La importancia de los azúcares en la alimentación de los rumiantes

Manuel Fondevila
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos – Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2) – Universidad de Zaragoza-CITA
mfonde@unizar.es
(Ponencia presentada en la I Jornada FEDNA-ANEMBE – 10 de noviembre de 2015)

LOS AZÚCARES EN LOS ALIMENTOS PARA LOS RUMIANTES

Las dietas para los rumiantes incluyen entre un 5 y un 10% de azúcares, de los que una fracción puede ser añadida a la dieta base para favorecer la utilización digestiva. La adición de azúcares solubles a la dieta basal favorece la palatabilidad y por tanto la ingestión, pero además tiene un efecto positivo sobre la fermentación ruminal, favoreciendo la sincronización entre la utilización de la energía y el nitrógeno rápidamente degradable, y un perfil de ácidos grasos volátiles (AGV) favorable a la síntesis de grasa láctea, aunque también puede tener efectos negativos, como una mayor acidificación del rumen. Como consecuencia, en la formulación de raciones para rumiantes se empieza a considerar el nivel y tipo de azúcares incluidos en la dieta.

Se consideran como azúcares la fracción de carbohidratos no estructurales solubles en agua o en etanol al 80% (Southgate, 1991), incluyendo monosacáridos, fundamentalmente glucosa y fructosa, disacáridos de origen vegetal como sacarosa o animal como lactosa y, en menor medida, oligosacáridos de tres y cuatro unidades, como rafinosa, maltotriosa y estaquiosa. El contenido en azúcares de los alimentos para el ganado varía considerablemente en función de su naturaleza química. Subproductos como la pulpa de cítricos o las melazas de caña o remolacha presentan contenidos considerablemente altos de azúcares, mientras que la harina de soja, los guisantes y los forrajes frescos o conservados tienden a tener un contenido moderado, y los granos de cereales tienen un contenido bajo. Los alimentos fermentados, como los ensilados y granos de destilería y cervecería, también tienen un bajo contenido en azúcares, ya que éstos han sido previamente fermentados por las enzimas microbianas. La variabilidad puede ser alta incluso para un mismo alimento: Hall (2002) indica rangos entre 125 y 402 g/kg materia seca (MS) para la pulpa de cítricos, y de 128 a 247 g/kg MS para la pulpa de remolacha. Asimismo, la composición de la fracción azucarada es diferente según el tipo o el origen del alimento. **(Ver Tabla 1)**

Tabla 1: Composición (g/kg MS) de la fracción de azúcares de algunos alimentos (Bach-Knudsen, 1997).

	Azúcares totales	Monosacáridos	Sacarosa	Rafinosa	Estaquiosa
Maíz	20	4	13	2	1
Cebada	21	4	12	5	1
Harina soja	137	7	70	10	47
Guisantes	88[1]	9	30	5	23
Heno de hierba (primer corte)	90	61	22	4	3
Harina de alfalfa	23	8	13	2	0
Pulpa remolacha	32	5	27	1	0

[1]: Incluye 22 g/kg verbascosa

Los azúcares mayoritarios de las melazas de caña son la sacarosa (65% del total), la fructosa (15%) y la glucosa (15%), mientras que las melazas de remolacha apenas contienen fructosa, e incluyen un 65% de sacarosa y un 35% de glucosa (Emanuele y Sniffen, 2014).

FERMENTACIÓN RUMINAL DE LOS AZÚCARES

Estudios *in vitro* con cepas puras de especies de microorganismos ruminales muestran que la capacidad de fermentar diferentes azúcares solubles (monosacáridos y disacáridos) es muy variable (Stewart et al., 1997). Por otra parte, a pesar de que los procesos de fermentación de azúcares solubles y almidón a menudo se unifican por la similitud en el ritmo de utilización de los sustratos, las especies microbianas sacarolíticas no necesariamente tienen capacidad de fermentar almidón, por lo que tanto la población especializada en la utilización de cada uno de estos nutrientes como las rutas metabólicas implicadas, son diferentes.

La hidrólisis de disacáridos a azúcares simples es muy rápida, en parte porque su alta solubilidad favorece una inmediata accesibilidad para los microorganismos. El Cornell Net Carbohydrate and Protein System asume un ritmo de fermentación común para los azúcares de 300% por hora (Russell et al., 1992), lo que implica que serían degradados en el rumen ya a los 20 minutos de su ingestión, y por tanto su utilización sería instantánea y completa. No obstante, la desaparición de un sustrato no necesariamente implica su utilización, ya que en función de la tasa de tránsito de la fase líquida ruminal, un 5% de azúcares escaparían del rumen sin ser fermentados (Oba, 2011). En condiciones *in vivo* con dietas altas en forraje, Hristov et al. (2005) estimaron un ritmo de desaparición ruminal de azúcares del 124% por hora, y un ritmo de fermentación de 115% por hora.

La fermentación ruminal de los monosacáridos depende también de su estructura molecular, asumiéndose que un 84% de las hexosas se fermentan en el rumen, mientras que la fermentación de las pentosas se considera inferior al 50% (Emanuele y Sniffen, 2014). *In vitro*, el ritmo de utilización microbiana de arabinosa y xilosa es del 47 y 39% respecto al ritmo medio de utilización de las hexosas glucosa y fructosa y el disacárido sacarosa (Czerkawski y Breckenridge, 1969). En el mismo sentido, la hidrólisis de oligosacáridos es más lenta, y a menudo incompleta, y la rafinosa se utiliza 3 veces más lento que las hexosas. De hecho, el grado de fermentación de los distintos mono y disacáridos por las especies bacterianas ruminales es variable , por lo que determinados

azúcares favorecen el crecimiento de ciertas especies, afectando así el perfil bacteriano del rumen. **(Ver Tabla 2)**

Tabla 2: Ritmo de crecimiento específico (tiempo de duplicación de la biomasa, por hora) de especies bacterianas sobre mono- y disacáridos como sustratos únicos (Russell y Baldwin, 1978).

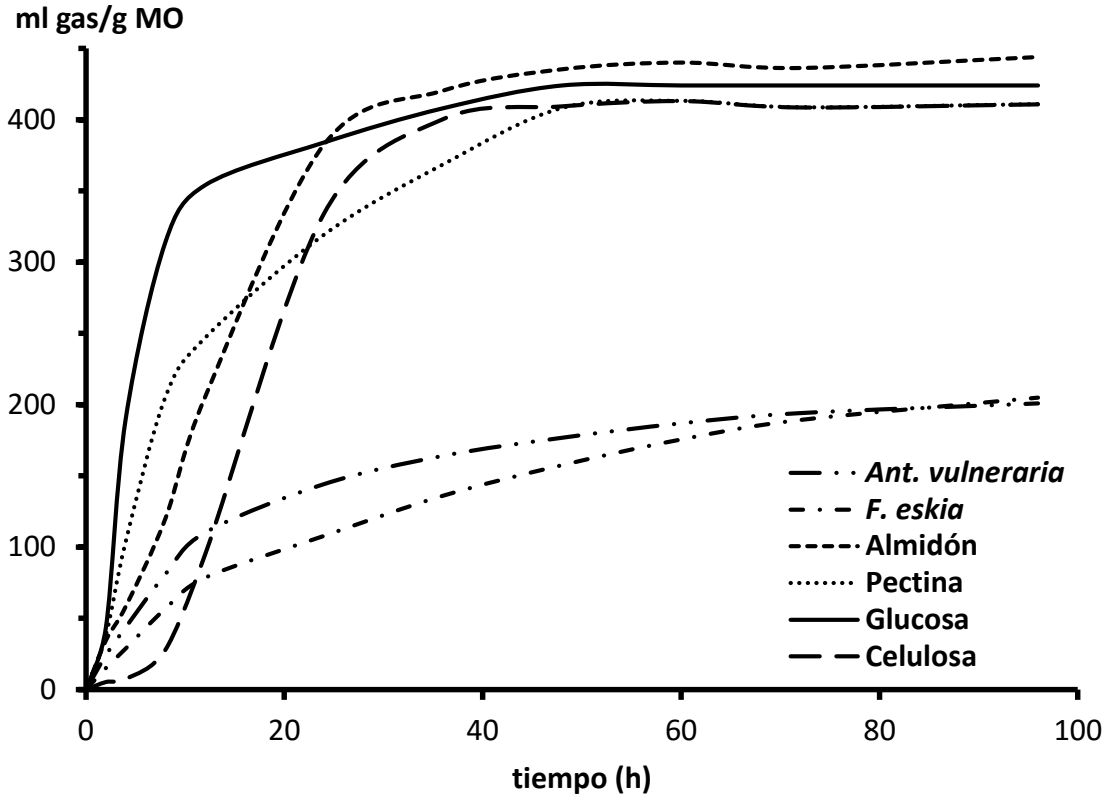
	Glucosa	Celobiosa	Xilosa	Sacarosa	Maltosa
S. ruminantium	0.72	0.06	0.64	0.67	0.35
P. ruminicola	0.56	0.20	0.04	0.62	0.52
B. fibrisolvens	0.39	0.53	0.45	0.52	0.54
S. bovis	2.04	1.83	---	2.10	1.85
M. elsdenii	0.45	---	---	0.14	0.55

Por todo ello, ritmos de fermentación entre 50 y 69% por hora (Henning et al., 1993) y digestibilidades ruminales entre 45% para azúcares presentes en forrajes y 89% en azúcares añadidos (Hoover et al., 2006) pueden ser más realistas. Además, el ritmo fraccional de degradación de los azúcares solubles no es fijo, sino que depende de la actividad microbiana.

La fermentación de los azúcares permite la utilización microbiana de la energía liberada para la síntesis de masa microbiana, liberando AGV, que son utilizados como fuente de energía por el rumiante, así como CO_2 y metano. Se considera que la inclusión de azúcares en la dieta promueve una fermentación caracterizada por un aumento de la proporción de butirato a expensas de acetato, con respuestas variables en cuanto a la proporción de propionato, que puede aumentar (Lee et al., 2003; Hristov et al., 2005) o permanecer constante (Heldt et al., 1999; Hoover et al., 2006). En algunos casos, también la producción de ácidos grasos de cadena ramificada (isobutirato e isovalerato) se ve reducida por la inclusión de azúcares solubles en sustitución de almidón (Vallimont et al., 2004; Hristov et al., 2005). No obstante, el perfil de AGV puede variar en función del tipo de azúcar: sin limitación en la disponibilidad de nitrógeno degradable, la proporción de los AGV mayoritarios no difiere entre hexosas y sacarosa (Czerkawski y Breckenridge, 1969; Heldt et al., 1999), pero la proporción de acetato es mayor, y la de propionato (Czerkawski y Breckenridge, 1969) o butirato (Sutton, 1968) menor, con pentosas. La rápida fermentación de azúcares solubles también da lugar a cantidades importantes de lactato (Strobel y Russell, 1986; Heldt et al., 1999), en mayor medida a partir de hexosas y disacáridos que de pentosas (Cullen et al., 1986). Las proporciones de los productos de fermentación sobre el metabolismo del rumiante son relevantes, teniendo en cuenta el papel del butirato como fuente energética de las células epiteliales ruminales e intestinales (Bergman, 1990), o la capacidad acidificante del lactato en el rumen (Krause y Oetzel, 2006).

Como consecuencia del elevado ritmo de fermentación ruminal de los azúcares, el 83% de la glucosa disponible es utilizado en las primeras 12 horas de incubación *in vitro*, mientras que en ese tiempo sólo el 46% del almidón y el 60% de las pectinas son fermentados. **(Ver Figura 1)**

Figura 1: Fermentación microbiana *in vitro* (ml de gas/g materia orgánica) de carbohidratos puros, en comparación con dos forrajes (a partir de Fondevila et al., 2002; Marinas et al., 2003).



La fermentación microbiana se ve afectada por el pH del medio: a un pH de fermentación óptimo (6,7), la fermentación de azúcares solubles después de 10 h de incubación rinde más acetato y butirato, mientras que disminuye el lactato y no se afecta la proporción de propionato, respecto a un pH de 5,5. Por otra parte, respecto a la fermentación de almidón, la sacarosa rinde más butírico a pH 6,7 y más lactato tanto a pH 6,7 como a 5,5. **(Ver Tabla 3)**

Tabla 3: Fermentación bacteriana *in vitro* (10 h) de distintos carbohidratos puros, en función del pH de incubación (Strobel y Russell, 1986).

Sustrato	pH final	% fermentado	Acetato mM	Propionato mM	Butirato mM	Lactato mM
Sacarosa	6,7	92	4,7	2,1	1,1	3,7
	5,5	81	1,7	1,1	0,7	8,3
Almidón	6,7	77	5,1	2,9	0,8	0,9
	5,8	66	2,7	1,1	0,7	4,1
Xilano	6,7	54	3,6	1,6	0,2	N.D.
	5,9	42	2,9	1,2	0,3	N.D.

Pectina	6,7	87	10,1	1,3	0,2	N.D.
	5,8	41	5,0	0,7	0,3	N.D.
e.s.m.			0,30	0,16	0,03	0,23

N.D.: no determinado; e.s.m.: error estándar de la media

La rápida disponibilidad de energía que supone la fermentación de los azúcares permite también la captación del nitrógeno rápidamente degradable disponible para la síntesis microbiana. Una de las ventajas de aportar una fuente de energía muy rápidamente fermentable pudiera estar relacionada con su sincronización con la utilización de nitrógeno, en dietas ricas en proteína rápidamente degradable o nitrógeno no proteico. En teoría, la liberación en el rumen de energía fermentable coincidiendo con la disponibilidad de una proporción importante del nitrógeno de la dieta evitaría el exceso de amoníaco en el rumen y su absorción a través de la pared, reduciendo el gasto energético de su excreción en forma de urea, al tiempo que favorecería la síntesis microbiana y por tanto el aporte de proteína preformada al intestino (Chamberlain y Choung, 1995; Sinclair, 2008). A pesar del atractivo de la teoría, y la reducción observada en la concentración de amoníaco ruminal en las primeras horas postingestión (Obara et al., 1991; Chamberlain et al., 1993), los resultados experimentales son contradictorios, y no reflejan una respuesta claramente positiva en términos de síntesis microbiana, debido al rápido ritmo de reciclaje del nitrógeno ruminal y, en parte, a que la gran variabilidad de parámetros relacionados con la síntesis microbiana dificulta las conclusiones (Hall y Huntington, 2008).

EFECTO DE LOS AZÚCARES SOLUBLES EN DIETAS FIBROSAS

Los forrajes frescos incluyen cantidades moderadamente altas de azúcares solubles, entre el 10 y el 16%. Variedades de forrajes seleccionadas genéticamente para un alto contenido en azúcares, hasta niveles que pueden superar el 20%, promueven un aumento de butirato y propionato a expensas de acetato, junto con una reducción de la concentración ruminal de amoníaco y un aumento del flujo de nitrógeno no amoniacal al duodeno (Lee et al., 2002). Cuando el contenido de azúcares en el forraje incrementa a costa de la proporción de proteína o de una reducción conjunta de proteína y fibra, la mejor utilización del nitrógeno se manifiesta en una menor excreción de nitrógeno urinario (Ellis et al., 2011). Por otra parte, estudiando una simulación de la respuesta en producción de metano a partir de resultados en la bibliografía, Ellis et al. (2012) muestran que si aumenta la proporción de azúcares solubles a expensas de la fibra, el aumento de la producción de metano por unidad de sustrato fermentado se diluye al expresarlo en base a la producción de leche, porque ésta aumenta en mayor medida. No obstante, la respuesta en la producción de metano a la concentración de azúcares del forraje es variable, habiéndose observado en algunos casos reducciones (Lovett et al., 2006) o ausencia de efecto (Staerfl et al., 2012) en la producción de metano. En cualquier caso, la extrapolación de los resultados observados a un efecto positivo de una mayor fracción de azúcares solubles debe realizarse con precaución, ya que el aumento de la proporción de azúcares tiene lugar a costa de la disminución proporcional de la proporción de pared celular (Oba, 2011).

Una situación diferente es la suplementación de un alimento fibroso con una fuente de azúcares solubles. Kasperowicz et al. (2014) y Obara et al. (1991) no observaron efectos de la inclusión de sacarosa a niveles de 8 y 15%, respectivamente, sobre la concentración de AGV ni el pH, aunque sí un aumento de las proporciones de

propionato y butirato en ovino. *In vitro*, Lee et al. (2003) observaron que niveles de 5 y 8% de inulina y sacarosa como fuentes de azúcares solubles aumentan la concentración de AGV y la proporción de propionato, con un descenso del pH ruminal y una reducción de la digestibilidad de la fracción fibrosa. No obstante, el aumento de la disponibilidad de energía favorece la utilización microbiana del nitrógeno, disminuyendo la concentración de amoníaco y aumentando la síntesis microbiana. **(Ver Tabla 4)**

Tabla 4: Efecto de la suplementación de un silo de hierba (4 kg/d) con 200 g/d de distintos carbohidratos no estructurales sobre el pH, la concentración ruminal de nitrógeno amoniacal (mg/L) y el aporte de nitrógeno microbiano al duodeno (g/d) (Chamberlain et al., 1993).

	Silo de hierba	+ sacarosa	+ fructosa	+ almidón	+ lactosa
pH ruminal:					
medio	6,43	6,34	6,31	6,25	6,40
mínimo	6,04	5,72	5,74	5,99	6,05
N amoniacal:					
medio	255	157	164	213	158
máximo	354	240	233	288	233
Aporte N microbiano	10,2	14,8	13,7	11,9	14,3

Este efecto está ligado a menudo a la combinación entre la suplementación con azúcares y la incorporación de una fuente de nitrógeno no proteico, debido a la dependencia de las bacterias fibrolíticas del amoníaco, observándose por tanto una respuesta sinérgica al aporte de ambos sobre la síntesis microbiana (Chamberlain et al., 1993; Heldt et al., 1999).

Independientemente de la contribución energética del azúcar añadido a la energía disponible en el rumen, la respuesta a la suplementación con azúcares de dietas con un elevado contenido en fibra se manifiesta fundamentalmente sobre la fermentación de los polisacáridos estructurales, efecto que depende tanto de la naturaleza del carbohidrato añadido y del nivel de inclusión como de la interacción de ambos sobre las condiciones ambientales, fundamentalmente el pH. Huhtanen y Khalili (1992) observaron un descenso de la actividad celulasa y xilanasa al suplementar con un 16% de sacarosa una dieta con un 70% de silo de maíz, desapareciendo este efecto con la adición de bicarbonato sódico, lo que asocian a la reducción de la adhesión bacteriana al sustrato por debajo de pH 6,2, e incluso a la inhibición del crecimiento de las especies fibrolíticas a pH inferiores. Por el contrario, Piwonka y Firkins (1993) indican que la inclusión de un 10% de glucosa en el medio no afecta negativamente al ritmo de digestión *in vitro* de celulosa purificada, pero sí cuando se incorpora más de un 23% de glucosa, siendo este efecto independiente del pH si éste se mantiene por encima de 6,0. England y Gill (1985) sugieren que niveles de sacarosa por debajo de 7,5% favorecen la degradabilidad ruminal, mientras que el efecto contrario se observa a niveles superiores.

EFECTOS DE LOS AZÚCARES SOLUBLES EN DIETAS MIXTAS

En dietas que incorporan un nivel medio o alto de concentrado, la problemática de la incorporación de azúcares solubles se enfoca, además de al propio nivel de inclusión, a la sustitución de almidón como carbohidrato altamente digestible en condiciones de pH por debajo de 6,5. En este sentido, la sustitución de almidón por sacarosa no afecta (Broderick et al., 2008) o incluso tiende a aumentar (Chamberlain et al., 1993; Heldt et al., 1999) el pH ruminal. En parte, esto es debido a que la sacarosa aporta, por unidad de peso, menos energía que el almidón, al tener una menor proporción de carbono (Broderick y Radloff, 2004). Por otro lado, si los azúcares aumentan el ritmo de tránsito y la síntesis microbiana, la proporción de material disponible para su fermentación ruminal será menor que en dietas con una proporción equivalente de almidón.

En un experimento *in vitro* con dietas a base de un 60% de forraje, la inclusión de un 7,5% de sacarosa en sustitución de almidón aumentó la digestibilidad de la fibra (Vallimont et al., 2004), y aunque niveles más bajos de sacarosa no afectaron a la concentración de amoníaco ni de AGV, se observó un aumento lineal de la proporción de butirato. En un experimento paralelo *in vivo* (Broderick et al., 2000), se observó un descenso en la relación acetato:propionato descendió y la digestibilidad de la fibra aumentó cuadráticamente, alcanzando el máximo con un 5% de sacarosa. Martel et al. (2011) observaron un aumento de la proporción de butirato, aunque en este caso también un descenso de la de propionato, al sustituir un 5% del almidón por melazas en la dieta de vacas lecheras. Por el contrario, tanto Broderick y Radloff (2004) como Broderick et al. (2008), con dietas para vacas lecheras con niveles similares de forraje, no observaron un efecto sobre los parámetros ruminales al sustituir maíz por una fuente de azúcares (melazas o sacarosa, respectivamente), aunque detectaron mejoras en la digestibilidad de la fibra.

Por tanto, la respuesta en términos de parámetros ruminales a la sustitución de fuentes de almidón por azúcares solubles en dietas para vacas lecheras con niveles de 50-60% de forraje es variable y poco consistente, aunque frecuentemente se asocia a un aumento de la proporción de butirato. En términos productivos dicha práctica promueve un aumento en la ingestión y un mayor contenido de la grasa láctea (Broderick et al., 2000; Broderick et al., 2008; Penner y Oba, 2009; Martel et al., 2011), probablemente relacionado con el mencionado aumento de la proporción de butirato. Esta respuesta positiva mantiene una tendencia cuadrática, que presenta su máxima respuesta con niveles de incorporación de azúcares entre 5 y 7,5%. **(Ver Tabla 5)**

Tabla 5: Parámetros ruminales, síntesis microbiana (excreción urinaria de derivados púricos), digestibilidad aparente y rendimientos productivos de vacas lecheras alimentadas con una dieta con un 60% de forraje, suplementada con niveles crecientes de sacarosa en sustitución de almidón (Broderick et al., 2008).

	% sacarosa				Efecto
	0	2,5	5,0	7,5	
pH	6,2	6,2	6,2	6,2	NS
NH3, mg/L	139	137	124	115	L
AGV, mM	114	117	114	111	NS
Acetato, %	64	64	63	62	L
Propionato, %	18	19	19	20	NS

Butirato, %	13	13	14	14	NS
Deriv. púricos (mmol/d)	484	459	447	463	NS
Digestibilidad MO % Digestibilidad FND %	61,2 49,8	61,4 52,6	63,0 57,5	60,7 54,2	NS Q
Ingestión (kg MS/d) Producción de leche (kg/d) % grasa % proteína	24,5 38,8 3,81 3,23	25,4 40,6 3,80 3,23	26,0 39,4 4,08 3,27	26,0 39,3 4,16 3,29	L NS L NS

L: efecto lineal (P<0,05); Q: efecto cuadrático (P>0,05); NS: no significativo (P>0,10)

CONCLUSIONES

En resumen, el ritmo y la tasa de fermentación de azúcares solubles en el rumen son elevados, promoviendo un aumento de butirato, a expensas de acetato, pero sin promover grandes cambios de pH. Estos efectos son claramente diferentes a los de otras fuentes de carbohidratos fácilmente fermentables, como el almidón. Para la valoración de su inclusión en dietas prácticas, es necesario considerar su naturaleza química (con un mayor efecto de hexosas y sus disacáridos respecto a pentosas y oligosacáridos), su nivel de inclusión (la respuesta tiene una tendencia cuadrática, con un máximo en 5-7% de inclusión) y la interacción con otros parámetros ruminales, fundamentalmente el pH ruminal esperable por la fermentación y la disponibilidad de nitrógeno no proteico, y dietéticos, como el nivel y tipo de fibra.

BIBLIOGRAFÍA

Bach Knudsen K.E., 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. Anim. Feed Sci. Technol. 67, 319-338.

Bergman E.N., 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. Physiol. Rev. 70, 567-590.

Broderick G.A., Radloff W.J., 2004. Effect of molasses supplementation on the production of lactating dairy cows fed diets based on alfalfa and corn silage. J. Dairy Sci. 87, 2997-3009.

Broderick G.A, Luchini N.D., Smith W.J., Reynal S., Varga G.A., Ishler V.A., 2000. Effect of replacing dietary starch with sucrose on milk production in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 83 (Suppl. 1), 248.

Broderick G.A, Luchini N.D., Smith W.J., Reynal S., Varga G.A., Ishler V.A., 2008. Effect on production of replacing dietary starch with sucrose in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 91, 4801-4810.

Chamberlain D.G., Choung J.J., 1995. The importance of rate of ruminal fermentation of energy sources in diets for dairy cows. n: Recent Advances in Animal Nutrition, P.C. Garnsworthy, D.J.A. Cole (eds.), Nottingham University Press, Nottingham, pp. 3-27.

Chamberlain D.G., Robertson S., Choung J.J., 1993. Sugar versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to

the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives, in sheep. J. Sci. Food Agric. 63, 189-194.

Cullen A.J., Harmon D.L., Nagaraja T.G., 1986. In vitro fermentation of sugars, grains and by-product feeds in relation to initiation of ruminal lactate production. J. Dairy Sci. 69, 2616-2621.

Czerkawski J.W., Breckenridge G., 1969. Fermentation of various soluble carbohydrates by rumen micro-organisms with particular reference to methane production. Br. J. Nutr. 23, 925-937.

Ellis J.L., Dijkstra J., Bannink A., Parsons A.J., Rasmussen S., Edwards G.R., Kebreab E., France J., 2011. The effect of high sugar grass on predicted nitrogen excretion and milk yield simulated using a dynamic model. J. Dairy Sci. 94, 3105-3118.

Ellis J.L., Dijkstra J., France J., Parsons A.J., Edwards G.R., Rasmussen S., Kebreab E., Bannink A., 2011. Effect of high-sugar grasses on methane emissions simulated using a dynamic model. J. Dairy Sci. 95, 272-285.

Emanuele S.M., Sniffen C.J., 2014. Feeding the rumen with sugar to increase ruminal fermentation efficiency. 2014 Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop, pp.99-107.

England P., Gill M., 1985.The effect of fish meal and sucrose supplementation on the voluntary intake and liveweight gain by young cattle. Anim. Prod. 40, 259-266.

Fondevila M., Barrios-Urdaneta A., Balcells J., Castrillo C., 2002. Gas production from straw incubated *in vitro* with different levels of purified carbohydrates. Anim. Feed Sci. Technol. 101, 1-15.

Hall M.B., 2002. Working with sugars and molasses. Proceedings of the 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville, FL, pp.146-158.

Hall M.B., Huntington G.B., 2008. Nutrient synchrony: sound in theory, elusive in practice. J. Anim. Sci. 86, E287-E292.

Heldt J.S., Cochran R.C., Stokka G.L., Farmer C.G., Mathis C.P., Titgemeyer E.C., Nagaraja T.G., 1999. Effects of different supplemental sugars and starch fed in combination with degradable intake protein on low-quality forage use by beef steers. J. Anim. Sci. 77, 2793-2802.

Henning P.N., Steyn D.G., Meissner H.H., 1993. Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. J. Anim. Sci. 71, 2516-2528.

Hoover W.H., Tucker C., Harris J., Sniffen C.J., de Ondarza M.B., 2006. Effects of non-structural carbohydrate level and starch:sugar ratio on microbial metabolism in continuous culture of rumen contents. Anim. Feed Sci. Technol. 128, 307-319.

Hristov A.N., Ropp J.K., Grandeen K.L., Aberdi S., Etter R.P., Melgar A., Foley A.E., 2005. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. J. Anim. Sci. 83, 408-421.

Huhtanen P., Khalili H., 1992. The effect of sucrose supplements on particle-associated carboxymethylcellulase (EC 3.2.1.4) and xylanase (EC 3.2.1.8) activities in cattle given grass-silage-based diet. Br. J. Nutr. 67, 245–255.

Kasperowicz A., Stan-Glasek K., Kowalik B., Vandzurova A., Pristas P., Pajak J., Kwiatowska E., Michalowski T., 2014. Effect of dietary fructose polymers on microbial fermentation, enzyme activity, ciliate concentration and diversity of bacterial flora in the rumen of rams. Anim. Feed sci. Technol. 195, 38-46.

Krause K.M., Oetzel G.R., 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. Anim. Feed Sci. Technol. 126, 215-236.

Lee M.R.F., Harris L.J., Moorby J.M., Humphreys M.O., Theodorou M.K., MacRae J.C., Scollan N.D., 2002. Rumen metabolism and nitrogen flow to the small intestine

in steers offered *Lolium perenne* containing different levels of water-soluble carbohydrates. Anim. Sci. 74, 587-596.

Lee M.R.F., Merry R.J., Davies D.R., Moorby J.M., Humphreys M.O., Theodorou M.K., MacRae J.C., Scollan N.D., 2003. Effect of increasing availability of water-soluble carbohydrates on *in vitro* rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 104, 59-70.

Lovett D.K., McGilloway D., Bortolozzo A., Hawkins M., Callan J., Flynn B., O´Mara F.P., 2006. *In vitro* fermentation patterns and methane production as influenced by cultivar and season of harvest of *Lolium perenne* L. Grass Forage Sci. 61, 9-21.

Marinas A., García-González R., Fondevila M., 2003. The nutritive value of five pasture species occurring in the summer grazing ranges of the Pyrenees. Anim. Sci. 76, 461-469.

Martel C.A., Titgemeyer E.C., Mamedova L.K., Bradford B.J., 2011. Dietary molasses increases ruminal pH and enhances ruminal biohydrogenation during milk fat depression. J. Dairy Sci. 94, 3995-4004.

Oba M., 2011. Review: Effects of feeding sugars on productivity of lactating dairy cows. Can. J. Anim. Sci. 91, 37-46.

Obara Y., Dellow D.W., Nolan J.V., 1991. The influence of energy-rich supplements on nitrogen kinetics in ruminants. In: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants, T. Tsuda, Y Sasaki, R. Kawashima (eds.), Academic Press, San Diego CA, pp. 515-539.

Penner G.B., Oba M., 2009. Increasing dietary sugar concentration may improve dry matter intake, ruminal fermentation and productivity of dairy cows in the postpartum phase of the transition period. J. Dairy Sci. 92, 3341-3353.

Piwonka E.J., Firkins J.L., 1993. Effect of glucose supplementation on fiber digestion by ruminal microorganisms in vitro. J. Dairy Sci. 79, 2196-2206.

Russell J.B., Baldwin (1978). Substrate preferences in rumen bacteria: evidence of catabolite regulatory mechanisms. Appl. Environ. Microbiol. 36, 319-329.

Russell J.B., O´Connor J.D., Fox D.G., Van Soest P.J., Sniffen C.J., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. J. Anim. Sci. 70, 3551-3561.

Sinclair L.A., 2008. Rate of nitrogen and energy release in the rumen and effects on feed utilisation and animal performance. In: Gut efficiency: the key ingredient in ruminant production., S. Andrieu, D. Wilde (eds.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, pp. 61-78.

Southgate D.A.T., 1991. Determination of food carbohydrates, 2nd ed., Elsevier Applied Science, Barking, UK.

Staerfl S.M., Amelchanka S.L:, Kalber T., Soliva C.S., Kreuzer M., Zeitz J.O., 2012. Effect of feeding high-sugar ryegrass (´AberMagic´) on methane and urinary nitrogen emissions of primiparous cows. Livest. Sci. 150, 293-301.

Strobel H.J, Russell, J.B., 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 69, 2941-2947.

Sutton J.D., 1968. The fermentation of soluble carbohydrates in rumen contents of cows fed diets containing a large proportion of hay. Br. J. Nutr. 22, 689-712.

Vallimont J.E., Bargo F., Cassidy T.W., Luchini N.D., Broderick G.A., Varga G.A., 2004. Effects of replacing dietary starch with sucrose on ruminal fermentation and nitrogen metabolism in continuous culture. J. Dairy Sci. 87, 4221-4229.