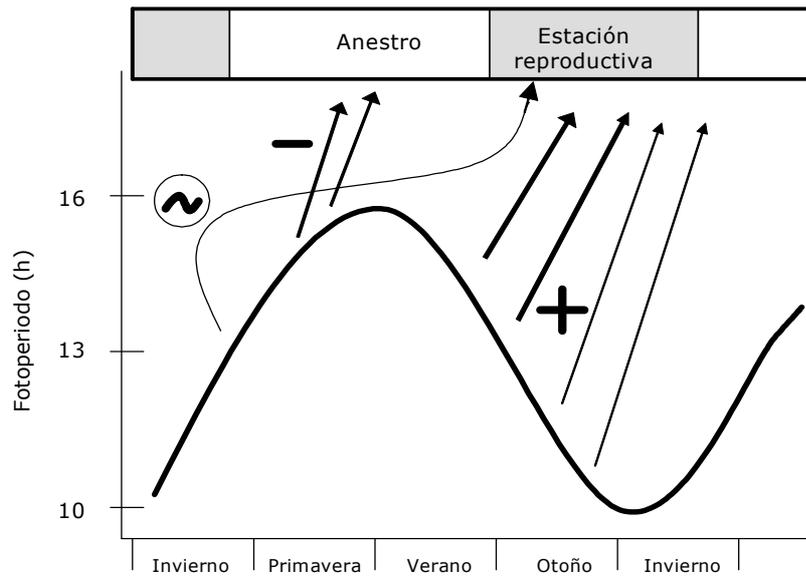


Figura 2.- Modelo de regulación temporal de la estacionalidad reproductiva según Malpaux et al., (1989) en ovejas de la raza Suffolk (42Nº). Efecto del fotoperíodo de sincronización del ritmo endógeno (~). Efecto inhibitorio (-) y efecto estimulante (+) del fotoperíodo para mantener la actividad reproductiva con una duración normal.

La regulación de la estacionalidad reproductiva por parte de las variaciones anuales de luz, está mediatizada por la melatonina. La melatonina, secretada por la glándula pineal, mantiene un patrón circadiano de secreción caracterizado por niveles basales, durante el día y fuertes elevaciones durante la noche en los animales diurnos (Bittman et al., 1985; Karsch et al., 1984). Las variaciones en la secreción de esta hormona reflejan el fotoperíodo (Arendt, 1986; Tamarkin et al., 1985), haciendo de transductor de la información fotoperiódica a una respuesta hormonal, transmitida al eje hipotálamo-hipófiso-gónada (Hoffman, 1978). La melatonina transmite la información del fotoperíodo en el área premamilar hipotalámica (Malpaux et al., 1998) regulando la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), que a su vez regula la secreción de las dos hormonas gonadotropas producidas en la hipófisis, la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) (Clarke et al., 1982; Clarke, 1988). El principal mecanismo de regulación de la estacionalidad por parte de la melatonina, se efectúa mediante una modulación, a nivel hipotalámico, de su sensibilidad al feed-back negativo

realizado por los esteroides gonadales. El aumento de las horas de oscuridad durante el fotoperiodo de días cortos, aumenta la duración de la secreción nocturna de melatonina, disminuyendo el umbral de sensibilidad a los esteroides gonadales (estradiol en la hembra y testosterona en el macho) que induce un incremento de la frecuencia de pulsos de GnRH, lo que aumenta la frecuencia de pulsos de LH. La disminución en la duración de secreción de melatonina durante los días largos determina un incremento de esta sensibilidad a la acción inhibitoria de los esteroides gonadales, estableciéndose una inhibición de la actividad reproductiva (D'occhio et al., 1984; Malpaux et al., 1987).

A nivel testicular, la FSH controla la actividad de las células de Sertoli, regulando la espermatogénesis y la secreción de inhibina (Delgadillo et al., 1995). La inhibina se caracteriza por disminuir la secreción de FSH, por acción directa sobre la hipófisis, actuando en sinergia con la testosterona (Tilbrook et al., 1993, 1999). La LH por su parte actúa sobre las células de Leydig, regulando la producción de testosterona (Lincoln et al., 1990). El incremento de la frecuencia de los pulsos de LH durante el otoño, como consecuencia de la disminución de la sensibilidad al efecto de retroalimentación negativo de la testosterona (Jackson et al., 1991), está seguida por un incremento en la secreción de testosterona (Rhim et al., 1993), que permitirá un adecuado desarrollo de las glándulas accesorias (Santiago-Moreno et al., 2005b) y un medio óptimo para el desarrollo de una espermatogénesis normal.

La reactivación gonadal lleva consigo también cambios morfológicos en los testículos. Cuando se activa el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal se produce un aumento del tamaño testicular (Lincoln y Short, 1980; Langford et al., 1987) durante el periodo verano-otoño, mientras que en primavera el tamaño testicular es mínimo. Este ciclo testicular es la expresión de los cambios andrógeno-dependientes originados en los tubulos seminíferos, induciendo cambios tanto en el diámetro (Hochereau-de-Reviers et al., 1985; Mortimer y Lincoln, 1982; Gastel et al., 1995) como en la longitud (Hochereau-de-Reviers et al., 1976). A nivel celular se constata un aumento del volumen de las células de Leydig, un incremento del tamaño del núcleo

de las células de Sertoli (Hochereau-de-Reviers et al., 1976, 1985) y una hipertrofia de la membrana basal (Mortimer y Lincoln, 1982; Gastel et al., 1995), todo ello correlacionado con el aumento de la actividad de las células mencionadas, inducida por las hormonas gonadotropas (Mortimer y Lincoln, 1982). En este sentido se ha apuntado una alta correlación entre los niveles de FSH y el tamaño testicular (Martin et al., 1999). Por otro lado, la alta correlación encontrada entre el tamaño testicular (principalmente circunferencia escrotal y diámetro testicular) (Almeida y Lincoln, 1982; Lincoln, 1998; Langford et al., 1999) y la producción seminal y la fertilidad, hacen de estos parámetros un buen indicador de la espermatogénesis (Notter et al., 1981; Fowler, 1984).

Dentro de los diferentes factores que intervienen en la reproducción estacional de estas especies, existe una cierta controversia en cuanto a las implicaciones de la prolactina en el control endocrino de estas variaciones estacionales. La prolactina es una hormona secretada principalmente por la hipófisis (Riddle et al., 1932) y, en pequeñas cantidades por otras células localizadas en el cerebro, útero y placenta, así como por células del sistema inmune (Neil y Nagy, 1994). En los mamíferos en lactación tiene como función la estimulación de la producción de la leche en la hembra, al incrementarse su concentración debido el estímulo de succión de la cría (Terkel et al., 1972). En condiciones de fotoperiodo natural, tanto en machos como en hembras, la prolactina muestra un perfil de secreción estacional, con altas concentraciones en primavera y verano y niveles basales en otoño e invierno. Estos cambios estacionales de la secreción son patentes tanto en las especies de rumiantes domésticos (Ravault, 1976; Barrel y Lapwood, 1979; Delgadillo et al., 1993) como en las silvestres (Lincoln, 1990; Schams y Barth, 1982) y su regulación parece condicionada por el fotoperiodo (Pelletier, 1973; Howles et al., 1982; D'Occhio et al., 1984; Curlewis, 1992). Igualmente se ha descrito un ritmo nictameral de secreción de esta hormona, con una posible implicación en los ritmos circadianos de actividad motora (D'Occhio et al., 1984; Santiago-Moreno et al., 2000c). Las variaciones estacionales de secreción de prolactina, coincidente con la evolución anual del fotoperiodo, han sugerido una implicación de la prolactina en la actividad reproductiva, en la conducta

sexual, en el crecimiento de diversos tejidos, en el metabolismo y en los ciclos de cambio del pelaje y la muda (Lincoln y Ebling, 1985; Lincoln, 1990; Curlewis et al., 1988). Estudios basados en el análisis del efecto de la aplicación de fotoperiodos artificiales constantes de días largos o de días cortos en la actividad reproductiva, apuntan un posible efecto de la prolactina en la modulación del ciclo estacional del diámetro y actividad testicular, por la correlación encontrada entre el perfil de secreción de esta hormona y la variación estacional del volumen testicular (Howles et al., 1982). Otros autores han señalado un posible efecto en la espermatogénesis, así como en el ciclo testicular y en la secreción de testosterona (Lincoln et al., 1996; D'Occhio et al., 1984; Sanford y Dickson, 1980; Regisford y Katz, 1993; Santiago-Moreno et al., 2005a), actuando la prolactina tanto sobre los túbulos seminíferos como en la células de Leydig y de Sertoli. A nivel del hipotálamo, también se ha documentado un posible efecto sobre la secreción de las gonadotropinas (Karsch et al., 1989; Yarney y Sandfor, 1989; Lincoln et al., 1996). Todos estos efectos tendrían lugar durante la primavera y el verano, preparando al tejido testicular para una mejor respuesta a las gonadotropinas en la época reproductiva. Por el contrario, otros autores indican que dicha relación es casual (Worthy et al., 1984, 1985; D'Occhio et al., 1984; Langford et al., 1999), e incluso Lincoln et al. (2001), tras diversos experimentos con moruecos, no consideran que la prolactina tenga ningún efecto sobre la esteriodogénesis, la espermatogénesis o la variación del tamaño testicular.

Al igual que la LH y la FSH, el ritmo anual de secreción de la prolactina está regulado por la melatonina. El periodo de secreción nocturna de la melatonina por la glándula pineal actúa, directamente en la hipófisis controlando la producción y liberación de la prolactina (Lincoln, 1994; Lincoln y Clarke, 1997; Tilbrook et al., 1999).

2.4- Formación y desarrollo del cuerno.

El cuerno es una estructura epidérmica queratinizada utilizada por los machos de las diversas especies de rumiantes silvestres en las luchas intraspecíficas que determinarán el establecimiento de las jerarquías durante el periodo de actividad sexual (Lincoln, 1994). En estas especies, este carácter sexual secundario es andrógeno-dependiente, lo que supone la adquisición de mayores dimensiones en los machos que en las hembras. Su influencia en los procesos reproductivos es evidente ya que aquellos ejemplares con mayor desarrollo y calidad de los cuernos son los que muestran mayor índice de participación en las cubriciones que tienen lugar en la estación sexual (Fandos y Vigal, 1988; Alvarez, 1990; Preston et al., 2003). Además, se ha demostrado una relación entre la calidad del cuerno y la calidad del esperma. La mejor calidad del trofeo mantiene una correlación con mayores índices de motilidad de los espermatozoides y una disminución del porcentaje de espermatozoides anormales (Santiago-Moreno et al., 2006). Estas observaciones reflejan como el desarrollo de los cuernos, como carácter sexual secundario y reflejo del vigor genético, no sólo favorece la reproducción de los mejor dotados durante las luchas intrasexuales, sino que además representa un carácter fenotípico que denota la mayor capacidad fecundante de sus espermatozoides. Igualmente, se ha descrito una preferencia de las hembras hacia aquellos machos con mejor desarrollo y simetría de los cuernos, sugiriendo que estos caracteres ejercen de señal entre sexos como indicación de calidad y vigor genético (Moler, 1994; Cote y Festa-Bianchet, 2001).

2.4.1- Ontogenia

El cuerno de los bóvidos, que incluye tanto la cabra montes como el muflón, es una estructura queratinizada, hueca y perenne. Estas características determinan su carácter cavicornio, comenzando el crecimiento desde el nacimiento del animal. En una primera fase, el tejido epitelial especializado, llamado botón germinal, situado en la parte frontal del cráneo, inicia un crecimiento epidérmico formando una vaina externa cornificada. Esta vaina que es hueca, frágil y movable continua creciendo

por sucesivas capas formando el estuche córneo (Santiago-Moreno et al., 2001b, 2003a). Durante esta fase, cualquier golpe o traumatismo leve puede parar el desarrollo del cuerno o producir una malformación permanente. En una segunda fase, el hueso frontal inicia una proliferación del tejido óseo, formando el "os cornu" que se introduce parcialmente en la cavidad del estuche córneo (Figura 3). La fuerte unión entre ambos tejidos proporciona sujeción y firmeza a la estructura (Fowler, 1993). El tejido epitelial continúa su crecimiento paralelamente con el "os cornu". El incremento del diámetro de la base del cuerno se realiza por queratinización del tejido epitelial en capas desde el interior hacia el exterior (Drouard, 1980).



Figura 3: Cráneo disecado de: (1) macho montés y (2) macho de muflón. Se puede observar el (a) "os cornu", de tejido óseo, y (b) el estuche córneo, de origen epidérmico.

2.4.2- Dinámica del crecimiento del cuerno

El crecimiento anual del cuerno presenta una dinámica estacional. Las variaciones del fotoperiodo que determinan las distintas estaciones del año influyen en el incremento o disminución del crecimiento del cuerno. En muflones (Lincoln, 1998; Santiago-Moreno, 2005a), durante la primavera y el verano se produce un mayor crecimiento del cuerno, el cual aumenta en longitud y en grosor desde la base. Este crecimiento estacional configura

líneas de crecimiento marcadas en el estuche córneo (una línea de crecimiento por año), que delimitan, claramente, segmentos denominados medrones (Couturier, 1961; Hemming, 1969, Álvarez, 1990). Durante el otoño e invierno se ralentiza el crecimiento del cuerno, coincidiendo con la llegada de la estación reproductiva y de la menor abundancia de alimentación (Bunnell, 1978; Lincol, 1994). En el caso de la cabra montés, el crecimiento anual del cuerno también forma unos medrones más marcados que en la especie ovina (Fandos, 1991). En diversas especies domésticas se mantiene este mismo patrón de crecimiento estacional, aunque con una menor intensidad del establecimiento de las líneas de crecimiento y medrones (Réale y Bousses, 1999)

El crecimiento del cuerno es un proceso continuo durante toda la vida del animal (Drouard, 1980; Lincoln, 1998), pero éste no es constante, mostrando variabilidad en el ritmo de crecimiento en diferentes años. Los medrones presentan distinta anchura cada año dependiendo principalmente de la edad del animal. En los primeros años de vida los medrones tienen mayor longitud, como reflejo de un mayor crecimiento de los cuernos. Según se incrementa la edad del animal, el crecimiento se ralentiza progresivamente y el crecimiento general del cuerno no supera el desgaste de las puntas (Mena, 1972). En el macho montés, en los seis primeros años se mantiene un alto ritmo de crecimiento del cuerno (Álvarez, 1990) y, concretamente, en el primer año se produce el máximo crecimiento (Fandos, 1995). En el muflón, entre el primer y cuarto año de vida se presentan las mayores tasas de crecimiento anual, mostrándose un crecimiento máximo, al igual que en la cabra montés, en el primer año de vida (Pfeffer, 1967). A partir de los cinco años el crecimiento es bastante menor. En el íbice alpino (*Capra ibex ibex*) el máximo crecimiento se produce en el segundo año (Toïgo et al., 1999), siendo la edad el factor que explica el 50% de la variabilidad en el ritmo de crecimiento durante los seis primeros años (Giacometti et al., 2002). En otras especies cavicornias de rumiantes silvestres, como el rebeco (*Rupicapra rupicapra*) (Koubek y Hrabe 1983; Schaller, 1977), se han indicado los máximos crecimientos en el tercer año de vida.

2.4.3- Control endocrino del crecimiento del cuerno.

El crecimiento estacional del cuerno esta modulado por un complejo mecanismo endocrino, en el que parecen estar implicados elementos del eje hipotálamo-hipófiso-gonada. Dichos mecanismos hormonales están estrechamente relacionados con los que operan en el control estacional de la actividad reproductiva (Santiago-Moreno et al., 2001b). Si bien no se descarta la participación de diferentes hormonas relacionadas con el metabolismo (hormonas tiroideas) o la transducción fotoperiódica (melatonina), el modelo inicialmente sugerido se basa principalmente en la interacción de dos hormonas, la testosterona y la prolactina.

Se ha señalado que el desarrollo de grandes cuernos, como cualquier otro carácter sexual secundario, esta ligado a la actividad testicular, y concretamente a las variaciones anuales de la secreción de testosterona (Lincoln, 1990). Lee et al. (1981) sugieren que el crecimiento del cuerno a partir del nacimiento e incluso durante el periodo fetal, depende de las concentraciones basales de testosterona. En animales adultos, durante los meses de primavera y verano, en los que el volumen testicular es menor y los niveles de testosterona en sangre descienden a sus niveles basales, el crecimiento del cuerno es máximo. Por el contrario, en los meses de otoño-invierno, donde se muestra un volumen testicular mayor y altos niveles de testosterona, el crecimiento es menor (Lincoln, 1994, 1998; Santiago-Moreno, 2003b). Aunque el crecimiento del cuerno se produce cuando la concentración de testosterona presenta niveles basales, éstos son fisiológicamente activos y determinan el correcto desarrollo del cuerno (Lincoln, 1998; Santiago-Moreno et al. 2000a). Esta relación entre secreción de testosterona y desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, ha sido bien establecida en los cérvidos, donde el desarrollo de la cuerna ocurre durante el periodo de menor actividad testicular (Suttie et al., 1984). No obstante, deben existir importantes diferencias en el modo de regulación del crecimiento del cuerno en los bóvidos y la cuerna de los cérvidos, dado el carácter perenne de la misma en los primeros, y la naturaleza exclusivamente ósea en el caso de los cérvidos.

La disminución de las horas de luz diaria en el otoño determinan una disminución de la sensibilidad al efecto feed-back negativo de los esteroides gonadales (andrógenos), permitiendo la activación del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, que se traduce en un incremento de la síntesis y la frecuencia de pulsos de secreción de LH, que son máximos entre finales del otoño y principios del invierno, determinando cambios funcionales y estructurales a nivel testicular (Gastel et al., 1995; Hochereau-de-Reviers et al., 1976; 1985), junto con un incremento de la síntesis y liberación de testosterona (Sanford et al., 1974). Estos incrementos de la concentración de testosterona durante el otoño se han relacionado con la inhibición del crecimiento del cuerno durante este periodo (Lincoln, 1990, 1998). Este posible efecto inhibitorio, ejercido por altos niveles de testosterona, sólo es apreciable, en el muflón, a partir de los dos años de edad. De este modo, en muflones jóvenes que alcanzan la pubertad en su primer año de vida, no se aprecia una ralentización del crecimiento del cuerno durante la estación reproductiva, habiéndose sugerido que los niveles de testosterona no sean suficientemente altos como para inhibir el crecimiento del cuerno, siendo patente un efecto primario del desarrollo corporal en el crecimiento del cuerno durante el periodo juvenil (Santiago-Moreno et al., 2000a).

Respecto a la prolactina, se ha considerado que podría ejercer un papel preponderante durante los periodos de máximo crecimiento cornual en la primavera y el verano. En este contexto, ha sido establecido que la prolactina está implicada en diversos procesos fisiológicos de crecimiento, desarrollo y secreción tisular, y cada vez son más los tejidos donde se han encontrado sus receptores (Ellis et al., 1996; Farmer et al., 2000; Karabulut et al., 1999). Varios son los autores que encuentran una relación temporal entre las variaciones estacionales de las concentraciones plasmáticas de prolactina y el crecimiento del cuerno (Lincoln, 1990; Santiago-Moreno et al., 2003b). Así, encontramos que en el muflón, durante los meses de primavera, se produce un incremento de la secreción de prolactina que se mantiene elevada durante el verano y al inicio del otoño desciende nuevamente a niveles basales. Esta evolución de la secreción hormonal es muy similar al perfil del crecimiento del cuerno en esta especie, y sugieren que la prolactina podría ejercer un efecto estimulante del crecimiento del

cuerno, principalmente en primavera (Lincoln, 1990; Santiago-Moreno et al., 2003b).

En definitiva, la interacción entre ambas hormonas (testosterona y prolactina) podría explicar el mecanismo regulador del crecimiento estacional del cuerno, que quedaría resumido en un modelo de regulación consistente en un inicio del crecimiento del cuerno controlado por la prolactina y un periodo de inhibición determinado por el efecto de la testosterona (Figura 4) (Santiago-Moreno et al., 2003a)

Además de la testosterona y la prolactina, se han estudiado otros mediadores hormonales como posibles elementos de regulación del crecimiento. En cérvidos, la hormona del crecimiento (GH) u otros factores de crecimiento (GF) como el factor de crecimiento insulínico Tipo-1 (IGF-1) parecen estar relacionados con el control endocrino del ciclo de la cuerna (Santiago-Moreno et al., 2001b)

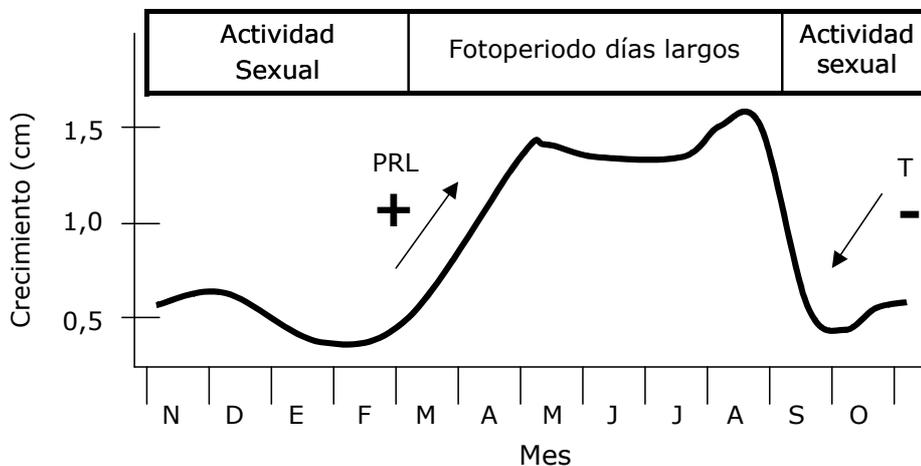


Figura 4.- Modelo de control endocrino del crecimiento del cuerno propuesto por Santiago-Moreno et al. (2003a). La prolactina (PRL) ejerce una acción estimulante sobre el crecimiento del cuerno en la primavera, mientras que la testosterona (T) inhibe este al inicio del otoño.

2.4.4- Factores ambientales que influyen en el crecimiento del cuerno.

El crecimiento y desarrollo del cuerno están condicionados, de forma manifiesta, por el medio ambiente. Diversos factores externos pueden inducir un mayor o menor crecimiento del cuerno, así como que éste sea defectuoso o más equilibrado. Dichos factores, como la temperatura, la alimentación, el fotoperiodo, las precipitaciones, etc., interaccionan de forma conjunta en la modulación del desarrollo del cuerno.

- Fotoperiodo:

La latitud, a través de las variaciones del fotoperiodo, influye sobre el ritmo anual del ciclo del crecimiento del cuerno. Poblaciones de muflón mantenidas en diferentes latitudes presentan diferencias en la dinámica de crecimiento del cuerno (Hoef, 1982). Aquellas poblaciones situadas más al sur, alcanzan el 50% de la longitud total del cuerno en los dos primeros años, mientras que las situadas más al norte, no alcanzan ese 50% hasta los tres años. No obstante, estos últimos mostrarán unas longitudes finales superiores a las de sus parientes del sur.

La influencia de la latitud también es patente en el ciclo de la cuerna de los cérvidos. El traslado de individuos de ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) desde su lugar de origen de zonas templadas a zonas de latitudes cerca del trópico, produce una desincronización del ritmo de actividad testicular y del ciclo de regeneración, descorrea y desmogue de la cuerna (Goss y Rosen, 1973). De igual modo, la manipulación del fotoperiodo altera el ciclo de desarrollo y caída de la cuerna (Goss, 1969). Concretamente, en ciervos Sika (*Cervus nippon*) mantenidos en cautividad, con un sistema de iluminación artificial en el que se manipuló el fotoperiodo, al someterlos a dos ciclos fotoperiódicos de 3 meses con 15 horas de luz y 3 meses con 9 horas de luz en un año, se les indujo dos ciclos completos de crecimiento y caída de la cuerna. En definitiva, la manipulación del fotoperiodo puede iniciar o detener el crecimiento de la cuerna, y alargar o acortar el periodo de desarrollo de la misma. (Snyder et al., 1983). Por otro lado, ciervos sometidos a un fotoperiodo constante mantienen el ritmo de crecimiento y caída de la cuerna, aunque

desincronizado con respecto a los mantenidos en condiciones de fotoperiodo natural (Goss, 1977).

Dada la coincidencia de las variaciones circanuales entre el fotoperiodo y la secreción de prolactina, se ha apuntado que el fotoperiodo regularía el patrón de crecimiento estacional del cuerno mediante las variaciones estacionales de secreción de prolactina. En este sentido, diferencias en el perfil anual de secreción de prolactina pueden determinar diferencias en el patrón de crecimiento del cuerno. Cabe destacar lo establecido en el ciclo de desarrollo y caída de la cuerna, donde el perfil de variación de la concentración de prolactina ha sido correlacionado con el desarrollo y mineralización de la misma (Bubenki et al., 1985). Suttie et al. (1984) consideran que el retraso entre 2 a 3 meses de la caída de la cuerna en el ciervo de cola blanca pinealectomizado poco después de la descorrea es debido a la alteración en la secreción de prolactina.

Otro mecanismo por el que el fotoperiodo también influye en el desarrollo del cuerno es el determinado por la época de nacimiento del macho. Aquellos muflones nacidos en parideras tempranas presentarán un crecimiento corporal mayor, incluido un mayor crecimiento del cuerno, que los nacidos en parideras más tardías, a pesar de mantener condiciones similares de alimentación (Santiago-moreno et al., 2000a). Observaciones similares han sido descritas para el crecimiento de la cuerna en el ciervo rojo (Adam y Moir, 1987; Adam et al., 1992). Se ha sugerido que este mayor crecimiento sea debido a que los animales nacidos en épocas de paridera tempranas (marzo-abril) se desarrollen durante más tiempo bajo los efectos estimulantes del fotoperiodo de días largos, periodo en el cual aparecen las mayores concentraciones plasmáticas de prolactina. Si bien no se descarta un posible efecto directo de la prolactina en efectores ubicados en el propio epitelio germinal del cuerno, los altos niveles de prolactina inducen una mayor ingesta voluntaria de alimentos, con lo que por un lado la madre produce más leche y la cría muestra mayor apetito (Santiago-Moreno et al., 2003a).

- Alimentación.

La disponibilidad y abundancia del alimento es otro de los principales factores que determinan un mayor o menor crecimiento del cuerno. Los años en que existe una mayor abundancia o disponibilidad de nutrientes se produce un mayor crecimiento del cuerno tanto en longitud como en el perímetro de la base (Santiago-Moreno et al., 2001b; Festa-Bianchet et al., 2004). Las poblaciones situadas en zonas ricas en nutrientes tienden a presentar mayores y más rápidos crecimientos que otras poblaciones en zonas más desfavorecidas (Náhlik, 1989; Gartner y Heine, 1995). Igual ocurre en poblaciones en cautividad con una dieta óptima o en poblaciones en semilibertad donde se les complementa la dieta (Geist 1971; Hoefs y Nowlan, 1997). En cambio, en situaciones donde se producen carencias en la alimentación se aprecian malformaciones o deficiencias en el desarrollo del cuerno (Ullrey, 1983; Gartner y Heine, 1995). En casos extremos de restricción alimenticia, además de la falta de nutrientes para el desarrollo del cuerno, se evidencia una alteración en la producción y secreción hormonal, principalmente de testosterona, potenciándose el efecto negativo sobre el correcto crecimiento del cuerno (Santiago-Moreno et al., 2001b). Por otro lado, Uloth et al. (2002) indican que una dieta excesivamente energética y abundante determinaría unas extremas velocidades de crecimiento del cuerno que podrían inducir un mayor porcentaje de malformaciones. No sólo una excesiva abundancia de alimento podría desencadenar estas malformaciones, sino aquellas condiciones en las que se produzcan desequilibrios de los aportes requeridos de grasas y proteínas, podrían determinar el establecimiento de morfoanomalías (Santiago-Moreno et al., 2003a).

En poblaciones silvestres, directamente relacionada con la disponibilidad de alimento, se puede considerar la densidad de población un factor ambiental que condicione el crecimiento del cuerno. Las altas densidades poblacionales aumentan la competencia y disminuyen el aporte alimenticio de cada individuo del rebaño o entre los individuos de distintos rebaños, dificultando el desarrollo adecuado del cuerno (Montoya-Oliver, 1993; Gartner y Heine, 1995; Jorgenson et al., 1998). El efecto de la alimentación es más acusado en los primeros años de vida, dado que es en

esta edad cuando ocurren las mayores tasas de crecimiento (Losa-Huecas, 1993; Hoef y Nowlan, 1997) a la vez que el efecto negativo de la competencia es más acusado (Jorgenson et al., 1997).

- Factores climáticos

Los factores climáticos principales como la temperatura, las precipitaciones, etc., influyen sobre el crecimiento del cuerno indirectamente a través de la alimentación (Pérez-Barberia et al., 1996; Fandos y Vigal 1988, Bunnell 1978; Toigo et al., 1999), ya que dichos factores actúan interaccionando sobre la abundancia y calidad de los alimentos (Geist, 1971; Shackleton, 1973; Cote et al., 1989). Años de inviernos suaves y lluvias tempranas aumentan rápidamente la cobertura vegetal favoreciendo el crecimiento del cuerno (Giaconetti et al., 2002). En este sentido, se ha apuntado que los segmentos de crecimiento del macho montés en un año más húmedo son mayores que en años más secos (Fandos, 1995).

2.4.5- Factores genéticos:

El fenotipo final de un carácter depende del genotipo y del medio ambiente (Palmer y Strobeck, 1986). El genotipo no sólo fija el potencial inicial de desarrollo del cuerno, sino que también determina la capacidad del individuo a responder al estrés ambiental (Fitzsimmons et al., 1995). En el Carnero de las Rocosas (*Ovis canadensis*), las poblaciones con mayor heterocigosis muestran mayores cuernos que aquellas poblaciones con depresión endogámica (Perry et al., 1985). En la cabra montés, las poblaciones situadas en la sierra de Cazorla, Segura y las Villas, debido a su escasa variabilidad genética, en parte por el efecto devastador de la sarna en la década de los 70 y principios de los 80, no se cazaron trofeos catalogados como oro en los años 80 (Fandos, 1991). Por otro lado, la calidad genética también queda reflejada en el desarrollo simétrico de los órganos pares (Moller et al., 1996), de forma que a mayor simetría, mayor estabilidad genética y resistencia al estrés ambiental durante el desarrollo (Zakharov, 1992). La simetría de los cuernos de los bóvidos y cuernas de los cérvidos ha sido muy utilizada como indicador de la calidad genética de

los individuos y sus poblaciones (Thornhill y Moller., 1998). A pesar de que el grado de asimetría fluctuante ha sido ampliamente utilizado como indicador de estrés ambiental y *fitness*, (Lens et al., 2002), algunos autores no encuentran una relación directa entre este indicador y grado de endogamia o calidad genética (Kruuk et al., 2003). En la naturaleza, la preponderancia de los ejemplares con mejor vigor genético para la transmisión genética a la descendencia, viene determinado por el hecho de que un mayor y correcto desarrollo de los cuernos permitirá una supremacía en las luchas intrasexuales durante el periodo de jerarquización social que precede a las cópulas. Además, los cuernos ejercen una señal visual de vigor genético hacia las hembras, tal que se ha apuntado una preferencia de las hembras hacia machos con buenas morfologías y simetría de los cuernos (Geist, 1971; Preston et al., 2003). Como ya se ha referido anteriormente, la competición de los mejor dotados genéticamente permanece incluso tras la cópula, mediante el proceso denominado de competición espermática, en donde los espermatozoides de los ejemplares con mejor desarrollo de los cuernos presentarán una supremacía de los parámetros espermáticos (Santiago-Moreno et al., 2005a), que los colocarán en una ventajosa situación de fecundación.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS

3.1- Animales: procedencia y condiciones de estabulación

El trabajo experimental se realizó durante los años 2003 y 2004 en la granja experimental del Departamento de Reproducción Animal del INIA, Madrid, a 40° 25´ de latitud Norte y 600 m de altitud.

Se utilizaron en total 32 machos de dos especies que fueron mantenidos en cautividad durante el periodo de experimentación (Figura 5). En conjunto se disponía de: a) 18 machos monteses (*Capra pyrenaica hispanica*), procedentes del Parque Nacional de Sierra Nevada (zona de semilibertad cercada de 30 has.) (Granada, 36° 55'- 37° 10' N), y cuyas edades estaban comprendidas entre 1 y 5 años; b) 14 machos de Muflón (*Ovis orientalis musimon*), 6 procedentes del Parque Cinegético Experimental del Hosquillo (zona de reserva en semicautividad) (Cuenca, 40° 6' N), cuyas edades estaban comprendidas entre 1 y 5 años, y los 8 restantes nacidos en las propias instalaciones del INIA, los cuales fueron utilizados en el trabajo experimental a partir de un año de edad. En todos los casos los animales habían pasado un periodo de adaptación de varios meses antes del comienzo de los distintos experimentos, para su habituación a las rutinas de manejo necesarias para los muestreos.



Figura 5: Foto 1: Macho Montés. Foto 2: Muflón. Foto 3 y 4: Grupo de machos monteses y de muflones en sus respectivos parques.

Las instalaciones consistían en 4 parques descubiertos contiguos, de 250 m² con suelo de tierra, con un perímetro vallado de 4 m de altura, y 1/3 del parque cubierto donde estaban los comederos, en condiciones naturales de temperatura, luz y humedad. Dos de los parques tenían instalado un sistema de iluminación artificial. Dicho sistema de iluminación consistía en tres hileras de 10 paneles luminosos con dos tubos fluorescentes de 40w cada uno, colocados a 4 metros de altura a lo largo del parque, proporcionando una iluminación de luz blanca homogénea, de aproximadamente 200 lux sobre toda la superficie del parque a ras del suelo. Los paneles estaban conectados a un sistema de encendido/apagado automático mediante un reloj electrónico programable, el cual se podía ajustar según se requiriese con el fin de establecer la simulación de fotoperiodos artificiales de días largos (Figura 6).

Las instalaciones para manejo y los procesos de manipulación eran distintos y estaban adaptados a cada especie.

Para los machos monteses, los dos parques se comunicaban mediante puertas y una manga de paredes de madera lisa y techado, en cuyo final se encontraba una compuerta que comunicaba a un cajón de manipulación. Dicho cajón de 3 x 1 x 1,50 m tenía ventanas correderas en la parte superior y en ambos laterales, desde donde se realizaban las diversas tareas de manejo y manipulación de los animales (Figura 6).

Durante el proceso de manipulación, los machos eran todos conducidos al interior de la manga. La oscuridad y el reducido espacio de ésta disminuía el estado de estrés una vez que se encontraban dentro. Posteriormente, se les hacía pasar uno a uno al cajón, abriendo y cerrando la compuerta. Una vez en el cajón, y prácticamente inmovilizados, se accedía al interior del mismo a través de las compuertas laterales, sujetando inicialmente la cabeza, con el fin de cubrir los ojos mediante un paño, lo cual indujo una notable tranquilización y facilitó el manejo de los animales. Evitar los ruidos es también una práctica necesaria para evitar situaciones de alerta y estrés.



Figura 6: Foto 1: Vista exterior de los parques donde se encuentran los animales de experimentación. Foto 2: Vista interior de uno de los parques con el sistema de iluminación artificial. Foto 3: Interior de la manga de captura que conduce al cajón de manipulación. Foto 4: Cajón de manipulación con puertas correderas que permiten la manipulación de los animales. Foto 5 y 6: Apartadero construido dentro de los parques que permite retener e inmovilizar a los muflones.

La manipulación de los muflones se realizaba en un corral-apartadero de 6 m² que permanecía siempre abierto de forma que los muflones estuvieran familiarizados con dicho apartadero. Dentro del mismo, los animales eran inmovilizados manualmente, realizándose a continuación la recogida de muestras y mediciones correspondientes (Figura 6). Todas las manipulaciones se hacían también evitando, en lo posible, los ruidos.

Tanto las instalaciones como los procedimientos y protocolos de manipulación de los animales cumplen el Real Decreto RD1201/2005, conforme con la Directiva Europea 86/609 sobre la protección de animales utilizados para fines experimentales o científicos.

3.2- Alimentación y Control Sanitario:

Los alimentos se aportaban diariamente, y consistían en una ración equilibrada de pienso compuesto para ovino y caprino (Visan K-59, Visan Ind. Zoot., S.A), heno de alfalfa y cebada en grano, así como paja de cereales suministrados *ad libitum*. Dentro de cada parque disponían de agua en bebederos con agua corriente, bloques de sal y corrector vitamínico mineral.

Todos los animales eran sometidos a un control sanitario que incluía, tratamientos preventivos de desparasitación, mediante inyección subcutánea de Ivermectina (Ivomec, Merial Laboratorios S.A.) cada seis meses, y vacunación para prevención de enterotoxemias (Covexin-8, Schering-Plough Animal), aplicada anualmente en los muflones y semestralmente en los machos monteses.

El control sanitario de los animales procedentes del exterior se llevaba a cabo de forma sistemática. A la llegada de los mismos al centro se les extraía una muestra de sangre para determinación, mediante análisis serológico, de la posible existencia de brucelosis, Fiebre Q, Enfermedad de Lyme, Clamidirosis y Agalaxia Contagiosa. Además, en una muestra de heces se determinaba la carga parasitaria mediante la técnica de flotación,

método de McMaster modificado, por el que se identificaban ooquistes o huevos de nematodos y cestodos intestinales, y diagnóstico de bronconeumonías verminosas mediante la técnica de migración larvaria, método de Bearmann-Wetzel, por el que se detectan las larvas de primer estadio de nematodos broncopulmonares. Antes de su suelta, dentro del parque de cuarentena, eran tratados con Ivermectina, vacunados contra la enterotoxemia y se les administraba vitamina E y selenio por vía intramuscular, para la prevención del síndrome de miopatía de captura. A cada animal le fue asignado un número de identificación, que era colocado en el cuello mediante un collar de lona.

Semestralmente se extraía una muestra de sangre para el control de enfermedades según la legislación vigente (Brucelosis, paratuberculosis, artritis- encefalitis, Maedi-visna), llevada a cabo por los servicios oficiales de la Consejería de Sanidad Animal de la Comunidad de Madrid,

3.3- Experimento previo:

Puesta a punto del protocolo de administración de bromocriptina:

Con el objeto de inhibir el aumento de la secreción de prolactina en primavera (Figura 7), se desarrolló un experimento para determinar la mejor dosis y frecuencia de administración de un antagonista de la prolactina, la bromocriptina. Se utilizaron seis muflones, que fueron divididos en dos grupos: Grupo 1 y Grupo 2, donde se compararon dos tratamientos. En el Grupo 1, el tratamiento consistió en la inyección, por vía intramuscular, de 10 mg de bromocriptina, dos veces a la semana (martes y viernes). En el Grupo 2, se inyectaron 18 mg de bromocriptina solo una vez a la semana (martes). La bromocriptina (Parlodel®, Novartis Farmacéutica, S.A.) se preparó en una fórmula de larga acción, consistente en una solución de 10 mg/ml de bromocriptina en suero fisiológico (NaCl 0,9%) y 1% de Dextran 70® (Dicks et al., 1994). El periodo de tratamiento fue desde marzo a mayo de 2003, coincidiendo con el periodo de incremento estacional de la secreción de prolactina. Se recogieron muestras

de sangre para la determinación de la concentración de prolactina, con una frecuencia de dos días a la semana (martes y viernes) antes de cada inyección. Las concentraciones plasmáticas de prolactina se determinaron mediante radioinmunoanálisis (Gómez-Brunet y López-Sebastián, 1991).

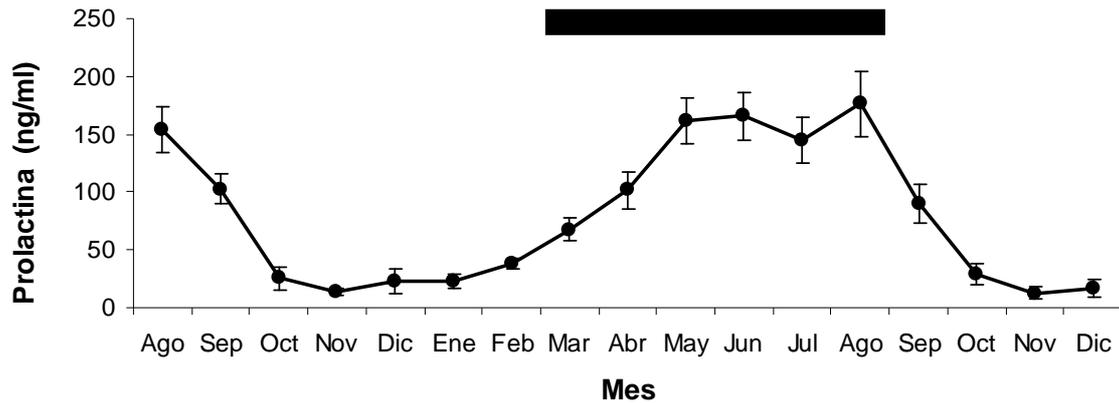


Figura 7: Variación estacional de la concentración de prolactina en el macho montés en condiciones de fotoperiodo natural. La barra negra superior indica el periodo seleccionado para el tratamiento con bromocriptina .

3.4- Diseño experimental.

El diseño experimental era un diseño simple, con tres grupos, para cada una de las dos especies estudiadas (Figura 8). Los machos de cada especie se mantenían en parques distintos.

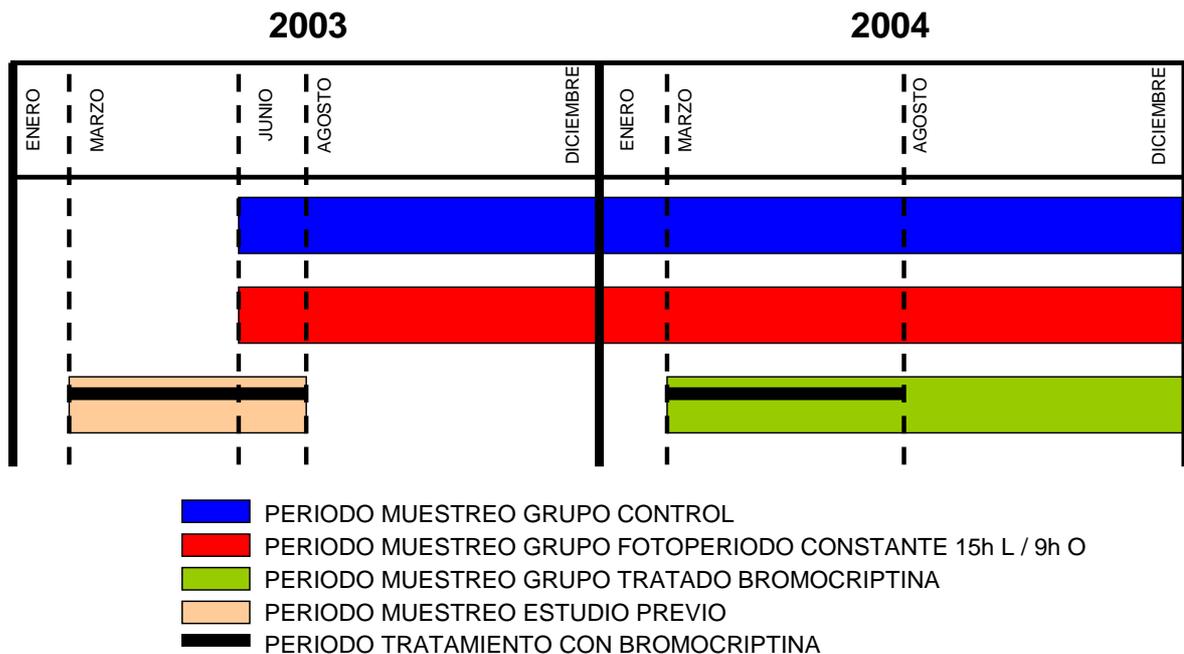


Figura 8: Planificación temporal del trabajo experimental donde se indica el momento de inicio y fin de los periodos de muestreo de los tres grupos experimentales: Grupo control (Azul), Grupo Fotoperiodo Artificial (Rojo) y Grupo Tratado con BCR (Verde), además del grupo del estudio previo (Marrón)

- Grupo Control:

Formado por 6 machos monteses (CM-C) y 6 Muflones (M-C), mantenidos en condiciones ambientales de fotoperiodo natural desde junio de 2003 hasta diciembre de 2004. El fotoperiodo natural muestra una variación anual con un periodo creciente de horas de luz al día, desde el solsticio de invierno hasta el solsticio de verano y otro periodo decreciente desde el solsticio de verano hasta el de invierno. Según los datos aportados por el Observatorio Astronómico, la puesta y salida del sol, y por tanto las horas de luz y oscuridad, durante los solsticios y

equinoccios para la latitud en la que se encuentran las instalaciones, fueron (hora solar):

Solsticio de invierno (22 de diciembre), el sol se pone a las 16:52 H y sale a las 7:35 H. (Horas de luz: 9, Horas de oscuridad: 15).

Solsticio de verano (21 de junio), el sol se pone a las 19:48 H y sale a las 4:45 H (Horas de luz: 15, Horas de oscuridad: 9).

Equinoccio de primavera (21 de marzo), el sol se pone a las 18:26 H y sale a las 6:18 H (Horas de luz: 12, Horas de oscuridad: 12).

Equinoccio de otoño (22 de septiembre), el sol se pone a las 18:11 H y sale a las 6:00 H (Horas de luz: 12, Horas de oscuridad: 12)

- *Grupo de Fotoperiodo Artificial* .

En este grupo experimental se utilizaron 4 machos monteses (CM-G15L:90) y 4 muflones (M- G15L:90) situados en los parques con paneles luminosos. A partir de los datos ofrecidos por el Observatorio Astronómico, se ajustó la duración y el momento de aplicación del fotoperiodo artificial al solsticio de verano en nuestra latitud. De este modo, dicho fotoperiodo artificial se caracterizaba por un periodo constante de luz de 15 horas y un periodo de oscuridad de 9 horas, incluyendo el periodo crepuscular. Para conseguir esta información fotoperiódica, el temporizador permitía el encendido de las luces a las 4:45 h (coincidente con la salida del sol en el solsticio de verano), y apagado a las 19:48 h, hora de puesta del sol en ese solsticio. Este fotoperiodo artificial de días largos se mantuvo 16 meses, desde junio de 2003 hasta diciembre de 2004, (Figura 9).

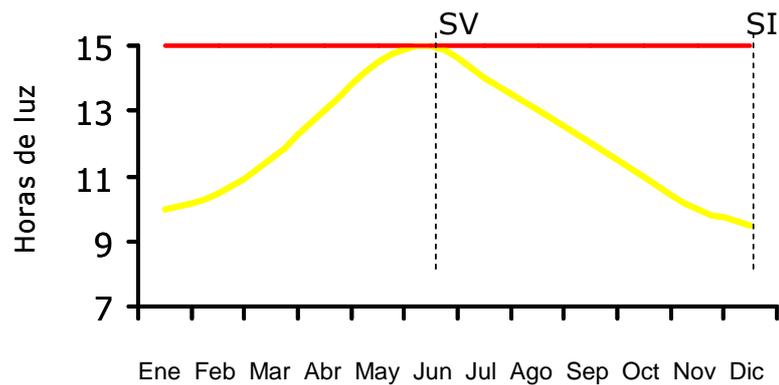


Figura 9: Variación estacional del fotoperiodo natural (—) y fotoperiodo artificial constante (—) correspondiente al solsticio de verano (15 h luz : 9 h oscuridad). SV: Solsticio de verano; SI: Solsticio de Invierno

- *Grupo tratado con bromocriptina.*

Se utilizaron 8 machos monteses (CM-BCR) y 4 Muflones (M-BCR). En este grupo se administró este antagonista de la prolactina con el fin de inhibir el aumento de la secreción de esta hormona durante el fotoperiodo de luz creciente de primavera y verano (Figura 9), según el protocolo utilizado en el experimento previo. El periodo de tratamiento fue desde marzo a septiembre de 2004 y consistió en la inyección, por vía intramuscular, de 10 mg de bromocriptina dos veces por semana, todos los martes y viernes sobre las 10:00 h de la mañana. La toma de muestras se continuó hasta diciembre de 2004 para controlar un posible efecto de la bromocriptina después del periodo de tratamiento.

3.5- Determinaciones morfológicas y hormonales

En los tres grupos de animales de experimentación, de cada una de las especies, se determinaron los siguientes parámetros (Figura 10):

- Crecimiento del cuerno
- Peso Corporal
- Circunferencia escrotal
- Concentración de Prolactina en plasma sanguíneo

- Concentración de Testosterona en plasma sanguíneo
- Crecimiento del cuerno: La variable seleccionada para determinar el crecimiento del cuerno fue el crecimiento de su longitud (LC). Para evitar cualquier posible error debido al desgaste de las puntas, en mediciones de longitudes totales del cuerno, se medía la distancia desde la base del cuerno hasta una marca indeleble realizada por su cara frontal, a mitad de este, al inicio de la experiencia.

Los muestreos se realizaban una vez a la semana, los martes sobre las 10:00 de la mañana. Todas las medidas fueron realizadas con cinta métrica graduada en milímetros (Orquímetro, Ideal Instruments®)

- Peso Corporal. Desde el inicio hasta el final del periodo experimental se llevó a cabo un seguimiento del peso corporal, empleando una báscula electrónica True-test para animales. Se contaba con una única báscula móvil, que se desplazaba a cada parque en el momento de la pesada. La báscula tenía forma de jaula, estrecha y alargada, y disponía de dos puertas. Las pesadas se realizaban una vez cada dos meses, al finalizar el manejo para las recogidas de muestras de sangre y medidas de los cuernos. Todas las manipulaciones en la báscula se realizaban manteniendo los ojos de los animales tapados para disminuir el estrés.
- Circunferencia escrotal. Se determinó la máxima circunferencia escrotal (CE), empleando un orquímetro, calibrado en milímetros, como expresión morfométrica de la actividad testicular (Haigh et al., 1984). Manualmente se hacían descender los dos testículos hasta el fondo del escroto, dejándolos en paralelo uno con el otro. En esa posición, con el orquímetro se valoraba la máxima circunferencia escrotal. Las mediciones se realizaban una vez por semana, después de las de los cuernos.
- Concentraciones plasmáticas de Prolactina (PRL). Los niveles de PRL se determinaron en plasma sanguíneo de sangre periférica. Las muestras de sangre eran recogidas por extracción en la vena yugular, mediante

tubos heparinizados al vacío (Vacutainer) de 5 ml. Las muestras eran recogidas una vez por semana (martes, a las 10:00 h). Inmediatamente la sangre se centrifugaba a 1500 g durante 15 minutos a 4°C y el plasma era recogido y congelado a -20°C hasta su posterior análisis de prolactina mediante radioinmunoanálisis (RIA).

- Concentraciones plasmáticas de testosterona (T). Los niveles de testosterona se determinaron, igualmente, en plasma sanguíneo periférico, con un procedimiento similar de recogida de muestras que en el caso de la prolactina. En este caso se realizaba una triple extracción de sangre (a las 10:00, 11:00 y 12:00 horas), con el fin de valorar la secreción media en ese periodo. Cada muestra de sangre era centrifugada y posteriormente se preparaba un único pool mezclando alícuotas de plasma de cada una de las extracciones de sangre. Los muestreos se realizaban cada dos semanas, los martes, y se usaban las mismas muestras para la determinación de prolactina y testosterona.

En total se llevaron a cabo 1560 medidas de longitud de cuerno, 220 medidas de peso, 1560 extracciones de sangre para obtener plasma donde determinar la concentración prolactina, de los cuales 780 sirvieron también para determinar el nivel de testosterona



Figura 10: Fotos 1 y 2: Extracción de sangre en macho montés y muflón. Fotos 3 y 4: Medición de la longitud del cuerno desde la base a una marca realizada en el cuerno (foto 5). Foto 6: Medición de la circunferencia escrotal en muflón.

3.6- Análisis Hormonal

La prolactina fue determinada según la técnica de análisis radioinmunológico descrita por Gómez-Brunet y López-Sebastián (1991). Se utilizó suero anti-prolactina (NIDDK-anti-oPRL-2, lote AFP-C358106, obtenido en conejo) y prolactina ovina (NIDDK-oPRL-I-3, lote AFP-10789B) procedente del Dr. A.F. Parlow, Harbor-UCLA Medical Center, California, USA.

La hormona pura fue marcada con 0,5 mCi ¹²⁵ INa (Amersham) utilizando en la reacción lactoperoxidasa. La fracción de prolactina marcada fue separada, mediante un columna de Sephadex G-50 con tampón fosfato (PB) 0,05 M pH =7,5.

Las determinaciones analíticas se realizaban en 100 µl de la muestra de plasma, incubándose durante 24 horas con 100 µl de antisuero antiprolactina a una dilución de 1:600.000 y 100 µl de la prolactina marcada. Para conseguir la precipitación de la fracción conjugada se añadieron 50 µl de SMAL (suero de morueco anticonejo) a una dilución 1/50, dejándose incubar otras 24 horas. Para la separación de la fracción libre y conjugada se añadieron 2,5 ml de tampón fosfato, llevándose a cabo la centrifugación, durante 30 minutos a 3.500 r.p.m. El sobrenadante se retiraba por volteo de los tubos y la cuantificación de la fracción conjugada en el precipitado, se determinaba en un contador para detección de radiación gamma (Gamma Counter Berthold, Alemania).

El coeficiente de variación intra- e inter- análisis fue respectivamente de 8,4% y 19,5%.

La testosterona se determinó según la técnica de análisis radioinmunológico descrita por Santiago-Moreno et al. (2005b). El anticuerpo anti-testosterona, obtenido en conejo, fue cedido por la unidad "Physiologie de la Reproduction et des Comportements", INRA, Nouzilly, Francia. Este anticuerpo se utilizaba a una dilución de 1:150.000 en tampón fosfato 0,04 M a pH = 7,0.

En primer lugar la testosterona se extraía del plasma en dobles alícuotas de 250 μ l, mediante 3 ml de ciclohexano (Merck). Después de agitar, ambas fases se separaban mediante congelación del plasma. Tras la evaporación del ciclohexano, el residuo seco era recuperado en 500 μ l de tampón fosfato. La reacción inmunológica se llevaba a cabo utilizando 100 μ l de esta fracción, añadiéndose 250 μ l de la dilución del anticuerpo anti-testosterona y 100 μ l de la dilución de testosterona marcada (aproximadamente 10.000cpm / 100 μ l). Se deja incubar, primeramente, 1 hora a 37°C y posteriormente 24 horas a 4°C. Tras la incubación, las fracciones libres y conjugadas se separaron añadiendo 500 μ l de una solución de Carbón-Dextrano (Norit A. Sigma; Dextran Sigma) y centrifugando los tubos a 4.500 r.p.m. durante 30 minutos.

Los criterios de validez de la técnica fueron: porcentaje de recuperación: 80 \pm 3%, sensibilidad: 0,05ng/ml, coeficiente de variación intra-análisis: 10,3%. Todas las determinaciones de las concentraciones plasmáticas de testosterona se realizaron en un único análisis.

3.7- Análisis estadístico

Antes de la realización de las diferentes pruebas de significación estadística, los valores numéricos de las diferentes variables se analizaron mediante el test de normalidad de Lilliefors y el de Shapiro-Wilk's W, con el fin de determinar si se ajustaban a una distribución normal. Los valores de las concentraciones plasmáticas de prolactina y testosterona no se ajustaron a una distribución normal ($P < 0,05$, para ambos test de normalidad), por lo que se sometieron a una transformación logarítmica.

El crecimiento del cuerno se calculó como la diferencia entre las medias de la longitud del cuerno entre dos meses consecutivos. La estacionalidad del crecimiento del cuerno, de los cambios en la circunferencia escrotal y de la secreción hormonal (testosterona y prolactina) fueron estudiados mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Se consideró que una variable es estacional cuando existía una

variación significativa de sus valores entre las cuatro estaciones del año: invierno (enero, febrero y marzo), primavera (abril, mayo y junio), verano (julio, agosto y septiembre) y otoño (octubre, noviembre y diciembre). Cuando el ANOVA revelaba un efecto estacional, las diferencias entre estaciones se analizaron mediante el test de Tukey.

Las variables de crecimiento del cuerno, tamaño testicular y secreción hormonal fueron comparadas mediante ANOVA de 2 vías, para analizar el efecto de la interacción de la especie y la estación. Posteriormente, cuando las variables mostraron diferencias significativas entre grupos, se procedió a la comparación de sus valores mensuales mediante *t* de Student.

El momento del incremento y disminución del crecimiento del cuerno se analizó mediante *t*-Student pareado. El momento en el que se produce el aumento significativo en el crecimiento del cuerno se estableció como el primer mes que presentó valores significativamente superiores respecto a los tres meses consecutivos con los valores de crecimiento más bajos. El momento en que disminuía el crecimiento del cuerno se estableció como el primer mes con valores significativamente más bajos con respecto a los tres meses con los valores de crecimiento más altos. Similares criterios se establecieron para el cálculo del momento de incremento y disminución del tamaño testicular y de la secreción hormonal (Santiago-Moreno et al., 2004).

Las valoraciones de las correlaciones entre crecimiento del cuerno, circunferencia escrotal, secreción de prolactina y secreción de testosterona se realizaron mediante una correlación lineal de Pearson.

Todos los valores vienen expresados como media \pm error estándar de la media. Los procedimientos estadísticos fueron desarrollados con el programa STATISTICA® 5.1 (Software para Windows).

4.- RESULTADOS

4.1.- Dinámica del crecimiento del cuerno, la secreción de prolactina y la actividad testicular en el macho montés y en el muflón en condiciones de fotoperiodo natural

4.1.1.- Crecimiento del cuerno.

El crecimiento del cuerno en el macho montés mostró un característico patrón estacional ($P < 0,001$) (Figura 11-a), con un mayor crecimiento en primavera y verano, que disminuyó en otoño, para ser mínimo en invierno (Tabla 1). El momento del incremento significativo del cuerno tuvo lugar en el mes de abril ($0,88 \pm 0,07\text{cm}$; $P < 0,05$), el cual se mantuvo por encima de los $0,5\text{cm/mes}$ hasta el mes de octubre, descendiendo significativamente en noviembre ($0,18 \pm 0,05$; $P < 0,05$). Desde noviembre hasta marzo los crecimientos se situaron por debajo de $0,25\text{cm/mes}$. La media del crecimiento total de la longitud del cuerno fue de $7,68 \pm 0,69\text{cm}$, y el crecimiento medio mensual fue de $0,48 \pm 0,06\text{cm/mes}$, mostrando un máximo en el mes de mayo, ($0,99 \pm 0,06\text{cm}$) y un mínimo en diciembre ($0,03 \pm 0,02\text{cm}$).

En el muflón, el crecimiento en longitud del cuerno (Figura 12-a) también mostró un patrón estacional ($P < 0,01$), con máximos crecimientos en primavera y verano, y mínimos en otoño e invierno (Tabla 2). El momento del incremento significativo del crecimiento se observó en el mes de abril ($1,40 \pm 0,24\text{cm}$; $P < 0,05$), manteniéndose elevado hasta el mes de agosto ($1,67 \pm 0,25\text{cm}$). En septiembre se apreciaba una disminución del crecimiento ($0,72 \pm 0,23\text{cm}$; $P < 0,05$), siendo el resto del año menor de $0,8\text{cm/mes}$. El crecimiento anual medio en longitud fue de $19,9 \pm 3,12\text{cm}$ y el crecimiento medio mensual al año fue de $1,07 \pm 0,26\text{cm/mes}$, encontrándose el máximo valor en agosto ($1,67 \pm 0,25\text{cm}$) y el mínimo en enero ($0,48 \pm 0,28\text{cm}$).

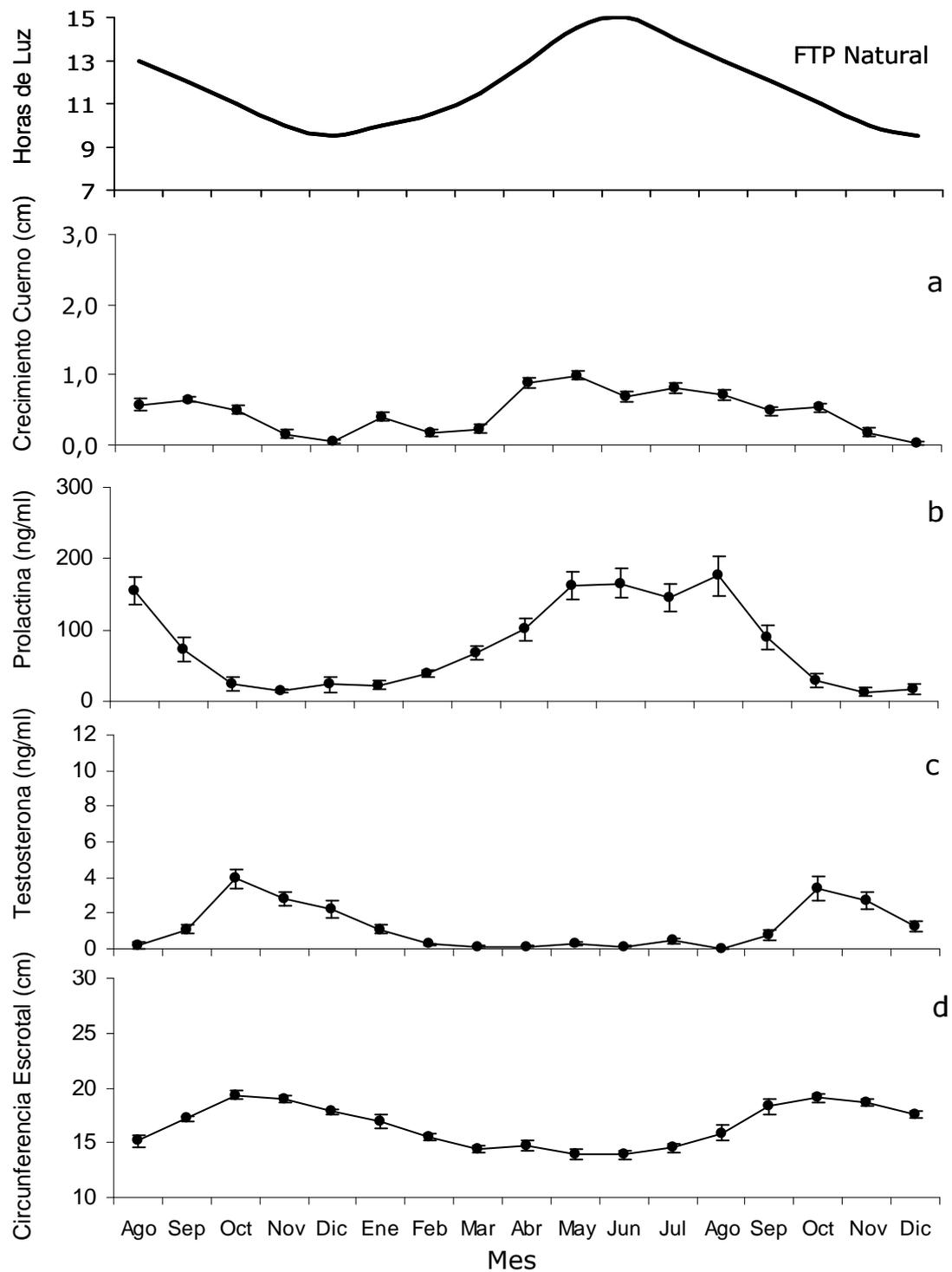


Figura 11. Variación estacional del crecimiento en longitud del cuerno (A), de la concentración de prolactina (B), de la concentración de testosterona (C), y de la circunferencia escrotal (D) en el macho montés en condiciones de fotoperiodo natural (Grupo CM-C). Grafica superior, variación de las horas de luz del fotoperiodo natural

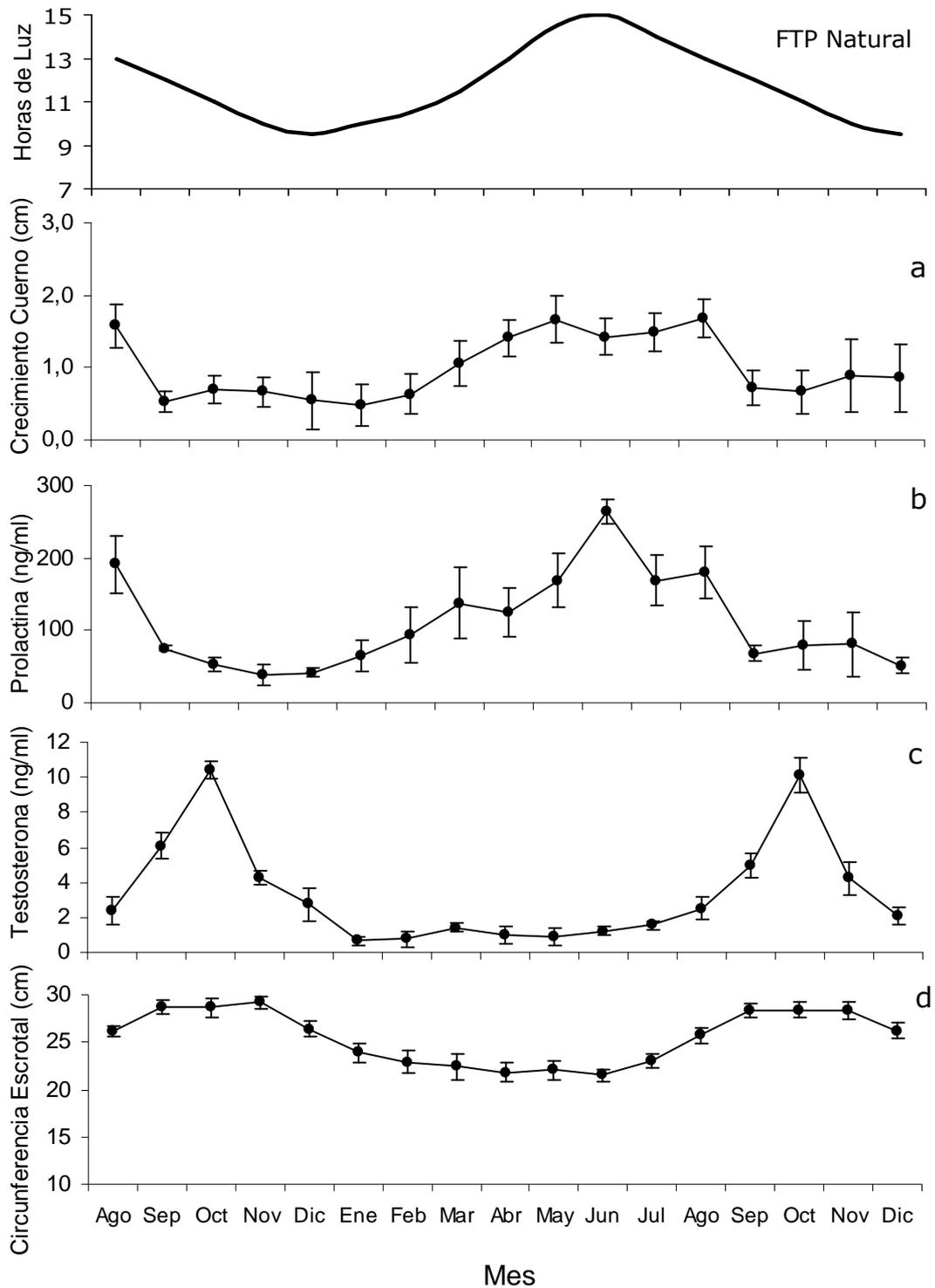


Figura 12. Variación estacional del crecimiento en longitud del cuerno (A), de la concentración de prolactina (B), de la concentración de testosterona (C), y de la circunferencia escrotal (D) en muflón en condiciones de fotoperiodo natural (Grupo M-C). Grafica superior, variación de las horas de luz del fotoperiodo natural

En ambas especies, el patrón de crecimiento cornual vino caracterizado por presentar los máximos crecimientos coincidiendo con el incremento del fotoperiodo durante la primavera y los días largos del verano. La disminución del crecimiento acontecía de forma paralela a la disminución del fotoperiodo durante el otoño, y el fotoperiodo de días cortos del invierno. Si bien el ANOVA no mostró diferencias significativas entre especies, en el patrón de crecimiento estacional sí se apreciaron diferencias en el mes de disminución del crecimiento del cuerno.

	LC (cm)	PRL (ng/ml)	T (ng/ml)	CE (cm)
INVIERNO	0,24 ± 0,05 ^a	43,13 ± 5,99 ^a	0,39 ± 0,07 ^a	15,60 ± 0,37 ^a
PRIMAVERA	0,81 ± 0,05 ^b	142,86 ± 16,71 ^b	0,17 ± 0,03 ^a	14,18 ± 0,44 ^b
VERANO	0,69 ± 0,02 ^b	133,86 ± 17,65 ^b	0,50 ± 0,17 ^a	15,75 ± 0,70 ^a
OTOÑO	0,26 ± 0,02 ^a	18,97 ± 7,03 ^a	2,94 ± 0,72 ^b	18,58 ± 0,39 ^c

Tabla 1: Crecimiento en longitud del cuerno (LC) concentración de prolactina (PRL) y de testosterona (T), y circunferencia escrotal (CE) en el grupo control de machos monteses (CM-C). (Media mensual por estaciones). Letras distintas indican diferencias significantivas ($P < 0,01$).

	LC (cm)	PRL (ng/ml)	T (ng/ml)	CE (cm)
INVIERNO	0,72 ± 0,26 ^a	98,53 ± 28,68 ^a	0,94 ± 0,27 ^a	23,06 ± 1,15 ^a
PRIMAVERA	1,49 ± 0,25 ^b	186,22 ± 27,05 ^b	1,03 ± 0,18 ^a	21,78 ± 0,86 ^b
VERANO	1,29 ± 0,22 ^b	138,72 ± 21,56 ^b	3,01 ± 0,46 ^b	25,70 ± 0,68 ^a
OTOÑO	0,80 ± 0,41 ^a	70,44 ± 28,66 ^a	5,48 ± 0,72 ^c	27,68 ± 0,66 ^c

Tabla 2: Crecimiento en longitud del cuerno (LC) concentración de prolactina (PRL), de testosterona y circunferencia escrotal (CE) en el grupo control de muflones (M-C). (Media mensual por estaciones). Letras distintas indican diferencias significantivas ($P < 0,05$).

4.1.2.- Secreción de Prolactina

En el macho montés, el perfil de secreción de prolactina mostraba una influencia estacional ($P < 0,001$; Figura 11-b), caracterizada por seguir una evolución paralela a las variaciones anuales del fotoperiodo, con máximos niveles en primavera y en verano ($P < 0,001$) (Tabla 1). El incremento de las concentraciones plasmáticas de prolactina se iniciaba en el mes de marzo ($67,72 \pm 10,11$ ng/ml; $P < 0,05$), aumentando progresivamente hasta alcanzar los máximos valores en junio ($165,63 \pm$

19,9 ng/ml), para volver a disminuir a niveles basales en septiembre ($90,13 \pm 16,8$ ng/ml; $P < 0,05$).

El perfil de secreción de prolactina en el muflón también presentaba un claro patrón estacional ($P < 0,001$; Figura 12-b), coincidente con las variaciones anuales del fotoperiodo. De este modo, los máximos niveles de secreción coincidieron con el fotoperiodo de días largos de primavera ($186,22 \pm 27,05$ ng/ml) y verano ($138,72 \pm 21,56$ ng/ml), siendo mínimos durante el otoño ($70,44 \pm 28,66$ ng/ml) e invierno ($98,53 \pm 28,65$ ng/ml) (Tabla 2). Las máximas concentraciones de prolactina se detectaron en el mes de junio ($264,16 \pm 16,73$ ng/ml), coincidiendo con la máxima duración del periodo de luz diario. El inicio del incremento en las concentraciones se produjo en marzo ($137,73 \pm 48,93$ ng/ml) y la caída se observó en el mes de septiembre ($67,39 \pm 10,73$ ng/ml; $P < 0,05$).

Las diferencias en el perfil de secreción de prolactina ($P < 0,01$) entre especies fueron debidas a las mayores concentraciones encontradas en el muflón, respecto al macho montes.

4.1.3.- Actividad testicular

El perfil anual de secreción de testosterona en el macho montés (Figura 11-c), mostraba un patrón estacional ($P < 0,01$) (Tabla 1) con niveles basales (< 1 ng/ml) desde el mes de febrero hasta septiembre, seguido de un incremento en sus concentraciones plasmáticas en el mes de octubre, en donde alcanza el máximo ($P < 0,01$) nivel de secreción ($3,38 \pm 0,67$ ng/ml). Tras una ligera disminución de las concentraciones plasmáticas durante noviembre ($2,71 \pm 0,47$ ng/ml) y diciembre ($1,25 \pm 0,24$ ng/ml), los niveles cayeron significativamente a valores basales en enero ($1,01 \pm 0,21$ ng/ml). En general, los niveles de secreción de testosterona mostraron importantes diferencias entre individuos, que queda reflejado en las diferencias en los periodos de máxima secreción durante el mes de octubre, que variaban desde los 5,5 ng/ml, en el macho con máximas concentraciones, a los

2,5ng/ml en el macho montés con menores concentraciones durante ese mes (Figura 13).

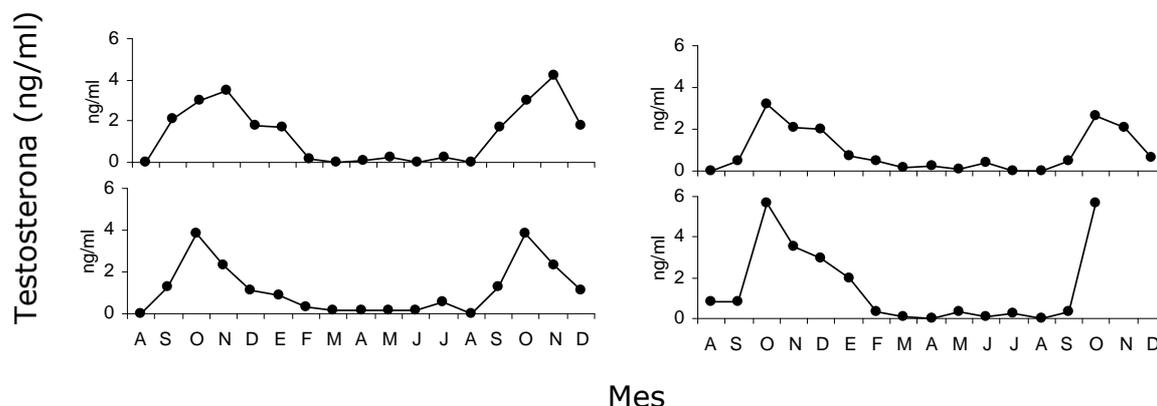


Figura 13. Perfil individual de secreción de testosterona a lo largo del estudio en machos monteses del grupo control en condiciones de fotoperiodo natural (CM-C)

En relación a las variaciones estacionales de la circunferencia escrotal, en el macho montés (Figura 11-d y Tabla 1) se apreció una mínima circunferencia escrotal desde el mes de marzo hasta el mes de agosto (14-15cm). En el mes de septiembre se producía un aumento ($P < 0,05$) del tamaño testicular, reflejado en unos valores de circunferencia escrotal de $17,19 \pm 0,25$ cm, alcanzando su máximo valor en octubre ($19,10 \pm 0,41$ cm), y volviendo a disminuir ($P < 0,05$) en el mes de marzo ($14,37 \pm 0,28$ cm). Estos resultados suponen un rango de incremento-involución (amplitud) de su circunferencia escrotal de $4,95 \pm 0,34$ cm. La evolución anual de la circunferencia escrotal estuvo correlacionada con la de las concentraciones plasmáticas de testosterona ($r = 0,45$ $P < 0,001$; Figura 14).

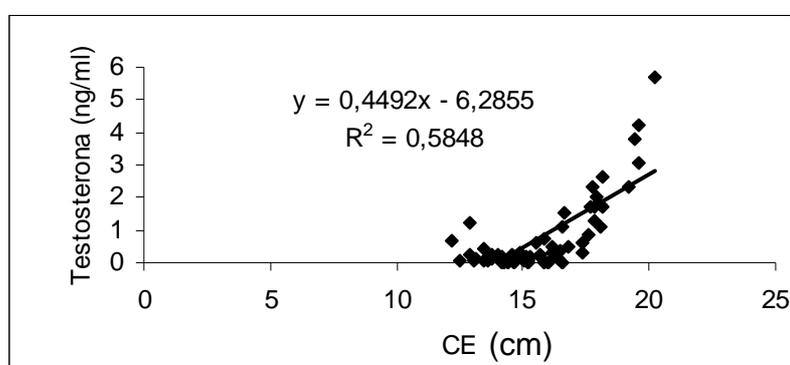


Figura 14. Correlación entre la concentración de testosterona y la circunferencia escrotal en machos monteses (CM-C) del grupo control en condiciones de fotoperiodo natural.

En el muflón, el perfil de secreción anual de testosterona mostró una influencia del factor estacional ($P < 0,001$) (ver Tabla 2), con un incremento de la secreción de testosterona que se iniciaba ($P < 0,05$) en el mes de septiembre ($4,98 \pm 0,70 \text{ ng/ml}$), y alcanzaba las máximas concentraciones en el mes de octubre ($10,12 \pm 0,97 \text{ ng/ml}$) (Figura 12-c). Las concentraciones plasmáticas de testosterona se mantuvieron elevadas hasta el mes de diciembre inclusive, para retornar a niveles basales en el mes de enero ($0,64 \pm 0,20 \text{ ng/ml}$, $P < 0,05$), manteniéndose por debajo de los 3 ng/ml durante en resto del año. Al igual que lo descrito en el macho montés, se apreciaban importantes diferencias individuales en los máximos niveles de secreción, con $11,9$ y $6,95 \text{ ng/ml}$ en el mes de octubre para el muflón con mayores y menores niveles de secreción, respectivamente (Figura 15).

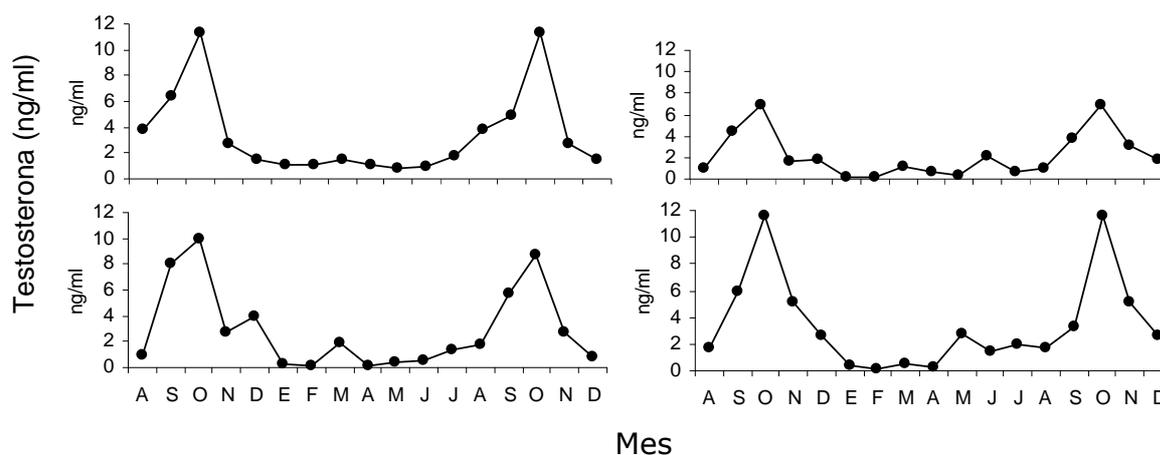


Figura 15. Perfil individual de secreción de testosterona a lo largo del estudio en muflones del grupo control en condiciones de fotoperiodo natural (M-C)

La circunferencia escrotal en el muflón (Figura 12-d; Tabla 2), mostraba un incremento desde los $23,01 \pm 0,65 \text{ cm}$ del mes de julio hasta los $25,74 \pm 0,84 \text{ cm}$ en el mes de agosto ($P < 0,05$), alcanzando su máximos valores entre los meses de septiembre y diciembre, con valores superiores a los 26 cm . Este periodo de máximo tamaño testicular era seguido de una disminución ($P < 0,05$) de la circunferencia escrotal en el mes de enero

($23,90 \pm 0,98\text{cm}$). El rango de variación desde el máximo valor registrado en octubre ($28,44 \pm 0,87\text{cm}$) hasta el mínimo ocurrido en junio ($21,52 \pm 0,62\text{cm}$) fue de $6,92 \pm 0,74\text{cm}$. La variación estacional de la circunferencia escrotal estuvo correlacionada con los cambios anuales de las concentraciones plasmáticas de testosterona ($r=0,70$ $P<0,001$; Figura 16).

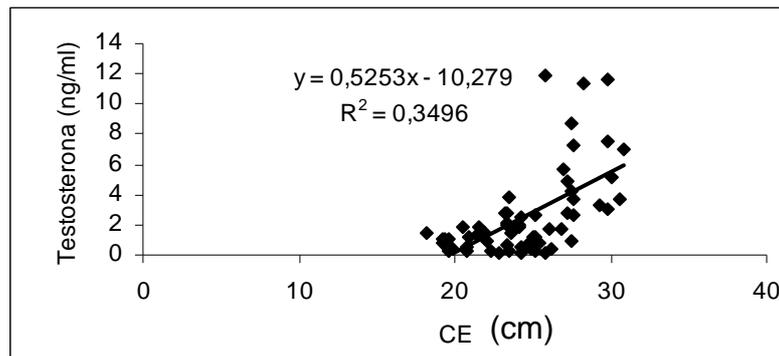


Figura 16. Correlación entre la concentración de testosterona y la circunferencia escrotal en muflones (M-C) del grupo control en condiciones de fotoperiodo natural.

El análisis comparativo de la evolución anual de las concentraciones plasmáticas de testosterona y del tamaño testicular revelaba que, en ambas especies, se establece una marcada estacionalidad de la actividad testicular ($P<0,001$), con valores mínimos en el invierno, la primavera y el verano, seguido de una máxima actividad en los meses de otoño ($P<0,05$), correspondientes a la época reproductiva. Las diferencias interespecíficas en el tamaño testicular y en las concentraciones plasmáticas de testosterona radicaban en unos mayores valores encontrados en el muflón respecto al macho montes, así como en diferencias en los momentos de inicio y caída de la máxima actividad testicular ($P<0,01$).

4.1.4.- Correlación crecimiento del cuerno, secreción de prolactina y actividad testicular.

El patrón de crecimiento del cuerno mostraba una correlación inversa con las concentraciones plasmáticas de testosterona tanto en el macho montés ($r = -0,39$ $P < 0,01$; Figura 17) como en el muflón ($r = -0,61$ $P < 0,001$; Figura 17). La fase de descenso en el crecimiento de cuerno coincidía con el incremento en la secreción de testosterona en ambas especies (Figura 11-a;c y 12-a;c). En el caso del muflón, el punto de disminución del crecimiento ocurría en septiembre, coincidiendo con el incremento de la secreción de testosterona, también septiembre. En el macho montés, la disminución del crecimiento del cuerno se retrasa un mes (noviembre) con respecto al inicio del incremento de secreción de testosterona (octubre).

Similar a lo descrito para los niveles de testosterona, la circunferencia escrotal mostraba una correlación inversa con el crecimiento en longitud del cuerno, tanto en el macho montés ($r = -0,6$ $P < 0,001$) como en el muflón ($r = -0,42$ $P < 0,001$; Figura 17).

Con relación a la evolución de secreción de prolactina, ésta mantenía una correlación positiva con el patrón de crecimiento cornual tanto en el macho montés ($r = 0,56$; $P < 0,001$) como en el muflón ($r = 0,28$ $P < 0,05$; Figura 17).

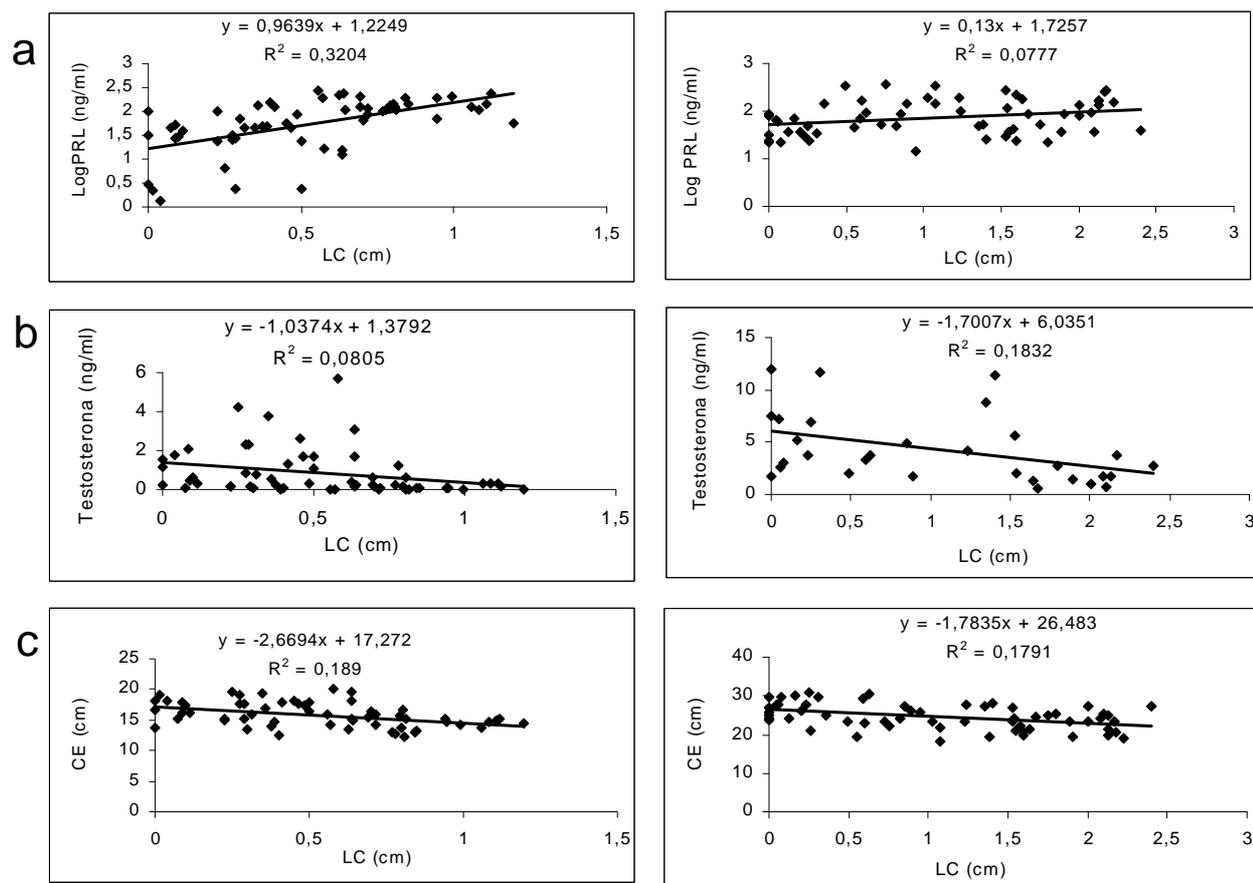


Figura 17. Correlaciones entre el crecimiento en longitud del cuerno con la concentración de (a) prolactina, (b) testosterona y (c) la circunferencia escrotal en machos monteses del grupo control (CM-C), izquierda, y en muflones del grupo control (M-C), derecha, en condiciones de fotoperiodo natural.

4.2.- Crecimiento del cuerno, secreción de prolactina y actividad testicular en el macho montés y en el muflón sometidos a un fotoperiodo artificial constante de días largos (15 horas de luz: 9 horas de oscuridad)

4.2.1.- Crecimiento en longitud del cuerno

El crecimiento en machos monteses (Figura 18-a) mostró una disminución desde el mes de agosto del primer año, hasta noviembre de ese mismo año, seguido de un crecimiento moderado hasta abril del

siguiente año. En el mes de mayo del segundo año, se incremento el crecimiento significativamente ($0,62 \pm 0,14\text{cm}$; $P < 0,05$), manteniéndose elevado hasta el mes de octubre de ese mismo año ($0,13 \pm 0,08\text{cm}$; $P < 0,05$), momento donde vuelve a disminuir. El crecimiento medio mensual fue de $0,53 \pm 0,12\text{cm}$ y alcanzó un crecimiento máximo de $1,09 \pm 0,13\text{cm}$ en el mes de septiembre. El crecimiento total en longitud alcanzado durante el periodo experimental fue de $9,06 \pm 2,15\text{cm}$ de media.

En los muflones, la dinámica del crecimiento del cuerno (Figura 19-a) se mantuvo durante los seis primeros meses de experimentación (agosto del primer año-enero del siguiente) por encima de los $1,6\text{cm/mes}$, y se continuaba con una pequeña, pero significativa, disminución ($P < 0,05$) en febrero, caracterizada por un crecimiento de $1,30 \pm 0,13\text{cm}$. Finalmente, el crecimiento cornual disminuía, de forma significativa, en el mes de noviembre del segundo año ($P < 0,05$), alcanzando valores cercanos al cero en los últimos dos meses. El crecimiento medio mensual fue de $1,57 \pm 0,07\text{cm}$, con un máximo de crecimiento en el mes de enero ($2,46 \pm 0,17\text{cm}$). El crecimiento total en longitud alcanzado durante el tiempo de experimentación fue de $22,55 \pm 5,15\text{cm}$ de media.

El análisis estadístico (ANOVA) reflejaba claras diferencias interespecíficas en el crecimiento del cuerno, como repuesta al fotoperiodo constante de días largos ($P < 0,001$).

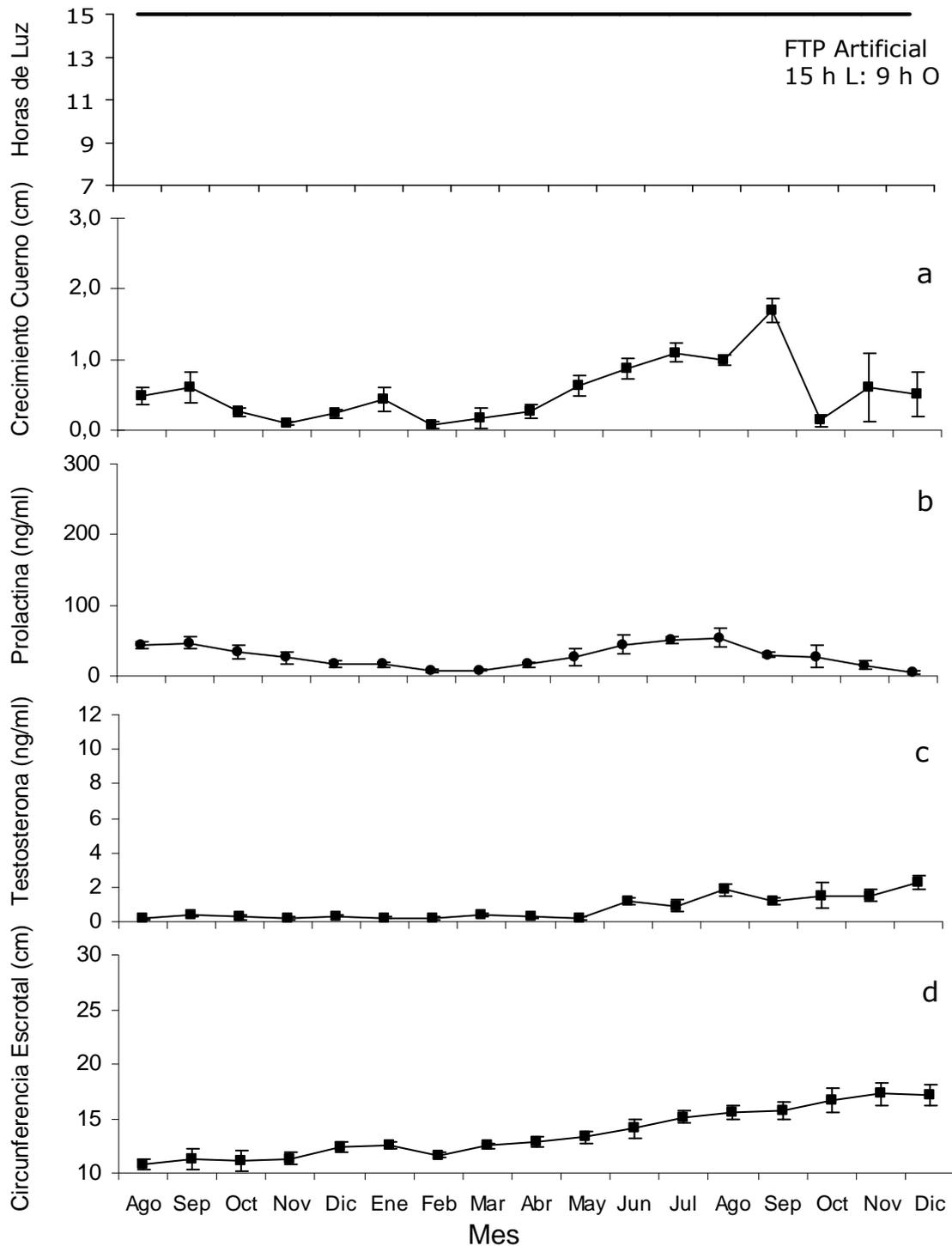


Figura 18. Variación del crecimiento en longitud del cuerno (A), de la concentración de prolactina (B), de la concentración de testosterona (C), y de la circunferencia escrotal (D) en machos monteses sometidos a un fotoperiodo artificial constante de días largos (CM-15L:9O). Grafica superior, Horas de luz del fotoperiodo artificial constante de días largos.

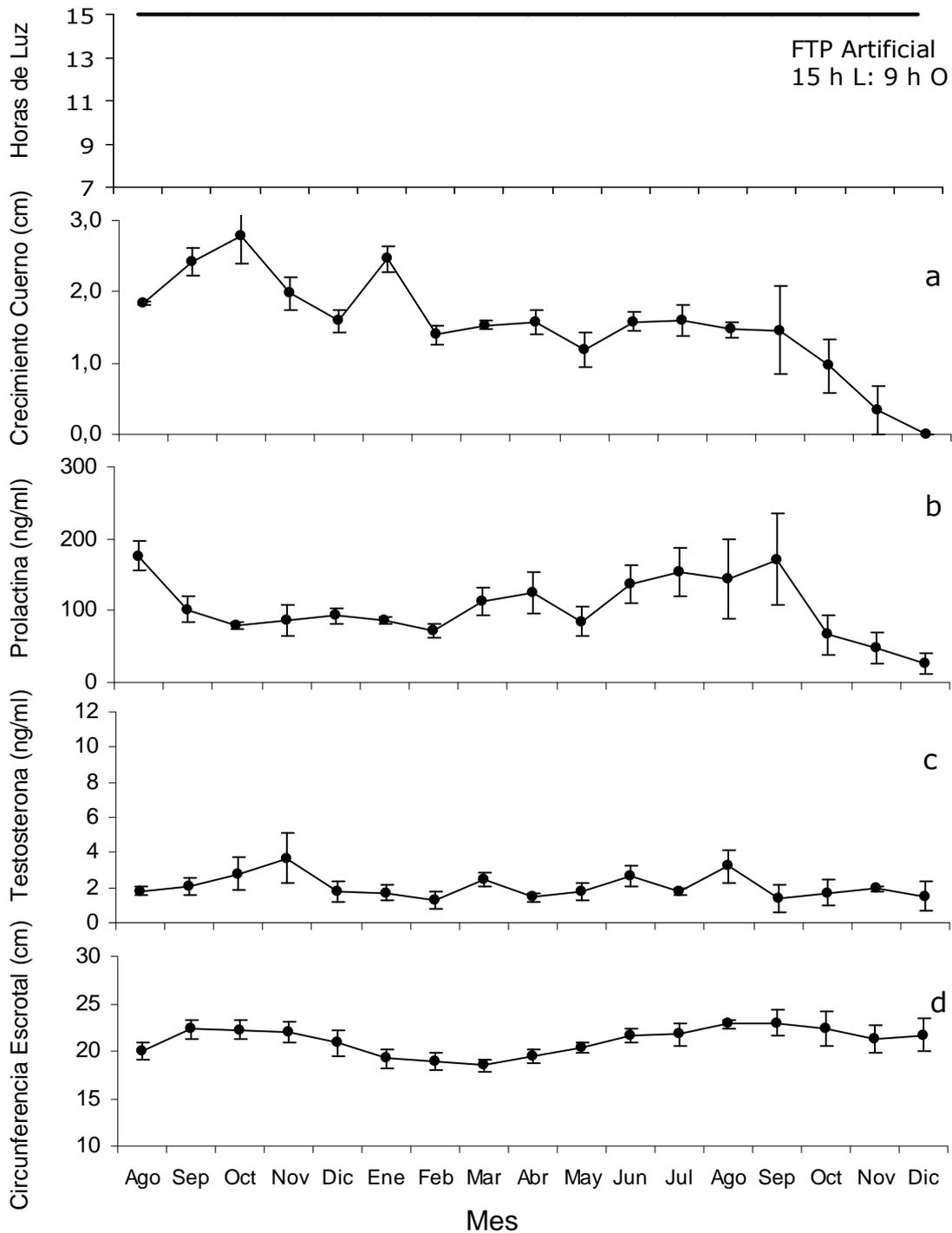


Figura 19. Variación del crecimiento en longitud del cuerno (A), de la concentración de prolactina (B), de la concentración de testosterona (C), y de la circunferencia escrotal (D) en muflones sometidos a un fotoperiodo artificial constante de días largos (M-15L:9O). Grafica superior, Horas de luz del fotoperiodo artificial constante de días largos.

4.2.2.- Secreción de Prolactina

La evolución de las concentraciones plasmáticas de prolactina en el macho montes reflejaba un perfil de variación estacional ($P < 0,001$; Figura 18-b) con mayores concentraciones en primavera y verano, concretamente entre los meses de mayo ($30,09 \pm 12,62 \text{ ng/ml}$; $P < 0,05$) a octubre ($27,51 \pm 15,82 \text{ ng/ml}$; $P < 0,05$), respecto al otoño e invierno ($P < 0,01$; Tabla 3).

En el muflón, la concentración disminuía en agosto de primer año, siguiendo con niveles mínimos, entre finales de otoño e invierno, y un incremento en los meses de primavera, ($P < 0,01$; Tabla 4), volviendo a caer en octubre del segundo año (Figura 19-b).

Aunque en ambas especies se mantuvo un claro patrón estacional, los valores de sus concentraciones plasmáticas y los puntos de inflexión del perfil de secreción marcaron notables diferencias entre especies ($P < 0,001$).

	LC (cm)	PRL (ng/ml)	T (ng/ml)	CE (cm)
INVIERNO	$0,22 \pm 0,10^a$	$10,94 \pm 2,11^a$	$0,25 \pm 0,06^a$	$12,18 \pm 0,20^a$
PRIMAVERA	$0,58 \pm 0,08^{ab}$	$28,70 \pm 9,83^b$	$0,55 \pm 0,10^a$	$13,38 \pm 0,56^a$
VERANO	$1,26 \pm 0,08^b$	$45,37 \pm 6,12^b$	$0,88 \pm 0,17^a$	$13,90 \pm 0,68^a$
OTOÑO	$0,41 \pm 0,28^a$	$15,88 \pm 7,66^a$	$0,99 \pm 0,45^a$	$14,00 \pm 0,99^a$

Tabla 3: Crecimiento en longitud del cuerno (LC), concentración de prolactina (PRL), y de testosterona (T) y la circunferencia escrotal (CE) en el grupo de machos monteses en condiciones de fotoperiodo artificial (CM-15L:90). (Media mensual por estaciones). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

	LC (cm)	PRL (ng/ml)	T (ng/ml)	CE (cm)
INVIERNO	$1,79 \pm 0,08^a$	$90,48 \pm 10,47^a$	$1,82 \pm 0,40^a$	$18,85 \pm 0,81^a$
PRIMAVERA	$1,44 \pm 0,07^a$	$115,12 \pm 15,87^b$	$1,95 \pm 0,16^a$	$20,49 \pm 0,51^{ab}$
VERANO	$1,51 \pm 0,26^a$	$161,37 \pm 55,02^b$	$2,12 \pm 0,57^a$	$22,86 \pm 0,41^b$
OTOÑO	$0,45 \pm 0,19^a$	$45,49 \pm 18,17^c$	$1,41 \pm 0,56^a$	$21,43 \pm 1,55^b$

Tabla 4: Crecimiento en longitud del cuerno (LC) concentración de prolactina (PRL) y de testosterona (T) y la circunferencia escrotal (CE) en el grupo de muflones en condiciones de fotoperiodo artificial (CM-15L:90). (Media mensual por estaciones). Letras distintas indican diferencias significantivas ($P < 0,05$).

4.2.3.- Actividad testicular

Como se observa en la Figura 18-c, el patrón de secreción de testosterona en el macho montés refleja un mantenimiento de los niveles basales desde el inicio de la experimentación hasta el mes de junio del segundo año, donde se produjo una subida de las concentraciones plasmáticas de testosterona ($1,19 \pm 0,23\text{ng/ml}$; $P < 0,05$), con valores superiores a 1ng/ml hasta diciembre, mes que registró las máximas concentraciones, con importantes variaciones entre individuos (Figura 20).

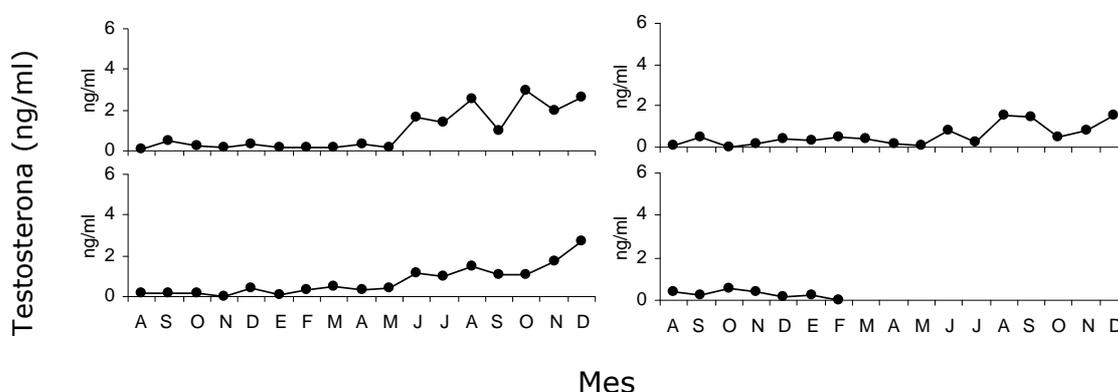


Figura 20. Perfil individual de secreción de testosterona a lo largo del estudio en machos monteses del grupo condiciones de fotoperiodo artificial constantes (cM-15L:90)

El tamaño testicular en el macho montés mostraba, al inicio de la experiencia, unos valores de su circunferencia escrotal de $10 \pm 0,8\text{cm}$, que se fueron incrementando, progresivamente, hasta alcanzar los $17,08 \pm 0,91\text{cm}$ en diciembre del segundo año (Figura 17-d). El rango de variación entre el máximo valor y el mínimo fue de $5,46 \pm 1,30\text{cm}$. Se mantuvo una correlación positiva entre ambos parámetros de actividad testicular, testosterona y circunferencia escrotal ($r=0,66$; $P < 0,01$; Figura 21).

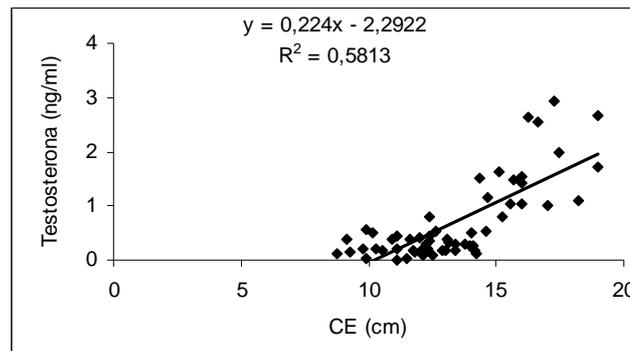


Figura 21. Correlación entre la concentración de testosterona y la circunferencia escrotal en machos monteses, del grupo CM-15L:90, en condiciones de fotoperiodo constante de días largos

En el muflón, aunque la aplicación de un fotoperiodo artificial de días largos determinó la pérdida del carácter estacional en la secreción de testosterona (Figura 19-c), se puede observar una tendencia de aumento de la secreción en el otoño del primer año, debido a unos pequeños incrementos ocurridos en dos de los muflones (Figura 22), y otra tendencia en el verano del segundo año, por los otros dos muflones. El rango de variación entre el máximo tamaño testicular (agosto del segundo año: $22,87 \pm 0,43\text{cm}$) y el mínimo (marzo del primer año: $18,46 \pm 0,59\text{cm}$) fue de $4,98 \pm 0,27\text{cm}$.

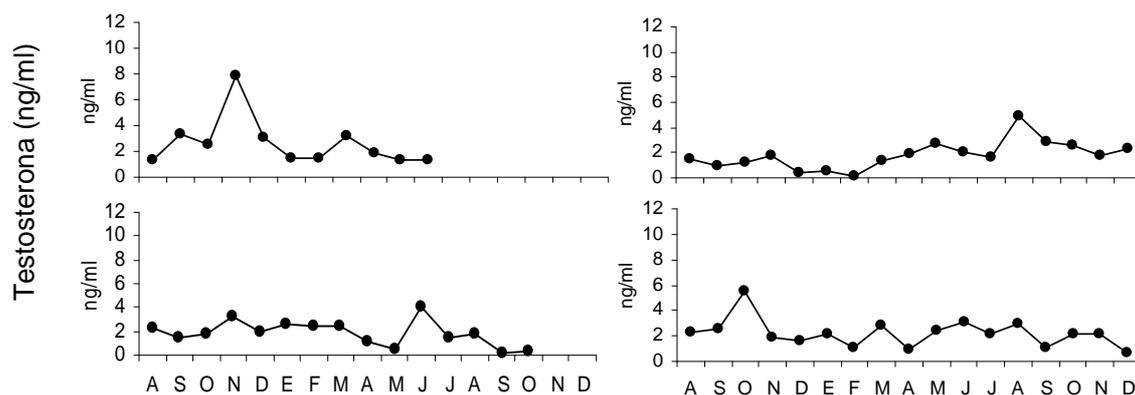


Figura 22. Perfil individual de secreción de testosterona a lo largo del estudio en muflones del grupo condiciones de fotoperiodo artificial constantes (M-15L:90)

La evolución de la circunferencia escrotal y la concentración de testosterona mostró diferencias significativas entre ambas especies ($P < 0,001$).

4.2.4.- Correlación entre el crecimiento del cuerno, la actividad testicular y la secreción de prolactina.

A diferencia de lo establecido en el grupo control, los machos monteses del grupo CM-15L:90, expresaron una correlación positiva entre la actividad testicular y el crecimiento del cuerno. De este modo, el periodo de mayor crecimiento del cuerno coincidía con el incremento en la secreción de testosterona ($r=0,28$; $P<0,05$) y con el mayor tamaño testicular ($r=0,16$; $P<0,01$; Figura 23).

En muflones, al igual que lo descrito en los machos monteses, se encontraba una correlación positiva entre el crecimiento en longitud del cuerno y la secreción de testosterona ($r=0,44$; $P<0,01$; Figura 23).

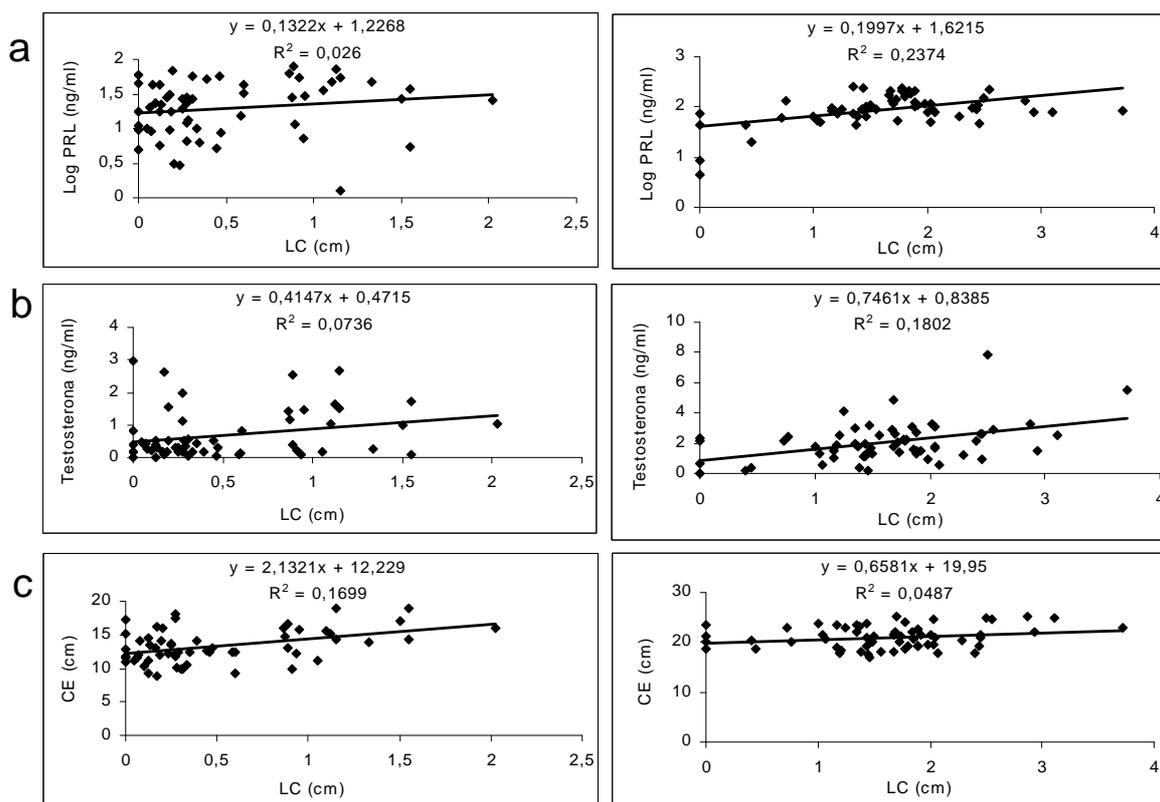


Figura 23. Correlaciones entre el crecimiento en longitud del cuerno con la concentración de (a) prolactina, (b) testosterona y con (c) la circunferencia escrotal en machos monteses del grupo CM-15L:90 (izquierda) y en muflones del grupo M-15L:90 (derecha) bajo un fotoperiodo constante de días largos.

También en los muflones se mantuvo una correlación positiva entre el crecimiento del cuerno y la secreción de prolactina ($r=0,48$; $P<0,001$; Figura 23), mientras que en el macho montés no se apreció ninguna correlación significativa.

4.2.5-Análisis comparativo del crecimiento del cuerno, secreción de prolactina y actividad testicular entre condiciones de fotoperiodo natural y condiciones de un fotoperiodo artificial de días largos (15 horas de luz: 9 horas de oscuridad).

Crecimiento del cuerno

El análisis estadístico (ANOVA) reveló una diferente respuesta entre especies, al comparar la influencia del tratamiento fotoperiódico sobre el perfil del crecimiento del cuerno ($P<0,001$).

En el macho montés, no se encontraron diferencias significativas en las variaciones estacionales del crecimiento del cuerno entre ambos grupos. No obstante, el análisis de los momentos de inicio y finalización del crecimiento cornual revelaron algunas diferencias. El periodo de mayor crecimiento del cuerno, definido como tiempo comprendido entre el momento de incremento y disminución, correspondía al mes de abril y noviembre en el grupo control, mientras que en el grupo mantenido en fotoperiodo artificial, ocurría entre mayo y octubre. El periodo de máximo crecimiento fue de 7 meses en el grupo control, frente a 5 en el grupo en fotoperiodo artificial (Figura 24-a).

En muflones, el grupo con fotoperiodo artificial presenta una mayor tasa de crecimiento cornual desde septiembre del primer año hasta enero del segundo año ($P<0,001$; Figura 25-a). Entre los meses de febrero a octubre del segundo año, el crecimiento del cuerno era similar entre los dos grupos, apareciendo después crecimientos superiores en el grupo control en los dos últimos meses de la experiencia (noviembre y diciembre).

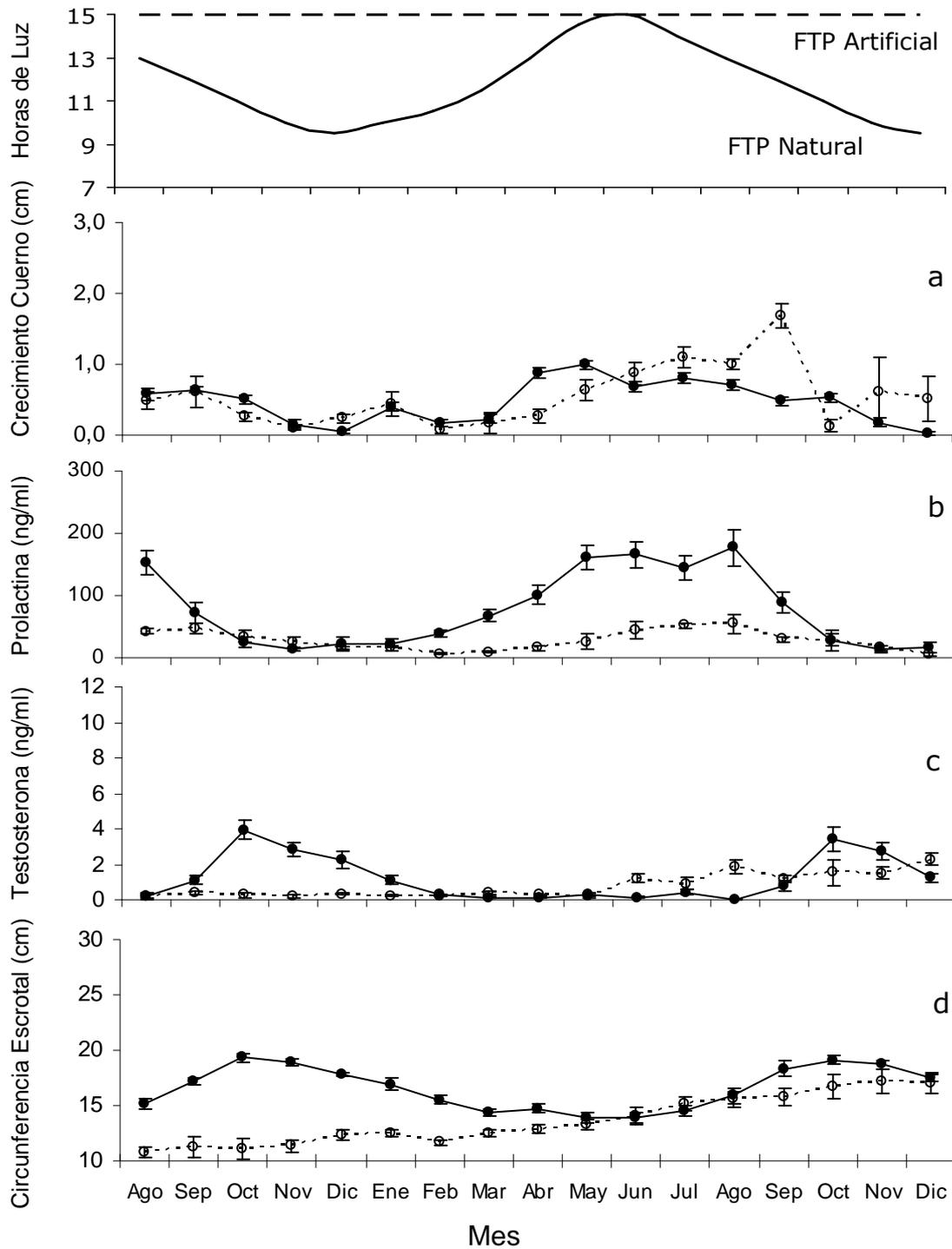


Figura 24. Evolución del perfil del crecimiento en longitud del cuerno (a), de la concentración de prolactina (b), de la concentración de testosterona (c), y de la circunferencia escrotal (d) en machos monteses del grupo control CM-C (—) en condiciones de fotoperiodo natural y del grupo CM-15L:90, sometidos a un fotoperiodo constante de días largos (---). Grafica superior, Horas de luz del fotoperiodo natural (—) y del fotoperiodo artificial constante de días largos (---).

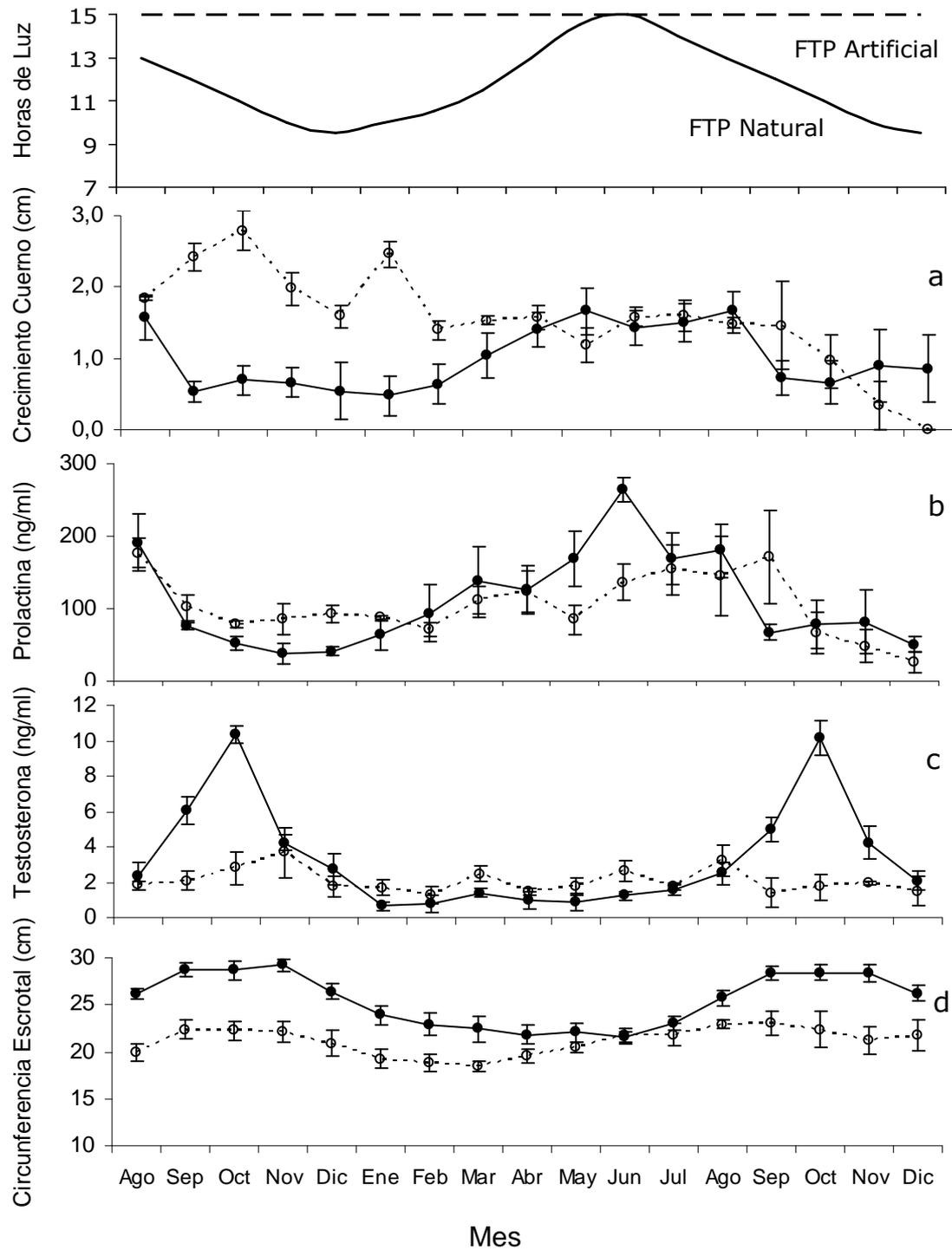


Figura 25. Evolución del perfil de crecimiento en longitud del cuerno (a), de la concentración de prolactina (b), de la concentración de testosterona (c), y de la circunferencia escrotal (d) en muflones del grupo control M-C (—) en condiciones de fotoperiodo natural y del grupo M-15L:90, sometidos a un fotoperiodo constante de días largos (---). Grafica superior, Horas de luz del fotoperiodo natural (—) y del fotoperiodo artificial constante de días largos (---).

Secreción de Prolactina

El perfil de secreción en el grupo de machos monteses bajo un fotoperiodo de días largos, se caracterizaba por unos niveles muy inferiores a los del grupo control ($P < 0,001$; Figura 24-b) durante toda la experiencia. Aunque se mantenía un ritmo de variación estacional, se observaba un retraso en los momentos de incremento y descenso de sus concentraciones plasmáticas.

Por el contrario, en los muflones no se detectaron diferencias entre grupos (Gráfica 25-b), aunque en el grupo en condiciones de fotoperiodo artificial no se pudieron precisar estadísticamente los puntos de incremento y descenso de la concentración de prolactina, debido a la mayor variabilidad entre individuos en este grupo.

Actividad testicular

El patrón de secreción de la testosterona quedaba fuertemente alterado en el grupo de machos monteses en condiciones de fotoperiodo artificial (Figura 24-c), mostrando, en el primer otoño, niveles basales y un incremento en el verano del segundo año. Este patrón de secreción contrastaba, de forma significativa ($P < 0,01$), con el grupo control, el cual presenta dos periodos de máxima concentración de testosterona en ambos otoños. Diferencias que podemos observar también en las curvas de secreción individuales (Figura, 26)

En los muflones el perfil de secreción también variaba con respecto al grupo control ($P < 0,001$; Figura 25-c y 27) al producirse una inhibición de los aumentos otoñales de secreción.

El fotoperiodo constante de días largos alteró el perfil de variación anual de la circunferencia escrotal en ambas especies, mostrando diferencias con respecto a los controles ($P < 0,001$). En machos monteses se mantuvo un incremento progresivo durante toda la experiencia, (Figura 24-d), y en muflones, el ritmo se mostraba desfasado respecto al grupo control. Además, los tamaños testiculares y el rango de variación máximo-mínimo fueron menores ($P < 0,05$; Figura 25-d).

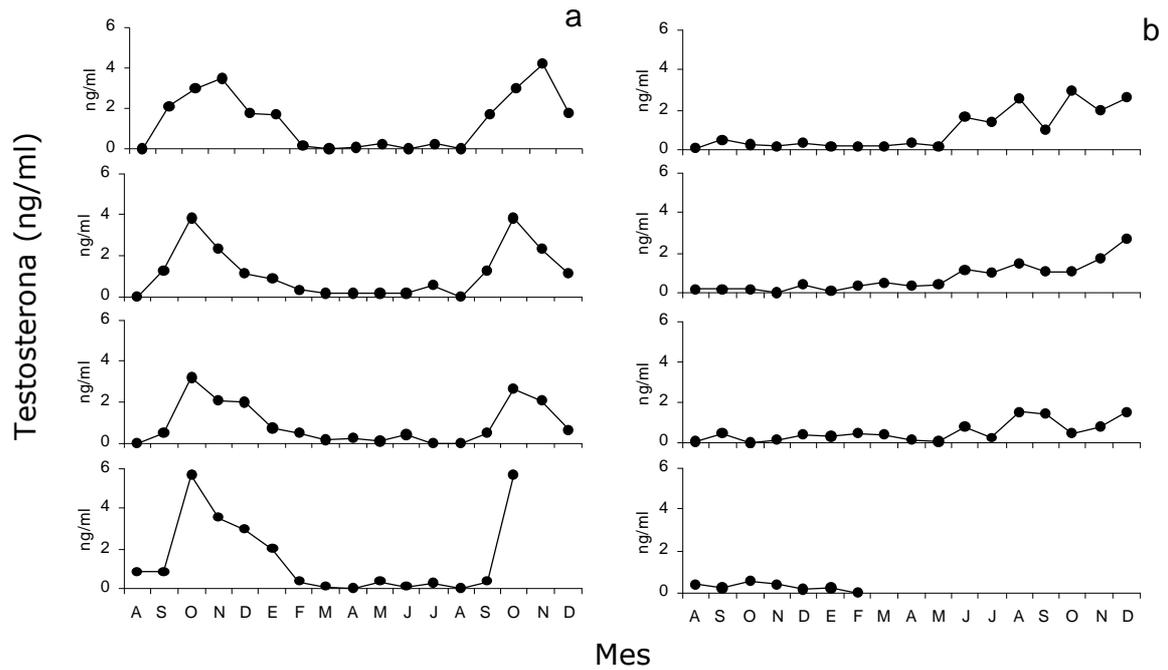


Figura 26. Perfil individual de secreción de testosterona a lo largo del estudio en machos monteses del grupo control en condiciones de fotoperiodo natural (CM-C) (a) y machos del grupo bajo un fotoperiodo artificial constante de días largos (CM-15L:90) (b)

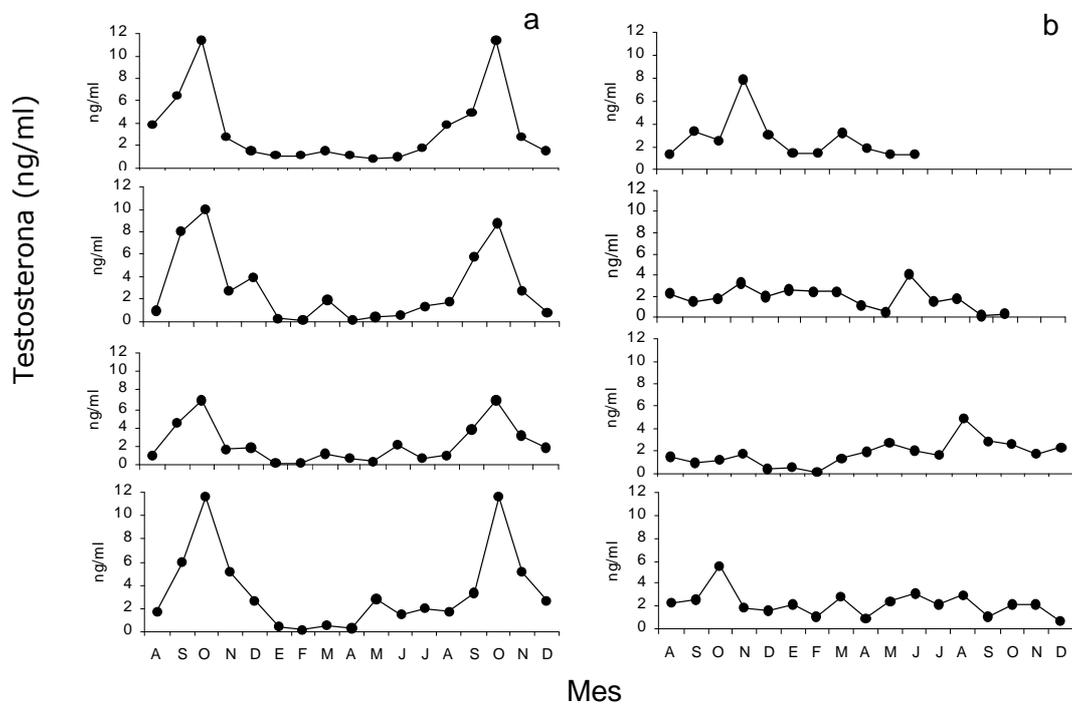


Figura 27. Perfil individual de secreción de testosterona a lo largo del estudio en muflones del grupo control en condiciones de fotoperiodo natural (CM-C) (a) del grupo bajo un fotoperiodo constante de días largos (CM-15L:90) (b)

4.3- Efecto de la administración de bromocriptina durante la primavera sobre el crecimiento del cuerno, la secreción de prolactina y la actividad testicular en el macho montés y el muflón

4.3.1.- Validación del protocolo de administración de bromocriptina

En la figura 28 se muestran los niveles plasmáticos de prolactina en ambos grupos, tratados con dos dosis y frecuencias de administración distintas de bromocriptina. La dosis de 10 mg administrada dos veces por semana, grupo 1, permitió una inhibición constante de la secreción durante todo el periodo de tratamiento, mientras que en el grupo 2, con una única inyección, los niveles basales no se mantuvieron de forma homogénea, con alta variabilidad entre meses e individuos.

Según estos resultados, se aplicó para este diseño el protocolo de dos inyecciones semanales.

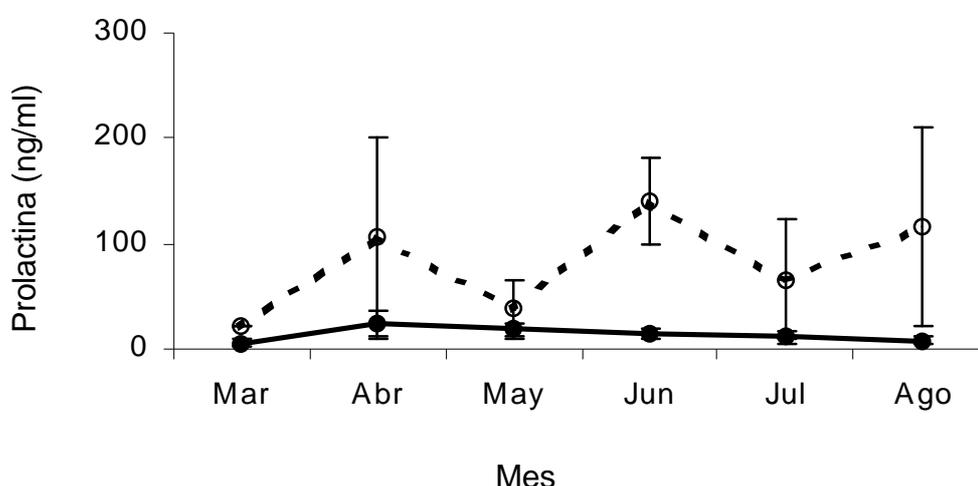


Figura 28: Estudio previo. Concentraciones de prolactina en plasma sanguíneo en dos grupos de muflones a los que se aplicaron dos tratamientos distintos de bromocriptina: Grupo 1 (---) 18 mg de BCR una vez a la semana y Grupo 2 (—) 10 mg de BCR dos veces a la semana

4.3.2.- Crecimiento en longitud del cuerno

La evolución del crecimiento en machos monteses reflejaba un crecimiento elevado desde el mes de abril hasta el mes de octubre, cuando comienza a descender ($0,43 \pm 0,15\text{cm}$; $P < 0,05$). El crecimiento medio mensual durante la primavera y el verano fue de $0,71 \pm 0,06\text{cm}$ y $0,83 \pm 0,09\text{cm}$, respectivamente, mostrando menores crecimientos ($P < 0,01$) en otoño ($0,30 \pm 0,05\text{cm}$) (Figura 29-a; Tabla 5).

En el grupo de muflones, se observaron altos crecimientos en primavera ($1,81 \pm 0,08\text{cm}$) y verano ($1,75 \pm 0,06\text{cm}$). Tras un descenso significativo en el mes de noviembre ($0,29 \pm 0,13\text{cm}$; $P < 0,01$), el otoño se caracterizó por bajas tasas ($P < 0,01$) del índice de crecimiento ($0,65 \pm 0,15\text{cm}$) (Figura 30-a; Tabla 6).

La mayor tasa de crecimiento del cuerno en el muflón reflejaba diferencias estadísticamente significativas con respecto al macho montés ($P < 0,001$).

	LC (cm)	PRL (ng/ml)	T (ng/ml)	CE (cm)
INVIERNO				
PRIMAVERA	$0,71 \pm 0,06^a$	$3,72 \pm 0,30^a$	$0,25 \pm 0,06^a$	$14,90 \pm 0,22^a$
VERANO	$0,83 \pm 0,09^a$	$18,49 \pm 2,78^b$	$0,52 \pm 0,26^a$	$15,89 \pm 0,46^b$
OTOÑO	$0,30 \pm 0,05^b$	$9,39 \pm 2,32^a$	$1,62 \pm 0,30^b$	$19,59 \pm 0,84^c$

Tabla 5: Crecimiento en longitud del cuerno (LC), concentración de prolactina (PRL) y de testosterona (T), y circunferencia escrotal (CE) en el grupo de machos monteses tratados con bromocriptina (CM-BCR). (Media mensual por estaciones). Letras distintas indican diferencias significantivas ($P < 0,05$)

	LC (cm)	PRL (ng/ml)	T (ng/ml)	CE (cm)
INVIERNO				
PRIMAVERA	$1,81 \pm 0,08^a$	$9,76 \pm 1,86^a$	$1,41 \pm 1,86^a$	$20,35 \pm 0,90^a$
VERANO	$1,75 \pm 0,06^a$	$50,28 \pm 11,22^b$	$2,49 \pm 0,59^a$	$23,90 \pm 1,48^b$
OTOÑO	$0,65 \pm 0,15^b$	$92,28 \pm 45,49^c$	$7,27 \pm 2,50^b$	$27,48 \pm 1,09^c$

Tabla 6: Crecimiento en longitud del cuerno (LC), concentración de prolactina (PRL) y de testosterona (T), y circunferencia escrotal (CE) en el grupo de muflones tratados con bromocriptina (CM-BCR). (Media mensual por estaciones). Letras distintas indican diferencias significantivas ($P < 0,05$).

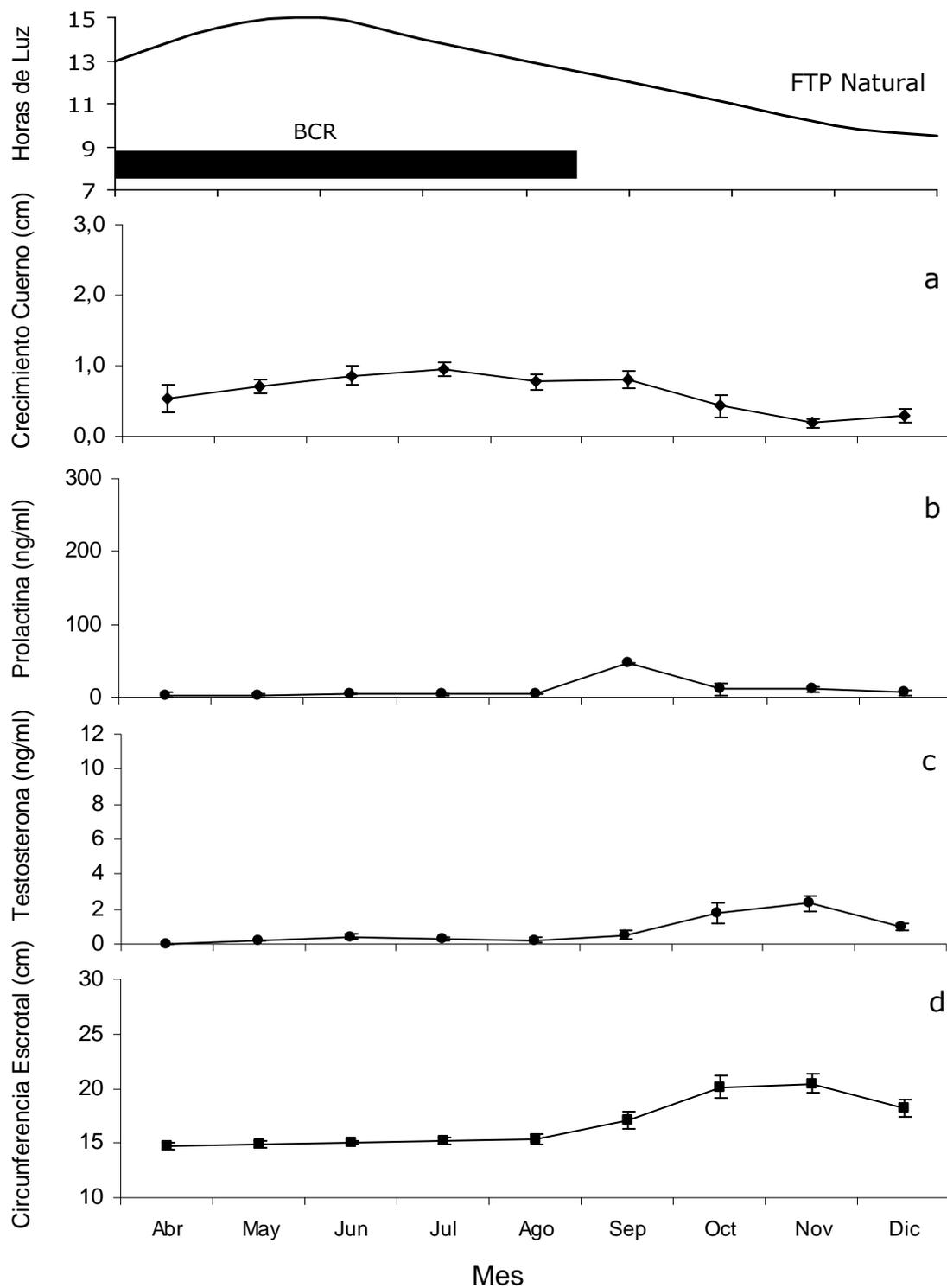


Figura 29. Evolución del crecimiento en longitud del cuerno (a), de la concentración de prolactina (b), de la concentración de testosterona (c), y de la circunferencia escrotal (d) en machos monteses tratados con bromocriptina (CM-BCR). Gráfica superior, curva: horas de luz del fotoperiodo natural; barra negra: periodo de administración de la bromocriptina.

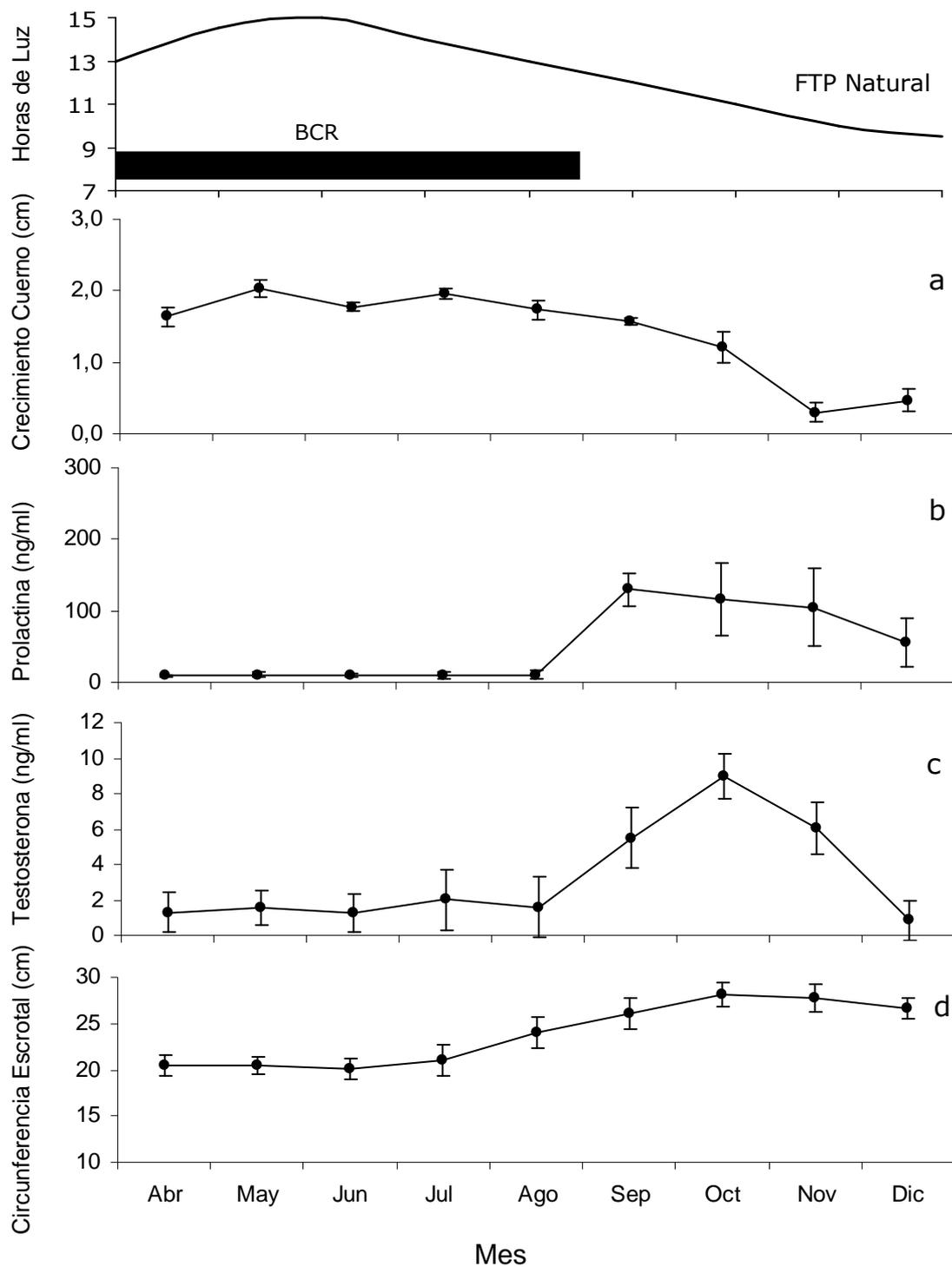


Figura 30. Evolución del crecimiento en longitud del cuerno (a), de la concentración de prolactina (b), de la concentración de testosterona (c), y de la circunferencia escrotal (d) en muflones tratados con bromocriptina (M-BCR). Gráfica superior, curva: horas de luz del fotoperiodo natural; barra negra: periodo de administración de la bromocriptina.

4.3.3.- Secreción de Prolactina

Tanto en el macho montés como en el muflón, las concentraciones presentaron valores inferiores a los 10ng/ml desde abril a agosto (Figura 29-b y 30-b). Tras el tratamiento, ambas especies incrementaron sus niveles de secreción en el mes de septiembre. Durante los meses de otoño, los machos monteses mostraban una concentración media mensual de $9,39 \pm 2,32$ ng/ml, y los muflones de $92,28 \pm 45,30$ ng/ml (Tabla 5 y 6).

Entre especies, únicamente se encontraron diferencias significativas ($P < 0,01$) en los meses posteriores al periodo de administración de bromocriptina (septiembre-diciembre).

4.3.4.- Actividad testicular

Durante los meses de primavera y verano, las concentraciones de testosterona en el grupo de machos monteses mostraban niveles basales (Figura 29-c; Tabla 5), incrementándose posteriormente en octubre ($1,70 \pm 0,59$ ng/ml; $P < 0,05$) y alcanzando las máximas concentraciones en noviembre ($2,32 \pm 0,44$ ng/ml). La circunferencia escrotal (Figura 29-d) presentaba valores mensuales de alrededor de 15cm hasta el mes de agosto, incrementándose en septiembre ($17,11 \pm 0,48$ cm; $P < 0,05$), y alcanzando el máximo valor en noviembre ($20,41 \pm 0,86$ cm). Se apreciaron diferencias ($P < 0,01$) entre las estaciones de otoño y primavera-verano (Tabla 5). La evolución de la circunferencia escrotal mostró una correlación positiva con los niveles de secreción de testosterona ($r = 0,66$ $P < 0,001$; Figura 31).

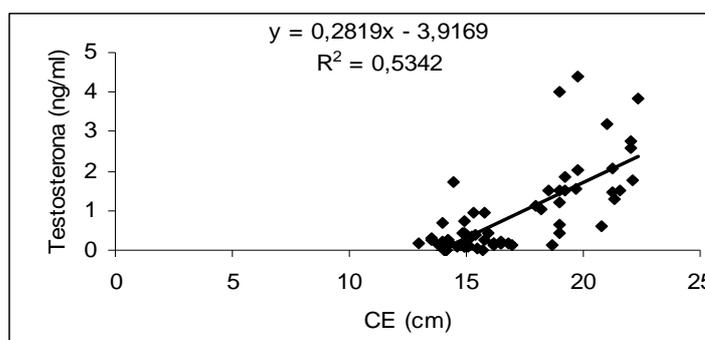


Figura 31. Correlación entre la concentración de testosterona y la circunferencia escrotal en machos monteses del grupo CM-BCR

En los muflones (Figura 30-c), se producía un periodo de máxima secreción de testosterona desde el mes de septiembre ($5,53 \pm 2,07\text{ng/ml}$; $P < 0,05$) al mes de diciembre, mostrando diferencias en otoño (Tabla 6; $P < 0,001$) con respecto a primavera ($1,41 \pm 0,54\text{ng/ml}$ mes) y verano ($2,49 \pm 0,59\text{ng/ml}$ mes). La circunferencia escrotal presentó unos tamaños alrededor de los 20cm en los meses de primavera (Tabla 6), incrementándose significativamente en agosto ($24,05 \pm 1,73\text{cm}$; $P < 0,05$) y llegando a alcanzar $28,12 \pm 1,26\text{cm}$ en el mes de octubre (Figura 30-d). Los cambios estacionales de la circunferencia escrotal evolucionaron de forma correlacionada a los cambios de las concentraciones plasmáticas de testosterona ($r = 0,63$ $P < 0,01$; Figura 32).

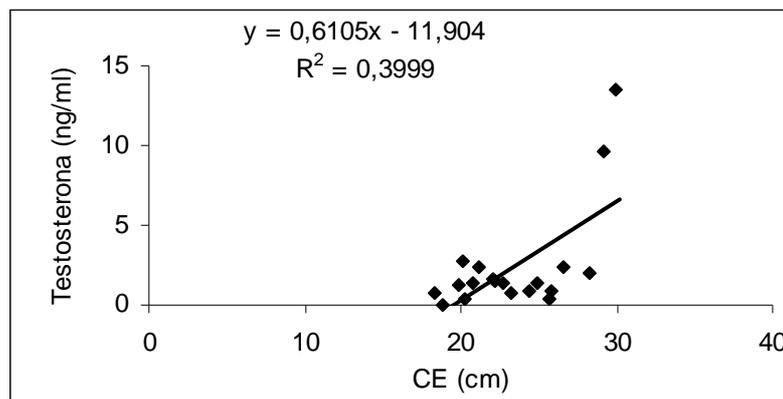


Figura 32. Correlación entre la concentración de testosterona y la circunferencia escrotal en muflones del grupo M-BCR

La actividad testicular presentó importantes diferencias entre ambas especies ($P < 0,01$) debido a la mayor secreción de testosterona y al mayor tamaño y crecimiento testicular en el muflón, tal como ocurría entre los grupos control.

4.3.5- Correlación entre el crecimiento del cuerno, la actividad testicular y la secreción de prolactina.

La relación entre los parámetros de crecimiento de cuerno y la actividad testicular, tanto en los machos monteses como en los muflones tratados con bromocriptina, se mantuvo como en el caso de los controles, aunque el periodo de experimentación sólo abarcase tres estaciones. En este sentido, se mostraba una correlación negativa entre el crecimiento del cuerno con las concentraciones plasmáticas de testosterona ($r = -0,27$ $P < 0,05$ para el macho montés, y $r = -0,44$ $P < 0,05$ para el muflón, Figura 33) y con la circunferencia escrotal ($r = -0,29$ $P < 0,05$ y $r = -0,69$ $P < 0,001$ para macho montés y muflón, respectivamente, Figura 33).

La escasa secreción de prolactina en los machos monteses y muflones tratados con bromocriptina determinó que no existiese ninguna correlación entre esta hormona con el crecimiento del cuerno.

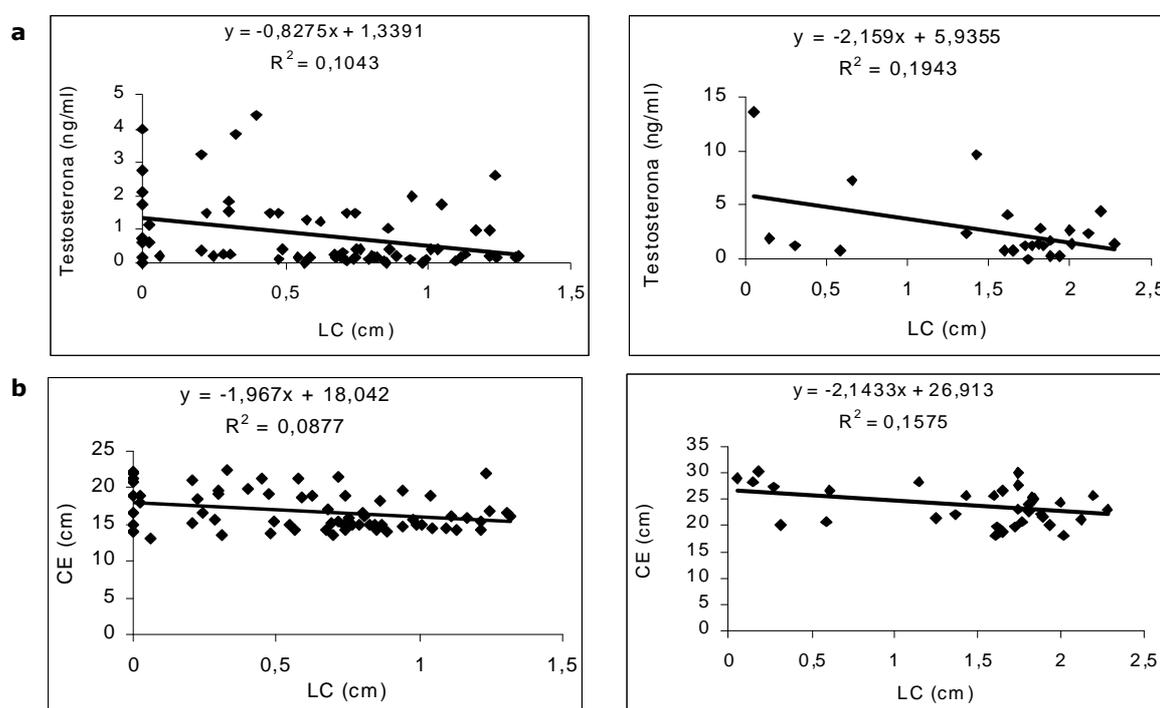


Figura 33. Correlaciones entre el crecimiento en longitud del cuerno con (a) la concentración de testosterona y (b) la circunferencia escrotal en machos monteses, grupo CM-BCR (izquierda) y en muflones, grupo M-BCR (derecha), tratados con bromocriptina

4.3.6- Análisis comparativo del crecimiento del cuerno, secreción de prolactina y actividad testicular entre condiciones de fotoperiodo natural y tratamientos con bromocriptina

Crecimiento del cuerno

En los machos monteses no se encontraron diferencias significativas entre grupos (Figura 34-a), aunque sí se observó un adelanto de un mes en la disminución del crecimiento del cuerno en el grupo tratado.

En el muflón tampoco se encontraron diferencias. No obstante, el momento de disminución del crecimiento ocurría dos meses más tarde (noviembre) en el grupo tratado con respecto al control (Figura 35-a).

Secreción de Prolactina

En ambas especies, durante el periodo coincidente con la administración de la bromocriptina, existían notables diferencias en los niveles de secreción entre grupos ($P < 0,001$). Durante el periodo inmediatamente posterior al tratamiento, se observaba una rápida recuperación de las concentraciones a sus niveles fisiológicos característicos de este periodo y, por tanto, similares a los del grupo control (Figura 34-b y 35-b).

Actividad testicular

En ambas especies, en los dos parámetros de actividad testicular, concentración de testosterona (Figura 34-c y 35-c) y circunferencia escrotal (Figura 34-d y 35-d) no se encontraron diferencias significativas entre tratados y controles.

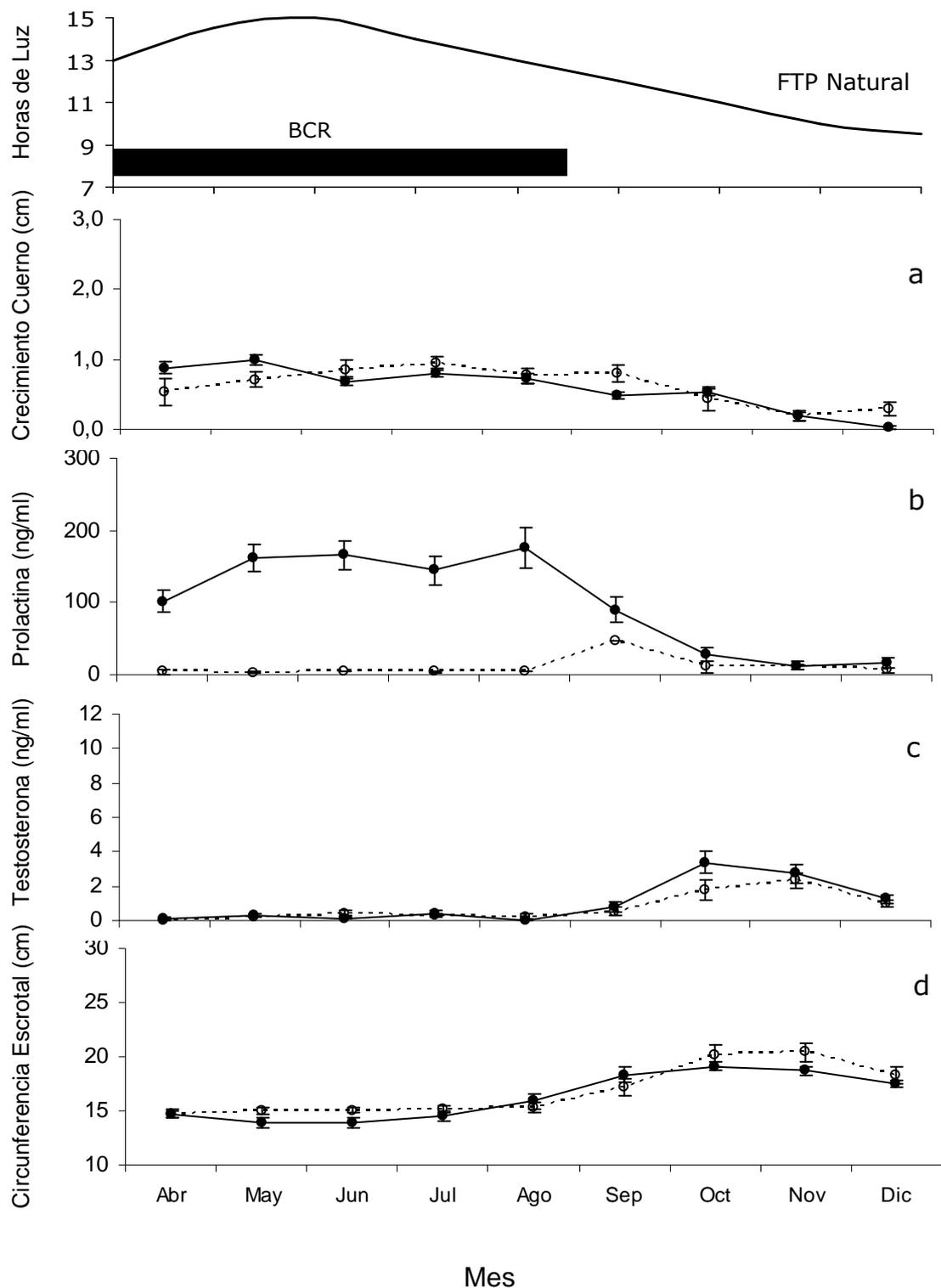


Figura 34. Evolución del perfil de crecimiento en longitud del cuerno (a), de la concentración de prolactina (b), de la concentración de testosterona (c), y de la circunferencia escrotal (d) entre el grupo control, CM-C (—) y el grupo tratado con bromocriptina, CM-BCR (---) de machos monteses. Gráfica superior, curva: horas de luz del fotoperiodo natural; barra negra: periodo de administración de la bromocriptina.

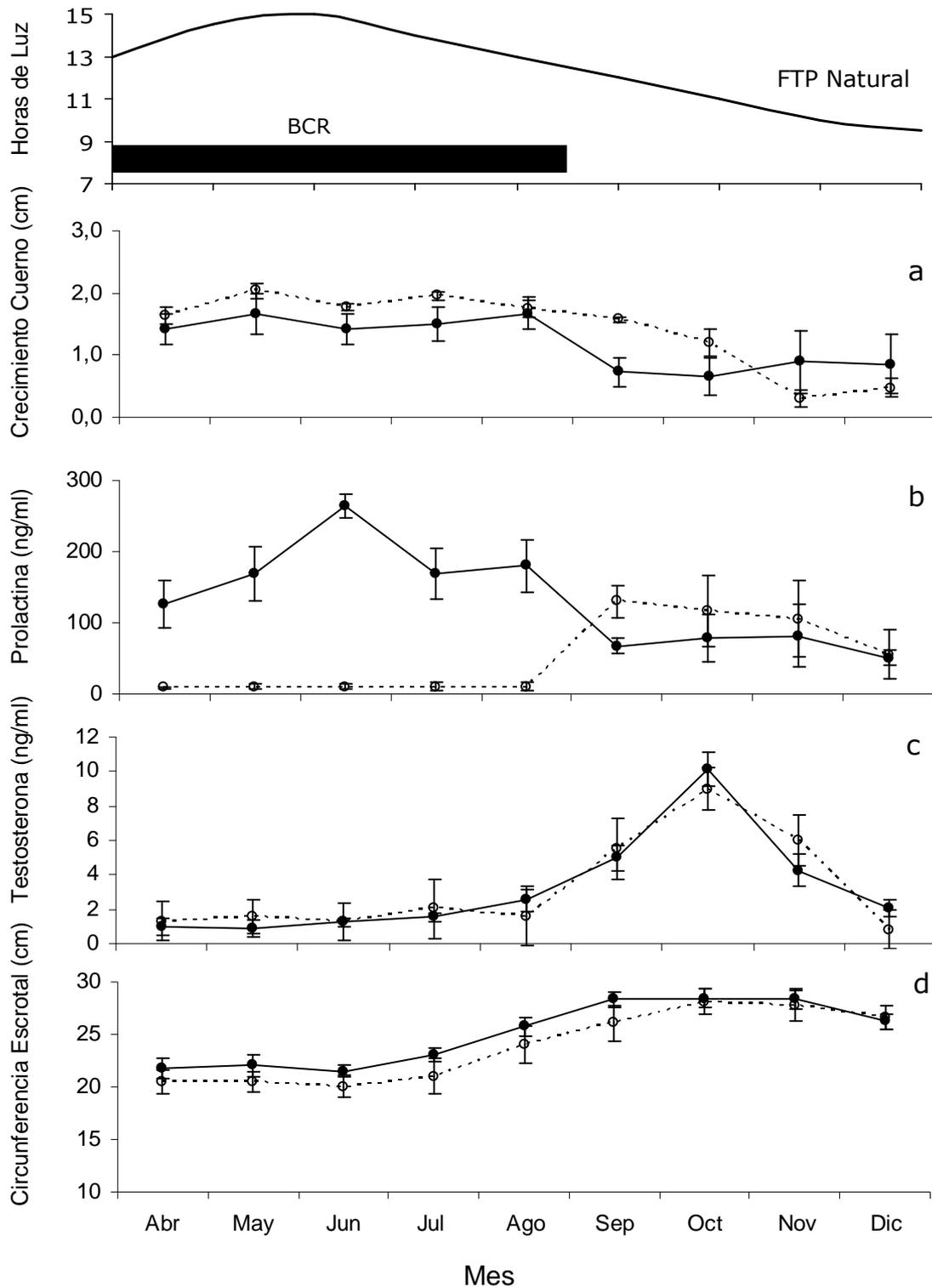


Figura 35. Evolución del perfil de crecimiento en longitud del cuerno (a), de la concentración de prolactina (b), de la concentración de testosterona (c), y de la circunferencia escrotal (d) entre el grupo control, M-C, (—) y el grupo tratado con bromocriptina, M-BCR (---) de muflones. Gráfica superior, curva: horas de luz del fotoperiodo natural; barra negra: periodo de administración de la bromocriptina.

5.- DISCUSIÓN

5.1- Dinámica del crecimiento de cuerno y su control endocrino

En contraste a los estudios clásicos realizados en rumiantes silvestres en su hábitat natural, la utilización de núcleos cautivos ha permitido el análisis pormenorizado de diversos procesos fisiológicos, como los implicados en la reproducción, que serían difícilmente estudiados en poblaciones en libertad. De hecho, la World Conservation Union (IUCN), ha reconocido, desde hace tiempo, la importancia de los estudios en núcleos cautivos como parte de las actividades de carácter multidisciplinar con fines de conservación. Aunque los avances técnicos han permitido la detección y cuantificación de parámetros biológicos a distancia, incluyendo además métodos menos invasivos basados en determinaciones indirectas (ej. determinación de hormonas en heces, etc.), todavía el estudio de muchos procesos requiere un seguimiento continuado y controlado de los animales en cautividad, para el análisis de la evolución de ciertos parámetros morfométricos, toma periódica de muestras para posterior análisis de laboratorio, etc. Una vez solventados los problemas de adaptación a las condiciones de cautividad, el estudio de la evolución periódica *in situ* de determinados caracteres morfométricos, como el cuerno, pelaje, etc., ofrece unas ventajas de gran relevancia para la interpretación fisiológica de los mecanismos que rigen su desarrollo.

La utilización de protocolos de manejo ajustados a las peculiaridades y características de la especie, junto con el conocimiento del efecto de las interacciones sociales en condiciones de cautividad sobre determinados parámetros fisiológicos, todo ello combinado con un correcto mantenimiento de la óptima condición corporal y los oportunos controles sanitarios, son determinantes para un mejor y pormenorizado conocimiento de la biología de rumiantes silvestres, perfectamente extrapolable a condiciones en su hábitat natural (Santiago-Moreno et al., 2003a).

La importancia de un mejor conocimiento de los procesos fisiológicos que rigen el desarrollo del cuerno en los rumiantes silvestres radica en dos aspectos interrelacionados entre sí. Por un lado, la consecución de unos mejores trofeos tiene un impacto positivo en el desarrollo sostenible de la

actividad cinegética en las áreas donde se explotan estas especies. En segundo lugar, el fomento de mejores trofeos, además de aportar importantes beneficios socioeconómicos, supone un claro estímulo de desarrollo de poblaciones más viables, dado la relación existente entre desarrollo del cuerno y el vigor genético (Marlon y Healy, 1994).

Tradicionalmente, los estudios orientados al estudio morfométrico de los cuernos han sido realizados a partir de animales abatidos en cacerías o capturados puntualmente de su medio natural. Las diferentes conclusiones se basaban, por tanto, en mediciones realizadas en un periodo concreto del ciclo de vida de un animal (una medida por animal). Posteriormente, y concretamente en el caso del muflón, los estudios del desarrollo del cuerno empiezan a implicar un componente dinámico, en donde los estudios se basan en la toma de datos que se realizan de forma periódica en los mismos animales y durante periodos más o menos amplios de tiempo (Lincoln 1998; Santiago-Moreno et al., 2000a). Estos análisis de la evolución individualizada del desarrollo del cuerno son fundamentales para el abordaje de estudios precisos enfocados a la incidencia de los factores medioambientales (ej. fotoperiodo) en el desarrollo del cuerno y los mecanismos endocrinos por los que se rige.

En el caso concreto del macho montés, las aportaciones sobre el desarrollo del cuerno han estado centradas, exclusivamente, en mediciones realizadas postmortem, a partir de animales abatidos en cacerías, y se han focalizado en las características morfológicas de una determinada subespecie o ecotipo (Losa-Huecas, 1993; Fandos 1995). En el presente trabajo, se establece, por primera vez, un análisis dinámico de la evolución de su desarrollo, incluyéndose las bases fisiológicas que controlan su crecimiento. El estudio comparativo con otro rumiante silvestre cavicornio (el muflón), aporta, además, información de gran valor para un mejor conocimiento del control hormonal que modula el crecimiento estacional del cuerno en los rumiantes silvestres.

El cuerno crece tanto en longitud como en grosor a lo largo de la vida del animal, pero además varía en su conformación tridimensional, con

distinta evolución según especies o ecotipos concretos. Este crecimiento no es homogéneo a lo largo del tiempo, sino que sigue ciclos estacionales que se pueden relacionar con los ciclos reproductivos (Lincoln 1990; 1998). Para realizar un análisis correcto del crecimiento es preciso seleccionar un parámetro fiable y que permita obtener resultados estadísticamente significativos. Entre todos los parámetros morfológicos que pueden dimensionarse, consideramos que la longitud del cuerno es la que mayor variación muestra a lo largo del año, lo que facilita el cálculo del crecimiento y reduce el error cometido en las mediciones. Además, la longitud junto con el perímetro de la base, son los dos caracteres morfométricos que mayor puntuación aportan en las fórmulas de valoración de trofeos (Laula, 1987; Junta de Homologación). En estudios de dinámica del crecimiento cornual, el crecimiento de la circunferencia de la base no parece proporcionar resultados tan fiables, dado su menor crecimiento y a que sus variaciones estacionales no son tan marcadas, incrementándose el error cometido al realizar las mediciones. Además, en el macho montés, a diferencia del muflón, las características morfológicas del cuerno, con un diámetro poco homogéneo a lo largo del mismo, debido a lo destacado de sus medrones, hacen todavía más marcados los posibles errores derivados de mediciones periódicas. Cote y Festa-Bianchet (2001), en sus trabajos sobre asimetría fluctuante en la cornamenta, sólo usaron la longitud del cuerno dada la dificultad de establecer, con un mínimo error, una posible asimetría entre las bases. Incidiendo en la metodología seguida en nuestro estudio, el procedimiento de realizar una marca indeleble en la cara anterior de la región distal del cuerno, como punto de referencia para realizar las mediciones, evita cualquier error debido al desgaste de las puntas y supone, por tanto, el mejor procedimiento de evaluación de su dinámica de crecimiento (Santiago-Moreno et al., 2005a).

El rango de edad de los animales utilizados de macho montés en este trabajo comprende entre 1 y 5 años. Según Alados y Escos (1985) este rango agruparía dos categorías, juvenil de 1 y 2 años y sub-adulto de 3 a 5 años. No obstante, nuestros resultados no revelaron diferencias entre los dos subgrupos de edad en el patrón de crecimiento cornual. En el muflón se

utilizaron animales entre 1 a 4 años, considerados dentro de la categoría sub-adulto (Geist, 1971). En ambas especies se estima que el máximo crecimiento del cuerno se produce en el primer año de vida (Fandos, 1995; Pfeffer 1967). En el macho montés, desde el año hasta los 6 años se muestran unos ritmos similares de crecimiento del cuerno (Alvarez, 1990). En el muflón, hasta los 4 años, Pfeffer (1976) considera que se produce un crecimiento parecido de los cuernos, aunque pequeñas diferencias en este ritmo de crecimiento han sido apuntadas entre muflones menores de 2 años y mayores de 3 años (Santiago-Moreno et al., 2005a). En cualquier caso, el 90% del crecimiento final del cuerno en el muflón se alcanza a los 4 años de edad (Piegert y Uloth, 2000).

Los resultados obtenidos en cuanto crecimiento y longitud del cuerno de los muflones en fotoperiodo natural, coinciden con estudios previos realizados en esta especie, en las mismas condiciones experimentales (Santiago-Moreno et al. 2005a). En condiciones óptimas de alimentación, en muflones de 1,5 a 2,5 años de edad, y mantenidos en cautividad, se describe un crecimiento medio mensual, desde abril a mayo, entre 1 y 1,9 cm (Santiago-Moreno et al., 2003a). En nuestro trabajo, se apreció un crecimiento medio mensual, entre abril y agosto, de 1,5 cm. Al igual que lo referido en estos estudios previos, los datos obtenidos en el presente estudio coinciden en los periodos establecidos de menor crecimiento, entre septiembre y marzo, aunque se han señalado menores valores en los estudios con muflones mantenidos en otras latitudes (Lincoln, 1998), concretamente de 0,2 cm frente a los 0,5 cm de nuestro estudio.

Los datos morfométricos del cuerno de macho montés que se describen en la bibliografía reflejan una clara diferenciación entre poblaciones ubicadas en distintas áreas. En poblaciones situadas en el sur de la Península Ibérica, la longitud del cuerno suele mostrar menor tamaño, alrededor de 24 cm, a los 3 años (Fandos, 1991; 1995). Por el contrario en poblaciones del centro peninsular, el cuerno alcanza alrededor de los 30 cm a esa misma edad (Fandos y Vigal, 1988). No obstante, dentro de poblaciones ubicadas en áreas cercanas también pueden detectarse importantes diferencias morfométricas en el desarrollo del cuerno, que ha

sido, frecuentemente utilizado, como criterio diferenciador de distintos ecotipos. En este sentido, cabe destacar la peculiar morfología acarnerada de los trofeos de muchos de los ejemplares de las sierras de Tejeda y Almirajara (cuerno almirajareño), pero con unas longitudes generalmente inferiores a las observadas en machos de Sierra Nevada. En nuestro estudio, formado por machos provenientes de las poblaciones de Sierra Nevada, a la edad de 3 años alcanzaron una longitud media del cuerno de 26 cm (Anexo I tabla 7). Los resultados muestran una pequeña, pero positiva, diferencia a favor de individuos que se mantienen en cautividad respecto a los que se encuentran en su hábitat natural. El efecto de la cautividad en un mayor crecimiento de los cuernos ha sido descrita en otras especies. En núcleos de carnero de Dall (*Ovis dalli dalli*), mantenidos en cautividad, se muestra un desarrollo del cuerno mayor que la observada en las poblaciones en libertad (Hoef y Nowlan, 1997), pero estas diferencias son mayores en el perímetro de la base, no en longitud, que es el parámetro utilizado en este estudio. Dentro de los factores medioambientales que afectan al desarrollo del cuerno, la alimentación representa uno de los más relevantes (Santiago-Moreno et al., 2001b). El mantenimiento de núcleos cautivos en óptimas condiciones de alimentación durante todo el año, representaría el factor determinante de un mayor crecimiento y desarrollo de los medrones frente a poblaciones silvestres, en las que el desarrollo de los mismos está directamente relacionado con la variación de las ofertas alimenticias que ofrece el medio natural. El efecto deletéreo de una deficiente disponibilidad de recursos alimenticios sobre el desarrollo del cuerno de los bóvidos o de la cuerna en los cérvidos es un hecho bien establecido. El carácter perenne del cuerno en los bóvidos supone, además, que la alteración del desarrollo quede marcada de forma indeleble, siendo más acusada cuando el déficit nutricional afecta al primer año de vida (Losa-Huecas, 1993).

Una de las peculiaridades del desarrollo cuerno, en el muflón y el macho montés, es su carácter estacional. Este tipo de crecimiento determina el establecimiento de unas líneas transversales, que limitan los segmentos denominados medrones, y que corresponden cada uno de ellos a un periodo anual. Las variaciones estacionales en el ritmo de crecimiento se han relacionado con diferentes funciones biológicas y se han considerado

dependientse de diversos factores. Así, el menor crecimiento cornual desde el inicio del otoño ha sido atribuido a factores tales como mecanismos de re-distribución de energía (Festa-Bianchet et al., 2004), gasto energético durante los periodos de luchas sexuales, cortejo y reproducción (Granados et al., 2001; Weladji et al., 2005), disminución de la ingesta de alimento y, por tanto, del aporte de energía motivada por el mayor uso del tiempo en funciones reproductivas (Alados y Escos, 1985), y a veces, a la escasez de alimentos. Sin embargo en nuestro estudio, donde los animales recibían una alimentación constante y donde no existía un gasto energético reproductivo, se produjo esta misma parada del crecimiento, lo que apoya la hipótesis del efecto lumínico estacional.

En moruecos mantenidos en condiciones de fotoperiodo y alimentación constante se ha descrito una la disminución en la ingesta voluntaria de alimentos durante el otoño-invierno (Lincoln y Richardson, 1998). Esta característica también ha sido descrita en cérvidos (Loudon et al., 1989). Las posibles disminuciones de la ingesta voluntaria en nuestras condiciones experimentales no fueron valoradas, si bien no se apreciaron alteraciones en el consuno de las raciones aportadas diariamente. En este caso y comparado con los otros estudios realizados en latitudes superiores, otro factor a considerar la representaría la temperatura.

Estudios previos han reflejado que en los meses de primavera y verano, coincidiendo con el periodo de inactividad sexual, es cuando se producen los mayores crecimientos del cuerno (Lincoln, 1990, 1998; Fandos, 1991; Santiago-Moreno et al., 2005a). En las dos especies de nuestro estudio, los incrementos en el crecimiento del cuerno comenzaron en el mes de abril, periodo en el que la concentración de testosterona presentaba niveles basales. Este crecimiento se mantuvo hasta el mes de agosto en el muflón, y hasta el mes de octubre en los machos monteses. En ambos casos, esta disminución del crecimiento coincidió con el incremento de las concentraciones de testosterona, detectándose una fuerte correlación inversa entre crecimiento del cuerno y secreción de testosterona en ambas especies.

Estos resultados apoyarían el hecho de que el incremento de la secreción de testosterona en el otoño actuaría como señal hormonal de la parada o ralentización del crecimiento del cuerno (Lincoln, 1998; Santiago-Moreno et al., 2005a). A diferencia de los rumiantes silvestres cavicornios, el papel de la testosterona como elemento modulador del ciclo de crecimiento y desmogue de la cuerna es un hecho bien conocido (Asher et al., 1999). Por un lado, la disminución de las concentraciones plasmáticas de testosterona en primavera parecen jugar un papel importante en la caída de la cuerna en primavera (Lincoln, 1994). El crecimiento de una nueva cuerna se inicia y transcurre mientras la concentración de testosterona es mínima (Sutte et al., 1984), siendo preponderante el efecto del incremento de secreción de testosterona, a finales de verano y en el otoño, para favorecer la descorrea y calcificación final de la cuerna (Lincoln, 1994). Esta calcificación, de carácter andrógeno-dependiente, daría la consistencia adecuada para su uso en las luchas intrasexuales al inicio del periodo reproductivo.

A pesar de lo apuntado, los resultados del presente trabajo, utilizando un fotoperiodo constante de días largos, no permiten determinar una clara influencia del incremento de la testosterona sobre la disminución del crecimiento del cuerno en el otoño. En el macho montés, la disminución del crecimiento del cuerno coincidía en algunos casos con niveles basales de testosterona (octubre del primer año) o bien con niveles elevados (octubre del segundo año) (Figura 6). Tampoco en el caso de los muflones detectamos que la disminución del crecimiento del cuerno tuviese algún tipo de relación con los incrementos en la secreción de testosterona. Los resultados apuntan que la disminución del crecimiento se originó como consecuencia de un estado de refractariedad al fotoperiodo constante de días largos, de forma análoga a lo descrito para la actividad reproductiva de los pequeños rumiantes (Karsch et al. 1989), y abre la hipótesis de la existencia de un ciclo endógeno de crecimiento del cuerno, de forma similar a lo descrito para otros tejidos, como es el caso del pelo. En este sentido, un ritmo endógeno circanual de muda y crecimiento del pelaje ha sido documentado en algunas especies de rumiantes silvestres, como el muflón (Allain et al., 1994).

Si bien, nuestros resultados no apoyan el hecho de que el incremento de los niveles de secreción de testosterona controlen la disminución del crecimiento del cuerno durante el otoño, recientes estudios basados en la administración de propionato de testosterona en muflones, durante primavera, sí denotan una cierta influencia, en algunos animales, en el momento de la disminución del crecimiento del cuerno (Santiago-Moreno et al., 2006). Este hecho, unido a que el crecimiento de grandes cuernos en estos ungulados es un carácter sexual masculino, y por tanto debiera de ser dependiente de la actividad esteroidogénica testicular, hacen controvertido el papel de la testosterona en los distintos momentos del ciclo de crecimiento cornual. Posiblemente, en la modulación de la disminución del crecimiento estarían involucrados otros factores hormonales y medioambientales (ej. el fotoperiodo), y que la interacción de cada uno de ellos intervenga en el control de los periodos de cese del crecimiento del cuerno. Experimentos orientados a la inhibición de la secreción de testosterona durante el otoño en nuestras especies objeto de estudio, por ejemplo mediante la administración de ciproterona, serían de gran valor para un mejor conocimiento de papel de los andrógenos en estos parámetros.

La prolactina, presenta un carácter estacional de secreción que ha sido correlacionado con diversos procesos fisiológicos como la variación estacional del apetito (Forbes et al., 1979), el ciclo de crecimiento y la muda del pelo (Allian et al., 1986; Dicks et al., 1994), o la actividad sexual (Howles et al., 1982). En concreto, en el ciclo de crecimiento del pelo (fanero de similar naturaleza que el cuerno), el incremento de la concentración de la prolactina induce la reactivación de los folículos pilosos, produciendo la muda en primavera y el desarrollo del pelo de verano, mientras que la disminución de la secreción en otoño induce el desarrollo del pelaje de invierno (Dicks et al., 1994). El papel de la prolactina en el control del crecimiento del pelaje se ha demostrado en varias especies silvestres de ungulados: ciervo del Padre David (*C. davidianus*) (Loudon et al., 1989), muflón (Lincoln, 1990; Santiago-Moreno et al., 2004) y ciervo rojo (Webster y Barrel, 1985).

El origen común epidérmico, existente entre el pelo y el cuerno (Dove, 1935; Goss, 1983) y el hecho de que la prolactina sea un agente proliferativo celular en tejidos de diversa naturaleza (Kelly et al., 1991; Karabulut et al., 1999) ha favorecido la hipótesis de su posible papel como activadora del crecimiento del cuerno. En cérvidos, ha sido claramente demostrado este papel como estimulante somático del crecimiento y desarrollo de la cuerna (Mirarchi et al., 1978; Schulte et al., 1981; Suttie et al., 1984, Plotka et al 1978).

Clásicamente ha sido aceptado que el inicio del aumento de la secreción de prolactina en el muflón durante la primavera activaría el incremento en el crecimiento del cuerno (Lincoln 1998; Santiago-Moreno et al., 2003a), habiéndose descrito una mayor correlación entre el crecimiento del cuerno en un mes, con la concentración de prolactina del mes precedente (Santiago-Moreno et al., 2005a). También se ha considerado a la prolactina como responsable del mayor crecimiento del cuerno en muflones nacidos más precozmente, frente a los procedentes de parideras más tardías (Santiago-Moreno et al., 2001b). Nuestros resultados obtenidos en muflón y macho montés en condiciones de fotoperiodo natural, mostraron una gran correlación entre ambos parámetros, lo que apoyaría una posible acción moduladora de la prolactina sobre el crecimiento del cuerno, dado que en ambas especies el inicio del incremento en la concentración de prolactina ocurría en el mes de marzo y el aumento del crecimiento acontecía en el mes de abril, coincidiendo un mes de retraso en el crecimiento con respecto al de prolactina. De forma similar ocurre en los muflones mantenidos en condiciones de fotoperiodo artificial, que mantienen esa correlación positiva. En contraste, en los machos monteses, no existió una correlación entre el nivel de prolactina y el crecimiento del cuerno.

El efecto de la aplicación de un fotoperiodo constante de días largos sobre el perfil de secreción de prolactina fue similar a los descritos previamente en la hembra del muflón (Santiago-Moreno et al., 2004) y en la oveja (Almeida y Lincoln, 1984). En general, los perfiles individuales, en ambas especies, claramente mostraron que el fotoperiodo constante de días

largos no previno la manifestación de cambios anuales en la secreción de prolactina. Tanto en el muflón como en el macho montés, la observación de un desfase (desincronización) en el patrón de secreción de esta hormona, respecto a los animales mantenidos bajo un fotoperiodo natural, así como la gran variabilidad en el perfil de secreción entre individuos, sugiere la existencia de un ritmo endógeno de secreción similar a lo descrito en los ovinos domésticos (Almeida y Lincoln, 1984), acentuando a el fotoperiodo como el principal ipso ambiental sincronizador de estos ritmos circanuales (Howles et al., 1982; Santiago-Moreno et al., 2004).

A pesar de los antecedentes bibliográficos y de nuestros resultados correspondientes a los grupos control, que vincularían a la prolactina como elemento regulador del crecimiento del cuerno (Lincoln 1990; Santiago-Moreno et al., 2005a), nuestras experiencias basadas en la inhibición de la prolactina mediante la administración de bromocriptina no revelaron una clara asociación del perfil de secreción de dicha hormona con el control estacional del crecimiento del cuerno. Los resultados obtenidos reflejaron que la inhibición de la secreción de prolactina, en los periodos naturales de máxima concentración, no alteraba el patrón estacional del crecimiento del cuerno ni en muflones ni en macho montés. A tenor de estas observaciones, la hipótesis relativa a la estimulación del crecimiento del cuerno en primavera, como consecuencia del incremento de los niveles de secreción de prolactina, no sería consistente.

No obstante, el tratamiento con bromocriptina sí determinó alteraciones en el momento de la parada del crecimiento del cuerno en el otoño, en el sentido de un adelanto de un mes en el caso de macho montés y de un retraso de dos meses en el caso del muflón. Sería necesario un mayor conocimiento sobre los mecanismos de acción de la prolactina sobre el crecimiento del cuerno, tales como la identificación y cuantificación de receptores en el epitelio germinal, similares a los ya determinados para el folículo piloso, estableciéndose las posibles variaciones estacionales en su expresión. En este sentido, se ha comprobado en el hámster que la concentración de prolactina regula la expresión de sus propios receptores (Klemck et al., 1986), de tal forma que a menor concentración de

prolactina, menor número de receptores. El tratamiento con bromocriptina, aunque inhibe el incremento de secreción de prolactina durante la primavera, mantiene niveles plasmáticos basales; por tanto no se puede descartar que dichos niveles fuesen suficientes para cubrir los requerimientos necesarios para la actividad proliferativa normal del epitelio germinativo del cuerno.

Aunque, el efecto de la administración de bromocriptina sobre otros posibles procesos fisiológicos no estaban incluidos en los objetivos de la tesis, mediante la observación directa se pudo apreciar un pequeño retraso en la muda del pelo en verano en ambas especies. Por otro lado, los animales no mostraron síntomas de adelgazamiento, y el peso se mantuvo dentro de los rangos normales, a pesar de haberse descrito en la bibliografía una variación estacional en la ingesta voluntaria de alimentos, correlacionada con el perfil de secreción de la prolactina en ovejas (Forbes et al., 1979) y muflones (Lincoln y Richardson, 1998).

Con relación al efecto de la administración de BCR en la actividad reproductiva, tampoco se mostraron diferencias en cuanto a la circunferencia escrotal, ni en la secreción de testosterona. Igualmente, Ravault et al. (1977) no encontraron en corderos ningún efecto del tratamiento con bromocriptina, en la concentración de LH, testosterona, peso testicular, y espermatogénesis, en contraste con lo indicado por Regisford y Katz (1993) o por Yarney y Sanford (1989), que encontraron una variación en la concentración de testosterona en moruecos.

El papel del fotoperiodo en el crecimiento del cuerno es evidente a partir de trabajos que muestran como la ubicación geográfica (latitud) determina diferencias en dicho patrón de crecimiento. En este sentido, en poblaciones de muflones mantenidos en condiciones silvestres, se observan diferencias en la dinámica del crecimiento, dependiendo del fotoperiodo y la latitud donde se ubiquen, tal que las poblaciones localizadas más al sur de Europa presentan un crecimiento más rápido, durante los primeros años de vida, que aquellas ubicadas en latitudes más septentrionales (Hoefs, 1982).

En nuestro estudio, los efectos del fotoperiodo en el patrón de crecimiento del cuerno fueron más patentes en el muflón que en el macho montés. En los muflones, los resultados muestran que la estacionalidad en el crecimiento del cuerno se pierde, en condiciones de un fotoperiodo artificial de días largos. El hecho de que el crecimiento del cuerno se mantenga a niveles superiores que en el grupo control, apunta claramente a un efecto estimulante del mayor número de horas de luz diarias sobre este crecimiento (Santiago-Moreno et al 2001b, 2003b). Nuestros resultados también revelan que el efecto estimulante del fotoperiodo constante de días largos no es permanente, lo que podría sugerir que, transcurrido un periodo de tiempo, se produciría un efecto de fotorrefractoriedad por el cual se perdería la sensibilidad a este efecto estimulante, de igual manera a lo descrito previamente para la fotorrefractoriedad de la actividad neuroendocrino-gonadal en los pequeños rumiantes domésticos (Almeida y Lincoln 1985; Nicholls et al. 1989) y silvestres (Gómez-Brunet et al., 2000).

En el macho montés, no se encontraron diferencias significativas en la estacionalidad del crecimiento del cuerno entre animales del grupo control y animales bajo un fotoperiodo constante de días largos. Sí existieron diferencias en el momento de incremento y disminución de crecimiento cornual, retrasándose y adelantándose, respectivamente, un mes frente al grupo control.

Independientemente de los posibles factores concurrentes en el proceso de control fotoperiodico del crecimiento de este fanero, lo que claramente se manifiesta es que, tanto en el muflón como en el macho montés, la modificación del fotoperiodo altera el patrón del crecimiento del cuerno. El efecto directo o indirecto del estímulo fotoperiódico podría realizarse a través de factores u hormonas no identificadas, distintos a la prolactina y la testosterona, como podría ser la melatonina (Santiago-Moreno et al., 2005a).

5.2- Fotoperiodo y actividad reproductiva

El ritmo circanual de la actividad reproductiva en el muflón observada en este estudio, se corresponde con trabajos previos realizados por nuestro grupo (Santiago-Moreno et al., 2005b) y por los descritos por otros autores (Pfeffert, 1967; Geits, 1971; Lincoln, 1990; 1998). La evolución del tamaño testicular y de los niveles de secreción de testosterona han mostrado una clara estacionalidad reproductiva, tal como se considera característico en rumiantes silvestres de zonas templadas (Bronson, 1985; Santiago-Moreno et al., 2004). Durante los días largos de primavera y verano, la circunferencia escrotal y los niveles de testosterona en plasma fueron mínimos, mientras que con el fotoperiodo decreciente de otoño, el tamaño testicular y las concentraciones plasmáticas de testosterona alcanzaban su máximo valor, evidenciando el papel del fotoperiodo como principal factor medioambiental que regula la actividad sexual (Lincoln et al., 1990).

Al igual que en el muflón, en el macho montés también encontramos una marcada estacionalidad en la actividad testicular, mostrando ambas especies un perfil estacional muy parecido. Los valores mínimos de tamaño testicular y de secreción de testosterona se observaron en primavera y verano, con un inicio de la actividad reproductiva en el otoño. Dicho periodo coincide con los estudios etológicos realizados en poblaciones en libertad (Alados y Escos, 1996), que determinan el periodo de actividad sexual entre finales de otoño y principios de invierno, dándose el máximo de luchas sexuales entre machos en noviembre (Fandos, 1991). Durante el fotoperiodo decreciente, se produce un aumento en la secreción de las hormonas gonadotropas (Clarke et al., 1982), permitiendo el incremento de la actividad testicular, que se traduce en un aumento del tamaño de los testículos y una mayor actividad secretora de las células de Leydig, encargadas de producir y secretar testosterona (Mortimer y Lincoln, 1982). Este aumento de la secreción de testosterona induce los cambios de comportamiento consistente en una mayor agresividad y activación de la conducta reproductiva (Mateos y Zubieta, 1990): aumento de la libido, del cortejo y del apareamiento.

En nuestros resultados, la circunferencia escrotal se incrementa en julio y agosto pero es en septiembre cuándo presenta el mayor incremento, detectándose un especial aumento de la secreción de testosterona en octubre, un mes después del incremento significativo de la circunferencia escrotal. Todo ello coincide con las luchas sexuales de los animales en estado silvestre, que alcanzan su máximo de actividad en noviembre y que han sido descritas por Fandos (1991). El mantenimiento de la secreción de testosterona a partir de octubre favorecería un correcto desarrollo de la espermatogénesis, necesaria para la alta demanda espermática de noviembre y diciembre, periodo donde se produce el máximo de cubriciones (Fandos, 1991).

La comparación de los periodos de actividad testicular con los de actividad ovulatoria cíclica en muflonas (Santiago-Moreno et al., 2000b) y cabras monteses (Santiago Moreno et al., 2003c) revelan una característica desincronización que ha sido descrita en las distintas especies de rumiantes silvestres mediterráneas (Santiago-Moreno et al., 2006). En ambas especies estudiadas, el comienzo del incremento del tamaño testicular y de la secreción de testosterona precede al inicio de las primeras ovulaciones de las hembras: octubre en muflonas y diciembre en cabras monteses. Este desfase revela una condición adaptativa de la reproducción estacional de estas especies, ya que permite la sincronización de las primeras ovulaciones en las hembras con la máxima capacidad de fertilización de los espermatozoides. El incremento de la secreción de testosterona, que ocurre antes de las primeras ovulaciones de las hembras, favorece el comportamiento agresivo para el desarrollo de las luchas intra-sexuales que permitirá el establecimiento de las jerarquías. Por otro lado, este aumento de la secreción de testosterona, que ocurre aproximadamente unos 50-60 días antes del comienzo de las primeras ovulaciones en las hembras, durante el periodo definido como pre-celo (Pfeffer, 1967), coincidiría con la duración de la espermatogénesis y el paso de las células espermáticas a lo largo del conducto epididimario (Gomes, 1978). De este modo, quedaría garantizada la eficacia reproductiva durante los primeros ciclos ovulatorios de las hembras.

La manipulación del fotoperiodo determinó una alteración del ritmo de actividad testicular (secreción de testosterona y tamaño testicular) como ha sido descrito en ovinos domésticos (Hafez, 1952; D`Occhio et al., 1984; Langford et al., 1987; Martín et al., 1999). El tipo de respuesta reproductiva a la manipulación del fotoperiodo es, generalmente, variable y distinta para cada especie. El fenómeno de la fotorrefractoriedad indica una condición de pérdida temporal de respuesta a un fotoperiodo previo, bien estimulante de la actividad reproductiva (días cortos) o inhibidora de la misma (días largos) (Robinson y Follet, 1982; Almeida y Lincoln, 1984). De este modo, la exposición de ovejas a la acción de un fotoperiodo constante de días cortos, conlleva la entrada en anestro (Worthy y Haresign, 1983; Robinson y Karsch, 1984), mientras que el mantenimiento de forma constante bajo un fotoperiodo de días largos determinaría el restablecimiento de la actividad reproductiva por refractoriedad a los días largos (Thimonier et al., 1985; Robinson et al., 1985; Worthy et al., 1985). En el macho montés, la aplicación de un fotoperiodo artificial constante de días largos determinó un mantenimiento de los niveles basales de testosterona desde el inicio de la experimentación, en el mes de junio del primer año, hasta el mes de junio del segundo año, donde se produce un incremento de las concentraciones plasmáticas de testosterona, sugiriendo, de igual manera a lo descrito en la oveja, el establecimiento de un estado refractario al estímulo inhibitorio del fotoperiodo. Considerando que el carácter transitorio de la condición de la refractoriedad es indicativo de la naturaleza endógena del ritmo reproductivo (Nicholls et al., 1989; Karsch et al., 1989), nuestros resultados pueden apuntar la existencia de un ritmo endógeno subyacente de actividad reproductiva en el macho montés, tal como ha sido demostrado en otras especies de rumiantes silvestres, como la muflona (Gómez-Brunet et al., 2000).

En contraste a lo descrito en el macho montés, la aplicación de un fotoperiodo artificial de días largos en el muflón determinó cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de testosterona, perdiendo el carácter estacional y manteniendo unas concentraciones fluctuantes cercanas al nivel basal. No obstante, el análisis individualizado permitía detectar un ligero y puntual incremento de las concentraciones plasmáticas

de testosterona, en dos animales, en el primer otoño, y otro aumento en el segundo verano en otros dos individuos. En este contexto, estudios realizados en la oveja muestran que la ausencia de sincronización de ciclos circanuales de actividad reproductiva en animales sometidos a un fotoperiodo constante, es un claro indicativo de la naturaleza endógena del ritmo reproductivo (Karsch et al., 1987). Las observaciones realizadas en los muflones de nuestro experimento, contrastan con aquellas realizadas en hembras de muflón sometidas a un fotoperiodo constante similar de días largos. Concretamente, este fotoperiodo constante no determinaba variaciones en el momento del inicio y finalización de la actividad ovulatoria cíclica respecto a muflonas mantenidas bajo un fotoperiodo natural (Gómez-Brunet et al., 2000), lo que supone diferencias significativas entre sexos en la respuesta reproductiva al estímulo fotoperiódico. Si consideramos que, en ambas especies estudiadas en el presente trabajo existen indicios de ciclos endógenos de actividad reproductiva, la clara variación entre especies a la respuesta a un fotoperiodo artificial constante, apuntaría la existencia de diferencias interespecíficas en los requerimientos fotoperiódicos que regulan el ciclo de actividad testicular.

Nuestros resultados muestran que los perfiles de secreción de prolactina en el muflón y macho montés, al igual que lo descrito para la muflona y cabra montés (Santiago-Moreno et al., 2000c, 2003b) evolucionan coincidiendo con las variaciones anuales del fotoperiodo, incrementándose con el aumento de las horas de luz y disminuyendo sus niveles coincidiendo con la disminución de la duración del periodo de horas de luz diarias. Este patrón de secreción es característico y coincidente con los descritos en las diferentes especies de pequeños rumiantes (Mori et al., 1985; Adam et al., 1989; Gómez-Brunet y López Sebastián, 1991). El hecho de que la secreción de prolactina, en ovinos y caprinos de zonas templadas, estuviese inversamente correlacionada con su patrón de actividad reproductiva (Kennaway et al., 1983; Mori et al., 1985) determinó que los primeros estudios considerasen a esta hormona como mediadora de los efectos del fotoperiodo en el control de la estacionalidad reproductiva (Walton et al., 1977; McNeilly, 1980). No obstante, trabajos posteriores descartan a la prolactina como elemento responsable en los cambios

estacionales de la sensibilidad hipotalámica a los esteroides gonadales, pudiendo comenzar la estación reproductiva en presencia de altas concentraciones de prolactina (Worthy et al., 1985; Curlwis y McNeilly, 1991). En consonancia con lo descrito en las especies domésticas (Ravault et al., 1977; Lincoln et al., 2001), el tratamiento con bromocriptina, en los muflones y machos monteses de nuestro experimento, no determinó diferencias en el perfil de secreción de la testosterona, apuntando que en estas especies la prolactina no parece jugar un papel en el control de la actividad reproductiva estacional.

6.- CONCLUSIONES

- En condiciones de fotoperiodo natural, en ambas especies estudiadas, los perfiles de mayor crecimiento del cuerno se corresponden con los periodos de luz creciente de primavera y verano, mientras que son mínimos en otoño e invierno.
- En condiciones de fotoperiodo natural, existe una correlación positiva entre el perfil de secreción de prolactina y el crecimiento del cuerno, mientras que esta correlación es negativa con la secreción de testosterona.
- En condiciones de fotoperiodo natural, el incremento de la secreción de testosterona en el otoño está asociado a la parada del crecimiento del cuerno, en el mismo mes (Septiembre) en el caso del muflón, y un mes más tarde (Noviembre) en el macho montés.
- En condiciones de fotoperiodo artificial constante de días largos se producen incrementos de la secreción estacional de prolactina y testosterona.
- En esta situación de fotoperiodo artificial, en el caso del macho montés, la parada del crecimiento del cuerno no coincide con el incremento de la secreción de testosterona
- En condiciones de fotoperiodo artificial de días largos, en el caso del muflón, los incrementos de la secreción de prolactina en primavera, no se corresponden con una mayor activación del crecimiento del cuerno en esa época.
- La alteración del crecimiento del cuerno inducida por la luz artificial constante de días largos, refleja la influencia de este factor medio ambiental en el control del desarrollo de estos tejidos.
- La inhibición de la secreción de prolactina inducida por la administración exógena de bromocriptina, no impide el crecimiento del cuerno durante la primavera.

- Los resultados demuestran que el fotoperiodo es el factor medio ambiental determinante de las variaciones estacionales del crecimiento del cuerno en estas especies, pero aparte de la secreción de prolactina y testosterona, deben de existir otros elementos o mecanismos, capaces de interpretar esta señal luminosa y estar también implicados en la estimulación e inhibición del crecimiento de este epitelio queratinizado
- Las diferencias interespecíficas en la respuesta del crecimiento del cuerno al fotoperiodo artificial constante de días largos, sugiere un modo de regulación fotoperiódica variable para cada especie.

7.- RESUMEN

El correcto desarrollo del cuerno en los rumiantes silvestres es de gran importancia ya que incrementa su valor como recurso cinegético y es signo de vigor genético y eficacia reproductiva. En las dos especies de rumiantes silvestres estudiadas, el cuerno presenta una dinámica de crecimiento estacional, correlacionada con las variaciones anuales del fotoperiodo, y aparentemente sujeta a mecanismos endocrinos de control estrechamente relacionados con aquellos que operan en la actividad reproductiva estacional. En la presente tesis se ha estudiado el papel del fotoperiodo, la prolactina (PRL) y la testosterona en la regulación del crecimiento estacional del cuerno de dos especies cavicornias, el macho montés (*Capra pyrenaica hispanica*) y el muflón (*Ovis orientales musimon*), así como su relación con la actividad reproductiva estacional. El objetivo era demostrar la hipótesis de que el crecimiento del cuerno durante la primavera estaría determinado por el incremento de la secreción de prolactina en ese periodo, y que la parada o disminución del crecimiento en el otoño, coincidiendo con el periodo de actividad sexual, sería consecuencia del incremento de los niveles de secreción de testosterona.

Se utilizaron 18 machos monteses y 14 muflones mantenidos en cautividad (40°N), y que fueron divididos, aleatoriamente, en tres grupos: a) un grupo control en condiciones de fotoperiodo natural, b) un grupo sometido a un fotoperiodo artificial constante de días largos (15 hh luz : 9 hh oscuridad) durante 16 meses y c) un grupo tratado con 10 mg. de bromocriptina, i.m., dos veces por semana, desde marzo a septiembre, con el objeto de inhibir la secreción de prolactina durante ese periodo. Los resultados mostraron que en condiciones de fotoperiodo natural, en ambas especies existen cambios estacionales ($P < 0,01$) en el crecimiento del cuerno (máximo en primavera-verano y mínimo en otoño-invierno) que evolucionaban de forma paralela al fotoperiodo y a las concentraciones plasmáticas de prolactina, y que están inversamente correlacionados con la actividad testicular reflejada por la secreción de testosterona y la circunferencia escrotal ($P < 0,01$).

La aplicación de un fotoperiodo artificial constante de días largos determinaba variaciones interespecíficas ($P < 0,01$) en el ciclo anual del

crecimiento del cuerno, en el ciclo anual de secreción de prolactina y en la actividad testicular, no apreciándose ningún tipo de correlación entre el crecimiento del cuerno, con el tamaño testicular y las concentraciones plasmáticas de testosterona.

La inhibición de la secreción de PRL, inducido por bromocriptina, no determinó diferencias en la tasa de crecimiento del cuerno durante la primavera respecto a los animales del grupo control, pero sí se apreciaron variaciones en el momento de disminución de dicho crecimiento. En conclusión, nuestros resultados no parecen apoyar la hipótesis de que el crecimiento del cuerno en primavera y su parada en otoño sean exclusivamente determinados por los incrementos en la secreción de PRL y testosterona, respectivamente. Además, el fotoperiodo parece ser el principal factor de regulación del crecimiento estacional del cuerno del muflón y el macho montés, actuando, además, como elemento sincronizador del ritmo endógeno de actividad testicular y de secreción de prolactina en ambas especies.

8.- SUMMARY

The proper development of the horn in wild ruminants is of great importance because it increases the trophy value and is a valuable marker of male genetic quality. In both species of wild ruminant studied, the horn presents a seasonal growth and correlates with the annual variations of the photoperiod. This growth also seems to be dependent on endocrine mechanisms closely related to those operating in the seasonal reproductive activity. In contrast with the high number of studies devoted to the study of hormonal mechanisms that regulate the growth of the antler in cervids, those related to the development of the horn in Caviconia (Bovidae family) are very scarce. In the present thesis, the role of the photoperiod, prolactin and testosterone, in the regulation of the circannual rhythm of the horn growth in two wild Cavicorn species, the Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) and the European mouflon (*Ovis orientalis musimon*), has been studied, as well as their relationships with the seasonal reproductive activity. A current hypothesis, not proven to date, suggests that the enhanced growth during the spring could be induced by the increase in the prolactin secretion, while the arrest or slowed growth in the autumn, the period of sexual activity, could be consequence of the increase in the testosterone levels. All the experimental animals (18 ibex and 14 mouflons) were maintained under captivity conditions in their origin latitude (40°N), and were randomly divided in three groups: a) control group under natural photoperiodic conditions; b) group under artificial photoperiod of constant long days (15 hours light: 9 hours darkness) during 16 months; and c) group treated with 10 mg bromocriptine, twice a week, from March to September, to inhibit prolactin secretion. The results have shown that, under natural photoperiod, in both species, seasonal changes exist ($P < 0.01$) in the horn growth (maximum in spring-summer and minimum in autumn-winter). The pattern of prolactin plasma levels evolves in parallel to horn growth, and both are inversely correlated with the testicular activity ($P < 0.01$). The supply of a constant long day photoperiod provoked interspecific variations ($P < 0.01$) in the annual cycle of the horn growth, PRL secretion, and testicular activity. No statistical correlation was found among horn growth, scrotal circumference and plasmatic concentrations of testosterone. The inhibition of the prolactin secretion, by the bromocriptine treatment, did not determine statistical differences in the rate of the horn

growth during the fast growth period, however some variations were appreciated at the moment of the decrease of this growth between bromocriptine treated and control animals. In conclusion, our results can not support the hypothesis that the seasonal rhythms in the growth of the horn are mainly controlled by the seasonal changes in prolactin and testosterone plasma concentrations. Moreover, photoperiod seems to be the main factor of regulation for this characteristic seasonal horn growth in the mouflon and the ibex, acting also, as a main synchronizer of the endogenous rhythm of the testicular activity and prolactin secretion.

9.- ANEXO

	Longitud del Cuerno	Diámetro de la base
MACHO MONTÉS	25,7 ± 0,3 cm	17,1 ± 1,0 cm
MUFLÓN	70,5 ± 1,5 cm	25,0 ± 0,2 cm

Tabla 7: Media de la longitud del cuerno desde la base hasta la punta y del diámetro de la base ± el error estándar en macho montés y el en muflón del grupo control con aproximadamente 3 años de edad.

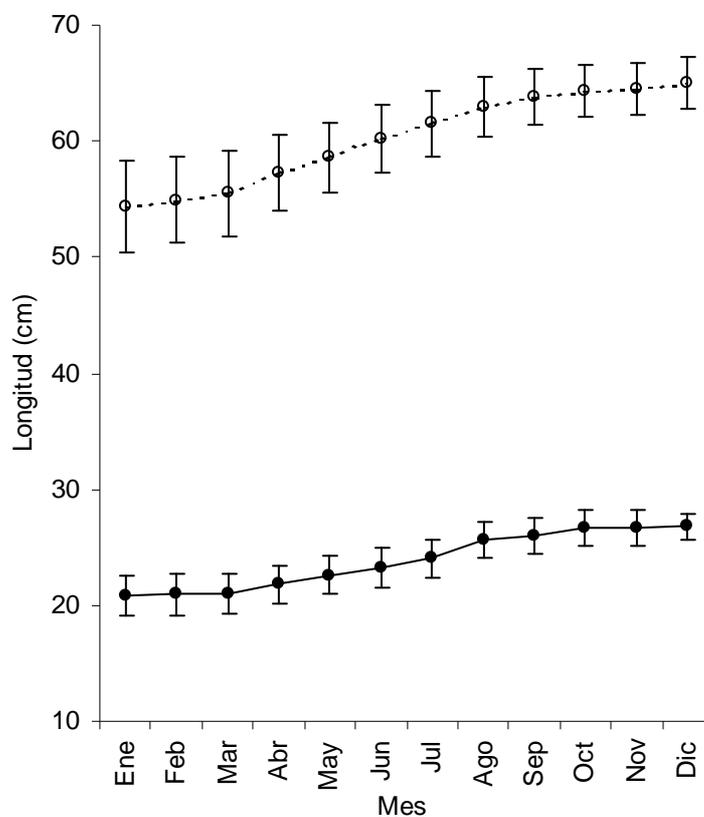


Figura 36 : Evolución de la longitud media mensual ± el error estándar del cuerno en muflón (o) y en macho montés (●) mantenidos en cautividad durante un año en condiciones de fotoperiodo natural y alimentación constante.

10.- BIBLIOGRAFÍA

- ADAM C.L., MOIR C.E., 1987. A note on the effect of birth date on the performance of suckled red deer calves and their dams on low-ground pasture. *Animal Production*. 44, 330-332.
- ADAM C.L., MOIR C.E., SHIACH P., 1989. Plasma prolactin concentrations in barren, pregnant and lactating red deer (*C. elaphus*) given melatonin to advance the next breeding season. *Animal Reproduction Science*, 18: 77-86.
- ADAM C.L., KYLE C.E., YOUNG P., 1992. Growth and reproductive development of red deer calves (*Cervus elaphus*) born out-of-season. *Animal Production*. 55, 265-270.
- ALADOS C.L., 1985. Distribution and status of the spanish ibex (*C. pyrenaica*, Schinz). En Lovari S., *The biology and management of mountain ungulates*. Ediciones Croom-Helm, Beckenham London. Pp 204-211.
- ALADOS C.L., 1986. Time distribution of activities in the Spanish ibex, (*Capra pyrenaica*). *Biol. Behav.* 11, 70-82.
- ALADOS C.L., y ESCOS J., 1985. La Cabra montes de las Sierras de Cazorla y Segura. Una introducción al estudio de sus poblaciones y comportamiento. *Naturalia Hispanica.*, 28, 1-35
- ALADOS C.L., y ESCOS J., 1988. Parturition dates and mother-kid behaviour in Spanish ibex (*C. pyrenaica*) in Spain. *J. Mammalogy*, 69(1): 172-175.
- ALADOS C.L., y ESCOS J., 1996. *Ecología y comportamiento de la Cabra Montes Monografías MNCN*. CSIC, 326 pp.
- ALLAIN D., RAVAUULT JP., PANARETTO BA., y ROUGEOT J., 1986. Effects of pinealecomy on photoperiodic control of hair follicle activity in the

Limousine ram: Possible relationships with plasma prolactin levels. *J of Pineal Research*, 3: 25-32.

ALLAIN D., THIBAUT R.G., ROUGEOT J., MARTINET L., 1994. Biology of fibre growth in mammals producing fine fibre and fur in relation to control by day length: relationship with other seasonal functions. *European Fine Fibre Network, Occasional Publication*. 2, 23-39.

ALMEIDA O.F.X., y LINCOLN G.A., 1982. Photoperiodic regulation of reproductive activity in the ram: evidence for the involvement of circadian rhythms in melatonin and prolactin secretion. *Biology Reproduction*, 27: 1062-1075.

ALMEIDA O.F.X. y LINCOLN G.A., 1984. Reproductive photorefractoriness in rams and accompanying changes in the patterns of melatonin and prolactin secretion. *Biology of reproduction*, 30:143-158.

ALVAREZ F., 1990. Horns and fighting in male Spanish ibex *Capra pyrenaica*. *J. Mammalogy*, 71(4): 608-616

ARENDE J., 1986. Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive function in mammals. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 8: 266-320.

ASDELL S.A., 1964. *Patterns of mammalian reproduction*. 2nd ed. Comstock, Ithaca, New York., 670 pp.

ASHER G.W., MONFORT S.L., WEMMER C., 1999. Comparative reproductive function in cervids: implications for management of farm and zoo populations. *J. Reprod. Fertil.* 54, 143-156.

BARREL G.K., y LAPWOOD K.R., 1979. Effects of pinealectomy on the secretion of luteinizing hormone, testosterone and prolactin in ram exposed to various lighting regimens. *J. Endocrinology*, 80: 397

- BARRELL, G.K., THRUN, L.A., BROWN, M.B., VIGUIÉ, C., KARSCH, F.J., 2000. Importance of photoperiodic signal quality to entrainment of the circannual reproductive rhythm of the ewe. *Biology of reproduction*, 63: 769-774.
- BARRET J, ABBOTT DH, GEORGE LM, 1993: Sensory cues and the suppression of reproduction in subordinate female marmoset monkeys, *Callithrix jacchu*. *J Reproduction and Fertility*, 97: 301-310.
- BITTMAN E.L., KAYNARD A.H., OLSTER D.H., ROBINSON J.E., YELLON S.M., KARSCH F.J., 1985. Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe. *Neuroendocrinology*, 40: 409-418.
- BRONSON F.M., 1985. Mammalian reproduction: An ecological perspective. *Biological Reproduction*, 32: 1-26
- BUBENIK G.A., SCHAMS D., LEATHERLAND J.F., 1985. Seasonal rhythms of prolactin and its role in the antler cycle of white-tailed deer. En *Biology of deer production*. Drew K., y Fennessy P. Eds Royal Society of New Zealand Bull. Pp 257-262.
- BUNCH T.D., FOOTE W.C., WHITAKER B. 1977. Interspecies ovum transfer to propagate wild sheep. *J. Wildlife Management*, 41: 726-730.
- BUNNELL F.L. 1978. Horn growth and population quality in dall sheep. *J. of wildlife Management*. 42: 764-775.
- CABRERA A., 1911. The subspecies of Spanish ibex. *Proc Zool Soc Lond*, 66: 963-977.

- CABRERA A., 1914. Fauna Ibérica. Mamíferos. MNCN, 441pp
- CERDA J.M., PEÑA J. de la, 1971a. La cabra montés española. Montes (Mayo/Junio): 219-227.
- CERDA J.M., PEÑA J. de la, 1971b. La chèvre sauvage espagnole. Raport au Congres International de la Chasse. Madrid.
- CHEMINEAU P, 1987: Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats – a review. Livest Prod Sci. 17: 135-147.
- CLARK J. L., 1964. The great arc of the wild sheep. Univ. of Oklahoma Press, Norman, 247 pp.
- CLARKE FM., MIETHE GH., BENNETT NC., 2001. Reproductive suppression in female Damaraland molerats *Cryptomys damarensis*: dominant control or self-restrain? Proc Soc Lond Biol Sci, 268: 899-909.
- CLARKE IJ., 1988. Gonadotrophin-releasing hormone secretion (GnRH) in anoestrous ewes and the induction of GnRH surges by oestrogen. J. Endocrinology, 117(3): 355-60
- CLARKE IJ., CUMMINS JT., 1982. The temporal relationship between gonadotrophin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. Endocrinology 111: 1773-1739.
- CÔTÉ S.D., FESTA-BIANCHET M., y SMITH K.G., 1989. Horn growth in mountain goats (*Oreamnos americanus*) J. of Mammalogy, 79(2): 406-414
- CÔTÉ, S.D., y FESTA-BIANCHET, M., 2001. Life-history correlates of horn asymmetry in mountain goats. J. Mammalogy, 82: 389-400.

- CORBET G.B., 1978. The mammals of the palearctic region. A taxonomic review. British Museum (Natural History). London, pp 217-219.
- CORBET G.B., 1984. The mammals of the palearctic region. A taxonomic review. British Museum (Natural History). London. Supplement.
- COUTURIER M., 1961 Determination of page du bouquetin des alpes (*C. aegagrus ibex ibex*) á paide des dents et des cornes. *Mammalia*, 25: 453-461.
- COUTURIER M., 1962. Le bouquetin des Alpes (*C. aegagrus ibex ibex* L.). Ed. Par l 'auteur, Grenoble, pp 1564.
- CRAMPE J.P. y CREGUT-BONNOURE E., 1993. Le massif des Pyrenees, habitat naturel du bouquetin iberique (*C. pyrenaica*, Schinz 1838). Evolution temporo-spatiale de léspece de la prehistoire a nos jours. Grupo Stambecco Europa, Bassano B., y Peracino E. Eds. Grenoble.
- CUGNASSE J.M., 1994. Révision taxinomique des mouflons des îles méditerranéennes. *Mammalia*, 58: 507-512.
- CURLEWIS J.D., 1992. Seasonal prolactin secretion and its role in seasonal reproduction : a review. *Reproduction Fertility and Development*, 4 : 1-23
- CURLEWIS JD., y McNEILLY AS., 1991. Prolactin short-loop feedback and prolactin inhibition of LH secretion during the breeding season and seasonal anoestrus in the ewe. *Neuroendocrinology*, 54: 279-284.
- CURLEWIS J.D., LOUDON A.S.I., MILNE J.A., Y McNEILLY A.S., 1988. Effects of chonic long-action bromocriptine treatment on liveweight, voluntary food intake, coat growth and breeding season in non-pregnanta red deer hinds. *J. of Endocrinology*, 119 : 413-420.

- DELGADILLO JA., LEBOEUF B., CHEMINEAU P. 1993. Maintenance of sperm production in bucks during a tirad years of short photoperiodic cycles. *Reproduction Nutrition Development.*, 33: 609-617.
- DELGADILLO JA., HOCHEREAU-DE-REVIERS MT., DAVEAU A., CHEMINEAU P., 1995. Effect of short photoperiodic cycles on male genital tract and testicular parameters in male goats (*Capra hircus*). *Reproduction Nutrition and Development*, 35: 549-558.
- DICKS P., RUSSEL AJF., LINCOLN GA. 1994. The role of prolactin in the reactivation of hair follicles in relation to moulting in cashmere goats. *J. of Endocrinology*, 143: 441-448.
- DOVE W.F., 1935. The physiology of horn growth: a study of the morphogenesis, the interaction of tissues, and the evolutionary processes of a Mendelian recessive character by means of transplantation of tissue. *J. exp. Zool.*, 69: 347-405.
- D'OCCHIO M.J., SCHANBACHER B.D., KINDER J.E., 1984. Profiles of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone and prolactin in rams of diverse breeds: effects of contrasting short (8L:16D) and long (16L:8D) photoperiods. *Biology Reproduvtn*, 30: 1039-1054.
- DROUARD B., 1980. Les bois du cerf elaphe (*Cervus elaphus L.*). Aspects scientifique et culturel. Thèse. Ecole Nationale Vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse, 87 pp.
- ELLIS L.A., MASTRO A.M., PICCIANO M.F., 1996. Milk-borne prolactin and neonatal development. *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia* 1, 259-269.
- FANDOS P., 1995. Factors affecting horn growth in male Spanish ibex (*Capra pyrenaica*). *Mammalia* , 59:229-235.

- FANDOS P., 1991. La cabra montés en el Parque Natural de las Sierras de Cazorla, Segura y las Villas. ICONA/CSIC (eds), Madrid, Spain; pp. 176
- FANDOS P., VIGAL, R. 1988. Body weight and horn length in relation to age of the Spanish wild goat. *Acta theriologica*, 33(25): 339-344.
- FARMER C., SORENSEN M.T., PETITCLERC D., 2000. Inhibition of prolactin in the last trimester of gestation decreases mammary gland development in gilts. *J. Animal. Science*, 78: 1303-1309.
- FESTA-BIANCHET, M., COLTMAN, D., TURELLI, L., JORGENSON, T., 2004. Relative allocation to horn and body growth in bighorn rams varies with resource availability. *Behavioral Ecology*. 15 (2), 305-312.
- FITZSIMMONS, N.N., BUSKIRK S.W. Y SMITH M.H. 1995. Population history, genetic variability and horn growth in bighorn sheep. *Conserv. Biol.* 9 (2): 314-323.
- FORBES J.M., ELSHAHAT A.A., JONES R., DUNCAN J.G., y BOAZ T.G., 1979. The effect of daylength on the growth of lambs. *Animal production* 29, 33-42.
- FOWLER D.G., 1984. reproductive behaviour of rams. En *Reproduction in sheep*. Lindsay D.R., Pearce. Eds. School of Agriculture. Cambridge University Press, pp 34-46.
- FOWLER M.E., 1993. Horns and antlers. En: *Zoo and Wild Animal Medicine. Current Therapy 3*. Fowler M.E., ed. W. B. Saunders Company, pp 489-493.

- GARTNER S., y HEINE H., 1995. Untersuchungen zu Körper und Trophäenmaßen bei Muffelwild (*Ovis ammon musimon*). Beiträge zur Jagd und Wildforschung, 20: 79-84.
- GASTEL T., BIELLI A., PEREZ R., LOPEZ A., CASTRILLEJO A., TAGLE R., FRANCO J., LABORDE D., FORSBERG M., RODRIGUEZ-MARTINEZ H., 1995. Seasonal variations in testicular morphology in Uruguayan Corriedale rams. Animal Reproduction Science, 40:
- GEIST V., 1971. Mountain sheep: A study in behaviour and evolution. The Univ. of Chicago Press. Chicago. 383 pp.
- GEIST V., 1991. On the taxonomy of giant sheep (*Ovis ammon* Linnaeus, 1766). Can. J. Zool., 69: 706-723.
- GIACOMETTI M., WILLING R., y DEFILA C., 2002 Ambient temperature in spring affects horn growth in male alpine ibexes. J. of Mammalogy, 83(1): 245-251.
- GOMES WR, 1978: Formation, migration, maturation, and ejaculation of spermatozoa. In: Physiology of Reproduction and Artificial Insemination in Cattle. Salisbury GW, VanDemark & Lodge JR (eds). Freeman and Company, San Francisco, pp. 211-245.
- GOMEZ-BRUNET, A., LOPEZ-SEBASTIAN A. 1991. Effect of season on plasma concentrations of prolactin and cortisol on pregnant non-pregnant and lactating ewes. Animal reproduction Science, 26: 251-268.
- GÓMEZ-BRUNET A., SANTIAGO-MORENO J, DEL CAMPO A., CABELLOS B., GONZÁLEZ-BULNES A, y LOPEZ-SEBASTIAN A., 2000. Evidence of an endogenous circannual reproductive rhythm in female Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) reared under a constant photoperiod. ICAR Satellite

Symposium on Reproduction in Small Ruminants. Sandnes, Noruega, Abstract, p.76.

GONZÁLEZ-BULNES A., SANTIAGO-MORENO J., GARCÍA-GARCÍA R, DEL CAMPO A., GÓMEZ BRUNET A., y LÓPEZ-SEBASTIÁN A., 2001. Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrous cycle. *Animal Reproduction Science*, 65: 265-272.

GOSS J.R., 1969. Photoperiodic control of antler cycles in deer: Phase shift and frequency changes. *J. Experimental zoologist*, 170: 311-324.

GOSS R.J., 1977. Photoperiodic control of antler cycles in deer. IV. Effects of constant light: dark ratios on circannual rhythms. *J. Exp. Zool.* 201: 379-382.

GOSS RJ, 1983: Deer antlers. Regeneration, function and evolution. Academic Press, New York.

GOSCH B, y FISCHER K, 1989. Seasonal changes of testis volume and sperm quality in adult fallow deer (*Dama dama*) and their relationship to the antler cycle. *J Reproduction and Fertility*, 85: 7-17.

GOSS R.J. y ROSEN J.K., 1973. The effect of latitude and photoperiod on the growth of antlers. *J. Reproduction Fertility (suppl.)* 19: 111-118.

GRANADOS JE., PÉREZ J.M., MÁRQUEZ F.J., SERRANO E., SORIGUER R.C., y FANDOS P., 2001. La Cabra Montés (*Capra pyrenaica*, SCHINZ 1838). *Galemys*, 13(1): 3-37.

HAFEZ E.S.E., 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe, *J. Agr. Science*, 42: 189-265.

- HEMMING JE., 1969. Cemental deposition, tooth succession, and horn development as criteria of age in Dall sheep. *J. Wildlife Management*, 33: 552-558.
- HERRE W., y RÖHRS M., 1955. ubre die formenmennigfaltigkeit des gehorns der caprini Simpson 1945. *Zool. Gart.*, 22: 85-110.
- HOCHEREAU-DE-REVIERS M.T., PERREAU C., LINCOLN G.A., 1985. Photoperiodic variations of somatic and germ cell populations in the Soay ram testis. *Reproduction Fertility*, 74: 329-334.
- HOCHEREAU-DE-REVIERS M.T., LOIR M., PELLETIER J., 1976. Seasonal variations in the response of the testis and LH levels to hemicastration of adult rams. *J. reproduction and fertility*, 46: 203-209.
- HOEFS, V.M., 1982. Beitrarz zur morphometrie und Wachstumsdynamik der Schnecke des Muffelwidders (*Ovis ammon musimon*, Schaber 1782). *Z. Jagdwiss.* 28, 145-162.
- HOEFS M., NOWLAN U., 1997. Comparison of horn growth in captive and free-ranging Dall's rams. *J. Wildl. Manage.* 61, 1154-1160.
- HOFFMAN K., 1978. Photoperiodic mechanism in hamster. The participation of the pineal gland. In: *Environmental Endocrinology*. Assenmacher, J. and Ferner, D.S. editors. Springer Berlin, pp 94-102.
- HOWLES C.M., CRAIGON J., y HAYNES NB. 1982. Long-tern rhythms of testicular volume and plasma prolactin concentrations in rams reared for 3 years in constant photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility*, 65: 439-446.

IUCN 1997. 1997 IUCN Red List of Threatened Species.

IUCN 2000. 2000 IUCN Red List of Threatened Species.

IUCN 2003. 2003 IUCN Red List of Threatened Species.

IUCN 2006. 2006 IUCN Red List of Threatened Species. www.redlist.org

JACKSON GL., GIBSON M., y KUEHL D., 1988. Photoperiodic disruption of photorefractoriness in the ewe. *Biology Reproduction*, 38: 127-134.

JACKSON GL., KUEHL D., y RHIM TJ., 1991. Testosterone inhibits gonadotropin-releasing hormone pulse frequency in the male sheep *Biology of Reproduction*, 45: 188-194.

JORGENSON J.T., FESTA-BIANCHET M., GAILLARD J.M., y WISHART D., 1997. Effects of age, sex, disease, and density on survival of bighorn sheep. *Ecology*, 78: 1019-1032

JORGENSON J.T., FESTA-BIANCHET M., WISHART W.D., 1998. Effects of population density on horn development in bighorn rams. *J. Wildlife Management*, 62: 1011-1020.

KAO C., SCHAEFFER D.J., y JACKSON G.L., 1992. Different neuroendocrine system modulate pulsatile luteinizing hormone secretion in photosuppressed and photorefractory ewes. *Biology of Reproduction*, 46: 425-434.

KARABULUT A.K., LAYFIELD R., y PRATTEN M.K., 1999. Effects of prolactin in embryogenesis – links to growth factors. *Cells Tissues Organs* 164, 2-13.

- KARSCH F.J., BITTMAN E.L., FOSTER R.L. GOODMAN R.L., LEGAN S.J. y ROBINSON J.E., 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Prog.. Horm. Res. 40: 185-232.*
- KARSCH F.J., BITTMAN E., ROBINSON J., YELLON SM., WAYNE N., OLSTER D., KAYNARD AH. 1986. Melatonin and photorefractoriness: loss of response to the melatonin signal leads to seasonal reproductive transitions in the ewe. *Biology of Reproduction*, 34: 265-274.
- KARSCH F.J., ROBINSON J.E., y WOODFILL C.J.I., 1987. Existence of an endogenous reproductive rhythm in the ewe. Annual Meeting of the Endocrine Society, Indianapolis, June 1987, Abstr. 262.
- KARSCH F.J., ROBINSON J.E., WOODFILL C.J.I., y BROWN M.B., 1989. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to a fixed photoperiod. Evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biology of Reproduction* 41: 1034-1046.
- KELLY P A., DJIANE J., POSTEL-VINAY MC., y EDERLY M., 1991. Prolactin / growth hormone receptor family. *Endocrinology Rev.*, 12: 235-249.
- KENNAWAY D.J., SANFORD LM., GODFREY YB., y FRIESEN H.G., 1983. Patterns of progesterone , melatonin and prolactin secretion in ewes maintained in four different photoperiods. *J. Endocrinology*, 97: 229-233.
- KLEMCKE H., NARTKE A., STEGER R., HODGES S., HOGAN M., 1986. Prolactin, FSH and LH are regulators of testicular PRL receptors in golden hamsters. *Endocrinology*, 188: 773-782.

- KORDOS L., 2000. Fossil ovinae in the Carpathian basin. International .In: Proceedings of the third International Symposium in Mouflon, ed. Náhlik A y Uloth. Sopron, Hungary, pp. 98-102.
- KOUBEK P., y HRABE V., 1983. Dynamics of horn growth in the jeseniky Mts. Population of chamois, *Rupicapra rupicapra* (CSSR). Folia Zoologica, 32: 97-107.
- KRUUK L.E.B., SLATE J., PEMBERTON J.M., CLUTTON-BROCK T.H., 2003. Fluctuating asymmetry in a secondary sexual trait: no associations with individual fitness, environmental stress or inbreeding, and no heritability. J. Evolutionary biology, 16: 101-113.
- LAULA MARQUÉS DE., 1987. Fórmulas oficiales de homologación de los trofeos de caza.. MAPA-ICONA, 79 pp.
- LANGFORD GA., AINSWORTH L., MARCOS GJ., SHRESTHA JNB. 1987. Photoperiod entrainment of testosterone, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and prolactin cycles in rams in relation to testis size and semen quality. Biology of reproduction, 37: 489-499.
- LANGFORD G., SANFORD LM., MARCUS GJ., y SHRESTHA N. 1999. Seasonal cyclic and testicular activities in rams. Small Ruminant Research, 33: 43-53.
- LEE V.W.K., BREMNER W.J., CUMMING I.A., KRETZER D.M., y FINDLAY J.K., 1981. Effects of LH-RH infusion, castration and cryptorchidism on gonadotrophin and testosterone secretion in developing ram. J. Reproduction and Fertility (Suppl.) 30: 111-118.
- LENS L., DONGEN S., KARK S., y MATTHYSEN E., 2002. Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? Biological Review, 77: 27-38

- LINCOLN G.A., 1990. Correlation with changes in horns and pelage, but not reproduction, of seasonal cycles in the secretion of prolactin in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *J. Reproduction and Fertility*, 90: 285-296
- LINCOLN G.A., 1998: Reproductive seasonality and maturation throughout the complete life-cycle in the mouflon ram (*Ovis musimon*). *Animal Reproduction Science*, 53: 87-105.
- LINCOLN G.A., y DAVIDSON W., 1977. The relation between sexual and aggressive behaviour, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams, and the influence of photoperiod. *J. Reproduction Fertility*, 49: 267-276.
- LINCOLN G.A., y CLARKE I.J., 1994. Photoperiodically-induced cycles in the secretion of prolactin in hypothalamo-pituitary disconnected rams: Evidence for translation of the melatonin signal in the pituitary gland. *J. Neuroendocrinology*, 6: 251-260.
- LINCOLN G.A., y CLARKE I.J., 1997. Refractoriness to static melatonin signal develops in the pituitary gland for the control of prolactin secretion in the rams. *Biology of Reproduction*, 57: 460-467
- LINCOLN G.A., y CLARKE I.J., 2000. Role of the pituitary in the development of photorefractoriness and generation of long-term changes in prolactin secretion in rams. *Biology of Reproduction*, 62: 432-439.
- LINCOLN G.A., y EBLING F.J.P., 1985. Effect of constant-release implants of melatonin on seasonal cycles in reproduction, prolactin secretion and moulting in rams. *J. Reproduction Fertility*, 73: 241-253.

- LINCOLN GA., y RICHARDSON M., 1998. Photo-neuroendocrine control of seasonal cycles in body weight, pelage and reproduction: lessons from the HPD sheep model. *Comparations biochemistry and physiology Part C*, 119: 283-294.
- LINCOLN, G.A., y SHORT, RV. 1980. Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Progress in Hormone Research*, 36
- LINCOLN, G.A., LINCOLN, C.E., y MCNEILLY, A.S., 1990. Seasonal cycles in the blood plasma concentrations of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *J. Reproduction Fertility*, 88: 623-633
- LINCOLN GA., CLARKE I.J., y SWEENEY T., 1996. Hamster-like cycles in testicular size in the absence of gonadotrophin secretion in HPD rams exposed to long-term changes in photoperiod and treatment with melatonin. *J Neuroendocrinology*, 8: 855-866.
- LINCOLN GA., TOWNSEND J., y JABBOUR H.N., 2001. Prolactin actions in the sheep testis: Atest of the priming hypothesis. *Biology of Reproduction*, 65: 936-943.
- LÓPEZ SÁEZ A., SOLER VALLS A.J., GARCÍA DÍAZ A.J., GALLEGRO MARTÍNEZ L., y GARDE J.J., 1999. Influencia de os factores ambientales sobre el tamaño testicular, líbido y características seminales del muflón (*Ovis gmelini musimon*) a lo largo del año. *Producción Ovina y Caprina XXIV (SEOC)*, 181-185.
- LOSA-HUECAS J., 1993. El macho montés. Exposición monográfica de una pieza de caza. Ed. Junta de Castilla y León. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, España. 197 pp.
- LOUDON ASI., MILNES JA., CURLEWIS JD., McNEILLY AS., 1989. Acomparison of the seasonal changes and patterns of growth, voluntary food and

reproduction in juvenile and adult red deer (*C. elaphus*) and Pere David's deer (*C. davidianus*) hinds. *J. Endocrinology*, 122 : 733-745.

LYDEKKER R., 1912. The sheep and its cousins. In: The mouflon sheep. George Allen and Co., Ltd., London, 46-56.

MALPAUX B., ROBINSON J., BROWN MB., y KARSCH FJ. 1987. Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. *Biology of reproduction*, 36: 1333-1341.

MALPAUX B., ROBINSON J.E., WAYNE N.L., y KARSCH F.J., 1989. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *J. Endocrinology*, 122 : 269-278.

MALPAUX B., DAVEAU A., MAURICE-MANDON, F., DUARTE G., y CHEMINEAU P., 1998. Evidence that melatonin acts in the pre-mammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: Presence of binding sites and stimulation of LH secretion by in situ microimplant delivery. *Endocrinology* 139: 1508-1516

MARTIN G.B., TJONDRONEGORO M.J.S, HÖTZEL, BOUKHLIQ R., BLACKBERRY M.A., BRIEGEL JR., BLACHE D., FISHER JA., y ADAMS NR., 1999. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Sufflk sheep: modification of endogenous rhythms by photoperiod. *J. Reproduction Fertility and Development*, 11: 355-366.

MARTINET L., y MONDAIN-MONVAL M., 1991. Rythmes de reproduction et facteurs de l'environnement. In: Thubault C., Levasseur M.C (Eds). *La reproduction chez les mammifères et l'homme*, 589-610. Coedition Ellipses-INRA, París.

- MATEOS E., ZUBIETA M., 1990. Influencia del estímulo sexual en los niveles de testosterona plasmática de machos cabrios. *Investigación Agraria: Producción Sanidad Animal*, 5(3): 109-119
- MAYLON C., HEALY S., 1994. Fluctuating asymmetry in antlers of fallow deer, *Dama dama*, indicates dominance. *Anim. Behav.* 48, 248-250
- McNEILLY A.S., 1980. Prolactin and the control of gonadotrophin secretion in the female. *J. Reproduction Fertility*, 58: 537-549.
- MENA F., 1972. La evolución real de una colonia de muflones. *Vida Silvestre*, 2: 241-248.
- MIRARCHI R.E., HOWLAND B., SCANLON P., y SANDFORD L.M., 1978. Seasonal variation in plasma FSH, LH, prolactin, and testosterone concentrations in adult male white-tailed deer. *Can. J. Zool.* 56: 121-127.
- MOÇO G., GUERREIRO M., FERREIRA A.F., REBELO A., LOUREIRO A., PETRUCCI-FONSECA F., y PÉREZ J.M., 2006. The ibex *Capra pyrenaica* returns to its former Portuguese range. *Oryx*, 40 (3): 40-48.
- MOLLER A.P., 1994. Sexual selection in the barn swallow (*hirundo rustica*). 4. Patterns of fluctuating asymmetry and selection against asymmetry. *Evolution* 48 (3): 658-670.
- MOLLER A.P., CUERVO J. J., SOLER J. J., y ZAMORA-MUÑOZ C., 1996. Horn asymmetry and fitness in gemsbok, *Oryx g. Gazella*. *Behaviour Ecology*. 7, 247-253.
- MONTOYA-OLIVER J.M., 1993. El muflón de Córcega: consumo en el pastadero de una especie introducida. *Caza y Pesca*, 603: 192-193.

- MORI Y., MAEDA T., SAWASAKI T., y KANO Y. 1985. Photoperiodic control of prolactin secretion in the goat. *J. Animal Reproduction*, 312: 9-14
- MORTIMER D., LINCOLN G.A., 1982. Ultrastructural study of regressed and reactivated testes from soay rams. *J. Reproduction and Fertility*, 64:437-442.
- NÁHLIK A., 1989. Evaluation of trophy data concerning some of our bigger Hungarian mouflon population. *Erdészeti és Faipari Tudományok Közlemények*, 1: 145-186.
- NEILL J.D., NAGY G.M., 1994. Prolactin secretion and its control. En Knobil E., y Neil J.D., *The physiology of reproduction*. 2ª Ed. Raven Press, New York. Pp 1833-1860
- NICHOLLS T.J., JACKSON G.L., FOLLETT B.K., 1989. Reproductive refractoriness in the Welsh Mountain ewe induced by a short photoperiod can be overridden by exposure to a shorter photoperiod. *Biol. Reprod.* 40, 81-86.
- NIETHAMMER G., 1963. *Die Einbürgerung von Säugetieren und Vögeln in Europa*. Hamburg-Berlin. Publisher Paul Parey. Pp 145
- NOTTER D.R., LUCAS J.R., McCLAUGHERTY F.S., 1981. Accuracy of estimation of testis weight from in situ testis measures in ram lambs. *Theriogenology*, 15: 227-234.
- ORTUÑO F., PEÑA J., 1979. *Reservas y cotos nacionales de caza*. Ed. Incafo, Madrid.
- PALMER A.R., y STROBECK C., 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, pattern. *Ann. Rev. Ecol. Sys.*, 17: 391-421.

- PELLETIER J., 1973. Evidence for photoperiodic control of prolactin release in rams. *J. Reproduction Fertility*, 35: 143-147.
- PERCO F., 1977. *Il muflone*. Ed. agricole. Bologna. Pp 251
- PÉREZ JM., GRANADOS JE., SORIGUER RC., FANDOS P., MÁRQUEZ FJ., y CRAMPE JP., 2002. Distribution, status and conservation problem of the Spanish Ibex, *Capra pyrenaica* (*Mammalia: Artiodactyla*). *Mammal Rev.*, 32: 26-39.
- PERRY A.T., SANSALONE T.V., McDONALD L.L., 1985. Analysis of horn growth rates of male bighorn sheep (*O. c. Canadensis*) Harvested in Wyoming 1977-83. *Deprt. Os statistics and Wyoming Cooperative Wildlife Research Unit. Univ. Wyoming*
- PEREZ-BARBERÍA F.J., ROBLES L., y NORES C., 1996. Horn growth pattern in Cantabiran chamois *Rupicapra pyrenaica parva*: Influence of sex, location and phaenology. *Acta Theriologica*, 41(1): 83-92.
- PFEFFER P., 1967. Le mouflon de Corse (*Ovis ammon musimon*, Schreber 1782). Position systematique, ecologie et ethologie comparees. *Mammalia* 31: supplement. 262 pp.
- PIEGERT H., ULOTH W., 2000. *Der Europäische Mufflon*. Ed Naturelife, DSV-Verlag, Hamburg, 258 pp.
- PLOTKA ED., SEAL US., LETELLIER MA., VERME LJ., y OZOGA JJ., 1978. Endocrine and morphologic effects of pinealectomy in white tailed deer. En: *Animal Models for Research on Contraception and fertility*. Alexander NJ. Harper and Rowe (eds), Hagerstown, pp. 452-466.
- PRESTON B.T., STEVENSON I.R., PEMBERTON J.M., COLTMAN, y WILSON K., 2003. Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the

importance of weaponry and testes size to male reproductive success. Proc. R. Soc. Lond. B 270: 633-640.

RAVAUTL JP., 1976. Prolactin in the rams : seasonal variations in the concentration of blood plasma from birth until three years old. Acta endocrinology. Copenh., 83 : 720-725.

RAVAUTL JP., COUROT M., GARNIER D., PELLETIER J., y TERQUI M., 1977. Effect of 2-Bromo- α -Ergocryptine (CB 154) on plasma prolactin, LH and testosterone levels, accessory reproductive glands and spermatogenesis in lambs during puberty. Biology Reproduction, 17: 192-197.

REALE D., BOUSSÈS P., 1999. Effects of summer and winter birth on growth of lambs in a population of feral sheep. J. of Mammalogy, 80(3): 1028-1037.

REGISFORD E.G.C., KATZ L.S., 1993. Effects of bromocriptine-induced hypoprolactinaemia on gonadotropin secretion and testicular function in rams (*Ovis aries*) during two seasons. J Reproduction Fertility, 99: 529-537.

RHIM T-J., KUEHL D., y JACKSON GL., 1993. Seasonal changes in the relationships between secretion of GnRH, LH and Testosterone in the rams. Biology of reproduction, 48: 197-204.

RIDDLE O., BATES RW., y DYKSHORN SW., 1932. Anew hormone of the anterior pituitary. Proc. Soc.Exp. Biol. Med., 29: 1211-1215.

RODRÍGUEZ-LUENGO J.L., 1993. El Muflón de Tenerife. Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna, Tenerife.

ROBINSON J.E., y FOLLET B.K., 1982. Photoperiodism in Japanese quail: the termination of seasonal breeding by photorefractoriness. Proc. Royal Soc. Lond. B. Biol. Sci., 215b: 95-116.

- ROBINSON JE., y KARSCH F.J., 1984. Refractoriness to inductive day length terminates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biology of Reproduction*, 31: 656-663.
- ROBINSON J., WAYNE N., y KARSCH F.J., 1985. Refractoriness to inhibitory day length initiates the breeding season of the suffolk ewe. *Biology of reproduction*, 32: 1024-1030.
- RYDER M. L., 1960. A study of the coat of the mouflon *Ovis musimon* with special reference to seasonal change. *Proc. Zool. Soc. Lond.*135: 387 - 408.
- SANFORD L.M., y DICKSON KA., 1980. Seasonality in reproductive processes in rams with suppressed prolactin secretion. *Fertility and Sterility*, 34: 192-193.
- SANFORD L.M., WINTER J.S.D., PALMER W.M., y HOWLAND B.E., 1974. The profile of LH and testosterone secretion in the ram. *Endocrinology*, 95: 627-631.
- SANTIAGO-MORENO J., GONZÁLEZ DE BULNES A., GÓMEZ-BRUNET A., GARCÍA LÓPEZ M., y LÓPEZ-SEBASTIÁN A., 1995. Seasonal breeding activity and anoestrous postpartum in the mouflon (*Ovis ammon musimon*). *J. Reproduction Fertility. Abstract Series*116, 65.
- SANTIAGO-MORENO J., GONZÁLEZ-BULNES A., GÓMEZ-BRUNET A., GARCIA LOPEZ M., DEL CAMPO A., y LÓPEZ SEBASTIÁN A., 1997. Relación del ciclo de crecimiento del pelo con la evolución anual de la prolactina en la hembra del muflón (*Ovis ammon musimon*). *ITEA (Vol. Extra, Tomo II)* 18, 481-483.
- SANTIAGO MORENO J., GONZÁLEZ DE BULNES A., GÓMEZ BRUNET A., LÓPEZ SEBASTIÁN A., 1999. Evolución de los niveles de progesterona durante

la gestación de la hembra de muflón (*Ovis gmelini musimon*). Medicina Veterinaria 16, 134-141.

SANTIAGO-MORENO J., GONZÁLEZ BULNES A., GÓMEZ BRUNET A., LÓPEZ SEBASTIÁN A., 2000a. Effect of birth date on body weight, scrotal circumference and horn dimension growth in captive juvenile mouflon (*Ovis gmelini musimon*) rams. Game Wildlife. Science. 17, 179-187.

SANTIAGO-MORENO J., LÓPEZ-SEBASTIÁN A., GONZÁLEZ-BULNES A., GÓMEZ-BRUNET A. y CHEMINEAU P., 2000b. Seasonal changes in ovulatory activity, plasma prolactin and melatonin concentration in Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and Manchega (*Ovis aries*) ewes. Reproduction Nutrition and Development, 40: 421-430.

SANTIAGO-MORENO J., GONZÁLEZ-BULNES A., GÓMEZ -BRUNET A., DEL CAMPO A., PICAZO R., LÓPEZ SEBASTIÁN A., 2000c. Nocturnal variation of prolactin secretion in the Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and domestic sheep (*Ovis aries*): seasonal changes. Animal Reproduction Science, 64: 211-219.

SANTIAGO-MORENO J., GONZÁLEZ-BULNES A., GÓMEZ BRUNET A., LÓPEZ SEBASTIÁN, A. 2000d. Effect of season on the resumption of postpartum cyclic ovarian activity in Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and Manchega sheep (*Ovis aries*). Small Ruminant Research, 36: 69-74.

SANTIAGO MORENO J., GONZÁLEZ-BULNES A., GÓMEZ-BRUNET A., LÓPEZ-SEBASTIÁN A., y TORTONESE DJ., 2001a. The timing of the onset of puberty, extension of the breeding season and length of post-partum anoestrus in the female European Mouflon (*Ovis gmelini musimon*). J. Zoo Wildlife. Medicine, 32: 230-235.

SANTIAGO-MORENO J., GONZÁLEZ-BULNES A., GÓMEZ-BRUNET A. & LÓPEZ-SEBASTIÁN A. 2001b: Influencia medioambiental (fotoperiodo,

nutrición) y control endocrino del desarrollo del cuerno/a en rumiantes de interés cinegético. *Inv. Agr. Prod. San. Anim.* 16: 79-97.

SANTIAGO MORENO J., GONZÁLEZ-BULNES A., GÓMEZ-BRUNET A., y LÓPEZ-SEBASTIÁN A., 2003a. EL muflón (*Ovis gmelini musimon*): caracterización funcional y recurso cinegético. Monografías INIA: Ganadera N.2. Ed. Ministerio de Ciencia y Tecnología. 217 pp.

SANTIAGO-MORENO J., TOLEDANO-DÍAZ A., GÓMEZ-BRUNET A., GONZÁLEZ-BULNES A., y LÓPEZ-SEBASTIÁN A., 2003b. Correlation with annual changes in the rate of horn growth of prolactin secretion and testicular size in captive adult mouflon rams (*Ovis gmelini musimon*). XXVI Int. Congr. IUGB. 1-6 Septiembre. Braga, Portugal.

SANTIAGO MORENO J, GÓMEZ BRUNET A, GONZÁLEZ BULNES A, MALPAUX B, CHEMINEAU P, PULIDO A, LÓPEZ SEBASTIÁN A. 2003c Seasonal ovulatory activity and plasma prolactin concentrations in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) maintained in captivity. *Reproduction Nutrition and Development*, 43:217-224.

SANTIAGO-MORENO, J., LÓPEZ-SEBASTIÁN, A., DEL CAMPO, A., GONZÁLEZ-BULNES, A., PICAZO, R., y GÓMEZ-BRUNET, A., 2004. Effect of constant-release melatonin implants and prolonged exposure to a long day photoperiod on prolactin secretion and hair growth in mouflon (*Ovis gmelini musimon*). *Domestic Animal Endocrinology*, 26: 303-314.

SANTIAGO-MORENO J., GÓMEZ-BRUNET A., TOLEDANO-DÍAZ A., GONZÁLEZ-BULNES A., y LÓPEZ-SEBASTIÁN A., 2005a. Influence of age on the relationship between annual changes in horn growth rate and prolactin secretion in the European mouflon (*Ovis gmelini musimon*). *Animal Reproduction Science*, 85: 251-261.

- SANTIAGO-MORENO J., GÓMEZ-BRUNET A., GONZÁLEZ-BULNES A., TOLEDANO-DÍAZ A., MALPAUX B., y LÓPEZ-SEBASTIÁN A., 2005b. Differences in reproductive pattern between wild and domestic rams are not associated with inter-specific annual variations in plasma prolactin and melatonin concentrations. *Domestic Animal Endocrinology*, 28: 416-429
- SANTIAGO-MORENO J., GÓMEZ-BRUNET A., TOLEDANO-DÍAZ A., PICAZO R., GONZALEZ-BULNES A., LÓPEZ-SEBASTIÁN A., 2006 Seasonal Endocrine Changes and Breeding Activity in Mediterranean Wild Ruminants. *Reproduction Domestic Animal* 41 (Suppl. 2): 72–81
- SCHAFFER W.M., REED C.A., 1972. The co-evolution of social behaviour and cranial morphology in sheep and goats (Bovidae, Caprini). *Fieldiana (Zool.)*, 61(1): 1-88.
- SCHALLER G.B., 1977. Mountain monarchs. Wildlife behaviour and ecology series. The University of Chicago Press. Chicago and London. Pp 425.
- SCHAMS D. y BARTH D., 1982. Annual profiles of reproductive hormones in peripheral plasma of the male roe deer (*C. capreolus*). *J Reproduction fertility*, 66: 463-468.
- SCHULTE B.A., SEAL US., PLOTKA ED., LETELLIER M.A., VERME L.J., OZOGA J.J. PARSONS J.A., 1981. The effect of pinealectomy on seasonal changes in prolactin secretion in the white tailed deer (*O. coileus virginianus borealis*). *Endocrinology*, 108: 173-178.
- SHACKLETON D., 1973. Population quality in bighorn sheep. Tesis doctoral. Universidad de Calgary, Alta. 227 pp.
- SIMPSON, A.M., SUTTIE J.M., y KAY R.N.B., 1984. The influence of artificial photoperiod on the growth appetite and reproductive status of male red deer and sheep. *Animal Reproduction Science*, 6(4): 291-299.

- SNYDER D.L., COWAN R.L., HAGEN D.R., SCHANBACHER B.D., 1983. Effect of pinealectomy on seasonal changes in antler growth and concentrations of testosterone and prolactin in white-tailed deer. *Biology of Reproduction* 29: 63-71.
- SUTTIET JM., LINCOLN GA., y KAY R., 1984. Endocrine control of antler growth in red deer stags. *J. Reproduction and Fertility*, 71: 7-15.
- TAMARKIN L., BAIRD CJ., y ALMEIDA OF., 1985. Melatonin : a coordinating signal for mammalian reproduction ?. *Science* 227 : 714-720.
- THIMONIER J., BRIEU V., ORTOVANT R., y PELLETIER J., 1985. Daylength measurement in sheep. *Biology Reproduction*, 32 (Suppl 1): Abstr 55
- THORNHILL R., y MOLLER A.P., 1998. The relative importance of size and asymmetry in sexual selection. *Behaviour Ecology*, 9: 546-551.
- TERKEL J., BLAKE CA., y SAWYER CH., 1972. Serum prolactin levels in lactating rats after suckling or exposure to ether. *Endocrinology*, 91: 49-53.
- TILBROOK AJ., KRETZER DM., CLARKE IJ., 1993. Human recombinant inhibin A and testosterone act directly at the pituitary to suppress plasma concentrations of FSH in castrated rams. *J. of Endocrinology*, 138: 181-189.
- TILBROOK AJ., KRETZER DM., CLARKE IJ. 1999. Seasonal changes in the negative feedback regulation of the secretion of the gonadotrophins by testosterone and inhibin in rams. *J. of Endocrinology*, 160: 155-167.
- TOÏGO, C., GAILLARD J.M., y MICHALLET J., 1999. Cohort affects growth of males but not females in alpine ibex (*Capra ibex ibex*). *J. of Mammalogy*, 80(3): 1021-1027
- TZALKIN V.I., 1951. Les Mouflons d'Europe et d'Asie. M.O.I.P., Moscou.

- ULOTH W., CUMMING J., y NAHLIK A., 2002. Abnormal horn development. A common postnatal anomaly in mouflon populations. IV Mouflon Symposium, Nuoro (Italia). 10-12 October 2002. Abstract. P.25.
- ULLREY D.E., 1983. Nutrition and antler development in white-tailed deer. En: Antler Development in the Cervidae. Brown, R.D., ed. Caesar Kleberg Wildlife Research Institute, Kingsville, Texas, pp 49-58.
- VAN DEN BRINK F.H., BARRUEL P., 1971. Guía de campo de los mamíferos salvajes de Europa Occidental. Ed. Omega., S.A. Barcelona.
- WALTON J.S.A., MCNEILLY A.S., MCNEILLY F.J., y CUNNINGHAM J., 1977. Changes in blood levels of prolactin, LH, FSH and progesterone during anestrus in the ewe. J. endocrinology, 75: 127-132
- WEBSTER J.R., y BARREL G.R., 1985. Advancement of reproductive activity, seasonal reduction in prolactin secretion and seasonal pelage change in pubertal red deer hinds, subjected to artificial shortened daily photoperiods or daily melatonin treatments. J. Reproduction and Fertility, 73: 255-260.
- WELADJI R.B., HOLAND O., STEINHEIM G., COLMAN J.E., GJOSTEIN H., y KOSMO A., 2005. Sexual dimorphism and intercorhort variation in reindeer calf antler length is associated with density and weather. Oecologia 145: 549-555.
- WÉLLER K.E., 2001. The status of mouflon in Europe. En: Proceeding of the third International Symposium on Mouflon. Ed. Nálik A. y Uloth W., pp 14-140
- WOODFILL C.J.I., ROBINSON J.E., MALPAUX, B., KARSCH, F.J., 1991. Synchronization of the circannual reproductive rhythm of the ewe by discrete photoperiodic signals. Biol. Reprod. 45, 110-121.

WORTHY K., y HARESIGN W., 1983. Evidence that the onset of seasonal anoestrus in the ewe may be independent of increasing plasma prolactin concentrations and daylength. *J. Reproduction and Fertility*, 69: 41-48.

WORTHY K., HARESIGN W., DODSON S., MCLEOD BJ., FOXCROFT GR., y HAYNES NB. 1985. Evidence that the onset of the breeding season in the ewe may be independent of decreasing plasma prolactin concentrations. *J. Reproduction Fertility*, 75:237-246.

YARNEY TA., SANFORD LM., 1989. Pubertal changes in the secretion of gonadotrophic hormones, testicular gonadotrophic receptor and testicular function in the rams. *Domestic animal endocrinology*, 6: 219-229.