

# EVIDENCIA DE UN CONTROL FOTOPERIÓDICO EN EL CRECIMIENTO DEL CUERNO DEL MUFLÓN (*Ovis orientalis musimon* SCHREBER, 1782)

ADOLFO TOLEDANO-DÍAZ, JULIÁN SANTIAGO-MORENO,  
AMELIA GÓMEZ-BRUNET Y ANTONIO LÓPEZ-SEBASTIÁN

Depto. Reproducción Animal, SGIT-INIA. Avda. Puerta de Hierro, Km 5,9. 28040 Madrid.  
(toledano@inia.es)

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio era determinar el efecto del fotoperiodo en la regulación del crecimiento del cuerno en el muflón. Para ello, siete muflones fueron divididos en dos grupos: Grupo control (n=3), en condiciones de fotoperiodo natural; Grupo tratado (n=4), sometidos a un fotoperiodo artificial constante de días largos (15 horas de luz: 9 de oscuridad), durante 18 meses. En el grupo control se apreciaba una marcada estacionalidad, tanto en el crecimiento del cuerno como en la circunferencia escrotal y secreción de testosterona ( $P < 0,05$ ). El perfil de secreción de la testosterona mostraba una correlación inversa con el crecimiento del cuerno ( $P < 0,05$ ), sugiriendo un efecto inhibitorio de esta hormona sobre el crecimiento del cuerno. En el grupo tratado, el crecimiento del cuerno mantenía un crecimiento sostenido durante el otoño del primer año, disminuyendo a lo largo del segundo año. La secreción de testosterona mostraba un perfil de secreción variable sin correlación individual con el crecimiento del cuerno. Los resultados indican un efecto estimulante del crecimiento del cuerno por parte del fotoperiodo de días largos, y el establecimiento de una refractariedad a dicho estímulo, cuando éste se mantiene continuado en el tiempo.

Palabras clave: Circunferencia escrotal, Cuerno, Fotoperiodo, Muflón, Testosterona.

## ABSTRACT

*Evidence of a photoperiodic control of the horn growth in the European mouflon  
(Ovis orientalis musimon Schreber, 1782)*

The aim of this work was to determine the role of photoperiod on the control of seasonal horn growth in mouflons. Seven mouflon rams were divided randomly into two groups: Control group (n=3), under natural photoperiod conditions, and long day hold group (n=4) where mouflons were maintained under an artificial photoperiod (15 h light: 9 h dark), during 18 months. Control mouflons showed a strong seasonality in the horn growth, scrotal circumference and testosterone secretion ( $P < 0.05$ ). The pattern of the testosterone secretion was inversely correlated with the horn growth ( $P < 0.05$ ), providing support for a possible inhibitory role of this hormone on the horn growth. In long day hold mouflons, the horn growth remained high

in the first autumn, and decreased during the second year. The pattern of testosterone secretion showed a high variability, and no individual correlation with the horn growth was found. Ours findings reveal a stimulation effect of the long-day photoperiod on the horn growth, and a photorefractoriness status of the horn growth when the photoperiodic stimuli is maintained during long times.

Keywords: Horn, Mouflon, Photoperiod, Scrotal circumference, Testosterone.

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo del cuerno de muchas de las especies de ungulados silvestres, como el muflón (*Ovis orientalis musimon* Schreber, 1782), muestra un crecimiento estacional, caracterizado por un incremento del mismo durante el fotoperiodo creciente de primavera y verano, y una ralentización durante el fotoperiodo decreciente de otoño (Lincoln 1998, Santiago-Moreno *et al.* 2005a). Varios estudios indican que algunas de las secreciones endocrinas que regulan el crecimiento estacional del cuerno, están también implicadas en la regulación de la estacionalidad reproductiva (Santiago-Moreno *et al.* 2001, 2003). En este sentido, se ha sugerido que el incremento de los niveles de secreción de la testosterona, durante la estación reproductiva, inhibe el crecimiento del cuerno (Lincoln, 1984, 1998). El objetivo del presente estudio es determinar el papel del fotoperiodo en el crecimiento del cuerno mediante la aplicación de un fotoperiodo artificial constante de días largos, estableciendo su relación con las variaciones endocrinas de actividad testicular.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Siete muflones (1-2 años de edad), mantenidos en cautividad fueron divididos aleatoriamente en dos grupos: Un grupo control (n=3) fue mantenido bajo un fotoperiodo natural, y un grupo tratado (n=4) se mantuvo en condiciones de un fotoperiodo artificial constante de días largos, correspondiente a las horas de luz y oscuridad del solsticio de verano (15 h de luz : 9 h de oscuridad), durante 18 meses, desde el 23 de junio. Cada grupo era mantenido en un parque de 250 m<sup>2</sup> de superficie, con una valla de 4 metros de altura, en condiciones naturales de temperatura y humedad. La alimentación diaria consistía en una ración equilibrada de pienso compuesto, heno de alfalfa, cebada en grano, y paja. Dentro de cada parque disponían de agua en bebederos con agua corriente, y correctores vitamínicos. Los animales fueron habituados al manejo antes del inicio de la

experiencia, cumpliendo siempre la normativa europea sobre experimentación animal (Directiva UE 86/609).

Con periodicidad semanal se procedía a la medición del perímetro de la base del cuerno (BC), a la altura de la unión del cuerno con el pelaje de la cabeza, y la distancia desde la base del cuerno hasta una marca realizada en el cuerno (LM), con el objeto de establecer de forma precisa el crecimiento de la longitud del cuerno. Las medidas fueron realizadas con cinta métrica graduada en mm. Con esta misma periodicidad, se realizaba una medición de la circunferencia escrotal mediante orquímetro, también calibrado en mm.

Las concentraciones plasmáticas de testosterona (T) se determinaron en muestras de sangre recogidas quincenalmente de la vena yugular a las 10 h, 11 h y 12 h con el fin de valorar la secreción media en ese periodo. Inmediatamente la sangre se centrifugaba a 1.500 g durante 15 minutos, y se realizaba un pool de plasma por animal, con alícuotas de cada una de las tres muestras. El plasma era finalmente congelado a -20 °C, hasta el análisis de testosterona mediante radioinmunoanálisis (Santiago-Moreno *et al.* 2005b). Todas las muestras se analizaron en un único análisis. La sensibilidad del análisis fue 0,05 ng/ml, y el porcentaje de recuperación  $80 \pm 3\%$ . El coeficiente de variación intra-análisis fue 13%.

Durante todo el experimento y con una periodicidad bimensual todos los animales eran pesados mediante balanza electrónica para evaluar su condición corporal y su correcto desarrollo.

Para los análisis estadísticos, los valores hormonales fueron transformados a logaritmos para ajustarlos a una distribución normal. La estacionalidad del crecimiento del cuerno, de la evolución testicular y de la secreción de la testosterona fueron analizados mediante una ANOVA de una vía. Las diferencias en el crecimiento del cuerno y la circunferencia escrotal entre los dos grupos fueron analizadas mediante una ANOVA de dos vías. Se realizó una correlación lineal de Pearson entre el perfil de secreción de la testosterona, el crecimiento del cuerno y la circunferencia escrotal con los datos registrados durante todo el periodo experimental. El rango de variación estacional de la circunferencia escrotal fue determinada como la diferencia entre la media de los ocho valores consecutivos más altos menos la media de los ocho más bajos por animal. Estos fueron comparados entre grupos mediante un t-test. Todos los resultados están presentados como las medias mensuales  $\pm$  error estándar (E.S.)

## RESULTADOS

### *Crecimiento del cuerno*

El grupo control muestra una marcada estacionalidad ( $P < 0,01$ ) en el crecimiento de la base y longitud del cuerno. El máximo crecimiento de la circunferencia se establecía durante los meses de primavera ( $0,28 \pm 0,06$  cm/mes), decreciendo en verano ( $0,16 \pm 0,05$  cm/mes), siendo mínimo en otoño ( $0,13 \pm 0,05$  cm/mes) e invierno ( $0,11 \pm 0,04$  cm/mes). El crecimiento en longitud, aunque mantiene unos valores altos durante todo el año, mantiene las variaciones estacionales con un crecimiento máximo en primavera y verano ( $1,89 \pm 0,1$  y  $1,63 \pm 0,18$  cm/mes respectivamente), disminuyendo en otoño ( $1,25 \pm 0,3$  cm) y siendo mínimo en invierno ( $1,07 \pm 0,19$  cm) (Figuras 1 y 2). En el grupo en condiciones de fotoperiodo artificial, no se apreciaba una variación de tipo estacional del crecimiento, aunque sí se detectaban variaciones significativas de crecimiento a lo largo del periodo experimental ( $P < 0,01$ ). En la base del cuerno, el mayor crecimiento ocurría desde agosto a diciembre del primer año ( $0,54 \pm 0,06$  cm/mes), descendiendo entre enero a junio del segundo año ( $0,26 \pm 0,02$  cm/mes), y alcanzando los valores mínimos de julio a diciembre del segundo año ( $0,1 \pm 0,01$  cm/mes). Respecto a la longitud del cuerno, se observaban altos crecimientos de agosto del primer año a enero del segundo año ( $2,17 \pm 0,13$  cm/mes), seguidos de crecimientos medios entre febrero y septiembre del segundo año ( $1,47 \pm 0,11$  cm/mes), disminuyendo bruscamente desde octubre a diciembre del segundo año ( $0,5 \pm 0,19$  cm/mes). Comparando los dos grupos, sólo se encontraron diferencias significativa entre los primeros meses, correspondientes al verano y otoño del primer año ( $P < 0,05$ ) (Figuras 1 y 2).

### *Actividad testicular*

La circunferencia testicular mostraba una variación estacional ( $P < 0,001$ ), caracterizada por un incremento del tamaño en verano ( $25,26 \pm 1$  cm), alcanzando el máximo en otoño ( $27,17 \pm 0,76$  cm), y volviendo a disminuir en invierno ( $22,01 \pm 0,92$  cm) y primavera ( $21,11 \pm 0,71$  cm). El rango de variación entre la media mensual de valores más bajos y la del mes con valores más altos era de  $6,1 \pm 0,5$  cm (Figura 3). En el grupo en condiciones de fotoperiodo artificial también fue detectada una estacionalidad en el tamaño testicular ( $P < 0,05$ ), aunque los valores siempre se mantuvieron muy por debajo que los del grupo en fotoperiodo

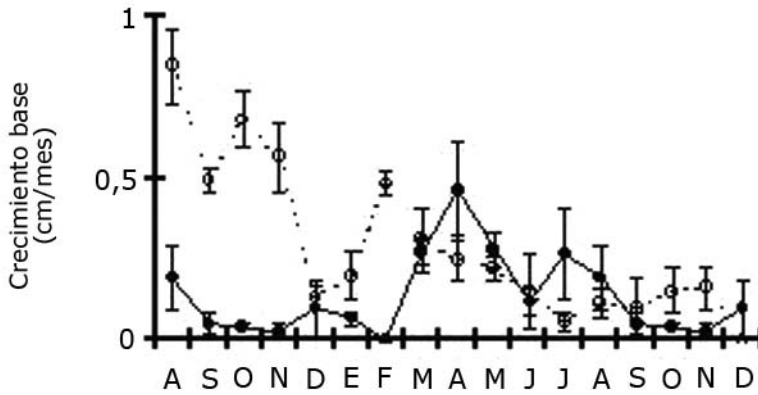


Figura 1. Crecimiento mensual de la circunferencia de la base del cuerno durante los 17 meses (cm, medias  $\pm$  E.S.). G Control (●). G Tratado (○).

*Monthly horn base circumference growth (cm; mean  $\pm$  SEM). Control (●), Treatment (○).*

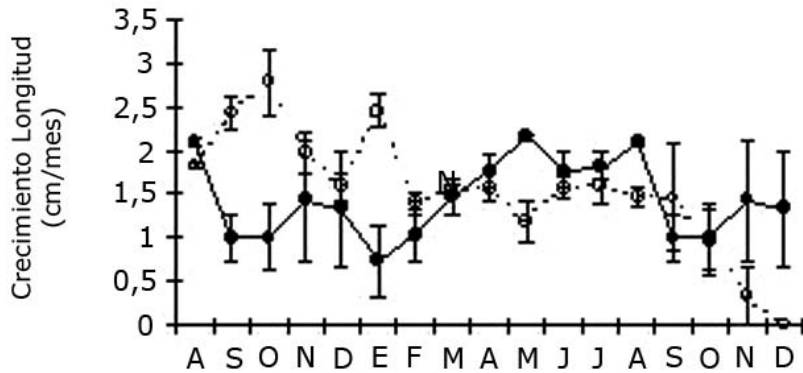


Figura 2. Crecimiento mensual en longitud del cuerno durante los 17 meses (cm, medias  $\pm$  E.S.). G Control (●). G Control (○).

*Monthly horn length growth (cm; mean  $\pm$  SEM). Control (●), Treatment (○).*

natural (Figura 3), siendo la diferencia de variación mensual entre los meses más altos y más bajos de sólo  $3,7 \pm 0,3$  cm.

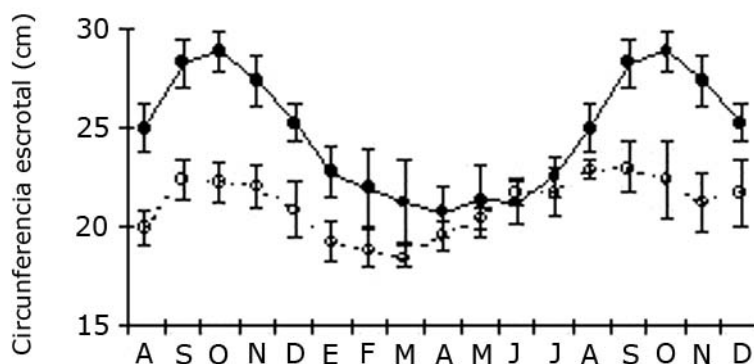


Figura 3. Variación anual de la circunferencia testicular (cm, media mensual  $\pm$  E.S).  
Grupo control ( $\bullet$ ), Grupo tratados (O).

*Annual changes in the scrotal circumference (cm, monthly mean  $\pm$  SEM).  
Control ( $\bullet$ ), Treatment (O).*

Con relación a las concentraciones plasmáticas de testosterona, el grupo control mostraba una marcada estacionalidad en su patrón de secreción ( $P < 0,001$ ) (Figura 4). En el mes de septiembre se incrementan las concentraciones plasmáticas ( $4,76 \pm 0,55$  ng/ml), hasta alcanzar las máximas concentraciones en octubre ( $9,02 \pm 1,27$  ng/ml), volviendo a descender entre los meses de noviembre ( $2,85 \pm 0,12$  ng/ml) y diciembre ( $1,3 \pm 0,29$  ng/ml), siendo basales en el resto del año ( $< 2,5$  ng/ml). En el grupo mantenido en fotoperiodo artificial, se apreciaba una alta variabilidad individual en los periodos de incremento y disminución de los niveles de testosterona (Figura 4). Así en dos animales el momento de máxima de secreción acontecía en octubre y noviembre, respectivamente, mientras que en los otros dos aparecía en junio y agosto, respectivamente.

### ***Correlación entre crecimiento del cuerno y la actividad testicular***

El grupo control mostraba una correlación significativa durante todo el periodo experimental entre la circunferencia escrotal y las concentraciones plasmáticas de testosterona ( $P < 0,001$ ;  $r = 0,57$ ; Figura 5), donde se observa como el

incremento del tamaño testicular era seguido de un incremento en la secreción de testosterona. También en este grupo se encontró una correlación negativa entre el periodo de máxima de secreción de testosterona y el crecimiento en longitud del cuerno ( $P < 0,05$   $r = -0,49$ ; Figura 5). Concretamente, entre los meses de julio, agosto y septiembre, se produce una disminución en el crecimiento en longitud del cuerno coincidiendo con un incremento en la concentración de testosterona en ese mismo periodo. En el grupo mantenido en condiciones de fotoperiodo artificial no se apreciaba ninguna correlación entre las concentraciones plasmáticas de testosterona, la circunferencia escrotal y el crecimiento del cuerno.

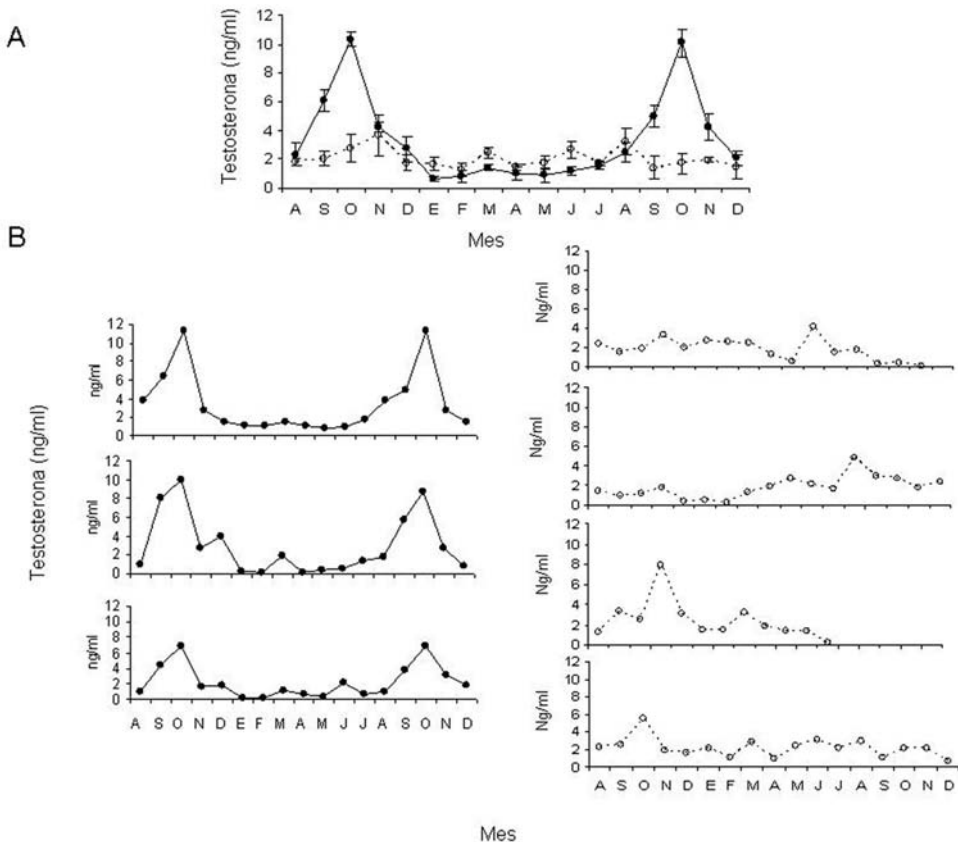


Figura 4. Variaciones anuales en la secreción de testosterona (ng/ml). (A) media mensual de cada grupo. (B) media mensual individual. G. Control (●) G. Tratado (○).

*Annual variations of testosterone secretion (ng/ml). (A) monthly group mean. (B) monthly individual mean. Control (●) Treatment (○).*

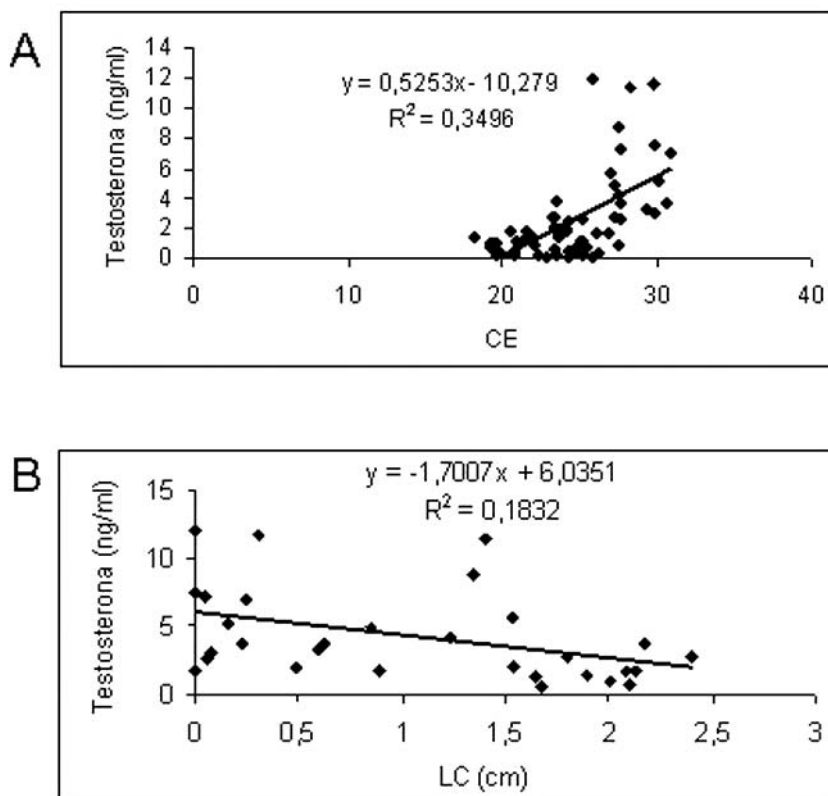


Figura 5. Correlación entre la concentración de testosterona con (A) la circunferencia escrotal y (B) el crecimiento en longitud del cuerno en muflones mantenidos bajo un fotoperiodo natural.

*Correlation between testosterone concentration and (A) scrotal circumference and (B) length horn growth in mouflon rams under natural photoperiod conditions.*

## DISCUSIÓN

Los resultados muestran un efecto estimulante del crecimiento del cuerno por parte del fotoperiodo de días largos, que prevalece sobre un posible efecto inhibitorio ejercido por altas concentraciones de testosterona. El patrón de crecimiento del cuerno y las variaciones estacionales de la actividad testicular, en los muflones mantenidos en condiciones de fotoperiodo natural, coinciden con los previamente obtenidos en nuestro laboratorio (Santiago-Moreno *et al.* 2005a, b). Si bien el crecimiento del cuerno presenta un crecimiento continuo desde el

nacimiento hasta el primer año (Santiago-Moreno *et al.* 2000), a los 2 años de edad el crecimiento del cuerno presenta una dinámica estacional con bajos crecimientos durante los meses de otoño e invierno. Posteriormente, el crecimiento durante otoño e invierno es prácticamente nulo en animales con edades superiores a los 3 años (Santiago-Moreno *et al.* 2005a, b).

La evolución del tamaño testicular y niveles de secreción de testosterona mostraban una clara estacionalidad reproductiva característico de rumiantes silvestres de zonas templadas (Bronson 1985, Santiago-Moreno 2004). Durante los días largos la circunferencia testicular y los niveles de testosterona en plasma eran mínimos, mientras que con la disminución del fotoperiodo en 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).

Con relación al crecimiento del cuerno, la estacionalidad en su crecimiento se pierde en condiciones de fotoperiodo artificial. El hecho que el crecimiento del cuerno se mantenga a niveles superiores que en el grupo control, apuntan, claramente, un efecto estimulante del fotoperiodo sobre este crecimiento (Santiago-Moreno *et al.* 2001, 2003). En poblaciones en condiciones silvestres, Hoefs (1982) observó diferencias en la dinámica del crecimiento dependiendo del fotoperiodo y la latitud donde se ubicasen, indicando que las poblaciones localizadas más al sur de Europa presentan un crecimiento más rápido durante los primeros años de vida. Nuestros resultados revelan que el efecto estimulante del fotoperiodo constante de días largos no es permanente. Transcurrido un tiempo se produce un efecto que podríamos denominar de fotorefractariedad por el cual se perdería la sensibilidad al estímulo del fotoperiodo, de igual manera lo descrito previamente para la fotorefractariedad de la actividad neuroendocrino-gonadal (Almeida y Lincoln 1985, Nicholls *et al.* 1989). En moruecos mantenidos durante largo tiempo bajo condiciones de fotoperiodos constantes de día largos o de días cortos, el efecto inhibitorio o estimulador del fotoperiodo sobre la actividad reproductiva deja de tener efecto, tal como refleja la evolución de su tamaño testicular, secreción de prolactina, testosterona, LH o FSH (Howles *et al.* 1982, Lincoln y Ebling 1985, Martin *et al.* 1999). El establecimiento de estos estados de refractariedad apuntan la existencia de ritmos endógenos de actividad neuroendocrina (Karsch *et al.* 1989, D'Occhio y Suttie 1992). Igual a lo establecido para la actividad reproductiva (Karsch *et al.* 1989) y la de los folículos pilosos de la piel (Allain *et al.* 1994), nuestros resultados pueden sugerir la existencia de

ritmos endógenos de actividad de crecimiento del cuerno. Para evidenciar esta hipótesis, hubiese sido necesario un mayor periodo de estudio bajo condiciones artificiales del fotoperiodo.

La correlación negativa encontrada en el grupo control entre la secreción de testosterona y el crecimiento del cuerno, apoya la teoría sugerida por varios autores (Lincoln 1990, Santiago-Moreno *et al.* 2005a) de que el incremento de secreción producido en la época de actividad sexual, induce la parada o disminución del crecimiento del cuerno. Como se aprecia en nuestros resultados, en el mes de septiembre se produce el aumento de la secreción de testosterona que coincide con la caída en el crecimiento del cuerno, en muflones mantenidos en condiciones naturales. El hecho de que en los muflones sometidos a un fotoperiodo artificial la disminución del crecimiento del cuerno, a lo largo del experimento, no esté relacionada con el perfil de secreción de testosterona, sugirieren que el efecto estimulante del fotoperiodo de días largos prevalecería sobre el efecto inhibitorio ejercido por altas concentraciones de testosterona.

En conclusión, nuestros resultados muestran que el fotoperiodo ejerce un papel regulador del crecimiento estacional del cuerno en el muflón. Esta regulación consiste en una actividad estimulante ejercida por parte del fotoperiodo de días largos.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado mediante los proyectos del Plan Nacional AGL2001-0335 y AGL2004-03439.

#### REFERENCIAS

- ALLAIN, D., R. G. THEBAULT, J. ROUGEOT Y L. MARTINET (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 G. A. LINCOLN (1985). Reproductive photorefractoriness in rams and accompanying changes in the patterns of melatonin and prolactin secretion. *Biology of reproduction*, 30: 143-158.
- BRONSON, F. M. (1985). Mammalian Reproduction: An Ecological Perspective. *Biology of Reproduction*, 32: 1-26.
- D'OCCHIO, M. J. Y J. M. SUTTIE (1992). The role of the pineal gland and melatonin in reproduction in male domestic ruminants. *Animal Reproduction Science*, 30: 135-155.

- HOEFS, V. M. (1982). Beitrag zur Morphometrie und Wachstumsdynamik der Schnecke des Muffelwidders (*Ovis ammon musimon* Schreber, 1782). *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, 28: 145-162.
- HOWLES, C. M., J. CRAIGON Y N. B. HAYNES (1982). Long-term 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.
- KARSCH, F. J., J. E. ROBINSON, C. J. I. WOODFILL Y M. B. BROWN (1989). Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to fixed photoperiod: evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biology of Reproduction*, 41: 1034-1046.
- LINCOLN, G. A. (1984). Central effects of photoperiod on reproduction in the ram revealed by the used of a testosterone clamp. *Journal of Endocrinology*, 103: 233-241.
- 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. *Journal of 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 F. EBLING (1985). Effect of constant-release implants of melatonin on seasonal cycles in reproduction, prolactin secretion and moulting in rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 73: 241-253.
- LINCOLN, G. A., C. E. LINCOLN Y A. S. MCNEILLY (1990). Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 88: 623-633.
- MARTIN, G. B., M. J. S. TJONDRONEGORO, HÖTZEL, R. BOUKHLIQ, M. A. BLACKBERRY, J. R. BRIEGEL, D. BLACHE, J. A. FISHER, Y N. R. ADAMS (1999). Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Sufflk sheep: modification of endogenous rhythms by photoperiod. *Reproduction Fertility and Development*, 11: 355-366.
- NICHOLLS, T. J., G. L. JACKSON Y B. K. FOLLETT (1989). Reproductive refractoriness in the Welsh Mountain ewe induced by a short photoperiod can be overridden by exposure to a shorter photoperiod. *Biology of reproduction*, 40: 81-86.
- SANTIAGO-MORENO, J., A. GÓMEZ-BRUNET, A. GONZÁLEZ-BULNES, A. TOLEDANO-DÍAZ, B. MALPAUX, Y A. LÓPEZ-SEBASTIÁN (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., A. GÓMEZ-BRUNET, A. TOLEDANO-DÍAZ, A. GONZÁLEZ-BULNES, R. A. PICAZO Y A. LÓPEZ-SEBASTIÁN (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., A. GONZÁLEZ-BULNES, A. GÓMEZ-BRUNET Y A. LÓPEZ-SEBASTIÁN (2000). Effect of birth date on body weight, scrotal circumference and horn dimension growth in captive juvenile mouflon (*Ovis gmelini musimon*) rams. *Game Willdlife Science*, 17(3): 179-187.
- SANTIAGO-MORENO, J., A. GONZÁLEZ-BULNES, A. GÓMEZ-BRUNET Y A. LÓPEZ-SEBASTIÁN (2001). Influencia medioambiental (fotoperiodo, nutrición) y control endocrino del desarrollo del cuerno/a en rumiantes de interés cinegético (revisión). *Investigación Agraria. Producción y Sanidad Animal*, 16 (1): 80-97
- SANTIAGO-MORENO, J., A. GONZÁLEZ-BULNES, A. GÓMEZ-BRUNET Y A. LÓPEZ-SEBASTIÁN (2003). *El Muflón (Ovis gmelini musimon): caracterización funcional y recurso cinegético*. Monografías INIA: Ganadería N°2. Ministerio de Ciencia y Tecnología, Madrid. 217pp.
- SANTIAGO-MORENO, J., A. TOLEDANO-DÍAZ, A. GÓMEZ-BRUNET, Y A. LÓPEZ-SEBASTIÁN (2004). El muflón europeo (*Ovis orientales musimon*, Schreber, 1782) en España: consideraciones históricas, filogenéticos y fisiología reproductiva. *Galemys*, 16 (2): 3-20.