

Efectos de la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón y del nivel de grasa animal en el pienso sobre el rendimiento productivo y los parámetros digestivos de conejos en crecimiento

Universidad CEU Cardenal Herrera

**Departamento de Producción y Sanidad Animal,
Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología
de los Alimentos**



Efectos de la inclusión de fibra fermentable en
sustitución de almidón y del nivel de grasa animal
en el pienso sobre el rendimiento productivo y los
parámetros digestivos de conejos en crecimiento

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

M^a Dolores Soler Sanchis

Dirigida por:

Dr. Enrique Blas Ferrer

Dr. Carlos Garcés Narro

VALENCIA

2014

A la atención de la Directora del Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, D^a Milagros Mateos Otero.

Por la presente le comunicamos que, como Directores de la Tesis Doctoral presentada por:

D^a María Dolores Soler Sanchis,

cuyo título es: *Efectos de la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón y del nivel de grasa animal en el pienso sobre el rendimiento productivo y los parámetros digestivos de conejos en crecimiento,*

consideramos que el trabajo realizado ha sido satisfactorio y por ello solicitamos que se proceda a tramitar su presentación, lectura y defensa dentro del Departamento Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, de acuerdo con la Normativa establecida.

Atentamente

Alfara, a 10 de septiembre de 2014

Dr.D. Enrique Blas Ferrer

Dr.D. Carlos Garcés Narro

Directores de la Tesis Doctoral.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo presentado en esta memoria de Tesis ha sido realizado en el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia y en el Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad CEU Cardenal Herrera.

Quisiera expresar mi agradecimiento, en primer lugar, a los miembros del tribunal de esta tesis.

A Dña. Concha Cervera de la Universidad Politécnica de Valencia y a D. Joaquim Balcells de la Universitat de Lleida por haber aceptado ser los revisores de esta Tesis.

Quisiera mostrar mi especial gratitud y cariño a mis dos directores:

A Enrique Blas, por la oportunidad que me ha brindado, por haberme acogido en su proyecto, por su amabilidad, su ejemplar capacidad de trabajo y por su paciencia infinita.

A Carlos Garcés por su inestimable ayuda, apoyo, dedicación, comprensión y amistad.

A ambos gracias por su confianza, profesionalidad, orientación, formación prestada y su excelente predisposición, empatía y trato.

A todos los compañeros con los que trabajé en este proyecto (en la granja, en el laboratorio,..) a Cristina, a Olga,...

A mis compañeros y amigos del Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, por su interés, apoyo, simpatía y por los ánimos, especialmente a Lorena, Mila, Olga, Ernesto,... y a J. Antonio.

Por último y particularmente me gustaría agradecer a mi maravillosa familia, a mis padres Antonio y M^a Dolores y a mi hermano todo su cariño, su apoyo y comprensión y especialmente la ilusión con la que han vivido y compartido este proyecto.

A Alejandro por creer en mí, por quererme tal como soy y por ayudarme a realizar este increíble sueño, ser doctora en veterinaria.

Y como no ... a mis perretes Noel e Izar.

A todos, GRACIAS.

ABREVIATURAS E ÍNDICES

ABREVIATURAS

AGV:	<i>Ácidos grasos volátiles</i>
CDIA:	<i>Coeficiente de digestibilidad ileal aparente</i>
DI:	<i>Digestibilidad ileal</i>
EB:	<i>Energía bruta</i>
ED:	<i>Energía digestible</i>
EE:	<i>Extracto etéreo</i>
EEC:	<i>Enteropatía Epizoótica del Conejo</i>
FAD:	<i>Fibra ácido detergente</i>
FB:	<i>Fibra bruta</i>
FD:	<i>Fibra dietaria</i>
FDI:	<i>Fibra dietaria insoluble</i>
FDS:	<i>Fibra dietética soluble</i>
FDT:	<i>Fibra dietaria total</i>
FND:	<i>Fibra neutro detergente</i>
FS:	<i>Fibra soluble</i>
FSDN:	<i>Fibra soluble en detergente neutro</i>
GB:	<i>Grasa bruta (equivalente a EE)</i>
HCI:	<i>Hemicelulosas insolubles</i>
IEL:	<i>Linfocitos intraepiteliales</i>
iRS:	<i>Índice de riesgo sanitario</i>
LAD:	<i>Lignina ácido detergente</i>
LPL:	<i>Linfocitos de la lámina propia</i>
MO:	<i>Materia orgánica</i>
MS:	<i>Materia seca</i>
NH₃:	<i>Nitrógeno amoniacal</i>
PB:	<i>Proteína bruta</i>
Ratio FFA:	<i>Relación entre fibra fermentable y fibra fermentable + almidón</i>
vs.:	<i>Versus</i>

ÍNDICE

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
1. PROBLEMÁTICA ACTUAL DE LA ALIMENTACIÓN Y LA PATOLOGÍA EN CUNICULTURA.....	3
2. MORFOLOGÍA Y FUNCIÓN DEL TRACTO GASTROINTESTINAL EN EL CONEJO	6
2.1. SÍNTESIS ANATOMO-FISIOLÓGICA	6
2.1.1 Estómago	7
2.1.2 Intestino delgado	7
2.1.3 Intestino grueso	8
2.2. HISTOLOGÍA DEL INTESTINO	9
2.3. ECOSISTEMA MICROBIANO CECAL	12
2.3.1 Microbiota	13
2.3.2 Actividad microbiana.....	16
2.3.3 Otras funciones de la microbiota.....	20
2.4. SISTEMA INMUNE ASOCIADO AL INTESTINO	20
3. MADURACIÓN DEL TRACTO GASTROINTESTINAL EN EL CONEJO	24
3.1. DESARROLLO MORFOLÓGICO	24
3.2. DESARROLLO FUNCIONAL	26
3.2.1 Evolución de la secreción gástrica.....	26
3.2.2 Evolución de la secreción pancreática e intestinal	27
3.2.3 Colonización microbiana	29
3.2.4 Evolución de la capacidad digestiva	35
4. IMPACTO DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO Y LA SALUD GASTROINTESTINAL DEL CONEJO EN CRECIMIENTO.....	37
4.1. COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO DE LOS GAZAPOS LACTANTES	37
4.2. EFECTOS DE LA INGESTIÓN DE LECHE Y PIENSO Y DE LA EDAD AL DESTETE	41
4.3. EFECTOS DE LA COMPOSICIÓN DEL PIENSO	44
4.3.1 Fibra	48
4.3.2 Almidón.....	61

4.3.3	Proteína	65
4.3.4	Grasa.....	69
4.4.	EFFECTOS DEL RACIONAMIENTO POSTDESTETE.....	71
5.	CONCLUSIONES DE LA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	73
CAPÍTULO II. OBJETIVOS.....		78
CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS.....		83
1.	DISEÑO EXPERIMENTAL	83
1.1.	PIENSOS.....	83
1.2.	EXPERIMENTO 1: EFECTO SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE CONEJOS EN CRECIMIENTO	86
1.2.1	Animales	86
1.2.2	Procedimiento experimental.....	87
1.3.	EXPERIMENTO 2: EFECTO SOBRE EL DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL, LA MORFOMETRÍA DE LA MUCOSA YEYUNAL, LA DIGESTIBILIDAD ILEAL APARENTE Y EL AMBIENTE CECAL EN CONEJOS EN CRECIMIENTO	89
1.3.1	Animales	89
1.3.2	Procedimiento experimental.....	89
2.	INSTALACIONES Y ALOJAMIENTOS	93
3.	ANÁLISIS QUÍMICOS	94
4.	MORFOMETRÍA DE LA MUCOSA YEYUNAL.....	96
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	97
5.1.	EXPERIMENTO 1	97
5.2.	EXPERIMENTO 2	98
CAPÍTULO IV. RESULTADOS		101
1.	EXPERIMENTO 1: EFECTO SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE CONEJOS EN CRECIMIENTO	101
1.1.	PREDESTETE (17-28 días de vida).....	101
1.1.1	Ingestión de pienso, ganancia de peso e índice de conversión	105
1.1.2	Mortalidad	107

2. EXPERIMENTO 2: EFECTO SOBRE EL DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL, LA MORFOMETRÍA DE LA MUCOSA YEYUNAL, LA DIGESTIBILIDAD ILEAL APARENTE Y EL AMBIENTE CECAL EN CONEJOS EN CRECIMIENTO	110
2.1. DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL	110
2.2. MORFOMETRÍA DE LA MUCOSA YEYUNAL	112
2.3. DIGESTIBILIDAD ILEAL APARENTE	115
2.4. AMBIENTE CECAL	117
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	121
1. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE FIBRA FERMENTABLE EN SUSTITUCIÓN DE ALMIDÓN.....	121
1.1. RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS (INGESTIÓN DE PIENSO, GANANCIA DE PESO E ÍNDICE DE CONVERSIÓN) Y DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL	122
1.2. MORTALIDAD.....	128
1.3. PARÁMETROS DIGESTIVOS	129
2. EFECTO DEL NIVEL DE GRASA ANIMAL.....	136
2.1. RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS (INGESTIÓN DE PIENSO, GANANCIA DE PESO E ÍNDICE DE CONVERSIÓN) Y DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL	136
2.2. MORTALIDAD.....	138
2.3. PARÁMETROS DIGESTIVOS	138
3. EFECTO DE LA EDAD SOBRE LOS PARÁMETROS DIGESTIVOS EN POSTDESTETE.....	139
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	143
CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA	147

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las principales poblaciones bacterianas en el ciego del conejo (elaboración propia)	14
Tabla 2. Familias, géneros y especies bacterianas en el ciego del conejo (elaboración propia).....	15
Tabla 3. Ingredientes de los piensos experimentales (g/kg MS).....	84
Tabla 4. Composición de los piensos experimentales (g/kg MS).....	85
Tabla 5. Composición de los piensos experimentales marcados con óxido de iterbio (g/kg MS).....	86
Tabla 6. Número de animales asignados por cada pienso y edad en el Experimento 2. ..	90
Tabla 7. Número de muestras utilizadas por cada pienso y edad para las medidas del tracto gastro-intestinal en el Experimento 2.....	90
Tabla 8. Número de muestras utilizadas por cada pienso y edad para las medidas de de la mucosa yeyunal en el Experimento 2.....	91
Tabla 9. Número de muestras utilizadas por cada pienso y edad para las medidas de la digestibilidad ileal aparente en el Experimento 2.	92
Tabla 10. Número de muestras utilizadas por cada pienso y edad para las medidas del ambiente cecal en el Experimento 2.....	93
Tabla 11. Tamaño, peso, ingestión de leche e ingestión de pienso de las camadas en predestete (17-28 días de vida) según la ratio FFA y el nivel de grasa animal incluida en los piensos.	102
Tabla 12. Ingestión de pienso, ganancia de peso vivo e índice de conversión durante el cebo según la ratio FFA y el nivel de grasa animal incluida en los piensos.	106
Tabla 13. Mortalidad (%) durante el cebo según la ratio FFA y el nivel de grasa animal incluida en los piensos.	108

Tabla 14. Desarrollo del tracto gastrointestinal (% peso vivo) según el pienso y la edad.	113
Tabla 15. Morfometría de la mucosa yeyunal (μm) según el pienso y la edad.....	114
Tabla 16. Digestibilidad ileal aparente (%) según el pienso y la edad.....	116
Tabla 17. Composición, pH y actividades enzimáticas microbianas del contenido cecal (29-43 días de vida) según el tipo de pienso y la edad.	118
Tabla 18. Efecto de la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón sobre los rendimientos productivos y el ambiente cecal de gazapos en postdestete.	125
Tabla 19. Flujo ileal calculado para la 6 ^a semana de vida según el pienso.....	133

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación de los diferentes segmentos digestivos del conejo (Lebas et al., 1996). Parámetros observados en conejos de 12 semanas de edad.....	6
Figura 2. Fotografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (x 100) de las vellosidades intestinales en duodeno (A), yeyuno (B) e íleon (C) de conejos de 16 semanas de vida (Yu y Chiou, 1997).....	10
Figura 3. Representación en tres dimensiones de la mucosa intestinal (Corpa, 2005)....	10
Figura 4. Anatomía microscópica de las vellosidades intestinales (Bowen et al., 2000)..	11
Figura 5. Corte histológico de la pared intestinal	12
Figura 6. Esquema del metabolismo de los nutrientes en el ciego del conejo (Gidenne et al., 2007a).	17
Figura 7. Esquemas del tejido linfoide asociado al intestino (Fortun-Lamothe y Boullier, 2007).	21
Figura 8. Células M del epitelio intestinal (Roitt y Delves, 2003; Fortun-Lamothe y Boullier, 2007).	22
Figura 9. Morfología del tejido linfoide organizado del intestino del conejo (Fortun-Lamothe y Boullier, 2007).	23
Figura 10. Desarrollo del tracto intestinal de conejos destetados a 35 días (proporción del peso de los segmentos y su contenido con respecto al peso corporal) (Carabaño et al., 2010).....	25
Figura 11. Desarrollo del ciego (órgano y contenido) de conejos (% del peso vivo) (Gidenne et al., 2007a).....	25
Figura 12. Cinética de implantación de algunas poblaciones bacterianas en el ciego de gazapos en crecimiento (datos obtenidos mediante cultivo) (Gidenne et al., 2008).	30

Figura 13. Biodiversidad de la microbiota cecal en conejas y camadas (García et al., 2005).	31
Figura 14. Evolución de la actividad fibrolítica en el ciego del conejo (Gidenne et al., 2008).	32
Figura 15. Evolución de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y de amoniaco (NH ₃), así como del pH en el contenido cecal de conejos entre la 3 ^a y la 6 ^a semana de vida (Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002).	33
Figura 16. Esquema del desarrollo del repertorio de anticuerpos en el conejo (Fortun-Lamothe y Boullier, 2007).	35
Figura 17. Evolución de la ingestión de leche, pienso y agua en gazapos (Gidenne et al., 2010c).	38
Figura 18. Evolución de la ingestión de nutrientes en gazapos de 17 a 40 días (estimada con leche de composición media y pienso ajustado a las recomendaciones para conejas lactantes; Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002)..	40
Figura 19. Sistema de alimentación convencional para gazapos.	46
Figura 20. Sistema de alimentación para gazapos basado en el empleo de pienso peridestete.	47
Figura 21. Clasificación de la fibra dietaria (adaptado de Li, 1995).	49
Figura 22. Métodos analíticos para determinar la fibra dietaria (adaptado de Gidenne, 2003).	51
Figura 23. Posibles interacciones alrededor del destete entre las modificaciones del estatus nutricional, el hospedador y la flora microbiana en el tracto digestivo (Gallois, 2006).	74
Figura 24. Esquema del trabajo experimental.	87

Figura 25. Medidas en las vellosidades (A: altura) y criptas de Lieberkühn (P: profundidad) de la mucosa yeyunal de los gazapos.....	96
Figura 26. Ingestión de pienso en función de su ratio FFA (fibras fermentables/[fibras fermentables + almidón]).....	103
Figura 27. Ingestión de pienso en función del nivel de grasa animal incluida en distintas fases del periodo predestete.	104
Figura 28. Evolución de la mortalidad durante el cebo en función de la ratio FFA (fibras fermentables/[fibras fermentables + almidón]).....	109
Figura 29. Peso del estómago y del contenido gástrico según el pienso y la edad.	111
Figura 30. Peso del ciego según el pienso y la edad.....	112
Figura 31. Digestibilidad ileal aparente del almidón (%) según el pienso y la edad.	115

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. PROBLEMÁTICA ACTUAL DE LA ALIMENTACIÓN Y LA PATOLOGÍA EN CUNICULTURA

En la actualidad, el subsector cunícola europeo está asentado, fundamentalmente, en países como Italia, España y Francia. Con el fin de lograr los mejores resultados, los factores de producción en cunicultura han ido evolucionando hacia la intensificación, al igual que en la gran mayoría de las especies ganaderas. Así, en la actualidad se dispone de instalaciones adaptadas, de animales mejorados mediante selección genética y, por tanto, con mayor potencial productivo, de eficaces técnicas reproductivas (inseminación artificial) y de ventajosos sistemas de manejo (en bandas). También han cambiado los sistemas de alimentación, desde el tradicional, basado en el aprovechamiento de los recursos disponibles en el entorno cercano, hasta los actuales basados en el empleo de piensos compuestos granulados que cubren las necesidades nutricionales específicas de cada fase del ciclo fisiológico-productivo de los animales.

En este contexto, la rentabilidad de la producción de carne de conejo pasa por optimizar la influencia de la alimentación sobre el rendimiento productivo y la salud de los animales. A este respecto, la mayor preocupación de los cunicultores desde hace unos años es la elevada mortalidad que se produce durante el periodo de cebo de los conejos, debido, principalmente, a las enfermedades digestivas, causantes del 60% de la mortalidad en dicho periodo (Rosell, 1996). Para reducir la aparición de este tipo de enfermedades y mejorar el estado sanitario general de los animales se han incorporado en el pienso, durante décadas, sustancias antibióticas a dosis subterapéuticas (antibióticos promotores del crecimiento). Sin embargo, su uso está prohibido en toda la Unión Europea desde el 1 de enero de 2006, permitiéndose en la actualidad la adición de antibióticos en los piensos únicamente con fines terapéuticos, es decir, cuando ya se ha manifestado un determinado proceso patológico en la explotación.

En el conjunto de las enfermedades digestivas cabe destacar, sin lugar a dudas, la Enteropatía Epizootica del Conejo (EEC), desde su aparición en España entre finales de 1996 y principios de 1997. Según Rosell y Badiola (2001), el 98% de las explotaciones españolas se han visto afectadas por esta epizootia, que causa mortalidades de casi un 70% de los gazapos (hasta el 67,5% en la fase inicial del cebo y hasta el 30% en la semana previa al destete). En la misma línea, De Blas *et al.* (2002) encuentran mortalidades de entre un 20 y un 60% durante el cebo. Estos datos llevan a considerar a esta enfermedad

como la más grave en las explotaciones cunícolas en España (Pérez de Rozas *et al.*, 2005). La situación es análoga en los otros países europeos productores de carne de conejo como Francia, Italia y Portugal (Licois *et al.*, 2000).

La EEC afecta principalmente a animales que se encuentran entre la tercera y décima semana de vida, caracterizándose por una importante reducción en la ingestión de pienso y agua, una disminución de los rendimientos productivos y una elevada tasa de mortalidad.

En referencia a los signos clínicos, el más característico y frecuente es el borborismo, reflejo de un mayor contenido acuoso tanto en el estómago como en el intestino. Generalmente es el primer signo en aparecer y el último en desaparecer, por lo que puede servir como referencia de la evolución de la enfermedad (Pérez de Rozas *et al.*, 2005), pudiéndose observar otros signos como timpanismo, compactación cecal, diarrea y, en ocasiones, deposiciones con moco, como respuesta del colon a la compactación de la digesta (García *et al.*, 2005).

En la necropsia se puede apreciar líquido y gas en el estómago, compactación en el ciego y presencia de moco en el colon (García *et al.*, 2005), mientras que en el estudio histopatológico destaca la ausencia, prácticamente total, de lesiones inflamatorias en el intestino (Pérez de Rozas *et al.*, 2005).

En décadas anteriores ya se habían observado animales que mostraban cuadros similares. Flatt *et al.* (1974) utilizaron el término de Enteropatía Mucoide para designar una enfermedad del aparato digestivo del conejo, con los signos clínicos siguientes: pérdida del apetito, abatimiento, timpanismo, presencia de moco en heces, rechinar de dientes, hipotermia y deshidratación. En cuanto a las lesiones macroscópicas, era destacable la dilatación del estómago y su contenido líquido y gaseoso, además de compactación de la digesta en el ciego y, eventualmente, en segmentos del intestino próximos (íleon y colon), además de la característica presencia de moco gelatinoso, sobre todo en colon; la ausencia de enteritis era habitual.

Los estudios sobre la etiología de la EEC se están centrando en la investigación de las alteraciones bacterianas intestinales como parte fundamental de la etiopatogenia de la enfermedad (Licois *et al.*, 2005; Pérez de Rozas *et al.*, 2005; Huybens *et al.*, 2009; Duperray *et al.*, 2011). No obstante, la etiología sigue sin dilucidarse y, consecuentemente, no se dispone ni de profilaxis ni de tratamientos específicos para enfrentarse a esta enfermedad. Desde un punto de vista práctico, en las explotaciones se vienen estableciendo diferentes pautas a base de la combinación y alternancia de antimicrobianos tanto frente a

bacterias Gram positivas como frente a bacterias Gram negativas, a través del pienso o del agua, como forma más o menos efectiva de reducir las tasas de morbilidad y mortalidad.

La alimentación no debe considerarse como una causa primaria de los problemas digestivos en general, ni de la EEC en particular, si se respetan las recomendaciones establecidas en materia tanto de niveles de nutrientes, como de control de calidad de las materias primas y del proceso de fabricación del pienso (Blas *et al.*, 2000; Acedo-Rico *et al.*, 2010; De Blas y Mateos, 2010). Basta con señalar que animales alimentados con el mismo pienso pueden mostrar mortalidades por ECC que oscilan entre el 0 y el 70%, dependiendo de la granja o del periodo del año (García *et al.*, 2005).

Realmente, la alimentación debería considerarse como un factor de riesgo epidemiológico. En este contexto, debe tenerse en consideración que en el entorno del destete (periodo peridestete), los gazapos experimentan toda una serie de cambios relacionados con la transición de una dieta a base de leche a una dieta sólida. Este proceso de maduración digestiva implica importantes cambios morfológicos y funcionales, como los que afectan al tamaño de los segmentos digestivos, a la histomorfología de la mucosa intestinal, a las actividades enzimáticas, a la composición y actividad fermentativa de la microbiota cecal y al tejido linfoide asociado al intestino (Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002). Entre tales cambios, hay que destacar la evolución del ecosistema microbiano simbiótico que se establece en el ciego y de los procesos de fermentación que se producen a partir del comienzo de la ingestión sólida. Licois y Gidenne (1999) señalan que el primer alimento sólido que ingiera el animal puede condicionar la orientación de la colonización microbiana, la actividad fermentativa, el ambiente cecal y la estabilidad del ecosistema microbiano.

En consecuencia, es presumible que las necesidades nutricionales de los gazapos durante este periodo sean muy específicas, en particular si el objetivo es optimizar su salud gastrointestinal. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en otros mamíferos de interés productivo, los gazapos no reciben un pienso específico para este periodo sino que consumen piensos diseñados para atender las necesidades de conejas lactantes (antes del destete) o de conejos de cebo (después del destete). Esta es la perspectiva desde la que debe entenderse la investigación realizada durante la última década para limitar la EEC (y reducir el empleo de antibióticos) con enfoques nutricionales, que básicamente se ha centrado en cuatro ámbitos: la optimización de la composición del pienso para gazapos en predestete o/y postdestete, la restricción alimentaria en postdestete, el retraso de la edad al destete (Martínez-Vallespín, 2012), así como la utilización de ciertos aditivos (enzimas, acidificantes, prebióticos y probióticos) como alternativa a los antibióticos (Falcão-e-Cunha *et al.*, 2007).

2. MORFOLOGÍA Y FUNCIÓN DEL TRACTO GASTROINTESTINAL EN EL CONEJO

2.1. SÍNTESIS ANATOMO-FISIOLÓGICA

El aparato digestivo está compuesto por una sucesión de órganos: la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon), el ciego, el colon (proximal y distal) y, por último, el recto que finaliza en el ano; además, hay de una serie de glándulas anejas que vierten sus contenidos a lo largo del tracto digestivo (**Figura 1**).

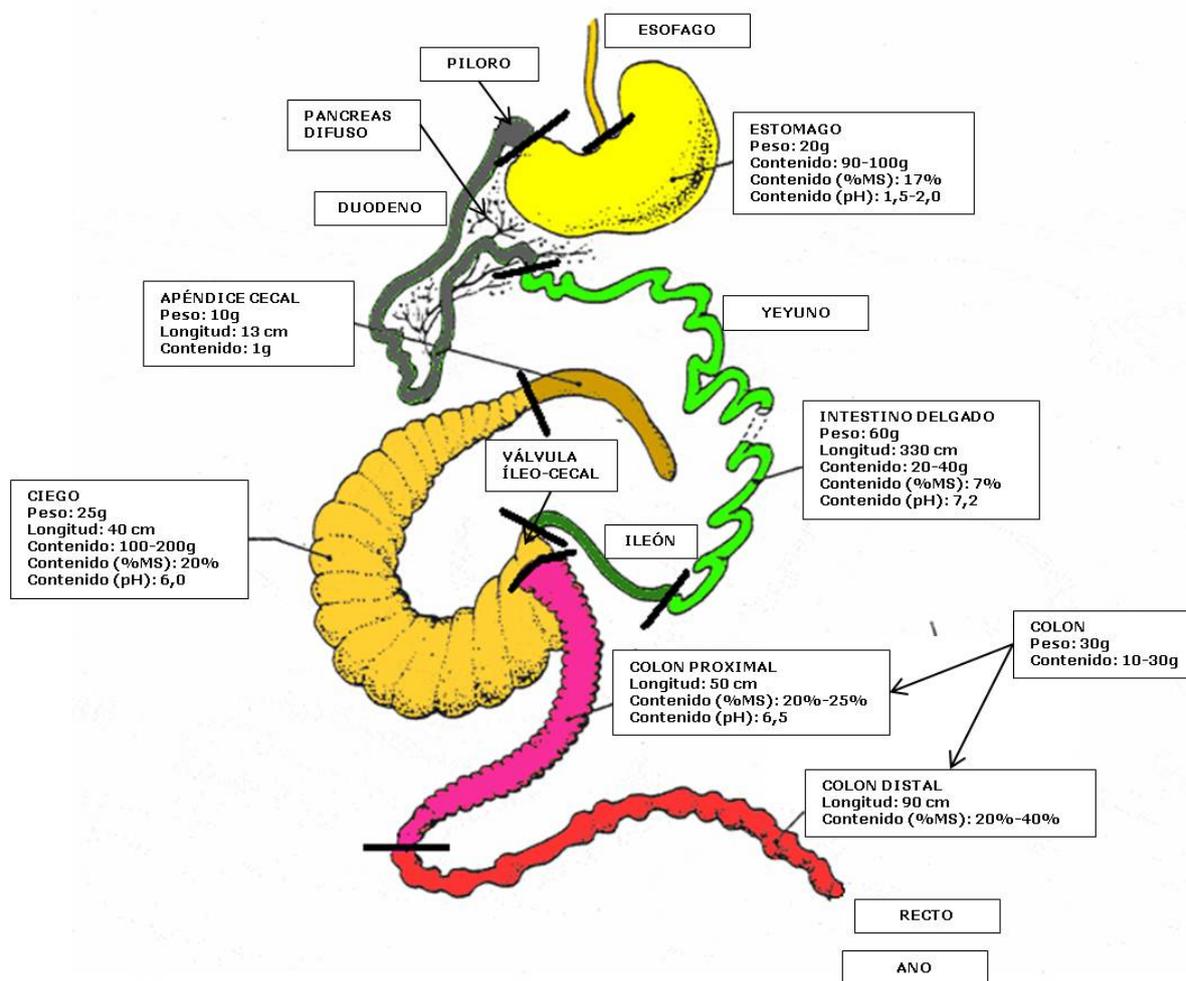


Figura 1. Representación de los diferentes segmentos digestivos del conejo (Lebas et al., 1996).
Parámetros observados en conejos de 12 semanas de edad.

El aparato digestivo del conejo es muy particular (Snipes y Snipes, 1997): el intestino delgado representa una pequeña parte del tracto digestivo (56% de la longitud, pero el 12% del volumen total), mientras que el ciego está muy desarrollado y su volumen representa alrededor del 40-50% de la capacidad gastrointestinal (Portsmouth, 1977; Gidenne y Lebas, 2005), hecho destacable ya que en la mayoría de las especies domésticas solo representa entre el 2 y el 14%. Este desarrollo del ciego del conejo es comparable únicamente al desarrollo del colon del caballo.

2.1.1 Estómago

El estómago se une al esófago a través del cardias, presenta una forma de bolsa alargada y supone aproximadamente el 30-35% de la capacidad digestiva del conejo, mucho más de lo que supone en el caballo (en torno al 8-10%). La parte "ciega" corresponde al *fundus* y la parte opuesta es el antro pilórico (*antrum pyloricum*) que está provisto de un poderoso esfínter (píloro) que regula la salida de alimento en dirección del intestino delgado.

Las glándulas gástricas segregan, esencialmente, pepsina (que inicia la digestión de las proteínas) y ácido clorhídrico. En los animales adultos, el pH gástrico varía de forma circadiana y en función de la zona del estómago considerada, oscilando en el antro pilórico de 1,8 a 2,2 y en el *fundus* de 1,2 a 3,5 correspondiendo los valores más altos a la presencia de cecotrofos en el *fundus*, debido a su capacidad tamponante (Gidenne y Lebas, 2005).

2.1.2 Intestino delgado

El intestino delgado se encuentra a continuación del estómago y se extiende desde el píloro al *ostium ileal*. Su longitud total representa más de la mitad de la del tubo digestivo y su diámetro rara vez llega a un centímetro (Barone, 1984).

Tradicionalmente se ha dividido en tres segmentos sucesivos y muy desiguales. De proximal a distal se encuentran el duodeno, el yeyuno y el íleon. El duodeno es largo, unos 40 cm, destacando la amplitud de su mesenterio, donde se aloja el páncreas, muy extenso y difuso y cuyo conducto desemboca al final del duodeno; la bilis producida por el hígado y almacenada en la vesícula biliar llega al duodeno justo después del píloro (a 2 o 3 cm), a través del conducto colédoco, cuya apertura está regulada por el esfínter de Oddi (Barone, 1984; Lebas, 2002). El yeyuno es el segmento más largo del intestino delgado y sigue a

una curvatura aguda duodeno-yeyunal; su color es más oscuro que el del duodeno debido a la reducción del espesor de su pared, que trasparenta el color de su contenido y sus circunvoluciones están sujetas por un mesenterio muy amplio, que alcanza de 8 a 10 cm de anchura en su parte media (Barone, 1984). El íleon mide de 15 a 20 cm, está unido a toda la curvatura cóncava del ciego por un pliegue ileocecal, muy largo y estrecho, y por su cara opuesta a la convexidad del asa espiral del colon mediante un pliegue ceco-cólico aún más estrecho y desemboca en el ciego y el colon (unión ileo-ceco-cólica).

A lo largo de la pared del intestino delgado, se encuentran unas placas de tejido linfoide, las Placas de Peyer, oscilando en número entre 2 y 10 y de alrededor de 1 a 2 cm de diámetro formando parte, junto con otras estructuras, del tejido linforide asociado al intestino.

El contenido del intestino delgado es muy líquido, sobre todo el del duodeno y el del yeyuno, con apenas un 6-8% de materia seca (MS). El pH es ligeramente alcalino (7,2 a 7,5) en la primera parte del intestino delgado y se acidifica progresivamente hasta llegar a 6,2-6,5 en la parte final del íleon (Gidenne y Lebas, 2005). En este segmento digestivo actúan las enzimas pancreáticas, esenciales para la digestión de las proteínas (tripsina y quimotripsina), del almidón (amilasa) y de las grasas (lipasa), cuya emulsión se ve facilitada por las sales biliares. En la digestión también participan enzimas situadas en el borde en cepillo (microvellosidades) de los enterocitos, tales como disacarasas (lactasa, maltasa y sacarasa), amiloglucosidasa, dipeptidasa y N-aminopeptidasa, necesarias para la hidrólisis de azúcares, almidones y proteínas hasta monosacáridos y aminoácidos, que son absorbidos por los enterocitos, como el resto de los nutrientes.

2.1.3 Intestino grueso

El intestino grueso comprende desde la unión íleo-ceco-cólica, donde desemboca el intestino delgado, hasta el final de tubo digestivo, el ano. Se encuentra dividido en tres segmentos sucesivos de proximal a distal: el ciego, el colon y el recto.

Muy cerca de la anastomosis del intestino delgado, es decir, "la entrada" del ciego, se encuentra también el comienzo del colon.

Como ya se ha comentado, el ciego (que aparece como un divertículo) es el compartimento digestivo más característico de esta especie; tiene un peso vacío medio de 25 g, mide alrededor de 40 cm de longitud con un diámetro de unos 3-4 cm; la pared cecal se invagina en toda su longitud, formando una espiral que da de 22 a 25 vueltas,

aumentando así la superficie de contacto del contenido cecal con la mucosa. El saco redondo (*sacculus rotundus*), localizado a la altura de la unión íleo-ceco-cólica, y el apéndice cecal o vermiforme, situado en el extremo distal del ciego, de unos 10-12 cm de longitud y con diámetro netamente inferior, son también estructuras anatómicamente definidas del tejido linfoide asociado al intestino.

El contenido del ciego es homogéneo y de consistencia pastosa (20-24% MS), con un pH ligeramente ácido cercano a 6 y que varía siguiendo un ritmo nictemeral (Bellier, 1994). A este compartimento llega la fracción del alimento no digerida previamente (fundamentalmente, la mayoría de los constituyentes fibrosos), que junto con sustancias de origen endógeno (secreciones y células descamadas) son el sustrato sobre el que se desarrolla la actividad fermentativa de la microbiota residente, cuyo principal producto de síntesis son ácidos grasos volátiles (AGV) que son absorbidos. La actividad microbiana sobre este sustrato se optimiza gracias a la cecotrofia, un proceso fisiológico que culmina con la ingestión durante las primeras horas de la mañana de parte del contenido cecal, dispuesto en forma de racimos de pequeñas esferas con envoltura mucosa, denominadas cecotrofos o heces blandas. En el origen de este proceso, está un peculiar mecanismo de segregación de la digesta en el colon proximal: durante el periodo vespertino y nocturno, sus movimientos antiperistálticos provocan un flujo retrógrado de partículas pequeñas y sustancias solubles hacia el ciego, mientras que las partículas de mayor tamaño tienden a progresar hacia el ano para excretarse como heces duras; por la mañana, la motilidad antiperistáltica está inhibida, de forma que el contenido cecal progresa en dirección caudal y se dispone en forma de cecotrofos.

El colon comienza en la unión íleo-ceco-cólica, a la altura de la *ampulla coli* (Snipes, 1978). El primer tramo es el colon proximal y se caracteriza por la presencia de saculaciones o *haustras*; a continuación existe una zona (*fusus coli*) donde destaca la presencia de músculo estriado; tras este tramo, la capa muscular de la pared se transforma en lisa, considerándose ese segmento el colon distal. El último segmento del intestino grueso es el recto, que termina en el ano.

2.2. HISTOLOGÍA DEL INTESTINO

Desde el punto de vista histológico, la pared intestinal tiene 4 capas concéntricas desde la luz intestinal hacia el exterior: mucosa, submucosa, túnica muscular y serosa (Gázquez y Blanco, 2004).

La mucosa intestinal presenta innumerables evaginaciones de unos cientos de micras, orientadas hacia la luz, llamadas vellosidades intestinales (**Figura 2**), lo que proporciona un aumento significativo de la superficie de intercambio entre el medio externo y el ambiente interno. La altura de las vellosidades en el conejo es menor que en el cerdo, lo que guardaría relación con el mayor contenido en fibra de los piensos para conejos (Yu y Chiou, 1997). A su vez, situadas en la base de las vellosidades se encuentran las criptas de Lieberkühn (**Figura 3**).

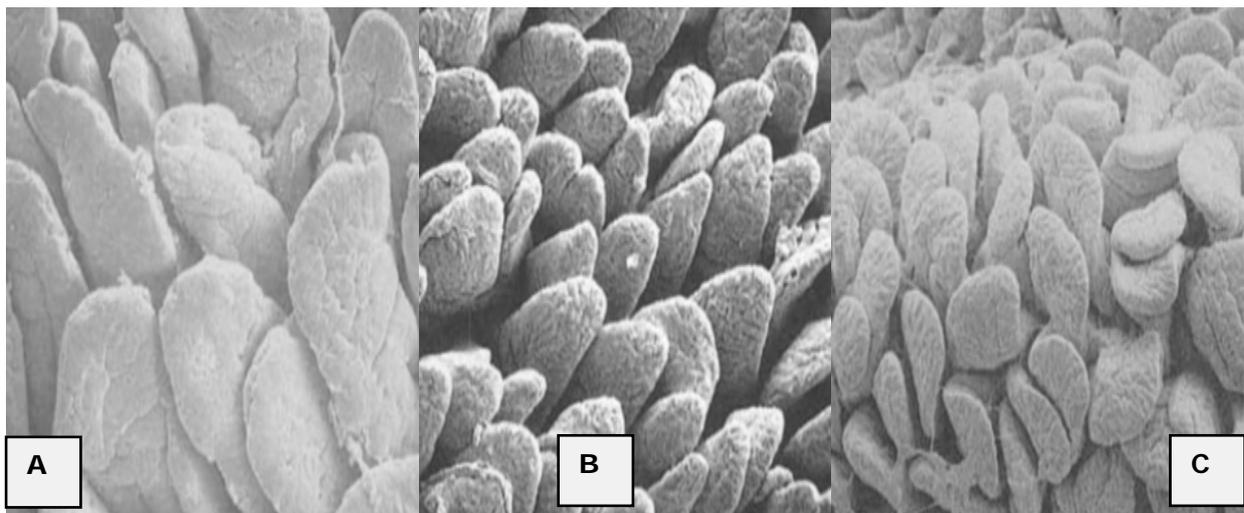


Figura 2. Fotografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (x 100) de las vellosidades intestinales en duodeno (A), yeyuno (B) e íleon (C) de conejos de 16 semanas de vida (Yu y Chiou, 1997).

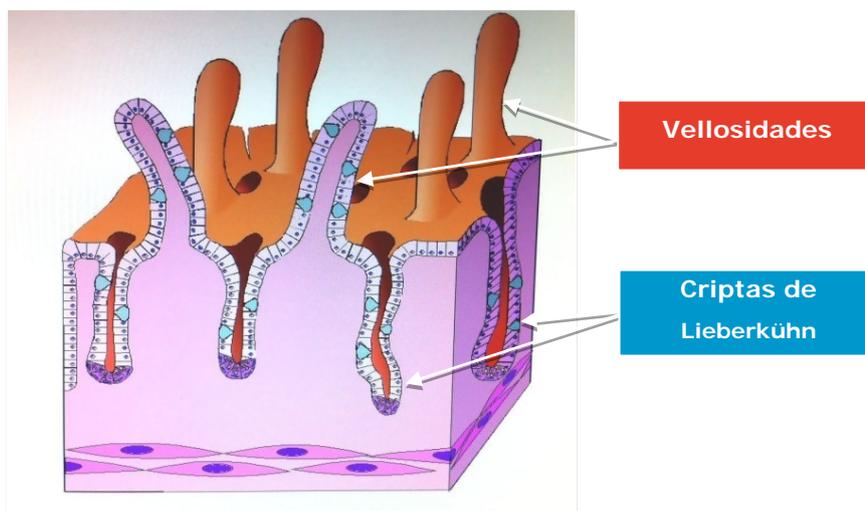


Figura 3. Representación en tres dimensiones de la mucosa intestinal (Corpa, 2005).

El epitelio de la mucosa es cilíndrico simple y está compuesto por dos tipos mayoritarios de células: los enterocitos (las más numerosas, cuyo borde apical presenta multitud de pliegues en forma de cepillo, las microvellosidades; además de participar en los procesos de digestión y absorción, tienen función de barrera defensiva por las fuertes uniones entre ellas y las glicoproteínas que integran el glicocálix) y las células caliciformes (productoras de mucus) (**Figura 4**). Otros tipos celulares que se encuentran en el epitelio intestinal, fundamentalmente en las criptas son: células enterocrinas (productoras de secretina y colicistokinina), células de Paneth (secretan moléculas antimicrobianas) y células indiferenciadas (Madara y Trier, 1987). También, como parte del tejido linfoide asociado al intestino, hay linfocitos intraepiteliales.

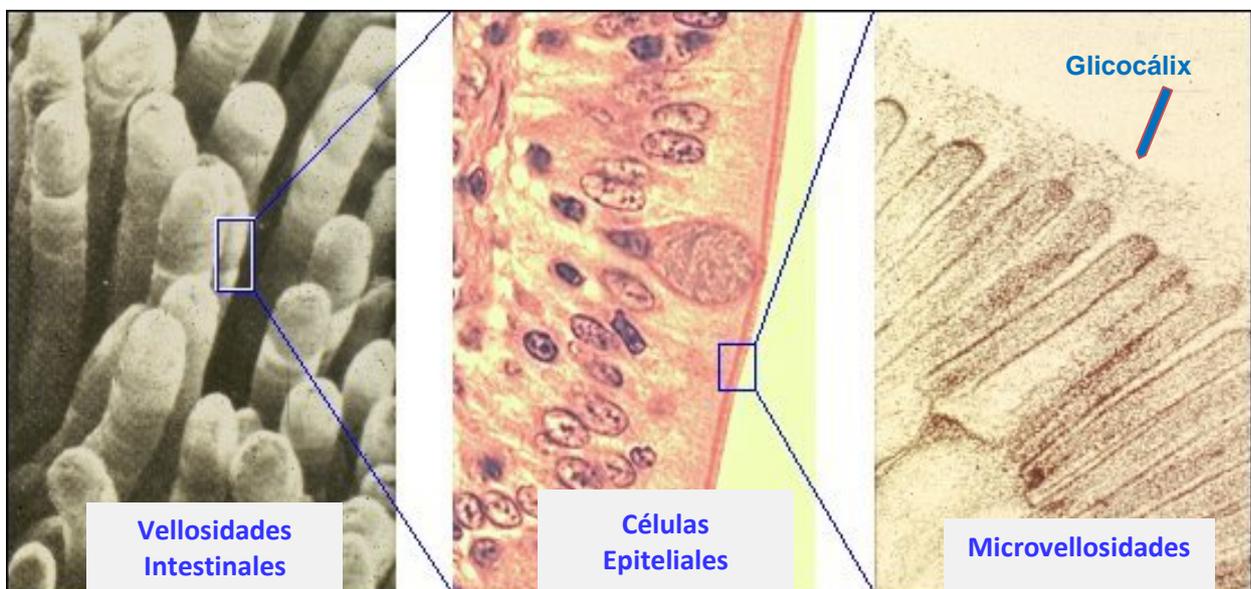


Figura 4. Anatomía microscópica de las vellosidades intestinales (Bowen et al., 2000).

Los enterocitos, producidos de forma continuada en las criptas, adquieren su madurez estructural y funcional a lo largo de su migración hacia el polo apical de las vellosidades, para ser finalmente eliminados por descamación de la mucosa; esta renovación se produce cada 5 o 6 días de media en el caso de conejos adultos (Takeuchi y Gonda, 2004).

La lámina propia de la mucosa (o corion) es el tejido conectivo laxo subyacente al epitelio de las vellosidades y las criptas. Contiene un quilífero (capilar linfático), vasos sanguíneos y fibras musculares lisas procedentes de la capa interna de la muscularis mucosae, el músculo de Brücke (Madara y Trier, 1987). Como parte del tejido linfoide

asociado al intestino, también están los linfocitos de la *lámina propia*. La Muscular de la mucosa (*muscularis mucosae*) es la capa que separa la mucosa de la submucosa.

En la submucosa duodenal se observan glándulas exocrinas, las glándulas de Brunner, que secretan una solución que contiene mucinas y bicarbonatos implicados en la neutralización del quimo gástrico (Schumacher *et al.*, 2004). En la submucosa yeyunal e ileal, a la altura de las ya mencionadas placas de Peyer, así como en el saco redondo y el apéndice vermiforme, encontramos abundantes folículos linfoides. La túnica muscular tiene dos capas, la interna de fibras circulares y la externa de fibras musculares longitudinales (**Figura 5**).

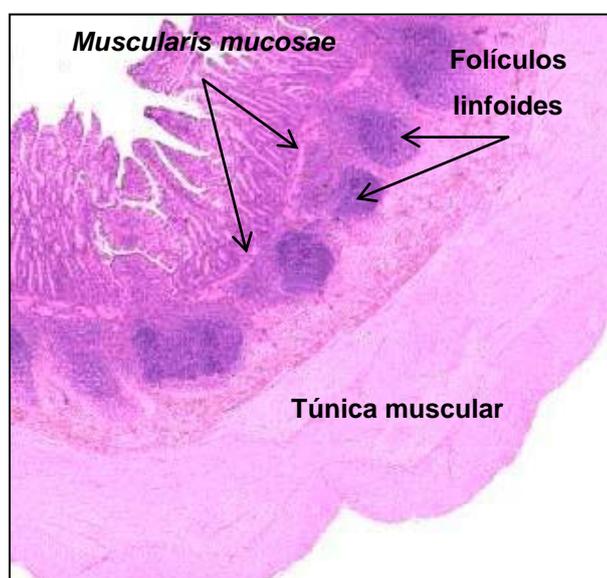


Figura 5. Corte histológico de la pared intestinal

2.3. ECOSISTEMA MICROBIANO CECAL

Aunque la presencia y actividad microbiana en el tracto gastrointestinal del conejo no se limita al ciego es, sin lugar a dudas, en este compartimento donde la microbiota digestiva tiene especial relevancia. El ciego puede considerarse como un ecosistema constituido por la asociación de la microbiota o comunidad de microorganismos (biocenosis) y el ambiente (biotopo) cecal (Gidenne *et al.*, 2007a).

Así, el biotopo cecal (el órgano en sí mismo y su contenido), puede ser caracterizado por parámetros físicos (temperatura, pH, materia seca, viscosidad, oxígeno, etc.) y bioquímicos, principalmente AGV, amoníaco (NH₃), enzimas, etc.; y aunque ha sido objeto de numerosos estudios (llevados a cabo principalmente por nutricionistas) todavía no son bien conocidos algunos parámetros, como es el caso del potencial redox o la producción de los gases H₂, CO₂ y metano (CH₄). Por el contrario, la biocenosis cecal ha sido proporcionalmente menos estudiada, probablemente porque ha habido pocos equipos de investigación interesados y también porque los métodos tradicionales de cultivo son laboriosos y solo permiten un estudio parcial de los microorganismos del tracto digestivo. La relación entre el ambiente y la microbiota cecal sigue estando insuficientemente descrita y, en particular, el efecto de factores relacionados con la alimentación. No obstante, en los últimos años, esta relación empieza a ser una prioridad para algunos equipos de investigación en nutrición del conejo, ya que podría formar parte de nuevas estrategias de prevención para mejorar la resistencia de estos animales a los trastornos digestivos.

2.3.1 Microbiota

La microbiota cecal se compone de un conjunto heterogéneo de microorganismos que residen en un biotopo caracterizado por un contenido de MS en torno al 21-23%, un pH ligeramente ácido (alrededor de 6) y la ausencia de oxígeno (ambiente anaeróbico) y que juegan un papel importante en la digestión. Dentro de ella, se incluye una microbiota comensal (saprofita, indígena, autóctona, permanente, residente) y una microbiota transitoria, que en parte está constituida por patógenos potenciales.

En el contenido cecal hay entre 10¹⁰ y 10¹² microorganismos/g (Combes *et al.*, 2012). Durante mucho tiempo, las técnicas de cultivo han permitido obtener información (taxonomía, ecología, metabolismo) de algunas bacterias. Sin embargo, reproducir *in vitro* las condiciones de crecimiento de los microorganismos es difícil y solo se ha identificado una parte de los microorganismos del ciego. Así, Suau *et al.* (1999) demostraron que la gran mayoría (entre el 60 y el 80%) de las bacterias observables microscópicamente en heces humanas no eran cultivables; de forma análoga, Forsythe y Parker (1985a) encontraron que solo el 23% de los recuentos microscópicos directos del contenido cecal del conejo eran cultivables con técnicas estrictamente anaeróbicas. Los estudios basados en técnicas de microbiología molecular (Bennegadi *et al.*, 2003; Abecia *et al.*, 2005 y 2007; Michelland *et al.*, 2008; Monteils *et al.*, 2008) permiten inferir que entre el 66% y el 90% de los microorganismos cecales del conejo son desconocidos/no cultivables.

Bennegadi *et al.* (2003) mostraron que la microbiota cecal de conejos digestivamente maduros (70 días de vida) está constituida principalmente por *Bacteria* (82%) y *Archaea* (12%); el 6% restante del ARNr corresponde al dominio *Eukarya* y procedería de alimentos, células descamadas, levaduras o protozoos, ya que no se detectaron hongos anaeróbicos. En conejos de la misma edad, Combes *et al.* (2011) confirmaron el predominio de bacterias ($10^{11}/g$) sobre arqueas ($10^8/g$). Hay pocos estudios sobre la presencia de levaduras en el ciego del conejo, no detectadas por Kimsé *et al.* (2012), si bien Forsythe y Parker (1985a) encontraron una especie de levadura simbiótica (*Saccharomycopsis guttulatus*) en una concentración de 10^6 levaduras/g. A diferencia del rumen, los protozoos no forman parte de la microbiota cecal del conejo, aunque pueden estar presentes y proliferar en animales enfermos (coccidios).

En la **Tabla 1** se muestra la clasificación de las principales poblaciones bacterianas del ciego del conejo, según técnicas de microbiología clásica. La población de bacterias anaerobias estrictas se caracteriza por un predominio de bacterias no esporuladas (10^{10} - 10^{11} bacterias/g). Entre ellas, los bacilos Gram-negativos del género *Bacteroides* son particularmente frecuentes (Gouet y Fonty, 1979). Las bacterias esporuladas son de 100 a 1000 veces menos numerosas que el género *Bacteroides* y pertenecen principalmente a los géneros *Clostridium* y *Bacillus*. Las bacterias anaerobias facultativas son exclusivamente enterobacterias y enterococos, siendo destacable la ausencia del género *Lactobacillus* (Gouet y Fonty, 1979), a diferencia de lo que ocurre en otros mamíferos domésticos.

Tabla 1. Clasificación de las principales poblaciones bacterianas en el ciego del conejo (elaboración propia).

ANAEROBIAS ERICTAS		
Cocos	Gram +	<i>Ruminococcus</i>
	Gram -	
Bacilos	Gram +	<i>Clostridium, Bacillus</i>
	Gram -	<i>Bacteroides, Fibrobacter, Butyrivibrio, Bifidobacterium</i>
ANAEROBIAS FACULTATIVAS		
Cocos	Gram +	<i>Enterococcus</i>
	Gram -	
Bacilos	Gram +	
	Gram -	<i>Escherichia, Enterobacter</i>

Mediante técnicas de microbiología molecular, se ha observado una preponderancia de bacterias del filo *Firmicutes* frente a las del filo *Bacteroidetes*, ya que la población de las primeras es 10-20 veces mayor que la de las segundas (Monteils *et al.*, 2008; Combes *et al.*, 2011; Massip *et al.*, 2012); dentro del filo *Firmicutes* predominan las familias *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae* y dentro del filo *Bacteroidetes* destacan los géneros *Bacteroides* y *Prevotella*. De una forma más detallada, la **Tabla 2** presenta las familias, géneros y especies bacterianas más importantes del ciego del conejo.

Tabla 2. Familias, géneros y especies bacterianas en el ciego del conejo (elaboración propia).

FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>	
<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>	
<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium</i>	
<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium</i>	
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacter</i>	
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Eubacteriaceae</i>	<i>Eubacterium</i>	<i>Eubacterium</i> <i>cellulosolvens</i>
<i>Fibrobacteraceae</i>	<i>Fibrobacter</i>	<i>Fibrobacter</i> <i>succinogenes</i> <i>Fibrobacter intestinalis</i>
<i>Flexibacteraceae</i>	<i>Flexibacter</i>	
<i>Flexibacteraceae</i>	<i>Cytophaga</i>	
<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Ruminococcus</i>	<i>Ruminococcus</i> <i>flavefaciens</i> <i>Ruminococcus albus</i>
<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Butyrivibrio</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	
<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Prevotella ruminicola</i> <i>antes Bacteroides</i> <i>ruminicola</i>
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	

Debe destacarse que tanto la cantidad como la composición bacteriana del ciego es similar a la encontrada en los cecotrofos (Emaldi *et al.*, 1979; Michelland *et al.*, 2008), lo que permite el estudio de cambios en la microbiota cecal relacionados con la edad, la alimentación o el estado sanitario mediante el análisis de muestras de cecotrofos recogidos en animales provistos de collares. Por el contrario, la densidad bacteriana de las heces duras es 10 veces menor.

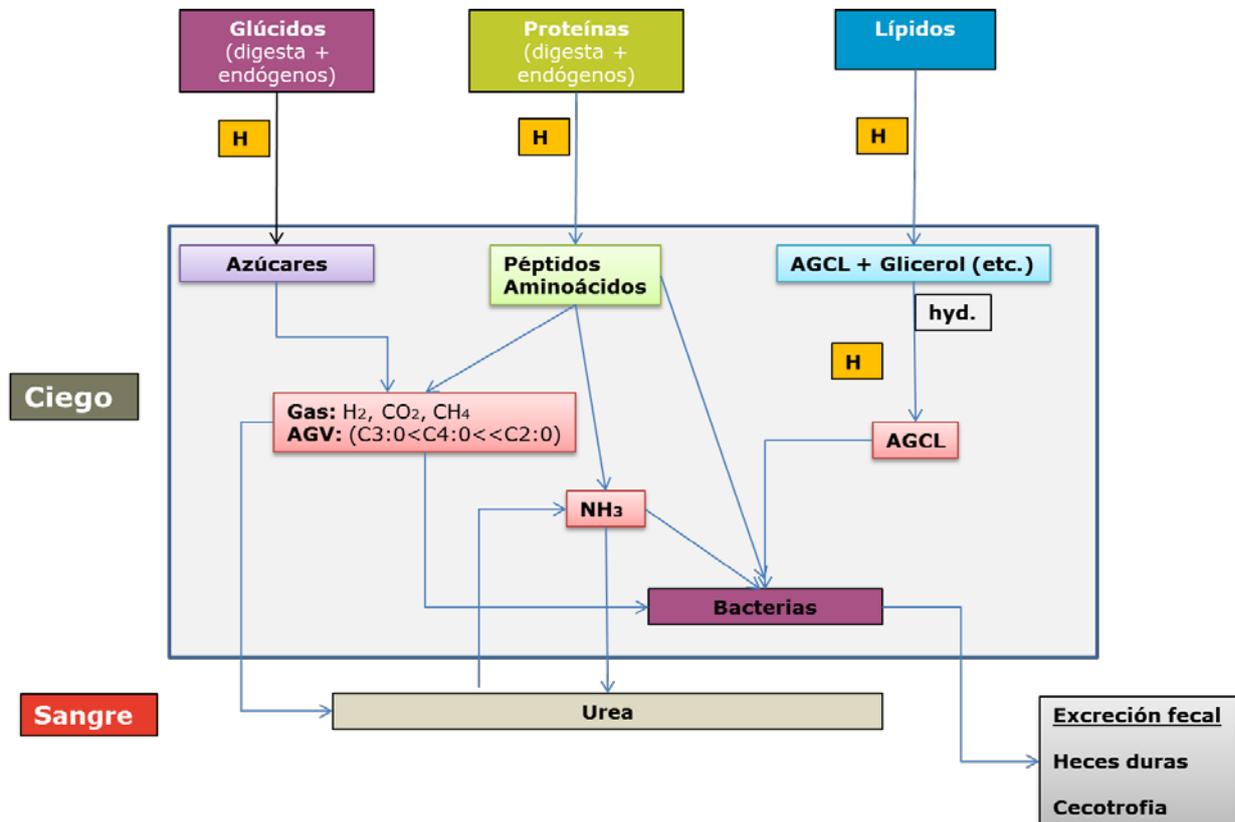
Por otro lado, en cuanto a otros segmentos del tracto gastrointestinal, debe señalarse que la población bacteriana del colon es similar a la del ciego, mientras que en los compartimentos anteriores es bastante menos abundante, de 10^4 - 10^6 bacterias/g en el contenido gástrico y de 10^6 - 10^8 bacterias/g en el contenido del intestino delgado (Gouet y Fonty, 1979).

2.3.2 Actividad microbiana

Como ya se ha indicado, la microbiota cecal actúa sobre el residuo alimentario no digerido y absorbido en la parte anterior del tracto digestivo (constituido esencialmente por polisacáridos de la pared celular vegetal y, en menor medida, por almidón, oligosacáridos, proteínas y grasas resistentes) y sobre moléculas endógenas (esencialmente proteínas y mucopolisacáridos). En otras palabras, la microbiota cecal dispone de la digesta que alcanza el extremo distal del íleon como sustrato, en el que la fibra es el constituyente mayoritario ya que supone en torno al 70% de la MS (Gidenne, 1992) y los compuestos nitrogenados representan el 15% de la MS (Villamide *et al.*, 2010a). La **Figura 6** ilustra este papel de la microbiota cecal, esencial en la fisiología digestiva y la nutrición del conejo.

La primera fase de la cadena trófica corresponde a especies hidrolíticas, que disponen de diversas hidrolasas (polisacaridasas, glicosidasas, proteasas, peptidasas, lipasas) que permiten la hidrólisis de polímeros complejos en moléculas menores (monosacáridos, aminoácidos, ácidos grasos, glicerol). En una segunda fase, estas moléculas son utilizadas por especies hidrolíticas o fermentativas como fuente de energía, C y N. Todos estos procesos permiten el crecimiento, la multiplicación y el mantenimiento de las funciones celulares de los microorganismos y dan lugar a la producción de ácidos grasos volátiles, NH_3 y otros gases como CO_2 y CH_4 como productos finales de estos procesos de fermentación. Los ácidos grasos volátiles son absorbidos casi en su totalidad por la pared cecal. El NH_3 no utilizado en la síntesis de proteína microbiana también es absorbido. Por último, el CO_2 y el CH_4 son excretados; en realidad, durante la fermentación cecal se origina CO_2 y H_2 , siendo este último eliminado gracias a especies metanogénicas (producen CH_4) o sulfato-

reductoras (producen H₂S). En este marco, el papel de la microbiota en la digestión puede evaluarse a través de su actividad enzimática o de los productos finales de la fermentación.



Digesta = nutrientes de origen alimentario (almidón, fibras,...).
Endógenos = poliósidos de mocos, células epiteliales descamadas, proteínas enzimáticas, etc.
H = hidrólisis de polímeros.
Hyd. = hidrogenación de los ácidos grasos de cadena larga (AGCL).
AGV = ácidos grasos volátiles (C2 = acético; C3 = propiónico; C4 = butírico).
NH₃ = amoníaco.

Figura 6. Esquema del metabolismo de los nutrientes en el ciego del conejo (Gidenne et al., 2007a).

En cuanto a la degradación de los constituyentes fibrosos, se ha observado que la actividad pectinolítica es mayor que la xilanolítica, que a su vez es mayor que la celulolítica

(Marounek *et al.*, 1995; Jehl y Gidenne, 1996; Falcão-e-Cunha *et al.*, 2004), en consonancia con la mayor digestibilidad de las pectinas que de las hemicelulosas y de estas que de la celulosa (Gidenne *et al.*, 2010a) y con los mayores recuentos de bacterias pectinolíticas y xilanolíticas (10^9 - 10^{10} bacterias/g) que celulolíticas (10^7 bacterias/g) observados por Boulahrouf *et al.* (1991), o de pectinolíticas (10^9 bacterias/g) que de xilanolíticas (10^8 bacterias/g) encontrados por Forsythe y Parker (1985a). Como bacterias pectinolíticas se han identificado *Bacteroides/Prevotella ruminicola*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides thetaiotamicron*, *Bacteroides caccae*, *Bacteroides stercoris*, *Bacteroides capillosus* y *Capnocytophaga ochracea*, como bacterias xilanolíticas se ha identificado *Bacteroides/Prevotella ruminicola* y como bacterias celulolíticas se han identificado *Eubacterium cellulosolvens*, *Bacteroides spp.*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes* y *Fibrobacter intestinalis* (Boulahrouf *et al.*, 1991; Sirotek *et al.*, 2001 y 2004; Bennegadi *et al.*, 2003).

Aunque la cantidad de almidón sin digerir que alcanza el ciego es pequeña, diferentes estudios han demostrado la presencia de actividad amilolítica en este compartimento (Yoshida *et al.*, 1968; Blas, 1986; Makkar y Singh, 1987; Marounek *et al.*, 1995), considerándose que puede ser tanto microbiana como endógena. Padilha *et al.* (1995) observaron un alto recuento de bacterias amilolíticas en el ciego de los conejos (10^{10} bacterias/g). Sirotek *et al.* (2006) han identificado distintas bacterias amilolíticas en el ciego de conejos, tales como *Actinomyces israeli*, *Dichelobacter nodosus*, *Mitsuokella multiacidus*, *Bacteroides spp.*, *Eubacterium spp.* y *Clostridium spp.*

La degradación de los compuestos nitrogenados que alcanzan el ciego implica la actividad de bacterias proteolíticas y ureolíticas, así como de bacterias que utilizan el NH_3 . La actividad proteolítica y ureolítica en el ciego ha sido puesta de manifiesto en diferentes estudios (Crociani *et al.*, 1985 y 1986; Forsythe y Parker, 1985b; Marounek *et al.*, 1995). La actividad ureolítica se debe principalmente a bacterias asociadas a la mucosa cecal, más que a las del contenido luminal (Hill, 1983); como bacterias ureolíticas se han identificado *Bacteroides vulgates*, *Clostridium clostridioforme*, *Clostridium coccoides*, *Clostridium innocuum*, *Peptostreptococcus productus*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptococcus magnus*, *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.* y *Fusobacterium spp.* (Crociani *et al.*, 1984; Forsythe y Parker, 1985b). Por otro lado, la mayor parte (55%) de las bacterias cecales cultivables son capaces de utilizar el NH_3 como única fuente de nitrógeno (Forsythe y Parker, 1985b).

También se ha descrito actividad mucinolítica por parte de especies del género *Bacteroides* (Hill, 1986; Sirotek *et al.*, 2003). En cuanto a la actividad lipásica en el

contenido cecal de los conejos, esta es similar a la detectada en el intestino delgado, aunque menor que la observada en el contenido del colon (Marounek *et al.*, 1995).

Los ácidos grasos volátiles producidos como resultado de la fermentación de los carbohidratos y, en menor medida, del esqueleto hidrocarbonado resultante de la desaminación de aminoácidos, son ácidos orgánicos de cadena corta. Los principales son el acético (C2), el propiónico (C3) y el butírico (C4), mientras que el valérico, el isobutírico, el isovalérico y otros aparecen en concentraciones mucho menores; los dos últimos son ramificados y proceden de la fermentación de aminoácidos ramificados, por lo que su proporción puede considerarse un indicador de la intensidad de la fermentación de residuos proteicos (Iannaccone *et al.*, 2012). Los ácidos grasos volátiles se encuentran sobre todo en forma de aniones (acetato, propionato, butirato, etc.) y su perfil en el ciego del conejo es específico, con predominancia del acetato (65-87%), seguido por el butirato (6-28 %) y el propionato (3-11%) (Gidenne *et al.*, 2010a). Esta inversión en las proporciones de butirato y propionato en comparación con las propias del rumen o del colon equino se debe al predominio del género *Bacteroides*, responsable de la producción de ácido butírico (Kimsé, 2009); también se ha descrito en herbívoros tales como el puercoespín y el castor (Hintz *et al.*, 1978). Los ácidos grasos volátiles se absorben por difusión pasiva a través de la pared cecal y son utilizados por el conejo principalmente como fuente de energía, pudiendo cubrir del 30 al 50% de las necesidades energéticas de mantenimiento (Gidenne, 1994). Tras unas pocas horas de ayuno se produce una rápida disminución de los niveles de ácidos grasos volátiles cecales y una inversión del cociente C3:C4 (Vernay y Raynaud, 1975; Gidenne y Bellier, 1992; Piattoni *et al.*, 1997), lo que ilustra la estrecha dependencia entre el flujo ileal de los nutrientes y la actividad de la microbiota cecal.

El NH₃ producido por desaminación de péptidos y aminoácidos resultantes de la actividad proteolítica (sobre proteínas alimentarias o endógenas, más abundantes) y por hidrólisis de urea es la principal fuente de nitrógeno para la síntesis de proteína microbiana, aunque también es parcialmente absorbido a través de la pared cecal para la síntesis hepática de aminoácidos no esenciales o de urea (que en su mayor parte se elimina por vía urinaria, aunque en parte difunde desde el torrente sanguíneo al medio cecal para contribuir al pool de NH₃) (Forsythe y Parker, 1985b y 1985c).

Otra actividad de la microbiota cecal es la síntesis de la mayoría de las vitaminas del grupo B y de vitamina K (Lebas, 2000).

Como ya se ha indicado previamente, el conejo ingiere parte del contenido cecal en forma de cecotrofos o heces blandas, que contienen principalmente microorganismos (con

alto contenido en proteína de elevado valor biológico, por su digestibilidad y contenido en aminoácidos esenciales) y productos de la actividad microbiana (ácidos grasos volátiles, NH_3 y vitaminas), así como compuestos endógenos y agua.

Por último, algunos estudios recientes han medido la producción de metano en conejos mediante el empleo de cámaras respiratorias, observando que es sensiblemente inferior que en vacuno (1% y 6% de la energía ingerida, respectivamente) y que presenta una gran variabilidad individual (Belenguer *et al.*, 2011; Franz *et al.*, 2011). Aunque Biavati *et al.* (1988) identificaron una bacteria con actividad metanogénica en el ciego del conejo (*Methanosphaera cuniculi*), se sabe que todas las arqueas del tracto gastrointestinal son metanogénicas, de forma que la producción de metano está claramente relacionada con este predominio de microorganismos. En el inventario molecular de la población de arqueas en el ciego del conejo realizado por Kusř y Avguřtin (2010) destaca el predominio del género *Methanobrevibacter*.

2.3.3 Otras funciones de la microbiota

La microbiota digestiva contribuye no solo al aprovechamiento de los alimentos sino también al mantenimiento de la salud de los animales. Por un lado, forma parte de la barrera defensiva del intestino, ya que dificulta la colonización del tracto gastrointestinal por parte de bacterias patógenas exógenas y limita el crecimiento de bacterias autóctonas potencialmente patógenas si proliferan en exceso, mediante un conjunto de mecanismos que se conocen con el término de exclusión competitiva; entre tales mecanismos están la competición por los sitios de adhesión al glicocáliz de los enterocitos y por los nutrientes disponibles, el mantenimiento de un ambiente intestinal desfavorable para las bacterias cuya proliferación es indeseable y la producción de sustancias con actividad antibacteriana directa (bacteriocinas). Por otro lado, como se verá más adelante, la colonización microbiana del intestino supone un importante estímulo antigénico para el desarrollo del sistema inmune asociado al intestino, la tolerancia oral y el repertorio de anticuerpos.

2.4. SISTEMA INMUNE ASOCIADO AL INTESTINO

El tracto gastrointestinal no solo tiene que asegurar la digestión y la absorción de nutrientes sino que debe distinguir los alimentos y la microbiota no patógena de los microorganismos dañinos, para ignorar a los primeros (tolerancia oral) y eliminar los segundos (función de defensa). Entre los mecanismos de esta función de defensa de la

mucosa digestiva frente a los patógenos hay una serie de barreras naturales, ya sean mecánicas (tales como las uniones estrechas entre las células epiteliales contiguas, para impedir el paso intercelular de microorganismos o macromoléculas; los movimientos peristálticos y el flujo de digesta, que reducen la interacción de los patógenos con las células epiteliales y aceleran la eliminación de los mismos; y el mucus, que supone un recubrimiento protector de la superficie apical de los enterocitos, dificultando que los patógenos se adhieran a los mismos), químicas (entre otras la acidez gástrica, con actividad microbicida; y las sustancias secretadas por las células de Paneth, tales como lactoferrina, lactoperoxidasa, lisozima o ciertos péptidos conocidos como defensinas, tal como la criptidina, todas ellas con actividad antimicrobiana) o microbiológicas (ya que la microbiota saprófita residente en el tracto digestivo despliega diferentes mecanismos de exclusión competitiva de bacterias perjudiciales, anteriormente indicados).

Si estas barreras naturales no son capaces de eliminar el agente patógeno, se activa la respuesta inmune, a cargo del tejido linfoide asociado al intestino, difuso u organizado (*Figura 7*).

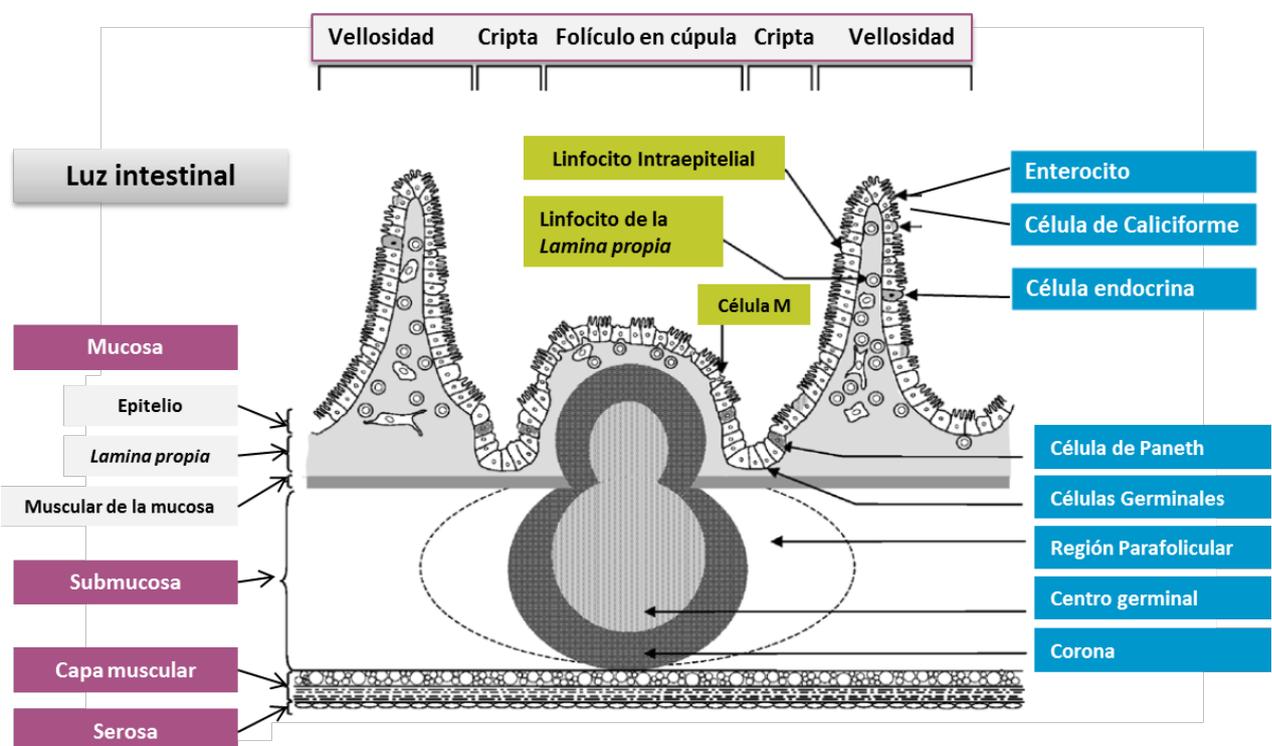


Figura 7. Esquemas del tejido linfoide asociado al intestino (Fortun-Lamothe y Boullier, 2007).

El tejido difuso está integrado por células del sistema inmune diseminadas por la mucosa digestiva, como macrófagos, granulocitos y linfocitos. Parte de los linfocitos están intercalados entre las células epiteliales y se conocen como linfocitos intraepiteliales (IEL), que en su mayoría son linfocitos T. Otros están en el tejido conjuntivo de la lamina propia y se denominan linfocitos de la lamina propia (LPL), entre los que hay linfocitos T pero también linfocitos B en su mayoría diferenciados a células plasmáticas.

En el tejido organizado, las células linfoides están agrupadas en folículos linfoides localizados en la submucosa, ya sean folículos simples, que son núcleos más o menos esféricos de linfocitos B en una matriz de tejido conjuntivo y células dendríticas, o folículos en cúpula, que son más grandes y protruyen hacia la lamina propia. En estos últimos, la cúpula está cubierta por un epitelio específico, distinto al resto del epitelio intestinal y caracterizado, entre otras cosas, por la presencia de células epiteliales especializadas intercaladas entre los enterocitos, las células M, que en el conejo suponen el 50% de las células de este epitelio específico (Pappo, 1989). Las células M carecen de glicocálix, presentan múltiples pliegues superficiales en lugar de las microvellosidades habituales de los enterocitos y exhiben una invaginación en la membrana plasmática basolateral (opuesta a la luz intestinal), que contiene LPL (T y B), macrófagos y células dendríticas (**Figura 8**).

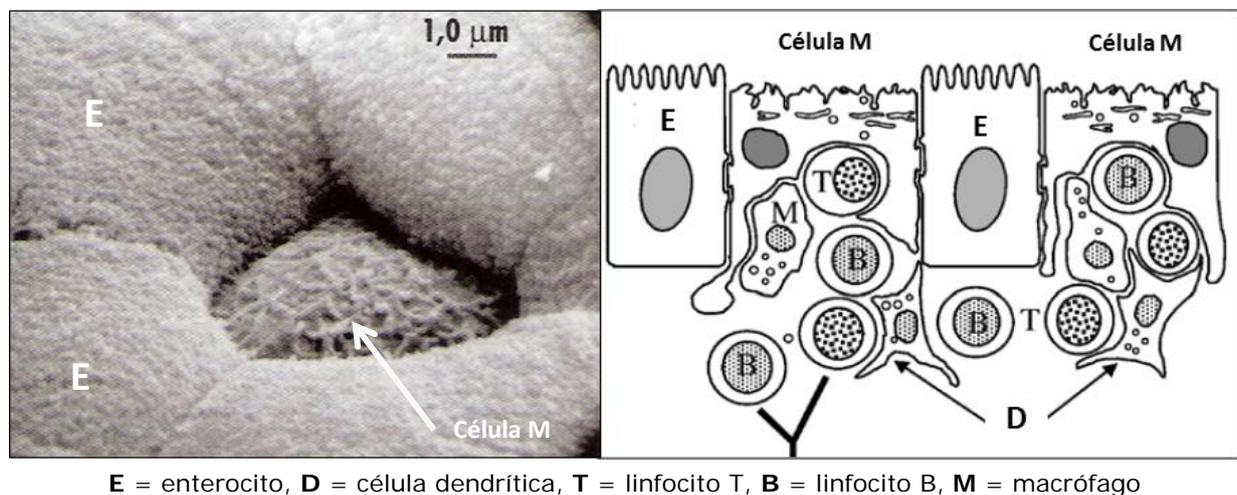


Figura 8. Células M del epitelio intestinal (Roitt y Delves, 2003; Fortun-Lamothe y Boullier, 2007).

Las placas de Peyer son acumulaciones especializadas de folículos linfoides en cúpula; además, el conejo se caracteriza por tener otras estructuras adicionales de tejido linfoides organizado, el saco redondo y el apéndice vermiforme, cuya constitución y función es análoga a la de las placas de Peyer (**Figura 9**).

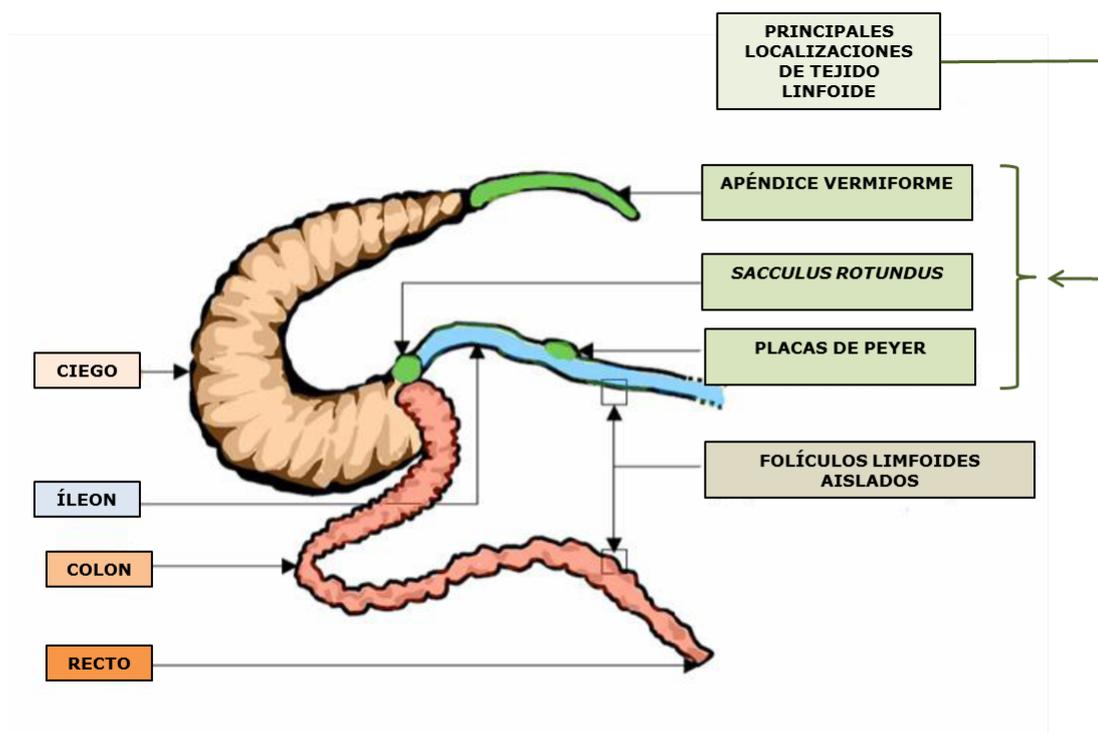


Figura 9. Morfología del tejido linfoide organizado del intestino del conejo (Fortun-Lamothe y Boullier, 2007).

Las células M de los folículos linfoides en cúpula son el sitio donde se induce la respuesta inmune específica. La ausencia de glicocáliz en estas células facilita su interacción directa con macromoléculas y microorganismos presentes en el contenido intestinal, que penetran mediante endocitosis y se transportan hasta la invaginación de su membrana basolateral, para que a través de células presentadoras de antígenos (macrófagos y células dendríticas) o directamente se activen los linfocitos T o B, respectivamente. Los linfocitos sensibilizados migran hacia los ganglios linfáticos mesentéricos, donde proliferan, y se incorporan a la circulación periférica para integrarse en el intestino como IEL o LPL, que son el sitio efector de la respuesta inmune específica. Entre los mecanismos de esta respuesta, es importante destacar que las células plasmáticas de la lamina propia segregan IgA, que los enterocitos transportan a la luz intestinal, donde se encuentran en forma de dímeros o polímeros, resistentes a la proteólisis. En algunos animales, como aves, rata y conejo, las IgA pueden llegar al hígado vía porta, son captadas por los hepatocitos y liberadas a los conductos biliares también como dímeros o polímeros, de forma que en estas especies la bilis es rica en IgA y constituye la principal vía por la que estas inmunoglobulinas alcanzan el intestino (Vaerman, 1994).

3. MADURACIÓN DEL TRACTO GASTROINTESTINAL EN EL CONEJO

Como ya se ha mencionado previamente, durante su proceso de desarrollo y de forma especial en el periodo peridestete, los gazapos experimentan toda una serie de cambios relacionados con la transición de una dieta a base de leche a una dieta sólida. Como se describe a continuación, este proceso de maduración supone diversos cambios morfológicos y funcionales.

3.1. DESARROLLO MORFOLÓGICO

Como se ilustra en la **Figura 10**, el patrón de desarrollo anatómico del tracto gastrointestinal del conejo sigue un gradiente cráneo-caudal. Hasta los 18 días de vida, los gazapos son estrictamente lactantes y además ingieren la leche en una única toma diaria, por lo que un desarrollo temprano tanto del estómago (que durante este periodo representa el 12-13% de su peso corporal) como del intestino delgado favorece su supervivencia. A partir de ese momento, la ingestión de leche va disminuyendo mientras comienza la ingestión de pienso, que crece rápidamente e implica un rápido desarrollo del intestino grueso. La **Figura 11** muestra que el peso relativo del contenido del ciego aumenta linealmente entre la 2ª y la 6ª semana de vida, convirtiéndose en el mayor compartimento digestivo, alcanzando su máximo desarrollo relativo en torno a las 7 semanas de vida; así, entre los 15 y los 49 días, el peso relativo del ciego vacío y de su contenido se multiplica por 2,5 y 10, respectivamente (Padilha *et al.*, 1995). Por otro lado, el desarrollo del apéndice cecal se prolonga durante más tiempo que el del resto del órgano, ya que su peso relativo sigue aumentando entre la 7ª y la 11ª semana de vida (0,32% y 0,40% del peso vivo, respectivamente), con evidente engrosamiento de su pared (Lebas y Laplace, 1972).

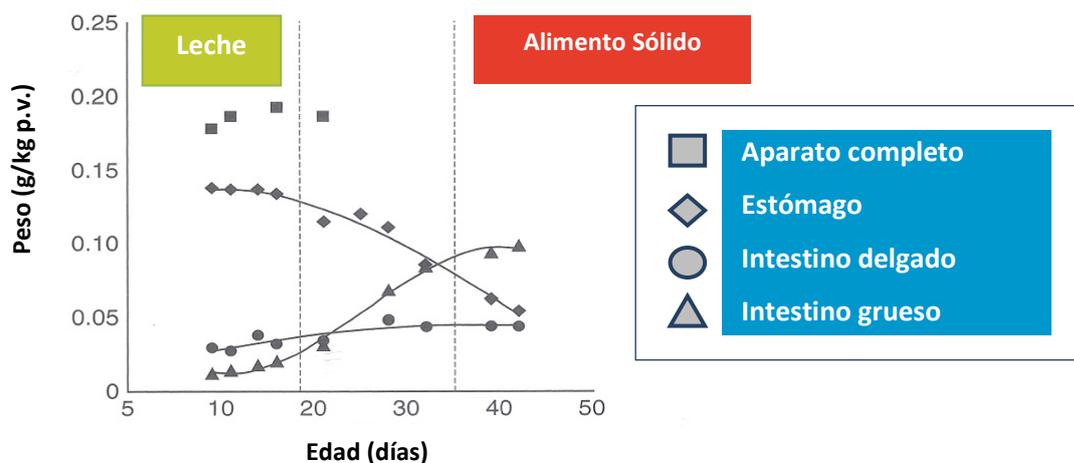


Figura 10. Desarrollo del tracto intestinal de conejos destetados a 35 días (proporción del peso de los segmentos y su contenido con respecto al peso corporal) (Carabaño et al., 2010).

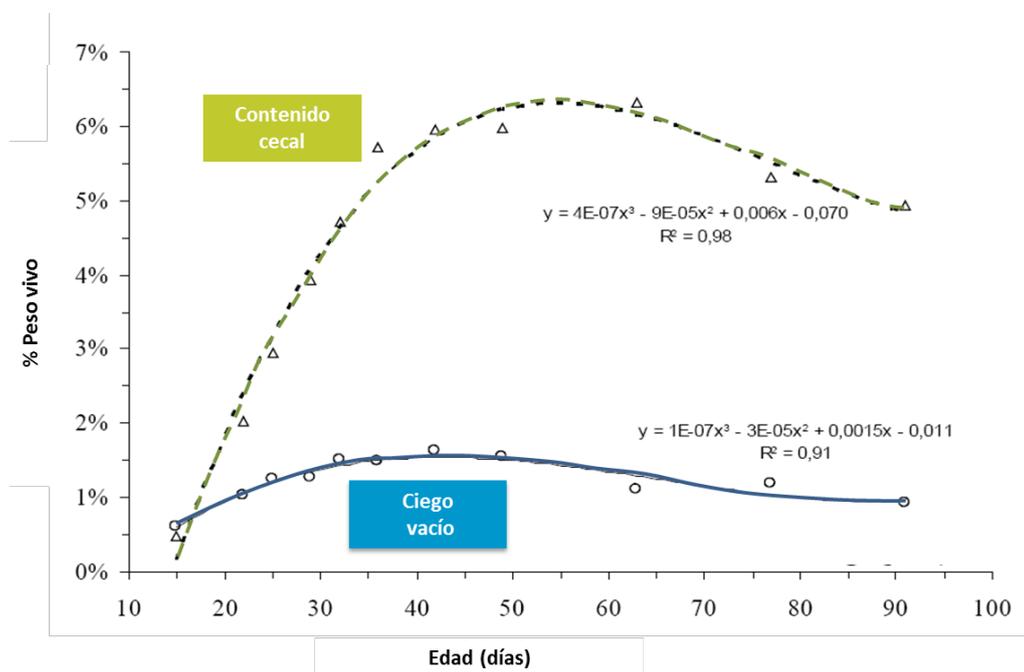


Figura 11. Desarrollo del ciego (órgano y contenido) de conejos (% del peso vivo) (Gidenne et al., 2007a).

En cuanto al desarrollo de la histomorfología de la mucosa intestinal, las vellosidades intestinales son finas y alargadas durante las primeras semanas después del nacimiento, aunque entre ellas hay algunas muy cortas (Sabatakou *et al.*, 1999). Estas vellosidades más cortas serían los brotes de nuevas vellosidades y su desaparición significaría que se ha alcanzado el número definitivo de vellosidades por unidad de superficie. La heterogeneidad de la longitud tiende a disminuir con la edad; así, las más cortas desaparecen en duodeno, yeyuno e íleon tras la 1^a, 3^a y 5^a semana de vida, respectivamente (Van der Hage, 1988). Toofanian y Targowski (1982) observaron que la maduración de la mucosa intestinal sigue un gradiente de proximal a distal. Yu y Chiou (1997) advirtieron que tras el destete, las vellosidades tienden a ensancharse, comenzando esta transformación por el duodeno para acabar en el íleon y que la mucosa intestinal alcanza la madurez a las 8 semanas de vida.

Gallois *et al.* (2005) encontraron, en los tres tramos del intestino delgado, que la superficie de las vellosidades y de las criptas aumenta desde los 14 a los 49 días de vida, que la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas aumenta entre los 28 y los 49 días de vida, sin que durante este periodo varíe la ratio altura de vellosidades/profundidad de criptas (aunque fue significativamente menor que a los 14 y 21 días de vida, cuando las vellosidades eran igual o más altas y las criptas igual o menos profundas que a los 28 días) y que los parámetros histomorfométricos (superficie y altura de vellosidades, superficie y profundidad de criptas) presentaron un gradiente próximo-distal decreciente, con valores mayores en duodeno, intermedios en yeyuno y menores en íleon.

3.2. DESARROLLO FUNCIONAL

3.2.1 Evolución de la secreción gástrica

La secreción de ácido clorhídrico comienza en torno a los 16 días de vida y no queda completamente establecida hasta la 5^a semana de edad. De esta forma, el pH gástrico permanece alto (>5) durante la 3^a semana de vida e incluso a los 30 días (4,6), para caer de forma brusca tras el destete y alcanzar valores de 1,8 a los 37 días (Zomborszky-Kovács *et al.*, 2000). No obstante, Gidenne y Fortun-Lamothe (2002) señalan que entre los 25 y los 35 días de vida el pH gástrico es muy variable dependiendo de si los gazapos están destetados o no y del punto donde se realice la medición. Así, el pH del fundus cuando contiene cecotrofos puede ser casi neutro, mientras que en el antro puede estar por debajo de 3.

Desde la primera semana de vida, la mucosa gástrica secreta renina, endopeptidasa responsable de la coagulación de la leche en el estómago, desapareciendo esta tras el destete. La secreción de pepsina también es detectable en la primera semana de vida y la actividad total en la mucosa (por ml de sobrenadante del extracto) aumenta hasta los 3 meses, aunque la actividad específica (por mg de proteína en el extracto) se mantiene constante (Dojana *et al.*, 1998); sin embargo, Marounek *et al.* (1995) no encontraron diferencias en la actividad detectada en el contenido gástrico entre las 4 semanas y los 3 meses de vida. La secreción de lipasa se produce en la pared circundante al cardias y es relevante durante la lactación, para disminuir rápidamente a partir del destete, hasta el punto de no detectarse en el contenido gástrico de animales de 3 meses (Marounek *et al.*, 1995; Dojana *et al.*, 1998). Blas (1986) encontró contenidos similares de amilasa en el sobrenadante del contenido gástrico de gazapos de 4 a 8 semanas de vida, mientras que Marounek *et al.* (1995) no hallaron actividad amilásica en el contenido gástrico de animales de 4 semanas o 3 meses de vida, pero sí una actividad pectinásica creciente con la edad.

3.2.2 Evolución de la secreción pancreática e intestinal

La evolución de la funcionalidad digestiva tanto del páncreas como de la mucosa intestinal con la edad de los gazapos ha sido profusamente estudiada. Los estudios realizados varían ampliamente en diferentes aspectos metodológicos, tales como el periodo de vida estudiado, el tipo de muestras utilizadas (tejido o secreción pancreática, mucosa intestinal, contenido intestinal), el momento de toma de las muestras (mañana o tarde, con o sin ayuno previo), condiciones del ensayo de la actividad enzimática (tipo y concentración de sustrato, temperatura, pH, tiempo de incubación) y unidades utilizadas para expresarla (global: por páncreas, mucosa intestinal o contenido intestinal, en términos absolutos o relativa al peso vivo; total: por g de páncreas, mucosa intestinal o contenido intestinal; específica: por g o mg de proteína en tejido pancreático, secreción pancreática o mucosa intestinal).

En relación con las proteasas, se ha observado un incremento de la actividad de tripsina y quimotripsina en el páncreas entre la 4ª y la 6ª semana de vida, aunque no cuando se expresa como actividad específica (Lebas *et al.*, 1971; Corring *et al.*, 1972; Debray *et al.*, 2003); no obstante, Dojana *et al.*, (1998) también hallaron un aumento de la actividad específica de estas enzimas entre la 3ª y la 6ª semana de vida. En el contenido intestinal, la tripsina disminuye durante la 4ª semana de vida, para mantenerse constante hasta la 7ª semana de edad (Gallois *et al.*, 2008a); de forma análoga, Marounek *et al.* (1995)

encontraron que la actividad proteásica en el contenido intestinal no varió entre las 4 semanas y los 3 meses de vida.

La actividad lipásica en el páncreas aumenta entre la 4^a y la 6^a semana de vida, también cuando se expresa como actividad específica (Lebas *et al.*, 1971; Corring *et al.*, 1972; Debray *et al.*, 2003); por el contrario, Dojana *et al.* (1998) observaron una reducción de la actividad específica entre la 3^a y la 6^a semana de vida. En el contenido intestinal, la lipasa aumenta entre la 4^a semana y la 7^a semana de edad (Gallois *et al.*, 2008a); por el contrario, Marounek *et al.* (1995) no encontraron diferencias en la actividad lipásica del contenido intestinal entre las 4 semanas y los 3 meses de vida.

En el caso de la amilasa, a pesar de la diversidad metodológica que dificulta la comparación e interpretación de la información disponible, puede concluirse que la actividad de esta enzima aumenta rápidamente entre la 2^a y la 7^a semana de vida e incluso hasta los 3 meses de edad (Blas y Gidenne, 2010).

En cuanto a las disacarasas de la mucosa intestinal, Gutiérrez *et al.* (2002a) observaron un claro descenso de lactasa en la mucosa intestinal de los gazapos entre los 25 y los 35 días, tanto si continuaban siendo lactantes como, más aún, si se habían destetado a los 25 días; Marounek *et al.* (1995) indican que la actividad de esta enzima en el contenido intestinal también disminuye entre las 4 semanas y los 3 meses de vida. Sin embargo, el desarrollo ontogénico de la actividad maltásica es controvertido, ya que de acuerdo con Toofanian (1984) y Gallois *et al.* (2008a), la maltasa de la mucosa intestinal aumenta muy rápidamente entre las semanas 2 y 4 de vida, más en gazapos destetados que en los que permanecen lactantes, pero no después, mientras que otros estudios señalan que sigue aumentando tanto en la mucosa como en el contenido intestinal entre los 32 y los 42 días de vida (Debray *et al.*, 2003; Gidenne *et al.*, 2007b) e incluso en el contenido intestinal entre las 4 semanas y los 3 meses de vida (Marounek *et al.*, 1995). En otros estudios, por el contrario, no se observaron cambios en la actividad maltásica de la mucosa intestinal entre los 25 y los 35 días de vida en los gazapos que permanecían lactantes, incluso se observó una clara disminución en los que se habían destetado a los 25 días (Gutiérrez *et al.*, 2002a). Tampoco se observaron cambios del contenido intestinal de maltasa entre los 32 y los 42 días de vida (Scapinello *et al.*, 1999). De forma similar, se ha hallado un aumento de sacarasa en la mucosa intestinal entre las 2^a y 4^a semanas de vida, pero no después (Toofanian, 1984; Gallois *et al.* 2008a), mientras que otros estudios indican que sigue aumentando en la mucosa intestinal entre los 25 y los 35 días de vida si los gazapos continúan lactantes pero no si se destetan (Gutiérrez *et al.*, 2002a) y en el contenido intestinal entre las 4 semanas y los 3 meses de vida (Marounek *et al.*, 1995). Por último,

solo Gallois *et al.* (2008a) han estudiado la evolución de la N-aminopeptidasa de la mucosa intestinal con la edad, observando un aumento de su actividad durante la 4ª semana de vida, más en gazapos destetados que en los que permanecen lactantes, pero no después.

3.2.3 Colonización microbiana

La colonización del ciego, entendida como la implantación de la microbiota y la sucesión ecológica de especies microbianas, se ha estudiado tanto con técnicas de cultivo (Gouet y Fonty, 1973 y 1979) como, recientemente, con herramientas moleculares (Combes *et al.*, 2011). Gouet y Fonty (1979) señalan que esta comienza a los 2-3 días de vida y que el número total de bacterias en el ciego a esa edad varía notablemente entre individuos. Una semana después del nacimiento, el contenido cecal alberga 10^7 - 10^9 ufc/g y a lo largo de la 2ª-3ª semana de vida se alcanzan concentraciones de 10^{10} ufc/g, encontrándose poca variación entre individuos (Gouet y Fonty, 1973). Combes *et al.* (2011) indican que la densidad bacteriana en el ciego a los 2 días de vida es de 10^9 ufc/g y que se va incrementando hasta estabilizarse en torno a 10^{11-12} ufc/g a los 21 días de vida, cuando el gazapo todavía es lactante pero ya ha comenzado la ingestión de pienso. En lo que a la población de arqueas se refiere, Combes *et al.* (2011) no detectaron su presencia en el contenido cecal a los 2 días de vida pero sí a los 7 días de vida (10^5 ufc/g), observando que su implantación ocurre más tarde que la de las bacterias ya que alcanzan su máxima densidad a los 35 días de vida (10^7 ufc/g). Bennegadi *et al.* (2003) advirtieron que las arqueas y las bacterias representan respectivamente el 63% y el 37% de la comunidad microbiana cecal a los 18 días de vida, invirtiéndose dicha relación ya a los 25 días de vida, en que representan el 26% y el 74%, y que se estabiliza a partir de los 42 días de vida en torno a 8% y 92%.

La **Figura 12** ilustra la cinética de implantación de algunas poblaciones microbianas en el ciego de conejos en crecimiento. La comunidad bacteriana cecal está compuesta por bacterias anaerobias estrictas y bacterias anaerobias facultativas, que evolucionan de forma diferente. Mientras las primeras aumentan durante la 2ª semana de vida y quedan fuertemente implantadas, con recuentos estables en torno a 10^{10} ufc/g desde la 3ª semana de vida, la microbiota anaeróbica facultativa alcanza niveles máximos durante la 2ª semana para luego disminuir a 10^2 - 10^4 ufc/g e incluso desaparecer en algunos individuos (Gouet y Fonty, 1979). Los clostridios sulfito-reductores no se detectan antes del destete (28 días), cuando su número llega a alcanzar un máximo de 10^5 - 10^6 bacterias/g para disminuir a 10^3 - 10^4 ufc/g a los 42 o 56 días de vida (Gouet y Fonty, 1979). La microbiota colibacilar, que por lo general está ausente en animales de 2 o 3 días de vida, alcanza un máximo (10^7

ufc/g) al final de la 3ª semana de vida y luego disminuye bruscamente tanto en gazapos con un manejo alimentario convencional (Padilha *et al.*, 1995) como en los que fueron estrictamente lactantes hasta los 42 días de vida (Padilha *et al.*, 1999).

Las bacterias amilolíticas ya están implantadas desde los 14 días de vida, antes de que haya comenzado la ingestión de almidón. Sin embargo, las bacterias celulolíticas no se detectan hasta que comienza la ingestión de pienso y se produce la entrada de un sustrato fibroso en el ciego, en torno a los 18 días de vida; después su población crece hasta alcanzar 10^7 ufc/g a los 25 días de vida. Si los conejos solo se alimentan con leche, la microbiota celulolítica no se implanta incluso en conejos de 42 días de vida (Padilha *et al.*, 1999). Por otro lado, las poblaciones de bacterias xilanolíticas y pectinolíticas a partir de los 42 días son del orden de 10^9 ufc/g, superior al de la población de bacterias celulolíticas.

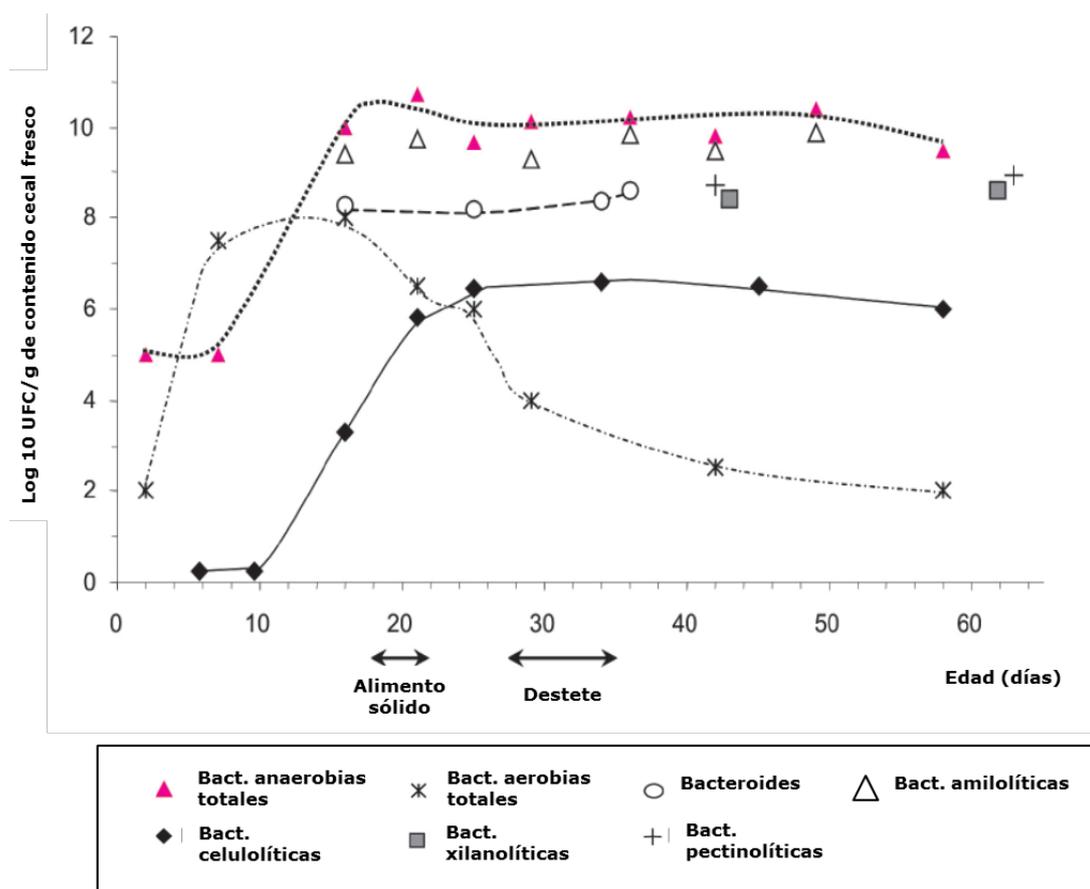


Figura 12. Cinética de implantación de algunas poblaciones bacterianas en el ciego de gazapos en crecimiento (datos obtenidos mediante cultivo) (Gidenne *et al.*, 2008).

Mediante técnicas moleculares, se ha podido ver que la biodiversidad microbiana en el ciego de los gazapos lactantes de 16 días de vida es similar a la de sus madres. Dicha biodiversidad disminuye a los 26 días y aumenta a los 32 días (**Figura 13**), probablemente como resultado del cambio de sustrato para la microbiota por el aumento de la ingestión y de la progresiva adaptación al pienso en detrimento de la leche (García *et al.*, 2005). Gidenne *et al.* (2008) señalan que el destete produce una disminución de la biodiversidad cecal (de 2000 a 600 secuencias identificadas).

Por otra parte, García *et al.* (2005) indican que el grado de similitud entre la microbiota cecal de la madre y la de la camada es bajo (alrededor del 10%) debido probablemente a la gran diferencia en su alimentación, mientras que las comunidades bacterianas cecales de los gazapos de una misma camada presentarían un grado de similitud más elevado (47% a los 16 días de vida y 35% a los 26-32 días de vida). Cabe añadir que Abecia *et al.* (2007) encontraron que, en el caso de adopciones, la microbiota cecal de los gazapos está más próxima a la de la madre nodriza que a la de la madre biológica.

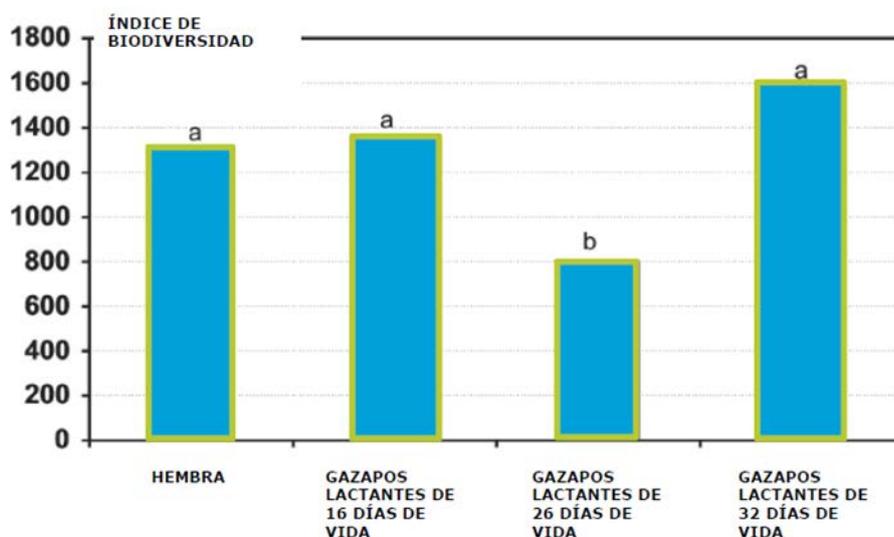


Figura 13. Biodiversidad de la microbiota cecal en conejas y camadas (García *et al.*, 2005).

En relación con otros segmentos digestivos, se ha observado que la cinética de implantación de las bacterias en el colon es muy similar a la del ciego (Gouet y Fonty, 1979). Por otro lado, estos mismos autores señalan que el estómago de los gazapos es casi estéril durante la primera semana de vida y que las bacterias se establecen de forma muy

irregular dependiendo del individuo, estabilizándose desde los 28 días de vida en adelante, mientras que la colonización del intestino delgado es más precoz; en ambos casos, y de forma análoga a lo que sucede en ciego y colon, la microbiota anaeróbica facultativa disminuye claramente durante la 4ª semana de vida mientras que la microbiota anaeróbica estricta queda implantada.

La actividad fibrolítica en el ciego no es detectable en gazapos de menos de 2 semanas de vida (Jehl *et al.*, 1995), pero aumenta rápidamente cuando el conejo comienza a ingerir pienso (17-21 días), por la presencia del substrato y la implantación de la microbiota, de forma que a las 4 semanas de edad ya se alcanza el 80% de la actividad fibrolítica propia del adulto. Más específicamente, la actividad pectinásica y xilanásica ya están presentes a los 21 días y se triplican entre 21 y 35 días, mientras que la actividad celulásica no aparece hasta los 25 días manteniéndose después en niveles bajos (**Figura 14**), en consonancia con la menor implantación de la microbiota celulolítica que la pectinolítica o xilanolítica. Por otro lado, Bennegadi-Laurent *et al.* (2004) describen un descenso de la actividad pectinásica y xilanásica entre los 28 y los 70 días de vida, mientras que Marounek *et al.* (1995) observaron un descenso en la actividad celulásica entre las 4 semanas y los 3 meses de vida, periodo en el que la xilanásica no varió y la pectinásica aumentó.

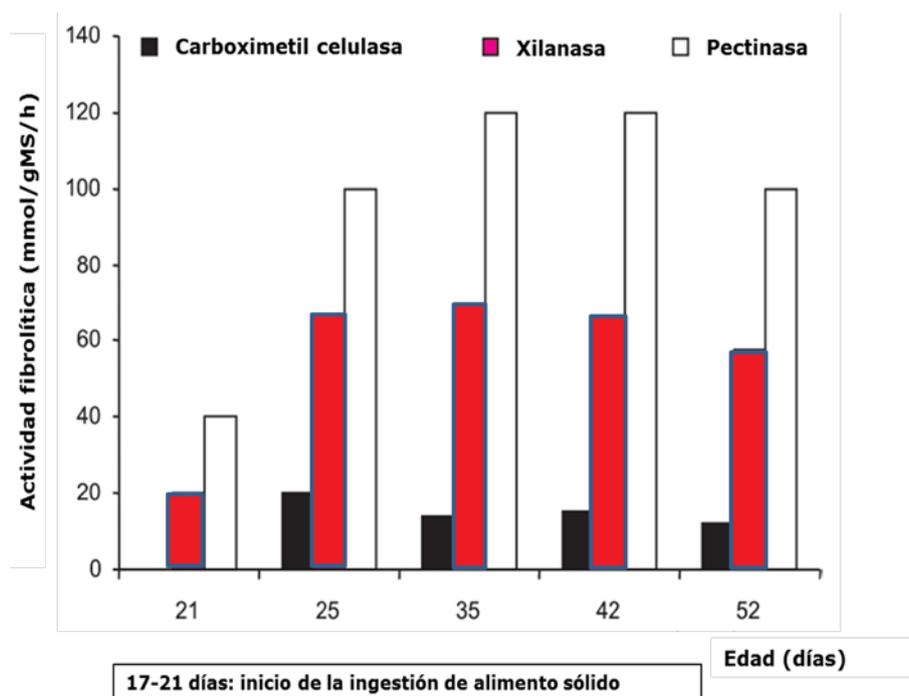


Figura 14. Evolución de la actividad fibrolítica en el ciego del conejo (Gidenne *et al.*, 2008).

Por otro lado, no parece que la actividad amilásica en el contenido cecal varíe entre los 28 y los 56 días de vida (Blas, 1986), aunque Marounek *et al.* (1995) señalaron que aumentaba en torno a un 30% entre las 4 semanas y los 3 meses de vida. Por el contrario, estos últimos autores detectaron que durante ese periodo la actividad ureásica se redujo a la cuarta parte, mientras que las actividades proteolítica y lipásica apenas variaron.

La actividad fermentativa a las 2 semanas de vida es casi nula, pero aumenta rápidamente con el comienzo de la ingestión de pienso, lo que origina un aumento gradual de la concentración de AGV desde los 14 a los 42 días de vida, mientras que la de NH_3 va disminuyendo ligeramente, lo que conduce a una reducción del pH cecal (**Figura 15**).

Por otro lado, la importancia relativa de los productos finales de la fermentación también varía con la edad. Padilha *et al.* (1995) observaron que entre los 15 y 25 días de vida aumentó la proporción molar de acetato a costa esencialmente de isobutirato, isovalerato y valerato, mientras que la de butirato y propionato tendieron a aumentar y disminuir, respectivamente, en tanto que desde los 25 a los 49 días de vida se mantuvo la de acetato y hubo un aumento de la contribución de butirato a expensas del propionato, produciéndose la inversión en el cociente propionato/butirato. Gidenne *et al.* (2002) obtuvieron valores de 2,1 y 0,5 para este cociente a los 21, 28 y 42 días de vida, respectivamente.

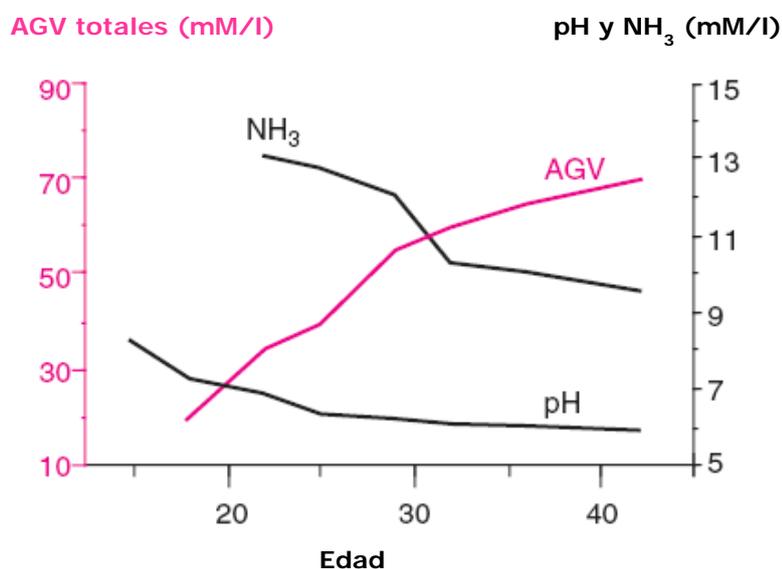


Figura 15. Evolución de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y de amoníaco (NH_3), así como del pH en el contenido cecal de conejos entre la 3ª y la 6ª semana de vida (Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002).

No hay datos sobre posibles cambios en la producción de metano con la edad, salvo un estudio *in vitro* en el que la metanogénesis fue prácticamente nula hasta los 32 días (destete) y aumentó considerablemente a partir de los 36 días (Piattoni *et al.*, 1996). Este resultado contrasta con la abundante implantación de arqueas desde los 7 días de vida, aunque la población alcanza su máximo a los 25-35 días de vida (Bennegadi *et al.*, 2003; Combes *et al.*, 2011).

En cuanto al contenido en materia seca de la digesta cecal, se ha observado que es bajo (12-13%) a las 2 semanas de edad, aumenta considerablemente durante la 3ª semana, varía de forma notable durante la 4ª y se estabiliza desde la 5ª situándose alrededor del 21-24% (Padilha *et al.*, 1995; Zomborszky-Kovacs *et al.*, 2000; Gallois *et al.*, 2008a).

Como ya se ha indicado, la colonización microbiana del intestino actúa como un importante estímulo antigénico para el desarrollo de la función inmune, aunque se dispone de pocos estudios realizados en conejos. Por comparación de animales convencionales con animales axénicos se sabe que la colonización microbiana aumenta la densidad linfocitaria en la mucosa intestinal, el tamaño de las placas de Peyer y la concentración de Ig circulantes. Por otro lado, también parece implicada en el desarrollo y establecimiento de los mecanismos de tolerancia oral, ya que la interacción temprana entre la microbiota y el tejido linfoide asociado al intestino parece ser crucial para el desarrollo adecuado de los complejos circuitos inmunoreguladores en la mucosa y sistémicos, de forma que se produzca una escasa respuesta sistémica frente a antígenos dietarios o a la propia microbiota.

Asimismo, la colonización microbiana influye en el desarrollo de anticuerpos en conejos. El sistema inmune puede identificar un gran número de antígenos y produce un amplio repertorio de anticuerpos (inmunoglobulinas, Ig) secretados por linfocitos B previa diferenciación a células plasmáticas. Como se observa en la **Figura 16**, el conejo genera su repertorio de anticuerpos en 3 fases. El repertorio neonatal es estrecho y corresponde a linfocitos B procedentes de la linfopoyésis en el hígado fetal y en la médula ósea hasta la 3ª semana de vida. El desarrollo del repertorio primario se produce en el tejido linfoide asociado al intestino (particularmente en el apéndice vermiforme) entre la 4ª y la 8ª semanas de vida, cuando los linfocitos B presentan expansión proliferativa y diversificación genética por 2 tipos de procesos mutacionales, conversión génica e hipermutación somática (Mage *et al.*, 2006; Hanson y Lanning, 2008); algunos trabajos sugieren que para esta fase es necesaria la microbiota (Vadjy *et al.*, 1998; Lanning *et al.*, 2000a y 2000b). Este reservorio primario es muy importante en conejos, ya que la linfopoyésis B es muy limitada en el conejo adulto (Jasper *et al.*, 2003) y por tanto constituye la reserva de linfocitos B

para la vida del animal, que se modifica durante las respuestas inmunes antígeno-específicas en los órganos linfoides secundarios, por mutación somática en los genes que codifican las Ig, dando lugar al repertorio secundario.

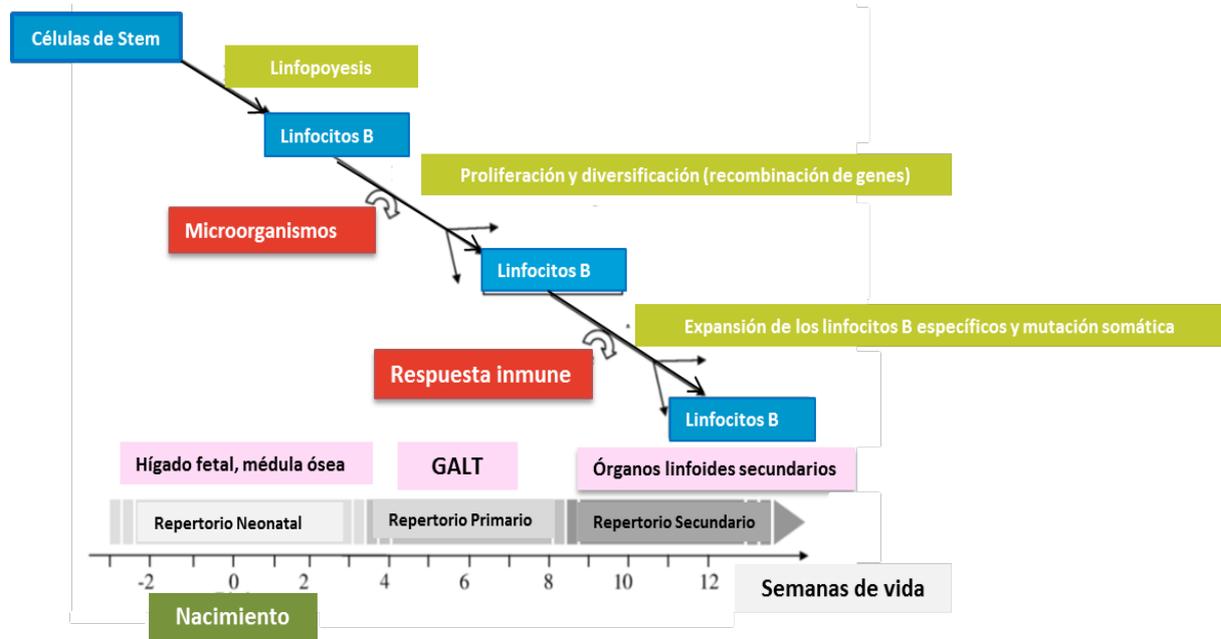


Figura 16. Esquema del desarrollo del repertorio de anticuerpos en el conejo (Fortun-Lamothe y Boullier, 2007).

3.2.4 Evolución de la capacidad digestiva

La digestión por enzimas propias combinada con la actividad microbiana, determina la capacidad digestiva del animal o, en otras palabras, la eficiencia en el aprovechamiento digestivo de los alimentos. Para estimar esta capacidad digestiva global en conejos se ha propuesto un método europeo estandarizado basado en la determinación de la digestibilidad aparente de los nutrientes en el tracto gastrointestinal completo (digestibilidad fecal aparente) de conejos en crecimiento (Pérez *et al.*, 1995), basado, a su vez, en el balance entre ingestión y excreción durante un periodo de 4 días. Este método asume que el animal mantiene estables tanto la ingestión (pienso y cecotrofos) como la excreción fecal y es suficientemente preciso para animales de más de 7 semanas de vida y que hayan sido destetados al menos 2 semanas antes. Sin embargo, su utilidad en animales más jóvenes, de 3-6 semanas, es más cuestionable ya que la ingestión está aumentando rápidamente al

mismo tiempo que aumenta el contenido digestivo y por tanto se subestima la excreción fecal, dando lugar a una sobreestimación de la eficiencia digestiva. De hecho, son numerosos los trabajos que han registrado mayores coeficientes de digestibilidad fecal aparente al destete que a lo largo del periodo de cebo o en animales adultos. A este problema metodológico hay que añadir que se dispone de pocos estudios que hayan medido la digestibilidad aparente de los nutrientes antes del destete, y en los que además se asume que la digestión de la leche es completa.

Debray *et al.* (2003) corrigieron la digestibilidad fecal aparente sumando a la excreción fecal de MS el aumento de peso seco del contenido cecal durante el periodo correspondiente y aun así obtuvieron coeficientes de digestibilidad fecal aparente de materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) y fibra neutro detergente (FND) claramente mayores a los 25-27 días que a los 35-38 días, lo que parece incompatible con la maduración digestiva. Gidenne *et al.* (2005a) propusieron corregir el cálculo en animales de 28-32 días tanto por el aumento de la ingestión de pienso (calculada para un periodo anticipado en 12h con respecto a la excreción fecal, lo que se traduce en descontar de la ingestión la mitad del aumento de ingestión observado en 4 días) como por el aumento del contenido digestivo (sumando a la excreción fecal de MS la mitad del aumento del peso seco del contenido digestivo), lo que condujo a coeficientes de digestibilidad de MO, energía bruta (EB), PB, FND y fibra ácido detergente (FAD) netamente menores que los calculados según el método europeo estandarizado; al mismo tiempo, estos valores corregidos fueron también notablemente menores que los obtenidos en animales de 42-46 días según el método europeo estandarizado, excepto para el caso de PB. Con esta misma corrección, Gidenne *et al.* (2007b) observaron que la digestibilidad fecal aparente de MO, PB, FND, grasa bruta (GB) y almidón aumentó durante la semana previa al destete; sin embargo, los valores registrados en la semana siguiente al destete, calculados según el método europeo estandarizado, se redujeron salvo en el caso del almidón, en que siguieron aumentando. Finalmente, Gallois *et al.* (2008b) calcularon la digestibilidad fecal aparente mediante un método en el que el periodo de control de la ingestión de pienso se adelantó 24h al periodo de colecta fecal, en animales de 24-28 días o de 38-42 días de vida; en los animales de 24-28 días de vida esta corrección también dio lugar a valores de digestibilidad fecal aparente claramente menores que los obtenidos por el método europeo estandarizado y similares a los obtenidos utilizando iterbio como marcador, que además también fueron similares a los obtenidos en los animales de 38-42 días con los 3 métodos. Se puede concluir que las limitaciones metodológicas dificultan que se pueda valorar la maduración digestiva de forma precisa mediante la evolución de la digestibilidad fecal aparente durante la misma.

Por otro lado, se dispone de menos información sobre la evolución de la digestibilidad ileal aparente con la edad como forma de cuantificar la digestión prececal en el conejo. Además, en general, los resultados son conflictivos probablemente también por problemas metodológicos relacionados, no solo con la falta de estabilidad de la ingestión y del contenido digestivo, sino también con la representatividad de la muestra de contenido ileal y las pérdidas endógenas, que explicarían la gran variabilidad residual de los coeficientes de digestibilidad ileal aparente (Blas *et al.*, 2003; Villamide *et al.*, 2010a). Así, Gallois *et al.* (2008b) registraron valores de digestibilidad ileal aparente de la MO más altos en gazapos 28 y 42 días de vida que los habitualmente recogidos en la literatura para conejos adultos. Por otro lado, la digestibilidad ileal aparente de MS y PB resultó ser similar o incluso mayor en animales de 35 días que en animales de 45-46 días (García-Ruiz *et al.*, 2006; Castillo, 2013). Sin embargo, Villamide *et al.* (2010a) señalan que la digestibilidad ileal aparente de PB del pienso en gazapos de 35 días supone como media el 71% de la digestibilidad fecal aparente, mientras que la proporción en animales adultos es de 82% y 90% para forrajes y concentrados, respectivamente, lo que apoyaría la idea de que la digestión prececal de PB está limitada en animales jóvenes.

4. IMPACTO DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO Y LA SALUD GASTROINTESTINAL DEL CONEJO EN CRECIMIENTO

4.1. COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO DE LOS GAZAPOS LACTANTES

Inicialmente, los gazapos se alimentan exclusivamente de leche, fundamental para superar los primeros días y para adquirir las defensas necesarias a través del calostro. La ingestión de leche, habitualmente en una sola toma diaria, tiene una evolución bifásica (ascendente-descendente, con un máximo en torno a los 17 días de vida) y varía ampliamente entre gazapos, dependiendo no solo de la producción lechera de la coneja y del número de gazapos que componen la camada sino también de la habilidad individual de cada uno de ellos (Fortun-Lamothe y Gidenne, 2000); el destete se realiza habitualmente a los 28-35 días de vida. La ingestión sólida comienza durante la tercera semana de vida, a partir de la cual los gazapos van ingiriendo cantidades crecientes de pienso, agua y cecotrofos mientras se produce el descenso en la ingestión de leche (**Figura 17**). Así, los gazapos comienzan a comer pequeñas cantidades de pienso a partir de los 16-18 días, que aumentan rápidamente, multiplicándose por 5-8 entre los 24 y 28 días de vida (Maertens y De Groote, 1990). No obstante, la variabilidad entre camadas con respecto al comienzo y la

evolución de la ingestión de pienso es grande, habiéndose registrado coeficientes de variación de 70%, 41% y 25% para los periodos de 18-21 días, 22-25 días y 26-28 días, respectivamente (Soler *et al.*, 2005).

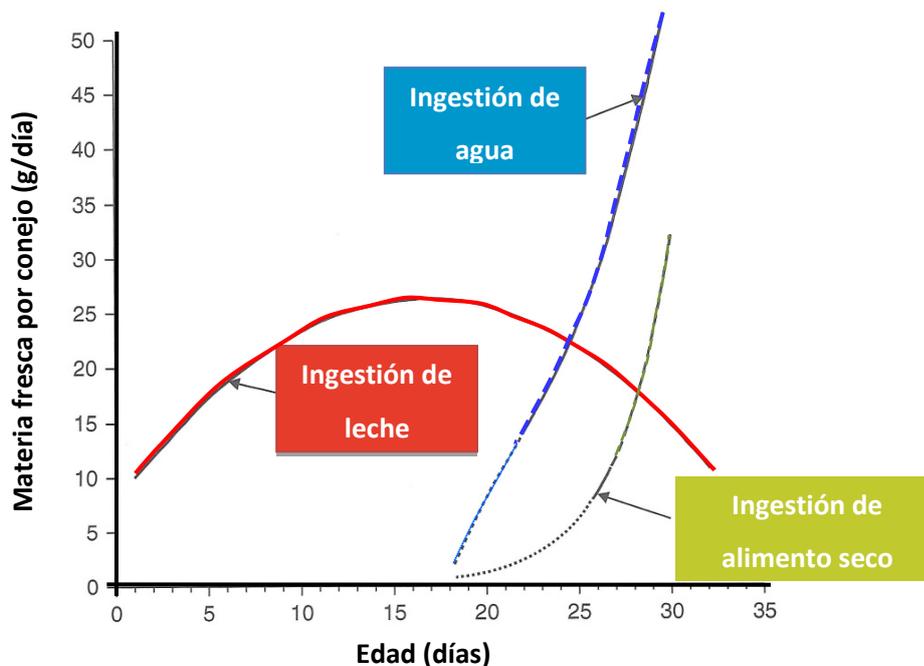


Figura 17. Evolución de la ingestión de leche, pienso y agua en gazapos (Gidenne *et al.*, 2010c).

La disponibilidad de leche es un importante factor regulador de la ingestión de pienso antes del destete, habiéndose observado una correlación negativa entre ambas variables, de forma que cuando se reduce la disponibilidad de leche (camadas más numerosas o menor producción lechera de las conejas) la ingestión de pienso comienza antes y es mayor (Maertens y De Groote, 1990; Scapinello *et al.*, 1999; Fortun-Lamothe y Gidenne, 2000; Pascual *et al.*, 2001; Nizza *et al.*, 2002; Di Meo *et al.*, 2003; Soler *et al.*, 2005). En la misma línea, se ha observado que un destete temprano estimula la ingestión de pienso (Xiccato *et al.*, 2003a, 2005; Gallois *et al.*, 2005). Por el contrario, la ingestión de pienso disminuye cuando los gazapos duplican la ingestión de leche al recibir 2 tomas diarias de leche (madre y nodriza) en lugar de una sola toma (Gyarmati *et al.*, 2000).

Por otro lado, la ingestión de pienso en gazapos lactantes no parece estar regulada por su contenido en energía digestible (ED) como está establecido para gazapos destetados y conejas, en los que varían de forma inversa. Así, algunos autores han encontrado que al aumentar la concentración energética del pienso su ingestión no varió (Gidenne *et al.*, 2004b) o incluso aumentó tanto si la ingestión de leche se mantenía constante (Fortun-Lamothe *et al.*, 2001) como si aumentaba (Debray *et al.*, 2002). Pascual *et al.* (1999a) tampoco observaron que la concentración energética del pienso afectara a la ingestión de los gazapos en la 4ª semana de lactación, pero sí durante la 5ª semana, en que disminuyó al aumentar el contenido energético del pienso.

La dureza es la característica física del pienso que más claramente afecta a la ingestión en gazapos lactantes, que disminuye al aumentar la dureza del pienso tanto si va asociada a una reducción del diámetro de los gránulos (Maertens, 1994; Gidenne *et al.*, 2003) como a un aumento del mismo (Travel *et al.*, 2009). Por otro lado, Martínez-Vallespín *et al.* (2011a) indican que los gazapos lactantes no son capaces de aumentar la ingestión para compensar la dilución energética provocada por la sustitución de almidón por ADF, que sí se observa en las 3 semanas postdeste y en las conejas, probablemente porque ese cambio dietario incrementa la dureza del pienso (en su experimento, esta aumentó un 18%).

Se dispone de escasa información acerca de otros factores que podrían influir sobre el comienzo y la evolución de la ingestión de pienso en gazapos lactantes. Maertens y De Groot (1990) observaron que la retirada temprana del nido (a los 18 días) estimulaba la ingestión de pienso de las camadas de conejas gestantes cuya producción lechera se redujo drásticamente durante la 4ª semana de lactación, pero no en las camadas de las hembras que estaban vacías, que tenían una disponibilidad normal de leche. Faraldo *et al.* (2013) sugieren que también hay un aprendizaje social inducido por el comportamiento de la madre, que estimularía el consumo de pienso de las camadas que permanecen con ella y que explicaría la mayor ingestión de pienso registrada en los 4 días siguientes al destete en tales camadas comparadas con las que se alojaron separadas de sus madres entre los 18 días y el destete.

La leche de coneja es muy rica en proteína y grasa pero pobre en lactosa, con valores medios de 12,3, 12,9 y 1,7%, respectivamente (Maertens *et al.*, 2006). La transición de la dieta láctea a la dieta sólida (habitualmente el pienso de las conejas) supone un cambio sustancial en la naturaleza de los nutrientes ingeridos, ilustrado en la **Figura 18**. Así, la cantidad de proteínas suministradas por el pienso va aumentando y sobrepasa a la suministrada por la leche a partir de los 28 días, mientras que la grasa ingerida es mayoritariamente aportada por la leche incluso en los días previos al destete. La ingestión

de azúcares es casi nula hasta los 17 días y después aumenta discretamente por los contenidos en el pienso. Especialmente interesante resulta la evolución de la ingestión de carbohidratos complejos aportados por el pienso, como los constituyentes fibrosos y el almidón: desde los 17 días, las cantidades de FND y almidón ingeridas crecen rápidamente, llegando a representar en conjunto en torno al 60% de la MS ingerida por los gazapos en los días previos al destete.

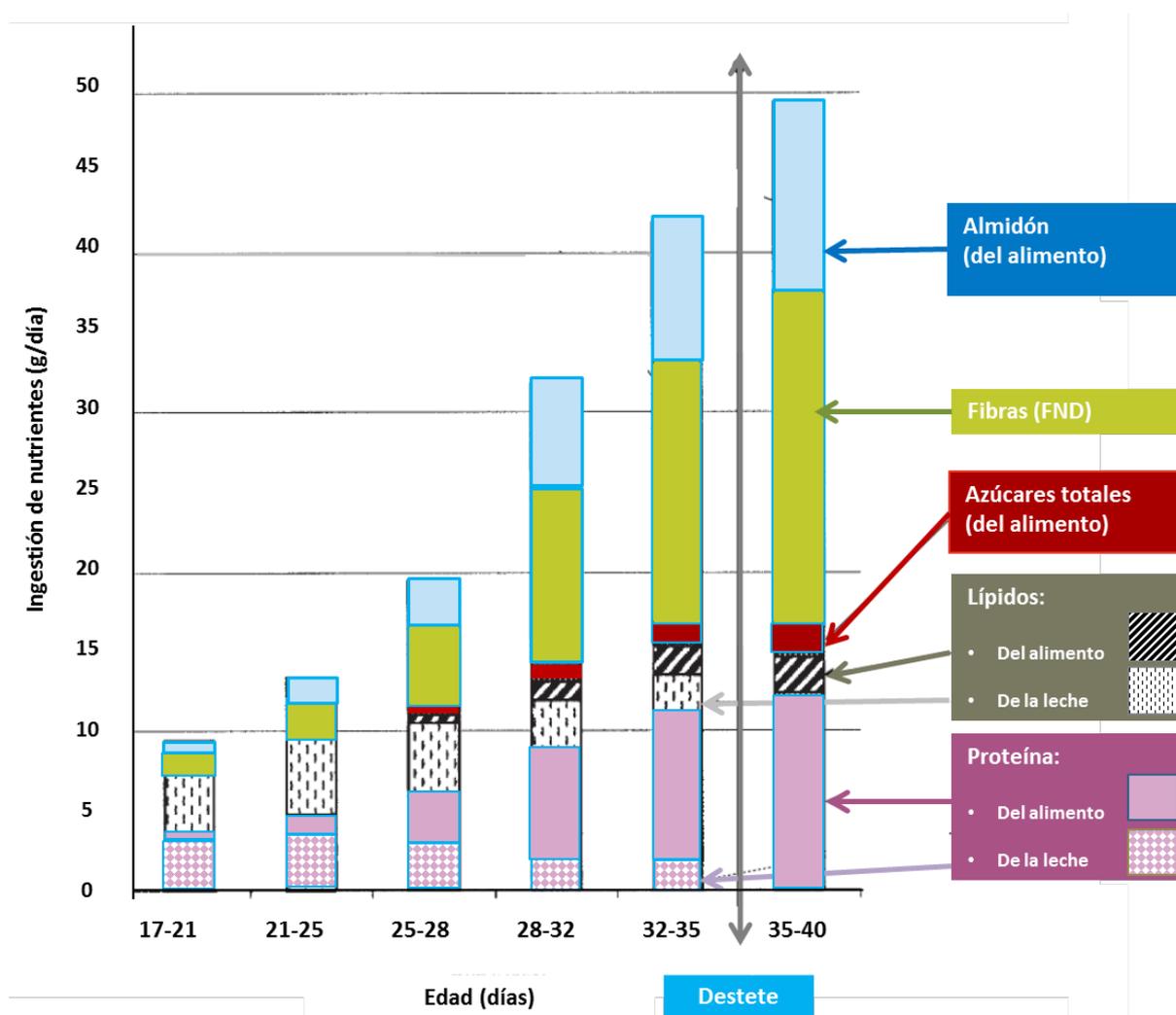


Figura 18. Evolución de la ingestión de nutrientes en gazapos de 17 a 40 días (estimada con leche de composición media y pienso ajustado a las recomendaciones para conejas lactantes; Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002).

Lógicamente, la evolución en la naturaleza de los nutrientes ingeridos varía con las cantidades de leche y pienso ingeridas, así como con la composición del pienso, lo que podría afectar al proceso de maduración digestiva e influir en la incidencia de trastornos digestivos y mortalidad durante el cebo.

4.2. EFECTOS DE LA INGESTIÓN DE LECHE Y PIENSO Y DE LA EDAD AL DESTETE

Algunos trabajos han abordado los efectos de modificar la ingestión de pienso a través de cambios en la ingestión de leche, habida cuenta de la correlación negativa entre ambas. Así, Zomborszky-Kovacs *et al.* (2000) observaron que la concentración cecal de ácidos grasos volátiles totales en los días previos y posteriores al destete era mayor en gazapos que recibieron una sola toma diaria de leche, en comparación con los que recibieron 2 tomas diarias (madre y nodriza). Asimismo, Di Meo *et al.* (2003) registraron una mayor concentración de ácidos grasos volátiles totales (con menor ratio C3/C4), similar concentración de NH₃ y menor pH del contenido cecal al destete en gazapos pertenecientes a camadas de 10 que en los pertenecientes a camadas de 5. Por otro lado, Maertens y Piattoni (2001) comprobaron que retrasar el comienzo de la ingestión de pienso reduce la concentración en ácidos grasos volátiles totales y aumenta el pH del contenido cecal. En la misma línea, Padilha *et al.* (1999) observaron que los gazapos que permanecieron exclusivamente lactantes hasta los 42 días de vida carecían de microbiota celulolítica y presentaban un perfil de fermentación propio de una actividad mayoritariamente proteolítica, con baja concentración de ácidos grasos volátiles totales, alto nivel de NH₃ y pH elevado.

En otros trabajos se han estudiado los efectos de la edad al destete, comparando el destete convencional (a los 28-35 días) con un destete precoz (a los 18-25 días), sobre la morfología y funcionalidad de la mucosa intestinal, sobre la actividad fermentativa o como forma de inducir un aumento del consumo de pienso.

Se sabe que en los lechones el destete provoca una importante atrofia de las vellosidades intestinales, cuya altura se reduce hasta un 50% en solo cinco días (Pluske *et al.*, 1997). Gutiérrez *et al.* (2002a) obtuvieron vellosidades más cortas y criptas más profundas en el yeyuno de gazapos de 35 días de vida destetados a los 25 días que en otros de la misma edad que todavía eran lactantes, unido a una menor actividad de las disacarasas (lactasa, maltasa y sacarasa). Gallois *et al.* (2005) observaron que los parámetros histomorfométricos de la mucosa de los tres segmentos del intestino delgado

(superficie y altura de vellosidades, superficie y profundidad de criptas) en gazapos de 28-49 días de vida no se vieron afectados por la edad al destete (21 o 35 días), salvo un aumento de la superficie y la profundidad de las criptas yeyunales en los gazapos destetados precozmente; sin embargo, Gallois *et al.* (2008a) registraron mayor actividad de maltasa y N-aminopeptidasa en la mucosa duodenal y yeyunal de gazapos de 28 días de vida que habían sido destetados a los 21 días que en los que permanecieron lactantes, lo que respondería a diferencias en la naturaleza de los nutrientes ingeridos (más almidón y proteínas de origen vegetal), aunque no observaron diferencias en la actividad de las enzimas pancreáticas (amilasa, lipasa, tripsina) en el contenido intestinal de gazapos en función de que hubieran sido destetados a los 21 días o permanecieran lactantes. Por el contrario, Gutiérrez *et al.* (2002a) registraron mayor actividad amilásica específica en el tejido pancreático de gazapos de 35 días de vida destetados a los 25 días que en otros de la misma edad que todavía eran lactantes.

Xiccato *et al.* (2003a) observaron que, en comparación con el destete a los 28 días de vida, el destete a los 21 días aumenta la concentración de ácidos grasos volátiles totales (con menor ratio C3/C4) y disminuye el pH del contenido cecal en gazapos de 32 días, sin afectar a su concentración en NH₃. Gutiérrez *et al.* (2002a) tampoco encontraron diferencias en la concentración cecal de NH₃ en gazapos de 35 días de vida en función de que hubieran sido destetados a los 25 días o permanecieran lactantes. Por el contrario, Gallois *et al.* (2008a) registraron menor concentración cecal de NH₃ y de AGV menores (valérico, isobutírico, isovalérico, etc...) en gazapos de 28-35 días de vida si estaban destetados desde los 21 días que si continuaban lactantes, pero no encontraron diferencias en la concentración de AGV totales (ni en la ratio C3/C4), ni en el pH del contenido cecal, ni tampoco en su actividad celulásica y xilanásica (que incluso tendieron a disminuir). Las discrepancias encontradas se deben probablemente a diferencias metodológicas entre los distintos trabajos, sobre todo en la toma de muestras de contenido cecal (por la mañana o por tarde, con o sin ayuno previo).

Como ya se ha señalado, los gazapos que disponen de menos leche o son destetados precozmente (a los 21-23 días de vida) aumentan el consumo de pienso, pero no lo suficiente como para mantener el mismo ritmo de crecimiento, aunque el retraso es plenamente reversible y en general queda compensado a partir de las 8-9 semanas de vida (Fortun-Lamothe y Gidenne, 2000; Pascual *et al.*, 2001; Di Meo *et al.*, 2003; Xiccato *et al.*, 2003a; Gidenne y Fortun-Lamothe, 2004; Gallois *et al.*, 2005). Solo Piattoni *et al.* (1999) han observado que gazapos destetados a los 18 días de vida presentaban menor peso a los 56 días que los que habían sido destetados a los 32 días. Sin embargo, Gyarmati *et al.*

(2000) observaron que los gazapos que recibieron una sola toma diaria de leche hasta los 35 días de vida seguían presentando un menor peso a las 10 semanas que los que recibieron 2 tomas, incluso cuando eran destetados a los 23 días.

La influencia de diferencias en la ingestión de leche y pienso o de la edad al destete en el estado sanitario durante el periodo de cebo no está plenamente dilucidada. Maertens y De Groot (1990) y Pascual (2001) sugieren que una adaptación más temprana a la ingestión de pienso podría tener un efecto beneficioso sobre la salud digestiva durante el cebo. De hecho, Pascual *et al.* (2001) observaron que las camadas que disponían de menos leche y, por tanto, consumieron más pienso antes del destete tenían menor tasa de mortalidad durante el cebo (8% vs. 18%). Sin embargo, Di Meo *et al.* (2003) no detectaron diferencias en la mortalidad durante el cebo entre camadas de 10 y 5 gazapos (16% vs. 18%, respectivamente), a pesar de que las primeras consumían menos leche y más pienso. Además, Fortun-Lamothe y Gidenne (2000) registraron una mayor mortalidad postdestete en gazapos que consumían menor cantidad de leche y mayor cantidad de pienso (21% vs. 11% para camadas de 10 y 4 gazapos respectivamente).

Los trabajos en los que se estudia el efecto del destete precoz sobre la mortalidad de los gazapos tampoco arrojan resultados del todo concluyentes, probablemente porque dependen en gran medida de las condiciones higiénico-sanitarias de la granja. Así, Gidenne y Fortun-Lamothe (2004) observaron mayor mortalidad entre los 32 y los 45 días de vida en gazapos destetados a los 23 días que en los destetados a los 32 días (17% vs. 9%), aunque la mortalidad en el conjunto del engorde no se vio afectada significativamente por la edad del destete. En la misma línea, Gallois *et al.* (2008a) registraron una mayor mortalidad entre los 35 y los 49 días de vida en gazapos destetados a los 21 días que en los destetados a los 35 días (25% vs. 3%). Feugier *et al.* (2006) registraron un claro aumento de la mortalidad en gazapos destetados a los 23 días en comparación con los destetados a 35 días, tanto entre los 23 y los 35 días (24% vs. 3%) como entre los 35 y los 53 días de vida (57% vs. 14%). Cesari *et al.* (2009) también observaron mayor mortalidad en gazapos destetados a los 25 días en comparación con los destetados a 34 días entre los 18 y los 34 días (7,0% vs. 2,5%), aunque la situación se invirtió entre los 34 y los 80 días de vida (7% vs. 18%). Por el contrario, Xiccató *et al.* (2003a, 2003b y 2004a) no encontraron ningún efecto negativo del destete precoz sobre el estado sanitario de los gazapos cuando compararon destetes a 21, 25 y 28 días, registrando mortalidades muy bajas en todos los casos.

Por otro lado, en los últimos años, algunos cunicultores han retrasado la edad del destete ya que esta práctica se ha relacionado con una menor incidencia de EEC en condiciones de campo, que podría explicarse por un efecto protector de la leche frente a algunos patógenos.

Así, Gallois *et al.* (2007) encontraron que la leche proporciona a los gazapos una protección transitoria frente a la infección experimental con *Escherichia coli* O103. Romero *et al.* (2009) observaron que retrasar la edad al destete desde los 28 a los 42 días de vida no influía en la mortalidad durante el periodo de cebo en un primer ensayo realizado tras el vacío sanitario de la granja, registrándose en todos los grupos una baja mortalidad, pero sí la redujo (14% vs. 27%) en un segundo ensayo realizado a continuación y sin vacío sanitario. En la misma línea, Martínez-Vallespín (2011) registró una mortalidad mucho menor entre los 28 y los 42 días de vida en gazapos que continuaron lactantes hasta los 42 días que en los que habían sido destetados a los 28 días (5% vs. 31%) y, aunque la situación se invirtió entre los 42 y los 60 días de vida (28% vs. 18%), la ventaja se mantuvo en el periodo completo (31% vs. 44%).

La leche contiene distintos componentes que, bien directamente o bien a través de los productos resultantes de su digestión, podrían explicar su papel protector frente a las infecciones digestivas. Como ya se ha indicado, la leche de coneja tiene un alto contenido en grasa, particularmente rica en ácidos grasos de cadena media como caprílico y cáprico (46% del total), cuyo potencial antimicrobiano ha sido puesto de manifiesto en diversos trabajos (Skrivanova y Marounek, 2002 y 2006; Skrivanova *et al.*, 2008 y 2009). Por otro lado, Baranyi *et al.* (2003) observaron que la hidrólisis de la caseína de la leche de coneja por endopeptidasas del tracto gastrointestinal genera un gran número de péptidos con actividad antibacteriana, principalmente frente a bacterias Gram-positivas. Además, se sabe que la leche de otras especies contiene IgA y diversas sustancias con capacidad antimicrobiana como defensinas, lactoferrina, enzimas (lactoperoxidasa, lisozima, xantina oxireductasa) y azúcares fucosilados, entre otros, así como factores polipeptídicos de crecimiento (TGF- β , EGF, IGF) y poliamidas que estimulan la regeneración de los epitelios dañados, aunque no se dispone de información en el caso de la coneja. Por otro lado, el efecto beneficioso del retraso en la edad al destete también podría estar relacionado con una transición más progresiva de la dieta láctea a la vegetal.

4.3. EFECTOS DE LA COMPOSICIÓN DEL PIENSO

En la última década, la nutrición de los conejos en crecimiento ha sido ampliamente revisada para tratar de definir mejor sus necesidades y proponer así una dieta adecuada para minimizar los trastornos digestivos en general y la EEC en particular, puesto que el riesgo de sufrir dichos trastornos está asociado principalmente al flujo ileal de nutrientes y al tránsito ceco-cólico, determinantes del ambiente y la estabilidad del ecosistema microbiano cecal. Los niveles nutricionales recomendados para maximizar su crecimiento

no son probablemente los más indicados para garantizar su salud, habiéndose sugerido incluso la conveniencia de distinguir entre recomendaciones para obtener óptimas prestaciones productivas y recomendaciones para situaciones de riesgo de trastornos digestivos (Lebas, 2004; Fortun-Lamothe y Bouiller, 2007). De hecho, el nivel y la naturaleza de algunos nutrientes como, principalmente, la fibra, el almidón y la proteína han sido frecuentemente relacionados con la salud digestiva durante el cebo (Gidenne *et al.*, 2010b), aunque sus efectos no siempre son fáciles de interpretar y dilucidar por la dificultad a la hora de comparar los distintos estudios realizados.

Especial atención merece el hecho de que, por definición, los cambios dietarios son complejos e implican modificaciones en el nivel y la naturaleza de varios nutrientes simultáneamente, que suelen ser diferentes entre los distintos estudios realizados, tanto en los nutrientes implicados como en la intensidad de los cambios realizados. El examen detallado de tales cambios dietarios refleja que frecuentemente son singulares y distintos de otros con los que aparentemente serían comparables. Además, las dietas comparadas también pueden diferir en algunas características no recogidas en las determinaciones analíticas habituales, como por ejemplo el tamaño de partícula o la capacidad tamponante.

Por otro lado, como ya se ha señalado, el pienso no debe considerarse normalmente como causa primaria de los problemas digestivos sino únicamente como un factor de riesgo epidemiológico, dependiente de otros factores tales como las condiciones higiénicas y el estado sanitario de la granja, el manejo de la alimentación o el uso de agentes antimicrobianos en pienso y/o agua. De esta forma, no es infrecuente que las mismas o parecidas variaciones dietarias se comporten de forma diferente con respecto a la salud digestiva dependiendo de los mencionados factores, en especial del nivel de incidencia de problemas digestivos y en particular de EEC. En tal sentido, frente a estudios en condiciones experimentales dimensionados para evaluar los efectos sobre los parámetros estrictamente productivos y/o sobre la canal y la carne, los estudios realizados a gran escala en condiciones de campo, ofrecen resultados más consistentes y permiten valorar el riesgo de problemas digestivos de forma más adecuada.

Asimismo, los estudios realizados varían ampliamente en algunos aspectos metodológicos relativos a la toma de muestras de contenidos o tejidos digestivos utilizadas para valorar el impacto de la composición de la dieta sobre distintos aspectos de la función digestiva, como la edad de los animales y el momento de la toma de dicha muestra (mañana o tarde, con o sin ayuno previo).

Además, la mayoría de los estudios realizados han utilizado el sistema de alimentación convencional (**Figura 19**), en el que los gazapos reciben un mismo pienso para conejas lactantes hasta el destete y solo tras el destete son asignados a los diferentes piensos experimentales; de esta forma, incluso en el caso de destetes precoces (23-25 días), los gazapos comienzan a recibir los piensos experimentales varios días después de haber iniciado la ingestión sólida con un pienso distinto, que podría condicionar la orientación de la colonización microbiana, la actividad fermentativa, el ambiente y la estabilidad del ecosistema microbiano del ciego (Gidenne, 1997; Licois y Gidenne, 1999).

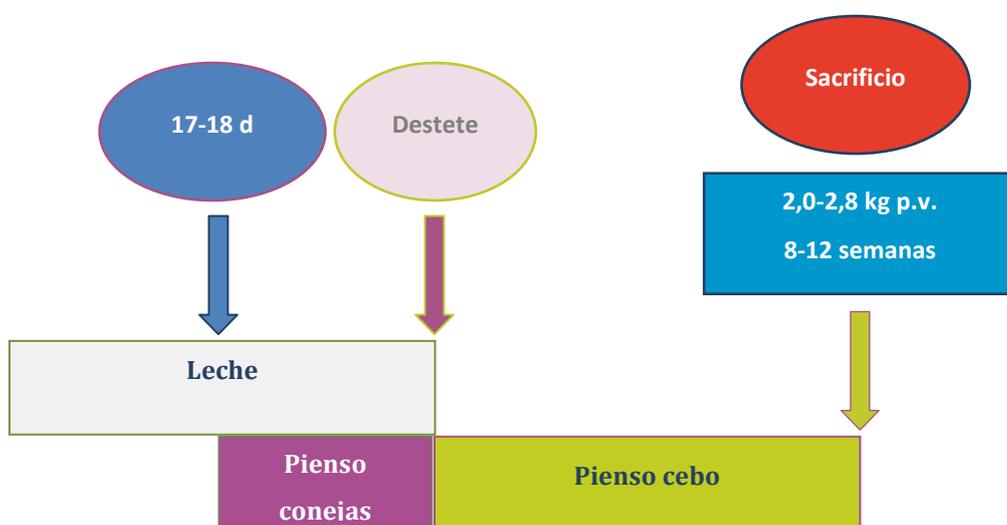


Figura 19. Sistema de alimentación convencional para gazapos.

Por el contrario, los trabajos realizados con piensos peridestete (**Figura 20**), consumidos por los gazapos desde el inicio de la ingestión sólida (17-18 días) hasta las 6-7 semanas de vida, son escasos. En estos casos existen 2 posibilidades: alimentación diferenciada de camadas y conejas o alimentación conjunta de camadas y conejas antes del destete.

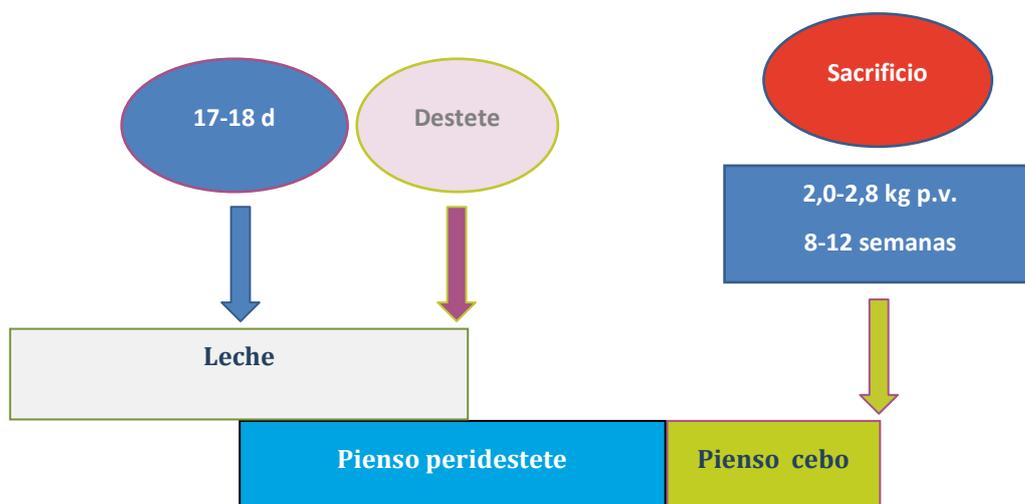


Figura 20. Sistema de alimentación para gazapos basado en el empleo de pienso peridestete.

La alimentación diferenciada de camadas y conejas antes del destete (pienso peridestete para los gazapos y pienso de conejas para sus madres) es a priori la mejor opción, ya que permitiría atender específicamente sus respectivas necesidades. En condiciones experimentales, la camada y la coneja pueden alojarse y alimentarse en dos jaulas separadas a partir de los 17-18 días, reuniéndose durante unos minutos al día para la tetada, hasta el momento de practicar el destete. Sin embargo, este sistema es difícil de implementar en condiciones de campo, ya que requiere del uso de jaulas y comederos especiales (Fortun-Lamothe *et al.*, 2000), cuyo coste adicional debería estar justificado por la mejora de los resultados técnicos.

La alimentación conjunta de camadas y conejas antes del destete (pienso peridestete para los gazapos y para sus madres) es de más fácil aplicación en condiciones de campo pero puede producir efectos negativos en las conejas (deterioro de la condición corporal o del estado sanitario, menor rendimiento reproductivo, menor producción lechera), cuando la composición del pienso peridestete se aleja excesivamente de la concentración nutritiva requerida por las conejas lactantes o/y se produce una brusca caída de la ingestión al cambiarles el pienso, efectos que serían más intensos en lactaciones prolongadas (Chmitelin *et al.*, 1990; Debray *et al.*, 2002; Fortun-Lamothe *et al.*, 2005; Martínez-Vallespín, 2011; Martínez-Vallespín *et al.*, 2011a); en tal caso, los efectos del pienso peridestete sobre los gazapos serían tanto directos como indirectos (por su influencia sobre la coneja) y su

interpretación podría ser problemática. En otros trabajos, por el contrario, no se han observado efectos negativos sobre las conejas (Morisse *et al.*, 1989; Fortun-Lamothe *et al.*, 2001).

4.3.1 Fibra

Composición y análisis

Inicialmente, la fibra dietaria puede definirse como la fracción de las células vegetales resistente a las enzimas digestivas segregadas por los animales. Estaría compuesta, fundamentalmente, por polímeros vegetales no hidrolizables por las enzimas endógenas pero sí por las aportadas por la microbiota digestiva residente principalmente en el tracto gastrointestinal. Desde un punto de vista más cercano a la morfología botánica, también puede definirse como el conjunto compuesto por los polisacáridos y la lignina constituyentes de la compleja estructura de la pared celular vegetal.

Entre los numerosos constituyentes de la fibra dietaria (**Figura 21**), conviene destacar cinco clases principales de compuestos fibrosos, en función de su estructura química y sus propiedades:

Cuatro clases de polímeros insolubles en agua: lignina, celulosa, hemicelulosas insolubles (HCi) y pectinas insolubles.

Una clase de compuestos solubles en agua (hemicelulosas solubles, pectinas solubles; también se incluyen algunos carbohidratos no parietales que solo son degradables por enzimas microbianas, como ciertos polisacáridos de bajo peso molecular y oligosacáridos).

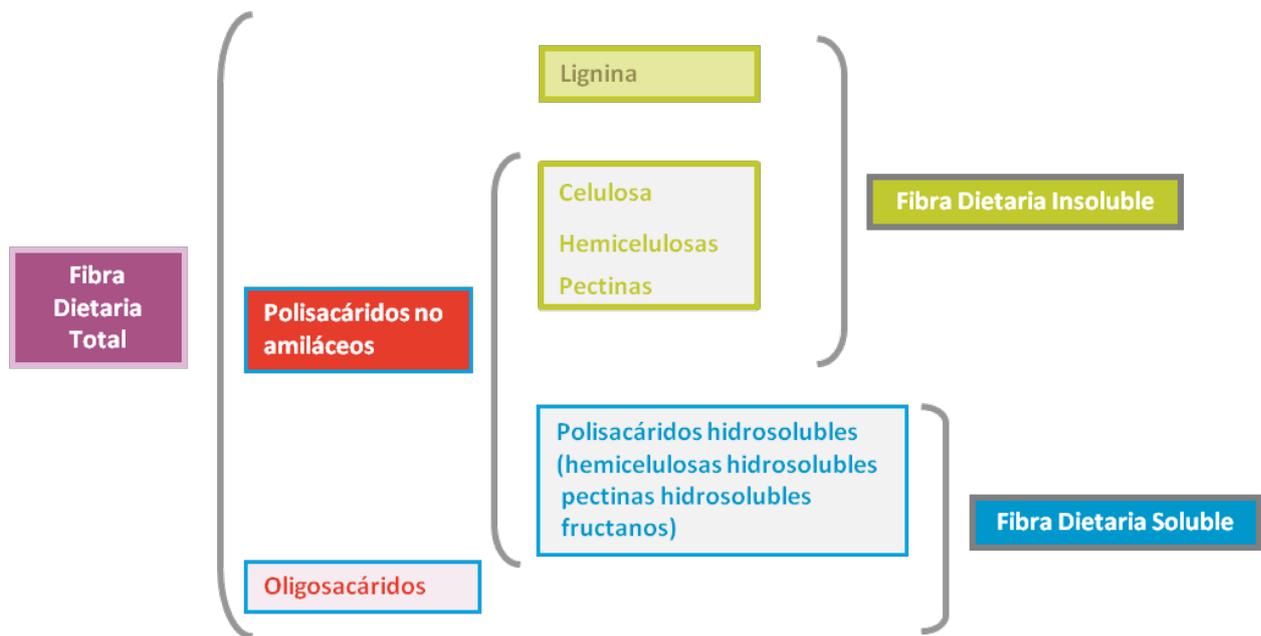


Figura 21. Clasificación de la fibra dietaria (adaptado de Li, 1995).

La lignina es el único polímero no sacárido de la pared celular. Forma una red tridimensional muy ramificada y completa, constituida por tres derivados alcohólicos del fenilpropano (alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico, alcohol sinapílico). Las redes de lignina tienden a fijar a los otros polímeros parietales, excluyen al agua y hacen que la pared celular sea más rígida y resistente. Es resistente a la mayoría de agentes químicos y enzimáticos, incluyendo las enzimas microbianas. Existen fuertes enlaces químicos entre la lignina y la mayoría de los polisacáridos (y proteínas) parietales, lo que impide o dificulta la digestión de estos compuestos.

La celulosa es un homopolímero formado por cadenas lineales de unidades de glucosa unidas por enlaces $\beta(1-4)$, con un grado de polimerización normalmente en torno a 8000-10000. Estas cadenas lineales se agregan entre sí mediante puentes de hidrógeno formando microfibrillas. Se encuentra unida física y químicamente a otros componentes parietales como las hemicelulosas y la lignina. Solo es soluble (y parcialmente hidrolizable) en soluciones ácidas fuertes. Su degradabilidad por la microbiota digestiva (fermentabilidad) puede considerarse lenta/baja.

Las hemicelulosas son un grupo de diversos polisacáridos con menor grado de polimerización que la celulosa. Generalmente, se trata de heteropolímeros ramificados con un esqueleto constituido por xilosa, glucosa, manosa o galactosa, con enlaces $\beta(1-4)$, con cadenas laterales formadas por arabinosa, ácido galacturónico, galactosa, glucosa o xilosa; no obstante, también se incluyen algunos homopolímeros lineales. La principal hemicelulosa en dicotiledóneas son los xiloglucanos, mientras que los cereales contienen arabinoxilanos y β -glucanos (homopolímeros lineales de glucosa con enlaces $\beta(1-3)$ y $\beta(1-4)$), siendo ambos parcialmente solubles en agua. También se incluyen otros heteropolímeros ramificados (enlaces $\beta(1-3)$, $\beta(1-6)$, $\alpha(1-4)$, $\alpha(1-3)$), como arabinogalactanos, galactomananos, glucomananos y galactoglucomananos. Asimismo, también se clasifican como hemicelulosas polímeros lineales con enlaces $\beta(1-4)$ de xilosa (xilanos) o de manosa (mananos). Las hexosanas tales como mananos, galactomananos, glucomananos y galactoglucomananos solo son solubles en soluciones alcalinas fuertes; las pentosanas tales como xilanos y arabinoxilanos, son solubles en soluciones alcalinas débiles o en soluciones ácidas calientes y algunas en detergente neutro e incluso en agua caliente. Con la limitación que supone la heterogeneidad de este grupo de polímeros, las hemicelulosas son en general de fermentabilidad intermedia.

Las pectinas son un grupo de heteropolisacáridos ramificados compuestos por un esqueleto lineal de ácido galacturónico (interrumpido con unidades de L-ramnosa) y ramificaciones que contienen azúcares neutros (principalmente arabinosa y galactosa). Son solubles en detergentes (neutro o ácido) pero no en agua caliente, salvo algunas que son muy escasas en las materias primas habitualmente utilizadas en alimentación animal. Son altamente fermentables.

También son constituyentes de la fibra dietaria ciertos carbohidratos no parietales, solubles en agua fría pero no en etanol-agua y que son de alta fermentabilidad. Los fructanos son polisacáridos de reserva de bajo peso molecular, solubles en agua y constituidos esencialmente por fructosa, aunque la mayoría presenta unidades terminales de sacarosa; se distinguen tres grupos: levano, inulina y fructanos altamente ramificados. También se incluyen oligosacáridos con un grado de polimerización superior a 15.

Dada la heterogeneidad de sus componentes, el análisis de la fracción fibrosa de los alimentos es inevitablemente problemático. De hecho, ninguno de los métodos analíticos desarrollados, ilustrados en la **Figura 22**, puede considerarse bioquímicamente preciso y permite una valoración cuantitativa completa de los distintos constituyentes de la fibra dietaria. En todos ellos se debe partir de muestras que tengan poca grasa, para lo que frecuentemente deben ser previamente desengrasadas.

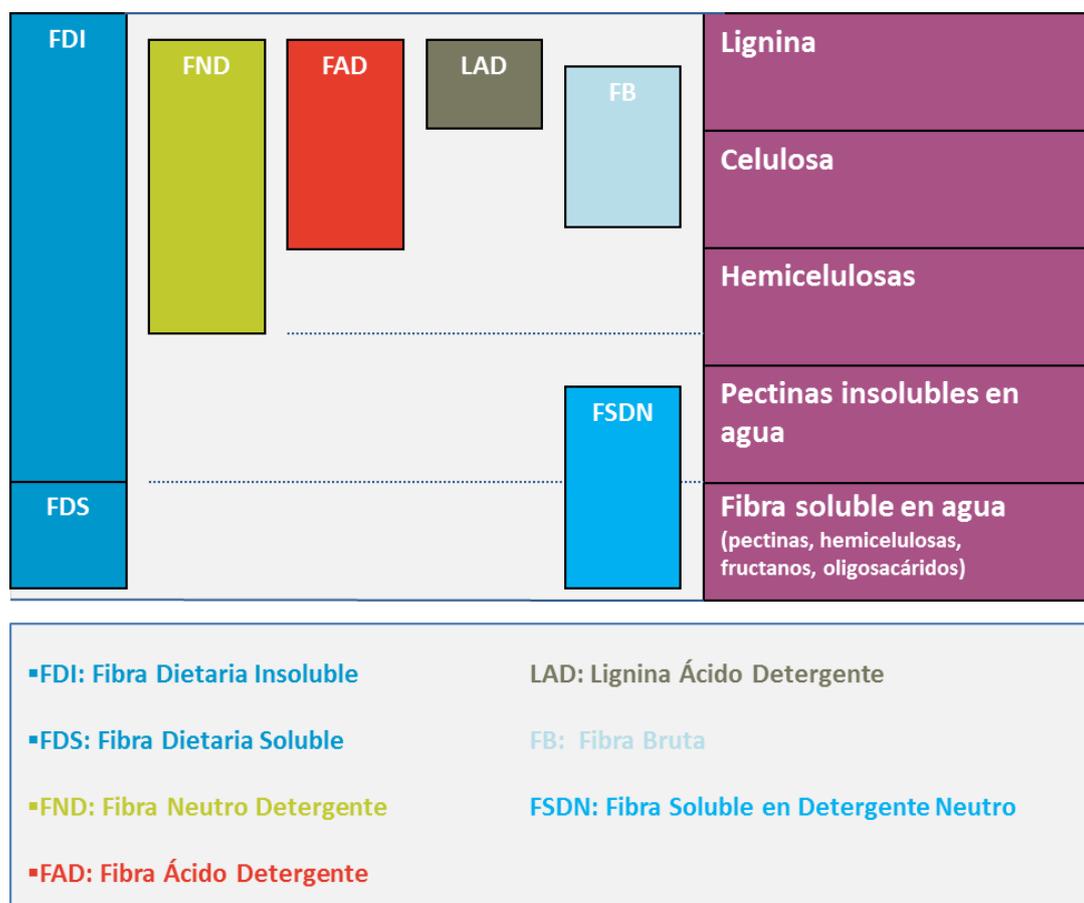


Figura 22. Métodos analíticos para determinar la fibra dietaria (adaptado de Gidenne, 2003).

La fibra bruta (FB) se define como la MO del residuo alimentario procedente de la extracción con éter y resistente a los ataques sucesivos con un ácido y un álcali diluidos. Esta fracción incluye lignina, celulosa y hemicelulosas, pero no las cantidades totales de dichas sustancias sino una cantidad variable de las mismas, que depende de la planta y de su fase de crecimiento.

En la actualidad es mucho más frecuente la determinación de FND, FAD y lignina ácido detergente (LAD). La FND es la MO del residuo alimentario que queda tras la extracción por ebullición con solución neutra de sulfato lauril sódico y ácido etilendiaminotetraacético; se compone principalmente de lignina, celulosa y hemicelulosas insolubles. La FAD es la MO del residuo que queda tras una segunda extracción por ebullición con solución ácida de bromuro de cetiltrimetilamonio; está constituida esencialmente por lignina y celulosa. La LAD es la

MO que resiste un tercer ataque con ácido sulfúrico concentrado; contiene básicamente lignina. La principal ventaja de esta determinación es que permite estimar de forma suficientemente precisa los constituyentes fibrosos más determinantes del tránsito digestivo y fraccionarlos en lignina (LAD), celulosa (FAD-LAD) y hemicelulosas insolubles en detergente neutro (FND-FAD). Algunas hemicelulosas y las pectinas son solubilizadas por el detergente neutro y por tanto no se cuantifican con este método, mientras que en la FAD pueden quedar otras hemicelulosas; además, la FND tiene un contenido proteico muy variable.

En nutrición humana es habitual analizar fibra dietaria total (FDT), fibra dietaria insoluble (FDI) y fibra dietaria soluble (FDS), mediante métodos enzimático-gravimétricos o enzimático-cromatográficos. En los primeros, las muestras se gelatinizan por calentamiento en presencia de amilasa termoestable y se incuban con enzimas para eliminar las proteínas y el almidón (sucesivamente, proteasa y amiloglucosidasa); la FDT se precipita con etanol, se filtra, se lava, se seca, se pesa y se corrige por proteína y cenizas; si tras la incubación con enzimas se procede a filtrar, el residuo se utiliza para determinar la FDI y el filtrado se precipita con etanol para determinar la FDS. En los segundos, en primer lugar se elimina el almidón enzimáticamente; tras precipitación con etanol, el residuo se hidroliza con ácido sulfúrico concentrado y cada uno de los azúcares neutros monoméricos liberados se cuantifica mediante cromatografía gas-líquido o cromatografía líquida de alta resolución; los ácidos urónicos del hidrolizado se cuantifican colorimétricamente; la lignina se determina gravimétricamente; hidrolizando el residuo de otra muestra filtrada antes de precipitarla con etanol se determinan los componentes de la FDI, calculándose los componentes de la FDS por diferencia.

En teoría, la determinación de la FDS según los métodos descritos en el párrafo anterior sería es una buena estimación de la fracción fibrosa más rápida e intensamente degradable por la microbiota digestiva, que estaría integrada principalmente por pectinas, hemicelulosas solubles (arabinosilanos y β -glucanos), fructanos y oligosacáridos. Sin embargo, su análisis produce ciertas imprecisiones, derivadas sobre todo de una extracción incompleta (pectinas insolubles) y/o de que los polisacáridos solubilizados no precipiten completamente con etanol dependiendo de sus concentraciones en el extracto y de su grado de polimerización o ramificación; por otro lado, se trata de análisis muy laboriosos y que en algunos casos requieren equipos sofisticados y caros. Otras alternativas para valorar esta fracción fibrosa son la fibra soluble en detergente neutro (FSDN), definida como la diferencia entre la MO del residuo insoluble en etanol y la FND corregida por almidón y

proteína, y la fibra soluble (FS), definida como la diferencia entre la FDT y la FND corregida por proteína (Trocino *et al.*, 2013b).

Por último, debe mencionarse que la utilización del término fibra dietaria (FD) para caracterizar la fracción fibrosa resulta poco precisa y confusa. En algunos estudios (Gidenne y Jehl, 1996; Jehl y Gidenne, 1996; Gidenne y Bellier, 2000; Gidenne y Perez, 2000; Perez *et al.*, 2000; Xiccato *et al.*, 2004b; Gidenne *et al.*, 2013a y 2013b) se define como la suma de los contenidos en pectinas insolubles en agua (calculados a partir de tablas de composición de alimentos, dada la dificultad de su determinación analítica) y hemicelulosas insolubles (FND-FAD); en otros trabajos (Fragkiadakis *et al.*, 2007; Xiccato *et al.*, 2008) sería la diferencia FDT-FAD.

Efectos sobre la salud digestiva

El papel del nivel y del tipo de fibra en el mantenimiento de la salud digestiva de los conejos en crecimiento ha sido ampliamente estudiado. La mayor parte de los trabajos se han centrado en el aumento de la fibra a costa principalmente del almidón, tratando de separar los efectos específicos de los distintos tipos de fibra que se pueden incluir en la dieta; entre ellos esencialmente se incluyen FAD o FND en detrimento del almidón y otros en los que éste es básicamente reemplazado por fibra más fermentable. En otros casos se han estudiado los efectos de cambiar el tipo de fibra sin apenas modificar el nivel de almidón de la dieta. Generalmente, los estudios se han realizado, como ya se ha indicado, siguiendo el sistema de alimentación convencional, siendo escasos los realizados con piensos peridestete.

Gidenne *et al.* (2000) observaron que el aumento de todos los constituyentes fibrosos (+17, +78, +78 y +34 g/kg MS de lignina, celulosa, hemicelulosas insolubles y pectinas insolubles, respectivamente) en sustitución de almidón (-212 g/kg MS) tendió a reducir el índice de riesgo sanitario (iRS) durante el cebo, con aumento de la concentración cecal de AGV totales a las 6 semanas pero no a las 10 semanas, aumentando la proporción molar de acético y disminuyendo la de butírico y los AGV que se encuentran en menores concentraciones; además, en animales adultos, comprobaron que se redujo el tiempo de retención de la digesta en el segmento ceco-cólico, aumentó la actividad fibrolítica (pectinásica, xilanásica y celulásica) en el ciego y las cantidades de FND y FAD fermentadas. Gidenne *et al.* (2004a) también encontraron que el aumento de todos los constituyentes fibrosos (+24, +128, +101 y +96 g/kg MS de lignina, celulosa, hemicelulosas insolubles y pectinas insolubles, respectivamente) en sustitución de almidón (-386 g/kg MS) redujo la

mortalidad (10% vs. 33%) y el IRS (30% vs. 68%) durante el cebo, lo que se asoció con un menor tiempo de retención total de la digesta; en gazapos que recibieron estas dietas desde los 18 días de vida, también registraron distintos cambios en el ambiente cecal en animales de 6 a 10 semanas, con aumento de la concentración de AGV totales (con mayor proporción molar de acético y menor de butírico), descenso de la de NH₃ y reducción del pH, así como un claro aumento de la producción de biomasa bacteriana, que se triplicó. En un estudio a gran escala en condiciones de campo, Fabre *et al.* (2006) comprobaron que el aumento de celulosa y pectinas insolubles (+41 y +65 g/kg MS, respectivamente) en sustitución de almidón (-95 g/kg MS) redujo la mortalidad (5% vs. 11%), aunque cabe señalar que la composición de los piensos comparados se calculó con valores de tablas.

FAD o FND versus almidón

Feugier *et al.* (2006) observaron que un aumento sustancial del contenido en FAD y FND (+66 y +136 g/kg de MS, respectivamente) en sustitución de almidón (-137 g/kg MS) no afectó al estado sanitario durante el cebo. Sin embargo, en un estudio a gran escala, Blas *et al.* (1994) observaron que el aumento de FAD y FND (+57 y +95 g/kg MS, respectivamente) en sustitución del almidón (-93 g/kg MS) disminuyó la mortalidad (4,7% vs. 8,0%). También a gran escala y en condiciones de campo, Perez *et al.* (1994) comprobaron que el aumento de FAD (+73 g/kg MS) particularmente rica en lignina (+53 g/kg MS) con disminución del almidón (-46 g/kg MS) redujo la mortalidad en el postdestete (4,0% vs. 8,1%) y en el conjunto del cebo (9% vs. 14%), que se asoció a un menor tiempo de retención total de la digesta y un menor tiempo de retención cecal de las partículas pequeñas (Gidenne y Perez, 1994); en las mismas condiciones, Perez *et al.* (1996) comprobaron que el aumento específico de celulosa (+73 g/kg MS) a expensas del almidón (-101 g/kg MS) también redujo la mortalidad en el postdestete (0,8% vs. 5,9%) y en el conjunto del cebo (5% vs. 12%), también asociado a un menor tiempo de retención total de la digesta pero sin afectar al tiempo de retención cecal de las partículas pequeñas (Gidenne y Perez, 1996).

Con cambios de similar naturaleza pero de menor intensidad (+26, +38 y -59 g/kg MS de FAD, FND y almidón, respectivamente), Fragkiadakis *et al.* (2007) registraron una clara reducción de la mortalidad y del IRS por EEC (7% vs. 43% y 14% vs. 64%, respectivamente), sin cambios en la concentración de AGV totales y de NH₃ ni del pH en el ciego pero con aumento de la altura de las vellosidades intestinales; con modificaciones dietarias parecidas (+26, +45 y -36 g/kg MS de FAD, FND y almidón, respectivamente), Xiccato *et al.* (2002) tampoco encontraron cambios en el ambiente cecal (AGV totales,

proporciones molares de los AGV, NH₃ y pH); por otro lado, con variaciones dietarias análogas (+46, +62 y -44 g/kg MS de FAD, FND y almidón, respectivamente), Gutiérrez *et al.* (2002a) tampoco observaron cambios en la concentración de NH₃ y el pH cecal, ni en la morfometría de las vellosidades intestinales, aunque sí un aumento de las actividades específicas de amilasa y maltasa en tejido pancreático y mucosa intestinal, respectivamente, sin efecto sobre la mortalidad durante las 2 semanas postdestete, que sin embargo aumentó durante el resto del cebo cuando todos los animales consumieron un mismo pienso. Xiccato *et al.* (1998) observaron que el aumento de FAD (+38 g/kg MS) con descenso del almidón (-54 g/kgMS) no afectó a la concentración de AGV totales ni al pH del ciego, pero redujo la proporción molar de valerato y la concentración de NH₃.

Con piensos peridestete ofrecidos desde los 18 a los 42 días de vida, en alimentación conjunta de camadas y conejas antes del destete, Debray *et al.* (2003) comprobaron que el aumento sustancial del contenido en FAD y FND (+56 y +114 g/kg de MS, respectivamente) en sustitución de almidón (-108 g/kg MS) no modificó las actividades específicas de amilasa y maltasa en tejido pancreático y mucosa intestinal, respectivamente. Sin embargo, en las mismas condiciones pero con cambios más moderados (+33, +42 y -30 g/kg MS de FAD, FND y almidón, respectivamente), Gidenne *et al.* (2007b) registraron un aumento de amilasa y maltasa en el contenido intestinal, sin encontrar variaciones en la concentración de AGV totales (aunque sí un descenso de la proporción molar de acético) o NH₃ ni del pH cecal. En un estudio a gran escala, Martínez-Vallespín *et al.* (2011a) observaron que el aumento de FAD (+61 g/kg MS) particularmente rica en lignina (+41 g/kg MS) a costa del almidón (-48 g/kg MS) en piensos peridestete ofrecidos desde los 17 a los 49 días en alimentación conjunta de camadas y conejas hasta el destete, redujo la mortalidad por EEC entre los 28 y los 49 días (46% vs. 56%); en el ambiente cecal este cambio se asoció a una mayor concentración de MS y AGV totales (sin cambios en sus proporciones molares), no afectó a la de NH₃ y produjo efectos distintos sobre el pH, que aumentó con piensos de 145 g FSDN/kg MS y disminuyó con piensos con 185 g FSDN/kg MS, en los que también se encontró una disminución del peso cecal a pesar del aumento de la ingestión, probablemente por menor tiempo de retención cecal de la digesta (Martínez-Vallespín *et al.*, 2013).

Fortun-Lamothe *et al.* (2001) compararon la utilización de un pienso peridestete entre los 18 y 42 días de vida, tanto en alimentación diferenciada como en alimentación conjunta de camadas y conejas hasta el destete, con el sistema convencional, utilizando un pienso peridestete con más FAD y FND (+39 y +73 g/kg MS, respectivamente) en sustitución de almidón (-75 g/kg MS) que el pienso de conejas y también más rico en FAD y FND (+39 y

+70 g/kg MS, respectivamente) a expensas de almidón (-57 g/kg MS) que el pienso de cebo, observando una reducción de la mortalidad y el iRS durante el cebo, tanto entre los 32-42 días (11% vs. 18% y 28% vs. 38%, respectivamente) como entre los 42 y 70 días (17% vs. 22% y 32% vs. 43%, respectivamente). En un ensayo a gran escala en condiciones de campo, Fortun-Lamothe *et al.* (2005) compararon la utilización de pienso peridestete entre los 18 y 50 días en alimentación conjunta de camadas y conejas antes del destete con el sistema convencional, utilizando pienso peridestete con más FAD y menos almidón que el pienso de las conejas (+65 y -106 g/kg MS, respectivamente) y más hemicelulosas insolubles y más almidón que el pienso de cebo (+28 y + 44 g/kg MS, respectivamente), observando un descenso de la mortalidad (16% vs. 22%).

Fibra más fermentable versus almidón

Gidenne y Bellier (2000) estudiaron los efectos sobre el tránsito digestivo y el ambiente cecal tanto de incluir pectinas insolubles y hemicelulosas insolubles a costa del almidón (+52, +27 y -105 g/kg MS, respectivamente) como de incluir solo hemicelulosas insolubles en detrimento del almidón (+52 y -71 g/kg MS, respectivamente), observando en ambos casos una reducción similar del tiempo de retención de la fase sólida de la digesta en el segmento ceco-cólico; sin embargo, los efectos sobre el ambiente cecal fueron distintos: en el primer caso aumentó la concentración de AGV totales y se redujo el pH, que no variaron en el segundo caso, aunque en ambos aumentó la proporción molar de acético, se redujo la de butírico y no se modificó la concentración de NH₃. Por el contrario, en otros trabajos (Gidenne y Jehl, 1996; Jehl y Gidenne, 1996) se ha observado que la inclusión de pectinas insolubles y hemicelulosas insolubles (+57 y +40 g/kg MS, respectivamente) en sustitución de almidón (-130 g/kg MS) no afectó al tiempo de retención de la fase sólida de la digesta en el segmento ceco-cólico pero casi duplicó la producción de biomasa bacteriana (13% vs. 7% de la MS ingerida), aumentó la concentración cecal de AGV totales, sin afectar a otros parámetros del ambiente cecal y redujo el iRS; con las mismas dietas (por tanto con casi idénticas modificaciones: +63, +56 y -128 g/kg MS de pectinas insolubles, hemicelulosas insolubles y almidón, respectivamente) y en un estudio a gran escala en condiciones de campo, Perez *et al.* (2000) comprobaron el descenso de la mortalidad en el postdestete (2,4% vs. 6,7%) y en el conjunto del cebo (5% vs. 10%), aunque en este caso sí registraron una disminución del tiempo de retención total de la digesta y del tiempo de retención cecal de las partículas pequeñas (Gidenne y Perez, 2000). Xiccato *et al.* (2008) también observaron que el aumento de pectinas insolubles y hemicelulosas insolubles (+71 y +22 g/kg MS) en detrimento del almidón (-104 g/kg MS) redujo drásticamente la mortalidad y el iRS por EEC (12% vs. 32% y 24% vs. 70%, respectivamente) y originó

mayor concentración cecal de AGV totales, aunque con aumento de la proporción molar de acético y descensos en las de butírico y valérico, pero tampoco modificó los otros parámetros del ambiente cecal (NH_3 , pH) ni afectó a la morfometría de las vellosidades intestinales; de forma análoga, con cambios dietarios similares (+98, +16 y -131 g/kg MS de FS, hemicelulosas insolubles y almidón, respectivamente), Xiccato *et al.* (2011) también registraron un descenso de la mortalidad y el IRS (0% vs. 17% y 9% vs. 20%, respectivamente), aunque solo en el caso de piensos con 180 g PB/kg MS y no en piensos con 169 g PB/kg MS, así como los mismos efectos sobre el ambiente cecal (aunque en este caso la concentración de NH_3 tendió a disminuir) y la ausencia de efectos en la morfometría de las vellosidades intestinales.

Grueso *et al.* (2013) también observaron que el aumento de FS en detrimento del almidón (+48 y -56 g/kg MS, respectivamente) disminuyó la mortalidad por EEC tanto en jaulas individuales (8.3% vs. 27%) como en jaulas colectivas (17% vs. 26%), con aumento de la concentración de NH_3 , descenso del pH y disminución de los recuentos de *Clostridium perfringens* en los cecotrofos. Asimismo, Castillo (2013) encontró que la inclusión de FS a costa del almidón (+30 y -32 g/kg MS, respectivamente) redujo la mortalidad en postdestete (2,9% vs. 16%), con aumento de la altura de las vellosidades y de la ratio altura vellosidades/profundidad de criptas así como de la densidad de células caliciformes de la mucosa yeyunal y reducción del pH del contenido cecal.

Por el contrario, en un estudio a gran escala en condiciones de campo, cambios dietarios análogos pero menos pronunciados (+28, +29 y -80 g/kg MS de pectinas insolubles, hemicelulosas insolubles y almidón) no afectaron al estado sanitario ni durante el postdestete ni en el conjunto del cebo, aunque tendieron a reducir el tiempo de retención total de la digesta (Gidenne *et al.*, 2004c).

El Abed *et al.* (2012) encontraron que la inclusión de FS a costa del almidón (+52 y -93 g/kg MS, respectivamente) tampoco afectó al estado sanitario en postdestete, aunque mejoró la ratio altura de vellosidades/profundidad de criptas así como la densidad de células caliciformes de la mucosa yeyunal y redujo el pH del contenido cecal, observándose también un aumento del peso del ciego a pesar de registrarse menor ingestión de pienso, probablemente por aumento del tiempo de retención cecal de la digesta.

Análogamente, Trocino *et al.* (2013a) observaron que el aumento de FS (+64 g/kg MS) en detrimento del almidón y las hemicelulosas insolubles (-54 y -18 g/kg MS respectivamente) no afectó al estado sanitario durante el cebo, aunque produjo cambios en el ambiente cecal (mayor concentración de AGV totales, sin cambios en sus respectivas

proporciones molares, menor concentración de NH_3 y descenso del pH) no alteró la morfometría de las vellosidades intestinales; aunque la ingestión disminuyó, el peso del ciego aumentó, lo que podría deberse a un aumento del tiempo de retención cecal de la digesta.

Con piensos peridestete ofrecidos desde los 17 a los 49 días en alimentación conjunta de camadas y conejas hasta el destete, en un estudio a gran escala, Martínez-Vallespín *et al.* (2011a) observaron que el aumento de FSDN (+39 g/kg MS) a costa del almidón (-50 g/kg MS) redujo la mortalidad por EEC entre los 28 y los 49 días (43% vs. 58%); Martínez-Vallespín *et al.* (2013) comprobaron que este cambio condujo a un aumento del peso cecal a pesar de la menor ingestión, probablemente por aumento del tiempo de retención cecal de la digesta y, en cuanto al ambiente cecal, se asoció a mayor concentración AGV totales (con descenso de la proporción molar de acético y aumento de la de butírico) y menor concentración de NH_3 , con descenso del pH en piensos con 290 g FAD/kg MS (pero no en piensos con 230 g FAD/kg MS) y del contenido en MS en piensos con 230 g FAD/kg MS (pero no en piensos con 290 g FAD/kg MS).

Con piensos peridestete ofrecidos desde los 17 a los 42 días en alimentación diferenciada de camadas y conejas, Pascual *et al.* (2014) observaron que el aumento de FSDN (+66 g/kg MS) a costa del almidón (-77 g/kg MS) no redujo la mortalidad por EEC entre los 28 y los 49 días (43% vs. 58%), registrando también mayor peso del ciego y menor ingestión de pienso, probablemente por aumento del tiempo de retención cecal de la digesta.

Tipo de fibra

Utilizando heno de alfalfa o cascarilla de soja en lugar de paja de cebada tratada con sosa como fuentes únicas de fibra, García *et al.* (2000) elevaron el contenido en sustancias pécticas (ramnosa+ácidos urónicos+arabinosa+galactosa) en sustitución de FND (+84 y -93 g/kg MS, respectivamente), registrando cambios en el ambiente cecal (mayor concentración de AGV totales, sin cambios en sus proporciones molares, menor concentración de NH_3 , menor pH). Análogamente, Falcão-e-Cunha *et al.* (2004) aumentaron el contenido de pectinas insolubles (+96 g/kg MS) con disminución del contenido en FAD (-65 g/kg MS) utilizando pulpa de remolacha en lugar de heno de alfalfa, observando también mayor concentración de AGV totales, aunque con aumento de la proporción molar de acético y de propiónico y disminución de la de butírico, así como una reducción del pH cecal; la actividad fibrolítica del ciego también se vio afectada, ya que aumentaron la pectinasa y la celulasa

pero no la xilanasas; asimismo, el peso del ciego aumentó a pesar del descenso de la ingestión, probablemente por aumento del tiempo de retención cecal de la digesta.

Diversos trabajos han estudiado cambios similares en el tipo de fibra aunque de menor intensidad, obtenidos esencialmente a base de aumentar la inclusión de pulpa de remolacha en detrimento de otras fuentes, particularmente de heno de alfalfa. Así, Xiccato *et al.* (2004b) elevaron el contenido de pectinas insolubles (+29 g/kg MS) disminuyendo el de FAD (-18 g/kg MS), registrando un descenso de la mortalidad por EEC durante el cebo (11% vs. 29%), aunque solo con piensos de 188 g PB/kg MS y no con piensos de 177 g PB/kg MS, así como mayor concentración de AGV totales y menor pH en el ciego, sin cambios en otros parámetros (proporciones molares de los AGV, NH₃). Sin embargo, Trocino *et al.* (2010) aumentaron el contenido en pectinas insolubles (+32 g/kg MS) disminuyendo el de FND (-16 g/kg MS), sin observar efectos sobre el estado sanitario ni sobre la mayoría de los parámetros del ambiente cecal (AGV totales, proporciones molares de AGV, NH₃), aunque sí una reducción del pH; no detectaron cambios en la morfometría de las vellosidades intestinales. Análogamente, Trocino *et al.* (2011) observaron que el aumento del contenido en FS (+42 g/kg MS) en sustitución de FAD (-43 g/kg MS) no afectó al estado sanitario durante el cebo, observando efectos parecidos sobre el ambiente cecal, aunque en este caso la concentración de AGV tendió a aumentar con descenso en la proporción molar de valérico; tampoco detectaron cambios en la morfometría de las vellosidades intestinales.

Gómez-Conde *et al.* (2007 y 2009) estudiaron la inclusión de FSDN (+52 g/kg MS) en detrimento del contenido de hemicelulosas insolubles (-34 g/kg MS), mediante la utilización de pulpas de remolacha y manzana en lugar de cascarilla de avena, registrando un descenso de la mortalidad por EEC durante las 2 semanas postdestete (4% vs. 10%) y durante el conjunto del cebo (5% vs. 14%), aunque todos los animales consumieron un mismo pienso desde la tercera semana postdestete; no se modificó ningún parámetro del ambiente cecal, aunque aumentó el peso del contenido cecal a pesar de la menor ingestión, lo que podría interpretarse como el resultado de un aumento del tiempo de retención cecal de la digesta; sin embargo, el cambio dietario mejoró la morfología de la mucosa intestinal (mayor altura de vellosidades, menor profundidad de criptas) así como su actividad sacarásica y disminuyó la frecuencia de detección en ileon y ciego tanto de *Clostridium perfringens* como de *Campylobacter spp.*

Otros trabajos han estudiado los efectos de modificar principalmente los distintos componentes de la FND. La inclusión de FAD (-120 g/kg MS) en sustitución de hemicelulosas insolubles (-115 g/kg MS), por utilización de heno de alfalfa en lugar de salvado de trigo, no afectó a la concentración de AGVs ni al pH del ciego, aunque sí a las

proporciones molares de los AGV, con aumento del acético y del propiónico y disminución del butírico, así como a la actividad fibrolítica del ciego, ya que disminuyó la xilanasas y no variaron la pectinasa y la celulasa (Falcão-e-Cunha *et al.*, 2004). Nicodemus *et al.* (1999) observaron que un aumento de lignina (+26 g/kg MS) a expensas de celulosa (-40 g/kg MS), por inclusión de heno de alfalfa y paja de trigo en sustitución de cascarilla de soja, tendió a disminuir la mortalidad (8% vs. 18%) y modificó el ambiente cecal, aunque reduciendo la concentración de AGV totales (con descenso de la proporción molar de propiónico y aumento de la de butírico) y aumentando el pH; el peso del contenido cecal disminuyó a pesar del aumento de la ingestión, probablemente como resultado de un menor tiempo de retención cecal de la digesta.

En un experimento a gran escala en condiciones de campo, Gidenne *et al.* (2004c) observaron que el aumento del nivel de FAD (+41 g/kg MS, respectivamente), a costa de ligeras reducciones en otros nutrientes (-11, -7, -9 y -7 g/kg MS de hemicelulosas insolubles, pectinas insolubles, almidón y PB, respectivamente) redujo la mortalidad en el postdetete y en el conjunto del cebo (3,6% vs. 5,4% y 9 vs. 13%, respectivamente), así como el iRS (9% vs. 14% y 18% vs. 28%, respectivamente).

Por otro lado, lógicamente, las determinaciones analíticas habituales no permiten valorar diferencias en algunas propiedades físico-químicas de la fibra que pueden estar relacionadas con su comportamiento en el tracto gastrointestinal y con la salud digestiva. Así, Gidenne *et al.* (1998) estudiaron el efecto de la fuente de fibra (heno de alfalfa, torta de girasol, paja de trigo) comparando dietas con un contenido similar de FND tanto en su nivel (320 g/kg MS) como en las proporciones de sus componentes (54% hemicelulosas insoluble, 37% celulosa, 9% lignina), si bien ello supuso necesariamente un cambio importante en el origen de otros nutrientes; la concentración cecal de AGV totales fue menor con paja de trigo que con las otras fuentes de fibra y se asoció a un aumento de la incidencia de problemas digestivos, sin que se vieran afectados el resto de parámetros del ambiente cecal. Entre estas propiedades físico-químicas de la fibra cabe citar el tamaño de partícula, la capacidad de retención de agua y la capacidad tamponante, que principalmente afectarían al tránsito digestivo, la formación de geles y el pH cecal, respectivamente (Gidenne *et al.*, 2010a). De entre ellas, el tamaño de partícula se ha estudiado particularmente, indicándose que solo un contenido inusualmente bajo (<21%) de partículas grandes (>0,3 mm) podría tener un impacto negativo sobre la salud digestiva (Gidenne *et al.*, 2010b).

4.3.2 Almidón

Estructura y análisis

El almidón se encuentra en las semillas, raíces y tubérculos formando gránulos que presentan diferente tamaño y forma dependiendo de la fuente. A su vez, el interior del gránulo está formado por la alternancia de zonas cristalinas y amorfas. En ocasiones el gránulo está encapsulado en una matriz proteica.

Desde el punto de vista bioquímico, el almidón es un homopolisacárido compuesto por unidades de D-glucosa y fundamentalmente está formado por la mezcla de dos tipos de cadenas:

Amilosa: cadenas lineales de glucosa unidas por enlaces $\alpha(1-4)$.

Amilopectina: cadenas ramificadas con enlaces $\alpha(1-4)$ en los tramos lineales y $\alpha(1-6)$ en los puntos de ramificación.

La proporción de amilosa y amilopectina varía considerablemente según la fuente de almidón. Por ejemplo, en los cereales es aproximadamente de 25:75, si bien se han desarrollado variedades con alto contenido en amilosa (hasta el 75%) o amilopectina (hasta el 99%). Un mayor contenido en amilosa así como una mayor separación de los puntos de ramificación de la amilopectina conlleva un aumento del grado de cristalización del gránulo.

La digestión del almidón requiere que las amilasas se adhieran al gránulo y que se formen túneles hacia su interior, de forma que se va produciendo la hidrólisis simultánea de láminas concéntricas. Por tanto, la degradación del almidón depende de la estructura tanto física como bioquímica del gránulo, de forma que resulta más fácil si los gránulos carecen de cobertura proteica, son pequeños (ofrecen más superficie de contacto) y tienen menor proporción de zonas cristalinas (más estables que las amorfas). Algunos procesos utilizados en la fabricación de pienso como la granulación (que supone la adición de vapor) y, sobre todo, la extrusión (que además de temperatura y humedad implica presión) modifican la estructura del almidón con un proceso conocido como gelatinización, en el que el gránulo capta agua, se hincha y se desorganiza, facilitando su digestión; en el caso de la extrusión, las cadenas de glucosa pueden reasociarse dependiendo de las condiciones durante el enfriado, haciéndose resistentes a las amilasas, proceso que se conoce como retrogradación.

Aunque existen diversos métodos para la determinación analítica del almidón, en la actualidad se han impuesto los enzimáticos. Estos métodos se basan en una hidrólisis enzimática del almidón, en doble etapa, la primera con amilasa termoestable (que actúa en ebullición, con lo que se provoca la gelatinización completa y la formación de cadenas cortas, dextrinas y oligosacáridos de glucosa) y la segunda con amiloglucosidasa (que culmina la hidrólisis hasta glucosa), seguida de la valoración de la glucosa resultante mediante métodos espectrofotométricos. Si no se realiza la extracción previa de la muestra con etanol se determinan conjuntamente almidón, α -glucósidos solubles en etanol y glucosa.

Efectos sobre la salud digestiva

Según una ya lejana hipótesis, el exceso de almidón en la dieta originaría un exceso de carbohidratos rápidamente fermentables en el intestino grueso e incrementaría el riesgo de desórdenes digestivos en conejos en crecimiento (Cheeke y Patton, 1980), lo que aconsejaría limitar el contenido de almidón del pienso para reducir su incidencia. Se sabe que la capacidad de digestión intestinal del almidón en los conejos, dependiente sobre todo de la secreción de amilasa pancreática, está menos desarrollada en el periodo peridestete y que la posibilidad de adaptarla a la ingestión de almidón es controvertida (Blas y Gidenne, 2010), de forma que podría ser insuficiente cuando el nivel de almidón dietario es alto. Sin embargo, como se ha visto en el apartado dedicado al impacto de la fibra sobre la salud digestiva de los conejos en crecimiento, en todos los trabajos en que se reduce el contenido del pienso en almidón se produce una elevación simultánea de su contenido, lo que dificulta separar los efectos de estas dos variaciones dietarias. A priori, la mejor forma de dilucidar este efecto específico del almidón sobre el ambiente cecal y la salud digestiva es mediante estudios con piensos que presenten variaciones irrelevantes del contenido fibroso pero originen diferencias en el flujo ileal de almidón y en la cantidad de almidón fermentado, por utilizar fuentes de almidón cuya resistencia a la digestión sea variable. En conejos adultos se sabe que, independientemente del nivel y fuente de almidón en el pienso, prácticamente todo el almidón que escapa de la digestión en el intestino delgado es fermentado en el segmento ceco-cólico, lo que supone el 1-7% del almidón ingerido (Blas y Gidenne, 2010); según estos mismos autores, la digestibilidad ileal del almidón en conejos de 4-6 semanas de vida también parece bastante independiente del nivel y de la fuente de almidón del pienso y el almidón fermentado en el segmento ceco-cólico representa el 3-11% del almidón ingerido, si bien en este caso debe considerarse que no se dispone de información sobre fuentes de almidón más resistente como sería el caso del maíz, cuya digestibilidad

fecal en conejos en crecimiento es menor que con las otras fuentes habitualmente utilizadas, sobre todo al comienzo del cebo.

Algunos trabajos realizados con dietas isofibrosas y con el mismo contenido en almidón pero de diferentes fuentes han tratado la posible relación de la salud digestiva con la concentración de almidón en la digesta ileal, que puede considerarse una estimación indirecta del flujo ileal de almidón. Pinheiro y Gidenne (2000) observaron que la inclusión de un 100 g/kg de almidón purificado crudo de patata (conocido por ser muy resistente a la digestión intestinal en lechones y a la digestión *in vitro*) en sustitución de almidón de trigo tendió a aumentar el IRS durante el cebo (53% vs. 29%) y aumentó la concentración ileal de almidón en animales de 6 semanas de vida (13 vs. 3 g/kg MS) y no en los de 9 semanas.

Gutiérrez *et al.* (2002b) registraron un descenso de la mortalidad durante el cebo al suplementar con un complejo de enzimas exógenas que incluía amilasa y con el que se redujo la concentración ileal de almidón en animales de 5 semanas (41 vs. 55 g/kg MS). También Cachaldora *et al.* (2004) obtuvieron un descenso de la mortalidad durante el cebo (15% vs. 27%) con la adición de otro complejo enzimático que contenía amilasa, aunque este efecto no se observó cuando la incidencia de problemas de digestivos fue muy baja. Por el contrario, Remois *et al.* (1996) encontraron que la inclusión en el pienso de amilasa termoestable y/o amiloglucosidasa no tuvo efecto sobre la mortalidad durante el cebo. Gidenne *et al.* (2010b) sugieren que el efecto beneficioso de los complejos enzimáticos podría estar más relacionado con otras enzimas incluidas (pectinasas, β -glucanasas, β -xilanasas), que provocarían una hidrólisis parcial de ciertos constituyentes fibrosos y la formación de oligosacáridos complejos con efecto favorable sobre la microbiota y la salud digestiva.

Por otro lado, Gutiérrez *et al.* (2002b) no registraron diferencias de mortalidad durante el cebo dependiendo de que la fuente almidón fuera guisante o trigo (lo que lógicamente originó cambios en el origen de la proteína dietaria) o de que ambas fuentes fueran nativas o procesadas térmicamente, aunque la concentración ileal de almidón en animales de 5 semanas fue superior con guisante que con trigo (60 vs. 36 g/kg MS) y con fuentes nativas que procesadas térmicamente (55 vs. 41 g/kg MS). En un experimento a gran escala en condiciones de campo con distintas fuentes de almidón, Gidenne *et al.* (2005c) tampoco observaron diferencias de mortalidad durante el cebo, a pesar de que la concentración de almidón en la digesta ileal de animales de 4 y 7 semanas de vida varió ampliamente según la fuente de almidón, siendo mayor con maíz que con maíz extrusionado (95 vs. 26 g/kg MS) y con valores intermedios para trigo y cebada; en general, tampoco se registraron

diferencias en el ambiente cecal (concentración de AGV totales y NH_3 , pH), aunque con maíz extrusionado tendió a aumentar la proporción molar de propiónico a expensas de la de butírico (Gidenne *et al.*, 2005b). En animales de 10 semanas se ha visto que la utilización de maíz en lugar de cebada tampoco afecta de forma importante al ambiente cecal, aunque con maíz aumentó la proporción molar de isovalérico (Belenguer *et al.*, 2000) o valérico (Xiccato *et al.*, 2002), que son AGV menores asociados a la microbiota amilolítica (Padilha *et al.*, 1995). Por el contrario, en conejos de 12 semanas, Belenguer *et al.* (2011) han registrado menor concentración cecal de AGV totales con maíz que con trigo, aunque solo cuando la principal fuente fibrosa era heno de alfalfa y no pulpa de remolacha, si bien en ambos casos aumentó la proporción de butírico a expensas de la de acético y no hubo variación del pH cecal; sin embargo, en animales de la misma edad y con las mismas dietas, Belenguer *et al.* (2012) no observaron efecto alguno de la fuente de almidón sobre el ambiente cecal, si bien utilizaron animales sacrificados 24 horas después de colocarles collares para impedir la cecotrofia, lo que habitualmente afecta negativamente a la ingestión de pienso y supone otras alteraciones del proceso digestivo.

No obstante, en algunos estudios con dietas que difieren tanto en el nivel o tipo de fibra como en el nivel de almidón, se ha visto que la concentración y el flujo ileal de almidón y la cantidad fermentada al comienzo del cebo pueden variar ampliamente con la dieta y que su aumento puede ir asociado a una mayor incidencia de problemas digestivos. No pueden descartarse, por tanto, efectos directos del almidón sobre la actividad fermentativa, el ambiente cecal y la salud digestiva al comienzo del cebo con dietas ricas en almidón, probablemente mayores en el caso de fuentes con almidón más resistente a la digestión en el intestino delgado. Gómez-Conde *et al.* (2007 y 2009) observaron un deterioro del estado sanitario asociado al aumento del flujo ileal de almidón (1,2 vs. 0,5 g/día) y de la cantidad de almidón fermentado (1,1 vs. 0,4 g/día). Análogamente, Gidenne *et al.* (2000) observaron que el aumento de la cantidad de almidón fermentado en conejos adultos (0,70 vs. 0,02 g/día) se asociaba a un aumento del iRS en animales de cebo. Blas *et al.* (1994) observaron que la concentración ileal de almidón era mucho mayor al aumentar el contenido dietario de almidón, aportado esencialmente por maíz, en animales de 38 días (129 vs. 68 g/kg MS) y de 49 días (63 vs. 39 g/kg MS), con una mayor reducción de la concentración cecal de almidón en relación al ileal (50% vs. 24% y 32% vs. 3% a los 38 y 49 días, respectivamente), lo que se asoció a una mayor mortalidad. Análogamente, Gidenne *et al.* (2004a) encontraron que la concentración ileal de almidón era mucho mayor al aumentar el contenido dietario de almidón, aportado esencialmente por trigo, especialmente en animales de 4 semanas (71 vs. 6 g/kg MS) pero también en los de 6-10 semanas (39 vs. 11 g/kg MS), lo que se asoció a mayor mortalidad e iRS; por otro lado, los

efectos sobre el ambiente cecal a las 4 semanas de vida (mayor concentración de AGV totales, con aumento de acético a costa de propiónico, menor concentración de NH_3 y descenso del pH) fueron opuestos a los encontrados en animales de 6-10 semanas (menor concentración de AGV totales, con descenso de acético y aumento de butírico, mayor concentración de NH_3 y aumento del pH). Con piensos peridestete, ofrecidos desde los 17 a los 49 días en alimentación conjunta de camadas y conejas hasta el destete, de mayor contenido en almidón (130 vs. 33 g/kg MS), procedente principalmente de trigo, Martínez-Vallespín *et al.* (2011a y 2013) registraron mayor mortalidad por EEC entre los 28 y los 49 días (62% vs. 36%), así como mayor concentración ileal de almidón en animales de 35 días (10 vs. 1,5 g/kg MS).

4.3.3 Proteína

Estructura y análisis

Las proteínas son compuestos macromoleculares constituidos por cadenas de aminoácidos unidos covalentemente mediante enlaces peptídicos, que se pliegan en tres dimensiones para formar una estructura terciaria característica. Algunos de los aminoácidos (lisina, metionina, treonina, triptófano, valina, isoleucina, leucina y fenilalanina) se consideran esenciales porque no pueden ser sintetizados por los animales superiores.

En la práctica, las proteínas de los piensos para conejos son exclusivamente de origen vegetal. En los cereales, la mayor parte de la proteína (70%) está contenida en el endosperma y el resto se distribuye entre el germen y los tegumentos; albúminas y globulinas son proteínas solubles presentes en el citoplasma mientras que prolaminas y glutelinas son proteínas insolubles de reserva, siendo las proporciones de los distintos tipos de proteína variables entre los distintos cereales. En comparación con los cereales, las legumbres y semillas oleaginosas tienen mayor contenido proteico, mayor proporción de proteínas citoplasmáticas y mayor proporción de aminoácidos esenciales, particularmente lisina; sin embargo, contienen distintos tipos de factores antinutritivos (inhibidores de tripsina, lectinas, taninos) que obligan a diferentes tipos de procesado para evitar los problemas derivados. En las plantas forrajeras, la mayor parte de la proteína la aportan las hojas y son principalmente de naturaleza enzimática, por lo que su composición aminoacídica es poco variable.

Clásicamente, el contenido proteico de los alimentos se valora como PB, calculado multiplicando el N valorado por el método Kjeldahl por el factor 6,25, lo que supone asumir

que todas las proteínas contienen un 16% de N y que se incluyan también ciertos compuestos nitrogenados no proteicos. También es relativamente frecuente valorar la PB (o el N) contenida en fracciones fibrosas (FND, FAD) ya que está correlacionada con la digestibilidad de la PB del alimento.

Efectos sobre la salud digestiva

Las recomendaciones habituales para optimizar el crecimiento de los conejos se sitúan en 156-177 g PB/kg MS (De Blas y Mateos, 2010). Desde hace tiempo, se sabe que elevar el contenido en PB puede aumentar el riesgo de problemas digestivos, ya que podría producir un aumento del flujo de PB hacia el ciego que favorecerían la prevalencia y proliferación de bacterias proteolíticas potencialmente patógenas, como *Clostridium* y *Escherichia coli* (Haffar *et al.*, 1988; Cortez *et al.*, 1992), particularmente al comienzo del cebo cuando la capacidad para la digestión intestinal de las proteínas parece estar menos desarrollada, lo que se asociaría a un aumento de la concentración cecal de NH₃ (Villamide *et al.*, 2010a), si bien el efecto sobre el pH cecal es controvertido, ya que las concentraciones de ácidos grasos volátiles también podrían aumentar al elevarse los niveles de PB (Fraga *et al.*, 1984; Al-Bar y Al-Aghbari, 1996). En los últimos 15 años, la inclusión de mayores niveles de heno de alfalfa para elevar el contenido fibroso y reducir el riesgo de EEC ha supuesto que los niveles de PB tiendan a estar cerca del máximo recomendado (Carabaño *et al.*, 2009), o que incluso lo superen, y se han realizado distintos estudios para conocer mejor y tratar de ajustar más las necesidades proteicas de los conejos en crecimiento, considerando particularmente los efectos sobre la salud digestiva tanto del nivel como de la fuente de proteína, así como del aporte de algunos aminoácidos.

Feugier *et al.* (2006) compararon dietas con 161 y 228 g PB/kg MS (sustituyéndola con almidón, +80 g/kg MS) sin observar efectos sobre la mortalidad por EEC durante el cebo, cuyo valor medio fue 27%. Sin embargo, Chamorro *et al.* (2007) con dietas con 176 y 207 g PB/kg (sustituyéndola por almidón, +24 g/kg MS) y similar digestibilidad ileal de la PB, ofrecidas durante las 2 semanas siguientes al destete, observaron que reducir el contenido proteico disminuyó la mortalidad por EEC, tanto en el postdestete como en el conjunto del cebo, ya fuera sin antibióticos (21% vs. 33% y 22% vs. 33%, respectivamente) o con antibióticos (1,3% vs. 7,7% y 2,6% vs. 9,6%, respectivamente); en animales de 35 días sacrificados por la tarde se acompañó de menor flujo ileal de PB (-17%) y menor frecuencia de detección de *Clostridium perfringens* en la digesta ileal (28% vs. 83% y 4% vs. 11% sin y con antibióticos, respectivamente). En un estudio a gran escala en condiciones de campo, Gidenne *et al.* (2013b) compararon dietas con 157 y 202 g PB/kg MS (sustituyéndola con

hemicelulosas insolubles y pectinas insolubles, +22 y +20 g/kg MS) y también observaron que la reducción del contenido proteico disminuyó la mortalidad (7% vs. 12%) y el iRS (13% vs. 20%); este cambio dietario no afectó a la concentración de AGV totales o de NH₃ ni al pH del ciego, pero redujo su contenido en MS, en animales de 10 semanas sacrificados por la mañana (Gidenne *et al.*, 2013a). Xiccato *et al.* (2011) también observaron que la reducción del contenido proteico (169 vs. 182 g PB/kg MS) redujo la mortalidad durante el cebo en piensos pobres en FS y ricos en almidón (3% vs. 17%) pero no en los que se aumentó la FS en detrimento de almidón; en animales de 55 días sacrificados por la mañana se registró menor concentración cecal de AGV totales (un 14% menor) pero no se observaron modificaciones en la de NH₃ ni en el pH o la morfología de las vellosidades intestinales. En un estudio a gran escala con piensos peridestete de 145 y 175 g PB/kg MS ofrecidos desde los 17 a los 49 días en alimentación conjunta de camadas y conejas hasta el destete, Martínez-Vallespín *et al.* (2011) también observaron que la reducción del contenido proteico disminuyó la mortalidad por EEC entre los 28 y los 49 días (41% vs. 61%), independientemente del contenido en FSDN y almidón, así como el flujo ileal de PB (-18%), a pesar de una menor digestibilidad ileal de la PB (por aumento de la proporción aportada por alimentos fibrosos), y la concentración de AGV totales (-14%) y de NH₃ (-24%) en el ciego, con aumento de su pH y sin cambios en el contenido en MS, en animales de 35 días sacrificados por la tarde (Martínez-Vallespín *et al.*, 2013).

Sin embargo, Xiccato *et al.* (2004b) no detectaron diferencias en mortalidad e iRS por EEC durante el cebo al comparar dietas con 177 y 188 g PB/kg MS (valores medios de 20% y 34% para mortalidad e iRS, respectivamente). Trocino *et al.* (2013a) no observaron diferencias de mortalidad al comparar dietas con 156 y 193 g PB/kg MS en un estudio donde la mortalidad media fue baja (6%), aunque en animales de 38 días sacrificados por la mañana sí detectaron que la reducción del contenido en PB redujo la concentración de AGV totales (-22%) y no afectó a la de NH₃, aumentando el pH en dietas pobres en FS y ricas en almidón, pero no en las que se aumentó la FS en detrimento de almidón. García-Palomares *et al.* (2006) no pudieron comprobar el efecto favorable de reducir el contenido proteico (154 vs. 175 g PB/kg MS) porque no se registró la mortalidad durante el estudio.

Gutiérrez *et al.* (2003) compararon dietas isoproteicas con distintas fuentes de proteína de diferente digestibilidad ileal de la PB, ofrecidas durante las 2 semanas siguientes al destete; observaron que la mortalidad fue menor con torta de girasol, concentrado proteico de soja y torta de soja que con torta de soja+concentrado proteico de patata, tanto en el postdestete (14% vs. 24%) como, particularmente, en el conjunto del cebo (17% vs. 35%), mientras el flujo ileal de PB y la concentración cecal de NH₃ en animales de 35 días

sacrificados por la tarde fueron menores (-21% y -26%, respectivamente) y sin que hubiera cambios en el pH del ciego ni en la morfometría de las vellosidades intestinales; Gutiérrez *et al.* (2000) observaron que la inclusión de plasma animal en lugar de torta de soja mejoró la morfología de las vellosidades intestinales. García-Ruiz *et al.* (2006) compararon dietas de similar contenido en PB con las dos fuentes de proteína más habituales, registrando menor mortalidad con torta de girasol que con torta de soja (4% vs. 11%); además observaron que en animales de 35-45 días sacrificados por la tarde se produjo una reducción del flujo ileal de PB (-9%), a pesar de que la digestibilidad ileal de la PB fue similar con ambas fuentes (porque la ingestión y el contenido en PB fueron menores con torta de girasol); la suplementación con proteasa o proteasa+xilanas redujo el flujo ileal de PB (-16% y -12%, respectivamente), pero la mortalidad se redujo en las dietas con torta de girasol (1,7 vs. 10%) y no con torta de soja (13% vs. 7%), lo que sugiere un efecto negativo de los factores antinutritivos o alergénicos de la torta de soja (Carabaño *et al.*, 2009). Trocino *et al.* (2010) también observaron que la mortalidad tendió a ser menor con torta de girasol que con torta de soja (1,1% vs. 5,6%), sin detectar cambios en la concentración de AGV totales o de NH₃ ni en el pH del ciego, como tampoco en la morfometría de las vellosidades intestinales de animales de 8 semanas sacrificados por la mañana.

Por otro lado, con la reducción de los niveles de PB para disminuir el riesgo de problemas digestivos puede llegarse a no satisfacer las necesidades para mantener un adecuado crecimiento corporal y del tracto gastrointestinal, así como para mantener la función de barrera de la mucosa intestinal, que podrían ser más altas en conejos de 3-5 semanas de vida que en el resto del cebo (Carabaño *et al.*, 2009). Conseguir reducir el nivel de PB sin detrimento del desarrollo de los animales permitiría además reducir la excreción de N y su impacto medioambiental. En la práctica, todo ello requiere mejor conocimiento de las necesidades en aminoácidos de los gazapos en crecimiento. En esa línea, Chamorro *et al.* (2010) han observado que la suplementación con glutamina reduce la mortalidad por EEC tanto en las 2 semanas siguientes al destete (8% vs. 19%) como en el conjunto del cebo (20% vs. 32%), disminuyendo la frecuencia de detección de *Clostridium spp.* en el íleon (33% vs. 87%) y de *Helicobacter spp.* en íleon (33% vs. 87%) y ciego (47% vs. 87%), sin afectar a la morfología ni actividad enzimática de la mucosa intestinal, en animales de 35 días sacrificados por la tarde; la suplementación adicional con arginina no modificó los resultados. Asimismo, Castillo (2013) ha observado que la suplementación con treonina, particularmente abundante en la fracción proteica de las mucinas, tendió a reducir la mortalidad (7% vs. 11%), aunque no afectó al número de células caliciformes ni al flujo ileal de mucina en animales de 35 días sacrificados por la tarde.

4.3.4 Grasa

Características y análisis

Las grasas son triglicéridos, formados por la esterificación de una molécula de glicerol con tres moléculas de ácidos grasos, cuyas propiedades físicas, químicas y nutricionales dependen de las características de sus ácidos grasos, es decir del número de átomos de carbono y del número y posición de enlaces dobles y triples (insaturaciones). Por el número de átomos de carbono, los ácidos grasos pueden ser de cadena corta (2-6), media (8-14) o larga (16-22). Por el número de insaturaciones, se clasifican en saturados (0), monoinsaturados (1) y poliinsaturados (2-6). Los animales superiores pueden elongar la cadena de átomos de carbono pero son incapaces de insertar insaturaciones entre los átomos 1 y 9 empezando a contar por el carbono del grupo metilo terminal, por falta de las correspondientes Δ -desaturasas, por lo que algunos ácidos grasos son esenciales y deben aportarse con la dieta: son el ácido linoleico (18:2, ω -6, porque su primer doble enlace está en posición 6), precursor del araquidónico (20:4, ω -6), y el ácido linolénico (18:3, ω -3, porque su primer doble enlace está en posición 3), precursor del eicosapentanoico (20:5, ω -3) y del docosaexanoico (22:6, ω -3). Las grasas son susceptibles de oxidación en los dobles enlaces, lo que incrementa el enranciamiento, tanto más cuanto más insaturadas son.

Sin embargo, los animales no tienen necesidades específicas de grasas, salvo pequeñas cantidades de los ya mencionados ácidos grasos esenciales, que en el caso de los conejos son normalmente satisfechas por las materias primas de origen vegetal que se utilizan en la fabricación de piensos. Como, además, se trata de piensos con niveles energéticos moderados o bajos, la inclusión de aceites vegetales o grasas animales no suele superar el 3%.

El contenido en grasa se determina habitualmente como GB, o extracto etéreo (EE), que corresponde a la fracción soluble en éter etílico o éter de petróleo y que también incluye otros compuestos como glucolípidos, fosfolípidos, ceras, terpenos y esteroides.

Efectos sobre la salud digestiva

Los efectos del contenido en grasa de los piensos para conejos en crecimiento sobre su salud digestiva han sido poco estudiados, probablemente debido a su escasa presencia en tales piensos.

Se ha observado que el aumento del contenido de GB en 15-20 g/kg MS (con grasa animal y a costa de FND) no tiene efecto alguno sobre el ambiente cecal de animales de 32 o 61 días de vida (Xiccato *et al.*, 1998 y 2003a). Análogamente, Falcão-e-Cunha *et al.* (2004) aumentaron el contenido de GB en 60 g/kg MS (con aceite de girasol, en sustitución de almidón purificado de maíz), lo que afectó negativamente a la actividad celulolítica y pectinolítica del contenido cecal (no a la xilanolítica) pero no a los citados parámetros del ambiente cecal.

Con piensos peridestete suministrados desde los 18 a los 32 días de vida en alimentación diferenciada de madres y camadas, Xiccato *et al.* (2004a) observaron que la mortalidad durante tal periodo tendió a ser mayor (1,4% vs. 0%) al aumentar el contenido de GB en 15 g/kg MS (con haba de soja tostada y aceite de soja, a costa de PB y almidón). También con piensos peridestete suministrados desde los 18 a los 34 días de vida en alimentación diferenciada de madres y camadas, Cesari *et al.* (2009) observaron que la mortalidad no varió al aumentar el contenido de GB en 31 g/kg MS (con aceite de soja), con cambios en los niveles de FND, pectinas insolubles, almidón y PB (-30, +14, -26 y +13 g/kg MS, respectivamente), ni durante ese periodo ni durante el resto del cebo, aunque sí detectaron un descenso en el recuento de *Clostridium perfringens* en el ciego el día del destete. Con piensos peridestete suministrados desde los 18 a los 50 días de vida en alimentación conjunta de madres y camadas hasta el destete, Fortun-Lamothe *et al.* (2005) observaron que la mortalidad no varió al aumentar el contenido de GB en 26 g/kg MS (a costa de FND). Gallois *et al.* (2008c) no encontraron efectos ni en la salud digestiva del conejo, ni sobre la actividad fibrolítica o la proporción de AGV en el ciego de los gazapos al incorporar en la dieta triglicéridos de cadena media (2% de una mezcla de triglicéridos de los ácidos caprílico y cáprico).

Otros estudios han abordado los posibles efectos de la calidad de la grasa dietaria. Así, Blas *et al.* (2010) observaron que la mortalidad por EEC (33%) fue independiente de que la grasa dietaria (mezcla de aceites vegetales) fuera fresca o reciclada tras su uso en freiduría industrial (oxidada), lo que tampoco afectó a los distintos parámetros del ambiente cecal. De forma análoga, Casado *et al.* (2011) comprobaron que la mortalidad por EEC (32%) fue independiente del nivel de oxidación de la grasa dietaria (aceite de girasol fresco, peroxidado u oxidado), así como de la suplementación con α -tocoferol o zinc; pero en animales que recibieron los piensos experimentales desde los 17 días de vida observaron menor concentración cecal de MS y de NH_3 con los aceites peroxidado y oxidado, respectivamente, a los 30 días y mayor concentración cecal de AGV con el aceite oxidado a los 44 días.

4.4. EFECTOS DEL RACIONAMIENTO POSTDESTETE

Rosell *et al.* (2000) señalan que la menor incidencia de EEC en verano en comparación con el invierno podría estar relacionada con la reducción de la ingestión de pienso asociada al calor y el aumento de la misma en épocas frías.

Así pues, el racionamiento de los conejos en cebo, estudiado tradicionalmente para analizar sus efectos sobre la eficiencia digestiva, el crecimiento y la calidad de la canal y de la carne, ha despertado mucho interés, puesto que podría ser un mecanismo para reducir la mortalidad por EEC (Gidenne *et al.*, 2012a). Se trata de un racionamiento en el periodo postdestete, de 2-4 semanas de duración, seguido de alimentación *ad libitum* hasta la edad al sacrificio. Este manejo está ya ampliamente extendido en Francia, donde se utiliza en el 95% de las granjas (Gidenne *et al.*, 2012b) y también se está practicando en otros países como es el caso de España. Dicho racionamiento, se puede llevar a cabo mediante la distribución de cantidades limitadas de pienso, por limitación temporal del acceso al comedero o, indirectamente, mediante la restricción del agua de bebida.

Boisot *et al.* (2003) señalan que la restricción al 60% de la ingestión *ad libitum* durante las 3 semanas siguientes al destete, reduce la mortalidad de gazapos tratados con un inóculo procedente de animales con EEC. Del mismo modo, en varios experimentos a gran escala realizados en condiciones de campo se observó que la mortalidad durante el cebo se redujo limitando la ingestión durante las 3-4 semanas postdestete al 80% o menos de la ingestión *ad libitum*, aunque dicha restricción supuso un retraso del crecimiento que no llegó a compensarse con una alimentación *ad libitum* en la fase final del cebo. Así los animales presentaron un menor peso a las 10 semanas de vida, aunque se acompañó de una mejora del índice de conversión (Gidenne *et al.*, 2009a, 2009b y 2012b).

Romero *et al.* (2010) también encontraron una menor mortalidad durante el cebo mediante la limitación temporal del acceso al comedero (8 horas/día) durante las 2 semanas siguientes al destete. Esto supuso un consumo del 78-86% de la ingestión *ad libitum*. En cuanto a los índices productivos, obtuvieron un menor crecimiento durante el periodo de restricción y, aunque se produjo crecimiento compensatorio tras dicho periodo, los animales no llegaron a alcanzar ni el mismo peso, ni mejoraron el índice de conversión a las 9-10 semanas de vida comparándolos con los alimentados *ad libitum* durante todo el cebo.

Por otra parte, Heras *et al.* (2010) observaron el efecto favorable de la restricción alimentaria al 70% de la ingestión *ad libitum* durante las 4 semanas posteriores al destete

cuando utilizaron un pienso de cebo convencional, pero no cuando se trató de un pienso más fibroso y pobre en almidón y PB.

Otros autores (Boisot *et al.*, 2004; Verdelhan *et al.*, 2004a), restringiendo el agua de bebida durante la mayor parte del cebo, limitaron la ingestión de pienso al 78-87%. En dichos estudios, solo se permitió un acceso al agua de entre 90 y 360 minutos/día (lo que supuso una reducción de la ingestión de agua al 62-87% de la ingerida *ad libitum*). En cuanto a otras variables analizadas, el peso se vio penalizado pero mejoró el índice de conversión a las 10 semanas de vida, y no se vio un efecto sobre el estado sanitario que fue excelente en ambos estudios; sin embargo, en un estudio a mayor escala en condiciones de campo, Verdelhan *et al.* (2004b) observaron que limitar el acceso al agua de bebida a 150 minutos/día, fue más eficaz que la restricción alimentaria directa para reducir la mortalidad durante el cebo. No obstante, en condiciones de estrés por calor, una restricción hídrica al 80-90% de la ingestión *ad libitum* no solo deteriora el crecimiento, sino que puede aumentar la mortalidad (Bovera *et al.*, 2008).

Los mecanismos fisiológicos que subyacen en este efecto favorable de la restricción alimentaria sobre la salud digestiva están todavía sin dilucidar. Se ha sugerido que la mayor concentración de ácidos grasos volátiles totales y menor pH en el contenido cecal registrados transcurridas 5 horas desde el suministro de pienso, en comparación con animales alimentados *ad libitum*, sería la expresión de un pico de fermentación que resultaría perjudicial para bacterias patógenas (Gidenne y Feugier, 2009; Gidenne *et al.*, 2009a). Romero *et al.* (2010) señalan que la reducción del flujo ileal de nutrientes asociada a una menor ingestión y un aumento de la digestibilidad ileal también podrían limitar la proliferación de bacterias patógenas.

5. CONCLUSIONES DE LA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En la revisión bibliográfica precedente se señala que la elevada prevalencia de problemas digestivos en los conejos en crecimiento podría ser consecuencia de una inadecuada preparación nutricional del gazapo en el periodo peridestete.

Es en este periodo, cuando el gazapo pasa de una alimentación exclusivamente láctea (rica en proteínas y en lípidos altamente digestibles) a una dieta sólida (menos concentrada y con nuevos nutrientes tales como el almidón y las fibras), se producen cambios notables en la ingestión voluntaria de pienso y, por tanto, cambios sustanciales en la naturaleza de los nutrientes ingeridos.

Paralelamente a esta transición en la alimentación de los gazapos, se producen otros cambios que conllevan numerosas adaptaciones fisiológicas, fundamentalmente de los órganos digestivos, tanto estructurales como funcionales (maduración de la función digestiva, implantación de la microbiota cecal, desarrollo del sistema inmunitario del tracto digestivo, etc.).

Del mismo modo, se producen modificaciones de la microbiota digestiva viéndose condicionada directamente por las variaciones cuantitativas y cualitativas de los nutrientes ingeridos, así como por los “fenómenos ontogénicos” de los gazapos.

Por ello, la composición del pienso ingerido durante esta etapa condicionará, muy probablemente, la maduración estructural y funcional del sistema digestivo del gazapo, al influir sobre el desarrollo del área fermentativa, el ambiente cecal, la orientación de la colonización microbiana, la estabilidad de su ecosistema microbiano y la aparición de cepas patógenas, siendo la base para preservar la salud digestiva de los gazapos (**Figura 23**).

En este contexto, el aumento del contenido fibroso del pienso en detrimento del almidón tiene, en general, un efecto beneficioso sobre la salud digestiva de los conejos en crecimiento. Este efecto estaría asociado más a la variación del contenido fibroso que a la del almidón. Así, los principales mecanismos involucrados, según se trate de fibra poco digestible (lignina, celulosa) o de fibra más digestible (pectinas, hemicelulosas), serían el aumento del ritmo de tránsito de la digesta en el segmento cecocólico o algunos cambios en los carbohidratos del sustrato, la actividad fermentativa y el ambiente cecal, que resultarían favorables para la microbiota.

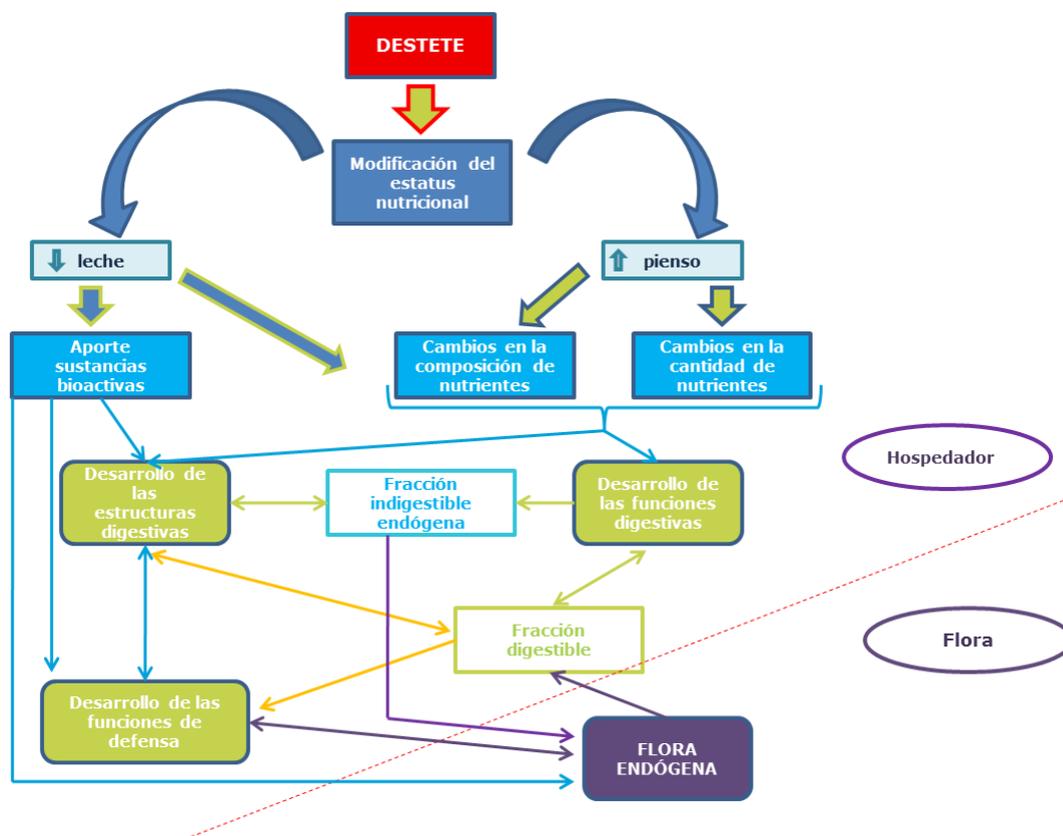


Figura 23. Posibles interacciones alrededor del destete entre las modificaciones del estatus nutricional, el hospedador y la flora microbiana en el tracto digestivo (Gallois, 2006).

No obstante, no pueden descartarse efectos directos del contenido y la fuente de almidón sobre la actividad fermentativa, el ambiente cecal y la salud digestiva.

Todo ello ha dado lugar a recomendaciones específicas sobre los contenidos de fibra y de almidón adecuados para prevenir problemas digestivos en conejos en crecimiento (Gidenne *et al.*, 2010b). Sin embargo, se ha observado en distintos trabajos que aumentar el contenido fibroso por encima de las mencionadas recomendaciones a costa del contenido en almidón, supone una reducción de la mortalidad y en la práctica podría ser de utilidad para mejorar la salud digestiva, especialmente en un contexto de EEC (Blas y Gidenne, 2010).

Como la fibra es una fracción compleja y heterogénea, los constituyentes fibrosos involucrados en los cambios dietarios asociados a reducciones en el contenido de almidón

varían ampliamente entre los diferentes estudios, observándose repercusiones dispares sobre el estado sanitario de los conejos en crecimiento.

En general, buena parte de las publicaciones revisadas han estudiado el efecto de la inclusión de FND y, particularmente, FAD en sustitución de almidón. Solo se dispone de 10 trabajos centrados en el efecto de la inclusión de fibra más fermentable en sustitución de almidón (Perez *et al.*, 2000; Gidenne *et al.*, 2004c; Xiccató *et al.*, 2008 y 2011; Martínez-Vallespín *et al.*, 2011a; El Abed *et al.*, 2012; Castillo, 2013; Grueso *et al.*, 2013; Trocino *et al.* 2013a; Pascual *et al.*, 2014), aunque con resultados dispares probablemente como consecuencia de las diferencias tanto en la magnitud del cambio realizado como en la naturaleza de la fibra fermentable, sin excluir la interferencia de otros cambios dietarios de menor relevancia.

Además, de forma análoga a lo que sucede en condiciones de campo, en la mayoría de los referidos estudios los gazapos consumieron inicialmente un mismo pienso para conejas lactantes y solo tras el destete pasaron a ingerir los distintos piensos experimentales.

Unicamente en dos de los mencionados estudios se utilizaron piensos peridestete, ofrecidos a los gazapos desde el comienzo de la ingestión sólida hasta dos o tres semanas después del destete. Martínez-Vallespín *et al.* (2011a), en un sistema de alimentación conjunta de camadas y conejas, en el que las conejas consumieron el mismo pienso que sus camadas durante la segunda mitad de la lactación y en el que se incrementó la fibra fermentable a costa del almidón, se observó un efecto beneficioso sobre la salud digestiva de los gazapos en el postdestete, pero afectó negativamente a la producción lechera de las conejas y, a largo plazo, podría penalizar su carrera productiva.

Pascual *et al.* (2014), en un sistema de alimentación diferenciada de camadas y conejas, no detectaron diferencias de mortalidad en postdestete al aumentar la FSDN a costa del almidón, aunque en un estudio a mediana escala en el cual solo el pienso de referencia contenía bacitracina de zinc.

Por otro lado, la información disponible sobre el efecto del contenido en grasa del pienso sobre la salud digestiva de los conejos en crecimiento es escasa, aunque parece apuntar a que tal efecto tiene poca relevancia, si bien en todos los estudios se utilizaron fuentes de grasas vegetales de distinto origen.

CAPÍTULO II. OBJETIVOS

CAPÍTULO II. OBJETIVOS

A partir de la información contenida en la revisión bibliográfica, la presente tesis doctoral se plantea con el objetivo de estudiar, en un sistema de alimentación diferenciada de camadas y conejas, los efectos del aumento del contenido en fibra más fermentable (FSDN y H_{CI}) en sustitución de almidón en un amplio rango de variación y del contenido en grasa animal del pienso peridestete del 3% al 6%, sobre conejos en crecimiento, así como el efecto de la edad, en relación con:

- Rendimientos productivos (ingestión de pienso, peso de la camada al destete, ganancia media diaria, índice de conversión, mortalidad).
- Digestibilidad ileal aparente de los nutrientes (MS, PB, almidón, FSDN, FND, FAD, LAD, H_{CI}, celulosa).
- Ambiente cecal (MS, pH, contenido en AGV y NH₃).
- Desarrollo del tracto gastrointestinal (peso de los distintos órganos digestivos y de su contenido y morfometría de la mucosa yeyunal).

Para ello se plantean dos experimentos:

- **Experimento 1:** Donde se estudian los rendimientos productivos de los conejos en crecimiento, utilizando, para ello, diez piensos en los que se varía la relación entre fibra fermentable y fibra fermentable más almidón (*ratio* FFA) y el nivel de inclusión de grasa, teniendo en cuenta además el efecto de la edad.
- **Experimento 2:** Donde se estudia el efecto de la composición del pienso, utilizando para ello tres piensos marcados con iterbio y en los que se varía la *ratio* FFA y el nivel de inclusión de grasa, sobre la eficacia digestiva de los gazapos en crecimiento (Digestibilidad ileal aparente, ambiente cecal y desarrollo del tracto gastrointestinal), teniendo en cuenta además el efecto de la edad.

CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS

CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO EXPERIMENTAL

1.1. PIENSOS

Con arreglo a un diseño factorial 5×2, se formularon y fabricaron 10 piensos experimentales, cuyos ingredientes y composición se muestran en la **Tabla 3** y en la **Tabla 4**, respectivamente.

El primer factor de variación dietario era la *ratio* FFA, definido como $(FSDN+HC_i)/(FSDN+HC_i+\text{almidón})$, donde FSDN+HC_i puede considerarse como una estimación de la fracción fibrosa más fermentable. Se establecieron 5 niveles de FFA (A=0,57, B=0,64, C=0,71, D=0,78 y E=0,81) mediante la sustitución progresiva de almidón por fibra fermentable, obtenida esencialmente reemplazando trigo por pulpa de remolacha, así como cascarilla de soja y paja por salvado de trigo.

El segundo factor de variación dietario fue la incorporación de grasa animal y se establecieron 2 niveles (3=3% y 6=6%). Los piensos con 6% de grasa animal incluyeron 1% de melaza de caña para que su dureza y durabilidad se mantuvieran en un nivel aceptable.

El contenido en FAD, LAD y PB fue muy similar en todos los piensos (218, 55 y 177 g/kg MS, respectivamente) y se mantuvo dentro de las recomendaciones habituales para conejos en crecimiento (De Blas y Mateos, 2010). También se siguieron las mismas recomendaciones para los aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales. Se incluyó un coccidiostático (robenidina, 66 ppm) pero no se añadió ningún antimicrobiano ni en el pienso ni en el agua.

De los piensos A3, E3 y E6 también se fabricaron lotes con inclusión de heno de alfalfa marcado con óxido de iterbio (Yb₂O₃) según el procedimiento descrito por García *et al.* (1999), a razón 5 g/kg MS. La composición de estos piensos marcados se presenta en la **Tabla 5**.

Por último, también se utilizó un pienso comercial de retirada (170 g PB, 35 g EE, 367 g FND, 195 g FAD, 48 g LAD, 172 g HC_i, 161 g FSDN y 146 g almidón/kg MS, *ratio* FFA 0,70) y un pienso comercial para conejas reproductoras (Cunicebial[®] Retirada y Cunilactal[®], respectivamente; Nanta, Meliana, España).

Tabla 3. Ingredientes de los piensos experimentales (g/kg MS).

Ratio FFA¹:	0,57	0,64	0,71	0,78	0,85	0,57	0,64	0,71	0,78	0,85
G²:	3%					6%				
PIENSO:	A3	B3	C3	D3	E3	A6	B6	C6	D6	E6
Trigo	280	210	140	70	0	240	180	120	60	0
Pulpa remolacha	0	70	140	210	280	0	60	120	180	240
Salvado trigo	0	37,5	75	112,5	150	0	37,5	75	112,5	150
Cascarilla soja	100	75	50	25	0	100	75	50	25	0
Paja trigo	50	37,5	25	12,5	0	50	37,5	25	12,5	0
Grasa animal	30	30	30	30	30	60	60	60	60	60
Melaza caña	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10
Mezcla basal ³	540	540	540	540	540	540	540	540	540	540

¹ Ratio (FSDN+HC_i)/(FSDN+HC_i+almidón).

² Grasa animal incluida.

³ Heno alfalfa, 250; Torta girasol, 200; Torta soja, 60; L-lisina HCl, 3; DL-metionina, 1; L-Treonina, 1; Fosfato bicálcico 12; Carbonato cálcico, 2; Cloruro sódico, 5; Corrector vitaminas-oligoelementos (L-510, Trouw Nutrition España), 5; Coccidiostático (Cycostat 66G, Alpharma), 1.

Tabla 4. Composición de los piensos experimentales (g/kg MS).

Ratio FFA¹:	0,57	0,64	0,71	0,78	0,85	0,57	0,64	0,71	0,78	0,85
G²:	3%					6%				
PIENSO:	A3	B3	C3	D3	E3	A6	B6	C6	D6	E6
<i>Analizada</i>										
Materia seca (MS, g/kg)	916	909	912	911	911	914	912	909	905	905
Proteína bruta	177	176	179	176	178	177	177	176	179	176
Extracto etéreo	48	48	49	49	48	71	71	71	71	72
Almidón	196	168	132	95	69	170	146	122	93	64
Fibra neutro detergente (FND)	337	345	355	367	374	329	335	349	358	364
Fibra ácido detergente (FAD)	218	218	219	219	217	219	217	216	216	219
Lignina ácido detergente (LAD)	54	54	57	56	58	53	52	53	55	54
Hemicelulosas insolubles (HC _i =FND-FAD)	120	127	135	148	157	110	118	133	142	150
Fibra soluble detergente neutro (FSDN)	128	148	178	193	227	134	144	163	181	202
FFA ¹	0,557	0,621	0,704	0,781	0,848	0,588	0,643	0,708	0,777	0,844
<i>Calculada³</i>										
Energía digestible (MJ/kg MS)	11,2	11,1	11,1	11,0	10,9	11,7	11,7	11,7	11,6	11,6
Proteína bruta digestible	128	126	127	124	125	127	127	125	127	124
Lisina	10,1	10,3	10,5	10,8	11,0	10,0	10,2	10,4	10,6	10,8
Metionina	4,2	4,3	4,3	4,4	4,5	4,1	4,2	4,3	4,3	4,4
Metionina+Cistina	7,3	7,3	7,4	7,4	7,4	7,1	7,2	7,2	7,2	7,3
Treonina	7,7	7,9	8,1	8,2	8,4	7,6	7,7	7,9	8,1	8,2
Ca	9,8	10,3	10,9	11,4	11,9	9,9	10,3	10,8	11,2	11,6
P	6,7	6,9	7,1	7,2	7,4	6,5	6,7	7,0	7,2	7,4
Na	2,4	2,5	2,7	2,8	2,9	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8
Cl	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8

¹ Ratio (FSDN+HC_i)/(FSDN+HC_i+almidón).² Grasa animal incluida.³ Según FEDNA (2010) y Villamide *et al.* (2010b).

Tabla 5. Composición de los piensos experimentales marcados con óxido de iterbio (g/kg MS).

PIENSO:	A3	E3	E6
Materia seca (MS, g/kg)	909	906	902
Proteína bruta	180	180	178
Extracto etéreo	51	52	78
Almidón	186	67	63
Fibra neutro detergente (FND)	343	381	371
Fibra ácido detergente (FAD)	223	224	226
Lignina ácido detergente (LAD)	51	52	51
Hemicelulosas insolubles (HC _i =FND-FAD)	120	157	145
Celulosa (FAD-LAD)	172	172	175
Fibra soluble detergente neutro (FSDN)	158	255	228
FFA ¹	0,599	0,860	0,856

¹ *Ratio* (FSDN+HC_i)/(FSDN+HC_i+almidón).

1.2. EXPERIMENTO 1: EFECTO SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE CONEJOS EN CRECIMIENTO

1.2.1 Animales

Se utilizaron 400 camadas procedentes de 169 conejas, distribuidas en 26 bandas semanales a lo largo de 8 meses (marzo-junio y septiembre-diciembre). Las conejas eran cruzadas de las líneas maternas V y A (seleccionadas por tamaño de camada al destete) y fueron inseminadas con "pooles" de semen de machos finalizadores de la línea R (seleccionada por velocidad de crecimiento). Las tres líneas han sido desarrolladas en la Unidad de Mejora Genética del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia.

1.2.2 Procedimiento experimental

Al parto, las camadas se estandarizaron a 9-11 gazapos, mediante las adopciones pertinentes. A los 17 días se controló el tamaño y peso de las camadas y, a continuación, se constituyeron las camadas experimentales, compuestas por 10 gazapos que, con objeto de aleatorizar la influencia de factores tanto genéticos como maternos, procedían de otras tantas conejas distintas y se procuró que el peso de las camadas experimentales constituidas fuera similar (2909 ± 8 g).

En la **Figura 24** se representa el procedimiento experimental llevado a cabo.

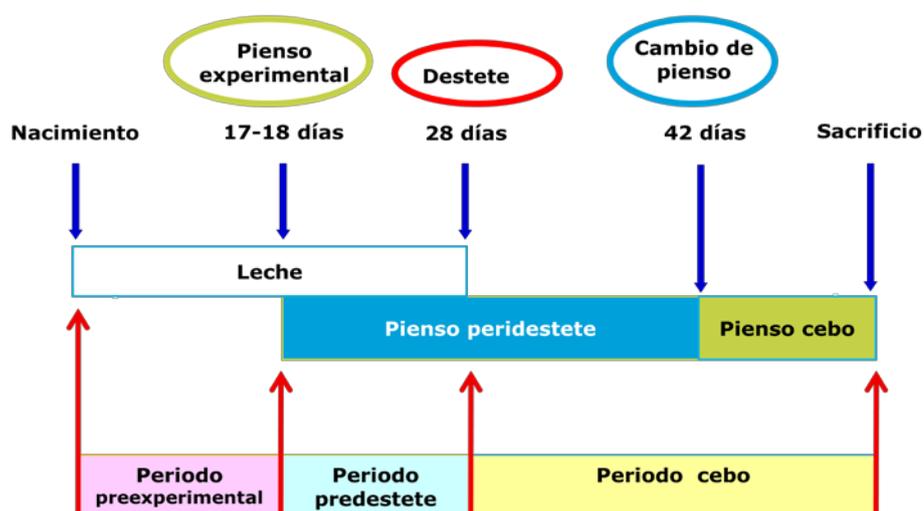


Figura 24. Esquema del trabajo experimental.

Desde los 17 días hasta el destete, que se realizó a los 28 días, las camadas permanecieron en jaulas de cría dotadas de nido, a cada una de las cuales se le asignó aleatoriamente uno de los 10 piensos experimentales (40 camadas/pienso), que se distribuyó *ad libitum*. Las conejas fueron separadas y alojadas en jaulas de reposición-gestación; a cada coneja se le asignó una de las camadas, procurando que el potencial lechero de las conejas (estimado como el peso de su camada a los 17 días) se distribuyera homogéneamente entre todos los piensos experimentales. Diariamente, entre las 8:00 y las 9:00, las conejas se trasladaban a las jaulas de cría durante unos minutos, para amamantar a las camadas, controlándose la ingestión de leche por

diferencia entre el peso de la coneja inmediatamente antes y después de la tetada. A los 21, 25 y 28 días se llevaron a cabo controles del tamaño y peso de las camadas, así como de su ingestión de pienso (corregida por el pienso desperdiciado y recogido en bandejas *ad hoc*).

Se destetaron 3971 gazapos, que se distribuyeron en dos tipos de alojamientos distintos:

- Jaulas de cebo individual: se alojaron un total de 600 gazapos, procedentes de 10 bandas semanales (60 gazapos/pienso experimental, de 30 camadas distintas por banda), escogiéndose, de cada camada, los dos gazapos con el peso más próximo a la mediana.
- Jaulas de cebo colectivas: en ellas se albergaron los 3371 gazapos restantes (335-339 gazapos/pienso experimental), identificados individualmente mediante tatuaje auricular; todos los animales de una misma camada se alojaron en la misma jaula (8-10 gazapos/jaula).

Los gazapos destetados continuaron recibiendo *ad libitum* el pienso experimental correspondiente durante las 2 primeras semanas de cebo (28-42 días) y después pasaron a recibir el mismo pienso comercial de retirada *ad libitum* hasta el final del cebo (63 días).

Desde los 28 a los 63 días se realizaron controles semanales de peso y de ingestión de pienso, así como un control diario de la mortalidad.

Las conejas fueron siempre alimentadas *ad libitum* con el pienso comercial para reproductoras.

1.3. EXPERIMENTO 2: EFECTO SOBRE EL DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL, LA MORFOMETRÍA DE LA MUCOSA YEYUNAL, LA DIGESTIBILIDAD ILEAL APARENTE Y EL AMBIENTE CECAL EN CONEJOS EN CRECIMIENTO

1.3.1 *Animales*

Se utilizaron 45 camadas procedentes de otras tantas conejas cruzadas de las líneas descritas en el Experimento 1.

1.3.2 *Procedimiento experimental*

A los 17 días se controló el tamaño y peso de las camadas y, a continuación, se constituyeron las camadas experimentales, compuestas por 8 gazapos, siguiendo el mismo protocolo aleatorio del Experimento 1.

Desde los 17 días hasta el destete, que se realizó a los 28 días, las camadas permanecieron en jaulas de cría dotadas de nido y a cada una de ellas se le asignó aleatoriamente uno de los 3 piensos experimentales marcados (15 camadas/pienso), que se distribuyó *ad libitum*, y se siguió el mismo protocolo de manejo descrito en el Experimento 1 con madres y gazapos lactantes, aunque sin controlar la ingestión de pienso ni el peso de las camadas. Tras el destete, las camadas se alojaron en jaulas de cebo colectivas y continuaron recibiendo *ad libitum* el pienso experimental correspondiente hasta los 43 días de vida. Las conejas fueron siempre alimentadas *ad libitum* con el pienso comercial para reproductoras.

Toma de muestras

Para la toma de muestras se sacrificaron 300 gazapos en total (100/pienso), a los 22, 29, 36 y 43 días de vida (12, 40, 24 y 24 animales/pienso, respectivamente) (**Tabla 6**). Para ello, después de pesarlos, se les administró una sobredosis de barbitúricos (inyección intracardíaca de tiopental sódico, 75 mg/kg de peso vivo). El sacrificio se realizó entre las 20:00 y las 22:00 horas, para minimizar la influencia de la cecotrofia sobre la composición del contenido digestivo (Gidenne y Poncet, 1985; Merino y Carabaño, 2003).

Las muestras procedentes de animales con signos de problemas digestivos (contenido anómalo en estómago, ciego o colon, suciedad perineal) fueron desechadas.

Tabla 6. Número de animales asignados por cada pienso y edad en el Experimento 2.

	Pienso			
Edad	A3	E3	E6	Total
22	12	12	12	36
29	40	40	40	120
36	24	24	24	72
43	24	24	24	72
Total	100	100	100	300

Toma de muestras para el análisis de los parámetros del tracto gastrointestinal

Tras el sacrificio, se extrajo el tracto gastrointestinal y se procedió a la disección de los distintos órganos. Se pesó el estómago (lleno y vacío), el intestino delgado (vacío) y el ciego (lleno y vacío). En la **Tabla 7**, se muestra el número definitivo de muestras obtenidas para este análisis.

Tabla 7. Número de muestras utilizadas por cada pienso y edad para las medidas del tracto gastro-intestinal en el Experimento 2.

Pienso	Muestra	Número de muestras	Tipo de muestra	Análisis
A3	Muestra individual	100	Tracto gastrointestinal	Peso : Estómago vacío Contenido gástrico Ciego vacío Contenido cecal Intestino delgado vacío
E3	Muestra individual	98	Tracto gastrointestinal	
E6	Muestra individual	98	Tracto gastrointestinal	
Edad	Muestra	Número de muestras	Tipo de muestra	
22	Muestra individual	34	Tracto gastrointestinal	
29	Muestra individual	120	Tracto gastrointestinal	
36	Muestra individual	72	Tracto gastrointestinal	
43	Muestra individual	70	Tracto gastrointestinal	

Toma de muestras para el estudio de la morfometría de la mucosa yeyunal

Se tomaron muestras de la porción intermedia del yeyuno (5 cm) en 96 animales (32/pienso, 8 de cada edad), que se lavaron con una solución salina fisiológica y se conservaron en formaldehído tamponado al 10% hasta su procesamiento para estudiar la morfometría de la mucosa. En la **Tabla 8**, se muestra el número definitivo de muestras utilizadas para este análisis.

Tabla 8. Número de muestras utilizadas por cada pienso y edad para las medidas de de la mucosa yeyunal en el Experimento 2.

Pienso	Muestra	Número de muestras	Tipo de muestra	Análisis
A3	<i>Muestra individual</i>	29	<i>Yeyuno</i>	<i>Vellosidades intestinales y Criptas de Lieberkühn</i>
E3	<i>Muestra individual</i>	32	<i>Yeyuno</i>	
E6	<i>Muestra individual</i>	32	<i>Yeyuno</i>	
Edad	Muestra	Número de muestras	Tipo de muestra	
22	<i>Muestra individual</i>	24	<i>Yeyuno</i>	
29	<i>Muestra individual</i>	23	<i>Yeyuno</i>	
36	<i>Muestra individual</i>	24	<i>Yeyuno</i>	
43	<i>Muestra individual</i>	22	<i>Yeyuno</i>	

Toma de muestras para el análisis de la digestibilidad ileal aparente

En los gazapos sacrificados a los 36 y 43 días de vida, se recogió el contenido de la porción distal del intestino delgado (20-40 cm anteriores a la válvula ileo-ceco-cólica). Para disponer de suficiente cantidad, las muestras de contenido ileal se constituyeron mezclando el procedente de dos animales; estas muestras se congelaron a -20 °C y se liofilizaron para su posterior análisis de iterbio y nutrientes (MS, PB, FND, FAD, LAD y almidón). Para poder realizar la determinación de FSDN, se constituyeron nuevas muestras integrando los restos de dos muestras no utilizados en los referidos análisis. En la **Tabla 9** se muestra el número de muestras válidas para este análisis.

Tabla 9. Número de muestras utilizadas por cada pienso y edad para las medidas de la digestibilidad ileal aparente en el Experimento 2.

Pienso	Muestras	Número de muestras	Tipo de muestra	Análisis
A3	Mezcla de 2 animales/muestra	23	Contenido cecal	Digestibilidad ileal de: (MS, Almidón, PB, FND, FAD, LAD, HCl, Celulosa, FSDN)
E3	Mezcla de 2 animales/muestra	22	Contenido cecal	
E6	Mezcla de 2 animales/muestra	23	Contenido cecal	
Edad	Muestras	Número de muestras	Tipo de muestra	
36	Mezcla de 2 animales/muestra	34	Contenido cecal	
43	Mezcla de 2 animales/muestra	34	Contenido cecal	

Toma de muestras para el análisis del ambiente cecal

En los gazapos sacrificados a los 29, 36 y 43 días de vida, se midió el pH del contenido cecal (pHmetro GLP21, Crison, Barcelona, España) y se tomaron muestras de contenido cecal para análisis de AGV (1 g en 2 ml de H₃PO₄ 0.35 M) y de NH₃ (1 g en 3 ml de H₂SO₄ 0,35 M), que se conservaron a -20 °C.

También se tomaron muestras de contenido cecal para determinar la actividad celulolítica y xilanolítica (72/pienso, 24 de cada edad) (1,2 g en 3 ml de tampón anaeróbico MES 25 mM DTT 0,2 mg/L pH 6,5 enfriado a 4 °C, manteniendo las muestras en baño de hielo hasta que se homogeneizaron bajo flujo de CO₂ durante 30 segundos a 8000 rpm (homogeneizador DiAx 600, Heildolph Instruments, Schwabach, Alemania), que se conservaron a -80 °C; posteriormente, las muestras se sometieron a dos ciclos de descongelación-congelación consecutivos para fragilizar las membranas celulares y a un proceso de desintegración ultrasónica (sonicador Vibra-Cell, Sonics and Materials, Newtown, CT, EEUU) con el fin de romper las células bacterianas y liberar los enzimas intracelulares o asociados a las membranas, en 4 periodos de 30 segundos separados por intervalos de 30 segundos, en baño de hielo y bajo flujo de CO₂; las partículas dietarias y las células intactas se eliminaron mediante centrifugación a 14000 × g durante 20 minutos y a 4°C; finalmente, el sobrenadante se recogió en viales de plástico,

almacenados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la valoración de las actividades enzimáticas. El resto del contenido cecal se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se utilizó para determinar el contenido en MS. En la **Tabla 10** se muestra el número de muestras utilizadas para este análisis.

Tabla 10. Número de muestras utilizadas por cada pienso y edad para las medidas del ambiente cecal en el Experimento 2.

Pienso	Muestras	Número de muestras	Tipo de muestra	Análisis
A3	<i>Muestra individual</i>	84	<i>Contenido cecal</i>	MS pH ciego AGV Totales NH ₃ Enzimas microbianas
E3	<i>Muestra individual</i>	81	<i>Contenido cecal</i>	
E6	<i>Muestra individual</i>	80	<i>Contenido cecal</i>	
Edad	Muestras	Número de muestras	Tipo de muestra	
29	<i>Muestra individual</i>	107	<i>Contenido cecal</i>	
36	<i>Muestra individual</i>	68	<i>Contenido cecal</i>	
43	<i>Muestra individual</i>	70	<i>Contenido cecal</i>	

2. INSTALACIONES Y ALOJAMIENTOS

Las pruebas experimentales del presente estudio se desarrollaron en la granja cunicola experimental de la Unidad de Alimentación del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia.

La granja experimental constaba de dos naves: la de maternidad (donde se alojaban las conejas reproductoras y las camadas hasta el destete) y la de cebo (a la que se trasladaban los gazapos destetados y donde se alojaban hasta su sacrificio). Ambas naves disponían de ventanas y de un sistema de iluminación artificial que se utilizaban para mantener un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. También estaban equipadas con un sistema de ventilación forzada y con paneles de refrigeración evaporativa, para mantener la temperatura dentro del rango $12\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el estudio.

La nave de maternidad estaba equipada con jaulas de cría cuyas dimensiones eran de 50×70×32 cm³, con nidos metálicos con cubeta de plástico con fondo en rejilla, provista de un lecho de borra en dos capas separadas por una rejilla de plástico y provistas de cajas-nido; también contaba con jaulas de reposición-gestación (26×46×33 cm³). La nave de cebo disponía de dos tipos de jaulas: individuales (26×50×31 cm³) y colectivas (50×80×32 cm³). Todas las jaulas estaban equipadas con comederos tipo tolva y bebederos de chupete con cazoleta para la provisión de pienso y agua *ad libitum*.

La granja experimental tenía antecedentes de EEC, con frecuentes brotes de la enfermedad desde poco después de su aparición en España, probablemente favorecidos por el hecho de no utilizar antibióticos ni en el pienso ni en el agua.

3. ANÁLISIS QUÍMICOS

Los análisis de MS, cenizas, PB y EE se realizaron según los métodos de la AOAC (2000) (934.01, 942.05, 976.06 y 920.39 con hidrólisis ácida previa a la extracción con éter, respectivamente).

El almidón se analizó según Batey (1982), mediante un procedimiento enzimático en dos etapas, con solubilización e hidrólisis hasta maltodextrinas por α -amilasa termoestable seguida de hidrólisis completa con amiloglucosidasa (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania), y valoración de la glucosa resultante mediante el sistema hexokinasa/glucosa-6-fosfato deshidrogenasa/NADP (R-Biopharm, Darmstadt, Alemania).

Los análisis de FND, FAD y LAD se realizaron secuencialmente (Van Soest *et al.*, 1991), con pre-tratamiento con α -amilasa termoestable y corrección por cenizas, usando un sistema de bolsas filtrantes de nylon (Ankom, Macedon, NY, EEUU). La FSDN se determinó según Hall *et al.* (1997) con las modificaciones propuestas por Martínez-Vallespín *et al.* (2011b).

El iterbio se analizó según García *et al.* (1999), mediante espectrometría de absorción atómica (Smith-Hieftje 22, Thermo Jarrell Ash, Franklin, MA, EEUU). Previamente, las muestras fueron incineradas (550 °C) y digeridas mediante ebullición con una solución HNO₃ 1,5 M y KCl 0,05 M. La recta de calibrado se realizó con patrones de concentración conocida preparados a partir de una solución base de iterbio obtenida por digestión de óxido de iterbio en las condiciones referidas.

La digestibilidad ileal aparente de los nutrientes se calculó mediante el método de la dilución del marcador, con la expresión:

$$\text{DI del nutriente (\%)} = \left(1 - \frac{\text{concentración iterbio en pienso (\%)}}{\text{concentración iterbio en contenido ileal (\%)}} \times \frac{\text{concentración nutriente en contenido ileal (\%)}}{\text{concentración nutriente en pienso (\%)}}\right) \times 100$$

La determinación de ácidos grasos volátiles se realizó por cromatografía de gases de columna capilar, para lo que las muestras se filtraron previamente con una jeringa de celulosa con tamaño de poro de 0,45 μm , añadiendo 0,1 ml de una solución interna estándar (0,4 g de ácido 4-metil valérico diluidos en 100 ml de agua desionizada) a 0,9 ml de la solución filtrada. De esa nueva solución se tomó 1 μl y se inyectó en un cromatógrafo de gases (Fisons 8000 series, Milan, Italy), equipado con un inyector divisor de flujo (split/splitless) y un detector FID. La separación de los AGV se realizó con una columna capilar DB-FFAP (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm d grosor de película; J&W Scientific, Folsom, CA, USA). El gas portador (carrier) era N_2 a una presión constante de 120 kPa. Las temperaturas del detector y el inyector se ajustaron a 245°C y 150°C respectivamente. La temperatura inicial del horno era de 110°C, la cual se mantuvo durante 5 minutos para incrementarla seguidamente hasta 230°C a un ritmo de 8,5°C/minuto, manteniendo esta última temperatura durante 10 minutos. Los AGV se identificaron comparando sus tiempos de retención con un patrón 46975-U (Supelco[®], Bellafonte, PA, USA). Los factores de respuesta de los AGV obtenidos a partir del patrón se utilizaron, finalmente, para calcular la concentración de AGV de las muestras.

La concentración de NH_3 se determinó según el procedimiento 984.13 de la AOAC (2000).

Las concentraciones de AGV y NH_3 se expresaron en mmol/L de la fase líquida del contenido cecal.

La valoración de las actividades celulolítica y xilanolítica en el contenido cecal se realizó según el método descrito por Biglia (2004), utilizando como sustratos carboximetilcelulosa y xilano respectivamente y cuantificando los azúcares reductores liberados mediante la reacción cromogénica de reducción del ácido 2-hidroxi 3,5-dinitrobenzoico, en ensayos realizados en condiciones que asegurasen que la producción

de azúcares reductores aumenta linealmente con el tiempo de incubación y con la cantidad de enzima presente. Las actividades celulolítica y xilanolítica se expresaron en μmol de glucosa o xilosa producidos por hora y g de contenido cecal, respectivamente.

4. MORFOMETRÍA DE LA MUCOSA YEYUNAL

De cada una de las muestras de yeyuno se tallaron tres secciones transversales e independientes, procediéndose a continuación a su deshidratación gradual con una concentración creciente de alcohol etílico (50-100%), para luego ser incluidas en parafina. De los bloques de parafina se obtuvieron preparaciones con tres secciones de 3-4 μm de espesor, que posteriormente se tiñeron con la técnica de hematoxilina-eosina (Hampson, 1986).

En cada preparación se midió, al menos, la altura de 30 vellosidades y la profundidad de 30 criptas de Lieberkühn, según se muestra en la **Figura 25**. Se utilizó un microscopio óptico a 10 \times , provisto de cámara fotográfica digital (Nikon DN100, Tokio, Japón) y programa informático para análisis de imágenes Eclipse Net.

La histología intestinal fue medida de acuerdo con Hampson (1986).

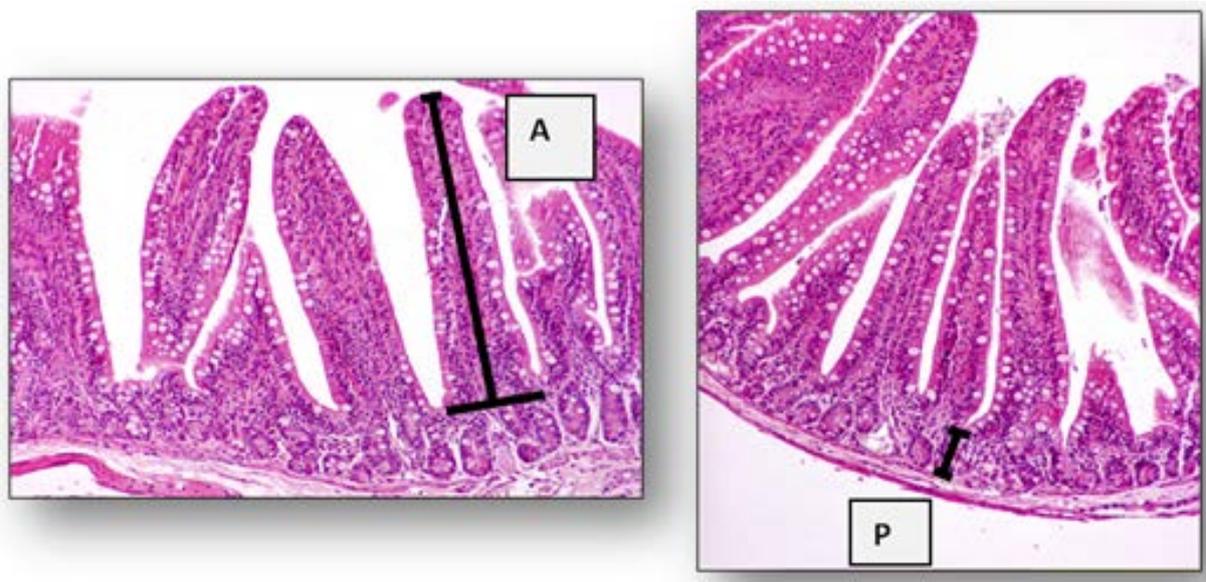


Figura 25. Medidas en las vellosidades (A: altura) y criptas de Lieberkühn (P: profundidad) de la mucosa yeyunal de los gazapos.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos obtenidos en los dos experimentos realizados se analizaron con el paquete estadístico SAS (2004).

5.1. EXPERIMENTO 1

Las variables de las camadas en el periodo predestete (17-28 días de vida) se analizaron mediante un modelo lineal general (el procedimiento GLM de SAS), incluyendo como efectos principales la *ratio* FFA (5 niveles) y la grasa animal añadida (2 niveles), así como su interacción. Asimismo, se utilizó la estación del año (3 niveles: primavera, verano y otoño) como factor de ruido. Para analizar el peso de las camadas a los 17 días antes de la estandarización se utilizó su tamaño como covariable. Para analizar el peso al destete y la ingestión de pienso se utilizaron la ingestión de leche y el tamaño de la camada al destete como covariables.

De forma similar, las variables de los animales alojados en jaulas de cebo individual en los periodos de postdestete (28-42 días de vida) y acabado (42-63 días de vida) se analizaron mediante el procedimiento GLM, incluyendo como efectos principales en el modelo la *ratio* FFA (5 niveles) y la grasa animal añadida (2 niveles), así como su interacción. Asimismo, se utilizó la estación del año (4 niveles: primavera, verano, otoño e invierno) como factor de ruido. En el caso de los animales alojados en jaulas de cebo colectivas solo se analizó el peso y la ganancia de peso en ambos periodos del cebo, con el procedimiento y modelo referido. Los datos de animales mórbidos o muertos fueron desechados.

La mortalidad en los distintos periodos se analizó mediante un modelo lineal generalizado (procedimiento GENMOD de SAS), de acuerdo con los modelos descritos para cada caso, considerando una distribución binomial y transformando los resultados a partir de la escala logit.

En todos los casos, se realizaron contrastes ortogonales para estudiar el efecto lineal de la *ratio* FFA.

Los resultados se expresaron como medias ajustadas por mínimos cuadrados, las comparaciones múltiples entre ellas se realizaron mediante el test de Fisher de mínimas diferencias significativas (LSD-test) y la significación estadística se declaró con $P < 0,05$.

5.2. EXPERIMENTO 2

Las distintas variables controladas en los animales sacrificados se analizaron mediante el procedimiento GLM, incluyendo como efectos principales en el modelo el pienso (3 niveles) y la edad (4 niveles para los parámetros del tracto gastrointestinal y la morfometría de la mucosa yeyunal; 3 niveles para los parámetros del contenido cecal; 2 niveles para la digestibilidad ileal aparente), así como la interacción entre ambos. La comparación entre los piensos A3 y E3 permite analizar el efecto de la *ratio* FFA (ya que ambos piensos tienen el mismo nivel de grasa animal incluida) y la comparación entre los piensos E3 y E6 permite analizar el efecto del nivel de grasa animal incluida (ya que ambos piensos tienen la misma *ratio* FFA. En ausencia de efecto del nivel de grasa incluida se realizaron contrastes ortogonales $E3/2 + E6/2 - A3$.

Los resultados se expresaron como medias ajustadas por mínimos cuadrados, las comparaciones múltiples entre ellas se realizaron mediante el test de Fisher de mínimas diferencias significativas (LSD-test) y la significación estadística se declaró con $P < 0,05$.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

1. EXPERIMENTO 1: EFECTO SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE CONEJOS EN CRECIMIENTO

1.1. PREDESTETE (17-28 días de vida)

La **Tabla 11** presenta el tamaño y peso de las camadas al comienzo del experimento (17 días de vida) y al destete (28 días de vida), así como la ingestión de leche y de pienso durante dicho periodo.

Como resultado del manejo experimental anteriormente descrito, el tamaño y peso de las camadas a los 17 días de vida, antes de la estandarización, así como el peso de las mismas después de estandarizarlas a 10 gazapos y la ingestión de leche hasta el destete fueron muy similares en los distintos grupos establecidos ($9,41 \pm 0,04$, 2716 ± 15 g, 2909 ± 8 g y 241 ± 2 g, respectivamente).

La ingestión de pienso disminuyó linealmente al aumentar la *ratio* FFA, llegando a ser un 29% menor con FFA=0,85 que con FFA=0,57. Tal como muestra la **Figura 26**, esta tendencia ya se observa al comienzo de la ingestión sólida (18-21 días de vida) y posteriormente se intensifica (22-25 días de vida y 26-28 días de vida). De forma análoga, tanto el peso de la camada como el peso medio de los gazapos al destete también se redujo linealmente al aumentar la *ratio* FFA, siendo menor con FFA=0,85 que con FFA=0,57 (Disminución del 5,3% y del 5,1%, respectivamente).

Durante este periodo se registró una mortalidad muy baja (29 gazapos, 0,7%) y no hubo diferencias significativas en mortalidad y tamaño de camada al destete en función de la *ratio* FFA. Aunque se detectó un efecto lineal de dicha *ratio* sobre ambas variables ($P=0,019$ y $P=0,037$, respectivamente), dicho efecto resultó irrelevante.

Tabla 11. Tamaño, peso, ingestión de leche e ingestión de pienso de las camadas en predestete (17-28 días de vida) según la ratio FFA y el nivel de grasa animal incluida en los piensos.

	FFA ¹					G ²		DER ³	P		
	0,57	0,64	0,71	0,78	0,85	3%	6%		FFA	G	FFA*G
Número camadas	80	80	80	80	80	200	200				
Tamaño camada 17 días, antes de estandarizar	9,46	9,38	9,40	9,40	9,40	9,40	9,41	0,87	0,984	0,934	0,983
Peso camada 17 días, antes de estandarizar (g)	2720	2711	2728	2711	2712	2725	2708	296	0,995	0,562	0,974
Peso camada 17 días, tras estandarizar ⁴ (g)	2905	2926	2906	2907	2901	2912	2906	150	0,854	0,692	0,986
Ingestión leche 18-28 días (g/día)	241	234	243	244	242	242	239	35	0,378	0,398	0,215
Ingestión pienso 18-28 días (g MS/día)	89,7 ^a	83,3 ^b	78,6 ^b	71,0 ^c	63,7 ^d	75,4	79,1	19,0	<0,001 ^x	0,051	0,721
Tamaño camada 28 días	9,88	9,90	9,93	9,93	9,97	9,91	9,94	0,29	0,326 ^y	0,379	0,497
Peso camada 28 días (g)	5414 ^a	5384 ^{ab}	5307 ^{bc}	5210 ^{cd}	5127 ^d	5259	5318	339	<0,001 ^x	0,084	0,844
Peso medio gazapo 28 días (g)	545 ^a	542 ^a	535 ^{ab}	525 ^{bc}	517 ^c	530	536	34	<0,001 ^x	0,082	0,847
Mortalidad 18-28 días (%)	1,1	1,0	0,6	0,6	0,3	0,8	0,6		0,211 ^z	0,344	0,167

¹ Ratio (FSDN+HCl)/(FSDN+HCl+almidón).

² Grasa animal incluida.

³ Desviación estándar residual.

⁴ A 10 gazapos.

^{a, b, c, d} Valores sin ningún superíndice común difieren significativamente ($P < 0,05$).

^x Efecto lineal de FFA ($P < 0,001$).

^y Efecto lineal de FFA ($P = 0,037$).

^z Efecto lineal de FFA ($P = 0,019$).

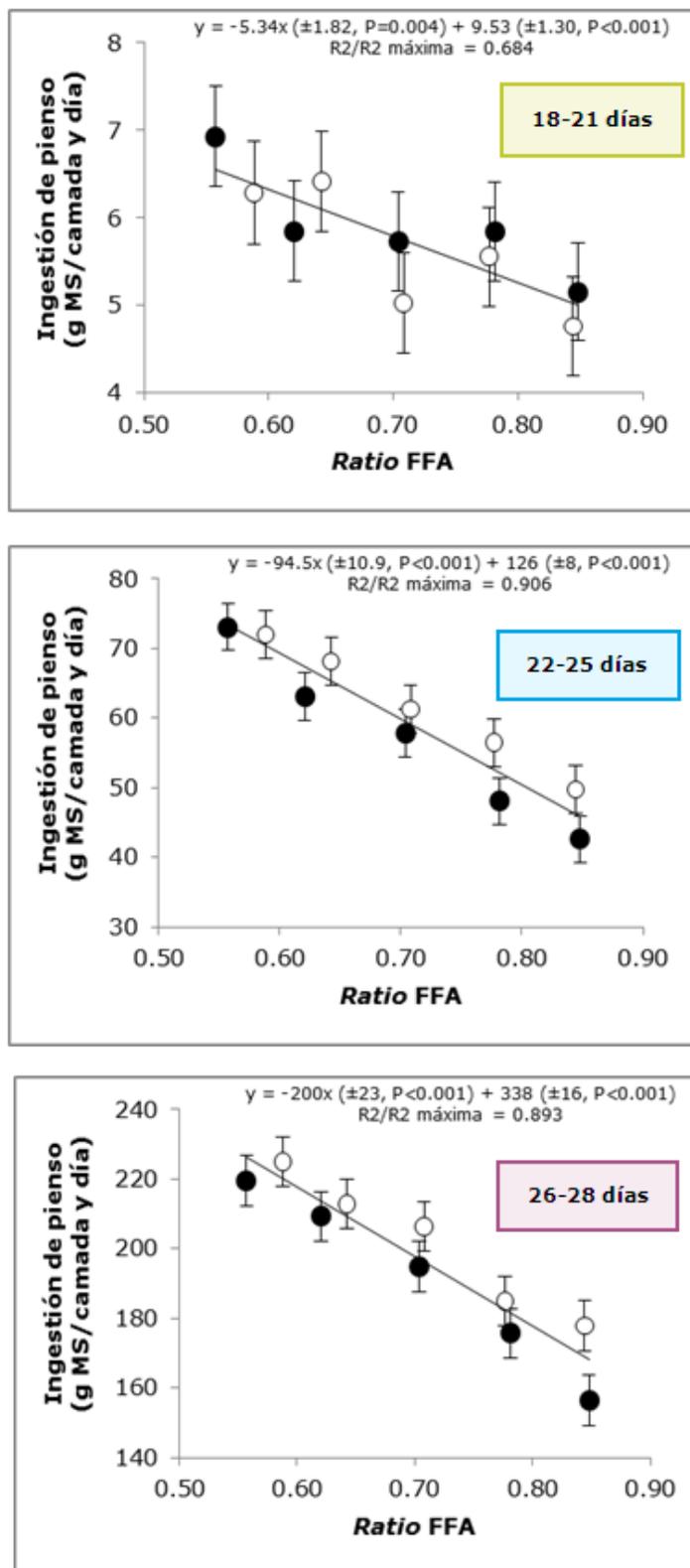


Figura 26. Ingestión de pienso en función de su ratio FFA (fibras fermentables/[fibras fermentables + almidón]).

En cuanto al efecto del nivel de grasa animal incluida en los piensos, las diferencias de ingestión no alcanzaron el umbral de significación en el total del periodo ($P=0,051$). Sin embargo, cuando se analizan las diferentes fases del mismo (**Figura 27**), se observa que la ingestión de pienso fue mayor con 6% que con 3%, tanto a los 22-25 días de vida (+7,4%, $P=0,045$), como a los 26-28 días de vida (+4,7%, $P=0,025$). Las diferencias en el peso de la camada y el peso medio de los gazapos al destete fueron poco relevantes (1,1% mayores con 6% que con 3%) y no alcanzaron el umbral de significación ($P=0,084$ y $P=0,082$, respectivamente).

Tanto la mortalidad como el tamaño de camada al destete fueron muy similares con ambos niveles de grasa animal incluida.

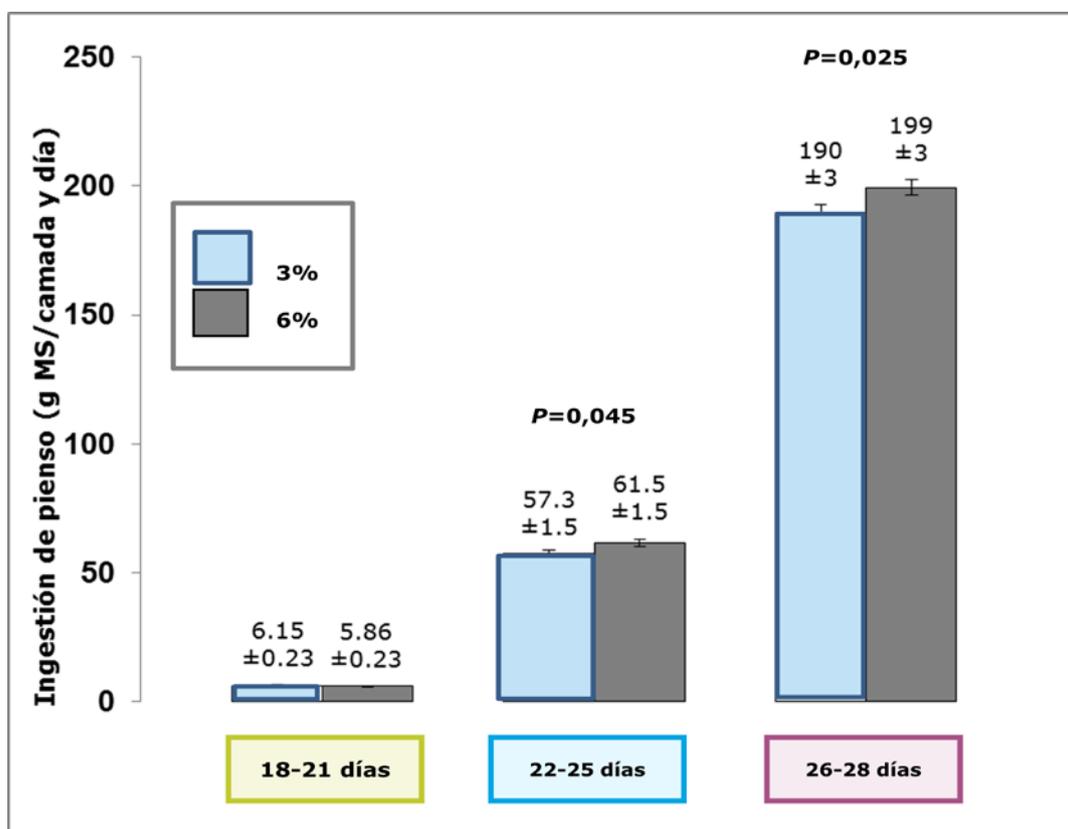


Figura 27. Ingestión de pienso en función del nivel de grasa animal incluida en distintas fases del periodo predestete.

1.1.1 Ingestión de pienso, ganancia de peso e índice de conversión

La **Tabla 12** presenta los resultados obtenidos en los conejos alojados en jaulas de cebo individuales desde el destete hasta los 63 días de vida.

En el periodo postdestete (28-42 días de vida), en el que los animales siguieron consumiendo los mismos piensos experimentales que en predestete, la ingestión de pienso también disminuyó linealmente al aumentar la *ratio* FFA, llegando a ser un 8,1% menor con FFA=0,85 que con FFA=0,57. No se observaron diferencias significativas en la ganancia de peso vivo ($45,1 \pm 0,4$ g/día) y, consecuentemente, el índice de conversión mejoró linealmente al aumentar la *ratio* FFA, siendo 8,4% menor con FFA=0,85 que con FFA=0,57. El nivel de grasa animal incluida no afectó a ninguna de estas variables.

En el periodo de acabado (42-63 días de vida), en el que todos los animales consumieron un mismo pienso comercial de retirada, la ingestión de pienso, la ganancia de peso vivo, el índice de conversión y el peso a los 63 días de vida fueron similares, sin depender del pienso experimental consumido previamente (140 ± 1 g MS/día, $48,3 \pm 0,3$ g/día, $2,91 \pm 0,02$ y 2164 ± 10 g, respectivamente).

En el caso de los conejos alojados en jaulas de cebo colectivas, la elevada mortalidad registrada durante el cebo, que se analiza en el apartado siguiente, obligó a desechar los datos de ingestión de pienso, por la dificultad de calcularla con suficiente precisión. La ganancia de peso vivo en los periodos postdestete y de acabado, así como el peso a los 63 días de vida, no se vieron afectados por los factores dietarios ($42,2 \pm 0,2$ g/día, $45,7 \pm 0,1$ g/día y 2088 ± 5 g, respectivamente).

Tabla 12. Ingestión de pienso, ganancia de peso vivo e índice de conversión durante el cebo según la ratio FFA y el nivel de grasa animal incluida en los piensos.

	FFA ¹					G ²		DER ³	P		
	0,57	0,64	0,71	0,78	0,85	3%	6%		FFA	G	FFA*G
<i>28-42 días (piensos experimentales)</i>											
Número animales ⁴	61	69	84	86	90	194	196				
Peso 28 días (g)	553 ^a	538 ^a	548 ^a	519 ^b	512 ^b	532	536	49	<0,001 ^z	0,393	0,445
Ingestión pienso (g MS/día)	74,0 ^a	73,1 ^a	72,0 ^a	70,1 ^{ab}	68,0 ^b	71,8	71,0	12,1	0,016 ^z	0,528	0,638
Ganancia peso vivo (g/día)	44,3	45,6	45,1	46,2	44,3	45,3	45,0	7,7	0,465	0,690	0,717
Índice conversión (g MS/g)	1,67 ^a	1,60 ^b	1,60 ^b	1,52 ^c	1,53 ^c	1,59	1,58	0,13	<0,001 ^z	0,716	0,250
<i>42-63 días (pienso comercial retirada)</i>											
Número animales ⁵	57	51	67	66	61	150	152				
Peso 42 días (g)	1140	1177	1155	1168	1110	1142	1158	148	0,116	0,371	0,351
Ingestión pienso (g MS/día)	141	139	140	141	140	139	141	15	0,899	0,293	0,307
Ganancia peso vivo (g/día)	47,8	47,3	48,4	48,7	49,1	47,9	48,7	4,9	0,332	0,169	0,109
Índice conversión (g MS/g)	2,94	2,94	2,89	2,91	2,85	2,91	2,90	0,28	0,311	0,820	0,173
Peso 63 días (g)	2145	2171	2172	2191	2140	2148	2180	174	0,469	0,117	0,401

¹ Ratio (FSDN+HCl)/(FSDN+HCl+almidón).

² Grasa animal incluida.

³ Desviación estándar residual.

⁴ A 42 días.

⁵ A 63 días.

^{a, b, c} Valores sin ningún superíndice común difieren significativamente ($P < 0,05$).

^z Efecto lineal de FFA ($P < 0,001$).

1.1.2 Mortalidad

La mortalidad registrada durante el cebo fue muy elevada (40,5%). La **Tabla 13** presenta el efecto de los factores dietarios sobre la mortalidad en los periodos postdestete y de acabado, así como en el conjunto del cebo.

La mortalidad en el periodo postdestete (28-42 días de vida, piensos experimentales) disminuyó linealmente al aumentar la *ratio* FFA y fue mayor al aumentar el nivel de grasa animal incluida.

En el periodo de acabado (42-63 días de vida, pienso comercial de retirada) se observaron los efectos contrarios, ya que mortalidad aumentó linealmente al aumentar la *ratio* FFA del pienso consumido previamente y fue menor al aumentar el nivel de grasa animal incluida del pienso consumido previamente.

Al considerar el conjunto del cebo, se mantuvo la reducción lineal de la mortalidad al aumentar la *ratio* FFA del pienso consumido en peridestete, aunque atenuada y desapareció el efecto del nivel de grasa incluida.

Tabla 13. Mortalidad (%) durante el cebo según la ratio FFA y el nivel de grasa animal incluida en los piensos.

	FFA ¹					G ²		P		
	0,57	0,64	0,71	0,78	0,85	3%	6%	FFA	G	FFA*G
Número animales ³	791	792	795	795	798	1983	1988			
28-42 días (piensos experimentales)	34,9 ^a	27,9 ^b	23,3 ^c	17,9 ^d	12,8 ^e	20,5	24,5	<0,001 ^x	0,003	0,107
42-63 días (pienso comercial retirada)	14,2 ^c	23,0 ^{ab}	19,6 ^b	24,0 ^{ab}	25,2 ^a	23,2	18,7	<0,001 ^y	0,004	0,143
28-63 días	45,6 ^a	45,1 ^a	39,1 ^b	37,8 ^b	34,9 ^b	40,3	40,6	<0,001 ^z	0,853	0,080

¹ Ratio (FSDN+HCi)/(FSDN+HCi+almidón).

² Grasa animal incluida.

³ A 28 días.

a, b, c, d, e Valores sin ningún superíndice común difieren significativamente ($P < 0,05$).

^x Efecto lineal de FFA ($P < 0,001$).

^y Efecto lineal de FFA ($P < 0,001$).

^z Efecto lineal de FFA ($P < 0,001$).

La **Figura 28** examina con más detalle la evolución de la mortalidad durante el cebo, por periodos de tres días, se observa que la mortalidad hasta los 45 días de vida, tres días después del cambio al pienso de retirada, fue menor con piensos de peridestete cuya ratio FFA era alta (0,85 y 0,78) que con aquéllos cuya ratio FFA era baja (0,57 y 0,64) y que la situación se invirtió a partir de entonces y hasta los 57 días de vida, con mortalidades siempre intermedias cuando la *ratio* FFA era intermedia (0,71).

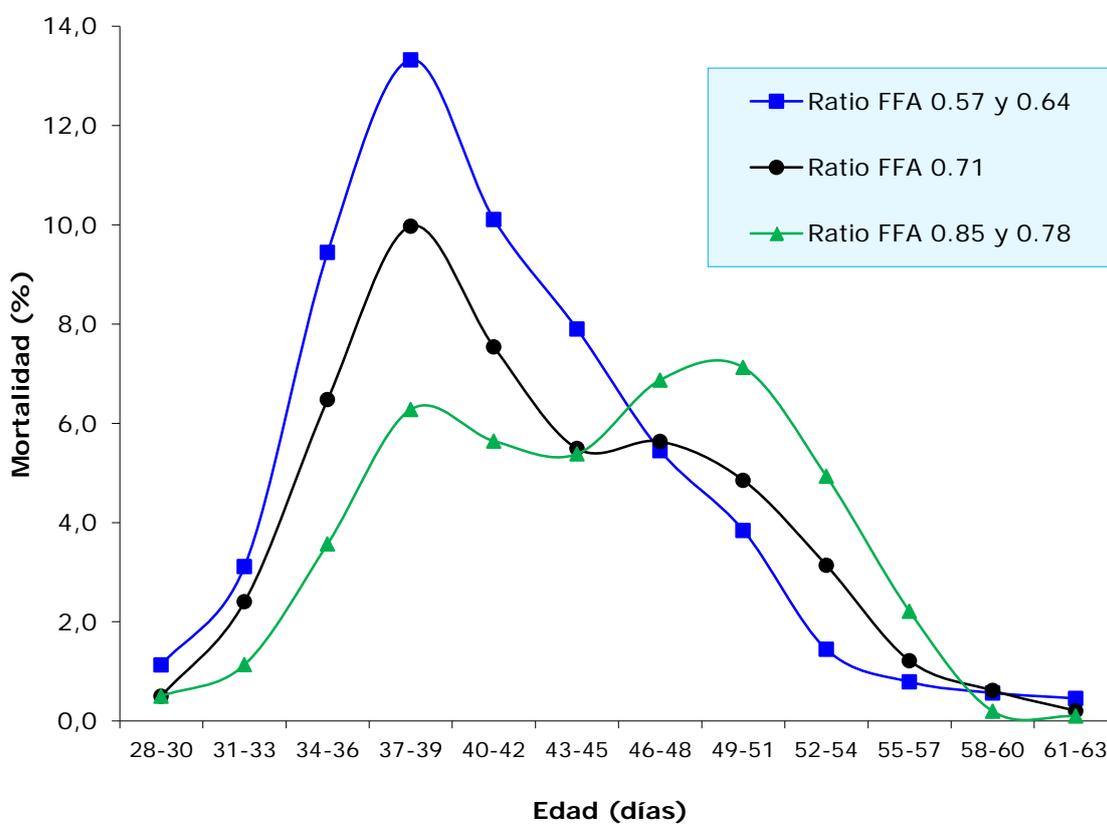


Figura 28. Evolución de la mortalidad durante el cebo en función de la ratio FFA (fibras fermentables/[fibras fermentables + almidón]).

2. EXPERIMENTO 2: EFECTO SOBRE EL DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL, LA MORFOMETRÍA DE LA MUCOSA YEYUNAL, LA DIGESTIBILIDAD ILEAL APARENTE Y EL AMBIENTE CECAL EN CONEJOS EN CRECIMIENTO

2.1. DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

La **Tabla 14** presenta los efectos del pienso y de la edad sobre el peso de los principales compartimentos digestivos y de sus contenidos (expresados como % del peso vivo).

Los pesos del estómago y del contenido gástrico fueron muy similares para los dos niveles de grasa animal incluida (E3 y E6) pero fueron mayores al aumentar la *ratio* FFA (E3/2+E6/2-A3: $0,21\pm 0,02\%$ y $0,63\pm 0,15\%$, $P<0,001$, respectivamente). No obstante, se detectó un efecto de la interacción entre pienso y edad en ambas variables, que se ilustra en la **Figura 29**. El peso del estómago aumentó entre los 22 y 29 días de vida y disminuyó en las dos semanas postdestete con los tres piensos, pero las diferencias en función de la *ratio* FFA fueron ampliándose con la edad, si bien ya eran detectables a los 22 días de vida (E3/2+E6/2-A3: $0,10\pm 0,04\%$, $P=0,023$). El peso del contenido gástrico con los piensos con *ratio* FFA=0,86 aumentó entre los 22 y 29 días de vida y varió poco en las dos semanas postdestete, mientras que con el pienso con *ratio* FFA=0,60 apenas varió entre los 22 y 29 días de vida y disminuyó en las dos semanas postdestete, de forma que las diferencias en función de la *ratio* FFA fueron detectables a los 29 días de vida (E3/2+E6/2-A3: $0,48\pm 0,22\%$, $P=0,031$) y también fueron ampliándose con la edad.

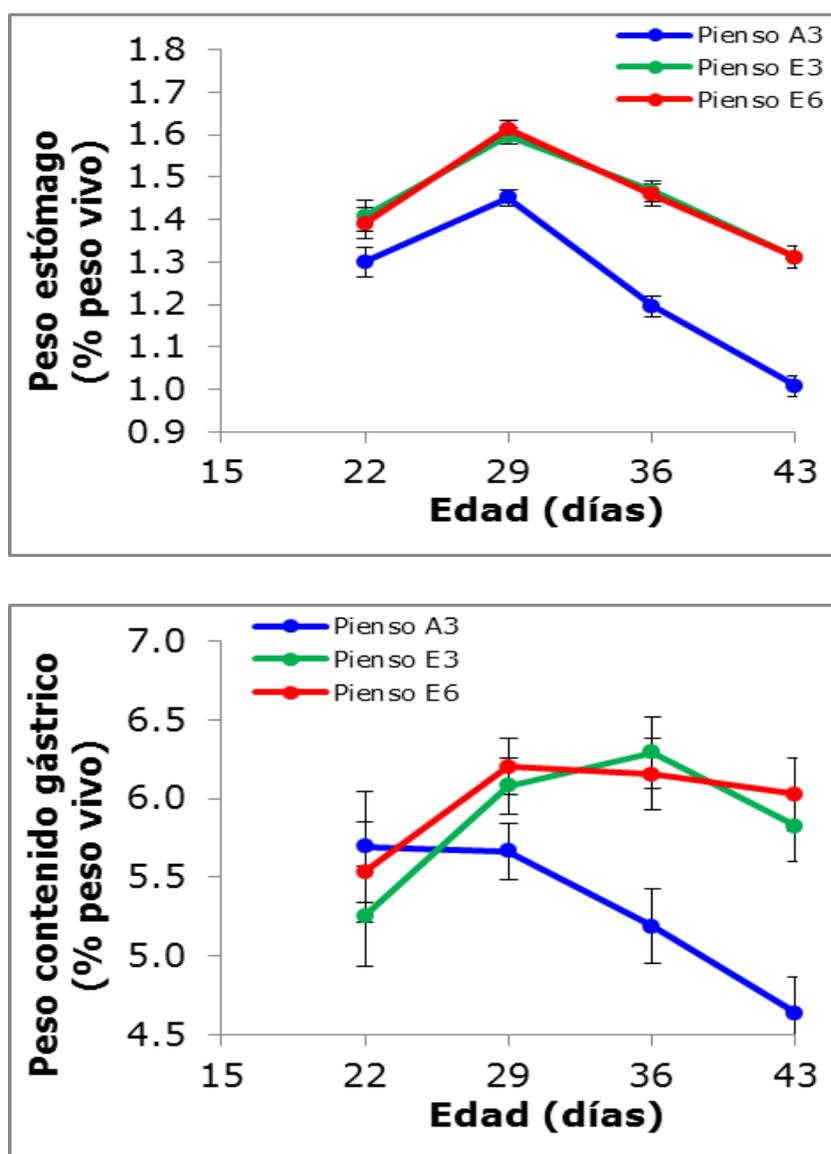


Figura 29. Peso del estómago y del contenido gástrico según el pienso y la edad.

Los pesos del ciego y del contenido cecal tampoco dependieron del nivel de grasa animal incluida y también fueron mayores al aumentar la *ratio* FFA (E3/2+E6/2-A3: $0,10 \pm 0,03\%$ y $0,59 \pm 0,17\%$, $P < 0,001$, respectivamente). Se detectó un efecto de la interacción entre pienso y edad en el peso del ciego, presentada en la **Figura 30**, ya que las diferencias en función de la *ratio* FFA solo se observaron a los 36 y 43 días de vida (E3/2+E6/2-A3: $0,17 \pm 0,04\%$, $P < 0,001$).

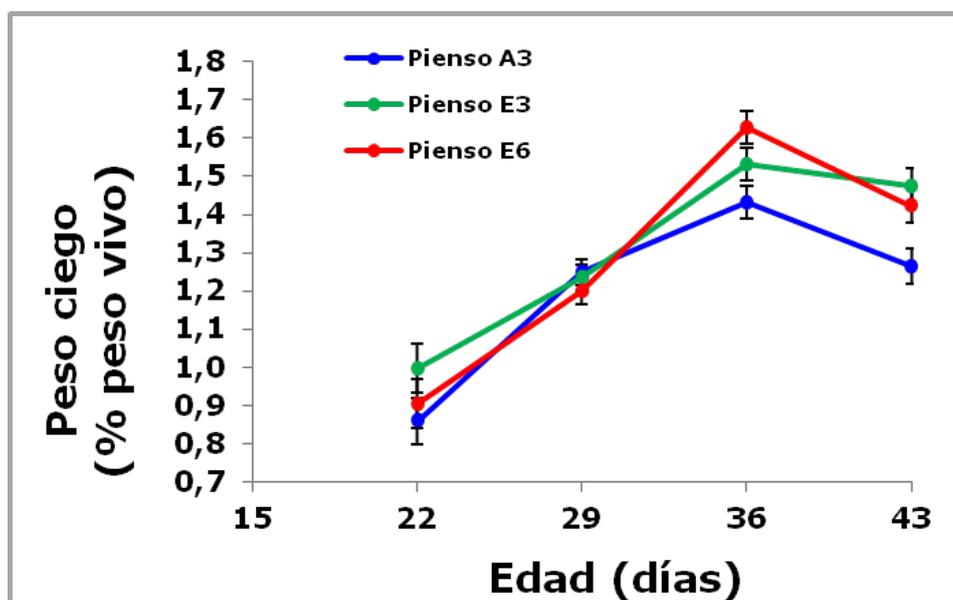


Figura 30. Peso del ciego según el pienso y la edad.

Lógicamente, el peso conjunto de ambos compartimentos digestivos y sus contenidos tampoco varió con el nivel de grasa animal incluida y también fue mayor al aumentar la *ratio* FFA (E3/2+E6/2-A3: $1,5 \pm 0,3\%$, $P < 0,001$).

El peso del intestino delgado no se vio afectado por el pienso. Se observó un aumento del mismo en la semana postdestete.

2.2. MORFOMETRÍA DE LA MUCOSA YEYUNAL

La **Tabla 15** muestra los resultados obtenidos en el estudio de la morfometría de la mucosa yeyunal. El pienso no tuvo efecto sobre la altura de las vellosidades, la profundidad de las criptas y la *ratio* entre ambas medidas, que sí variaron en función de la edad. Se observó un acortamiento de las vellosidades entre los 22 y 29 días de vida y un aumento de su altura entre los 36 y 43 días de vida. También se observó un aumento de la profundidad de las criptas de Lieberkühn entre los 22 y 36 días de vida. Por último, la *ratio* entre ambas medidas fue máxima a los 22 días de vida, disminuyendo entre los 22 y 36 días de vida y aumentando entre los 36 y 43 días de vida.

Tabla 14. Desarrollo del tracto gastrointestinal (% peso vivo) según el pienso y la edad.

	PIENSO			EDAD (días)				DER ¹	P		
	A3	E3	E6	22	29	36	43		PIENSO	EDAD	PIENSO*EDAD
Número animales	100	98	98	34	120	72	70				
Peso vivo (g)	845	816	825	400 ^d	581 ^c	1002 ^b	1333 ^a	121	0,289	<0,001	0,863
Peso estómago	1,24 ^b	1,45 ^a	1,44 ^a	1,37 ^b	1,55 ^a	1,37 ^b	1,21 ^c	0,12	<0,001	<0,001	<0,001
Peso contenido gástrico	5,30 ^b	5,86 ^a	5,98 ^a	5,49 ^b	5,98 ^a	5,88 ^{ab}	5,50 ^b	1,11	<0,001	0,011	0,041
Peso intestino delgado	2,83	2,83	2,90	2,48 ^b	2,52 ^b	3,23 ^a	3,18 ^a	0,39	0,468	<0,001	0,532
Peso ciego	1,20 ^b	1,31 ^a	1,29 ^a	0,92 ^d	1,23 ^c	1,53 ^a	1,39 ^b	0,21	0,003	<0,001	0,010
Peso contenido cecal	5,43 ^b	6,18 ^a	5,86 ^a	2,46 ^c	5,65 ^b	7,68 ^a	7,49 ^a	1,25	<0,001	<0,001	0,222
Peso contenidos gástrico+cecal	10,7 ^b	12,0 ^a	11,8 ^a	8,0 ^c	11,6 ^b	13,6 ^a	13,0 ^a	1,7	<0,001	<0,001	0,266
Peso compartimentos ²	13,2 ^b	14,8 ^a	14,6 ^a	10,2 ^d	14,4 ^c	16,5 ^a	15,6 ^b	1,8	<0,001	<0,001	0,129

¹ Desviación estándar residual.

² Estómago+contenido gástrico+ciego+contenido cecal.

a, b, c, d Valores sin ningún superíndice común difieren significativamente ($P < 0,05$).

Tabla 15. Morfometría de la mucosa yeyunal (μm) según el pienso y la edad.

	PIENSO			EDAD (días)				DER ¹	P		
	A3	E3	E6	22	29	36	43		PIENSO	EDAD	PIENSO*EDAD
Número animales	29	32	32	24	23	24	22				
Altura vellosidades	453	456	440	482 ^a	393 ^b	394 ^b	529 ^a	99	0,780	<0,001	0,998
Profundidad criptas Lieberkühn	114	114	113	90 ^c	107 ^b	126 ^a	131 ^a	18	0,991	<0,001	0,060
<i>Ratio</i> altura/profundidad	4,29	4,21	4,03	5,55 ^a	3,77 ^{bc}	3,26 ^c	4,12 ^b	1,25	0,697	<0,001	0,510

¹ Desviación estándar residual.

a, b, c Valores sin ningún superíndice común difieren significativamente ($P < 0,05$).

2.3. DIGESTIBILIDAD ILEAL APARENTE

Los resultados relativos a la digestibilidad ileal aparente (DII) de los nutrientes se presentan en la **Tabla 16**.

La DII de la MS fue muy similar para los dos niveles de grasa animal incluida y disminuyó al aumentar la *ratio* FFA (E3/2+E6/2-A3: $-9,4 \pm 1,8\%$, $P < 0,001$). Por otro lado, fue mayor a los 43 que a los 36 días de vida.

No se encontró efecto del pienso sobre la DII de la FND, la FAD, la LAD y la celulosa, que sí variaron con la edad. La DII de la FND, la FAD y la celulosa aumentaron entre los 36 y 43 días de vida mientras que con la DII de la LAD, afectada de gran variabilidad residual (CV=-1162%) se observó el efecto contrario.

La DII de las HCl y la FSDN variaron con el pienso, aumentando al aumentar la *ratio* FFA (A3 vs. E3) y disminuyendo al aumentar el nivel de grasa animal incluida (E3 vs. E6). Por otro lado, la DII de las HCl aumentó entre los 36 y 43 días de vida.

La DII del almidón fue similar para los dos niveles de grasa animal incluida y aumentó al aumentar la *ratio* FFA (E3/2+E6/2-A3: $5,3 \pm 0,9\%$, $P < 0,001$). Por otro lado, fue mayor a los 43 que a los 36 días de vida. No obstante, se detectó un efecto de la interacción entre pienso y edad sobre esta variable, ilustrado en la **Figura 31**, ya que la diferencia debida al aumento de la *ratio* FFA se registró solo a los 36 días de vida (E3/2+E6/2-A3: $9,6 \pm 1,2\%$, $P < 0,001$) y la debida a la edad sólo se observó con el pienso A3 ($87,0 \pm 0,9\%$ vs. $95,8 \pm 1,1\%$, $P < 0,001$, a los 36 y 43 días de vida respectivamente).

No se encontró efecto del pienso o la edad sobre la DII de la PB.

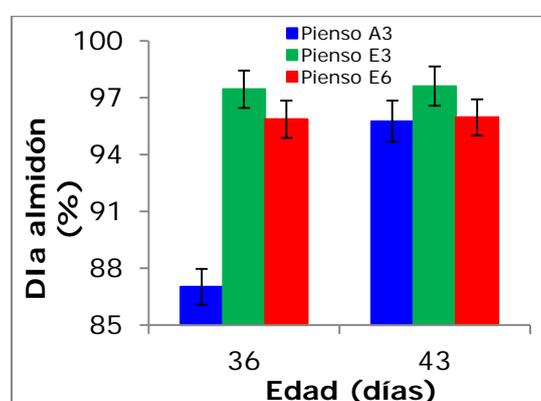


Figura 31. Digestibilidad ileal aparente del almidón (%) según el pienso y la edad.

Tabla 16. Digestibilidad ileal aparente (%) según el pienso y la edad.

	PIENSO			EDAD (días)		DER ¹	<i>P</i>		
	A3	E3	E6	36	43		PIENSO	EDAD	PIENSO*EDAD
Número muestras ²	23 (16)	22 (11)	23 (12)	34 (17)	34 (22)				
MS	30,0 ^a	21,2 ^b	20,0 ^b	21,5	25,9	6,8	<0,001	0,009	0,686
PB	34,5	38,6	33,4	32,9	38,1	19,4	0,677	0,295	0,958
FND	12,4	15,4	12,8	10,9	16,1	7,2	0,331	0,004	0,774
FAD	14,9	9,8	12,6	10,2	14,6	8,0	0,111	0,026	0,950
LAD	-3,7	1,9	-4,4	4,8	-9,0	24,4	0,661	0,025	0,482
HCI	8,8 ^b	24,0 ^a	13,1 ^b	11,0	19,6	10,1	<0,001	0,001	0,824
Celulosa	19,0	14,4	16,2	12,6	20,4	11,4	0,405	0,007	0,799
FSDN	2,9 ^b	15,8 ^a	7,2 ^b	6,6	10,7	8,5	0,002	0,151	0,202
Almidón	91,4 ^b	97,5 ^a	95,9 ^a	93,4	96,4	3,3	<0,001	<0,001	<0,001

¹ Desviación estándar residual.

² Entre paréntesis, número de muestras para la digestibilidad ileal aparente de FSDN.

^{a, b} Valores sin ningún superíndice común difieren significativamente ($P < 0,05$).

2.4. AMBIENTE CECAL

Los resultados relativos a los diferentes parámetros valorados en el contenido cecal se recogen en la **Tabla 17**.

La MS fue muy similar para los dos niveles de grasa animal incluida (E3 y E6) pero disminuyó al aumentar la *ratio* FFA (E3/2+E6/2-A3: $-2,7 \pm 0,3\%$, $P < 0,001$); por otro lado, disminuyó entre los 29 y 36 días de vida. El pH fue muy similar con los tres piensos y también disminuyó entre los 29 y 36 días de vida.

No se encontró efecto del nivel de grasa incluida sobre la concentración de AGVs totales y sus proporciones molares. Por el contrario, el aumento de la *ratio* FFA elevó la concentración de AGV totales (E3/2+E6/2-A3: $14,5 \pm 3,7$ mmol/L, $P < 0,001$) y modificó sus proporciones molares, con aumento del butírico a costa del acético (A3 vs. E3, con valores intermedios para E6). Por otro lado, la concentración de AGV totales aumentó entre los 29 y 43 días de vida, con descenso del propiónico en favor principalmente del butírico, y reducción de la *ratio* propiónico/butírico, particularmente entre los 29 y 36 días de vida.

Tampoco se encontró efecto del nivel de grasa incluida sobre la concentración de NH_3 , que sin embargo disminuyó al aumentar la *ratio* FFA (E3/2+E6/2-A3: $-2,6 \pm 0,7$ mmol/L, $P < 0,001$). Por otro lado, se observó un aumento entre los 29 y 36 días de vida.

No se encontró efecto del pienso o la edad sobre las actividades celulolítica y xilanolítica.

Tabla 17. Composición, pH y actividades enzimáticas microbianas del contenido cecal (29-43 días de vida) según el tipo de pienso y la edad.

	PIENSO			EDAD (días)			DER ¹	P		
	A3	E3	E6	29	36	43		PIENSO	EDAD	PIENSO*EDAD
Número animales ²	84 (57)	81 (56)	80 (64)	107 (56)	68 (65)	70 (56)				
MS (%)	22,7 ^a	19,8 ^b	20,1 ^b	21,4 ^a	20,7 ^b	20,5 ^b	1,9	<0,001	0,002	0,338
pH	5,71	5,68	5,70	5,78 ^a	5,66 ^b	5,65 ^b	0,19	0,596	<0,001	0,473
AGVs totales (mmol/L)	82,9 ^b	100,8 ^a	94,6 ^a	85,4 ^b	92,5 ^{ab}	100,4 ^a	26,2	<0,001	0,002	0,879
Acético (mol/100 mol)	83,6 ^a	82,4 ^b	83,5 ^{ab}	82,9	83,1	83,5	3,4	0,071	0,564	0,509
Propiónico (mol/100 mol)	4,7	4,5	4,2	5,5 ^a	4,4 ^b	3,5 ^c	1,7	0,346	<0,001	0,570
Butírico (mol/100 mol)	11,3 ^b	12,7 ^a	12,0 ^{ab}	11,0 ^b	12,2 ^a	12,7 ^a	3,1	0,029	0,002	0,502
Ratio propiónico/butírico	0,447	0,413	0,394	0,572 ^a	0,386 ^b	0,297 ^b	0,293	0,535	<0,001	0,793
NH ₃	17,5 ^a	15,5 ^b	14,2 ^b	13,9 ^b	16,5 ^a	16,8 ^a	4,6	<0,001	<0,001	0,792
Celulasa (μmol glucosa/h y g MS)	804	956	807	915	792	860	465	0,138	0,339	0,058
Xilanasas (μmol xilosa/h y g MS)	757	810	815	850	778	755	335	0,597	0,299	0,083

¹ Desviación estándar residual.

² Entre paréntesis, número de animales para las actividades enzimáticas microbianas.

^{a, b, c} Valores sin ningún superíndice común difieren significativamente ($P < 0,05$).

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

1. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE FIBRA FERMENTABLE EN SUSTITUCIÓN DE ALMIDÓN

En el presente estudio se varió gradualmente la *ratio* FFA del pienso de peridestete, desde 0,57 hasta 0,85, mediante la incorporación progresiva de fibra fermentable, constituida por FSDN y HCl, en sustitución de almidón. La variación del contenido en fibra fermentable y almidón entre los piensos extremos fue respectivamente +136 y -127 g/kg MS en el caso de los piensos con 3% de grasa animal (A3 vs. E3) y +108 y -106 g/kg MS en el caso de los piensos con 6% de grasa animal (A6 vs. E6); la contribución de FSDN y HCl al aumento de fibra fermentable fue respectivamente del 73% y del 27% en el primer caso y de 63% y 37% en el segundo. Por otro lado, los piensos eran isofibrosos en términos de FAD (218 g/kg MS) y de LAD (55 g/kg MS) e isoproteicos en términos de PB (177 g/kg MS).

La **Tabla 18** resume los principales resultados obtenidos en los distintos trabajos que han estudiado los efectos del aumento de fibra fermentable en sustitución de almidón en conejos en crecimiento. Tanto en los trabajos de Martínez-Vallespín *et al.* (2011b y 2013) y Pascual *et al.* (2014) como en el presente trabajo se utilizaron piensos peridestete, consumidos desde el inicio de la ingestión sólida (17 días) hasta 2-3 semanas después del destete, en alimentación conjunta de camadas y conejas hasta el destete (Martínez-Vallespín *et al.*, 2011b y 2013) o en alimentación diferenciada de camadas y conejas desde los 17 días de vida (Pascual *et al.*, 2014; presente trabajo). Además, se utilizó la FSDN como criterio analítico para valorar los constituyentes fibrosos solubles, lo que contribuiría a que sus resultados fueran concluyentes. En general, hay mayor discrepancia con los restantes trabajos, en que los animales consumieron los piensos experimentales solo a partir del destete y se utilizaron otros criterios analíticos para valorar los constituyentes fibrosos solubles, con independencia de otros factores que también ayudan a explicar las diferencias y que se discuten más adelante.

1.1. RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS (INGESTIÓN DE PIENSO, GANANCIA DE PESO E ÍNDICE DE CONVERSIÓN) Y DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

Se sabe que la ingestión de pienso tiene un patrón de regulación basado fundamentalmente en el contenido dietario de ED, de manera que en general varían de forma inversa y proporcional, aunque tal patrón tiene poca validez en el caso de gazapos lactantes (Fortun-Lamothe *et al.*, 2001; Debray *et al.*, 2002; Gidenne *et al.*, 2004b; Xiccato y Trocino, 2010). Por otro lado, Gidenne *et al.* (1998b) sugieren que los constituyentes fibrosos solubles (pectinas, pentosanas y β -glucanos), con elevada capacidad para retener agua y formar geles en solución, podrían aumentar el peso del contenido gástrico y cecal, afectando negativamente a la ingestión de pienso.

En el presente trabajo, el aumento de la *ratio* FFA afectó de forma negativa y lineal a la ingestión de pienso de los gazapos antes del destete; este efecto se manifiesta de forma precoz y ya es detectable en los 4 primeros días de ingestión sólida, siendo muy evidente en la semana previa al destete. El peso de las camadas al destete también se redujo de forma lineal, como consecuencia directa de la menor ingestión de pienso y de nutrientes a través del pienso, ya que la disponibilidad de leche fue similar en todos los casos. Estos efectos de la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón han sido registrados en otros estudios, tanto en alimentación diferenciada de camadas y conejas desde los 17 días de vida (Pascual *et al.*, 2014) como en alimentación conjunta de camadas y conejas hasta el destete, aunque en este caso también redujo la producción lechera de las conejas (Martínez-Vallespín *et al.*, 2011a). El efecto negativo sobre el desarrollo de los gazapos lactantes sería en realidad algo más intenso de lo que indica la caída del peso al destete, ya que el peso del contenido de los principales compartimentos digestivos (estómago y ciego) al día siguiente del destete fue mayor al aumentar la *ratio* FFA (E3/2+E6/2-A3: $6,5 \pm 3,0$ g, $P=0,032$).

El efecto negativo y lineal del aumento de la *ratio* FFA sobre la ingestión de pienso, aunque atenuado, perduró en las dos semanas siguientes al destete pero no tuvo consecuencias en la ganancia de peso vivo durante este periodo, lo que originó una mejora lineal del índice de conversión; no obstante, debe considerarse que parte de esta mejora está relacionada con el mayor aumento del peso del contenido gástrico y cecal durante este periodo, estimándose que tal peso aumentó 11g más con *ratio* FFA=0,85 que con *ratio* FFA=0,57. Estos resultados corroboran los obtenidos en otros estudios sobre el efecto de la inclusión de fibra fermentable a costa del almidón en el postdestete

siempre y cuando el pienso tenga un contenido proteico adecuado (Martínez-Vallespín *et al.*, 2011a; El Abed *et al.*, 2012; Pascual *et al.*, 2014), por debajo del cual este cambio dietario penaliza la ganancia de peso vivo y reduce la mejora del índice de conversión (Martínez-Vallespín *et al.* (2011b).

En el presente estudio no se determinó experimentalmente el contenido en ED de los piensos y los valores calculados según tablas de referencia en composición de alimentos disminuyeron ligeramente (-2,2%) a pesar del notable aumento del contenido en fibra fermentable a costa del almidón. En la misma línea, Rodríguez-Romero *et al.* (2011) encontraron que la digestibilidad fecal tanto de MS como de MO permaneció prácticamente constante al inducir un cambio dietario de la misma naturaleza que el del presente trabajo pero de menor magnitud (+41g fibra fermentable/kg MS, 78% FSDN y 22% HCl; -40g almidón/kg MS).

Por otro lado, el cambio dietario aumentó el peso del contenido gástrico (E3/2+E6/2-A3: $9,19 \pm 1,55$ g, $P < 0,001$) y, en menor medida, el peso del contenido cecal (E3/2+E6/2-A3: $4,18 \pm 1,66$ g, $P = 0,012$) en animales de 29 a 43 días de vida, aunque el estímulo sobre el desarrollo del estómago se detectó incluso más precozmente (ya a los 22 días de vida), mientras que el estímulo sobre el desarrollo del ciego solo se detectó desde los 36 días de vida. El aumento del contenido gástrico asociado a una reducción de la ingestión de pienso puede interpretarse como el resultado de un incremento del tiempo de retención en este compartimento; esta asociación no fue observada por El Abed *et al.* (2012) en animales de 35 días, aunque sí por Abad (2011) en animales a final de cebo alimentados con los mismos piensos. En el caso del ciego, sin embargo, debe tenerse en cuenta que el flujo ileal de MS calculado a partir de la ingestión registrada durante la 6ª semana de vida en el Experimento 1 y la DfA de la MS obtenida en el Experimento 2 fue algo mayor al aumentar la *ratio* FFA (65 y 68 g/día para *ratio* FFA=0,57 y *ratio* FFA=0,86, respectivamente) y que las diferencias en el peso del contenido cecal cambiaron de signo cuando se expresó en MS (E3/2+E6/2-A3: $-0,79 \pm 0,39$ g, $P = 0,042$), por lo que no se puede inferir que el cambio dietario afectase al tiempo de retención cecal de la digesta. No obstante, el aumento del peso del ciego con su contenido ha sido observado también en otros estudios, tanto en postdestete como a final de cebo (Abad, 2011; El Abed *et al.*, 2012; Martínez-Vallespín *et al.*, 2013; Pascual *et al.*, 2014).

Trocino *et al.* (2013a) también encontraron una reducción de la ingestión de pienso pero con aumento de la ganancia de peso vivo, sin cambios en el peso del estómago con su contenido y con aumento del peso del ciego, si bien en este caso el aumento de FS en

detrimento del almidón se acompañó de un descenso simultáneo de HCl y LAD, así como de un aumento en el contenido de ED del pienso; además, a diferencia de los estudios anteriormente mencionados, los animales fueron sacrificados por la mañana, lo que probablemente influyó sobre el peso del contenido gástrico, ya que está bien establecido que durante tal periodo la ingestión de pienso es claramente más baja que durante la tarde y la noche.

Por el contrario, Xiccato *et al.* (2011) observaron que un importante aumento de fibra fermentable (86% como FS y 14% como HCl) a costa del almidón no modificó la ingestión de pienso, la ganancia de peso vivo, el índice de conversión o el peso del estómago y del ciego (en animales sacrificados por la mañana), si bien en este caso hubo un aumento simultáneo del contenido en FAD y no se modificó el contenido en ED del pienso.

Tabla 18. Efecto de la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón sobre los rendimientos productivos y el ambiente cecal de gazapos en postdestete.

Referencia	CAMBIO DIETARIO ¹ (g/kg MS)									Edad (días)	RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS ²						AMBIENTE CECAL ³						
	LAD	CEL	FAD	HCI	FND	PECi	FS	FSDN	AL		ED	IP	GMD	IC	Mor	PEII	PCII	AGVt	Ac	Pr	Bu	NH ₃	pH
Gidenne y Jehl (1996), Jehl y Gidenne (1996)	-4	+12	+8	+48	+56	+60 ^a			-129	-2,9%	32-49	+6,7%	+3,1%	≈	↓		↑	≈	≈	≈	≈	≈	≈
Gidenne y Perez (2000), Perez <i>et al.</i> (2000)																							
Gidenne y Bellier (2000)	-13	+27	+14	+27	+41	+52 ^a			-105	-3,6%	28-45	+23%	+23%	≈			↑	↑	≈	↓	≈	↓	
Gidenne <i>et al.</i> (2004c)	0	+2	+2	+29	+31	+28 ^b			-80	-5,5%	32-49	+3,6%	-2,2%	+4,2%	≈								
Xiccato <i>et al.</i> (2008)	-2	+17	+15	+22	+37	+71 ^c			-104		25-70	+5,6%	≈	+3,1%	↓		↑	↑	≈	↓	≈	≈	
Xiccato <i>et al.</i> (2011)	-1	+16	+15	+16	+31		+98		-131	≈	33-54	≈	≈	≈	↓ ^h	≈	↑	↑	≈	↓	↓	≈	
El Abed <i>et al.</i> (2012)	-5	+9	+4	+2	+6		+52		-93		25-35	-8,8%	≈	-12%	≈	≈	↑					↓	
Castillo (2013)	-2	+9	+7	+7	+14		+30		-32		25-35	+12%	+5,8%	≈	↓	≈	≈	≈	≈	≈	≈	≈	↓
											35-46	≈	≈	≈	≈	≈	↑						↓
Grueso <i>et al.</i> (2013)	-8	+3	-5	-10	-15		+48		-56	+4,4%	35-64	+5,6%	≈	≈	↓								
Trocino <i>et al.</i> (2013a)	-8	-1	-9	-18	-27		+64		-54	+7,5%	29-50	-7,6%	+3,8%	-11%	≈	≈	↑	↑	≈	≈	≈	↓	↓
Martínez-Vallespín <i>et al.</i> (2011a y 2013)	+3	+4	+7	+10	+17			+39	-50		28-49	-6,7% ^d	≈ ^g	-5,0%	↓		↑	↑	↓	≈	↑	↓	≈ ^j
Pascual <i>et al.</i> (2014)	+10	-8	+2	+4	+6			+66	-77		28-42	-6,4% ^e	≈	-12%	≈ ⁱ		↑						
Presente trabajo	+2	-3	-1	+38	+37			+84	-117		28-42	-8,1% ^f	≈	-8,4%	↓	↑	↑	↑	↓	≈	↑	↓	≈

¹ CEL: celulosa, PECi: pectinas insolubles, AL: almidón

² IP: ingestión pienso, Mor: mortalidad, PEII: peso estómago lleno, PCII: peso ciego lleno

³ Ac: acético, Pr: propiónico, Bu: butírico

^a Calculado según IO7 (1993); ^b Calculado según Brillouet *et al.* (1988), Colonna *et al.* (1995), IO7 (1993), Gidenne (2003); ^c Calculado según Maertens *et al.* (2002)

^d -19% en predestete; ^e -27% en predestete; ^f -29% en predestete

^g Con PB=175 g/kg MS, disminuye si PB=145 g/kg MS

^h Con PB=180 g/kg MS, sin efecto si PB=169 g/kg MS

ⁱ El pienso de referencia contenía bacitracina de zinc

^j Si FAD=230 g/kg MS, disminuye si FAD=290 g/kg MS

En el resto de los estudios mostrados en la **Tabla 18**, la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón se asoció a un aumento de la ingestión de pienso, con resultados variables en ganancia de peso vivo e índice de conversión. No obstante, en la mayoría de tales estudios, se señala que los efectos sobre los rendimientos durante el postdestete o el conjunto del cebo fueron en realidad consecuencia del mejor estado sanitario inducido por la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón, que redujo la mortalidad, ya que no se excluyeron los datos de los animales mórbidos, es decir, enfermos o con ganancias de peso anómalamente bajas (Pérez *et al.*, 2000; Xiccato *et al.*, 2008; Castillo, 2013; Grueso *et al.*, 2013); de hecho, Castillo (2013) observó que, en ausencia de mortalidad y morbilidad, el aumento de FS y H_{Ci} en detrimento del almidón, de considerable menor magnitud que el cambio dietario inducido en el presente trabajo y acompañado de un ligero aumento de FAD, no afectó a la ingestión de pienso, la ganancia de peso vivo y el índice de conversión, sin cambios en el peso de estómago lleno y con aumento en el del ciego. No obstante, también debe considerarse la posible interferencia de otros cambios dietarios simultáneos, como diferencias en la naturaleza de la fibra fermentable (mayor contribución de H_{Ci}, del 44%) y ligero aumento en FAD, que podrían explicar una disminución del contenido en ED del pienso y un tránsito digestivo más rápido (Gidenne y Perez, 2000; Perez *et al.*, 2000) o un aumento de FAD (Xiccato *et al.*, 2008).

Sin embargo, Gidenne *et al.* (2004c) observaron un aumento de la ingestión de pienso, con reducción de la ganancia de peso vivo y empeoramiento del índice de conversión al incluir fibra fermentable en detrimento del almidón, en un experimento a gran escala en distintas granjas experimentales en el que no detectaron diferencias de mortalidad, aunque no discriminaron los resultados en función de la mortalidad registrada, que varió ampliamente entre las granjas experimentales; además, la contribución de las H_{Ci} al aumento de la fibra fermentable fue más elevada (51%), lo que podría explicar el menor contenido en ED del pienso.

Por último, Gidenne y Bellier (2000) registraron importantes mejoras de la ingestión de pienso y de la ganancia de peso vivo, sin cambios en el índice de conversión, aunque este fue un experimento a pequeña escala y con aumento simultáneo del contenido en FAD, que explicaría el descenso del contenido en ED del pienso y un tránsito digestivo más rápido de la fase sólida, particularmente en el tramo ceco-cólico, sobre todo teniendo en cuenta que el pienso de referencia tenía un contenido en FAD de 149 g/kg MS, claramente por debajo de las recomendaciones habituales, que establecen mínimos de 200-210 g/kg MS (De Blas y Mateos, 2010; Gidenne *et al.*, 2010b).

En resumen, la repercusión de la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón sobre el contenido en ED, el tránsito digestivo, la ingestión el pienso, la ganancia de peso vivo y el índice de conversión resulta de difícil interpretación, aunque dependería en gran medida de la diversidad metodológica para definir la fibra fermentable (FSDN, FS, pectinas insolubles, HCl) y de diferencias en la contribución de sus distintos componentes, así como de la magnitud de tal sustitución y de su grado de ajuste, es decir, del nivel de interferencia de variaciones colaterales simultáneas en los niveles de otros nutrientes (en particular, de FAD y LAD). También deben ser consideradas posibles interacciones entre nutrientes, así como cambios no controlados en los constituyentes, la estructura o las propiedades físico-químicas de las distintas fracciones fibrosas, muy dependientes de las materias primas utilizadas en la formulación de los piensos. En esa línea, resulta ilustrativo que aumentos de FS en detrimento de almidón tuvieron consecuencias diversas en la digestibilidad fecal de FS, que mejoró sustancialmente en algunos casos (Grueso *et al.*, 2013; Trocino *et al.*, 2013), pero no se modificó en otros casos (Abad, 2011; Xiccato *et al.*, 2011; Castillo, 2013). De forma análoga, cuando aumentó la fibra fermentable (FS y HCl o pectinas insolubles y HCl) la digestibilidad fecal de HCl aumentó en algunos casos (Gidenne y Pérez, 2000; Xiccato *et al.*, 2011) pero no varió en otros (Gidenne y Bellier, 2000; Gidenne *et al.*, 2004c).

No obstante, a la vista de los resultados recogidos en la **Tabla 18** y con todas estas consideraciones, puede postularse que la inclusión de fibra fermentable (como FSDN y HCl o como FS) en sustitución de almidón y sin variación en el contenido de FAD reduce la ingestión de pienso sin afectar a la ganancia de peso vivo, por lo que mejora el índice de conversión, aunque aumenta el peso de tracto gastrointestinal. Para obviar este último efecto, sería recomendable referir la expresión del crecimiento y de la eficiencia alimentaria a peso vivo vacío o peso canal.

Por otro lado, la ingestión de pienso, la ganancia de peso vivo y el índice de conversión durante el periodo de acabado, cuando todos los animales dispusieron del mismo pienso comercial de retirada, no dependió de la *ratio* FFA del pienso de peridestete, mientras que Martínez-Vallespín *et al.* (2011a) encontraron que tanto la ingestión de pienso como la ganancia de peso vivo fueron menores y que el índice de conversión no cambiaba al aumentar la FSDN y las HCl a costa del almidón en el pienso de peridestete. La discrepancia estaría relacionada con la duración tanto del periodo postdetete, menor en el presente trabajo (14 días vs. 21 días), como del periodo de acabado, mayor en el presente trabajo (21 días vs. 11 días), lo que favorecería la reversión de los efectos del pienso de peridestete sobre el desarrollo del tracto gastrointestinal y el peso de los contenidos digestivos.

1.2. MORTALIDAD

En el presente trabajo, se registró una elevada tasa de mortalidad durante el cebo, tanto en postdestete como en acabado, relacionada con el historial previo de EEC en la granja experimental y la ausencia de tratamiento antibiótico. En tales circunstancias, la mortalidad durante el cebo puede llegar al 60-70% (Pérez de Rozas *et al.*, 2005). No obstante, la mortalidad en el periodo postdestete disminuyó linealmente al aumentar la *ratio* FFA del pienso por inclusión de FSDN y HCl en sustitución de almidón. De hecho, este efecto fue también apreciable en el periodo predestete, incluso a pesar de que la mortalidad durante dicho periodo fue muy baja y las diferencias observadas poco relevantes, como consecuencia del tamaño muestral.

Este efecto positivo de la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón ha sido puesto de manifiesto en la mayor parte de los estudios que han abordado las consecuencias de este cambio dietario sobre la mortalidad de los conejos en crecimiento, tanto si se han realizado con piensos peridestete, a gran escala y con mortalidad elevada (Martínez-Vallespín *et al.*, 2011a) como si han sido ensayos de cebo en gazapos ya destetados tanto en experimentos a gran escala y con mortalidad baja (Perez *et al.*, 2000) o alta (Grueso *et al.*, 2013) como en experimentos a mediana escala y con mortalidad alta (Xiccato *et al.*, 2008 y 2011; Castillo, 2013). Además, Martínez-Vallespín *et al.* (2011a) observaron que este efecto se mantuvo con distintos niveles de FAD (230 y 290 g/kg MS) o de PB (175 y 145 g/kg MS), mientras que Xiccato *et al.* (2011) lo encontraron cuando el nivel de PB fue 180 g/kg MS pero no si era de 169 g/kg MS, ya que con este nivel de PB se registró una mortalidad baja. Sin embargo, este efecto favorable del aumento de fibra fermentable en sustitución de almidón no se ha observado en experimentos a mediana escala y con mortalidad baja o incluso nula (El Abed *et al.*, 2012; Trocino *et al.*, 2013a). Gidenne *et al.* (2004c) tampoco detectaron este efecto favorable en un estudio a gran escala en distintas granjas experimentales, aunque como ya se ha señalado no discriminaron los resultados en función de la mortalidad registrada, que varió ampliamente entre las granjas experimentales. Finalmente, Pascual *et al.* (2014) tampoco encontraron este efecto favorable en un estudio a mediana escala con mortalidad alta, si bien solo el pienso de referencia contenía bacitracina de zinc, lo que podría haber interferido en los resultados anulando posibles diferencias.

La inclusión de fibra FSDN y HCl en sustitución de almidón penalizó el crecimiento de los gazapos lactantes y redujo su peso al destete, lo que en general se asocia a mayor susceptibilidad y riesgo de enfermedades digestivas en postdestete (Morisse, 1987). Sin

embargo, este cambio dietario redujo la mortalidad por EEC, lo que *a priori* podría estar relacionado con una mejora de la función de barrera de la mucosa intestinal o/y, sobre todo, con la variación cuantitativa y cualitativa del sustrato para la actividad microbiana y, en consecuencia, con modificaciones en distintos parámetros del ambiente cecal que favorecieran la estabilidad del ecosistema microbiano del ciego. No obstante, parte de esta mejora de la salud digestiva se perdió en el periodo de acabado con un pienso comercial de retirada con *ratio* FFA intermedia (0,70), ya que la mortalidad aumentó con la *ratio* FFA del pienso consumido en peridestete. Este hecho guardaría relación con el impacto del cambio de pienso, presumiblemente más negativo al pasar de una *ratio* FFA alta (más favorable) a una intermedia que al pasar de una *ratio* FFA baja (menos favorable) a una intermedia. En esa línea, Pascual *et al.* (2014) también observaron un deterioro de la salud digestiva al cambiar a un pienso con una *ratio* FFA baja (0,59) en lugar de continuar con un pienso de peridestete con una *ratio* FFA alta (0,85).

1.3. PARÁMETROS DIGESTIVOS

Morfometría de la mucosa yeyunal

Para caracterizar la integridad de la mucosa intestinal y su función de barrera se valora la morfología de la misma (Van der Kils y Jansman, 2002), cuantificada habitualmente por la altura de las vellosidades, la profundidad de las criptas de Lieberkühn y la *ratio* entre ambas.

En el presente trabajo, la inclusión de FSDN y HCl en sustitución de almidón no afectó a la morfometría de la mucosa yeyunal de los gazapos en ninguna de las edades estudiadas (22, 29, 36 y 43 días de vida). Estos resultados son concordantes con los de otros estudios sobre el efecto de la inclusión de FS en detrimento de almidón en la morfología de la mucosa intestinal, que tampoco encontraron diferencias en ninguno de los tres parámetros morfométricos de la mucosa yeyunal de gazapos de 38 días de vida destetados desde los 29 días (Trocino *et al.*, 2013a), de la mucosa ileal de gazapos de 43 días de vida destetados desde los 25 días (Xiccato *et al.*, 2008) y de ambas mucosas de gazapos de 55 días de vida destetados desde los 33 días (Xiccato *et al.*, 2011).

Por el contrario, en otros casos se ha observado que la inclusión de FS a costa de almidón aumenta la *ratio* altura de vellosidades/profundidad de criptas de la mucosa yeyunal un 77% en gazapos de 35 días de vida destetados desde los 25 días (El Abed *et al.*,

2002) o un 32% en gazapos de 35 y 46 días de vida destetados desde los 25 y 35 días de vida, respectivamente, por aumento de la altura de las vellosidades (Castillo, 2013).

Aunque se ha sugerido que la discrepancia podría deberse a un efecto de la edad o del tiempo transcurrido desde el destete, así como del segmento de intestino delgado utilizado (Trocino *et al.*, 2013a y 2013b), caben otras hipótesis para explicarla. La adición de fibra soluble al pienso de lechones suele originar un aumento de la viscosidad intestinal, que puede provocar atrofia de las vellosidades, si bien el incremento de la viscosidad intestinal hasta cierto umbral podría tener un efecto beneficioso y aumentar la altura de las vellosidades (Bach-Knudsen *et al.*, 2008). Por otro lado, la respuesta podría depender de la naturaleza del nutriente responsable del aumento de la viscosidad, ya que la *ratio* altura de vellosidades/profundidad de criptas en lechones disminuyó cuando se utilizó carboximetilcelulosa de alta viscosidad y no se alteró cuando se utilizó carboximetilcelulosa de baja viscosidad o pectinas (McDonald *et al.*, 2001; Hedemann *et al.*, 2006). Asimismo, como se ha indicado para los rendimientos en postdestete, debe considerarse la influencia de variaciones colaterales simultáneas en los niveles de otros nutrientes (en particular, de FAD y LAD), interacciones entre nutrientes y cambios no controlados en los constituyentes, la estructura o las propiedades físico-químicas de las diversas fracciones fibrosas.

Digestibilidad y flujo ileal de nutrientes

La inclusión de FSDN y HCl en sustitución de almidón redujo la DIa de la MS como consecuencia de la baja DIa tanto de la FSDN como de las HCl, comparadas con la del almidón. Por otro lado, la DIa de ambas fracciones fibrosas fue mayor al elevar su contenido dietario en detrimento del almidón.

Solo Martínez-Vallespín *et al.* (2013) han medido la DIa de la FSDN, registrando valores similares a los del presente trabajo y observando también que aumentan al elevar el contenido en FSDN y HCl a costa del almidón, probablemente como consecuencia de la mayor contribución de la pulpa de remolacha al aporte de FSDN, que en el presente trabajo fue de 0% y 50% en los piensos A3 y E3 respectivamente. Se sabe que la pulpa de remolacha es rica en pectinas y que la DIa de sus monómeros predominantes (ácidos urónicos, arabinosa) en conejos adultos es relativamente alta, del 14-52%, superior a la del resto de monómeros constituyentes de los polisacáridos no amiláceos (Gidenne, 1992; Carabaño *et al.*, 2001), como consecuencia de la actividad enzimática microbiana presente en estómago e intestino delgado (Marounek *et al.*, 1995). De hecho, se ha observado que la digestibilidad ileal de la FS aumenta claramente al aumentar el contenido de esta fracción

con pulpa de remolacha, tanto en conejos a final de cebo (Abad, 2011) como adultos (Abad *et al.*, 2013a). Sin embargo, los efectos sobre la digestibilidad fecal de la FS son variables, ya que se ha encontrado un aumento de la misma en algunos estudios (Grueso *et al.*, 2013; Trocino *et al.*, 2013) pero no en otros (Abad, 2011; Xiccato *et al.*, 2011).

Resulta sorprendente que la DIa de FSDN, que además de pectinas incluye hemicelulosas solubles, fructanos y oligosacáridos, fuera menor que la de HCl y celulosa. No se dispone de otros datos de DIa de HCl y celulosa, aunque la DIa de xilosa (monómero predominante en las HCl) y glucosa (procedente sobre todo de celulosa) en conejos adultos es más baja que la del resto de monómeros constituyentes de los polisacáridos no amiláceos y muy variable según la fuente o nivel de fibra y el grado de molienda, de -24% a 22% y de -23% a 27%, respectivamente (Gidenne, 1992; Carabaño *et al.*, 2001). También se ha observado que la digestibilidad ileal de FDI y FND es sensiblemente menor que la de FS tanto en conejos a final de cebo (Abad, 2011) como en conejos adultos (Abad *et al.*, 2013a), particularmente en piensos ricos en pulpa de remolacha. Este hecho podría estar relacionado con la contaminación de la FSDN con la fracción glucídica de mucinas, ya que precipitan en etanol (Abad *et al.*, 2013b). Así, Abad (2011) comprobó que la DIa de la FS era netamente negativa mientras que la verdadera, corregida por el contenido en carbohidratos presentes en las mucinas, era notablemente alta.

Por otro lado, el aumento de la DIa de HCl al elevar el contenido en FSDN y HCl a costa del almidón también podría estar relacionado con la mayor contribución de la pulpa de remolacha al aporte de HCl que fue de 0% y 35% en los piensos A3 y E3 respectivamente. Diversos trabajos han observado un aumento en la digestibilidad ileal de FND y FDI al aumentar el nivel de FS por inclusión de pulpa de remolacha, tanto en conejos a final de cebo (Abad, 2011) como en conejos adultos (Abad *et al.*, 2013a). Otros trabajos han registrado un aumento en la digestibilidad fecal de HCl y FAD al utilizar pulpa de remolacha para aumentar el contenido en fibra fermentable (Gidenne y Jehl, 1996; Gidenne y Perez, 2000; Xiccato *et al.*, 2011; Grueso *et al.*, 2013; Trocino *et al.*, 2013a), no observado cuando se utilizó pulpa de remolacha y pulpa cítrica (Gidenne *et al.*, 2004c), lo que puede interpretarse principalmente como el resultado de un más fácil acceso de las bacterias a los constituyentes parietales de la pulpa de remolacha que de otras fuentes fibrosas (Bertin *et al.*, 1988). Además del cambio en la naturaleza y organización de los constituyentes fibrosos, también debe tenerse en cuenta el posible incremento de la actividad prececal de las poblaciones microbianas responsables de la digestión de la fibra, como resultado del aumento de la actividad microbiana cecal (que se discutirá más adelante) transferida mediante los cecotrofos.

La DIa del almidón fue muy elevada y similar a la registrada en otros trabajos realizados en conejos en crecimiento, también con trigo y salvado de trigo como fuentes de almidón (Gutiérrez *et al.*, 2002a; Nicodemus *et al.*, 2003 y 2004; Gómez-Conde *et al.*, 2007; Gallois *et al.*, 2008b; Martínez-Vallespín *et al.*, 2013). No obstante, se observó que la DIa del almidón a los 36 días de vida fue notablemente menor en el pienso A3 que en los piensos E3 y E6 (87% vs. 96,6%) y que la diferencia desapareció a los 43 días de vida, lo que confirmaría que la capacidad del intestino delgado para digerir el almidón puede quedar superada cuando la actividad amilásica pancreática aún no está plenamente establecida y los gazapos ingieren piensos con un nivel de almidón suficientemente alto (Blas y Gidenne, 2010). Castillo (2013) también observó que la DIa del almidón en gazapos de 35 días de vida era menor al aumentar el contenido en almidón y disminuir el de FS.

Chamorro *et al.* (2007) sugieren que la inclusión de pulpa de remolacha aumentaría las pérdidas nitrogenadas endógenas y podría reducir la DIa de PB. De hecho, se ha comprobado que el aumento de FS en detrimento de almidón aumenta el número de células caliciformes/vellosidad intestinal y el flujo ileal de mucinas (Abad, 2011; El Abed *et al.*, 2012; Castillo, 2013). En el presente trabajo, sin embargo, no se detectaron diferencias en la DIa de PB al incluir FSDN y HCl a costa del almidón, en contra de lo observado por Martínez-Vallespín *et al.* (2013), que registraron una caída de la misma utilizando piensos con un contenido en FAD muy similar al del presente trabajo, aunque no cuando tenían un mayor nivel de FAD. Tampoco se han detectado cambios en la DIa de PB al aumentar la FS en detrimento de almidón (Abad, 2011; Castillo, 2013). Por el contrario, Abad *et al.* (2013a) observaron un descenso de la DIa de PB al aumentar la FS a costa esencialmente de las HCl. La diversidad de resultados podría explicarse por la influencia de los cambios concomitantes en la naturaleza de la PB del pienso, asociados a variaciones en la contribución de sus distintos ingredientes.

En la **Tabla 19** se muestra el flujo ileal calculado a partir de la ingestión registrada durante la 6ª semana de vida en el Experimento 1 y la DIa de los nutrientes obtenida en el Experimento 2, para los piensos A3 y E3. La inclusión de FSDN y HCl en sustitución de almidón no parece modificar sustancialmente el flujo ileal de las distintas fracciones de la FND, pero aumentaría el de FSDN (+27%), disminuiría el de almidón (15 veces menor a los 36 días de vida: 0,14 vs. 2,25g/día; 5 veces menor a los 43 días de vida: 0,14 vs. 0,73 g/día) y el de PB (-15%). De forma análoga, Abad (2011) no encontró diferencias en el flujo ileal de FND y sí un aumento en el de FS en conejos a final de cebo al incluir FS a costa de almidón. Sin embargo, Martínez Vallespín *et al.* (2013) no detectaron diferencias en el flujo ileal de FSDN al incluir FSDN y HCl en detrimento de almidón, aunque el cambio dietario fue

de magnitud sensiblemente menor a la del presente estudio. Castillo (2013) observó que el aumento de FS en detrimento de almidón disminuyó el flujo ileal de almidón en gazapos de 35 días de vida. Por otro lado, en ninguno de los trabajos citados se modificó el flujo ileal de PB.

Tabla 19. Flujo ileal calculado para la 6ª semana de vida según el pienso.

g/día	PIENSO	
	A3	E3
MS	65,1	66,3
PB	11,0	9,3
FND	27,9	27,1
FAD	17,6	17,0
LAD	4,92	4,29
HCI	10,2	10,0
Celulosa	13,0	12,4
FSDN	14,3	18,1
Almidón	1,49	0,14

Ambiente cecal

Los cambios reseñados en el flujo ileal de nutrientes como consecuencia de la inclusión de FSDN y HCI en sustitución de almidón afectarían tanto al contenido en MS de la digesta cecal como, sobre todo, a la actividad fermentativa de la microbiota del ciego y, consecuentemente, al ambiente de este compartimento digestivo. La influencia de posibles variaciones en el tiempo de retención cecal de la digesta sería menos determinante, ya que ni el flujo ileal de MS y de las fracciones fibrosas más relacionadas con el tránsito digestivo (LAD, celulosa y HCI) ni el peso del contenido cecal expresado en MS (E3-A3: $-0,38 \pm 0,45$ g, $P=0,393$) variaron de forma importante con el cambio dietario.

Así, la disminución del contenido en MS de la digesta cecal, observado también por Martínez-Vallespín *et al.* (2013) al aumentar moderadamente el contenido en FSDN y HCl a costa del almidón en piensos con un contenido en FAD muy similar al del presente trabajo (no en el caso de piensos con mayor nivel de FAD), es probablemente un efecto directo del aumento del flujo ileal de FSDN, ya que los constituyentes fibrosos solubles (pectinas, pentosanas y β -glucanos) tienen una elevada capacidad para retener agua (Gidenne *et al.* 1998b).

Por otro lado, tanto en el presente estudio como en el resto de trabajos recogidos en la **Tabla 18** (Jehl y Gidenne, 1996; Gidenne y Bellier, 2000; Xiccato *et al.*, 2008 y 2011; Martínez Vallespín *et al.*, 2013; Trocino *et al.*, 2013), la inclusión de fibra fermentable en detrimento de almidón aumentó la concentración de AGV totales en el contenido cecal, lo que sería la consecuencia lógica de la mayor disponibilidad de sustratos extensamente utilizados por la microbiota del ciego. Sin embargo, los efectos sobre el perfil fermentativo parecen controvertidos. En el presente estudio, la inclusión de FSDN y HCl en detrimento de almidón redujo la contribución del acético y aumentó la del butírico, tal como observaron Martínez-Vallespín *et al.* (2013), mientras que otros estudios han registrado justo lo contrario (Gidenne y Bellier, 2000; Xiccato *et al.*, 2008 y 2011) o la ausencia de variaciones en las proporciones molares de los distintos AGV (Jehl y Gidenne, 1996; Trocino *et al.*, 2013). Por otro lado, en un meta-estudio, García *et al.* (2002) encontraron que la contribución del propiónico está positivamente correlacionada con el contenido del pienso en ácidos urónicos. Sin embargo, la proporción molar de propiónico no varió ni en el presente ni en los restantes estudios cuando se aumentó el contenido en pectinas insolubles, FS o FSDN a costa de almidón.

La inclusión de fibra fermentable a costa del almidón resultó en una reducción de la concentración de NH_3 en el contenido cecal, en consonancia con otros estudios (Xiccato *et al.*, 2011; Martínez Vallespín *et al.*, 2013; Trocino *et al.*, 2013), lo que reflejaría un aumento de la captación de NH_3 para la síntesis proteica microbiana necesaria para sostener mayor actividad fermentativa, aunque no puede descartarse una menor producción de NH_3 por reducción de la actividad proteolítica, ya que en el presente estudio se redujo el flujo ileal de PB. En otros trabajos, sin embargo, este cambio dietario no tuvo consecuencias en la concentración de NH_3 en el contenido cecal (Jehl y Gidenne, 1996; Gidenne y Bellier, 2000; Xiccato *et al.*, 2008).

A pesar de registrarse un aumento en la concentración de AGV totales y una disminución en la de NH_3 , el pH del contenido cecal no se vio afectado por la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón, en la línea de lo observado en algunos casos (Jehl y

Gidenne, 1996; Xiccato *et al.*, 2008 y 2011; Martínez Vallespín *et al.*, 2013) y a diferencia de otros en los que el pH se redujo (Gidenne y Bellier, 2000; El Abed *et al.*, 2012; Castillo, 2013; Martínez Vallespín *et al.*, 2013; Trocino *et al.*, 2013). García *et al.* (2002) encontraron que la concentración de AGVs totales y NH_3 sólo explica el 12% de la variación observada en el pH del contenido cecal.

En resumen, la inclusión de fibra fermentable en sustitución de almidón conduce al aumento de la concentración de AGV totales en el contenido cecal porque intensifica la actividad microbiana. Congruentemente, mediante la técnica del ácido diaminopimélico, Jehl y Gidenne (1996) observaron que la producción de biomasa bacteriana en el ciego casi se duplicó al incluir pectinas insolubles y HCl a costa del almidón. En la misma línea, Rodríguez-Romero *et al.* (2011) observaron que el aumento de fibra FSDN y HCl a costa de almidón aumentó el contenido en PB de los cecotrofos, así como la degradación de la MS y la producción de gas en incubados del residuo de la digestión enzimática *in vitro* con contenido cecal. En algunos trabajos se ha podido relacionar el aumento de la actividad fermentativa, por incremento de todos los constituyentes fibrosos en sustitución de almidón o por cambios en la naturaleza de la fibra, con el de la actividad de las enzimas fibrolíticas involucradas (Gidenne *et al.*, 2000; Falcão-e-Cunha *et al.*, 2004). En el presente estudio no se pudo poner a punto la valoración de la actividad pectinolítica y no se detectaron diferencias en las actividades xilanolítica y celulolítica del contenido cecal, que presentaron gran variabilidad residual.

Por otro lado, las discrepancias en los efectos sobre los restantes indicadores del ambiente cecal podrían explicarse por la influencia que tendrían sobre la microbiota las variaciones colaterales simultáneas en los niveles de otros nutrientes (en particular, de FAD y LAD), las posibles interacciones entre nutrientes y los cambios no controlados en los constituyentes, la estructura o las propiedades físico-químicas de las distintas fracciones. Además, deben considerarse las diferencias en el momento de la toma de muestras del contenido cecal y las posibles interacciones con el efecto del pienso sobre el ambiente cecal. Tanto en el presente estudio como en el de Martínez Vallespín *et al.* (2013) las muestras se tomaron entre las 20:00 y 23:00 horas, mientras que en los otros casos se tomaron entre las 8:00 y 12:00 horas (Gidenne y Bellier, 2000; Xiccato *et al.*, 2011; Trocino *et al.*, 2013) o en horario no determinado (Jehl y Gidenne, 1996; Xiccato *et al.*, 2008). Gidenne (1986) observó que la concentración de AGV totales, sus proporciones molares, la concentración de NH_3 y el pH del contenido cecal varían de forma circadiana, registrando mayor concentración de AGV totales, menor contribución del acético, mayor contribución del butírico, menor concentración de NH_3 y menor pH por la noche que por la mañana.

2. EFECTO DEL NIVEL DE GRASA ANIMAL

Los efectos de la inclusión de grasa en los piensos para conejos en crecimiento han sido ampliamente estudiados, aunque muy pocas veces con piensos peridestete (Xiccato *et al.*, 2004a; Fortun-Lamothe *et al.*, 2005; Cesari *et al.*, 2009; presente trabajo). Sin embargo, la interpretación precisa de los resultados no resulta fácil, principalmente por la influencia del nivel o tipo de grasa incluida y de los otros nutrientes afectados por el cambio dietario. En el presente estudio se compararon 2 niveles de inclusión de grasa animal, 3% y 6%, lo que supuso una diferencia en el contenido de EE de 23 g/kg MS. El aumento del EE se produjo, esencialmente, a costa del almidón (-26 g/kg MS) en el caso de los piensos A y de la FSDN (-25 g/kg MS) en el caso de los piensos E, pasando progresivamente de la primera situación a la segunda en los piensos intermedios (B, C y D).

2.1. RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS (INGESTIÓN DE PIENSO, GANANCIA DE PESO E ÍNDICE DE CONVERSIÓN) Y DESARROLLO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

En general, la inclusión de grasa en el pienso para conejos en crecimiento eleva su contenido en ED y reduce la ingestión del mismo, resultando una ingestión energética similar o superior, sin afectar a la ganancia de peso vivo o aumentándola moderadamente, mejorando el índice de conversión y aumentando el engrasamiento de la canal y de la carne, sobre todo si en paralelo no se eleva el contenido proteico del pienso (Maertens, 1998; Xiccato, 1999; Fernández-Carmona *et al.*, 2000).

En el presente estudio, el valor de ED calculado según tablas de referencia en composición de alimentos aumentó 5.4% al elevar el contenido en grasa animal del 3% al 6% y sin embargo la ingestión de pienso en predestete aumentó, salvo en los primeros días de dicho periodo, cuando la ingestión de pienso es incipiente. Como ya se ha comentado, la ingestión de pienso en gazapos lactantes no parece estar estrechamente regulada por su contenido en ED y depende en gran medida de otros factores dietarios. En el presente trabajo no se midió la dureza de los piensos, pero puede presumirse que el aumento de la inclusión de grasa redujo la dureza de los gránulos a pesar de la adicción simultánea de un 1% de melaza de caña. Se sabe que una menor dureza del pienso mejora la ingestión en los gazapos lactantes (Maertens, 1994; Gidenne *et al.*, 2003; Travel *et al.*, 2009; Martínez-Vallespín *et al.*, 2011) y no puede descartarse que la mayor inclusión de grasa mejore las características organolépticas del pienso. No obstante, el aumento de la ingestión de pienso (y ED) no se tradujo en un aumento relevante del peso de la camada al destete. En un

estudio con piensos de peridestete con alimentación diferenciada de camadas y conejas, Cesari *et al.* (2009) no registraron diferencias ni en la ingestión de pienso ni en la ganancia de peso vivo en predestete al aumentar el contenido en grasa a costa del almidón, si bien en paralelo se produjo un aumento de las pectinas insolubles y de PB en detrimento de FND. La comparación con otros estudios que han utilizado piensos de peridestete con distinto contenido en grasa no parece apropiada porque no se dispone de la ingestión de pienso ni de la ganancia de peso en predestete (Xiccato *et al.*, 2004a) o porque la inclusión de grasa fue a costa de FND y las conejas fueron alimentadas con los mismos piensos que sus camadas, lo que pudo aumentar su producción lechera, explicando la reducción de la ingestión de pienso y el mayor peso de las camadas (Fortun-Lamothe *et al.*, 2005). De hecho, Pascual *et al.* (1999b) observaron que la inclusión de grasa (+82 g EE/kg MS, de origen animal o vegetal) en sustitución de almidón (-74 g/kg MS) en el pienso de las conejas lactantes, consumido también por las camadas hasta el destete, aumentó la producción de leche así como su contenido en grasa y energía, redujo la ingestión de pienso y de ED en forma de pienso de las camadas y aumentó el peso de las mismas.

Por otro lado, la inclusión de grasa no afectó a la ingestión de pienso, la ganancia de peso vivo y el índice de conversión en postdestete. Si se asume que la ingestión de ED fue mayor al elevar el contenido en grasa animal, estos resultados podrían explicarse por un mayor engrasamiento de los animales. En esa línea, Falcão-e-Cunha *et al.* (2004) tampoco encontraron diferencias de ingestión de pienso, ganancia de peso vivo e índice de conversión durante el cebo al incluir un 6% de aceite de girasol en sustitución de almidón purificado de maíz, pero sí un aumento del 47% en el peso de la grasa perirrenal. Por el contrario, un cambio dietario similar pero de mayor magnitud dio lugar a menor ingestión y mejor índice de conversión durante el cebo, también con aumento del engrasamiento de los animales, aunque más moderado (Cervera *et al.*, 1997; Pla y Cervera, 1997). Por otro lado, no se han encontrado trabajos en los que el aumento de EE se haya obtenido a costa de fibra fermentable.

La disminución del peso del tracto gastrointestinal puede descartarse como causa para explicar la falta de efecto sobre el índice de conversión. En efecto, la inclusión de EE a costa de FSDN no afectó al peso de los compartimentos digestivos, en concordancia con otros trabajos en los que tanto un aumento similar de EE a costa de almidón y FAD (Fernández y Fraga, 1996) o de FND (Xiccato *et al.*, 1998) como un aumento de EE notablemente superior y a costa de almidón (Falcão-e-Cunha *et al.*, 2004) no afectaron al peso del tracto gastrointestinal.

Finalmente, la ingestión de pienso, la ganancia de peso y el índice de conversión en el periodo de acabado, cuando todos los animales dispusieron del mismo pienso comercial de retirada, fueron independientes del nivel de inclusión de grasa en el pienso de peridestete, tal como también se ha observado en otros estudios (Fortun-Lamothe *et al.*, 2005; Cesari *et al.*, 2009). Análogamente, Xiccato *et al.* (2003a) tampoco observaron que la inclusión de grasa en piensos para postdestete (11, 7 y 4 días en animales destetados a los 21, 25 y 28 días de vida, respectivamente) influyera sobre el rendimiento en el resto del cebo.

2.2. MORTALIDAD

Se dispone de pocos trabajos que hayan estudiado el efecto del nivel de inclusión de grasa sobre la mortalidad y la salud digestiva de conejos en crecimiento y ninguno de ellos en un contexto de alta mortalidad por EEC como el del presente trabajo. En tales trabajos (Xiccato *et al.*, 2003a; Fortun-Lamothe *et al.*, 2005; Cesari *et al.*, 2009) la mortalidad fue baja e independiente del pienso y solo Xiccato *et al.* (2004a) encontraron que la mortalidad en el periodo 18-32 días de vida fue muy baja pero tendió a aumentar al elevar el contenido en grasa del pienso peridestete en animales destetados a 21 o 25 días de vida. En el presente trabajo, con elevada mortalidad, tampoco hubo diferencias en la mortalidad si consideramos el conjunto del cebo, porque la mayor mortalidad registrada en postdestete al aumentar la inclusión de grasa animal se compensó con la menor mortalidad registrada en el acabado con el pienso comercial de retirada.

2.3. PARÁMETROS DIGESTIVOS

La explicación de estos resultados a partir de los efectos sobre los distintos parámetros digestivos resulta difícil, ya que en el presente trabajo tales efectos fueron muy limitados y la información disponible es muy escasa. En el presente trabajo no se detectaron cambios en la morfometría de la mucosa yeyunal y no se dispone de otros trabajos que hayan abordado los efectos de la inclusión de grasa sobre la morfometría de la mucosa intestinal. Tampoco se dispone de estudios sobre las consecuencias en la DIa de los nutrientes y en el presente trabajo solo se observó una reducción en la DIa de FSDN y H_{CI}, que podría atribuirse a una menor actividad prececal de las poblaciones microbianas que utilizan estos sustratos. Falcão-e-Cunha *et al.* (2004) encontraron que la inclusión de un 6% de aceite de girasol en sustitución de almidón purificado de maíz afectó negativamente a la actividad pectinolítica del contenido cecal, pero no modificó su actividad xilanolítica; asimismo,

también observaron un efecto negativo sobre la actividad celulolítica, mientras que en el presente trabajo no se alteró la DLa de la celulosa. No obstante, deben tenerse en consideración las diferencias tanto en la magnitud del cambio dietario como en el tipo de grasa utilizado entre ambos estudios. En cualquier caso, las repercusión sobre el flujo ileal de FSDN y HCl sería de poca importancia (+2% y +9%, respectivamente, valores calculados según se ha descrito previamente) y no se observaron diferencias en el ambiente cecal. Esta ausencia de efecto de la inclusión de grasa sobre el contenido en MS, la concentración de AGV y sus proporciones molares, la concentración de NH₃ y el pH de la digesta cecal ha sido observada también en otros trabajos (Xiccato *et al.*, 1998; Xiccato *et al.*, 2003a; Falcão-e-Cunha *et al.*, 2004).

3. EFECTO DE LA EDAD SOBRE LOS PARÁMETROS DIGESTIVOS EN POSTDESTETE

Por otro lado, en cuanto a la evolución de la morfología de la mucosa yeyunal con la edad, se observó una reducción de la altura de las vellosidades y un aumento de la profundidad de las criptas entre los 22 y los 29 días de vida, 36 horas después de la última toma de leche. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Gallois *et al.* (2005) en la mucosa yeyunal de gazapos de 21 y 28 días de vida, tanto si habían sido destetados a los 21 días de vida como si permanecían lactantes, aunque las diferencias en la profundidad de las criptas no alcanzaron el umbral de significación, probablemente porque el número de animales utilizados fue sensiblemente menor que en el presente estudio. Estos autores señalan que el acortamiento de las vellosidades sería la consecuencia de la abrasión provocada por el inicio de la ingestión de pienso sólido, ya sea por acción mecánica, por hipersensibilidad transitoria frente a proteínas vegetales o por presencia de factores antinutritivos, mientras que la no ingestión de leche (que contiene diversos factores de crecimiento y regeneración tisular) y el aumento simultáneo de la ingestión de pienso no parecen ser determinantes. Sin embargo, Gutiérrez *et al.* (2002a) no detectaron diferencias en la altura de las vellosidades o la profundidad de las criptas en la mucosa yeyunal entre los 25 y los 35 días de vida en animales lactantes, pero observaron vellosidades más cortas y criptas más profundas en gazapos de 35 días de vida destetados a los 25 días que en otros de la misma edad que permanecían lactantes, lo que avalaría el papel de la leche en el trofismo de la mucosa digestiva. Para discriminar la influencia de todos estos factores, así como de la posible anorexia postdestete, es necesaria más investigación y con tomas de muestras más frecuente en predestete y postdestete.

En general, el aumento de la profundidad de las criptas se considera un reflejo de la mayor proliferación celular necesaria para regenerar las vellosidades dañadas. En el presente trabajo, este aumento continuó entre los 29 y los 36 días de vida, lo que podría explicar que la longitud de las vellosidades aumentara entre los 36 y los 43 días de vida, de forma análoga a lo observado por Gallois *et al.* (2005) entre los 35 y 49 días de vida.

Por otro lado, la D_{1a} de la MS y las fracciones fibrosas (FND, FAD, H₂O y celulosa) aumentó durante el postdestete, aunque en el caso de la FSDN las diferencias no alcanzaron el umbral de significación, lo que sería el resultado de una mayor actividad microbiana prececal. El hecho de que la D_{1a} de LAD disminuyera en paralelo podría ser indicativo de que las diferencias observadas en la D_{1a} en función de la edad podrían estar subestimadas. Sin embargo, otros autores han observado que la D_{1a} de la MS presenta valores similares o incluso algo menores en gazapos de 45-46 días de vida que en los de 35 días de vida (García-Ruiz *et al.*, 2006; Castillo, 2013).

No se detectaron diferencias en la D_{1a} de PB entre gazapos de 36 y 43 días de vida. Otros autores han observado que la D_{1a} de PB presenta valores similares o ligeramente menores en gazapos de 45-46 días de vida que en los de 35 días de vida (García-Ruiz *et al.*, 2006; Castillo, 2013).

En el presente trabajo, la concentración de AGV totales del contenido cecal aumentó entre los 29 y 43 días de vida, corroborando la evolución descrita por Gidenne y Fortun-Lamothe (2002), mientras que otros estudios no encontraron cambios en la misma durante dicho periodo, aunque con valores sensiblemente menores a los registrados en el presente estudio (Padilha *et al.*, 1995; Gidenne *et al.*, 2002). Las proporciones molares de los distintos AGV variaron tal como han descrito otros estudios, con descenso de la contribución del propiónico en favor de la de butírico y reducción de la *ratio* propiónico/butírico, sin cambios en la de acético (Padilha *et al.*, 1995), como en el presente trabajo, o con descenso de la misma (Gidenne *et al.*, 2002). En el presente trabajo se observó un aumento de la concentración de NH₃ en postdestete, sobre todo durante la primera semana, a diferencia de otros estudios en los que no varió (Gidenne *et al.*, 2002) o se redujo (Padilha *et al.*, 1995; Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002). La reducción del pH durante el postdestete ha sido descrita también por otros trabajos (Padilha *et al.*, 1995; Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002; Gidenne *et al.*, 2002). Las discrepancias entre resultados estarían motivadas por posibles interacciones de la edad con la composición del pienso (no detectadas en el presente estudio) o/y el momento de toma de las muestras de contenido cecal, que en los citados trabajos fue por la mañana o no determinado.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones de la presente tesis se han obtenido del análisis conjunto de los resultados de los dos experimentos llevados a cabo.

En piensos peridestete isofibrosos en términos de FAD e isoproteicos en términos de PB y con un sistema de alimentación diferenciada de camadas y conejas,

1. La inclusión de FSDN y HCl a costa de almidón:

- Reduce linealmente la ingestión de pienso en predestete y el peso de las camadas al destete.
- Reduce linealmente la ingestión de pienso y mantiene la ganancia de peso vivo, mejorando linealmente el índice de conversión en postdestete, aunque aumenta el peso del estómago y del ciego.
- En un contexto de EEC, disminuye linealmente la mortalidad en postdestete, aunque en el acabado con un pienso comercial de retirada se observa el efecto contrario y este efecto beneficioso se pierde parcialmente.
- No afecta a la morfometría de la mucosa yeyunal.
- Aumenta la DÍa de FSDN y HCl, así como la del almidón, particularmente a los 36 días de vida.
- Modifica el ambiente cecal, ya que disminuye el contenido en MS, eleva la concentración de AGVs totales (con aumento del butírico a costa del acético) y disminuye la concentración de NH₃ de la digesta cecal.
- No se encuentra efecto del pienso sobre las actividades celulolítica y xilanolítica.

2. El aumento del contenido en grasa animal del 3% al 6%:

- Aumenta la ingestión de pienso en predestete aunque sin llegar a afectar al peso de las camadas al destete de forma sensible.
- No tiene efecto sobre la ingestión de pienso, la ganancia de peso y el índice de conversión en posdestete.
- En un contexto de EEC, aumenta la mortalidad en postdestete, aunque este efecto queda anulado por la menor mortalidad en el acabado con un pienso comercial de retirada.
- No afecta a la morfometría de la mucosa yeyunal.
- Reduce la DIa de FSDN y HCl.
- No modifica el ambiente cecal

3. La edad de los animales:

- Afecta a la morfología de la mucosa yeyunal, reduciéndose la altura de las vellosidades y aumentando la profundidad de las criptas, durante el periodo peridestete, incrementándose el tamaño de las vellosidades cuando los gazapos se habitúan al consumo de pienso.
- Aumenta la DIa de la MS y de la FND, FAD, HCl y celulosa, no viéndose afectada la DIa de la FSDN ni la de la PB.
- Aumenta la concentración de AGV totales (con incremento del butírico a costa del propiónico y sin cambio en el acético) y de amoníaco, disminuyendo el pH.

CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA

CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA

A - B

- Abad R., 2011. Quantification and nutritional relevance of insoluble and soluble sugar beet pulp fibre in rabbits. Tesis de Máster, Universidad de Zaragoza, 53 págs.
- Abad R., Carabaño R., Gómez-Conde M.S., García J., 2013a. Efecto del tipo de muestra ileal utilizada (individual vs. mezcla única) y del tipo de fibra sobre la digestibilidad ileal en conejos. *XV Jornadas sobre Producción Animal, vol I, 201-203*.
- Abad R., Ibáñez M.A., Carabaño R., García J. 2013b. Quantification of soluble fibre in feedstuffs for rabbits and evaluation of the interference between the determinations of soluble fibre and intestinal mucin. *Animal Feed Science and Technology*, 182: 61–70.
- Abecia L., Fondevila M., Balcells J., Edwards J.E., Newbold C.J., McEwan N.R., 2005. Molecular profiling of bacterial species in the rabbit caecum. *FEMS Microbiology Letters*, 244: 111-115.
- Abecia L., Fondevila M., Balcells J., McEwan, N.R., 2007. The effect of lactating does on the development of the caecal microbial population in the pups they nurture. *Journal of Animal Science*, 103: 557-564.
- Acedo-Rico L., Méndez J., Santomá G., 2010. Feed manufacturing. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (Reino Unido): 200-221.
- Al-Bar A.M., Al-Aghbari A.M., 1996. Influence of deodorase in combination with different levels of protein on rabbit feed intake, body weight, and utilisation of urea. *Proceedings of the 6th World Rabbit Congress, Toulouse (Francia)*, 1: 79-84.
- AOAC, 2000. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.

-
- Bach-Knudsen K.E., Laerke H.N., Hedemann M.S. 2008. The role of fibre in piglet gut health. En: Taylor-Pickard J.A, Spring P., (Eds.), *Gut efficiency: the key ingredient in pig and poultry production*, Wageningen Academic Publishers, Wageningen (The Netherlands): 65-95.
 - Baranyi M., Thomas U., Pellegrini A., 2003. Antibacterial activity of casein-derived peptides isolated from rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk. *Journal of Dairy Research*, 70: 189-197.
 - Barone R., 1984. *Anatomie comparée des mammifères domestique*. Tome 3. Splanchnologie 1: appareil digestif et appareil respiratoire. Vigot (Eds.), Paris (Francia): 879 págs.
 - Batey I.L., 1982. Starch analysis using thermostable alpha-amylases. *Starch*, 34: 125–128.
 - Belenguer A., Fondevila M., Balcells J., Torre C., 2000. Effect of the source and level of cereal in diet on the rabbit caecal environment and microbial population. *World Rabbit Science*, 8 (Suppl. 1, Vol C): 95-100.
 - Belenguer A., Fondevila M., Balcells J., Abecia L., Lachica M., Carro M.D., 2011. Methanogenesis in rabbit caecum as affected by the fermentation pattern: *in vitro* and *in vivo* measurements. *World Rabbit Science*, 19: 75-83.
 - Belenguer A., Abecia L., Belanche A., Milne E., Balcells J., 2012. Effect of carbohydrate source on microbial nitrogen recycling in growing rabbits. *Livestock Science*, 150: 94–101.
 - Bellier R., 1994. Contrôle nutritionnel de l'activité fermentaire caecale chez le lapin. *Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique, Toulouse* (Francia): 115 págs.
 - Bennegadi N., Fonty G., Millet L., Gidenne T., Licois D., 2003. Effects of Age and Dietary Fibre Level on Caecal Microbial Communities of Conventional and Specific Pathogen-Free Rabbits. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 15: 23-32.
 - Bennegadi-Laurent N., Gidenne T., Licois D., 2004. Nutritional and sanitary statuses alter postweaning development of caecal microbial activity in the rabbit. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Physiology*, 139: 293– 300.

-
- Bertin C., Rouau X., Thibault J.F., 1988. Structure and properties of sugar beet fibres. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 44: 15-29
 - Biavati B., Vasta M., Ferry J.G., 1988. Isolation and characterization of "*Methanosphaera cuniculi*" sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 54: 768–771.
 - Biglia S., 2004. Estudio de la maduración digestiva en gazapos. Diploma de Estudios Avanzados, Universidad Politécnica de Valencia, 13 págs.
 - Blas E., 1986. El almidón en la nutrición del conejo: utilización digestiva e implicaciones prácticas. Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza, 227 págs.
 - Blas E., Gidenne T., 2010. Digestion of sugars and starch. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (Reino Unido): 19-38.
 - Blas E., Cervera C., Fernández-Carmona J., 1994. Effect of two diets with varied starch and fibre levels on the performances of 4-7 weeks old rabbits. *World Rabbit Science*, 2: 117-121.
 - Blas E., Rosell J.M., Dronda M.A., 2000. Alimentación y patología. En: Rosell J.M. (Eds.), *Enfermedades del Conejo*. Mundi-Prensa, Madrid (España): 213-256.
 - Blas E., Falcão-e-Cunha L., Gidenne T., Scapinello C., Pinheiro V., García A.I., Carabaño R., 2003. Interlaboratory study on ileal digestibility in rabbits: effect of digesta collection time and simplification of the procedure. *World Rabbit Science*, 11: 101-111.
 - Blas E., Cervera C., Rodenas L., Martínez E., Pascual J.J., 2010. The use of recycled oils from the food industry in growing rabbit feeds in substitution of fresh oil does not affect performance. *Animal Feed Science and Technology*, 161: 67–74.
 - Boisot P., Licois D., Gidenne T., 2003. Feed restriction reduces the sanitary impact of an experimental reproduction of Epizootic Rabbit Enteropathy syndrome (ERE) in the growing rabbit. 10^{ème} *Journées de la Recherche Cunicole*, Paris (Francia): 267-270.
 - Boisot P., Duperray J., Dugenetais X., Guyonvarch A., 2004. Interest of hydric restriction times of 2 and 3 hours per day to induce feed restriction in growing rabbits. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, Puebla (México): 759-764.

- Boulahrouf A., Fonty G., Gouet P., 1991. Establishment, counts and identification of the fibrolytic bacteria in the digestive tract of rabbit. Influence of feed cellulosa content. *Current Microbiology*, 22: 1-25.
- Bovera F., Di Meo C., Maronno S., Vella N., Nizza A., 2008. Feed restriction during summer: effect on rabbit growth performance. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress*, Verona (Italia): 567-571.
- Bowen R. A., 2000. Gross and microscopic anatomy of the small intestine. En: Pathophysiology of the digestive system. *Colorado State University*, [Online]; <http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/smallgut/anatomy.html>
- Brillouet J.M., Rouau X., Hoebler C., Barry J.L., Carré B., Lorta E., 1988. A new method for determination of insoluble cell-walls and soluble non-starchy polysaccharides from plant materials. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 36: 969-979.

C

- Cachaldora P., Nicodemus N., García J., Carabaño R., De Blas J.C., 2004. Efficacy of Amylofeed® in growing rabbit diets. *World Rabbit Science*, 12: 23-31.
- Carabaño R., García J., De Blas J.C., 2001. Effect of fibre source on ileal apparent digestibility of non-starch polysaccharides in rabbits. *Animal Science*, 72: 343-350.
- Carabaño R., Villamide M.J., García J., Nicodemus N., Llorente A., Chamorro S., Menoyo D., García-Rebollar P., García-Ruiz A.I., De Blas J.C., 2009. New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 17: 1-14.
- Carabaño R., Piquer J., Menoyo D., Badiola I., 2010. The digestive system of the rabbit. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (Reino Unido): 1-18.
- Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J., 1997. Growth of rabbit under different environmental temperatures using high fats diets. *World Rabbit Science*, 5: 71-75.

-
- Casado C., Moya V.J., Pascual J.J., Blas E., Cervera C., 2011. Effect of oxidation state of dietary sunflower oil and dietary zinc and α -tocopheryl acetate supplementation on performance of growing rabbits. *World Rabbit Science*, 19: 191-202.
 - Castillo C., 2013. Effect of level of dietary soluble fibre and threonine on digestion and growth performance in post-weaning rabbits. Tesis de Máster. Instituto Agronómico Mediterraneo de Zaragoza. 57 págs.
 - Cesari V., Grilli G., Ferrazzi V., Toschi I., 2009. Influence of age at weaning and nutritive value of weaning diet on growth performance and caecal traits in rabbits. *World Rabbit Science*, 17: 195-205.
 - Chamorro S., Gómez-Conde M.S., Pérez de Rozas A.M., Badiola I., Carabaño R., De Blas J.C., 2007. Effect on digestion and performance of dietary protein content and of increased substitution of lucerne hay with soya-bean protein concentrate in starter diets for young rabbits. *Animal*, 1: 651-659.
 - Chamorro S., de Blas C., Grant G., Badiola I., Menoyo D., Carabaño R., 2010. Effect of dietary supplementation with glutamine and a combination of glutamine-arginine on intestinal health in twenty-five-day-old weaned rabbits. *Journal of Animal Science*, 88: 170-180.
 - Cheeke P.R., Patton N.M., 1980. Carbohydrate-overload of the hindgut. A probable cause of enteritis. *Journal of Applied Rabbit Research*, 3: 20-23.
 - Chmitelin F., Hache B., Rouillere H., 1990. Alimentation de présevrage: intérêt pour les lapereaux, répercussions sur les performances de reproduction des femelles. 5^{èmes} Journées Recherche Cunicole, Paris (Francia), vol. 1, communication n^o. 60, 9 págs.
 - Colonna P., Buléon A., Leloup V., Thibault J.F., Renard C., Lahaye M., Viroben G., 1995. Constituants des céréales, des graines, des fruits et de leur sous-produits. En: Jarrige R.Y., Demarquilly C., Farce M.H., Journet M., (Eds.), *Nutrition des ruminants domestiques*, INRA éditions, Paris (Francia): 83-121.
 - Combes S., Michelland R.J., Monteils V., Cauquil L., Soulie V., Tran N.U., Gidenne T., Fortun-Lamothe L., 2011. Postnatal development of the rabbit caecal microbiota composition and activity. *FEMS Microbiology Ecology*, 77: 680-689.

- Combes S., Fortun-Lamothe L., Cauquil L., Gidenne T., 2012. Controlling the rabbit digestive ecosystem to improve digestive health and efficacy. *Proceedings of the 10th World Rabbit Congress*. Sharm El-Sheikh (Egipto): 475-494.
- Corpa J.M., 2005. Comunicación personal.
- Corring T., Lebas F., Courtot D., 1972. Contrôle de l'évolution de l'équipement enzymatique du pancréas exocrine du alpin de la naissance a 6 semaines. *Annales de Biologie Animale, Biochimie et Biophysique*, 12: 221-231.
- Cortez S., Brandeburger H., Greuel E., Sundrum A., 1992. Investigations of the relationships between feed and health status on the intestinal flora of rabbits. *Tierärztliche Umschau*, 47: 544-549.
- Crociani F., Biavati B., Castagnoli P., Matteuzzi D., 1984. Anaerobic ureolytic bacteria from caecal content and soft faeces of rabbit. *Journal of Animal Science*, 57: 83-88.
- Crociani F., Minardi A., Matteuzzi D., Gioffré, Lebas F., 1985. Bactéries uréolytiques et activité uréasique dans le tube digestif du lapin. *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 3: 83-86.
- Crociani F., Matteuzzi D., Minardi A., Brigidi P., Gioffré F., 1986. Urease activity in gastrointestinal tract of rabbit and electrophoretic behaviour of urease. *Annales de l'Institut Pasteur Microbiologie*, 137: 287-294.

D – E

- De Blas C., Mateos G.G., 2010. Feed formulation. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit, 2nd ed.*, CAB International, Wallingford (Reino Unido): 222-232.
- De Blas C., García J., Gómez-Conde S., Carabaño R., 2002. Restricciones a la formulación de Piensos para Minimizar la Patología Digestiva en conejos. Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid. Fundación Española para el Desarrollo de la Producción Animal (FEDNA). http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2002CAP_V.pdf

-
- Debray L., Fortun-Lamothe L., Gidenne T., 2002. Influence of low dietary starch/fibre ratio around weaning on intake behaviour, performance and health status of young and rabbit does. *Animal Research*, 51: 63-75.
 - Debray L., Le Huëron-Luron I., Gidenne T., Fortun-Lamothe L., 2003. Digestive tract development in rabbit according to the dietary energetic source: correlation between the whole tract digestion pancreatic and intestinal enzymatic activities. *Comparative Biochemistry Physiology*, 135: 443-455.
 - Di Meo C., Stanco G., Piccolo G., Taranto S., Gazaneo M.P., Nizza A., 2003. Productive performance of rabbits according to pre-weaning solid feed and milk intake. *Italian Journal of Animal Science*, 2 (1): 51-58.
 - Dojana N., Costache M., Dinischiotu A., 1998. The activity of some digestive enzymes in domestic rabbits before and after weaning. *Animal Science*, 66: 501-507.
 - Duperray J., Guyonvarch A., Laurent J.M., Adelis R., Haberkorn F., Licois D., 2011. Reproduction expérimentale de l'Entéropathie Epizootique du Lapin (EEL) avec un nouvel inoculum: TEC 2.1. 14^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans (Francia):167-170.
 - El Abed N., Delgado R., Abad R., Menoyo D., García J., Carabaño R., 2012. Efecto de la fibra soluble e insoluble de la pulpa de remolacha sobre la fisiología digestiva de gazapos destetados a 25 días. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 6: 19-24.
 - Emaldi O., Crociani F., Matteuzzi D., Proto V., 1979. A note on the total viable counts and selective enumeration of anaerobic bacteria in the caecal content soft and hard feces of rabbit. *Journal of Animal Science*, 46: 169-172.

F

-
- Fabre C., Juvero M.A., Blas E., Fernández-Carmona J., Pascual J.J., 2006. Utilización de un pienso rico en fibra digestible e indigestible y pobre en almidón en conejos de engorde: ensayo en condiciones de campo. *XXXI Symposium de Cunicultura (ASESCU)*, Lorca (España): 67-72.

-
- Falcão-e-Cunha L., Peres H., Freire J.P.B., Castro-Solla L., 2004. Effects of alfalfa, wheat bran or beet pulp, with or without sunflower oil, on caecal fermentation and on digestibility in the rabbit. *Animal Feed Science and Technology*, 117: 131-149.
 - Falcão-e-Cunha L., Castro-Solla L., Maertens L., Marounek M., Pinheiro V., Freire J., Mourão J.L., 2007. Alternatives to antibiotic growth promoters in rabbit feeding: a review. *World Rabbit Science*, 15: 117-140.
 - Faraldo L., Ródenas L., Martínez-Paredes E., Cervera C., 2013. Variaciones del comportamiento alimentario de conejas y gazapos lactantes según el alojamiento. *XXXVIII Symposium de Cunicultura (ASESCU)*, Zamora (España): 127–130.
 - FEDNA, 2010. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos, 3ª ed., De Blas C., Mateos G.G., García-Rebollar P. (coord.). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid (España).
 - Fernández C., Fraga M.J., 1996. The effect of dietary fat inclusion on growth, carcass characteristics, and chemical composition of rabbits. *Journal of Animal Science*, 74: 2088-2094.
 - Fernández-Carmona J., Pascual J.J., Cervera C., 2000. The use of fats in rabbit diets. *Proceedings of the 7th World Rabbit Congress*, Valencia (España), vol C: 29-59.
 - Feugier A., Smit M.N., Fortun-Lamothe L., Gidenne T., 2006. Fibre and protein requirements of early weaned rabbits and the interaction with weaning age: effects on digestive health and growth performance. *Animal Science*, 82: 493-500.
 - Flatt R.E., Weisbroth S.H., Kraus A.L., 1974. Metabolic, traumatic, mycotic, and miscellaneous diseases of rabbits. En Weisbroth S.H., Flatt R.E., Kraus A.L. (Eds), *The Biology of Laboratory Rabbit*, 1ª ed., Academic Press, Nueva York (EEUU): 435-451.
 - Forsythe S.J., Parker D.S., 1985a. Nitrogen metabolism by the microbial flora of the rabbit caecum. *Journal of Animal Science*, 58: 363-369.
 - Forsythe S.J., Parker D.S., 1985b. Urea turnover and transfer to the digestive tract in the rabbit. *British Journal of Nutrition*, 53: 183-190.

-
- Forsythe S.J., Parker D.S., 1985c. Ammonia-nitrogen turnover in the rabbit caecum and exchange with plasma urea-N. *British Journal of Nutrition*, 54: 285-292.
 - Fortun-Lamothe L., Boullier S., 2007. A review on the interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity. Possible ways to improve the health of rabbits. *Livestock Science*, 107: 1-18.
 - Fortun-Lamothe L., Gidenne T., 2000. Effects of the suckled litter size on intake behaviour, performances and health status of young and reproducing rabbits. *Annales de Zootechnie*, 49: 517-529.
 - Fortun-Lamothe L., Gidenne T., Lapanouse A., Dapper J., 2000. Technical note: an original system to separately control litter and female feed intake without modification of the mother-young relations. *World Rabbit Science*, 8: 177 – 180.
 - Fortun-Lamothe L., Gidenne T., Chalaye F., Debray L., 2001. Stratégie d'alimentation autour du sevrage chez le lapin: effets du ratio amidon/fibres. 9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris (Francia): 195-198.
 - Fortun-Lamothe L., Lacanal L., Boisot P., Jehl N., Arveux P., Hurteaud J., Perring G., 2005. Influence de la stratégie alimentaire autour du sevrage sur les performances de reproduction des lapines et la santé des lapereaux: effets de l'origine et de la teneur en énergie de l'aliment. 11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris (Francia): 129-132.
 - Fraga M.J., Barreno C., Carabaño R., Mendez J., De Blas J.C., 1984. Effect of amounts of fibre and protein in the diet of growth and digestive traits of rabbits. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie: Ganadera*, 21: 91-110.
 - Fragkiadakis M., Carraro L., Trocino A., Xiccato G., Radaelli G., 2007. Relación fibra digestible/FAD y nivel de almidón en dietas de conejos en crecimiento. XXXII Symposium de Cunicultura (ASESCU), Vila Real (Portugal): 77-80.
 - Franz R., Soliva C.R., Kreuzer M., Hummel J., Clauss M., 2011. Methane output of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and guinea pigs (*Cavia porcellus*) fed a hay-only diet: Implications for the scaling of methane production with body mass in non-ruminant mammalian herbivores. *Comparative Biochemistry and Physiology, Parte A: Physiology*, 158: 177-181.

G

- Gallois M., 2006. Statut nutritionnel du lapereau: Maturation des estructures et des fonctions digestives et sensibilite a une infecction par une souche enteropathogene d` *Escherichia Coli*. Tesis Doctoral, Institut National Polytechnique, Toulouse (Francia). 288 págs.
- Gallois M., Gidenne T., Fortun-Lamothe L., Le Huërou-Luron I., 2005. An early stimulation of solid feed intake slightly influences the morphological gut maturation in the rabbit. *Reproduction, Nutrition, Development*, 45: 109-122.
- Gallois M., Gidenne T., Tasca C., Caubet C., Coudert C., Milon A., Boullier S., 2007. Maternal milk contains antimicrobial factors that protect young rabbits from enteropathogenic *Escherichia Coli* infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14: 585-592.
- Gallois M., Le Huërou-Luron I., Fortun-Lamothe L., Lallès J.P., Gidenne T., 2008a. Adaptability of the digestive function according to age at weaning in the rabbit. I. Effect on feed intake and digestive functionality. *Animal*, 2: 525-535.
- Gallois M., Fortun-Lamothe L., Michelan A., Gidenne T., 2008b. Adaptability of the digestive function according to age at weaning in the rabbit. II. Effect on nutrient digestion in the small intestine and in the whole digestive tract. *Animal*, 2: 536-547.
- Gallois M., Gidenne T., Orengo J., Caubet C., Tasca C., Milon A., Boullier S., 2008c. Testing the efficacy of medium chain fatty acids against rabbit colibacillosis. *Veterinary Microbiology*, 131: 192-198.
- García J., Carabaño R., De Blas J.C., 1999. Effect of fiber source on cell wall digestibility and rate of passage in rabbits. *Journal of Animal Science*, 77: 898–905.
- García J., Carabaño R., Pérez-Alba L., De Blas J.C., 2000. Effect of fiber source on cecal fermentation and nitrogen recycled through cecotrophy in rabbits. *Journal of Animal Science*, 78: 638-646.
- García J., Gidenne T., Falcão-e-Cunha L., De Blas J.C., 2002. Identification of the main factors that influence caecal fermentation traits in growing rabbits. *Animal Research*, 51: 165–173.

-
- García J., Gómez-Conde S., Chamorro S., Nicodemus N., De Blas C., Carabaño R., Pérez De Rozas A., Badiola I., 2005. Proyecto INIA sobre Enteropatía Mucoide: Resultados sobre investigaciones en nutrición. *XXX Symposium de Cunicultura (ASESCU)*, Valladolid (España): 157-166.
 - García-Palomares J., Carabaño R., García-Rebollar P., De Blas J.C., Corujo A., García-Ruiz A.I., 2006. Effects of a dietary protein reduction and enzyme supplementation on growth performance in the fattening period. *World Rabbit Science*, 14: 231-236.
 - García-Ruiz A.I., García-Palomares J., García-Rebollar P., Chamorro S., Carabaño R., Blas C., 2006. Effect of protein source and enzyme supplementation on ileal protein digestibility and fattening performance in rabbits. *Spanish Journal of Agriculture Research*, 4: 297-303.
 - Gázquez A., Blanco A., 2004. *Tratado de Histología Veterinaria*. Ed. Masson, S.A., Barcelona (España): 271 págs.
 - Gidenne T., 1986. Évolution nyctémérale des produits de la fermentation bactérienne dans le tube digestif du lapin en croissance. Relations avec la teneur en lignines de la ration. *Annales de Zootechnie*, 35: 121-136.
 - Gidenne T., 1992. Effect of fibre level, particle size and adaptation period on digestibility and rate of passage as measured at the ileum and in the faeces in the adult rabbit. *British Journal of Nutrition*, 67: 133-146.
 - Gidenne T., 1994. Estimation of volatile fatty acids and of their energetic supply in the rabbit caecum: effect of the dietary fibre level. *4^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, Paris (France), 2: 293-299.
 - Gidenne T., 1997. Caeco-colic digestion in the growing rabbit: impact of nutritional factors and related disturbances. *Livestock Production Science*, 51: 73-88.
 - Gidenne T., 2003. Fibres in rabbits feeding for digestive troubles prevention: respective role of low-digested and digestible fibre. *Livestock Production Science*, 81: 105-117.
 - Gidenne T., Bellier R., 1992. Etude *in vivo* de l'activité fermentaire caecale chez le lapin. Mise au point et validation d'une nouvelle technique de canulation caecale. *Reproduction, Nutrition, Development*, 32: 365-376.

- Gidenne T., Bellier R., 2000. Use of digestible fibre in replacement to available carbohydrates. Effect on digestion, rate of passage and caecal fermentation pattern during the growth of the rabbit. *Livestock Production Science*, 63: 141-152.
- Gidenne T., Feugier A., 2009. Feed restriction strategy in the growing rabbit. 1. Impact on digestion, rate of passage and microbial activity. *Animal*, 3: 501-508.
- Gidenne T., Fortun-Lamothe L., 2002. Feeding strategy for young rabbit around weaning: a review of digestive capacity and nutritional needs. *Animal Science*, 75: 169-184.
- Gidenne T., Fortun-Lamothe L., 2004. Growth, health status and digestion of rabbits weaned at 23 or 32 days of age. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, Puebla (México): 846-852.
- Gidenne T., Jehl N., 1996. Replacement of starch by digestible fibre in the feed for the growing rabbit. 1. Consequences for digestibility and rate of passage. *Animal Feed Science and Technology*, 61: 183-192.
- Gidenne T., Lebas F., 2005. Le comportement alimentaire du lapin. 11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris (France): 183-196.
- Gidenne T., Perez J.M., 1994. Apports de lignines et alimentation du lapin en croissance. I. Conséquences sur la digestion et le transit. *Annales de Zootechnie*, 43: 313-322.
- Gidenne T., Perez J.M., 1996. Apports de cellulose dans l'alimentation du lapin en croissance. I. Conséquences sur la digestion et le transit. *Annales de Zootechnie*, 45: 289-298.
- Gidenne T., Perez J.M., 2000. Replacement of digestible fibre by starch in the diet of the growing rabbit. I. Effects on digestion, rate of passage and retention of nutrients. *Annales de Zootechnie*, 49: 357-368.
- Gidenne T., Poncet C., 1985. Digestion, chez le lapin en croissance, d'une ration à taux élevé de constituants pariétaux: étude méthodologique pour le calcul de digestibilité apparente, par segment digestif. *Annales de Zootechnie*, 34: 429-446.

-
- Gidenne T., Bellier R., van Eys J., 1998. Effect of the dietary fibre origin on the digestion and on the caecal fermentation pattern of the growing rabbit. *Journal Animal Science*, 66: 509-517.
 - Gidenne T., Pinheiro V., Falcão-e-Cunha L., 2000. A comprehensive approach of the rabbit digestion: consequences of a reduction in dietary fibre supply. *Livestock Production Science*, 64: 225-237.
 - Gidenne T., Jehl N., Segura M., Michalet-Doreau B., 2002. Microbial activity in the caecum of the rabbit around weaning: impact of a dietary fibre deficiency and of intake level. *Animal Feed Science and Technology*, 99: 107-118.
 - Gidenne T., Lapanouse A., Fortun-Lamothe L., 2003. Comportement alimentaire du lapereau sevré précocement: effect du diamètre du granulé. *10^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, Paris (Francia): 17-19.
 - Gidenne T., Jehl N., Lapanouse A., Segura M., 2004a. Inter-relationship of microbial activity, digestion and gut health in the rabbit: effect of substituting fibre by starch in diets having a high proportion of rapidly fermentable polysaccharides. *British Journal of Nutrition*, 92: 95-104.
 - Gidenne T., Lapanouse A., Fortun-Lamothe L., 2004b. Feeding strategy for the early weaned rabbits: interest of a high energy and protein starter diet on growth and health status. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, Puebla (México): 853-860.
 - Gidenne T., Mirabito L., Jehl N., Perez J.M., Arveux P., Bourdillon A., Briens C., Duperray J., Corrent E., 2004c. Impact of replacing starch by digestible fibre, at two levels of lignocellulose, on digestion, growth and digestive health of the rabbit. *Animal Science*, 78: 389-398.
 - Gidenne T., Feugier A., Lacroix S., 2005a. Efficacité digestive chez le lapereau sevré précocement: méthode de mesure et effets du ratio protéine sur énergie de l'aliment. *11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, Paris (Francia): 141-144.
 - Gidenne T., Segura M., Lapanouse A., 2005b. Effect of cereal sources and processing in diets for the growing rabbit. I. Effects on digestion and fermentative activity in the caecum. *Animal Research*, 54: 55-64.

-
- Gidenne T., Jehl N., Perez J.M., Arveux P., Bourdillon A., Mousset J.L., Duperray J., Stephan S., Lamboley B., 2005c. Effect of cereal sources and processing in diets for the growing rabbit. II. Effects on performance and mortality by enteropathy. *Animal Research*, 54: 65-72.
 - Gidenne T., Carabaño R., Badiola I., García J., Licois D., 2007a. L`écosystème caecal chez le lapin domestique: Impact de la nutrition et de quelques facteurs alimentaires. Conséquences sur la santé digestive du lapereau. 12^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans (Francia): 59-72.
 - Gidenne T., Debray L., Fortun-Lamothe L., Le Huërou-Luron I., 2007b. Maturation of the intestinal digestion and of microbial activity in the young rabbit: impact of the dietary fibre: starch ratio. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Physiology*, 148: 834-844.
 - Gidenne T., Combes S., Licois D., Carabaño R., Badiola I., García J., 2008. Ecosystème caecal et nutrition du lapin: interactions avec la santé digestive. *INRA Productions Animales*, 21: 239-250.
 - Gidenne T., Combes S., Feugier A., Jehl N., Arveux P., Boisot P., Briens C., Corrent E., Fortune H., Montessuy S., Verdelhan S., 2009a. Feed restriction strategy in the growing rabbit. 2. Impact on digestive health, growth and carcass characteristics. *Animal*, 3: 509-515.
 - Gidenne T., Murr S., Travel A., Corrent E., Foubert C., Bebin K, Mevel L., Rebours G., Renouf B., 2009b. Effets du niveau de rationnement et du mode de distribution de l´aliment sur les performances et les troubles digestifs post-sevrage du lapereau – premiers resultats d´une étude concertée du reseau GEC. *Cuniculture Magazine*, 36: 65-72.
 - Gidenne T., Carabaño R., García J., De Blas J.C., 2010a. Fibre digestion. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (Reino Unido): 66-82.
 - Gidenne T., García J., Lebas F., Licois D., 2010b. Nutrition and feeding strategy: interactions with pathology. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (Reino Unido): 179-199.

-
- Gidenne T., Lebas F., Fortun-Lamothe L., 2010c. Feeding behaviour of rabbits. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit, 2nd ed.*, CAB International, Wallingford (Reino Unido): 233-252.
 - Gidenne T., Combes S., Fortun-Lamothe L., 2012a. Feed intake limitation strategies for the growing rabbit: effect on feeding behaviour, welfare, performance, digestive physiology and health: a review. *Animal*, 6: 1407-1419.
 - Gidenne T., Combes S., Briens C., Duperray J., Mevel L., Rebours G., Salaün J.M., Weissman D., Combe Y., Travel A., 2012b. Intake limitation strategy and dietary protein concentration: effect on rabbit growth performance and health, from a large-scale study in a French network of experimental unit (GEC). *Proceedings of the 10th World Rabbit Congress*, Sharm El- Sheikh (Egipto): 597-601.
 - Gidenne T., Combes S., Fortun-Lamothe L., 2013a. Protein replacement by digestible fibre in the diet of growing rabbits. 1: impact on digestive balance, nitrogen excretion and microbial activity. *Animal Feed Science and Technology*, 183: 132–141.
 - Gidenne T., Kerdiles V., Jehl N., Arveux P., Eckenfelder B., Briens C., Stephan S., Fortune H., Montessuy S., Muraz G., 2013b. Protein replacement by digestible fibre in the diet of growing rabbits. 2: impact on performances, digestive health and nitrogen output. *Animal Feed Science and Technology*, 183: 142–150.
 - Gómez-Conde M.S., García J., Chamorro S., Eiras P., Rebollar P.G., Pérez de Rozas A., Badiola I., De Blas J.C., Carabaño R., 2007. Neutral detergent-soluble fiber improves gut barrier function in twenty-five-day-old weaned rabbits. *Journal of Animal Science*, 85: 3313-3321.
 - Gómez-Conde M.S., Pérez de Rozas A., Badiola I., Pérez-Alba L., de Blas C., Carabaño R., García J., 2009. Effect of neutral detergent soluble fibre on digestion, intestinal microbiota and performance in twenty five day old weaned rabbits. *Livestock Science*, 125: 192–198.
 - Gouet P., Fonty G., 1973. Evolution de la microflore digestive du lapin holoxénique de la naissance au sevrage. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 13: 733-735.

- Gouet P., Fonty G., 1979. Changes in the digestive microflora of holoxenic rabbits from birth until adulthood. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 19: 553-566.
- Grueso I., De Blas J.C., Cachaldora P., Mendez J., Losada B., García-Rebollar P., 2013. Combined effects of supplementation of diets with hops and of a substitution of starch with soluble fiber on feed efficiency and prevention of digestive disorders in rabbits. *Animal Feed Science and Technology*, 180: 92-100.
- Gutiérrez I., García P., Carabaño R., de Blas C., 2000. Effect of supplementation with animal plasma and antibiotics on jejunal morphology of early-weaned rabbits. *World Rabbit Science*, 8 (Suppl. 1, vol. C): 263–267.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas J.C., 2002a. Effect of levels of starch, fiber, and lactose on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *Journal of Animal Science*, 80: 1029-1037.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas C., 2002b. Effects of starch and protein sources, heat processing, and exogenous enzymes in starter diets for early-weaned rabbits. *Animal Feed Science and Technology*, 98: 175-186.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas J.C., 2003. Effect of protein source on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *Animal Research*, 52: 461-471.
- Gyarmati T., Szendro Z., Maertens L., Biro-Németh E., Radnai I., Milisits G., Matics Z., 2000. Effect of suckling twice a day on the performance of suckling and growing rabbits. *World Rabbit Science*, 8 (suppl. 1, vol. C): 283–290.

H - K

- Haffar A., Laval A., Guillou J.P., 1988. Entérotoxémie à *Clostridium spiroforme* chez des lapins adultes. *Le Point Vétérinaire*, 20: 99-102.
- Hall M.B., Lewis B.A., Van Soest P.J., Chase L.E., 1997. A simple method for estimation of neutral detergent-soluble fibre. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74: 441–449.

-
- Hanson N.B., Lanning D.K., 2008. Microbial induction of B and T cells areas in rabbit appendix. *Developmental and Comparative Immunology*, 32: 980-991.
 - Hedemann M.S., Eskildsen M., Laerke H.N., Pedersen C., Lindberg J.E., Laurinen P., Bach-Knudsen K.E., 2006. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber properties. *Journal of Animal Science*, 84: 1375-1385.
 - Heras J., Martínez E., Ródenas L., Martínez- Vallespín B., Fernández C., Blas E., Cervera C., 2010. Costes asociados al manejo de la alimentación y al pienso empleado. *XXXV Symposium de Cunicultura (ASESCU)*, Segovia (España): 65-68.
 - Hill R.R.H., 1983. Distribution of urease producing bacteria in the rabbit caecum. *South African Journal of Animal Science*, 13: 61-62.
 - Hill R.R.H., 1986. Digestion of mucin polysaccharides *in vitro* by bacteria isolated from the rabbit cecum. *Current Microbiology*, 14: 117-120.
 - Hintz H.F., Schryver H.F., Stevens C.E., 1978. Digestion and absorption in the hindgut of nonruminant herbivores. *Journal of Animal Science*, 46 (6): 1803-1807.
 - Huybens N., Houeix J., Licois D., Mainil L., Marlier D., 2009. Inoculation and bacterial analysis of fractions obtained from the reference inoculum TEC4 which experimentally reproduces epizootic rabbit enteropathy. *World Rabbit Science*, 17:185-193.
 - Iannaccone F., Bovera F., Di Meo C., Piccolo G., Nizza A., 2012. Mannan-oligosaccharides can modify caecal fermentations of rabbits in the postweaning. *Proceedings of the 10th World Rabbit Congress*. Sharm El-Sheikh (Egipto): 629-633.
 - IO7. 1993. La banque de données de l'alimentation animal (V2.5). Association Française de Zootechnie, Paris (Francia).
 - Jasper P.J., Zhai S.K., Kalis S.L., Kingzette M., Knight K.L., 2003. B lymphocyte development in rabbit: progenitor B cells and waning of B lymphopoiesis. *Journal of Immunology*, 171: 6372-6380.
 - Jehl N., Gidenne T., 1996. Replacement of starch by digestible fibre in feed for the growing rabbit. 2. Consequences for microbial activity in the caecum and on incidence of digestive disorders. *Animal Feed Science and Technology*, 61: 193-204.

- Jehl N., Martin C., Nozière P., Gidenne T., Michalet-Doreau B., 1995. Comparative fibrolytic activity of different microbial populations from rabbit caecum and bovine rumen. *Annales de Zootechnie*, 44 (suppl.1): 186.
- Kimsé M., 2009. Caractérisation de l'écosystème caecal et santé digestive du lapin: contrôle nutritionnel et interaction avec la levure probiotique *Saccharomyces cerevisiae*. *Thèse de Doctorat*, Institut National Polytechnique, Toulouse (France): 248 pág.
- Kimsé M., Bayourthe C., Monteils V., Fortun-Lamothe L., Cauquil L., Combes S., Gidenne T., 2012. Live yeast stability in rabbit digestive tract: Consequences on the caecal ecosystem, digestion, growth and digestive health. *Animal Feed Science and Technology*, 173: 235-243.
- Kušar D., Avguštin G., 2010. Molecular profiling and identification of methanogenic archaeal species from rabbit caecum. *FEMS Microbiology Ecology*, 74: 623-630.

L

- Lanning D., Sethupathi P., Rhee K.J., Zhai S., Knight K.L., 2000a. Intestinal microflora and diversification on the rabbit antibody repertoire. *Journal of Immunology*, 165: 2012-2019.
- Lanning D., Zhu X., Zhai S., Knight K.L., 2000b. Development of the antibody repertoire in the rabbit: gut-associated lymphoid tissue, microbes and selection. *Immunological Reviews*, 175: 214-228.
- Lebas F., 2000. Vitamins in rabbits nutrition: literature review and recommendations. *World Rabbit Science*, 8 (4): 185-192.
- Lebas F., 2002. Biologie du lapin. 4.4 Comportement alimentaire, <http://www.cuniculture.info/Docs/Biologie/biologie-04-4.htm>
- Lebas F., 2004. Recommandations pour la composition d'aliments destinés à des lapins en production intensive. *Cuniculture Magazine*, 31: 2.

-
- Lebas F., Laplace J.P., 1972. Mensurations viscérales chez le lapin. I.- Croissance du foie, des reins et des divers segments intestinaux entre 3 et 11 semaines d'âge. *Annales de Zootechnie*, 21(1): 37-47.
 - Lebas F., Corring T., Courtot D., 1971. Équipement enzymatique du pancréas exocrine chez le lapin, mise en place et évolution de la naissance au sevrage. Relation avec la composition du régime alimentaire. *Annales de Biologie Animale, Biochimie et Biophysique*, 1: 399-413.
 - Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H., Thébault R.G., 1996. *Le lapin: Elevage et pathologie*. FAO (Eds.), Roma (Italia), 227 págs.
 - Li B.W., 1995. Determination of total dietary fiber in foods and food products by using a single-enzyme, enzymatic-gravimetric method: interlaboratory study. *Journal of the AOAC International*, 78 : 1440-1444.
 - Licois D., Gidenne T., 1999. L'emploi d'un régime déficient en fibres par le lapereau augmente sa sensibilité vis à vis d'une infection expérimentale par une souche d'*Escherichia coli* entéropathogène. 8^{ème} Journées Recherche Cunicoles, Paris (Francia): 101-104.
 - Licois D., Coudert P., Ceré N., Vautherot J.F., 2000. Epizootic enterocolitis in the rabbit: review of current research. *World Rabbit Science*, 8 (Suppl. 1, vol. B): 187-194.
 - Licois D., Wyers M., Coudert P., 2005. Epizootic rabbit enteropathy: experimental transmission and clinical characterization. *Veterinary Research*, 36: 601-613.

M - O

- Madara J.L., Trier J.S., 1987. Functional morphology of the mucosa of the small intestine. En Johnson L.R. (Eds.), *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 2nd ed., Raven Press, New York (EEUU): 1209-1249.
- Maertens L., 1994. Influence du diamètre du granulé sur les performances des lapereaux avant sevrage. 6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole. ITAVI, Paris (Francia): 325-332.

-
- Maertens L., 1998. Fats in rabbit nutrition: A review. *World Rabbit Science*, 6: 341-348.
 - Maertens L., De Groote G., 1990. Feed intake of rabbit kits before weaning and attempts to increase it. *Journal of Applied Rabbit Research*, 13: 151–158.
 - Maertens L., Piattoni F., 2001. Effect of weaning age and solid feed distribution before weaning on performances, caecal traits and caecal fermentation pattern of young rabbits. *2nd Meeting of workgroups 3 (Pathology and Prophylaxy) and 4 (Nutrition)*, COST Action 848, Gödöllő (Hungria): 45–46.
 - Maertens L., Perez J.M., Villamide M.J., Cervera C., Gidenne T., Xiccato G., 2002. Nutritive value of raw materials for rabbits: EGRAN tables 2002. *World Rabbit Science*, 10: 157-166.
 - Maertens L., Lebas F., Szendrő Z., 2006. Rabbit milk: a review of quantity, quality and non dietary affecting factors. *World Rabbit Science*, 14: 205-230.
 - Mage R.G., Lanning D., Knight K.L., 2006. B cell and antibody repertory development in rabbits: The requirement of gut-associated lymphoid tissues. *Developmental and Comparative Immunology*, 30: 137-153.
 - Makkar H.P.S., Sing B., 1987. Comparative enzymatic profiles or rabbit caecum and bovine rumen contents. *Journal of Applied Rabbit Research*, 10: 172-174.
 - Marounek M., Vovk S. J., Skrivanova V., 1995. Distribution of activity of hydrolytic enzymes in the digestive tract of rabbits. *British Journal of Nutrition*, 73: 463-469.
 - Martínez-Vallespin B., 2011. Use of weaning diets in combined feeding of females and young rabbits. *Tesis Doctoral*, Universidad Politécnica de Valencia, 115 págs.
 - Martínez-Vallespin B., 2012. Alimentación y riesgo de enteropatía. *Cunicultura*, (37) 216: 19-22.
 - Martínez-Vallespin B., Martínez-Paredes E., Ródenas L., Cervera C., Pascual J.J., Blas E., 2011a. Combined feeding of rabbit female and young: partial replacement of starch with acid detergent fibre or/and neutral detergent soluble fibre at two protein levels. *Livestock Science*, 141: 155–165.

-
- Martínez-Vallespín B., Navarrete C., Martínez-Paredes E., Ródenas L., Cervera C., Blas E., 2011b. Determination of neutral detergent soluble fibre: modifications of the original method. *Proceedings of the 14th Conference on Animal Production, AIDA-ITEA, Zaragoza (España)*: 291–293.
 - Martínez-Vallespín B., Martínez-Paredes E., Ródenas L., Moya V.J., Cervera C., Pascual J.J., Blas E., 2013. Partial replacement of starch with acid detergent fibre and/or neutral detergent soluble fibre at two protein levels: effects on ileal apparent digestibility and caecal environment of growing rabbits. *Livestock Science*, 154: 123–130.
 - Massip K., Combes S., Cauquil L., Zemb O., Gidenne T., 2012. High throughput 16S-DNA sequencing for phylogenetic affiliation of the caecal bacterial community in the rabbit - Impact of the hygiene of housing and of the intake level. *Proceedings of the Symposium on Gut Microbiology. Gut microbiota: friend or foe?*, Clermont-Ferrand (Francia): 17 - 20 june.
 - McDonald D.E., Pethick D.W., Mullan B.P., Hampson D.J., 2001. Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* in newly-weaned pigs. *British Journal of Nutrition*, 86: 487-498.
 - Merino J., Carabaño R., 2003. Efecto de la cecotrofia sobre la composición química de la digesta y sobre la digestibilidad ileal. *ITEA*, 24: 657–659.
 - Michelland R., Combes S., Cauquil L., Gidenne T., Monteils V., Fortun-Lamothe L., 2008. Characterization of bacterial communities in caecum, hard and soft feces of rabbit using 16S rRNA genes capillary electrophoresis single-strand conformation polymorphism (CE-SSCP). *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress*, Verona (Italia): 1025-1030.
 - Monteils V., Cauquil L., Combes S., Godon J.J., Gidenne T., 2008. Potential core species and satellite species in the bacterial community within the rabbit caecum. *FEMS Microbiology Ecology*, 66: 620-629.
 - Morisse J.P., 1987. Factors affecting susceptibility of rabbit litters to enteritis. *Journal of Applied Rabbit Research*, 10: 106-110

- Morisse J.P., Maurice R., Cotte J.P., Le Gall G., 1989. Effect of a pre-weaning diet on some physiological and production parameters in rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research*, 12: 190-193.
- Nicodemus N., Carabaño R., García J., Méndez J., de Blas C., 1999. Performance response of lactating and growing rabbits to dietary lignin content. *Animal Feed Science and Technology*, 80: 43-54.
- Nicodemus N., Gómez-Conde M.S., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas C., 2003. Efecto de la utilización de bacitracina de zinc y sulfato de apramicina sobre la digestión en gazapos destetados precozmente. *XXVIII Symposium de Cunicultura (ASESCU)*, Alcañiz (España): 163-170.
- Nicodemus N., Pérez-Alba L., Carabaño R., De Blas C., Badiola I., Pérez de Rozas A., García J., 2004. Effect of level of fibre and level of ground of fibre sources on digestion and ileal and caecal characterization of microbiota of early weaned rabbits. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, Puebla (México): 928-929.
- Nizza A., Stanco G., Di Meo C., Marongiu M.L., Taranto S., Cutrignelly M.I., Juliano L., 2002. Effect of pre-weaning solid feed and milk intake on caecal content characteristics and performance of rabbits around weaning. *Italian Journal of Animal Science*, 2: 95-101.

P - Q

- Padilha M.T.S., Licois D., Gidenne T., Carré B., Fonty G., 1995. Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning. *Reproduction, Nutrition, Development*, 35 (4): 375-386.
- Padilha M.T.S., Licois D., Gidenne T., Carré B., 1999. Caecal microflora and fermentation pattern in exclusively milk-fed young rabbits. *Reproduction, Nutrition, Development*, 39: 223-230.
- Pappo J., 1989. Generation and characterization of monoclonal antibodies recognizing follicle epithelial M cells in rabbit gut-associated lymphoid tissue. *Cellular Immunology*, 120: 31-41.

-
- Pascual J.J., 2001. Early weaning of young rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 9: 165-170.
 - Pascual J.J., Tolosa C., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J., 1999a. Effect of diets with different digestible energy content on the performance of rabbit does. *Animal Feed Science and Technology*, 81: 105–117.
 - Pascual J.J., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J., 1999b. Effect of high fat diets on the performance, milk yield and milk composition of multiparous rabbit does. *Animal Science*, 68: 151-162.
 - Pascual J.J., Cervera C., Fernández-Carmona J., 2001. Effect of solid feed intake before weaning on the performance of growing rabbits. *2nd Meeting of Workgroups 3 (Pathology and Prophylaxy) and 4 (Nutrition)*, COST Action 848, Gödöllő (Hungria), 48.
 - Pascual M.A., Soler M.D., Cervera C., Pla M., Pascual J., Blas E., 2014. Feeding programmes based on highly-digestible fibre weaning diets: effects on health, growth performance and carcass and meat quality in rabbits. *Livestock Science*, in press.
 - Perez J.M., Gidenne T., Lebas F., Caudron I., Arveux P., Bourdillon A., Duperray J., Messenger B., 1994. Apports de lignines et alimentation du lapin en croissance. II. Conséquences sur les performances et la mortalité. *Annales de Zootechnie*, 43: 323-332.
 - Perez J.M., Lebas F., Gidenne T., Maertens L., Xiccato G., Parigi-Bini R., Dalla Zotte A., Cossu M.E., Carazzolo A., Villamide M.J., Carabaño R., Fraga M.J., Ramos M.A., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J., Falcão-e-Cunha L., Bengala-Freire J., 1995. European reference method for in vivo determination of diet digestibility in rabbits. *World Rabbit Science*, 3: 41-43.
 - Perez J.M., Gidenne T., Bouvarel I., Arveux P., Bourdillon A., Briens C., Le Naour J., Messenger B., Mirabito L., 1996. Apports de cellulose dans l'alimentation du lapin en croissance. II. Conséquences sur les performances et la mortalité. *Annales de Zootechnie*, 45: 299-309
 - Perez J.M., Gidenne T., Bouvarel I., Arveux P., Bourdillo, A., Briens C., Le Naour J., Messenger B., Mirabito L., 2000. Replacement of digestible fibre by starch in the diet of the growing rabbit. II. Effects on performances and mortality by diarrhoea. *Annales de Zootechnie*, 49: 369-377.

- Pérez de Rozas A., Carabaño R., García J., Rosell J., Díaz J. V., Barbé J., Pascual J.J., Badiola I., 2005. Etiopatogenia de la Enteropatía Epizoótica. *XXX Symposium de Cunicultura (ASESCU)*, Valladolid (España): 167-174.
- Piattoni F., Maertens L., Demeyer D., 1996. *In vitro* study of the age-dependent caecal fermentation pattern and methanogenesis in young rabbits. *Reproduction, Nutrition, Development*, 36:253-261.
- Piattoni F., Demeyer D., Maertens L., 1997. Fasting effects on *In Vitro* Fermentation pattern of rabbit caecal contents. *World Rabbit Science*, 5: 23-26.
- Piattoni, F., Maertens L., Mazzoni D., 1999. Effect of weaning age and solid feed distribution before weaning on performances and caecal traits of young rabbits. *2nd International Conference on Rabbit Production in Hot Climates. Cahiers Options Méditerranéennes*, 41:85-92.
- Pinheiro V., Gidenne T., 2000. Substitution of wheat by potato starch for growing rabbits: effect on performances, digestion and health. *World Rabbit Science*, 8 (Suppl. 1, Vol C): 391-398.
- Pla M., Cervera C., 1997. Carcass and meat quality of rabbits given diets having a high level of vegetable or animal fat. *Animal Science*, 65: 299-303.
- Pluske J.R., Hampson D.J., Williams I.H., 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livestock Production Science*, 51: 215-236.
- Portsmouth J.J., 1977. The nutrition of the rabbits. En Haresing W., Swan H., Lewis D. (Eds.), *Nutrition and the Climatic Environment*. Butterworths, London (Reino Unido): 93-111.

R - S

- Remois G., Lafargue-Hauret P., Rouillere H., 1996. Effect of amylase supplementation in rabbit feed on growth performance. *Proceedings of the 6th Congress of World Rabbit Science Association*, Toulouse (Francia), 1: 289-292.

-
- Roitt I.M., Delves P.J., 2003. La anatomía de la respuesta inmune. *Inmunología*, 10^a ed., Editorial Médica Panamericana, Madrid (España): 163-181.
 - Rodríguez-Romero N., Abecia L., Fondevila M., Balcells J., 2011. Effects of levels of insoluble and soluble fibre in diets for growing on faecal digestibility, nitrogen recycling and *in vitro* fermentation. *World Rabbit Science*, 19: 85–94.
 - Romero C., Nicodemus N., García-Rebollar P., García-Ruiz A.I., Ibáñez M.A., De Blas J.C., 2009. Dietary level of fibre and age at weaning affect the proliferation of *Clostridium perfringens* in the caecum, the incidence of Epizootic Rabbit Enteropathy and the performance of fattening rabbits. *Animal Feed Science and Technology*, 153: 131-140.
 - Romero C., Cuesta S., Astillero J.R., Nicodemus N., De Blas C., 2010. Effect of early feed restriction on performance and health status in growing rabbits slaughtered at 2 kg live-weight. *World Rabbit Science*, 18: 211–218.
 - Rosell J.M., 1996. Rabbit mortality survey. Necropsy findings in the field during the period 1989-1995. *Proceedings of the 6th World Rabbit Congress*. Toulouse (France), 3: 107-112.
 - Rosell J.M., Badiola I., 2001. Diseases in comercial rabbitries in Spain. Perspective of the practitioners. *2nd Meeting of workgroups 3 (pathology and prophylaxy) and 4 (Nutricion)*, COST Action 848, Gödollo (Hungría): 25.
 - Rosell J.M., Cuervo L., Argüello J.L., Badiola J.I., Blas E., 2000. Enteropatía mucoide. En Rosell J.M. (ed), *Enfermedades del conejo*. 1^a ed. Vol. 2. Mundi-Prensa Libros, Madrid (España): 605 págs.
 - Sabatakou O., Xylouri-Frangiadaki E., Paraskevakou E., Papantonakis K., 1999. Scanning electron microscopy of stomach and small intestine of rabbit during foetal and post natal life. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 31 (1): 107-114.
 - SAS Institute Inc., 2004. *SAS/STAT[®] 9.1 User's guide*. Cary, NC: SAS Institute Inc.
 - Scapinello C., Gidenne T., Fortun-Lamothe L., 1999. Digestive capacity of the rabbit during the post-weaning period according to milk/solid feed intake pattern before weaning. *Reproduction, Nutrition, Development*, 39: 423–432.

- Schumacher U., Duku M., Katoh M., Jörns J., Krause W.J., 2004. Histochemical similarities of mucins produced by Brunner´s glands and pyloric glands: A comparative study. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, 278 (2): 540-550.
- Sirotek K., Marounek M., Rada V., Benda V., 2001. Isolation and characterization of rabbit caecal pectinolytic bacteria. *Folia Microbiologica*, 46 (1): 79-82.
- Sirotek K., Santos E., Benda V., Marounek M., 2003. Isolation, identification and characterization of rabbit caecal mucinolytic bacteria. *Acta Veterinaria Brunensis*, 72: 365-370.
- Sirotek K., Slováková L., Kopečný J., Marounek M., 2004. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin-degrading enzymes in the rabbit caecal bacterium *Bacteroides caccae*. *Letters In Applied Microbiology*, 38: 327-332.
- Sirotek K., Marounek M., Suchorská O., 2006. Activity and cellular location of amylases of rabbit caecal bacteria. *Folia Microbiologica*, 51: 309-312.
- Skrivanova E., Marounek M., 2002. Effects of caprylic acid on performance and mortality of growing rabbits. *Acta Veterinaria Brunensis*, 71: 435-439.
- Skrivanova E., Marounek M., 2006. A note on the effect of triacylglycerols of caprylic and capric fatty acid on performance, mortality, and digestibility of nutrients in young rabbits. *Animal Feed Science and Technology*, 127: 161-168.
- Skrivanova E., Molatova Z., Marounek M., 2008. Effects of caprylic acid and triacylglycerols of both caprylic and capric acid in rabbits experimentally infected with enteropathogenic *Escherichia coli* O103. *Veterinary Microbiology*, 126: 372-376.
- Skrivanova E., Molatova Z., Skrivanova V., Marounek M., 2009. Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O103. *Veterinary Microbiology*, 135: 358-362.
- Snipes R.L., 1978. Anatomy of the rabbit cecum. *Anatomy and embryology*, 155: 57-80.
- Snipes R.L., Snipes H., 1997. Quantitative investigation of the intestines in eight species of domestic mammals. *International Journal of Mammalian Biology*, 62 (6): 359-371.

-
- Soler M. D., Blas E., Cervera C., Biglia S., Casado C., Fernández-Carmona J., 2005. Ingestión de pienso en gazapos lactantes: efecto estacional y relación con la ingestión de leche. *XXX Symposium de Cunicultura (ASESCU), Valladolid (España)*: 129–134.
 - Suau A., Bonnet R., Sutren M., Godon J.J., Gibson G.R., Collins M.D., Doré J., 1999. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (11): 4799-4807.

T - V

- Takeuchi T., Gonda T., 2004. Cellular kinetics of villous epithelial cells and M cells in rabbit small intestine. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66 (6): 689-693.
- Toofanian F., 1984. The fetal and postnatal development of small intestinal disaccharidases in the rabbit. *Laboratory Animal Science*, 34: 268-271.
- Toofanian F., Targowski S.P., 1982. Morphogenesis of rabbit small intestinal mucosa. *American Journal of Veterinary Research*, 43 (12): 2213-2219.
- Travel A., Mirabito L., Chanay I., Souchet C., Galliot P., Weissman D., Corrente E., Davoust C., 2009. Préférences alimentaires du lapereau selon le diameter du granule dans le cadre d'une alimentation séparée mère-jeunes. *13^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, Le Mans (Francia): 4.
- Trocino A., Fragkiadakis M., Radaelli G., Xiccato G., 2010. Effect of dietary soluble fibre level and protein source on growth, digestion, caecal activity and health of fattening rabbits. *World Rabbit Science*, 18: 199-210.
- Trocino A., Fragkiadakis M., Majolini D., Carabaño R., Xiccato G., 2011. Effect of the increase of dietary starch and soluble fibre on digestive efficiency and growth performance of meat rabbits. *Animal Feed Science and Technology*, 165: 265-277.
- Trocino A., Fragkiadakis M., Majolini D., Tazzoli M., Radaelli G., Xiccato G., 2013a. Soluble fibre, starch and protein level in diets for growing rabbits: effects on digestive efficiency and productive traits. *Animal Feed Science and Technology*, 180: 73–82.

-
- Trocino A., García J., Carabaño R., Xiccato G., 2013b. A meta-analysis on the role of soluble fibre in diets for growing rabbits. *World Rabbit Science*, 21: 1-15.
 - Vadjy M., Sethupathi P., Knight K.L., 1998. Dependence of antibody somatic diversification on gut-associated lymphoid tissue in rabbit. *Journal of Immunology*, 160: 2725-2729.
 - Vaerman J.P., 1994. Phylogenetic aspects of mucosal immunoglobulins. En Ogra P.L., Lamn M.E., McGhee J.R., Mestecky L., Strober W., Bienenstock J. (Eds.), *Handbook of Mucosal Immunology*, ed. Academic Press, San Diego, California (USA): 99-104.
 - Van der Hage M.H., 1988. The morphogenesis of the small intestinal mucosa of the rabbit. A stereomicroscopical study. *Proceedings of the 4th World Rabbit Congress*, Budapest (Hungría), 3: 347-355.
 - Van der Klis J.D., Jansman A.J.M., 2002. Optimising nutrient digestion, absorption and gut barrier function in monogastrics: reality or illusion?. En: Blok M.H., Vahl H.A., de Lange L., van de Braak A.E., Hemke G., Hessing M. (Eds.), *Nutrition and Health of the Gastrointestinal Tract*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen (Países Bajos): 15-36.
 - Van Soest J.P., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
 - Verdelhan S., Bourdillon A., Morel-Saives A., 2004a. Effect of a limited access to water on water consumption, feed intake and growth of fattening rabbits. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, Puebla (México): 1015-1021.
 - Verdelhan S., Bourdillon A., Morel-Saives A., Audoin E., 2004b. Effect of a limited access to water on mortality of fattening rabbits. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, Puebla (México): 669-672.
 - Vernay M., Raynaud P., 1975. Répartitions des acides gras volatils dans le tube digestif du lapin domestique. 2) Lapins soumis au jeune. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 6: 369-377.
 - Villamide M.J., Nicodemus N., Fraga M.J., Carabaño R., 2010a. Protein digestion. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (Reino Unido): 39-55.

-
- Villamide M.J., Maertens L., De Blas C., 2010b. Feed evaluation. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit, 2nd ed.*, CAB International, Wallingford (Reino Unido): 151–162.

X - Z

- Xiccato G., 1999. Feeding and meat quality in rabbits: A review. *World Rabbit Science*, 7: 75-86.
- Xiccato G., Trocino A., 2010. Energy and protein metabolism and requirements. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit, 2nd ed.*, CAB International, Wallingford (Reino Unido): 83-118.
- Xiccato G., Cossu M.E., Trocino A., Queaque P.I., 1998. Influence du rapport amidon/fibre et de l'addition de graisse en post-sevrage sur la digestion, les performances zootechniques et la qualité bouchère du lapin. 7èmes Journées de la Recherche Cunicole, (Francia): 159-162.
- Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I., 2002. Effect of dietary starch level and source on performance, caecal fermentation and meat quality in growing rabbits. *World Rabbit Science*, 10: 147-157.
- Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I., 2003a. Effect of weaning diet and weaning age on growth, body composition and caecal fermentation of young rabbits. *Animal Science*, 77: 101-111.
- Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I., 2003b. Effet de l'âge, du poids de sevrage et de l'addition de graisse dans l'aliment sur la croissance et la qualité bouchère chez le lapin. 10^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris (Francia): 13-16.
- Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P. I., 2004a. Destete precoz del conejo: efecto de la edad y del peso al destete y del nivel de grasa en el pienso. *XXIX Symposium de Cunicultura (ASESCU)*, Lugo (España): 151-156.

- Xiccato G., Trocino A., Carraro L., Fragkiadakis M., 2004b. Digestible fibre to ADF ratio and protein concentration in diets for early-weaned rabbits. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, Puebla (México): 6.
- Xiccato G., Trocino A., Boiti C., Brecchia G., 2005. Reproductive rhythm and litter weaning age as they affect rabbit doe performance and body energy balance. *Animal Science*, 81: 289-296.
- Xiccato G., Trocino A., Carraro L., Fragkiadakis M., Majolini D., 2008. Digestible fibre to starch ratio and antibiotic treatment time in growing rabbit affected by epizootic rabbit enteropathy. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress*, Verona (Italia): 847-851.
- Xiccato G., Trocino A., Majolini D., Fragkiadakis M., Tazzoli M., 2011. Effect of decreasing dietary protein level and replacing starch with soluble fibre on digestive physiology and performance of growing rabbits. *Animal*, 5: 1179-1187.
- Yoshida T., Pleasants J.R., Reddy B.S., Wostmann B.S., 1968. Efficiency of digestion in germ-free and conventional rabbits. *British Journal of Nutrition*, 22: 723-737.
- Yu B., Chiou P.W.S., 1997. The morphological changes of the intestinal mucosa in growing rabbits. *Laboratory Animals*, 31: 254-263.

