

# Repercusiones digestivas del destete transitorio en la producción de leche y consumo de las conejas y en parámetros digestivos de gazapos en crecimiento

A. Espinosa, P.G. Rebollar y R. Carabaño

Espinosa A.; Rebollar P.G.; Carabaño R.

Dpto. de Producción animal, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.  
Ciudad Universitaria s/n. 28040 Madrid.

## Resumen

La falta de amamantamiento ocasionada por un destete transitorio de 48 horas en día 9 post-parto, produce alteraciones que se han observado en gazapos de 11 días de edad. En este trabajo se ha estudiado el efecto del destete transitorio a los 9 días de edad (48 horas), sobre la viabilidad y crecimiento de los gazapos destetados a los 35 días. En primer lugar se ha estudiado la producción de leche y el consumo de pienso, desde el día 2 al día 21 post-parto, de 8 conejas multíparas destetadas transitoriamente (48 h., el día 9 pp.) y de otras 8 que tuvieron acceso al nido. A su vez, se ha realizado un control de la velocidad de crecimiento de 194 camadas de más de 7 gazapos, pertenecientes a conejas bioestimuladas o no, desde los 9 a los 35 días de vida. También se ha determinado si los cambios en determinados parámetros digestivos de los gazapos inmediatamente después del ayuno (11 días), se mantenían en edades más avanzadas. Para ello, a los 16 y 21 días de vida respectivamente, hemos comparado el peso de algunos tramos digestivos, la actividad enzimática de la mucosa intestinal, así como la longitud de las vellosidades intestinales en 12 gazapos destetados transitoriamente (48 h. 9 días de edad) y en otros 12 gazapos controles. Se ha observado una menor producción de leche en las bioestimuladas ( $4593 \pm 150$  vs.  $5090 \pm 161$  g. de leche en 21 días), pero no se vio afectado el consumo de pienso ( $7.961 \pm 352$  vs  $7834 \pm 329$  g en 21 días). Los días siguientes a la separación se observaron descensos en el consumo y en la producción de leche ( $P < 0,05$ ). A los 21 días de edad no se observan diferencias en el peso vivo de los gazapos que, además, fueron destetados con pesos similares. Cuando los gazapos tienen 16 días de vida todavía se puede observar un menor peso del estómago (11%) y de su contenido (23%), y una menor cantidad de proteína en la mucosa yeyunal. Sin embargo, la actividad de la lactasa es mayor, la actividad sacarásica es similar y las vellosidades intestinales tienen la misma longitud. De modo que más tarde, a los 21 días de edad, todas las diferencias desaparecen, no observándose retraso alguno de los animales destetados transitoriamente con respecto a los controles. A la vista de los resultados podemos concluir que las alteraciones observadas en gazapos destetados transitoriamente 48 horas a los 9 días de edad no constituyen un grave retroceso en el desarrollo y crecimiento de estos animales.

## Abstract

The objective of this work was to study the effect of a transient doe-litter separation (48 hours at 9 days of lactation) on milk production and the evolution of body weight and digestive traits of the litter from the fasting period to the weaning (35 days old). Milk pro-

duction and feed intake was daily controlled using 16 multiparous does with more than 7 pups from day 2 to 21 days post-partum. Eight does were temporally separated from their litters (Bio-stimulating group, B) and other eight does had free access to nursing (control group, C). To study the evolution of the body weight of the young rabbits a total of 194 litters (92 and 102, assigned to B and C group respectively) were used. The body weight and the survival were controlled at 9, 11, 21 and 35 days old. A total of 48 young rabbits (24 animals per treatment) were used to study the persistence of the digestive tract changes observed during starvation. The weight of digestive tract, small intestine morphology and enzyme activity (lactase and sucrase) were controlled at 16 and 21 days of age (12 animals per age and treatment). Total milk production at 21 days of B group was lower ( $P=0,044$ ) than that recorded for C group ( $4593 \pm 150$  vs.  $5090 \pm 161$  g). From 12 to 15 days of lactation B does showed a lower milk production with respect C group ( $P<0,05$ ). The fasting period lead to a reduction ( $P< 0,001$ ) in the body weight (BW) of the separated pups ( $203 \pm 2.6$  vs.  $164 \pm 2.4$  g at 11 days of age). However, no significant differences in the BW were detected at 21 and 35 days of age between groups control and bioestimulated ( $378 \pm 7.2$  and  $869 \pm 16.2$  vs.  $382 \pm 6.3$  and  $858 \pm 12.2$  g respectively). There were not differences in mortality rate at weaning (20 %, as average). At 16 days of age, a lower relative weight of stomach and its contents and in the protein content of yeyunal mucose ( $P< 0.05$ ), was observed in B litters with respect to the C group. These differences were not detected at 21 days. Sucrase activity was similar in both groups at 16 and 21 days of age and this enzymatic activity shows a significant increase at 21 days ( $P<0,05$ ). No differences were observed on villous height between fasted and control groups at either 16 or 21 days old. In conclusion, the changes observed in the development of litters separated from their mothers 48 hours are transient. A fasting period of 48 hours at 9 days of age does not compromise the following development of the young rabbits.

## Introducción

Los animales destetados transitoriamente durante 48 horas cuando tienen 9 días de edad experimentan una pérdida de peso corporal y de los diferentes segmentos del tracto digestivo debido a la nula ingestión de leche y a la pérdida de contenido de estómago (Espinosa et al. 2002). Histológicamente se ha demostrado que la ausencia física de nutrientes puede alterar o disminuir la longitud de las vellosidades intestinales de estos animales observándose alteraciones en la actividad de las enzimas localizadas en el borde apical de éstas (Gutiérrez et al. 2000). El objetivo de este trabajo es comprobar si estas alteraciones se mantienen en edades más avanzadas comprobando la viabilidad y crecimiento de las camadas así como la caracterización de la situación digestiva en las últimas semanas de la lactación. En este trabajo también se ha estudiado la producción de leche y el consumo de pienso de las conejas sometidas a este tipo de tratamientos.

## Material y métodos

Para determinar el efecto del destete transitorio sobre el crecimiento y supervivencia de los gazapos se controló el peso y tamaño de 194 camadas a los 9, 11, 21 y 35 días de vida. Todas las camadas utilizadas en esta prueba pertenecían a conejas multíparas de más de 3 partos que fueron igualadas a un número superior de 8 gazapos el mismo día del parto para eliminar el posible efecto del tamaño de camada. Un total de 92 camadas pertenecían a hembras sometidas a destete transitorio (48 horas) el día 9 post-parto y 102 camadas pertenecían a hembras multíparas no sincronizadas. También se controló la incidencia de mortalidad hasta el destete.

Para determinar el efecto del destete transitorio sobre la producción de leche de las conejas en producción se utilizaron dieciséis reproductoras múltiparas de más de 3 partos con más de 7 gazapos por camada. Se distribuyeron en dos grupos experimentales (grupos control (C) y bioestimulado (B)) a razón de 8 conejas por tratamiento. Tras el parto se cerró el nido y se controló la lactación abriendo el nido a las 9:00 horas de la mañana y cerrándolo tras el amamantamiento. La producción de leche se estimó diariamente por diferencia, pesando a la coneja antes y después de amamantar a sus gazapos desde el día 2 al día 21 de lactación. Los dos grupos de conejas tuvieron el mismo manejo hasta el día 9, momento en el cual al grupo B tras el amamantamiento, se le impidió la entrada al nido hasta el día 11. También se controló la incidencia de mortalidad hasta el destete.

Para realizar el estudio de los parámetros digestivos, enzimáticos e histológicos, se tomaron gazapos procedentes de conejas múltiparas de entre 3 y 5 partos con más de 7 gazapos. La mitad de estas conejas fue sometida a separación transitoria de la camada el día 9 de lactación y la otra mitad se consideró como grupo control. Se controló que las camadas hubieran mamado antes de cerrar el nido a las 9 de la mañana en el primer grupo. De los dos grupos de conejas se sacrificaron mediante dislocación cervical 12 gazapos los días 16 y 21 post-parto (2 gazapos por coneja). Todos los gazapos se pesaron antes del sacrificio. Inmediatamente después de la apertura de la cavidad abdominal se pesó el estómago lleno, su contenido, y el intestino delgado y grueso llenos. Se tomaron dos porciones de la parte central del yeyuno. Una se congeló a  $-20^{\circ}$  C para determinar más tarde la actividad enzimática. La otra se aclaró con una solución de KCl 0.4 M y se conservó en una solución neutra buffer 10% de formaldehído (pH 7.2-7.4) para realizar el estudio histológico.

Cada porción de yeyuno se deshidrató gradualmente con una concentración creciente de alcohol etílico (50-100%). Posteriormente se fijó en parafina, se cortó en secciones de 6 mm y se utilizó la hematoxilina-eosina como método de tinción. Una vez fijadas las muestras en portaobjetos se determinó la longitud de las vellosidades intestinales mediante microscopía óptica, realizando 30 medidas en al menos tres cortes transversales independientes (10 medidas por corte) para cada una de las muestras de yeyuno obtenidas por animal (Hampson, 1986). Para realizar estas medidas se utilizó la aplicación informática NIH Image (desarrollada por el US National Institutes of Health que se encuentra disponible en Internet en la dirección <http://rsb.info.nih.gov/nih-image>).

Para determinar la actividad de la lactasa y la sacarasa intestinal, una vez descongeladas, las muestras se diluyeron con agua destilada (1/20 peso/volumen). Tras un proceso de homogeneización durante 30 segundos en un homogeneizador polytron (Modelo RE 16, Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik) se analizó la actividad lactásica (EC 3.2.1.23) y sacarásica (EC 3.2.1.48) usando lactosa y sacarosa como sustrato, respectivamente. La glucosa liberada, a  $37^{\circ}$  C durante 30 minutos, a partir de la disacaridasa presente en las muestras se midió por el método de la glucosa oxidasa-peroxidasa (Dahlquist, 1964).

Asimismo se tomaron alícuotas del yeyuno homogeneizado para la determinación de la concentración de proteína con un kit comercial (SIGMA Procedure No. P-5656) basado en la técnica de Lowry modificada por Peterson (1977).

Todos los animales se trataron según los principios de manejo de animales en experimentación descritos por el Real Decreto Español 223/88.

Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System, 1993). En la prueba de lactación se analizaron como un diseño completamente al azar con la sincronización de celo mediante destete transitorio como principal fuente

de variación. Los datos fueron corregidos utilizando el número de gazapos vivos a 4 días como covariable. La evolución de los pesos medios de los gazapos y el tamaño de camada se analizó utilizando el procedimiento de medidas repetidas. Todos los parámetros digestivos fueron referidos al peso vivo del animal.

## Resultados

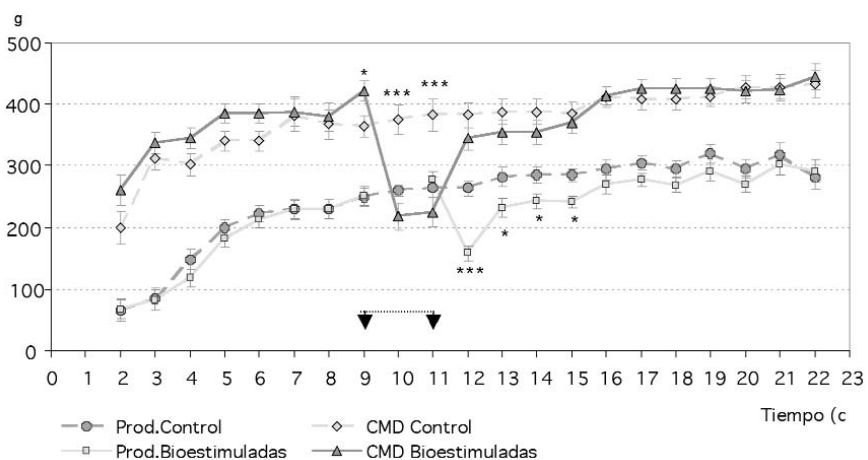
Los resultados de la evolución del peso de los gazapos desde el día 9 al 35 de vida se exponen a continuación. El peso medio de los gazapos el día 9 de vida fue similar en los dos grupos de animales, siendo de media  $178 \pm 2.7$  g. El incremento de peso entre el día 9 y 11 de vida de los gazapos del grupo control fue de 29.6 g, mientras que los gazapos que fueron separados en ese periodo de tiempo sufrieron un descenso de peso del 10% ( $P < 0.001$ ). Al comparar el peso medio a 11 días entre los dos grupos de animales se observaron diferencias significativas entre los gazapos del grupo control y bioestimulado, siendo de  $203 \pm 2.6$  y  $164 \pm 2.4$  g respectivamente ( $p = 0.0001$ ). Estas diferencias desaparecen a los 21 y 35 días post-parto, siendo  $378 \pm 7.2$  g y  $869 \pm 16.2$  g para el grupo control y  $382 \pm 6.3$  g y  $858 \pm 12.2$  para el grupo bioestimulado.

No se encontraron diferencias significativas en la mortalidad desde el día 1 hasta el destete en ninguno de los dos grupos de animales, siendo de  $21.1 \pm 2.1$  y de  $19.5 \pm 2.2\%$  para el grupo control y bioestimulado respectivamente.

Los resultados obtenidos de la producción de leche y el consumo de pienso se muestran en la figura 1. La separación madre-camada afectó significativamente a la producción total de leche desde el día 2 al 21 post-parto ( $P=0,044$ ) a favor de las conejas del grupo control:  $5090 \pm 161$  vs.  $4593 \pm 150$  g. La producción de leche desde el día 1 hasta el día 9 de lactación fue aumentando de la misma manera para los dos grupos.

Entre el día 9 y 11 de lactación, las conejas del grupo control incrementaron la producción un 6.8%. El día siguiente a la pérdida de amamantamiento (día 11 de lactación), la producción de leche fue un 4.6% superior en las conejas bioestimuladas vs. control, aunque no hubo diferencias significativas. Sin embargo, los 4 días siguientes (12, 13, 14 y 15 de lactación), la producción experimentó un descenso significativo del 40%, 18%, 15% y 15% ( $P=0.0001$ ,  $P=0.041$ ,  $P=0.038$  y  $P=0.013$ ) respectivamente. A partir del día 16 y hasta el final del control de lactación (día 21) no hubo diferencias significativas entre la producción diaria de las conejas bioestimuladas y controles. La producción de leche de las conejas bioestimuladas fue ascendiendo, para equipararse con la producción de las conejas control, sin llegar a superarla.

Figura 1. Producción de leche (g/d) y consumo medio diario (CMD, g/d) desde el día 2 al 21 post-parto en conejas controles y conejas bioestimuladas mediante la separación transitoria de la camada el día 9 post-parto. (48 horas).

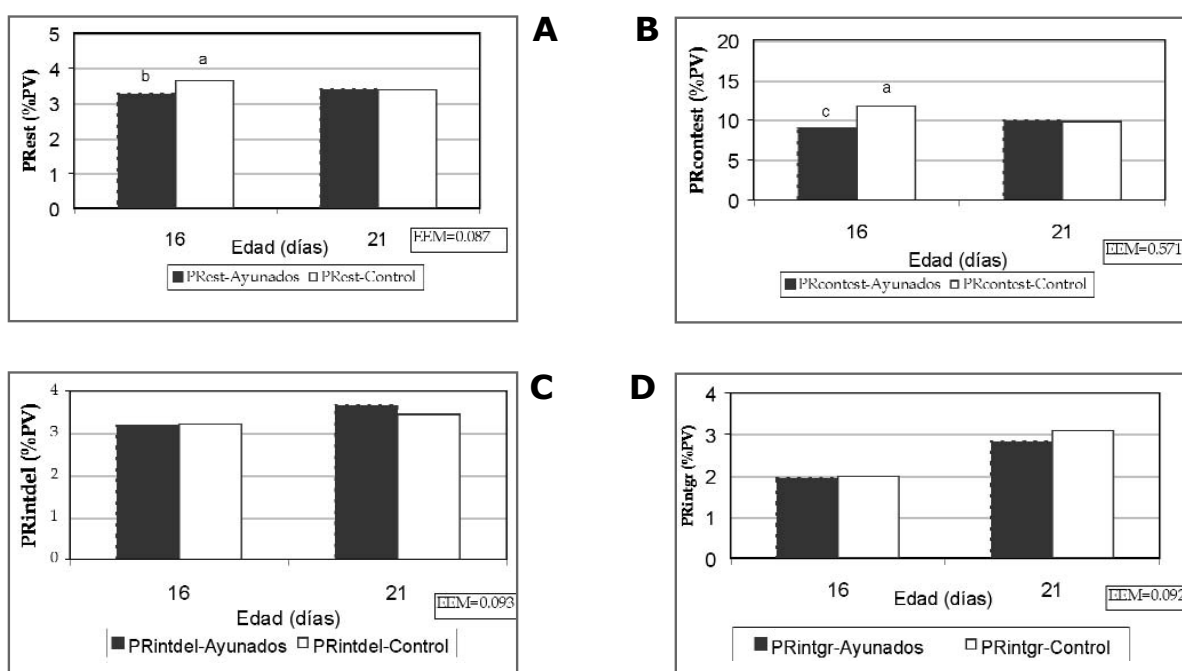


El consumo de pienso a lo largo de toda la lactación controlada no se vio afectado por la separación madre-camada, siendo  $7.961 \pm 352$  g para el grupo control y  $7.834 \pm 329$  g para el grupo bioestimulado. Al comparar el consumo día a día entre el grupo control y bioestimulado, se observó que el día de la separación (día 9) aumentó de manera significativa ( $P=0.03$ ) un 13.9% en las conejas bioestimuladas, mientras que los días 10 y 11 sufrió un descenso del 41.8% y 42.2% respectivamente ( $P=0.0003$  y  $P=0.0008$ ). Posteriormente se igualó al consumo de las conejas controles.

Los parámetros digestivos de los gazapos de 16 y 21 días de edad controles y sometidos a destete transitorio se muestran en las figuras 2 A, B, C y D. Al estudiar el efecto del ayuno sobre el peso relativo del estómago lleno y de su contenido, se observó que era un 11% y un 23% más bajo en los animales de 16 días que habían sido destetados transitoriamente con respecto a los controles ( $P<0.05$ ). A los 21 días, estas diferencias desaparecen y los pesos se igualan entre animales control y ayunados. El ayuno no afectó al peso relativo del intestino delgado ni del intestino grueso. Al estudiar el efecto de la edad sobre la evolución del peso relativo del intestino grueso se observó un incremento medio significativo ( $P<0.05$ ) del 51% entre los días 16 y 21 de vida de los gazapos.

Figura 2. Efecto del ayuno (48 h. a los 9 días) sobre los pesos relativos del estómago lleno (A), del contenido el estómago (B), del intestino delgado (C) y del intestino grueso (D) (referidos al peso vivo) en gazapos de 16 y 21 días de edad.

Las medias seguidas de letras diferentes son estadísticamente distintas entre sí ( $P<0,05$ ). EEM: Error estándar de las medias ( $n=48$ ). PRest: Peso del estómago lleno. PRcontes: Peso del contenido del estómago. PRintd: Peso el intestino delgado. PRintgr: Peso del intestino grueso. PV: Peso vivo.



La actividad de la lactasa, de la sacarasa y la cantidad de proteína del yeyuno se muestra en las figuras 3, 4 y 5. La actividad de la lactasa fue un 10% ( $P<0.05$ ) superior en los animales ayunados de 16 días que en los controles.

El ayuno no afectó significativamente a la actividad sacarásica de los animales. Al estudiar la evolución de la actividad sacarásica con la edad, se observó un incremento significativo ( $P = 0.0001$ ) a los 21 días de edad.

La cantidad de proteína de la mucosa yeyunal de los animales de 16 días de edad ayunados fue un 12% ( $P < 0.05$ ) inferior a la de los animales control de la misma edad. Todas estas diferencias desaparecieron a los 21 días.

Figura 3. Efecto del ayuno (48 horas entre los días 9 y 11 de lactación) sobre la actividad lactásica en la porción media del yeyuno en gazapos de 16 y 21 días de vida.

Las medias marcadas con letras distintas difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

Unidad de actividad: cantidad de enzima que libera 1mmol glucosa por g de tejido en 30 minutos a 37°C.

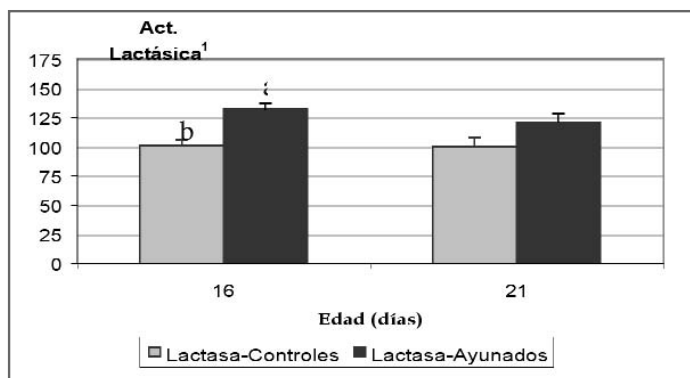


Figura 4. Efecto del ayuno (48 horas entre los días 9 y 11) sobre la actividad sacarásica en gazapos de 16 y 21 días de edad.

Las medias marcadas con letras distintas difieren significativamente ( $P = 0.0001$ ).

Unidad de actividad: cantidad de enzima que libera 1 mol glucosa por g de tejido en 30 minutos a 37°C.

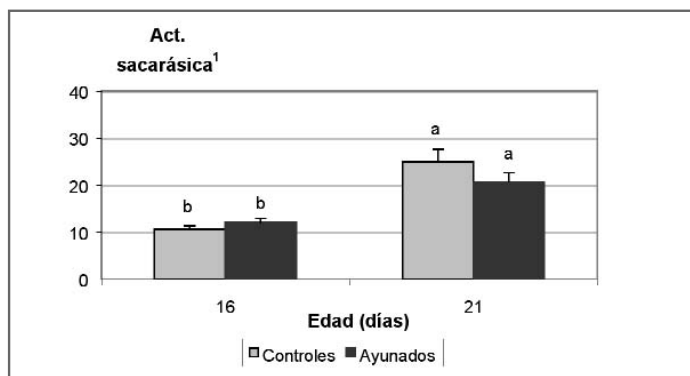
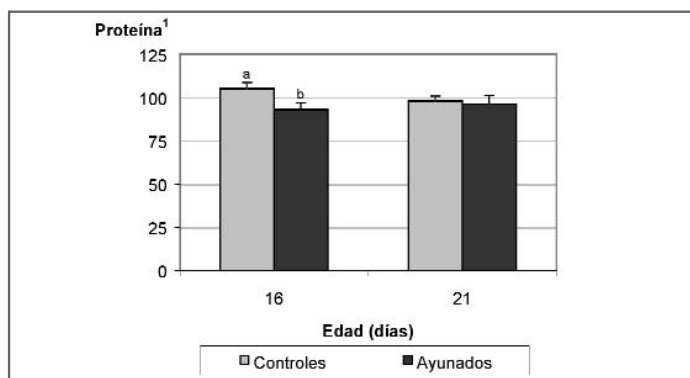


Figura 5. Efecto del ayuno (48 horas entre los días 9 y 11) sobre la evolución con la edad de la proteína de la mucosa del yeyuno en gazapos de 16 y 21 días de vida.

Las medias marcadas con letras distintas difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

1 g proteína por mg de tejido.



La longitud de las vellosidades intestinales de la mucosa yeyunal fue similar a los 16 y a los 21 días de edad, tanto en controles como en ayunados ( $756 \pm 77.6$  vs.  $689 \pm 87.5$  m y  $638 \pm 78.6$  vs.  $628 \pm 93.2$  m), respectivamente)

## Discusión

Como ya se ha descrito en trabajos previos (Espinosa et al., 2002), el destete transitorio de los gazapos a la edad de 9 días supone cambios importantes en el desarrollo del gazapo. El peso vivo del animal, el de diversos tramos del tracto gastrointestinal, el desarrollo morfológico y la actividad enzimática se ven alterados a la edad de 11 días y dichos cambios podrían ocasionar un retraso, al menos temporal, en la velocidad de crecimiento. En algunos trabajos, realizados con periodos de separación de entre 24 y 48 horas, se ha constatado este retraso en la velocidad de crecimiento como un efecto persistente en toda la lactación, observándose descensos del peso vivo al destete de entre un 2 y un 10% (Pavois et al. 1994; Tomas et al.; 1996; Alvariño et al., 1998; Castellini et al.; 1998; Bonanno et al., 2002). Sin embargo, en otras ocasiones dicho descenso en el peso individual al destete no se ha constatado (Alvariño et al 1999; Boiti et al., 2001).

En este estudio, tan sólo 10 días después del ayuno (21 días de edad), los animales mostraron valores de peso vivo similares a los de los animales que no sufrieron un destete transitorio. Esta situación se mantuvo a los 35 días de edad, momento del destete. Los resultados obtenidos por otros autores dependen del momento en que se hizo el destete y el tipo de conejas (primíparas o múltiparas) que formaban parte del experimento. En nuestro caso las condiciones del experimento están estandarizadas de forma que no influía la intensidad de lactación porque todas las camadas tenían más de 7 gazapos, todas las hembras eran múltiparas y tenían más de dos partos.

El consumo de pienso total de las conejas a lo largo de los 21 días de lactación controlada está entre los valores encontrados en la bibliografía (Nicodemus et al. 2000), tanto para el grupo control como para el bioestimulado. El descenso de consumo encontrado en las conejas del grupo bioestimulado los días 10 y 11 de lactación podría ser consecuencia del estado de estrés que sufre la coneja al no poder dar de mamar a las camadas. En este sentido Hudson et al. (1995), observaron que forzar el amamantamiento fuera del ciclo natural provoca alteraciones del comportamiento maternal a nivel endocrino. Estos cambios bien podrían afectar también a los centros hipotalámicos que regulan el apetito.

La producción de leche de las conejas del grupo control se ajusta a las curvas de lactación encontradas en la bibliografía (Torres et al. 1979). El ligero incremento de producción observado en las conejas del grupo bioestimulado el día siguiente a la omisión del amamantamiento podría explicarse por la capacidad de síntesis y almacenamiento de leche que tiene la coneja. Según Calvert et al., (1985), las conejas que no tienen acceso al nido durante 48 horas incrementan la producción de leche en una cantidad no muy superior a la que producirían en las 24-48 horas siguientes a un amamantamiento sin restricción. La caída brusca en la producción de leche de los 4 días siguientes a la apertura del nido coincide con resultados de Szendro et al. (1999). Según estos autores, en el día siguiente a la omisión del amamantamiento se produce un incremento de producción del 22% respecto a la producción del grupo control, pero en los tres días posteriores se observa un descenso del 33%, 15% y 6% respectivamente. Los cambios bruscos en la presión intramamaria provocados por la acumulación de leche que no es retirada por la cría no han sido descritos en la coneja. Sin embargo, estos cambios explican las pérdidas en la producción de leche que se observan en el ganado vacuno cuando pasan de dos

a un solo ordeño diario (Davis et al., 1999). Tanto el descenso en el consumo de pienso como la sensación de llenado de la glándula mamaria, pueden contribuir negativamente a la síntesis y la secreción de leche.

Las diferencias observadas en trabajos previos en animales de 11 días (Espinosa et al. 2000), en cuanto al peso del estómago y al peso del contenido del estómago siguen siendo significativas a los 16 días (12% y 30%, respectivamente), pero desaparecen a los 21 días. Esto hace pensar que los animales ayunados se recuperan, y siguen un crecimiento y desarrollo normal. La evolución con la edad del peso del intestino delgado fue similar en ambos tipos de gazapos. El peso relativo del intestino grueso lleno no fue significativamente diferente entre animales ayunados y controles. En ambos casos la evolución con la edad mostraba un aumento del peso relativo de dicho tramo. Sin embargo, al no haber vaciado dicho compartimento no podemos afirmar que el incremento de peso observado se deba al contenido del mismo o a la alta tasa de crecimiento de estos tramos en animales de tan corta edad (Lebas y Laplace, 1972; Yu y Chiou 1997)

En cuanto a la actividad enzimática, la actividad de la lactasa yeyunal en los animales que sufrieron el destete transitorio es más alta que en animales controles a los 16 días, resultado que ya fue descrito a los 11 días (Espinosa et al. 2000). La cantidad de proteína de la mucosa yeyunal, más baja también en los animales ayunados de 16 días, no explica esta diferencia de la actividad lactásica. A los 21 días de vida tanto la actividad lactásica como la proteína presentes en mucosa son similares en ayunados y en controles, resultados que podrían indicar adecuados crecimientos e integridad celulares de la mucosa de estos animales en crecimiento. La actividad de la sacarasa determinada en este estudio es similar en ambos grupos de animales y aumenta de forma similar desde los 16 a los 21 días de vida. Este incremento de actividad ha sido descrito por otros autores en cerdos (Zhang et al., 1997) y conejos (Marounek et al 1995). En estos últimos, la situación enzimática a los 28 días de vida es totalmente diferente a la de los 4 meses, ya que se determina un cambio en los enzimas encargados de la digestión luminal a medida que se incrementa el consumo de pienso sólido.

A los 16 y 21 días de edad la diferencia en la longitud de las vellosidades intestinales observada en gazapos de 11 días de edad sometidos a destete transitorio con respecto a gazapos controles de la misma edad (Espinosa et al. 2002), desaparece. La estructura de la mucosa intestinal cambia a medida que el animal crece de forma que las vellosidades intestinales pasan de ser largas y estrechas a los 16 días de edad a ser anchas y cortas a los 21 días. Esta tendencia al acortamiento permanece según avanza la edad del animal (Campín et al. 2002), y podría deberse a que los gazapos comienzan a ingerir el mismo pienso que las conejas alrededor del día 18 de vida, en cantidades muy pequeñas en principio, pero que van aumentando según avanza la edad y disminuye la producción de leche de la madre. Este cambio de alimentación asociado al destete es una de las causas inductoras de cambios morfológicos y fisiológicos en las vellosidades intestinales (Pluske, 1997).

En conclusión y a la vista de los resultados podemos decir que la separación transitoria de la camada durante 48 horas a los 9 días de edad:

- disminuye la producción de leche pero no se altera el consumo de pienso total de las conejas a lo largo de la lactación,
- no afecta al crecimiento de los animales pertenecientes a camadas de más de 7 gazapos, amamantados por conejas múltiparas y destetados a los 35 días de edad,
- se ven afectados transitoriamente algunos parámetros digestivos y enzimáticos así como el peso vivo de los gazapos, pero todas estas diferencias desaparecen a los 21 días de edad.



## Bibliografía

- ALVARIÑO J.M.R.; DEL ARCO J.A.; BUENO A. (1998). Effect of mother-litter separation on reproductive performance of lactating rabbit females inseminated on day 4 or 11 postpartum. *World Rabbit Science*, 6, 191-194.
- ALVARIÑO J.M.R.; BUENO A.; SANTIAGO M.E.; DEL ARCO J.A. (1999). Effect of a doe-litter separation on survival and growth of young rabbits. *World Rabbit Science*, 7, (3), 161-163.
- BOITI C.; BONANNO A.; BRECCHIA G.; ALABISO M.; DI GRIGOLI A.; ZAMPINI D. (2001). 9èmes Journ. Rech. Cunicole Fr. Paris, 167-170.
- BONANNO A.; DI GRIGOLI A.; ALABISO M.; BOITI, C. (2002). Parity and number of repeated doe-litter separation treatments affect differently the reproductive performance of lactating does. *World Rabbit Sc.*, 10, (2), 63-70.
- CALVERT D.T.; KNIGHT C.H.; PEAKER M. (1985). Milk accumulation and secretion in the rabbit. *Quarterly J. Exp. Physiology*, 70, 357-363.
- CAMPÍN J.; GUTIÉRREZ I.; ESPINOSA A.; CARABAÑO R.; REBOLLAR P.G. Y DE BLAS C. (2002). Efecto de la fuente de proteína sobre los parámetros digestivos, parámetros histológicos y digestibilidad ileal y fecal en gazapos destetados precozmente. XXVII Simposium de Cunicultura, Reus, Mayo de 2002 (117-128).
- CASTELLINI C.; CANALI C.; BOITI C. (1998). Effect of mother-litter separation for 24 hours by closing the nestbox or change of cage, on rabbit doe reproductive performance. *World Rabbit Science*, 6, 191-203.
- DAHLQUIST A. (1964). Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal. Chem.* 7, 18-25.
- DAVIS S.R.; FARR V.C.; STELWAGWN K. (1999). Regulation of yield loss and milk composition during once-daily milking: a review. *Livestock Production Science*. 59, 77-94.
- ESPINOSA A.; REBOLLAR P.G. AND CARABAÑO R. (2002). Efecto de una separación transitoria de la camada sobre parámetros digestivos, enzimáticos e histológicos de gazapos de 9 días de edad. XXVII Simposium de Cunicultura, Reus, Mayo de 2002 (109-116).
- 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. 7th World Rabbit Congress, vol C, 263-267.
- HAMPSON D.J. (1986). Alteration in piglet small intestinal structure at weaning. *Res. Vet. Sci.* 40, 32-40.
- HUDSON R.; MULLER A.; KENNEDY G.A. (1995). Parturition in the rabbit is compromised by daytime nursing: the role of oxytocin. *Biology of Reproduction*, 53, 519-524.
- LEBAS F. Y LAPLACE J.P. (1972). Mensurations viscérales chez le lapin. *Ann. Zootech.*, 21, 37-47.
- LOWRY O.H.; ROSEBROUGH N.J.; FARR A.L. AND RANDALL R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*, 193, 265-275.
- MAROUNEK M.; VOCK S.J.; SKRIVANOVÁ V.(1995). Distribution of activity of hydrolytic enzymes in the digestive tract of rabbits. *British Journal of Nutrition*, 73, 463-469.
- NICODEMUS N. (2000). Recomendaciones sobre el nivel óptimo de inclusión de fibra: FND, fibra larga y LAD, en piensos de conejos de alta productividad. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.
- PAVOIS V.;LE NAOUR J.; DUCEP O.; PERRIN G.; DUPERRAY J. (1994). Une méthode naturelle pour améliorer la réceptivité et la fertilité des lapines allaitantes en insemination artificielle. 6èmes Journ. Rech. Cunicole Fr., La Rochelle, Vol II, 528-535.

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.

SZENDRÖ ZS.; JOVANCZAI ZS.; THEAU-CLÈMENT M.; RADNAI I.; BIRO-NEMETH E.; MILISITS G. (1999). The effect of doe-litter separation on production performance in rabbit does and their kits. *World Rabbis Sci.*, 7 (3), 165-169.

TORRES A.; FRAGA M.J.; DE BLAS C. (1979). Milk production and kit death rates in New Zealand breed rabbits. *An. Inia Ser. Prod. Anim.*, 10, 25-30.

YU B. AND CHIOU P.W.S. (1997). The morphological changes of intestinal mucosa in growing rabbits. *Laboratory Animals*, 31, 3, 254-263.

ZHANG H.; MALO C.; BUDDINGTON R.K. (1997). Suckling induces rapid growth and changes in brush border digestive functions of newborn pigs. *J. Nutr.*, 127, 418-126.