

**Effet de l'inoculation avec le *Fusarium
graminearum* et de l'étanchéité des silos
sur la production de mycotoxines et
sur l'efficacité des agents de conservation
dans l'ensilage de maïs épi humide**

Rapport final

Projet de recherche # 110124

Réalisé par

André Amyot, agr., M.Sc.

Institut de recherche et de développement en agroenvironnement

et

Luc Couture, agr., Ph.D.

Agriculture et Agroalimentaire Canada

Partenaires

Centre de recherche en sciences animales de Deschambault

Fédération des producteurs de bovins du Québec

Coopérative fédérée de Québec

Pioneer Hi-Bred Limited

Mars 2007

ISBN 2-922851-67-2
Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Québec, 2007
Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Canada, 2007
© IRDA

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX.....	5
LISTE DES FIGURES.....	5
LISTE DES ANNEXES.....	6
RÉSUMÉ.....	9
REMERCIEMENTS.....	11
INTRODUCTION.....	13
MÉTHODOLOGIE.....	15
RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	21
1. Généralités.....	21
2. Période de conservation en silos.....	23
2.1 Populations fongiques et mycotoxines.....	23
2.2 Produits de fermentation.....	28
3. Test de stabilité aérobie.....	32
3.1 Chauffage.....	32
3.2 Caractéristiques du MÉH après 7 jours d'exposition à l'air.....	37
3.3 Caractéristiques du MÉH après 14 jours d'exposition à l'air.....	41
CONCLUSION.....	45
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	47
ANNEXES.....	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Composition chimique du MÉH à la récolte.....	21
Tableau 2.	Composition chimique et microbiologique du MÉH à la mise en silo, en fonction des traitements appliqués.....	22

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Température d'entreposage des silos de laboratoire d'octobre 2003 à juin 2004.....	16
Figure 2.	Évolution de la teneur en vomitoxine pendant l'entreposage du MÉH en silos et effet des agents de conservation et de l'inoculation avec le <i>Fusarium graminearum</i> sur sa teneur après 225 jours de conservation.....	23
Figure 3.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur le compte des levures et le compte des moisissures dans le MÉH après 225 jours de conservation.....	24
Figure 4.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur le compte total des levures et des moisissures et sur le développement du mycélium dans le MÉH après 225 jours de conservation.....	25
Figure 5.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur la perte de MS du MÉH après 225 jours de conservation.....	26
Figure 6.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur le pH et la teneur en acide lactique du MÉH après 225 jours de conservation.....	28
Figure 7.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur la teneur en acide acétique et le rapport lactate : acétate du MÉH après 225 jours de conservation.....	29
Figure 8.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur les teneurs en N-ammoniacal et en sucres solubles du MÉH après 225 jours de conservation.....	30
Figure 9.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur l'évolution de la température du MÉH dans le test de stabilité aérobie.....	32
Figure 10.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur l'indice de stabilité aérobie et sur l'élévation de température du MÉH après 24 heures d'exposition à l'air dans le test de stabilité aérobie.....	33
Figure 11.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur la température maximale du MÉH et sur le nombre d'heures pour l'atteindre dans le test de stabilité aérobie.....	34

Figure 12.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur l'indice d'instabilité aérobie du MÉH dans le test de stabilité aérobie.....	35
Figure 13.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur le développement du mycélium dans le MÉH après 7 jours d'exposition à l'air.....	37
Figure 14.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur la variation de pH et le pH final du MÉH après 7 jours d'exposition à l'air.....	38
Figure 15.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur la perte de matière sèche dans le MÉH après 7 jours d'exposition à l'air.....	39
Figure 16.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur le développement du mycélium dans le MÉH après 14 jours d'exposition à l'air.....	41
Figure 17.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur la variation de pH et le pH final du MÉH après 14 jours d'exposition à l'air.....	42
Figure 18.	Effet des agents de conservation et de l'étanchéité des silos sur la perte de matière sèche dans le MÉH après 14 jours d'exposition à l'air.....	43

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1.	Coût du traitement du MÉH avec les inoculants bactériens et l'ammoniac.....	53
Annexe 2.	Effet des agents de conservation, de l'étanchéité des silos et de l'inoculation avec le <i>Fusarium graminearum</i> sur les <i>Fusarium</i> , les mycotoxines, les populations fongiques et la perte de matière sèche de MÉH après 225 jours de conservation.....	54
Annexe 3.	Effet des agents de conservation, de l'étanchéité des silos et de l'inoculation avec le <i>Fusarium graminearum</i> sur les produits de fermentation du MÉH après 225 jours de conservation.....	55
Annexe 4.	Effet des agents de conservation, de l'étanchéité des silos et de l'inoculation avec le <i>Fusarium graminearum</i> sur le chauffage du MÉH dans le test de stabilité aérobie.....	56
Annexe 5.	Effet des agents de conservation, de l'étanchéité des silos et de l'inoculation avec le <i>Fusarium graminearum</i> sur les caractéristiques du MÉH après 7 jours d'exposition à l'air dans le test de stabilité aérobie.....	57

Annexe 6. Effet des agents de conservation, de l'étanchéité des silos et de l'inoculation avec le *Fusarium graminearum* sur les caractéristiques du MÉH après 14 jours d'exposition à l'air dans le test de stabilité aérobie..... 58

RÉSUMÉ

Du maïs épi humide (**MÉH**) a été ensilé en silos de laboratoire après avoir été inoculé ou non avec *Fusarium graminearum* ($2,5 \times 10^2$ spores/g de poids frais) et traité avec : 1) aucun agent de conservation (**TÉ** : témoin), 2) de l'ammoniaque (**AM**), 16 g/kg de poids frais), 3) un inoculant bactérien homolactique (**IBHO**), *Lactobacillus plantarum* et *Enterococcus faecium*, $0,91 \times 10^5$ ufc/g de poids frais, et 4) un inoculant bactérien hétérolactique (**IBHÉ**), *Lactobacillus buchneri*, $1,0 \times 10^5$ ufc/g de poids frais. Des silos ont été gardés étanches (**SÉ** = silo étanche) pendant les 225 jours de conservation et d'autres rendus légèrement perméables (**SNÉ** = silo non étanche) après 45 jours. Un test de stabilité aérobie a été réalisé lors de l'ouverture des silos.

Les *Fusarium* spp. n'ont pas survécu jusqu'à l'ouverture des silos et l'inoculation avec le *F. graminearum* n'a pas influencé la fermentation ni la stabilité aérobie du MÉH mais a eu tendance à faire augmenter légèrement sa teneur en vomitoxine (3,35 mg/kg MS vs 2,96 mg/kg MS ; $P=0,0670$). De plus, cette dernière n'a pas été influencée par l'étanchéité des silos mais a été plus faible dans AM que dans IBHÉ (en moyenne 2,73 mg/kg MS vs 3,56 mg/kg MS ; $P=0,0179$).

Après 225 jours de conservation, le compte des levures a été plus élevé dans IBHO que dans TÉ, AM et IBHÉ quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 7,08 vs 5,38, 4,93 et 4,41 \log_{10} UFC/g de poids frais, respectivement). Quant au compte des moisissures, il a été faible quel que soit l'agent de conservation (en moyenne 1,65 \log_{10} ufc/g de poids frais) dans les SÉ, alors que dans les SNÉ il a été plus faible dans AM que dans TÉ et IBHÉ (4,67 vs 6,87 et 7,03 \log_{10} ufc/g de poids frais, respectivement). Le traitement AM a limité beaucoup la fermentation de l'ensilage (pH de 7,51 en moyenne) quelle que soit l'étanchéité des silos. IBHO a eu une fermentation plus homolactique que TÉ, AM et IBHÉ (lactate : acétate = 4,09 vs 3,28, 0,65 et 3,01, respectivement) en SÉ mais pas en SNÉ. Quant à IBHÉ, il a donné un ensilage avec une teneur légèrement plus élevée en acide acétique (en moyenne 0,55% vs 0,44%) et moins élevée en sucres solubles (en moyenne 1,40% vs 1,71%) que TÉ quelle que soit l'étanchéité des silos. Dans le test de stabilité aérobie de l'ensilage provenant des SÉ, le chauffage a commencé plus tard dans IBHÉ et AM que dans IBHO (indice de stabilité aérobie = 138,4 h et 108,0 h vs 35,9 h, respectivement) et a progressé moins rapidement jusqu'au maximum dans IBHÉ que dans TÉ ($P=0,08$), AM ($P=0,08$) et IBHO ($P<0,01$) (indice d'instabilité aérobie = 3,79 °C/j vs 5,45 °C/j, 5,43 °C/j et 6,71 °C/j, respectivement). Dans l'ensilage provenant des SNÉ, la température a augmenté moins rapidement jusqu'au maximum dans IBHÉ que dans TÉ, AM et IBHO (indice d'instabilité aérobie = 8,91 °C/j vs 12,65 °C/j, 15,76 °C/j et 13,33 °C/j, respectivement) et plus rapidement dans AM que dans chacun des autres traitements.

Dans les conditions de cette expérience, AM a eu un effet inhibiteur rapide de la croissance fongique qui s'est traduit en une réduction de la perte de MS par rapport à TÉ, IBHO et IBHÉ (2,29 % vs 5,80 %, 5,30 % et 5,54 %, respectivement) dans les SNÉ pendant la période de conservation. Par contre, l'effet de IBHÉ s'est manifesté après l'ouverture des silos, tel qu'indiqué par une réduction de la perte de MS par rapport à TÉ, AM et IBHO (en moyenne 5,03% vs 6,77%, 6,35% et 7,23%, respectivement) après 7 jours d'exposition à l'air, que l'étanchéité des silos ait été maintenue ou non pendant toute la durée de conservation. Les résultats indiquent que AM a plus de potentiel que IBHÉ pour réduire la teneur en vomitoxine du MÉH de même que la perte de MS totale lorsque les silos ne restent pas hermétiques pendant toute la durée de conservation. Par contre, IBHÉ a plus de potentiel que AM pour réduire le chauffage du MÉH après l'ouverture du silo et la perte de MS qui en résulte, que les silos aient été gardés étanches ou non pendant toute la durée de conservation.

REMERCIEMENTS

Nous voulons remercier les organismes et les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de recherche.

Merci d'abord aux organismes qui ont fourni le financement nécessaire à la réalisation du projet :

- la Fédération des producteurs de bovins du Québec,
- la Coopérative fédérée de Québec,
- Pioneer Hi-Bred Limited.

Merci également au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) qui a mis à notre disposition ses infrastructures et équipements.

Un merci spécial à M. Michel Atkins, technicien agricole à l'Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA), qui a assuré le suivi technique de l'expérience et Mme Lucie Lévesque, technicienne de laboratoire au Centre de recherche et de développement sur les sols et les grandes cultures (Agriculture et Agroalimentaire Canada), qui nous a assisté dans le volet « *Fusarium* » de l'expérience.

Nous tenons aussi à remercier M. Steve Méthot, conseiller en statistiques au Centre de recherche et de développement sur le bovin laitier et le porc (Agriculture et Agroalimentaire Canada) pour son soutien lors de l'analyse des résultats.

Merci finalement au personnel de laboratoire et ouvrier du CRSAD et de l'IRDA qui nous a assisté à une étape ou l'autre de la réalisation de ce projet de recherche.

INTRODUCTION

Le maïs épi humide (**MÉH**) est un aliment énergétique utilisé en production bovine mais qui est susceptible de présenter, par temps chaud, des problèmes de stabilité aérobie, surtout lorsque la densité est faible et la vitesse de désilage insuffisante. Par suite de la croissance des levures, le pH de l'ensilage s'élève à un niveau qui permet la croissance des moisissures (McDonald et al, 1991). Le chauffage qui en résulte peut entraîner d'importantes pertes de matière sèche.

Plusieurs agents de conservation peuvent être utilisés pour améliorer la stabilité aérobie de l'ensilage de maïs (plante entière) de même que du maïs grain et du maïs épi humide. Le traitement avec les agents de conservation à base d'acide propionique ou ses sels, appliqués à faible dose (0,1 à 0,2% du poids frais), fournit une préservation faible (Kung et al, 1998; Ranjit et Kung, 2000) et parfois nulle (Kleinschmit et al, 2005) alors que le traitement aux doses élevées d'acide propionique (0,5 à 1,0% du poids frais) (Fellner et al, 2001) est peu utilisé en raison de son coût.

Quant au traitement avec l'ammoniac, appliqué sous forme gazeuse ou aqueuse, plusieurs expériences ont montré que de fortes doses (1% de la MS ou 0,35% du poids frais) diminuent les populations fongiques et activent la fermentation de l'ensilage de maïs. Celui-ci a un pH légèrement plus élevé et souvent un rapport lactate : acétate plus faible que l'ensilage témoin (Buchanan-Smith, 1982 ; Kung et al, 2000). Il en résulte aussi une amélioration de la stabilité aérobie et une diminution des pertes de matière sèche causées par l'exposition à l'air (Kung et al, 2000). Dans le cas du maïs humide, le traitement à l'ammoniac anhydre, à dose très élevée (1% du poids frais), inhibe la fermentation de sorte que l'ensilage a un pH très élevé et une très faible teneur en acide lactique. Ce traitement améliore aussi la stabilité aérobie et réduit les pertes de matière sèche causées par l'exposition à l'air (Phillip et al, 1985). Le traitement à l'ammoniac aqueux a eu un effet différent selon la teneur en matière sèche du maïs épi humide (Soderholm et al, 1988). Kung (1992) rapporte qu'il n'a pas amélioré sa stabilité aérobie de façon constante.

Les inoculants bactériens peuvent constituer une solution de rechange économique aux agents de conservation chimiques. Les inoculants bactériens homolactiques à base de *Lactobacillus plantarum* ont parfois amélioré légèrement la fermentation de l'ensilage de maïs et d'autres fois aucunement (Kung et al, 1993) et ont eu un effet limité sur sa stabilité aérobie, parfois nul (Kleinschmit et al, 2005) et parfois légèrement positif (Ranjit et Kung, 2000). Le maïs humide ainsi traité a eu une stabilité aérobie tantôt meilleure que le témoin (Fellner et al, 2001), tantôt comparable à ce dernier (Kung et al, 2004). Par contre, les inoculants bactériens hétérolactiques à base de *Lactobacillus buchneri* ont permis d'améliorer la stabilité aérobie de l'ensilage de maïs (Driehuis et al, 1999; Ranjit et Kung, 2000 ; Nishino et al, 2004; Kleinschmit et al, 2005) et du maïs grain humide (Taylor et Kung, 2002; Ebling et al, 2002; Kendall et al, 2002). L'effet de *L. buchneri* proviendrait de l'inhibition des levures à la suite de la transformation anaérobie de l'acide lactique en acide acétique et en 1,2 propanediol (propylène glycol) (Oude Elferink et al, 2001). Leur survie dans le silo est réduite et leur croissance est inhibée lorsque l'ensilage est exposé à l'air (Driehuis et al, 1999).

Le *Fusarium graminearum* est la principale moisissure productrice de toxines chez le maïs au Québec. Il produit de la vomitoxine et de la zéaralénone, de sorte que les récoltes contaminées peuvent contenir ces deux mycotoxines. Selon les travaux de Escula (1979), les *Fusarium* peuvent survivre et produire de la zéaralénone pendant la période de conservation ou après l'ouverture du silo puisque les conditions de confinement réalisées dans les silos tours

conventionnels et les silos horizontaux ne correspondent pas à une anaérobiose complète. Jelinek et al (1989) rapportent aussi que la fermentation du maïs concentre la zéaralénone. Par contre, d'autres recherches indiquent que les *Fusarium* sont incapables de croître dans l'ensilage (Scudamore et Livesey, 1998) et qu'on ne retrouve pas de *Fusarium* viable dans l'ensilage de maïs (Kuldau et Mansfield, 2006).

On considère généralement que les agents de conservation peuvent réduire la croissance des *Fusarium* et éventuellement la production de mycotoxines dans l'ensilage. L'inhibition des moisissures par des acides organiques est bien documentée. Une forte dose d'acide propionique (0,8% à 1,5% du poids frais) inhibe le développement de *F. graminearum* et la production de zéaralénone dans le maïs grain pendant plus de 6 mois (Sherwood et Peberdy, 1974 ; cité par Escula, 1977). Le développement de *F. graminearum* est aussi inhibé par la présence dans le milieu d'ammoniac sous forme non dissociée (DePasquale et Montville, 1990). Quant aux agents de conservation microbiens, à notre connaissance aucune recherche n'a démontré leur effet sur la croissance des *Fusarium* et la teneur en mycotoxines de l'ensilage.

L'objectif principal de cette recherche est d'évaluer l'effet des inoculants bactériens homolactique et hétérolactique et de l'ammoniaque sur la fermentation et la stabilité aérobie du MÉH. De façon plus spécifique, on étudie l'effet de l'inoculation avec le *F. graminearum* et celui de l'étanchéité des silos sur la production de mycotoxines et sur l'efficacité des agents de conservation dans l'ensilage de MÉH.

MÉTHODOLOGIE

Récolte

Du MÉH (DKC27-12, 2250 UTM) a été récolté au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) les 24 (répétitions 1 et 2) et 25 octobre 2003 (répétitions 3, 4 et 5) à environ 65% de matière sèche, avec une fourragère conventionnelle (New Holland, modèle 790) équipée d'un tête cueilleuse d'épis, et utilisé pour réaliser une expérience comportant 80 silos de laboratoire (4 agents de conservation x 2 niveaux de *F. graminearum* x 2 niveaux d'étanchéité des silos x 5 répétitions).

Traitements « agent de conservation » et « Fusarium »

Le MÉH a été inoculé ou non avec *F. graminearum* ($2,5 \times 10^2$ spores/g de poids frais). L'inoculum était constitué d'un mélange des souches T-11 et 833 de la collection du Centre de recherche et de développement sur les sols et les grandes cultures (Agriculture et Agroalimentaire Canada, Québec) et avait une concentration de 5×10^4 spores/ml. Il a été appliqué au MÉH à la dose de 5 ml/kg de poids frais après lui avoir ajouté un surfactant (Tween 80) à la dose de 1 ml/3 L d'inoculum.

Le MÉH a aussi été traité avec : 1) aucun agent de conservation (**TÉ** =Témoin), 2) de l'ammoniaque (**AM**) (NH_4OH , 29,5% NH_3 , 0,90 kg/L), 16 kg/t de poids frais (17,8 L/t de poids frais), 3) un inoculant bactérien homolactique (**IBHO**), *Lactobacillus plantarum* et *Enterococcus faecium* (Biomax HMC, Chr. Hansen Biosystems, Milwaukee, WI), $0,91 \times 10^5$ ufc/g de poids frais, et 4) un inoculant bactérien hétérolactique (**IBHÉ**), *Lactobacillus buchneri* (Sila-Bac 11A44, Pioneer Hi-Bred International, Des Moines, IA), $1,0 \times 10^5$ ufc/g de poids frais. Le coût de chacun de ces traitements est présenté en annexe 1.

Biomax HMC ($0,91 \times 10^{11}$ ufc/g d'inoculant) et Sila-Bac 11A44 ($1,0 \times 10^{11}$ ufc/g d'inoculant) ont été appliqués à la dose de 1g/t de poids frais. Pour ce faire, 5 g d'inoculant ont été placés dans 25 litres d'eau et la solution a été appliquée à la dose de 5 litres par tonne de MÉH (base humide). Biomax HMC est commercialisé aux États-Unis mais non homologué au Canada au moment de réaliser cette expérience alors que Sila-Bac 11A44 est homologué par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) et commercialisé au Canada.

Les traitements « agent de conservation » et « *Fusarium* » ont été réalisés en pulvérisant les produits liquides sur le MÉH (20 kg) placé dans un mélangeur pendant que celui-ci était en opération. Le maïs ne recevant pas d'agent de conservation a reçu une quantité d'eau égale à celle apportée lors de l'ajout des inoculants. L'ensilage ne recevant pas de *Fusarium* a reçu le même bouillon de culture stérile, dilué de la même façon.

Mise en silo et entreposage

Le maïs ainsi traité a été ensilé dans des seaux de polyéthylène de 44 cm de hauteur et 27,5 cm de diamètre (26 litres) en compressant environ 16,2 kg de MÉH à une densité d'environ 625 kg de MÉH (base humide)/ m^3 (420 kg MS/ m^3) à l'aide d'une presse hydraulique conçue à cette fin. Une fois le remplissage terminé, le contenu de chaque silo a été pesé et les seaux ont été scellés avec un couvercle muni d'un joint de caoutchouc. De plus, un scellant thermoplastique (Mulco Inc.) a été appliqué tout autour du joint de façon à rendre le scellage parfaitement hermétique. Les silos ont été entreposés dans une pièce dont la température a été ajustée en continu pour reproduire celle d'un ensilage de MÉH réalisé en silo boudin (figure 1).

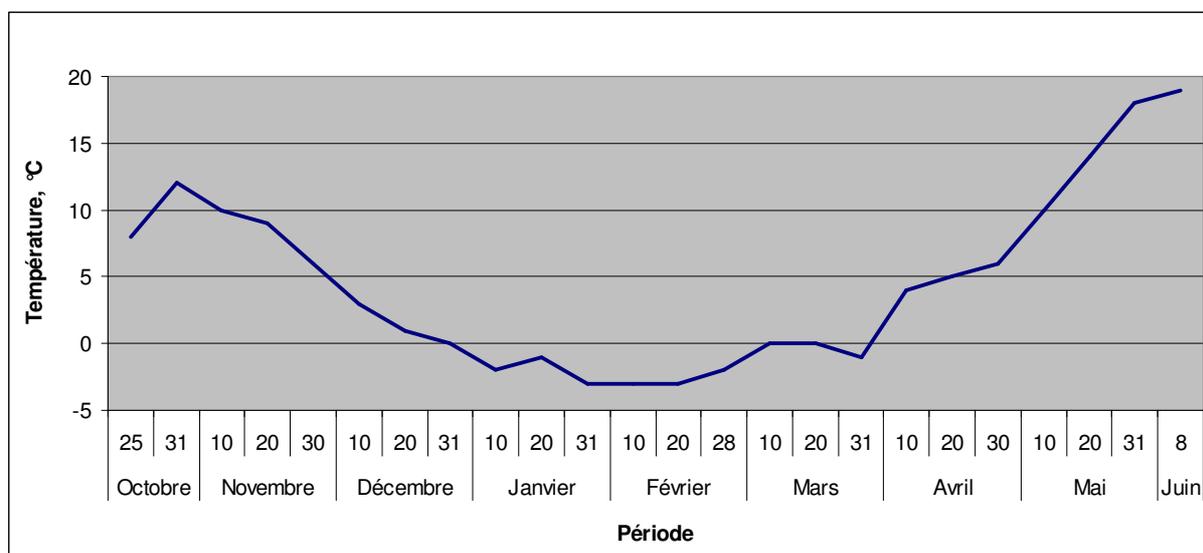


Figure 1. Température d'entreposage des silos de laboratoire d'octobre 2003 à juin 2004

Étanchéité des silos

Des silos ont été gardés hermétiques pendant les 225 jours de conservation (**SE**=silos étanches) alors que d'autres ont été rendus non étanches après 45 jours (**SNÉ**=silos non étanches) en pratiquant 12 trous de 2 mm de diamètre répartis également sur leur paroi cylindrique.

Test de stabilité aérobie

Après environ 225 jours de conservation (le 8 juin 2004) les silos ont été ouverts et leur contenu a été pesé. Un test de stabilité aérobie a été réalisé avec 4,70 kg de MÉH provenant de chaque silo, en plaçant environ 2,35 kg dans 2 bacs de polystyrène de 7,5 litres maintenus ouverts, mais recouverts d'un coton fromage. Les bacs ont été placés dans une pièce dont la température ambiante a été maintenue à 20°C, pour des durées de 7 jours et 14 jours, respectivement. Des témoins inertes ont été préparés en traitant du MÉH avec un mélange constitué de 311 g d'acide formique 85%, 345 g d'acide propionique 99% et 344 g d'eau distillée, à la dose de 25 ml/kg de poids frais. Le contenu de chaque bac a été pesé. Des fils thermocouples ont été insérés dans les 80 bacs à ouvrir après 14 jours et les 10 témoins inertes, et la température a été suivie en continu (lecture aux 10 minutes et moyennes aux heures). Après 7 jours ou 14 jours d'exposition à l'air selon le cas, le contenu de chaque bac a été pesé et le développement des moisissures évalué visuellement (échelle de 0 à 5). De plus, les courbes de température ont permis de déterminer 1° l'indice de stabilité aérobie, défini comme le temps d'exposition à l'air nécessaire pour faire augmenter la température de 2°C (Kleinschmit et al, 2005), 2° l'élévation de température après 24 heures d'exposition à l'air, 3° la température maximale, 4° le temps requis pour atteindre cette température, et finalement 5° l'indice d'instabilité aérobie, défini comme le rapport « température maximale : nombre de jours pour l'atteindre » (Ruppel et al, 1995).

Échantillonnage

Des échantillons de MÉH correspondant à chaque silo ont été prélevés : 1° avant de réaliser les traitements, 2° pendant le remplissage de chaque silo, après avoir réalisé les traitements « agent de conservation » et « *Fusarium* », 3° lors de l'ouverture des silos après 225 jours de conservation, et 4° à la fin du test de stabilité aérobie, après 7 jours et 14 jours d'exposition à l'air. Les échantillons prélevés avant de réaliser les traitements ont été regroupés en 5 échantillons composites correspondant aux 5 répétitions alors que les échantillons prélevés au moment de la mise en silo, à l'exception de ceux destinés à la détermination de la MS et aux comptes de *Fusarium* spp., ont été regroupés en fonction des traitements « *Fusarium* » et « étanchéité des silos » de façon à obtenir 16 échantillons composites (4 par traitement « agent de conservation »).

Ces échantillons ont été utilisés pour caractériser le matériel ensilé en terme de fermentation (pH, sucres solubles et pouvoir tampon) et de valeur nutritive (matière sèche, protéine brute, fibre par détergent acide et fibre par détergent neutre), de même qu'au point de vue microbiologique (comptes des levures et des moisissures) et toxicologique (vomitoxine et zéaralénone). Les comptes de *Fusarium* spp. et les teneurs en matière sèche après traitement ont été faits sur les échantillons individuels. L'analyse des principaux paramètres de la fermentation (matière sèche, pH, acides gras volatils, acide lactique, sucres solubles et azote ammoniacal), des analyses microbiologiques (compte des levures, des moisissures et de *Fusarium* spp.) et des analyses de mycotoxines (vomitoxine et zéaralénone) ont été effectuées sur les échantillons prélevés dans chaque silo lors de leur ouverture. La teneur en matière sèche et le pH ont été déterminés sur les échantillons prélevés à la fin du test de stabilité aérobie.

Les échantillons destinés à l'analyse des paramètres de la valeur nutritive et des mycotoxines ont été séchés au four à 60 °C pendant 72 heures (ASAE, 2000) avant d'être broyés à 1 mm. Ceux destinés à l'analyse des paramètres de la fermentation ont été congelés (-20 °C) et ont été broyés avec de la glace sèche à l'aide d'un robot culinaire. Finalement, les échantillons utilisés pour les comptes microbiologiques ont été conservés au réfrigérateur (3 °C) et analysés dans les meilleurs délais.

Analyses chimiques

La teneur en MS du matériel utilisé pour fins d'analyses a été déterminée en séchant 1 g d'échantillon pré-séché (analyses des paramètres de la valeur nutritive) ou 10 g d'échantillon humide (analyses des paramètres de la fermentation) à l'étuve à 100 °C (CPAQ, 1982). Le pH a été déterminé sur 10-15 g de produit placé dans 20-30 ml d'eau distillée pendant 20 minutes, en insérant l'électrode dans le mélange (pH-mètre Fisher Scientific Acumet 925). Le pouvoir tampon a été déterminé sur 20 g d'ensilage placé dans 200 ml d'eau distillée : on abaisse le pH jusqu'à 4,0 avec du HCl, puis on le monte de 4,0 à 6,0 par titrage avec du NaOH 0,2 N. Le pouvoir tampon est exprimé en Meq de NaOH/kg MS.

Les sucres solubles, les acides organiques et l'azote ammoniacal (N-ammoniacal) ont été dosés après avoir réalisé une extraction avec de l'acide sulfurique 0,2 N (Smith et al, 1964). Les sucres solubles et les acides organiques ont été séparés et quantifiés à l'aide d'un système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) Waters 600E (Waters corporation, Massachusetts, USA), équipé d'une colonne de séparation de marque AMINEX HPX-87H (7,8 mm DI x 30 cm) (Bio-Rad laboratories, California, USA). La phase mobile était constituée d'acide sulfurique 0,025 N avec un débit de 0,4 ml/min à une température de 40 °C. La détection

des acides organiques et des sucres solubles a été faite avec un détecteur à indice réfraction (Waters 410) selon la méthode du CRSAD (communication personnelle). Le dosage de l'azote ammoniacal a été réalisé par colorimétrie (CPAQ, 1982) avec un spectrophotomètre de marque Milton Roy (modèle 1201).

Le dosage des protéines brutes ($N \times 6,25$) a été réalisé en dosant l'azote (N) selon la méthode Kjeldahl (AOAC, 1990) avec un appareil Tecator (modèle Kjeltec Auto 1030 Analyser) après minéralisation de l'échantillon d'ensilage (digestion system 20, 1015 Digestor). Les teneurs en fibres par détergent acide (AOAC, 1990) et en fibres par détergent neutre (CPAQ, 1982) ont été déterminées selon la méthode de Van Soest sur un appareil Tecator (Fibertec System 1010 Extractor). La méthode « don-1c-03-00.1 » de Romer Labs Inc. (2000) a été utilisée pour séparer et quantifier la vomitoxine à l'aide d'un système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) alors que pour la zéaralénone l'analyse a été faite selon la méthode « zon-1c-01-00.3 » de Romer Labs Inc. (2000a) en utilisant les paramètres du système HPLC proposés par Trilogy Analytical Laboratory (1999).

Analyses microbiologiques

Le compte des levures et le compte des moisissures ont été effectués selon la méthode de Santé Canada (2004) modifiée. On a utilisé comme milieu de culture une gélose d'extrait de malt avec du rose de Bengal (0,005%), additionné de streptomycine (100 mg/ml) et néomycine (50 mg/ml) et on a réalisé une incubation pendant 5 jours. Le développement végétatif des moisissures a été évalué visuellement selon une échelle de 0 à 5 (0 = aucun mycélium détectable, 5 = mycélium très dense). La numération des spores du *Fusarium graminearum* dans l'inoculum original a été effectuée au microscope à l'aide d'un hématimètre de Neubauer, selon la méthode de Tuite (1969). L'isolement et le dénombrement des *Fusarium* spp. dans le fourrage frais et dans l'ensilage ont été réalisés par étalement de suspensions diluées sur le milieu peptone-PCNB (Papavizas, 1967). Les boîtes de peptone-PCNB provenaient des Laboratoires Quélab, Montréal.

Analyses statistiques

L'expérience a été réalisée selon un dispositif en blocs complets aléatoires c'est-à-dire que chaque silo s'est vu attribuer au hasard une combinaison des 3 facteurs considérés et chaque bloc comportait les 16 combinaisons possibles de ces facteurs (4 agents de conservation x 2 niveaux de *Fusarium graminearum* x 2 niveaux d'étanchéité des silos). Les blocs ont été établis dans l'ordre du jour de récolte (répétitions 1 et 2 le 24 octobre 2003 et répétitions 3, 4 et 5 le lendemain) et du délai entre la récolte et la mise en silo, c'est-à-dire que les 16 premiers silos traités ont constitué le premier bloc et ainsi de suite.

Les différents paramètres étudiés ont été analysés avec la procédure PROC MIXED de SAS/STAT (Version 8.1, SAS Inst. Inc., Cary, NC) selon un modèle statistique comportant 15 degrés de liberté pour les traitements et les interactions, 4 pour les blocs et 60 pour l'erreur. Un modèle avec variances inégales a été préféré au modèle avec variances égales lorsque cela s'est avéré avantageux (Option REPEATED). Le choix de la matrice de variance a été fait à l'aide du « Akaike's Information Criterion » (AIC). Le modèle avec le plus petit AIC (en tenant compte du signe) a été considéré le plus adéquat. La méthode des moindres carrés a été utilisée de façon à comparer les moyennes des moindres carrés (moyennes ajustées au modèle). Compte tenu des comparaisons multiples effectuées entre les agents de conservation, l'ajustement de Tukey-Kramer a été appliqué pour corriger les probabilités. Les comptes microbiens ont été transformés (\log_{10}) et les résultats rapportés sur une base logarithmique. La

teneur en vomitoxine a aussi été transformée (\log_{10}), afin d'avoir une distribution normale, et les résultats rapportés sur la base non transformée. C'est pourquoi les intervalles de confiance ont été rapportés pour cette variable au lieu de l'erreur type.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Généralités

Caractéristiques du MÉH ensilé

Les épis de maïs récoltés pour réaliser cette expérience ont présenté une teneur en MS de 67,50%. Les teneurs en protéine brute, en fibre par détergent acide et en fibre par détergent neutre ont été voisines de celles rapportées par le Conseil National de Recherche (NRC, 2001). On a observé un pouvoir tampon de 28,35 mEq NaOH/kg MS, ce qui indique qu'on est en présence d'un produit très peu tamponné et qui exige une très faible production d'acide lactique pour abaisser son pH. Malgré une teneur en sucres solubles relativement faible (2,75%), la fermentation du MÉH ne sera pas limitée par le manque de sucres, puisque le rapport « sucres solubles / pouvoir tampon » est très élevé (970 g/Eq) (tableau 1).

Tableau 1. Composition chimique du MÉH à la récolte

Critère	Analyse ¹	Analyse standard (NRC, 2001)
Matière sèche, %	67,50 (1,04)	67,1
Protéine brute, % MS	8,90 (0,07)	8,4
Fibre par détergent acide, % MS	10,32 (0,62)	9,4
Fibre par détergent neutre, % MS	22,22 (1,86)	21,0
Sucres solubles, % MS	2,75 (0,13)	---
Pouvoir tampon, mEq NaOH/kg MS	28,35 (1,01)	---
Sucres solubles / pouvoir tampon, g/Eq	970 (53)	---

¹ Moyenne de 5 échantillons composites prélevés avant de réaliser les traitements (1 échantillon par répétition). Les valeurs entre parenthèses sont les écarts types.

Au moment de la mise en silo, le MÉH traité avec AM avait une teneur en MS légèrement plus faible (67,09% vs 67,43% en moyenne), un pH beaucoup plus élevé (8,74 vs 5,66 en moyenne) et une teneur en protéine brute 1,43% plus élevée (10,33% vs 8,90% en moyenne) que les autres traitements. Seulement 39,5% (1,43%/3,62%) de l'azote ammoniacal appliqué a été récupéré par le MÉH, puisque l'augmentation de la teneur en protéine brute par rapport au

témoin a été de 1,43% (10,33% - 8,90%) alors que la solution appliquée aurait pu la faire augmenter de 3,62% si tout l'azote ammoniacal avait été récupéré par le MÉH. En effet, cette dernière contenait l'équivalent de 24,3 kg PB/t MÉH (16 kg NH₄OH/t MÉH x 29,5% NH₃ x 14/17 x 6,25) ou 36,2 kg PB/t MS (24,3 kg PB/t MÉH / 0,671 kg MS/kg MÉH) (tableau 2).

Les analyses microbiologiques montrent clairement que le traitement AM a réduit fortement les populations de levures et de moisissures. Par contre, l'inoculation du *F. graminearum* n'a pas fait augmenter la population totale de *Fusarium* spp. puisque celle-ci était déjà relativement élevée dans le matériel non inoculé. En effet, la dose d'inoculation du *F. graminearum* a été de 2,5 x 10² spores/g de poids frais alors que la population naturelle des *Fusarium* spp. a été de 10⁵ ufc/g de poids frais. Quant aux mycotoxines, en moyenne 2,15 mg de vomitoxine/kg MS ont été détectés alors qu'il y a eu moins de 0,50 mg de zéaralénone/kg MS (tableau 2).

Finalement, la densité moyenne du MÉH était 420 kg MS/m³ au moment de la mise en silo. Cette valeur est 20% plus faible que celle rapportée par Tyson et al (1996) comme densité moyenne du MÉH en silo couloir.

Tableau 2. Composition chimique et microbiologique du MÉH à la mise en silo, en fonction des traitements appliqués¹

Critère	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	
Matière sèche, % ²	67,45 (0,99) ⁴	67,09 (1,02)	67,39 (1,00)	67,44 (1,01)	
pH ³	5,64 (0,06)	8,74 (0,04)	5,67 (0,07)	5,67 (0,13)	
Protéine brute, % MS ³	8,90 (0,08)	10,33 (0,30)	8,95 (0,10)	8,85 (0,13)	
Levures, log ₁₀ ufc/g de poids frais ³	5,95 (0,29)	0,75 (1,50)	5,71 (0,88)	5,73 (0,61)	
Moisissures, log ₁₀ ufc/g de poids frais ³	4,96 (0,79)	2,33 (1,56)	4,65 (1,01)	4,33 (0,64)	
<i>Fusarium</i> spp., log ₁₀ ufc/g de poids frais ²	Non inoculé	5,54 (0,57)	0,19 (0,61)	5,46 (0,44)	5,51 (0,36)
	Inoculé	5,61 (0,42)	0,00 (0,00)	5,45 (0,44)	5,24 (0,31)
Vomitoxine, mg/kg MS ³	2,15 (0,10)	2,53 (0,57)	1,98 (0,85)	1,93 (0,64)	
Zéaralénone, mg/kg MS ³	< 0,50	< 0,50	< 0,50	< 0,50	

¹TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Les valeurs sont des moyennes de 20 observations.

³ Les valeurs sont des moyennes de 4 observations.

⁴ Les valeurs entre parenthèses sont les écarts types

2. Période de conservation en silos

2.1 Populations fongiques et mycotoxines

L'inoculation avec le *F. graminearum* n'a pas influencé les populations fongiques ni la perte de MS dans le MÉH à l'ouverture des silos mais a eu tendance à relever sa teneur en mycotoxines (annexe 2).

Fusarium

Il n'y avait aucun *Fusarium* viable lors de l'ouverture des silos, que les silos aient été gardés étanches pendant les 225 jours de conservation (SÉ) ou seulement pendant les 45 premiers jours (SNÉ). Ceci indique que les *Fusarium* ont péri assez vite dans l'ensilage en absence d'air (annexe 2).

Mycotoxines

La teneur en zéaralénone du MÉH a été inférieure à 0,50 mg/kg MS dans tous les échantillons prélevés après 225 jours de conservation. Par contre, la teneur en vomitoxine a été un peu plus élevée qu'au moment de la mise en silo (3,16 vs 2,14 mg/kg MS en moyenne) et a eu tendance à augmenter légèrement à la suite de l'inoculation avec le *F. graminearum* (3,35 mg/kg MS vs 2,96 mg/kg MS ; $P=0,0670$), sans être influencée par l'étanchéité des silos. Elle a été légèrement plus faible dans AM que dans IBHÉ (en moyenne 2,73 mg/kg MS vs 3,56 mg/kg MS ; $P=0,0179$), mais aucun agent de conservation n'a été significativement différent de TÉ (figure 2 et annexe 2).

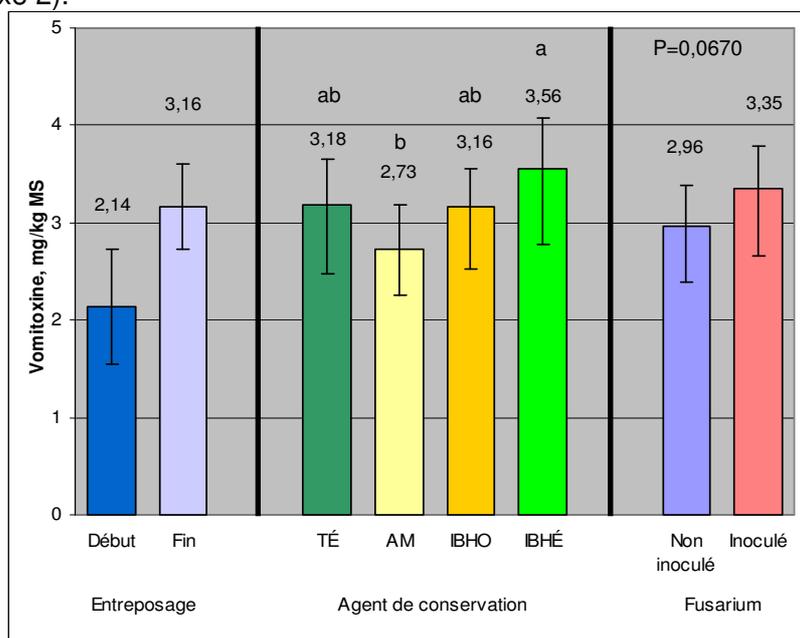


Figure 2. Évolution de la teneur en vomitoxine pendant l'entreposage du MÉH en silos¹ et effet des agents de conservation² et de l'inoculation avec le *Fusarium graminearum*³ sur sa teneur après 225 jours de conservation⁴.

¹ Les valeurs sont les moyennes et les barres sont les écarts types.

² TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

³ MÉH non inoculé ou inoculé à la dose de $2,5 \times 10^2$ spores/g de poids frais.

⁴ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les intervalles de confiance ($\alpha=0,05$). Les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P>0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Levures

Le compte des levures a été plus élevé en SNÉ qu'en SÉ (6,76 log₁₀ ufc/g vs 4,14 log₁₀ ufc/g ; P<0,0001) et plus élevé dans IBHO que dans TÉ, AM et IBHÉ (en moyenne 7,08 log₁₀ ufc/g vs 5,38, 4,93 et 4,41 log₁₀ ufc/g, respectivement ; P=0,0142, 0,0239 et 0,0054, respectivement), quelle que soit l'étanchéité des silos (figure 3 et annexe 2).

Moisissures

Le compte des moisissures a été plus élevé en SNÉ qu'en SÉ (5,82 log₁₀ ufc/g vs 1,65 log₁₀ ufc/g ; P<0,0001). En SÉ, il a été relativement faible et comparable (P>0,05) dans TÉ, AM, IBHO et IBHÉ (1,55 log₁₀ ufc/g à 1,74 log₁₀ ufc/g). En SNÉ, AM (4,67 log₁₀ ufc/g) a donné un compte inférieur à TÉ (6,87 log₁₀ ufc/g) (P=0,0142) et à IBHÉ (7,03 log₁₀ ufc/g) (P=0,0051), et IBHO (4,71 log₁₀ ufc/g) un compte inférieur à IBHÉ (P=0,0355) mais non significativement différent de TÉ (P=0,0655) (figure 3 et annexe 2).

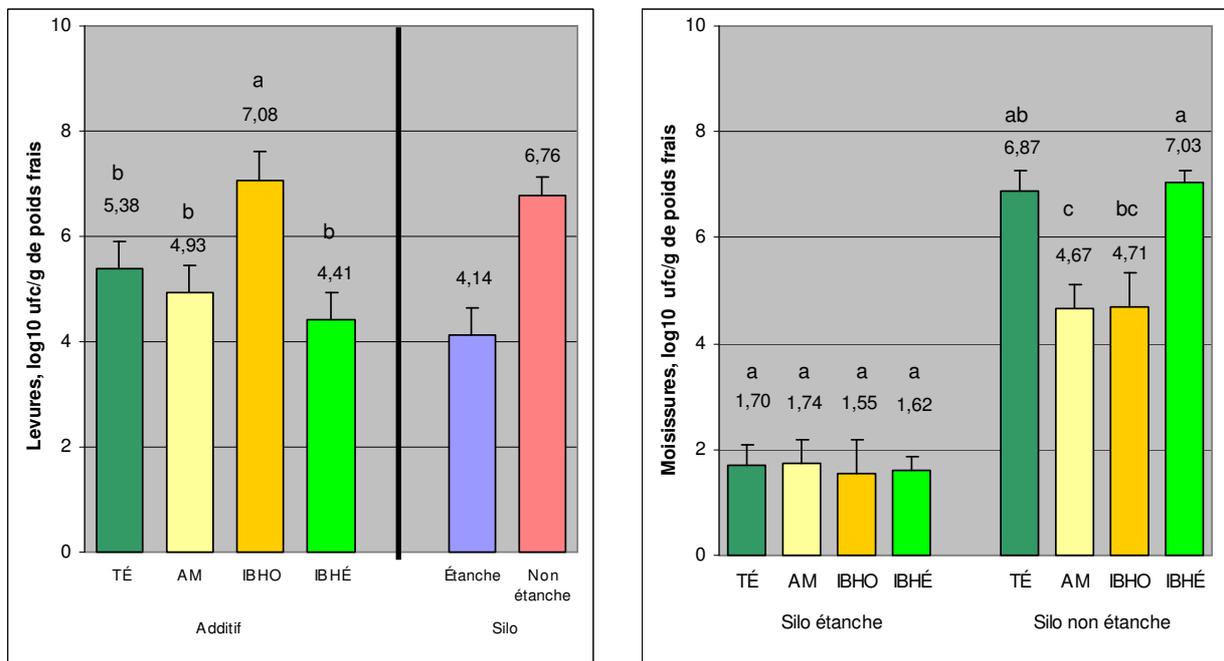


Figure 3. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur le compte des levures et le compte des moisissures dans le MÉH après 225 jours de conservation³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour l'ensemble des deux niveaux d'étanchéité (levures) ou pour chaque niveau d'étanchéité des silos (moisissures), les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes (P>0,05) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Levures et moisissures

Au total, c'est IBHO qui a fait moins bonne figure en SÉ, avec un compte total des levures et moisissures (6,45 log₁₀ ufc/g) significativement supérieur à AM (3,83 log₁₀ ufc/g ; P=0,0361) et IBHÉ (2,88 log₁₀ ufc/g ; P=0,0002) mais non significativement différent de TÉ (4,46 log₁₀ ufc/g ; P=0,1521). Par contre, en SNÉ c'est AM qui a fait meilleure figure avec un compte total des levures et moisissures (6,65 log₁₀ ufc/g) inférieur à TÉ (7,50 log₁₀ ufc/g ; P=0,0027) et IBHO (7,87 log₁₀ ufc/g ; P <0,0001) mais non significativement différent de IBHÉ (7,32 log₁₀ ufc/g ; P=0,0656) (figure 4 et annexe 2).

Mycélium

Par contre, on n'a observé aucun mycélium visible dans les SÉ alors que dans les SNÉ celui-ci a été plus abondant (P<0,0001) dans AM (3,70) que dans chacun des autres traitements (2,25 à 2,35) (figure 4 et annexe 2).

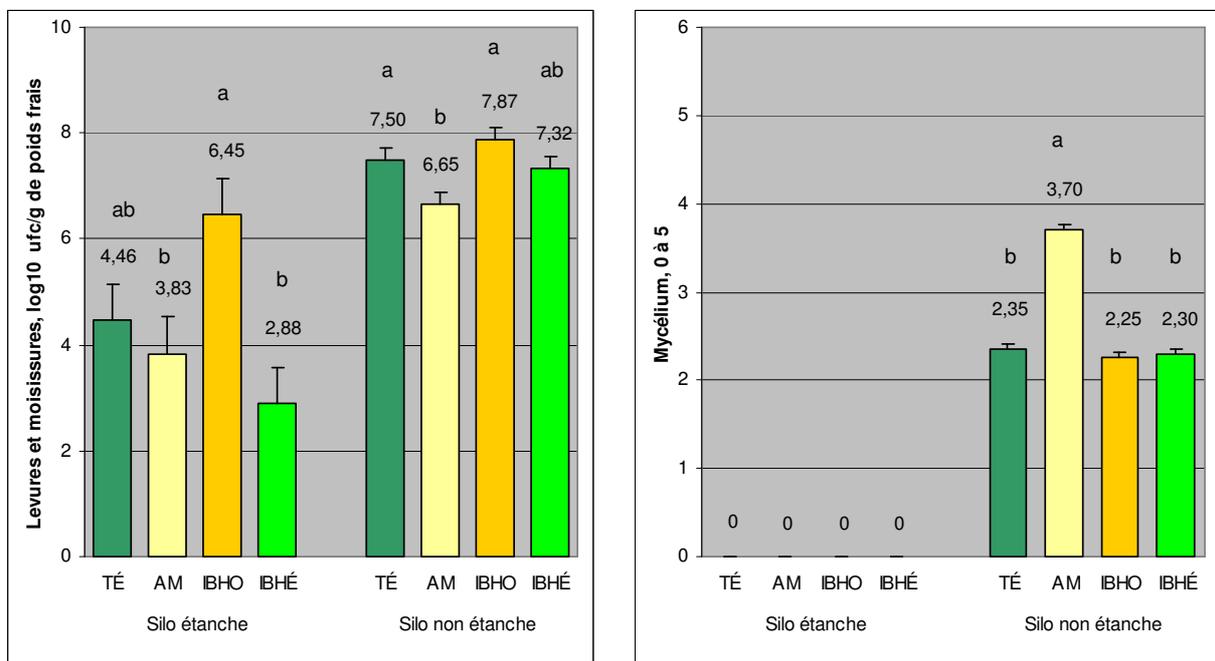


Figure 4. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur le compte total des levures et des moisissures et sur le développement du mycélium³ dans le MÉH après 225 jours de conservation⁴

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Échelle de 0 à 5 : 0 = aucun développement de mycélium ; 5 = mycélium très abondant.

⁴ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes (P>0,05) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Perte de matière sèche

L'inoculation avec *F. graminearum* n'a pas influencé la perte de MS à l'ouverture des silos. Celle-ci a été plus élevée en SNÉ qu'en SÉ (en moyenne, 4,73% vs 1,35% ; $P < 0,0001$) et l'effet des agents de conservation a été différent selon le niveau d'étanchéité des silos ($P < 0,0001$). En effet, en SÉ la perte de MS a été relativement faible et comparable ($P > 0,05$), quel que soit l'agent de conservation utilisé, et l'écart le plus grand a été entre IBHÉ et AM (1,68% vs 1,03% ; $P = 0,0665$) alors qu'en SNÉ elle a été plus faible ($P < 0,0001$) dans AM (2,29%) que dans chacun des autres traitements (5,30% à 5,80%) (figure 5 et annexe 2).

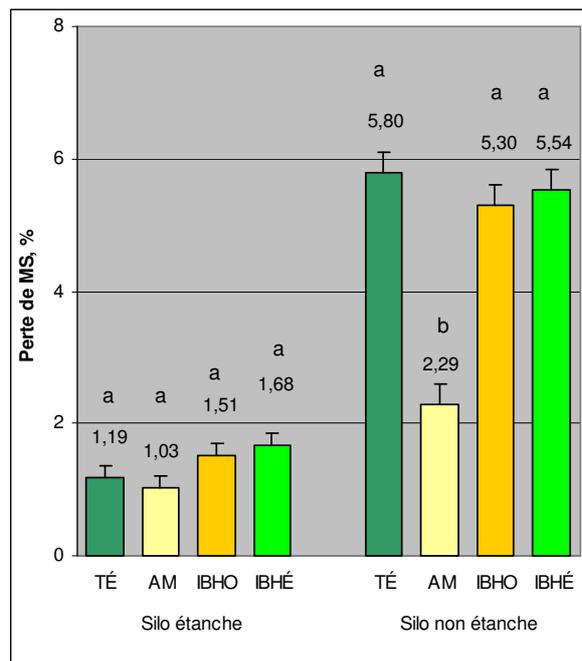


Figure 5. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur la perte de MS du MÉH après 225 jours de conservation³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniac ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Synthèse

Les *Fusarium* spp. n'ont pas survécu dans l'ensilage de MÉH mais la teneur en vomitoxine a semblé augmenter pendant la période de conservation en silos, a eu tendance à augmenter à la suite de l'inoculation avec le *F. graminearum* et a été plus faible dans AM que dans IBHÉ après 225 jours de conservation, quelle que soit l'étanchéité des silos.

Dans le MÉH entreposé en SÉ, le compte des levures a été plus élevé dans IBHO que dans TÉ, AM et IBHÉ alors que le compte des moisissures a été relativement faible quel que soit l'agent de conservation et on n'a observé aucun développement de mycélium. Au total c'est IBHO qui a fait moins bonne figure, avec un compte total des levures et moisissures supérieur à AM et IBHÉ. Quant à la perte de MS, elle a été relativement faible et semblable quel que soit l'agent de conservation, mais a eu tendance à être plus faible dans AM que dans IBHÉ.

Dans le MÉH entreposé en SNÉ, les populations fongiques ont été plus élevées qu'en SÉ. En fait, le compte des levures a été plus élevé dans IBHO que dans TÉ, AM et IBHÉ comme en SÉ alors que le compte des moisissures a été plus faible dans AM que dans TÉ et IBHÉ, et dans IBHO que dans IBHÉ. Au total c'est AM qui a fait meilleure figure, avec un compte total des levures et moisissures inférieur à TÉ et IBHO, et une perte de MS nettement inférieure à chacun des autres traitements, malgré un développement de mycélium plus important.

On en conclut que la perte de MS pendant la période de conservation en silos a été fortement influencée par l'abondance des moisissures. En fait, la perte de MS est le reflet du compte des moisissures sauf dans le cas de IBHO en SNÉ. Cette différence est probablement reliée aux populations élevées de levures observées dans IBHO. Une croissance fongique plus tardive dans AM que dans les autres traitements, par suite d'une réduction marquée des populations de levures et moisissures dès la mise en silo, peut aussi être en partie responsable des différences observées.

2.2 Produits de fermentation

L'inoculation avec le *F. graminearum* n'a pas influencé les produits de la fermentation (annexe 3).

pH

Le pH a été plus élevé en SNÉ qu'en SÉ, sauf dans AM. En fait, AM a présenté un pH beaucoup plus élevé que TÉ, IBHO et IBHÉ quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 7,51 vs 4,23 à 4,27 ; $P < 0,0001$). Par contre, IBHÉ a eu un pH légèrement inférieur à TÉ en SÉ (4,00 vs 4,06, respectivement ; $P < 0,0001$) et légèrement plus élevé que TÉ et IBHO (4,54 vs 4,43 et 4,44, respectivement ; $P = 0,0001$ et $0,0280$) en SNÉ (figure 6 et annexe 3).

Acide lactique

La teneur en acide lactique a été plus faible en SNÉ qu'en SÉ, sauf dans AM. Elle a été beaucoup plus faible dans AM que dans TÉ, IBHO et IBHÉ quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 0,32% vs 1,25%, 1,30 et 1,16%, respectivement ; $P < 0,0001$). Par contre, IBHÉ en a produit plus que TÉ en SÉ (1,48% vs 1,35% ; $P = 0,0010$) et moins que TÉ et IBHO en SNÉ (0,85% vs 1,16% et 1,17%, respectivement ; $P < 0,0001$) (figure 6 et annexe 3).

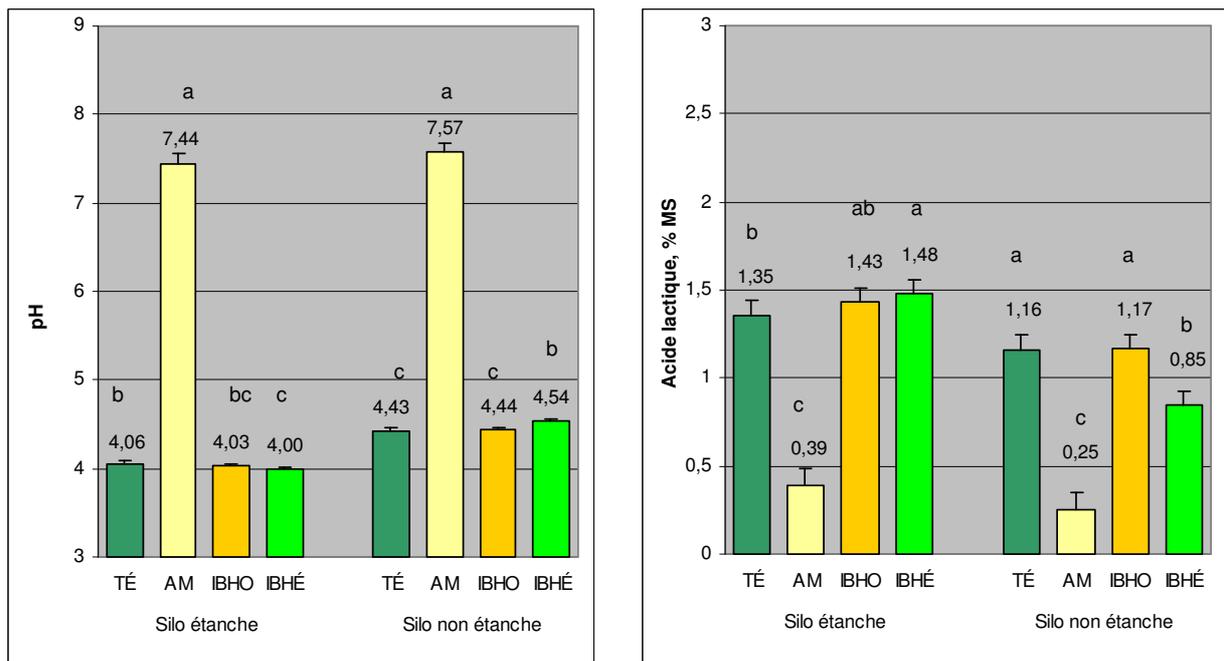


Figure 6. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur le pH et la teneur en acide lactique du MÉH après 225 jours de conservation

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Acide acétique

La teneur en acide acétique a été plus élevée en SNÉ qu'en SÉ dans TÉ, IBHO et IBHÉ mais pas dans AM où elle a été moins élevée en SNÉ qu'en SÉ. En fait, AM a produit plus d'acide acétique que TÉ, IBHO et IBHÉ en SÉ (0,65% vs 0,41%, 0,35% et 0,50%, respectivement ; $P < 0,0001$, $< 0,0001$ et $= 0,0023$, respectivement), mais moins en SNÉ (0,29% vs 0,48%, 0,45% et 0,61%, respectivement ; $P < 0,0001$). Par contre, IBHÉ en a produit plus que TÉ et IBHO non seulement en SÉ (0,50% vs 0,41% et 0,35%, respectivement ; $P = 0,0018$ et $< 0,0001$, respectivement) mais aussi en SNÉ (0,61% vs 0,48% et 0,45%, respectivement ; $P < 0,0001$). Quant à IBHO, il en a produit moins que TÉ en SÉ (0,35% vs 0,41% ; $P < 0,0001$) mais pas en SNÉ ($P > 0,05$) (figure 7 et annexe 3).

Rapport lactate : acétate

Le rapport lactate : acétate a été plus faible en SNÉ qu'en SÉ, sauf dans AM. En fait, il a été plus faible dans AM que dans TÉ, IBHO et IBHÉ, quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 0,77 vs 2,87, 3,36 et 2,20, respectivement ; $P < 0,0001$). De plus, en SÉ ce rapport a été plus élevé dans IBHO que dans TÉ et IBHÉ (4,09 vs 3,28 et 3,01, respectivement ; $P = 0,0002$ et $< 0,0001$, respectivement) et comparable dans ces derniers ($P > 0,05$) alors qu'en SNÉ il a été moins élevé dans IBHÉ que dans TÉ et IBHO (1,38 vs 2,45 et 2,63 ; $P < 0,0001$) et comparable dans ces derniers ($P > 0,05$) (figure 7 et annexe 3).

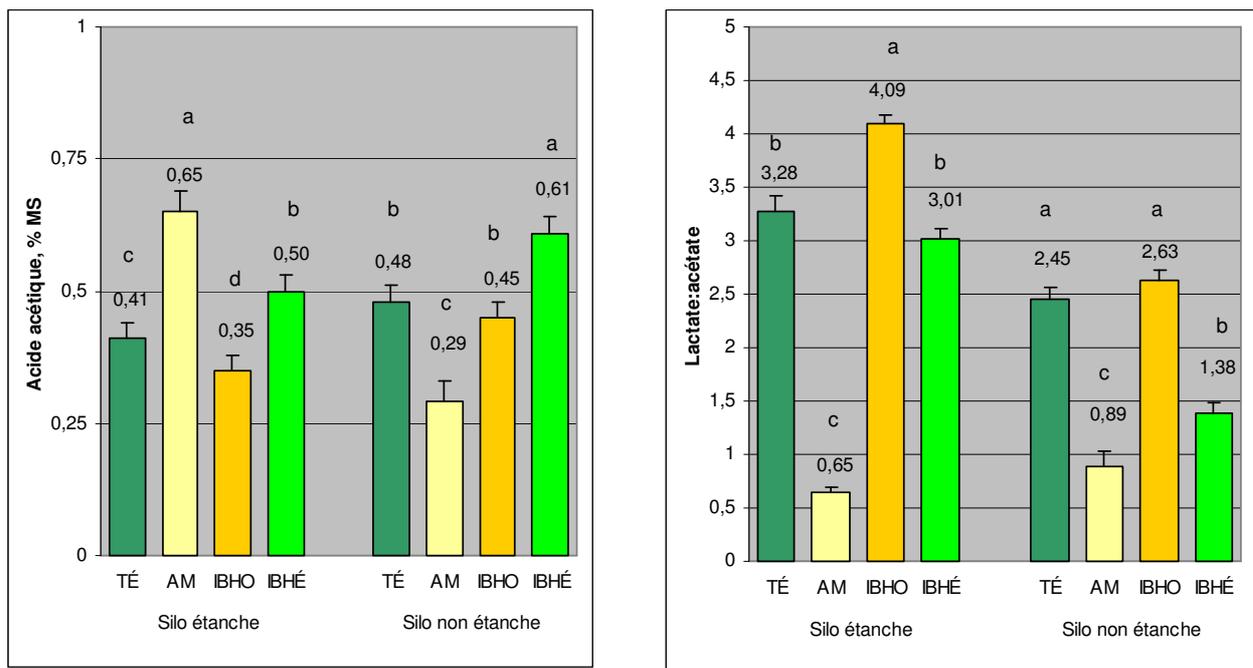


Figure 7. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur la teneur en acide acétique et le rapport lactate : acétate du MÉH après 225 jours de conservation³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Azote ammoniacal

La teneur en azote ammoniacal a été plus élevée en SNÉ qu'en SÉ, sauf dans AM. En fait, elle a été beaucoup plus élevée dans AM que dans TÉ, IBHO et IBHÉ, quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 1,87% vs 0,43%, 0,44% et 0,48% éq. PB, respectivement ; $P < 0,0001$). De plus, IBHO en a produit un peu moins que IBHÉ en SÉ (0,29% vs 0,38% ; $P = 0,0129$) et un peu plus que TÉ en SNÉ (0,60% vs 0,53% éq. PB ; $P = 0,0129$) (figure 8 et annexe 3).

Sucres solubles

La teneur en sucres solubles a été plus faible en SNÉ qu'en SÉ, quel que soit l'agent de conservation utilisé. Elle a été beaucoup plus élevée dans AM que dans TÉ, IBHO et IBHÉ quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 3,30% vs 1,71%, 1,56% et 1,40%, respectivement ; $P < 0,0001$). Par contre, IBHO et IBHÉ en ont préservé moins que TÉ en SÉ (2,20% et 2,17% vs 2,52%, respectivement ; $P = 0,054$ et $< 0,0001$, respectivement), et IBHÉ moins que TÉ et IBHO (0,64% vs 0,91% et 0,92%, respectivement ; $P = 0,0143$ et $0,0099$) en SNÉ (figure 8 et annexe 3).

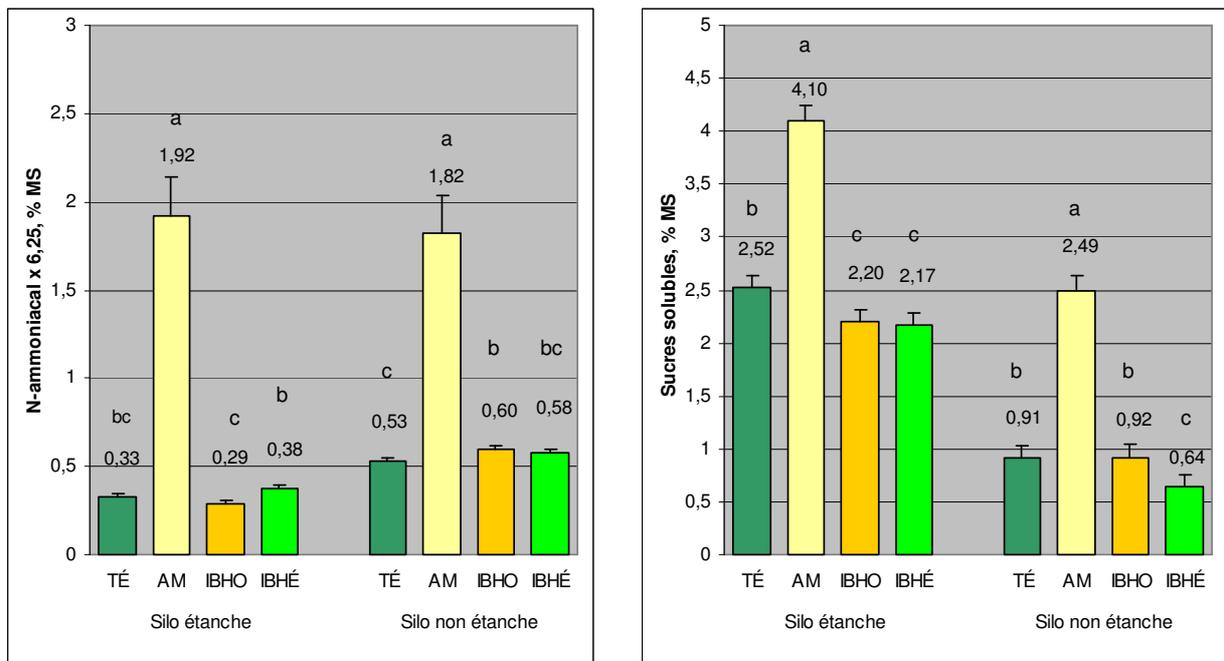


Figure 8. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur les teneurs en N-ammoniacal et en sucres solubles du MÉH après 225 jours de conservation³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Synthèse

L'analyse des produits de fermentation montre qu'après avoir remonté le pH à 8,74 au moment de la mise en silo, AM a donné un ensilage avec un pH et une teneur en azote ammoniacal beaucoup plus élevés que chacun des autres traitements. En fait, AM a produit une fermentation beaucoup plus limitée et plus hétérolactique que TÉ, IBHO et IBHÉ (plus faible production d'acide lactique, teneur en sucres résiduels plus élevée et rapport lactate : acétate plus faible) quelle que soit l'étanchéité des silos. AM a aussi présenté la teneur en acide acétique la plus élevée en SÉ, et la plus faible en SNÉ.

Les inoculants bactériens ont moins influencé la fermentation que AM. En SÉ, IBHO a donné lieu à une fermentation plus homolactique que TÉ, AM et IBHÉ (moindre production d'acide acétique et rapport lactate : acétate plus élevé). Dans ces conditions, sa fermentation a également été un peu plus poussée que celle de TÉ (pH et teneur en sucres solubles légèrement plus faibles). De plus, cet inoculant a dégradé un peu moins la protéine en azote ammoniacal que IBHÉ en SÉ et un peu plus que TÉ en SNÉ.

Quant à IBHÉ, en SÉ il a produit une fermentation légèrement plus poussée et pas plus hétérolactique que TÉ (teneurs en acide lactique et en acide acétique plus élevées, pH et teneur en sucres solubles plus faibles et rapport lactate : acétate comparable). Dans ces conditions, sa fermentation n'a pas été plus poussée mais a été plus hétérolactique que celle de IBHO (pH et teneurs en acide lactique et en sucres solubles comparables, teneur en acide acétique plus élevée et rapport lactate : acétate plus faible). En SNÉ, IBHÉ a par contre produit une fermentation plus hétérolactique que TÉ et IBHO (teneur moindre en acide lactique, teneur plus élevée en acide acétique, rapport lactate : acétate plus faible, teneur en sucres solubles plus faible et pH plus élevé). Ainsi, IBHÉ s'est distingué de TÉ par une teneur plus élevée en acide acétique et une teneur moins élevée en sucres solubles, quelle que soit l'étanchéité des silos. Cependant, l'augmentation de teneur en acide acétique observée dans IBHÉ par rapport à TÉ a été relativement faible (environ 0,1%).

3. Test de stabilité aérobie

3.1 Chauffage

L'inoculation du MÉH avec le *F. graminearum* n'a pas influencé le chauffage de l'ensilage dans le test de stabilité aérobie (annexe 4).

Dans l'ensilage provenant des SÉ, la température moyenne a été relativement semblable à celle du témoin inerte pendant 24 h (TÉ et IBHO) à 48 h (IBHÉ et AM). De plus, IBHÉ a présenté une température plus basse que TÉ, et IBHO une température plus élevée que ce dernier, pendant la majeure partie du test. Quant à AM, il a présenté une température légèrement inférieure à IBHÉ pendant une partie du test mais beaucoup supérieure par la suite. Par contre, dans l'ensilage provenant des SNÉ, le chauffage a commencé très rapidement quel que soit le traitement et IBHO s'est comporté comme TÉ alors que IBHÉ a retardé le chauffage et AM l'a accéléré (figure 9).

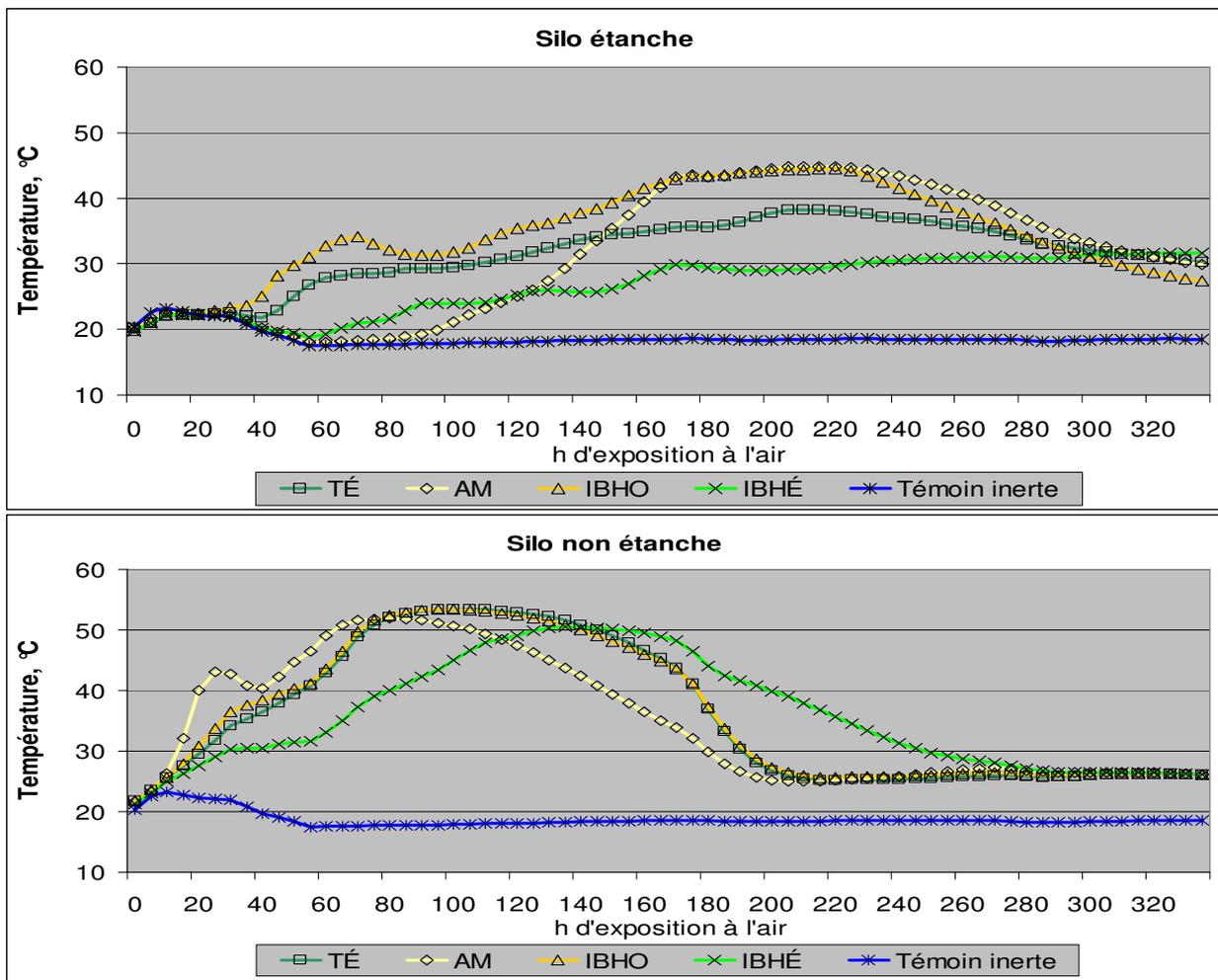


Figure 9. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur l'évolution de la température du MÉH dans le test de stabilité aérobie

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

Indice de stabilité aérobie

Le temps d'exposition à l'air nécessaire pour permettre d'augmenter la température de 2°C est un indice de la stabilité aérobie puisqu'il nous indique le moment où l'ensilage commence à chauffer. L'ensilage provenant de SNÉ a commencé à chauffer beaucoup plus rapidement que celui provenant des SÉ (en moyenne 5,70 h vs 87,93 h), quel que soit l'agent de conservation utilisé. De plus, dans l'ensilage provenant des SÉ, le chauffage a commencé plus tard dans AM (108,0 h ; $P < 0,0001$) et IBHÉ (138,4 h ; $P = 0,0124$) que dans IBHO (35,9 h), mais aucun n'a été significativement différent de TÉ (69,4 h), alors que dans celui provenant des SNÉ il a commencé en même temps (4,9 h à 6,7 h), quel que soit l'agent de conservation utilisé ($P > 0,05$) (figure 10 et annexe 4).

Élévation de température en 24 heures

Le MÉH provenant de SNÉ a vu sa température augmenter beaucoup plus que celui provenant des SÉ dans les 24 premières heures du test de stabilité aérobie (en moyenne 13,99°C vs 0,53°C), quel que soit l'agent de conservation utilisé. Dans le MÉH provenant des SÉ, l'augmentation de température a été moins prononcée dans AM (0,35°C) et IBHÉ (0,25°C) que dans IBHO (0,99°C) ($P = 0,0203$ et $0,0146$, respectivement) alors que dans celui provenant des SNÉ elle a été moins prononcée dans IBHÉ (7,97°C) et plus prononcée dans AM (21,01°C) que dans chacun des autres traitements ($P < 0,001$) et plus prononcée dans IBHO (15,02°C) que dans TÉ (11,97°C) ($P = 0,0493$) (figure 10 et annexe 4).

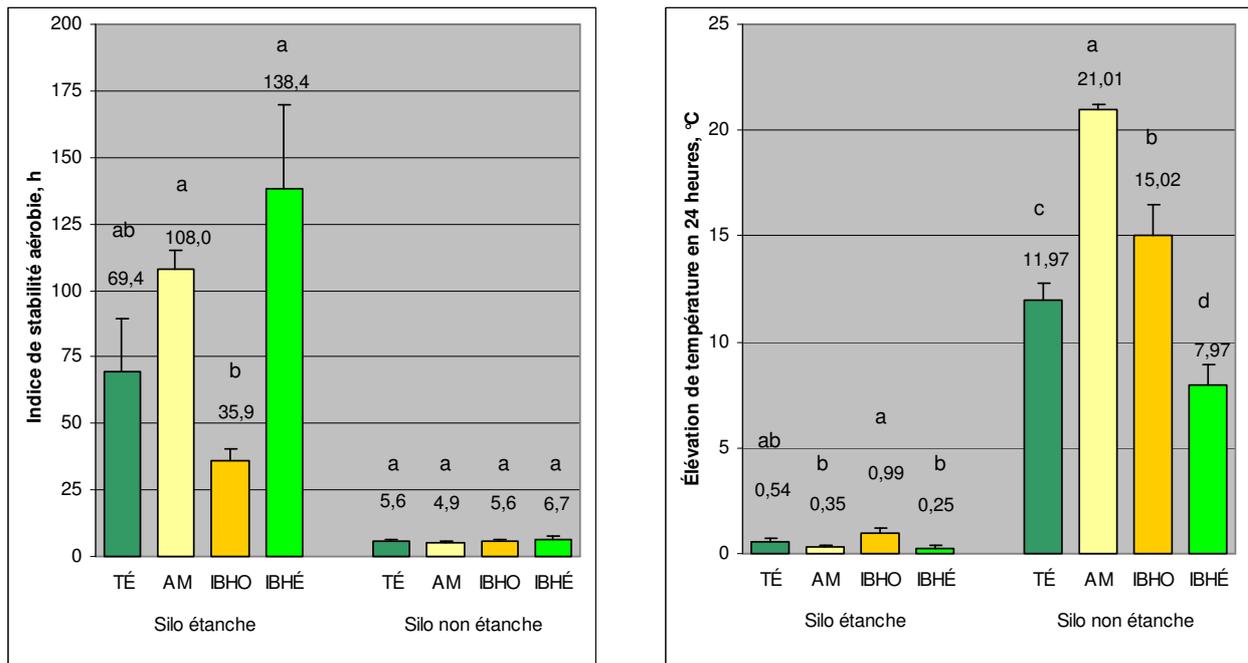


Figure 10. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur l'indice de stabilité aérobie³ et sur l'élévation de température du MÉH après 24 heures d'exposition à l'air dans le test de stabilité aérobie⁴

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Nombre d'heures d'exposition à l'air pour faire augmenter la température du MÉH de 2°C.

⁴ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Température maximale

La température maximale atteinte pendant les 14 jours du test de stabilité aérobie a été plus élevée dans l'ensilage provenant de SNÉ que dans celui provenant de SÉ (en moyenne 53,09 °C vs 46,17 °C) quel que soit l'agent de conservation utilisé. Dans l'ensilage provenant des SÉ la température maximale a été plus faible dans AM (47,61 °C) et IBHÉ (39,21 °C) que dans IBHO (51,01 °C) ($P=0,0011$ et $0,0051$, respectivement) et a eu tendance à être plus faible dans IBHÉ que dans AM ($P=0,0664$) alors que dans celui provenant des SNÉ, elle a été plus faible dans IBHÉ (51,99 °C) que dans TÉ (53,91 °C) et IBHO (53,89 °C) ($P<0,0001$ et $0,0003$, respectivement) (figure 11 et annexe 4).

Temps pour atteindre la température maximale

Il a fallu moins de temps pour atteindre la température maximale dans le MÉH provenant de SNÉ que dans celui provenant de SÉ (en moyenne 107,75h vs 224,90 h) quel que soit l'agent de conservation utilisé, et plus de temps dans IBHÉ (209,35 h) que dans TÉ (164,00 h), AM (147,95 h) et IBHO (144,00 h) ($P<0,001$) quel que soit le niveau d'étanchéité des silos (figure 11 et annexe 4).

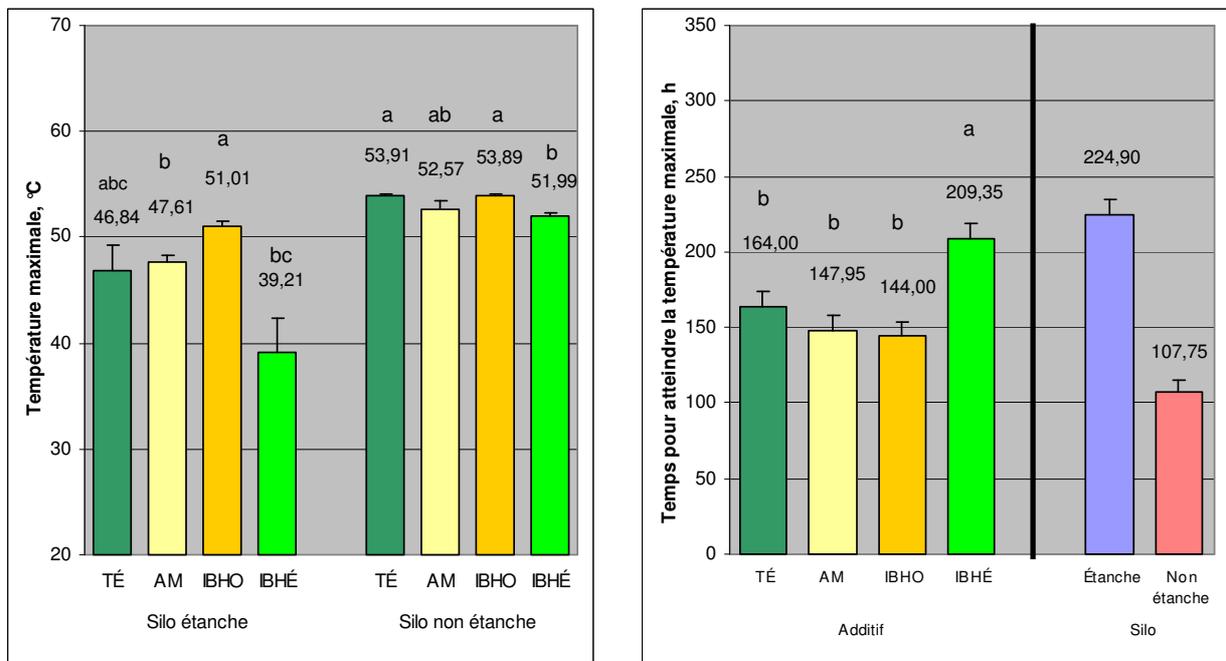


Figure 11. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur la température maximale du MÉH et sur le nombre d'heures pour l'atteindre dans le test de stabilité aérobie³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos (température maximale) ou pour l'ensemble des deux niveaux d'étanchéité (temps pour l'atteindre), les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P>0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Indice d'instabilité aérobie

Le rapport « température maximale : nombre de jours pour l'atteindre » est un indice de l'instabilité aérobie puisqu'il représente la vitesse de montée de la température jusqu'à son maximum. Le MÉH provenant de SNÉ a vu sa température augmenter plus rapidement jusqu'à son maximum que celui provenant des SÉ (en moyenne 12,66 °C/j vs 5,35 °C/j), quel que soit l'agent de conservation utilisé. Dans le MÉH provenant des SNÉ, les différences ont été marquées et IBHÉ (8,91 °C/j) a fait meilleure figure, et AM (15,76 °C/j) moins bonne figure, que chacun des autres traitements ($P < 0,001$) alors que dans celui provenant des SÉ les différences ont été faibles mais IBHÉ (3,79 °C/j) a fait meilleure figure que IBHO (6,71 °C/j) ($P = 0,0006$) et a eu tendance à se distinguer aussi de TÉ (5,45 °C/j) et AM (5,43 °C/j) ($P = 0,0753$ et $0,0797$, respectivement) (figure 12 et annexe 4).

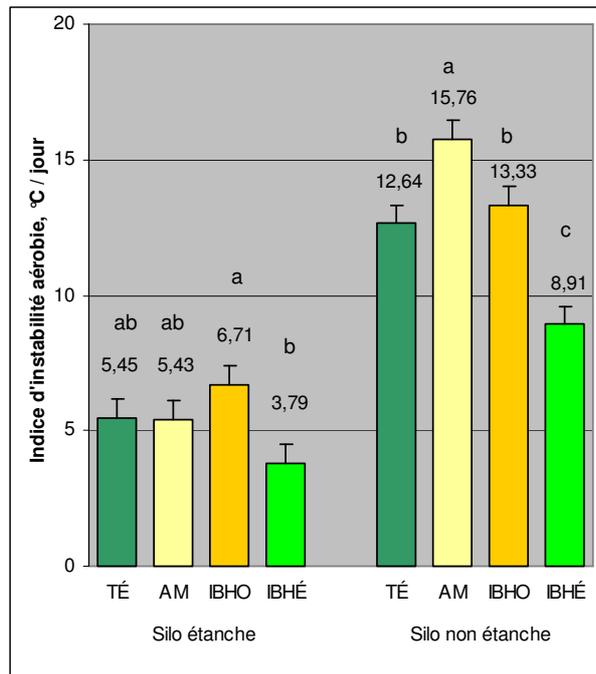


Figure 12. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur l'indice d'instabilité aérobie³ du MÉH dans le test de stabilité aérobie⁴

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Rapport « température maximale : nombre de jours pour l'atteindre ».

⁴ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Synthèse

Le chauffage du MÉH dans le test de stabilité aérobie a été influencé de façon prépondérante par le niveau d'étanchéité des silos pendant la période de conservation, mais aussi par l'agent de conservation utilisé.

Dans l'ensilage provenant des SÉ, la température a augmenté moins en 24 h (0,25°C et 0,35°C vs 0,99°C, respectivement), a pris plus de temps pour augmenter de 2°C (138,4 h et 108,0 h vs 35,9 h, respectivement) et a atteint un maximum moins élevé (39,21°C et 47,61°C vs 51,01°C, respectivement) dans IBHÉ et AM que dans IBHO. De plus, IBHÉ a pris plus de temps que TÉ, AM et IBHO pour atteindre la température maximale (en moyenne 209,35 h vs 164,00 h, 147,95 h et 144,00 h, respectivement) et a présenté une vitesse d'augmentation de température plus faible que IBHO (3,79°C/j vs 6,71°C/j) et qui a eu tendance à être plus faible que TÉ et AM (3,79°C/j vs 5,45°C/j et 5,43°C/j).

L'analyse des divers paramètres indique que dans les SÉ : 1° AM a chauffé moins que IBHO mais pas moins que TÉ, 2° IBHÉ a chauffé moins que TÉ, AM et IBHO, et 3° IBHO n'a pas chauffé plus que TÉ. Il semble donc que lorsque le MÉH est entreposé dans des SÉ, IBHÉ a un plus grand potentiel que AM pour réduire le chauffage après l'ouverture du silo, mais celui-ci est limité. Cette conclusion est basée principalement sur le fait que ni l'un ni l'autre n'ont commencé à chauffer (élévation de 2°C) significativement plus tard que TÉ, mais IBHÉ a atteint sa température maximale plus lentement que TÉ et AM.

Dans le MÉH provenant des SNÉ, le chauffage a commencé très rapidement quel que soit l'agent de conservation utilisé (5,7 h en moyenne) mais la température s'est élevée moins en 24 h dans IBHÉ que dans TÉ, AM et IBHO (7,97°C vs 11,97°C, 21,01°C et 15,02°C, respectivement) et a atteint un maximum moins élevé dans IBHÉ que dans TÉ et IBHO (51,99°C vs 53,91°C et 53,89°C). De plus, IBHÉ a pris plus de temps pour atteindre la température maximale (en moyenne 209,35 h vs 164,00 h, 147,95 h et 144,00 h, respectivement) et a présenté une augmentation de température plus lente que TÉ, AM et IBHO (8,91°C/j vs 12,64°C/j, 15,76°C/j et 13,33°C/j, respectivement). Par contre, la température s'est élevée plus en 24 h et a augmenté plus rapidement dans AM que dans chacun des autres traitements. Quant à IBHO, sa température s'est élevée plus en 24 h que celle de TÉ.

L'analyse des divers paramètres indique que dans les SNÉ : 1° AM a chauffé plus que TÉ, IBHO et IBHÉ, 2° IBHÉ a chauffé moins que TÉ, AM et IBHO, et 3° IBHO a chauffé plus que TÉ. Il semble donc que le potentiel relatif, c'est-à-dire par rapport aux autres traitements, de IBHÉ à réduire le chauffage après l'ouverture du silo est plus grand lorsque le MÉH est entreposé en SNÉ que lorsqu'il est entreposé en SÉ, alors que celui de AM est moins grand. Cette conclusion est basée principalement sur le fait qu'en SNÉ, IBHÉ a vu sa température augmenter moins en 24 h et croître à un rythme plus lent que chacun des autres traitements, et AM sa température augmenter plus en 24 h et croître à un rythme plus rapide que chacun des autres traitements, alors que ça n'a pas été le cas en SÉ.

3.2 Caractéristiques du MÉH après 7 jours d'exposition à l'air

L'inoculation avec le *F. graminearum* n'a pas influencé les caractéristiques du MÉH après 7 jours d'exposition à l'air (annexe 5).

Mycélium

Le développement de mycélium a été plus important dans le MÉH provenant de SNÉ que dans celui provenant des SÉ (en moyenne 4,93 vs 2,14), quel que soit l'agent de conservation utilisé, et les écarts entre les agents de conservation ont été plus grands en SÉ qu'en SNÉ. En effet, en SÉ le développement du mycélium a été beaucoup moins important dans IBHÉ que dans AM et IBHO (0,55 vs 3,70 et 2,45, respectivement ; $P < 0,0001$ et $= 0,0161$), numériquement plus faible mais non significativement différent dans IBHÉ que dans TÉ (0,55 vs 1,85 ; $P = 0,1472$), et plus important dans AM que dans TÉ (3,70 vs 1,85 ; $P = 0,0198$) alors qu'en SNÉ il a été légèrement plus faible dans IBHÉ que dans AM et IBHO (4,75 vs 5,00 et 5,00 ; $P = 0,0195$). On en conclut que IBHÉ a été plus efficace que AM et IBHO pour inhiber la croissance fongique quelle que soit l'étanchéité des silos mais l'effet a été beaucoup plus marqué en SÉ qu'en SNÉ (figure 13 et annexe 5).

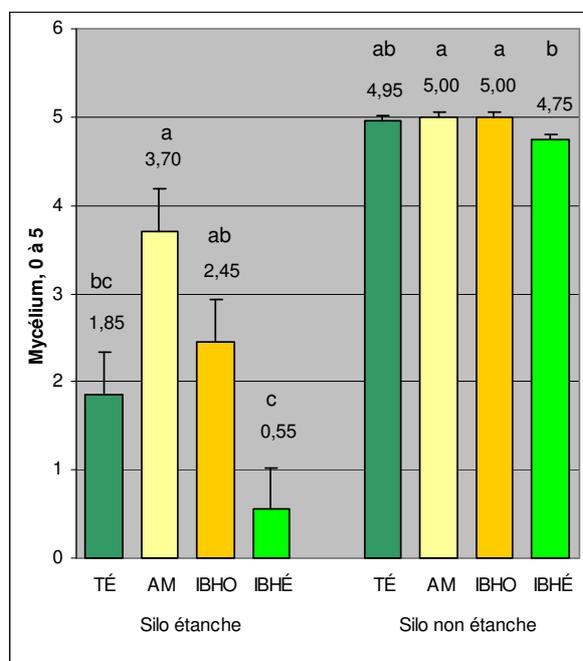


Figure 13. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur le développement du mycélium dans le MÉH après 7 jours d'exposition à l'air³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

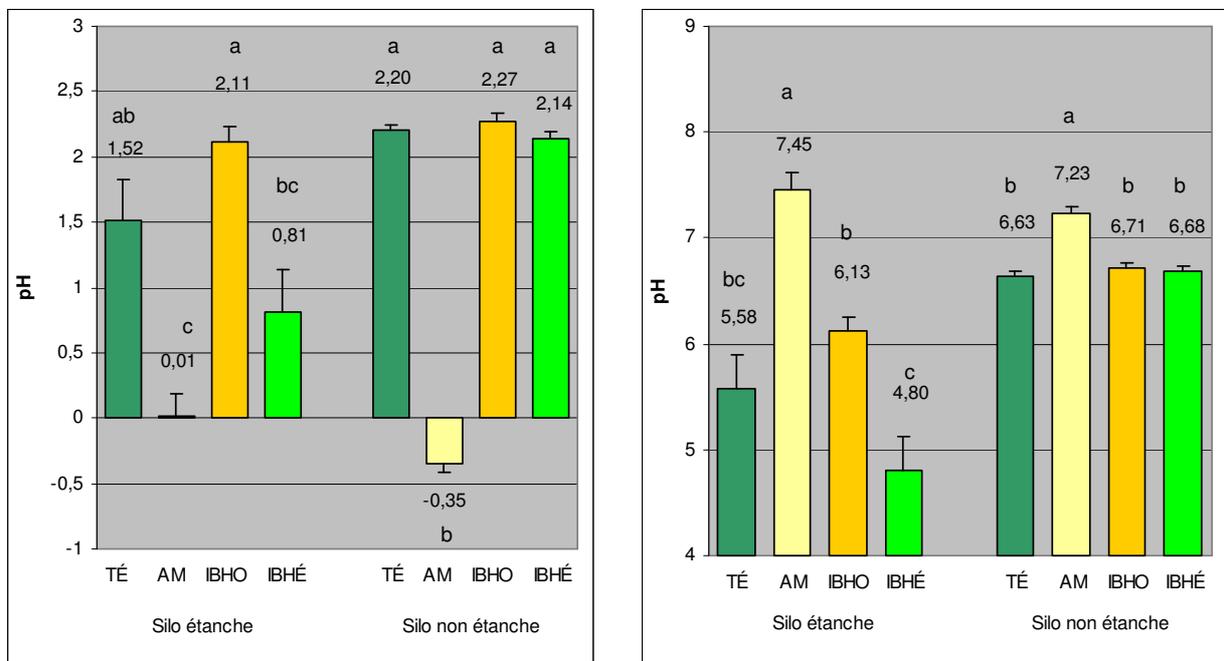
² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

pH

Le pH n'a pas augmenté dans AM alors qu'il a augmenté dans TÉ, IBHO et IBHÉ (en moyenne - 0,17 vs 1,86, 2,19 et 1,47, respectivement ; $P < 0,0001$). Cependant, les écarts entre ces agents de conservation ont été plus prononcés en SNÉ qu'en SÉ. En effet, en SNÉ le pH a augmenté de façon marquée dans TÉ, IBHO et IBHÉ alors qu'il a diminué dans AM (2,20, 2,27 et 2,14 vs - 0,35, respectivement ; $P < 0,0001$). Par contre, en SÉ le pH a augmenté moins dans AM que dans TÉ et IBHO (0,01 vs 1,52 et 2,11, respectivement ; $P = 0,0001$ et $< 0,0001$), et dans IBHÉ que dans IBHO (0,81 vs 2,11 ; $P = 0,0030$), et a eu tendance à augmenter moins dans AM que dans IBHÉ (0,01 vs 0,81 ; $P = 0,0864$) (figure 14 et annexe 5).

Ainsi, le pH est resté plus élevé dans AM que dans TÉ, IBHO et IBHÉ, quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 7,34 vs 6,11, 6,42 et 5,74 ; $P < 0,0001$). De plus, IBHÉ a permis de maintenir un pH plus bas que IBHO dans le MÉH provenant des SÉ (4,80 vs 6,13 ; $P = 0,0024$) alors que ce ne fut pas le cas dans celui provenant des SNÉ (figure 14 et annexe 5).



A- Variation de pH

B- pH final

Figure 14. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur la variation de pH et le pH final du MÉH après 7 jours d'exposition à l'air³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

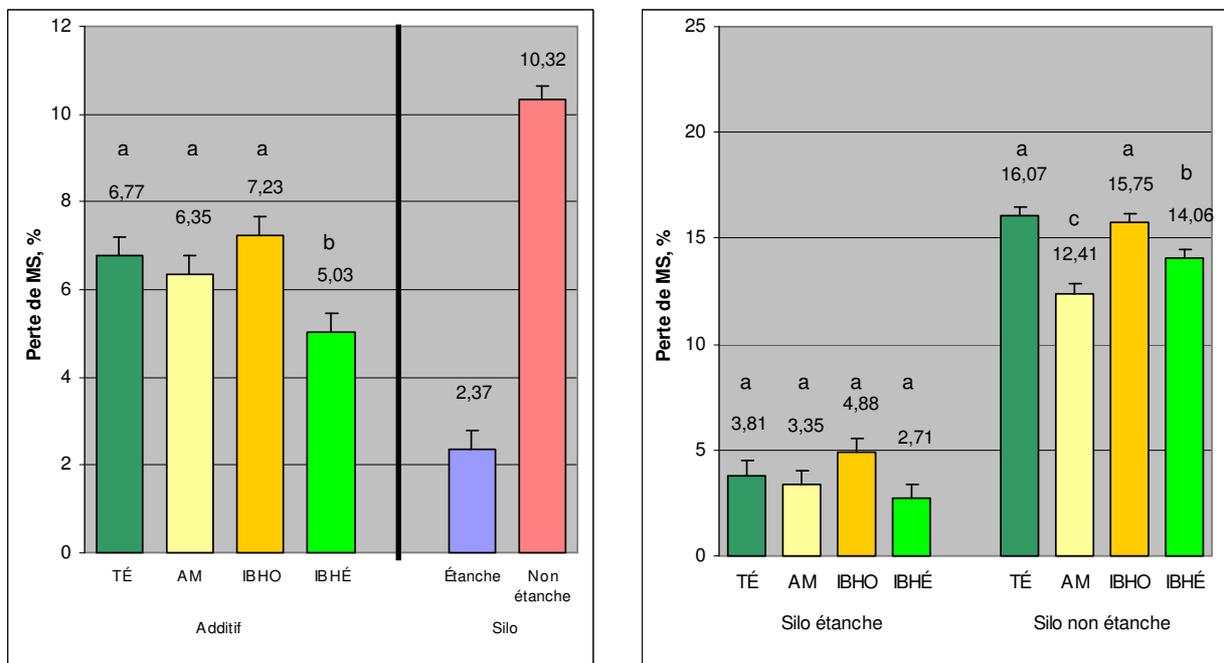
² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Perte de matière sèche

Pendant les 7 premiers jours d'exposition à l'air, la perte de MS a été beaucoup plus élevée dans l'ensilage provenant des SNÉ que dans celui provenant des SÉ (en moyenne 10,32% vs 2,37%), quel que soit l'agent de conservation utilisé et plus faible dans IBHÉ que dans TÉ, AM et IBHO (en moyenne 5,03% vs 6,77%, 6,35% et 7,23%, respectivement ; $P=0,0028$, $0,0346$ et $0,0001$), quelle que soit l'étanchéité des silos (figure 15 et annexe 5).

Ainsi, la perte de MS totale, c'est-à-dire celle mesurée à l'ouverture des silos plus celle cumulée pendant les 7 premiers jours d'exposition à l'air, a été beaucoup plus élevée dans le MÉH provenant des SNÉ que dans celui provenant des SÉ (en moyenne 14,57% vs 3,69%). De plus, elle a été comparable quel que soit l'agent de conservation utilisé en SÉ alors qu'en SNÉ elle a été plus faible dans IBHÉ que dans TÉ et IBHO (14,06% vs 16,07% et 15,75%, respectivement ; $P=0,0030$ et $0,0143$) et plus faible dans AM (12,41%) que dans TÉ ($P<0,0001$), IBHO ($P<0,0001$) et IBHÉ ($P=0,0174$) (figure 15 et annexe 5).



A- Perte de MS dans le test de stabilité aérobie

B- Perte de MS totale

Figure 15. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur la perte de matière sèche dans le MÉH après 7 jours d'exposition à l'air³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour l'ensemble des deux niveaux d'étanchéité des silos (perte de MS dans le test de stabilité aérobie) ou pour chaque niveau d'étanchéité (perte de MS totale), les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P>0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Synthèse

Pendant les 7 premiers jours du test de stabilité aérobie, IBHÉ a réduit la perte de matière sèche de façon aussi efficace en SNÉ qu'en SÉ puisque celle-ci a été 1% à 2% plus faible dans IBHÉ que dans TÉ, AM et IBHO quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 5,03% vs 6,77%, 6,35% et 7,23%, respectivement). Par contre, IBHÉ a réduit la croissance de mycélium de façon moins importante en SNÉ qu'en SÉ. En fait, celui-ci a été significativement plus faible dans IBHÉ que dans AM et IBHO non seulement en SÉ (0,55 vs 1,85, 3,70 et 2,45, respectivement) mais aussi en SNÉ (4,75 vs 4,95, 5,00 et 5,00, respectivement) mais les différences ont été beaucoup moins grandes en SNÉ qu'en SÉ. De plus, IBHÉ a vu son pH augmenter moins que IBHO en SÉ (0,81 vs 2,11) mais autant que ce dernier en SNÉ (2,14 vs 2,27). Ce résultat semble indiquer que la perte d'étanchéité des silos après 45 jours de conservation a réduit l'avantage de IBHÉ par rapport à AM et IBHO en terme de croissance de mycélium et a fait disparaître son avantage par rapport à IBHO en terme de pH mais ne lui a pas fait perdre son avantage en terme de perte de MS. Ceci s'explique par le fait que la perte de MS n'augmente pas nécessairement proportionnellement avec la croissance de mycélium ou le pH.

Par contre, IBHO n'a pas limité la détérioration du MÉH par rapport à TÉ pendant les 7 premiers jours du test de stabilité aérobie, tel qu'indiqué par un développement du mycélium (2,45 vs 1,85 en SÉ et 5,00 vs 4,95 en SNÉ), un pH (6,13 vs 5,58 en SÉ et 6,71 vs 6,63 en SNÉ) et une perte de MS (en moyenne 7,23% vs 6,77%) comparables à TÉ quelle que soit l'étanchéité des silos.

Quant à AM, il a présenté une perte de MS comparable à TÉ quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 6,35 % vs 6,77%) pendant les 7 premiers jours du test de stabilité aérobie, même si le développement du mycélium a été plus important que dans TÉ en SÉ (3,70 vs 1,85). Ce résultat semble indiquer que AM avait perdu son effet antifongique et que son pH près de la neutralité de même que sa teneur élevée en sucres solubles ont pu favoriser la croissance de mycélium. De plus, la teneur en acide acétique de AM (plus élevée que dans chacun des autres traitements en SÉ et plus faible en SNÉ) ne semble pas un facteur qui a influencé le développement des moisissures, puisque à un pH de 7 la plus grande partie de l'acide acétique est complètement dissocié, c'est-à-dire sous forme de sels.

Ainsi, la perte de MS totale, c'est-à-dire celle mesurée à l'ouverture des silos plus celle cumulée pendant les 7 premiers jours du test de stabilité aérobie, a été comparable quel que soit l'agent de conservation utilisé dans les SÉ, alors que dans les SNÉ elle a été plus faible dans IBHÉ (14,06%) que dans TÉ (16,07%) et IBHO (15,75%), et dans AM (12,41%) que dans chacun des autres traitements.

3.3 Caractéristiques du MÉH après 14 jours d'exposition à l'air

L'inoculation avec le *F. graminearum* n'a pas influencé les caractéristiques du MÉH après 14 jours d'exposition à l'air (annexe 6).

Mycélium

Les notations de développement de mycélium ne satisfont pas les normes de l'analyse de variance. Pour cette raison nous présentons uniquement les moyennes et les écarts types. En fait, dans le MÉH provenant des SÉ le développement moyen du mycélium a été moins important dans IBHÉ que dans TÉ, AM et IBHO (3,80 vs 4,80, 5,00 et 5,00) et plus important dans AM et IBHO que dans TÉ alors que dans celui provenant des SNÉ il a été plus important dans AM et IBHÉ que dans TÉ et IBHO (5,00 et 5,00 vs 4,95 et 4,90). Cependant, les différences entre les moyennes ont été très faibles dans la majorité des cas et l'écart type de IBHÉ relativement élevé en SÉ (figure 16 et annexe 6).

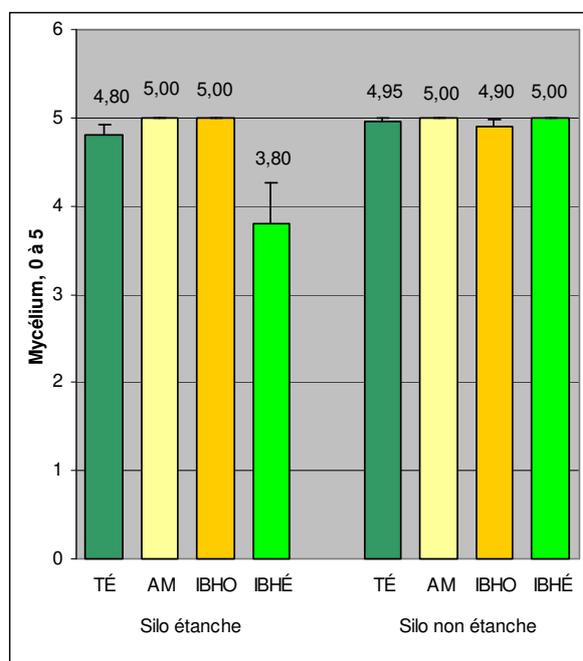


Figure 16. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur le développement du mycélium dans le MÉH après 14 jours d'exposition à l'air³

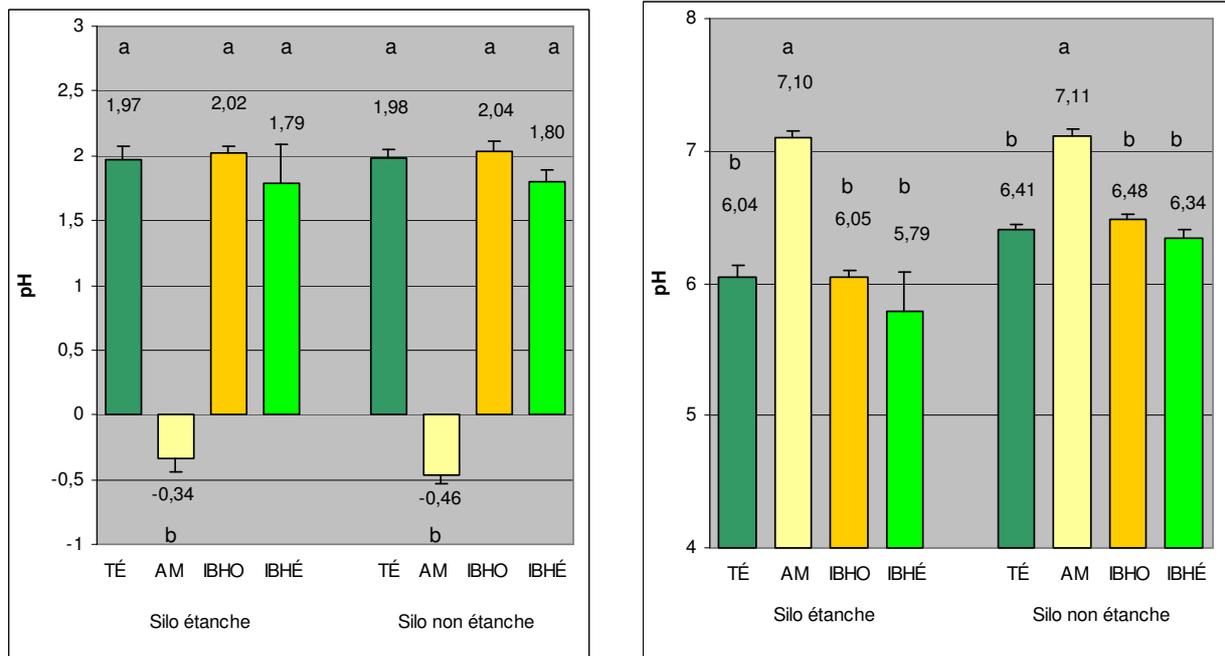
¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes et les barres sont les écarts types.

pH

Quelle que soit l'étanchéité des silos, le pH a diminué dans AM alors qu'il a augmenté dans TÉ, IBHO et IBHÉ (en moyenne -0,40 vs 1,98 et 2,03 et 1,79, respectivement ; $P < 0,0001$). De plus, le pH final a été plus élevé dans AM que dans TÉ, IBHO et IBHÉ, quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 7,11 vs 6,22, 6,27 et 6,07, respectivement ; $P < 0,0001$). Cependant, les écarts entre AM et les autres traitements ont été moins prononcés en SNÉ qu'en SÉ (figure 17 et annexe 6).



A- Variation de pH

B- pH final

Figure 17. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur la variation de pH et le pH final du MÉH après 14 jours d'exposition à l'air³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

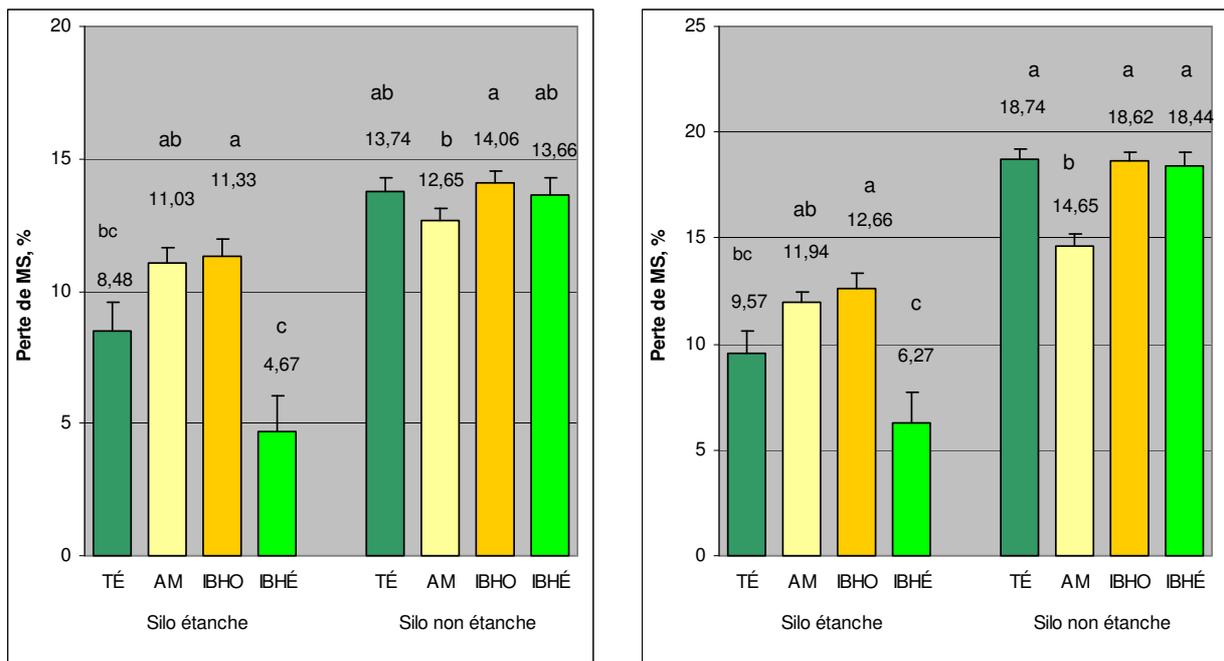
² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Perte de matière sèche

Pendant les 14 jours d'exposition à l'air, la perte de MS a été plus élevée dans l'ensilage provenant des SNÉ que dans celui provenant des SÉ (en moyenne 13,53% vs 8,88%), quel que soit l'agent de conservation, avec des écarts entre les agents plus grands en SÉ qu'en SNÉ. De plus, en SÉ la perte de MS a été plus faible dans IBHÉ que dans AM et IBHO (4,67% vs 11,03% et 11,33%, respectivement ; $P=0,0005$ et $0,0004$), a été plus grande dans IBHO que dans TÉ (11,33% vs 8,48% ; $P=0,0463$) et a eu tendance à être plus grande dans AM que dans TÉ (11,03% vs 8,48% ; $P=0,0674$) alors qu'en SNÉ elle a été plus faible dans AM que dans IBHO (12,65% vs 14,06% ; $P=0,0013$) et a eu tendance à être plus faible dans AM que dans TÉ (12,65% vs 13,74% ; $P=0,0682$) (figure 18 et annexe 6).

Ainsi, la perte de MS totale, c'est-à-dire celle mesurée à l'ouverture des silos plus celle cumulée pendant les 14 jours d'exposition à l'air, a été plus élevée dans le MÉH provenant des SNÉ que dans celui provenant des SÉ (en moyenne 17,61% vs 10,11%). De plus, en SÉ elle a été plus faible dans IBHÉ que dans AM et IBHO (6,27% vs 11,94% et 12,66%, respectivement ; $P=0,0031$ et $0,0013$) et a été plus grande dans IBHO que dans TÉ (12,66% vs 9,57% ; $P=0,0367$) alors qu'en SNÉ elle a été plus faible dans AM que dans TÉ, IBHO et IBHÉ (14,65% vs 18,74%, 18,62% et 18,44% ; $P<0,0001$) (figure 18 et annexe 6).



A- Perte de MS dans le test de stabilité aérobie

B- Perte de MS totale

Figure 18. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur la perte de matière sèche dans le MÉH après 14 jours d'exposition à l'air³

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ Les valeurs sont les moyennes des moindres carrés et les barres sont les erreurs types. Pour chaque niveau d'étanchéité des silos, les moyennes marquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P>0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

Synthèse

Pendant les 14 jours du test de stabilité aérobie, IBHÉ a réduit la perte de MS par rapport à AM et IBHO dans l'ensilage provenant des SÉ (4,67% vs 11,03% et 11,33%, respectivement) mais pas dans celui provenant des SNÉ. Cette réduction peut être reliée au fait qu'en SÉ le mycélium semble s'être moins développé dans IBHÉ que dans AM et IBHO (3,80 vs 5,00 et 5,00, respectivement) alors que ce ne fut pas le cas en SNÉ. L'augmentation de perte de MS observée dans IBHO ($P < 0,05$) et AM ($P = 0,06$) par rapport à TÉ en SÉ (11,33% et 11,03% vs 8,48%) peut aussi être reliée à des différences de développement de mycélium, mais pas la réduction observée dans AM par rapport à IBHO ($P < 0,01$) et TÉ ($P = 0,06$) en SNÉ (12,65% vs 13,74% et 13,66%).

Ainsi, la perte de MS totale, c'est-à-dire celle mesurée à l'ouverture des silos plus celle cumulée pendant les 14 jours d'exposition à l'air, a été plus faible dans IBHÉ que dans AM et IBHO (6,27% vs 11,94% et 12,66%, respectivement) et plus élevée dans IBHO que dans TÉ (12,66% vs 9,57%) dans les SÉ, alors que dans les SNÉ elle a été plus faible dans AM que dans TÉ, IBHO et IBHÉ (14,65% vs 18,74%, 18,62% et 18,44%, respectivement).

CONCLUSION

Les *Fusarium* ne survivent pas en ensilage et le niveau d'infestation par le *F. graminearum* n'influence pas la fermentation ni la stabilité aérobie du maïs épi humide lorsque le silo est hermétique au début de la période de conservation. Quant à la teneur en vomitoxine, elle n'est pas influencée par une perte d'étanchéité des silos en cours de conservation, mais elle est plus faible dans le maïs traité à l'ammoniac que dans celui traité avec l'inoculant bactérien hétérolactique. Ce résultat semble indiquer que même si les *Fusarium* ne survivent pas longtemps en ensilage, l'utilisation d'un agent de conservation peut quand même permettre d'influencer légèrement la teneur en vomitoxine du maïs épi humide.

L'inoculant bactérien homolactique améliore la fermentation du maïs épi humide conservé en silo étanche, mais pas sa stabilité aérobie. Par contre, l'inoculant bactérien hétérolactique semble le traitement qui a le plus de potentiel pour réduire le chauffage du maïs après l'ouverture du silo et la perte de matière sèche qui en résulte. Cependant, dans les conditions de cette expérience, son effet sur le chauffage a été mitigé et le mécanisme responsable des améliorations observées n'est pas apparent. Ceci suggère qu'une dose d'inoculation du *L. buchneri* supérieure à 1×10^5 ufc/g pourrait être nécessaire pour permettre une production suffisante d'acide acétique, une réduction significative des levures et une amélioration marquée de la stabilité aérobie du maïs au début de juin sous les conditions du Québec.

À la dose de 16 kg/t de maïs épi humide, l'ammoniac s'est révélée un traitement efficace pour réduire la perte de matière sèche en silo non étanche. Cet effet rapide vient principalement du fait qu'il diminue de façon marquée les populations de levures et de moisissures dès la mise en silo. Cependant, cette dose semble insuffisante pour améliorer la stabilité aérobie du maïs épi humide exposé à l'air de façon prolongée, parce que le pH du maïs ainsi traité est presque neutre, sa teneur en sucres solubles élevée et l'acide acétique principalement sous forme dissociée (sel), à un tel pH. Au contraire, le maïs ainsi traité risque de présenter un mycélium plus abondant et de chauffer plus rapidement que le non traité après l'ouverture du silo.

Le choix de l'un ou l'autre de ces traitements sera dicté principalement par l'objectif visé, puisque le coût de revient du traitement à l'ammoniac est comparable à celui avec un inoculant bactérien hétérolactique, lorsque celle-ci est achetée en vrac et qu'on tient compte de la valeur de l'enrichissement du maïs en azote ammoniacal. L'ammoniac peut être un bon choix si l'objectif est de limiter la teneur en vomitoxine du maïs épi humide ou la perte de matière sèche causée par une conservation dans un silo non étanche. Lorsque l'objectif est de réduire le chauffage du maïs épi humide après l'ouverture du silo et la perte de matière sèche qui en résulte, l'inoculant bactérien hétérolactique semble un meilleur choix.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alli, I., R. Fairbairn, B.E. Baker, L.E. Phillip et H. Garino. 1983. Effects of anhydrous ammonia on fermentation of chopped, high-moisture ear corn. J. Dairy Sci. 66: 2343-2348.
- Amyot, A. et R. Grégoire. 2000. Utilisation de différentes sources d'azote alimentaire pour compléter l'ensilage de maïs en production bovine 1. Profil de fermentation et qualité de l'ensilage traité avec de l'ammoniac ou de l'urée lors de la récolte. Rapport de recherche #110114. IRDA. 35 p.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia, USA.
- ASAE. 2000. Moisture measurement – forages. ASAE S358.2. In ASAE standards 2000, 565. St-Joseph, MI : American society of agricultural engineers.
- Britt, D.G. et J.T. Huber. 1975. Fungal growth during fermentation and re-fermentation of nonprotein nitrogen treated corn silage. J. Dairy Sci. 58 (11): 1666-1671.
- Buchanan-Smith, J.G. 1982. Preservation and feeding value for yearling steers of whole plant corn ensiled at 28 and 42% dry matter with and without cold flow ammonia treatment. Can. J. Anim. Sci. 62: 173-180.
- CPAQ. 1982. Répertoire des méthodes d'analyse des aliments du bétail. Conseil des productions animales du Québec. Québec, Canada. Agdex 400-55, 32 p.
- Damoglou, A.P., W. Shannon et G.A. Downey. 1984. The interaction between *Fusaria* and their mycotoxins in grass silage. J. Sci. Food Agric. 35: 279-284.
- DePasquale, D.A. et T.J. Montville. 1990. Mechanism by which ammonium bicarbonate and ammonium sulfate inhibit mycotoxigenic fungi. Appl. Environ. Microbiol. 56: 3711-3717.
- Diaz, E. 2006. Effet des inoculants bactériens et de l'ammoniac sur la stabilité aérobie du maïs épi humide et les performances des bouvillons en finition. Mémoire de maîtrise. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Université Laval. 78 p.
- Driehuis, F., S.J.W.H. Oude Elferink et S.F. Spoelstra. 1999. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. J. Appl. Microbiology 87: 583-594.
- Driehuis, F., S.J.W.H. Oude Elferink et P. G. Van Wijkelaar. 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. Grass and Forage Sci. 56 : 330-343.
- Dutton, M.F., K. Westlake et M.S. Anderson. 1984. The interaction between additives, yeasts and patulin production in grass silage. Mycopathologia 87: 29-33.

- Ebling, T.L., J.M. Neylon, C.C. Taylor, M.A. Reddish, M.P. Lynch et L. Kung, Jr. 2002. The effect of adding *Lactobacillus buchneri* 40788 (LB), enzymes (ENZ), or ENZ and LB on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in lab silos. *J. Anim. Sci.* 80 (Suppl. 1): 383 (Abstr.).
- El-Nezami, H.S., A. Chrevatidis, S. Auriola, S. Salminen et H. Mykkänen. 2002. Removal of common *Fusarium* toxins *in vitro* by strains of *Lactobacillus* and *Propionibacterium*. *Food Addit. Contam.* 19: 680-686.
- Escula, L. 1977. Moisissures des ensilages et conséquences toxicologiques. *Fourrages* 69: 97-114.
- Escula, L. 1979. *Fusarium graminearum* dans les ensilages. Production de zéaralénone. *Ann. Rech. Vét.* 10(4): 615-617.
- Fellner, V., L.E. Phillip, S. Sebastian et E.S. Idziak. 2001. Effects of a bacterial inoculant and propionic acid on preservation of high-moisture ear corn, and on rumen fermentation, digestion and growth performance of beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 81: 273-280.
- Hoffman, P.C. et S.M. Ocker. 1997. Quantification of milk yield losses associated with feeding aerobically unstable high moisture corn. *J. Dairy Sci.* 80 (Suppl. 1): 234 (Abstr.).
- Huber, J.T., J. Foldager et N.E. Smith. 1979. Nitrogen distribution in corn silage treated with varying levels of ammonia. *J. Anim. Sci.* 48: 1509-1515.
- Jelinek, C., A. Pohland et G. Wood. 1989. Worldwide occurrence of mycotoxins in food and feeds – An update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72: 223-230.
- Johnson, C.O.L.E., J.T. Huber et W.G. Bergen. 1982. Influence of ammonia treatment and time of ensiling on proteolysis in corn silage. *J. Dairy Sci.* 65: 1740-1747.
- Kendall, C.D., K. Combs et P.C. Hoffman. 2002. Performance of dairy cattle fed high moisture shelled corn inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *J. Anim. Sci.* 80 (Suppl. 1): 384 (Abstr.)
- Kleinschmit, D.H., R.J. Schmidt et L. Kung, Jr. 2005. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 88: 2130-2139.
- Kuldau, G.A. et M.A. Mansfield. 2006. Mycotoxins and mycotoxigenic fungi in silages. Proceedings from the “*Silage for dairy farms : growing, harvesting, storing and feeding*” conference. January 23-25. Harrisburg, Pennsylvania. Natural resource, agricultural and engineering service (NRAES), Publication 181. Ithaca, New York. p. 91-99.
- Kung, L.Jr. 1992. Ammonia treated silages. 7 p. Dans http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/articles/ammonia_treated_silages.htm, site consulté le 20 novembre 2006.
- Kung, L.Jr., J.H. Chen, E.M. Kreck et K. Knutsen. 1993. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 3763-3770.

- Kung, L.Jr., C.L. Myers, J.M. Neylon, C.C. Taylor, J. Lazartic, J.A. Mills et A.G. Whiter. 2004. The effects of buffered propionic acid-based additives alone or combined with microbial inoculation on the fermentation of high moisture corn and whole-crop barley. *J. Dairy Sci.* 87: 1310-1316.
- Kung, L.Jr., J.R. Robinson, N.K. Ranjit, J.H. Chen, C.M. Golt et J.D. Pesek. 2000. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *J. Dairy Sci.* 83: 1479-1486.
- Kung, L.Jr., A.C. Sheperd, A.M. Smagala, K.M. Endres, C.A. Bessett, N.K. Ranjit et J.L. Glancey. 1998. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81: 1322-1330.
- Lepom, P., O. Knabe et H. Baath. 1990. Occurrence of *Fusarium* spp., and their mycotoxins in maize; formation of deoxynivalenol (DON) in maize plot artificially inoculated with *Fusarium culmorum* and the influence of ensiling on the stability of DON formed. *Arch. Anim. Nutr.* 40: 1005-1012.
- Mansfield, M.A., E.D. De Wolf et G.A. Kuldau. 2005. Relationships between weather conditions, agronomic practices and fermentation characters with deoxynivalenol content in fresh and ensiled maize. *Plant Dis.* 89: 1151-1157.
- McDonald, P., A.R. Henderson et S.J.E. Heron. 1991. The biochemistry of silage. 2nd edition. Chalcombe Publications, Marlow, UK. 340 p.
- Muck, R.E. 2004. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. *Transactions of the ASEA.* 47: 1011-1016.
- Müller, T. et G. Seyfarth. 1993. Sensitivity of plant-associated lactic acid bacteria to antibiotics and mycotoxins. *Zentralbl. Mikrobiol.* 148: 103-108.
- National Research Council. 2001. Nutrients requirements of dairy cattle. Seventh revised edition. National Academy Press. Washington, DC. 381 p.
- Nishino, N., H. Wada, M. Yoshida et H. Shiota. 2004. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *J. Dairy Sci.* 87: 2563-2570.
- Oude Elferink, S.J.W.H. , J. Krooneman, J.C. Gottschal, S.F. Spoelstra, F. Faber et F. Driehuis. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 125-132.
- Papavizas, G.C. 1967. Evaluation of various media and antimicrobial agents for isolation of *Fusarium* from soil. *Phytopathology* 57: 848-852.
- Phillip, L.E. et V. Fellner. 1992. Effects of bacterial inoculation of high-moisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers. *J. Anim. Sci.* 70: 3178-3187.

- Phillip, L.E., H.J. Garino, I. Alli et E. Baker. 1985. Effect of anhydrous ammonia on amino acid preservation and feeding value of high-moisture ear corn for growing steers. *Can. J. Anim. Sci.* 65: 411-417.
- Ranjit, N.K. et L. Kung, Jr. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 83: 526-535.
- Romer Labs Inc. 2000. Reference method for vomitoxin analysis by HPLC # don-1c-03-00.1. Romer Labs Inc. Union, Montana. 4 p.
- Romer Labs Inc. 2000a. Reference method for zearalenone analysis by HPLC # zon-1c-01-00.3. Romer Labs Inc. Union, Montana. 4 p.
- Ruppel, K.A., R.E. Pitt, L.E. Chase et D.M. Galton. 1995. Bunker silo management and its relationship to forage preservation on dairy farms. *J. Dairy Sci.* 78: 141-153.
- Santé Canada. 2004. Dénombrement des levures et des moisissures dans les aliments. Méthode MFHPB-22. Direction générale des produits de santé et des aliments. Santé Canada, Ottawa. 10 p.
- Scudamore, K.A. et C.T. Livesey. 1998. Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage : a review. *J. Sci. Food Agric.* 77: 1-17.
- Sebastian, S., L.E. Phillip, V. Fellner et E.S. Idziak. 1996. Comparative assessment of bacterial inoculation and propionic acid treatment on aerobic stability and microbial populations of ensiled high-moisture ear corn. *J. Dairy Sci.* 74: 447-456.
- Smith, D., G.M. Paulsen et C.A. Raguse. 1964. Extraction of total available carbohydrates from grass and legume tissue. *Plant Physiology* 39: 960-962.
- Soderholm, C.G., D.E. Otterby, J.G. Linn, W.P. Hansen, D.G. Johnson et R.G. Lundquist. 1988. Addition of ammonia and urea plus molasses to high moisture snapped ear corn at ensiling. *J. Dairy Sci.* 71: 712-721.
- Soderlund, S. 1997. Managing and feeding high moisture corn. Pages 319-338 *in* Silage : Field to Feedbunk. NRAES-99. Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Ithaca, NY.
- Taylor, C.C. et L. Kung, Jr. 2002. The effect of *Lactobacillus buchneri* 4078 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. *J. Dairy Sci.* 85: 1526-1532.
- Trilogy Analytical Laboratory. 1999. Analyse of zearalenone. Trilogy Analytical Laboratory. Washington, DC. 5 p.
- Tuite, J. 1969. Plant Pathological Methods. Burgess Publishing Company, Minneapolis. 239 p.
- Tyson, J.T., R.E. Graves et D.R. Buckmaster. 1996. Horizontal silos. Pennsylvania State University. Agricultural and biological engineering extension. Pub. PSU 10/96. 6 p.

- Woolford, M.K. 1990. The detrimental effect of air on silage. J. Appl. Bacteriol. 68: 101-116.
- Young, B., H. Ilg et K. Bolsen. 1982. High-moisture corn with additives for finishing rations. Report of progress 413. Agricultural Experiment Station, Kansas State University. 7 p. Dans http://www.oznet.ksu.edu/pr_forage/pubs/R413_440.PDF, site consulté le 20 novembre 2006.
- Yu, W., F.Y. Yu, D.J. Undersander et F.S. Chu. 1999. Immunoessays of selected mycotoxins in hay, silage, and mixed feed. Food Agric. Immun. 11: 307-319.

Annexe 1. Coût du traitement du MÉH avec les inoculants bactériens et l'ammoniaque

Produit	Prix	Dose par t de MÉH (base humide)	Coût par t de MÉH (base humide)	Valeur de l'N récupéré par t de MÉH (base humide)	Coût de revient par t de MÉH (base humide)
Inoculant bactérien homolactique	65 \$/50 g ¹	1 g	1,30 \$	---	1,30 \$
Inoculant bactérien hétérolactique	119 \$/50 g ²	1 g	2,38 \$	---	2,38 \$
Ammoniaque en vrac	450 \$/t	16 kg	7,20 \$	4,85 \$ ^{3, 4}	2,35 \$
				7,25 \$ ^{3, 5}	0,00 \$
Ammoniaque en barils	600 \$/t	16 kg	9,60 \$	4,85 \$ ^{3, 4}	4,75 \$
				7,25 \$ ^{3, 5}	2,35 \$

¹ Prix moyen des inoculants bactériens homolactiques.

² Prix de l'inoculant Sila-Bac 11A44.

³ Lorsque le taux de récupération de l'N-ammoniacal est de 40%.

⁴ Lorsque le prix du tourteau de canola est de 170,00 \$/t.

⁵ Lorsque le prix du tourteau de canola est de 255,00 \$/t.

Quantité d'équivalent protéine brute appliquée lors du traitement avec l'ammoniaque

$(16 \text{ kg NH}_4\text{OH/t MÉH}) \times (29,5\% \text{ NH}_3) \times (14/17) \times 6,25 = (24,3 \text{ kg PB/t MÉH}) / (0,671 \text{ kg MS/kg MÉH}) = 36,2 \text{ kg PB/t MS}$.

Quantité d'équivalent protéine brute récupérée par le MÉH à la suite du traitement avec l'ammoniaque

$\text{PB du MÉH traité avec l'ammoniaque} - \text{PB du MÉH non traité} = (103,3 \text{ kg PB/t MS}) - (89,0 \text{ kg PB/t MS}) = (14,3 \text{ kg PB/t MS}) \times (0,671 \text{ kg MS/kg MÉH}) = 9,6 \text{ kg PB/t MÉH}$.

Taux de récupération de l'N-ammoniacal

$\text{PB récupérée par le MÉH} / \text{PB appliquée} = (14,3 \text{ kg PB/t MS}) / (36,2 \text{ kg PB/t MS}) = (9,6 \text{ kg PB/t MÉH}) / (24,3 \text{ kg PB/t MÉH}) = 40\%$.

Quantité de tourteau de canola (34% PB) nécessaire pour remplacer l'N-ammoniacal récupéré par le MÉH

$(9,6 \text{ kg PB/t MÉH}) \times (100 \text{ kg de tourteau de canola} / 34 \text{ kg PB}) = 28,4 \text{ kg de tourteau de canola /t MÉH}$.

Coût de remplacement de l'N-ammoniacal récupéré par le MÉH par du tourteau de canola (34% PB)

$(28,4 \text{ kg de tourteau de canola /t MÉH}) \times (170,00 \text{ $ /t de tourteau de canola}) = 4,85 \text{ $/t MÉH}$

$(28,4 \text{ kg de tourteau de canola /t MÉH}) \times (255,00 \text{ $ /t de tourteau de canola}) = 7,25 \text{ $/t MÉH}$

Annexe 2. Effet des agents de conservation¹, de l'étanchéité des silos² et de l'inoculation avec le *Fusarium graminearum*³ sur les *Fusarium*, les mycotoxines, les populations fongiques et la perte de matière sèche de MÉH après 225 jours de conservation⁴

	Silos étanches				Silos non étanches				Probabilité ⁵						
	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	Agent (A)	Silo (S)	AxS	Fusarium (F)	AxF	FxS	AxFxS
<i>Fusarium</i> et mycotoxines															
<i>Fusarium</i> spp., ufc/g de poids frais	0	0	0	0	0	0	0	0	NAS ⁶	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS
Vomitoxine, mg/kg MS	3,34 ^{AB} {2,51} ⁷ {3,94}	2,95 ^B {2,22} {3,48}	3,13 ^{AB} {2,44} {3,81}	3,39 ^A {2,58} {4,05}	3,03 ^{AB} {2,31} {3,62}	2,53 ^B {1,97} {3,10}	3,19 ^{AB} {2,46} {3,86}	3,76 ^A {2,79} {4,38}	0,0314	NS	NS	NS 0,0670	NS	NS	NS
Zéaralénone, mg/kg MS	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS
Populations fongiques et perte de MS															
Levures, log₁₀ ufc/g de poids frais	4,33 ^B (0,79) ⁸	3,34 ^B (0,79)	6,36 ^A (0,79)	2,54 ^B (0,79)	6,44 ^B (0,46)	6,53 ^B (0,46)	7,81 ^A (0,46)	6,27 ^B (0,46)	***	***	NS	NS	NS	NS	NS
Moisissures, log₁₀ ufc/g de poids frais	1,70 ^a (0,39)	1,74 ^a (0,45)	1,55 ^a (0,63)	1,62 ^a (0,24)	6,87 ^{ab} (0,39)	4,67 ^c (0,45)	4,71 ^{bc} (0,63)	7,03 ^a (0,24)	***	***	0,0015	NS	NS	NS	NS
Levures et moisissures, log₁₀ ufc/g de poids frais	4,46 ^{ab} (0,69)	3,83 ^b (0,69)	6,45 ^a (0,69)	2,88 ^b (0,69)	7,50 ^a (0,23)	6,65 ^b (0,23)	7,87 ^a (0,23)	7,32 ^{ab} (0,23)	0,0003	***	0,0333	NS	NS	NS	NS
Mycélium, 0 à 5	0	0	0	0	2,35 ^b (0,14)	3,70 ^a (0,26)	2,25 ^b (0,16)	2,30 ^b (0,15)	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS
Perte de MS dans le silo, %	1,19 ^a (0,18)	1,03 ^a (0,18)	1,51 ^a (0,18)	1,68 ^a (0,18)	5,80 ^a (0,30)	2,29 ^b (0,30)	5,30 ^a (0,30)	5,54 ^a (0,30)	***	***	***	NS	NS	NS	NS

^{a,b,c} Pour une même ligne et un même niveau d'étanchéité des silos, les moyennes présentant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

^{A,B,C} Les différences rapportées pour chaque niveau d'étanchéité des silos sont celles de l'effet principal « Agent de conservation » lorsque l'interaction « Agent x Silo » n'est pas significative.

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ MÉH inoculé ou non avec le *Fusarium graminearum*.

⁴ Les valeurs rapportées sont les moyennes des moindres carrés, sauf dans le cas du *Fusarium* et de la zéaralénone.

⁵ Signification statistique : *** $P < 0,0001$; NS non significatif ($P > 0,05$).

⁶ NAS : Ne s'applique pas parce que les résultats ne satisfont pas les critères pour réaliser une analyse de variance.

⁷ Les valeurs entre accolades sont les intervalles de confiance ($\alpha = 0,05$).

⁸ Les valeurs entre parenthèses sont les erreurs types.

Annexe 3. Effet des agents de conservation¹, de l'étanchéité des silos² et de l'inoculation avec le *Fusarium graminearum*³ sur les produits de fermentation du MÉH après 225 jours de conservation⁴

	Silos étanches				Silos non étanches				Probabilité ⁵						
	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	Agent (A)	Silo (S)	AxS	Fusarium (F)	AxF	FxS	AxFxS
pH	4,06^b (0,03) ⁶	7,44^a (0,11)	4,03^{bc} (0,03)	4,00^c (0,02)	4,43^c (0,03)	7,57^a (0,11)	4,44^c (0,03)	4,54^b (0,02)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
Acide lactique, % MS	1,35^b (0,09)	0,39^c (0,10)	1,43^{ab} (0,08)	1,48^a (0,08)	1,16^a (0,09)	0,25^c (0,10)	1,17^a (0,08)	0,85^b (0,08)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
Acide acétique, % MS	0,41^c (0,03)	0,65^a (0,04)	0,35^d (0,03)	0,50^b (0,03)	0,48^b (0,03)	0,29^c (0,04)	0,45^b (0,03)	0,61^a (0,03)	***	0,1179	***	NS	NS	NS	NS
Lactate/acétate	3,28^b (0,11)	0,65^c (0,14)	4,09^a (0,09)	3,01^b (0,11)	2,45^a (0,11)	0,89^c (0,14)	2,63^a (0,09)	1,38^b (0,11)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
N-ammoniacal x 6,25, % MS	0,33^{bc} (0,02)	1,92^a (0,22)	0,29^c (0,02)	0,38^b (0,02)	0,53^c (0,02)	1,82^a (0,22)	0,60^b (0,02)	0,58^{bc} (0,02)	***	0,0488	***	NS	NS	NS	NS
Sucres solubles, % MS	2,52^b (0,12)	4,10^a (0,14)	2,20^c (0,12)	2,17^c (0,12)	0,91^b (0,12)	2,49^a (0,14)	0,92^b (0,12)	0,64^c (0,12)	***	***	0,0227	NS	NS	NS	NS

^{a,b,c} Pour une même ligne et un même niveau d'étanchéité des silos, les moyennes présentant une même lettre ne sont pas significativement différentes (P>0,05) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ MÉH inoculé ou non avec le *Fusarium graminearum*.

⁴ Les valeurs rapportées sont les moyennes des moindres carrés.

⁵ Signification statistique : *** P<0,0001 ; NS non significatif (P>0,05).

⁶ Les valeurs entre parenthèses sont les erreurs types.

Annexe 4. Effet des agents de conservation¹, de l'étanchéité des silos² et de l'inoculation avec le *Fusarium graminearum*³ sur le chauffage du MÉH dans le test de stabilité aérobie⁴

	Silos étanches				Silos non étanches				Probabilité ⁵						
	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	Agent (A)	Silo (S)	AxS	Fusarium (F)	AxF	FxS	AxFxS
Indice de stabilité aérobie, h	69,4^{ab} (20,03) ⁶	108,0^a (6,81)	35,9^b (4,57)	138,4^a (31,49)	5,6^a (1,01)	4,9^a (1,09)	5,6^a (1,03)	6,7^a (1,14)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
Élévation de température en 24 h, °C	0,54^{ab} (0,19)	0,35^b (0,09)	0,99^a (0,19)	0,25^b (0,12)	11,97^c (0,84)	21,01^a (0,21)	15,02^b (1,48)	7,97^d (0,92)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
Température maximale, °C	46,84^{abc} (2,40)	47,61^b (0,66)	51,01^a (0,47)	39,21^{bc} (3,12)	53,91^a (0,18)	52,57^{ab} (0,83)	53,89^a (0,22)	51,99^b (0,37)	***	***	0,0045	NS	NS	NS	NS
Temps pour atteindre la température maximale, h	223,7^B (15,80)	214,1^B (15,80)	189,3^B (15,80)	272,5^A (15,80)	104,3^B (8,04)	81,8^B (8,04)	98,7^B (8,04)	146,2^A (8,04)	***	***	NS	NS	NS	NS	NS
Indice d'instabilité aérobie, °C/j	5,45^{ab} (0,70)	5,43^{ab} (0,70)	6,71^a (0,70)	3,79^b (0,70)	12,64^b (0,70)	15,76^a (0,70)	13,33^b (0,70)	8,91^c (0,70)	***	***	***	NS	NS	NS	NS

^{a,b,c} Pour une même ligne et un même niveau d'étanchéité des silos, les moyennes présentant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

^{A,B,C} Les différences rapportées pour chaque niveau d'étanchéité des silos sont celles de l'effet principal « Agent de conservation » lorsque l'interaction « Agent x Silo » n'est pas significative.

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ MÉH inoculé ou non avec le *Fusarium graminearum*.

⁴ Les valeurs rapportées sont les moyennes des moindres carrés.

⁵ Signification statistique : *** $P < 0,0001$; NS non significatif ($P > 0,05$).

⁶ Les valeurs entre parenthèses sont les erreurs types.

Annexe 5. Effet des agents de conservation¹, de l'étanchéité des silos² et de l'inoculation avec le *Fusarium graminearum*³ sur les caractéristiques du MÉH après 7 jours d'exposition à l'air dans le test de stabilité aérobie⁴

	Silos étanches				Silos non étanches				Probabilité ⁵						
	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	Agent (A)	Silo (S)	AxS	Fusarium (F)	AxF	FxS	AxFxS
pH	5,58 ^{bc} (0,31) ⁶	7,45 ^a (0,17)	6,13 ^b (0,12)	4,80 ^c (0,33)	6,63 ^b (0,05)	7,23 ^a (0,07)	6,71 ^b (0,06)	6,68 ^b (0,05)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
Augmentation de pH	1,52 ^{ab} (0,30)	0,01 ^c (0,12)	2,11 ^a (0,13)	0,81 ^{bc} (0,34)	2,20 ^a (0,07)	-0,35 ^b (0,08)	2,27 ^a (0,08)	2,14 ^a (0,07)	***	0,0003	***	NS	NS	NS	NS
Perte de MS dans le test, %	2,65 ^A (0,64)	2,35 ^A (0,64)	3,43 ^A (0,64)	1,05 ^B (0,64)	10,90 ^A (0,45)	10,36 ^A (0,45)	11,03 ^A (0,45)	9,01 ^B (0,45)	***	***	NS	NS	NS	NS	NS
Perte de MS totale⁷, %	3,81 ^a (0,67)	3,35 ^a (0,67)	4,88 ^a (0,67)	2,71 ^a (0,67)	16,07 ^a (0,42)	12,41 ^c (0,42)	15,75 ^a (0,42)	14,06 ^b (0,42)	***	***	0,0255	NS	NS	NS	NS
Mycélium, 0 à 5	1,85 ^{bc} (0,48)	3,70 ^a (0,48)	2,45 ^{ab} (0,48)	0,55 ^c (0,48)	4,95 ^{ab} (0,06)	5,00 ^a (0,06)	5,00 ^a (0,06)	4,75 ^b (0,06)	***	***	0,0010	NS	NS	NS	NS

^{a,b,c} Pour une même ligne et un même niveau d'étanchéité des silos, les moyennes présentant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

^{A,B,C} Les différences rapportées pour chaque niveau d'étanchéité des silos sont celles de l'effet principal « Agent de conservation » lorsque l'interaction « Agent x Silo » n'est pas significative.

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ MÉH inoculé ou non avec le *Fusarium graminearum*.

⁴ Les valeurs rapportées sont les moyennes des moindres carrés.

⁵ Signification statistique : *** $P < 0,0001$; NS non significatif ($P > 0,05$).

⁶ Les valeurs entre parenthèses sont les erreurs types.

⁷ La perte de MS totale est celle enregistrée à l'ouverture des silos plus celle observée pendant les 7 premiers jours du test de stabilité aérobie.

Annexe 6. Effet des agents de conservation¹, de l'étanchéité des silos² et de l'inoculation avec le *Fusarium graminearum*³ sur les caractéristiques du MÉH après 14 jours d'exposition à l'air dans le test de stabilité aérobie⁴

	Silos étanches				Silos non étanches				Probabilité ⁵						
	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	Agent (A)	Silo (S)	AxS	Fusarium (F)	AxF	FxS	AxFxS
pH	6,04^b (0,09) ⁶	7,10^a (0,05)	6,05^b (0,05)	5,79^b (0,29)	6,41^b (0,04)	7,11^a (0,06)	6,48^b (0,04)	6,34^b (0,07)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
Augmentation de pH	1,97^A (0,10)	-0,34^B (0,10)	2,02^A (0,06)	1,79^A (0,30)	1,98^A (0,07)	-0,46^B (0,07)	2,04^A (0,07)	1,80^A (0,09)	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Perte de MS dans le test, %	8,48^{bc} (1,07)	11,03^{ab} (0,59)	11,33^a (0,60)	4,67^c (1,40)	13,74^{ab} (0,54)	12,65^b (0,48)	14,06^a (0,45)	13,66^{ab} (0,60)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
Perte de MS totale⁷, %	9,57^{bc} (1,05)	11,94^{ab} (0,55)	12,66^a (0,67)	6,27^c (1,43)	18,74^a (0,45)	14,65^b (0,51)	18,62^a (0,43)	18,44^a (0,65)	***	***	***	NS	NS	NS	NS
Mycélium, 0 à 5	4,80 {0,11} ⁸	5,00 {0,00}	5,00 {0,00}	3,80 {0,46}	4,95 {0,05}	5,00 {0,00}	4,90 {0,07}	5,00 {0,00}	NAS ⁹	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS	NAS

^{a,b,c} Pour une même ligne et un même niveau d'étanchéité des silos, les moyennes présentant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon l'ajustement de Tukey-Kramer.

^{A,B,C} Les différences rapportées pour chaque niveau d'étanchéité des silos sont celles de l'effet principal « Agent de conservation » lorsque l'interaction « Agent x Silo » n'est pas significative.

¹ TÉ = témoin ; AM = ammoniacque ; IBHO = inoculant bactérien homolactique ; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.

² Silos étanches pendant les 225 jours de conservation ou rendus non étanches après 45 jours.

³ MÉH inoculé ou non avec le *Fusarium graminearum*.

⁴ Les valeurs rapportées sont les moyennes des moindres carrés, sauf dans le cas du mycélium.

⁵ Signification statistique : *** $P < 0,0001$; NS non significatif ($P > 0,05$).

⁶ Les valeurs entre parenthèses sont les erreurs types.

⁷ La perte de MS totale est celle enregistrée à l'ouverture des silos plus celle observée pendant les 14 jours du test de stabilité aérobie.

⁸ Les valeurs entre accolades sont les écarts types.

⁹ NAS : Ne s'applique pas parce que les résultats ne satisfont pas les critères pour réaliser une analyse de variance.