

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

*A. AMYOT¹ et L. COUTURE²

RÉSUMÉ - A. Amyot et L. Couture. 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. *Agrosolutions* (19) 1 : 25-38. Du maïs épi humide (MÉH) a été conservé en silos de laboratoire (26 L) selon un essai factoriel à trois facteurs : A) inoculation avec le *Fusarium graminearum* (oui ou non); B) étanchéité des silos (complète ou réduite en perforant les silos après 45 jours de conservation); C) méthode de conservation selon quatre traitements: 1) aucun agent de conservation (TÉ : témoin), 2) ammoniac (AM), 3) inoculant bactérien homolactique (IBHO), *Lactobacillus plantarum* et *Enterococcus faecium*, et 4) inoculant bactérien hétérolactique (IBHÉ), *Lactobacillus buchneri*. Chaque combinaison de facteurs était répétée cinq fois (80 silos). Les silos ont été conservés pendant 225 jours dans un environnement simulant les températures enregistrées d'octobre à juin au Québec dans un ensilage de MÉH en silos boudin (de -3 à +19°C). L'inoculation avec le *F. graminearum* ne s'est pas traduite en une augmentation des concentrations de *Fusarium* spp. à la mise en silos (environ 5,5 log ufc/g pour tous les ensilages sauf ceux traités avec AM où il ne restait plus de *Fusarium* spp.) et n'a pas influencé la fermentation ni la stabilité aérobie du MÉH. Après 225 jours, les *Fusarium* spp. n'avaient survécu dans aucun ensilage mais la teneur en déoxynivalénol (DON) était plus faible dans AM que dans IBHÉ (en moyenne 2,7 vs 3,6 mg/kg MS; P = 0,0179). Le manque d'étanchéité des silos a favorisé la croissance des levures et moisissures et a accru les pertes de MS. Il a aussi altéré la fermentation et modifié l'effet des agents de conservation. Comparativement au témoin, IBHO a amélioré la fermentation du MÉH entreposé en silos étanches mais pas sa stabilité aérobie. IBHÉ a fait augmenter la teneur en acide acétique d'environ 0,1 % mais n'a pas réduit la population de levures après 225 jours. Dans le test de stabilité aérobie, il a freiné le chauffage de façon plus marquée dans le MÉH provenant des silos non étanches (8,9 vs

12,6°C/j; P < 0,0001) que dans celui provenant des silos étanches (3,8 vs 5,5°C/j; P = 0,075) mais a réduit la perte de MS aussi bien en silos étanches (1,1 vs 2,7%) qu'en silos non étanches (9,0 vs 10,9%). AM a limité la fermentation (pH = 7,5). En silos non étanches, il a réduit la population de moisissures (4,7 vs 6,9 log ufc/g) et la perte de MS de conservation (2,3 vs 5,8%), mais a accéléré le chauffage (15,8 vs 12,6°C/j) dans le test de stabilité aérobie. Les résultats suggèrent que IBHÉ a plus de potentiel que AM pour prévenir le chauffage du MÉH après l'ouverture du silo, mais une dose d'inoculation du *L. buchneri* supérieure à 1 x 10⁵ ufc/g pourrait être nécessaire pour obtenir une amélioration marquée de la stabilité aérobie du MÉH au début de juin sous les conditions du Québec.

Mots clés : ensilage, maïs épi humide, agent de conservation, stabilité aérobie, *Fusarium graminearum*, mycotoxine.

ABSTRACT - A. Amyot and L. Couture. Effect of inoculation with *Fusarium graminearum* and of silo sealing on the production of mycotoxins and on the efficiency of additives in high moisture ear corn silage. *Agrosolutions* (19) 1: 25-38. High moisture ear corn (HMEC) was ensiled in laboratory silos (26 L) in a factorial trial with three factors: A) inoculation with *Fusarium graminearum* (yes or no); B) airtightness of silos (complete or reduced by puncturing the silos after 45 days of conservation); C) method of conservation according to four treatments: 1) no additive (CO : control), 2) aqueous ammonia (AM), 3) homolactic bacterial inoculant (HOB), *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium*, and 4) heterolactic bacterial inoculant (HEBI), *Lactobacillus buchneri*. Each combination of factors was repeated five times (80 silos). Silos were stored during 225 days in an environment simulating the temperatures registered between October and June in a nearby HMEC pressed bag silo (between -3 and +19°C). Inoculation with *F. graminearum* did not increase the concentration of *Fusarium*

1. Institut de recherche et de développement en agroenvironnement inc. (IRDA), 120-A, chemin du Roy, Deschambault (Québec), G0A 1S0, Canada.

*Auteur pour la correspondance : téléphone : 418 286-3351, télécopieur : 418 286-3597, courriel : andre.amyot@irda.qc.ca .

2. Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherche et de développement sur les sols et les grandes cultures, 2560 boul. Hochelaga, Québec (Québec), G1V 2J3, Canada.

spp. when filling the silos (about 5,5 log cfu/g for all silages except those treated with AM, in which there was no *Fusarium* spp.) and did not influence the fermentation or the aerobic stability of HMEC. After 225 days, *Fusarium* spp. did not survive in any of the silages but the deoxynivalenol (DON) content was lower in AM than in HEBI (mean 2,7 vs 3,6 mg/kg DM; P = 0,0179). The reduced airtightness of silos increased the growth of yeasts and moulds and the DM loss. The fermentation was also altered and the effect of additives modified. Comparatively to control, HOBI yielded a better fermentation in airtight silos but not a better aerobic stability. HEBI produced a silage with an acetic acid content approximately 0,1 % higher but did not reduce the yeast count in the 225 days silage. In the aerobic stability test, the heating was restricted more by HEBI in the HMEC from punctured silos (8,9 vs 12,6°C/j; P < 0,0001) than in the one from airtight silos (3,8 vs 5,5°C/j; P < 0,075) but the DM loss was equally reduced in airtight silos (1,1 vs 2,7 %) and in punctured silos (9,0 vs 10,9 %). AM limited fermentation (pH = 7,5). In punctured silos, it reduced the mould count (4,7 vs 6,9 log cfu/g) and the DM loss during storage (2,3 vs 5,8%), but the heating was accelerated (15,8 vs 12,6°C/j) in the aerobic stability test. The results suggest that HEBI has a higher potential than AM to prevent heating of HMEC after silo opening, but a rate of inoculation of *L. buchneri* higher than 1 x 10⁵ cfu/g could be necessary to obtain a marked amelioration of the aerobic stability of HMEC in the conditions occurring at the beginning of June in Quebec.

Keywords : silage, high moisture ear corn, additive, aerobic stability, *Fusarium graminearum*, mycotoxin.

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. Suite à 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 du maïs grain et du maïs épi humide. Le traitement avec les agents de conservation à base d'acide propionique, appliqués aux doses élevées recommandées pour obtenir une bonne préservation (0,5 à 1,0% de la matière fraîche), 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% de la matière fraîche) diminuent les populations fongiques et activent la fermentation de l'ensilage de maïs (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% de la matière fraîche), inhibe la fermentation, améliore la stabilité aérobie et limite les pertes de matière sèche causées par l'exposition à l'air (Phillip *et al.*, 1985). Le traitement à l'ammoniac a eu un effet différent selon la teneur en matière sèche du maïs épi humide (Soderholm *et al.*, 1988). Kung (1992) rapporte que le traitement avec l'ammoniac anhydre ou en solution aqueuse n'a pas amélioré sa stabilité aérobie de façon constante.

Les inoculants bactériens peuvent constituer une solution de rechange économique aux agents chimiques de conservation. Les inoculants bactériens homolactiques à base de *Lactobacillus plantarum* ont conféré au maïs humide une stabilité aérobie tantôt meilleure (Fellner *et al.*, 2001), tantôt comparable au témoin (Kung *et al.*, 2004). Par contre, les inoculants bactériens hétérolactiques à base de *Lactobacillus buchneri* ont permis d'améliorer la stabilité aérobie du maïs grain humide (Taylor et Kung, 2002; Ebling *et al.*, 2002; Kendall *et al.*, 2002). L'effet du *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). La survie des levures dans le silo est compromise et leur croissance est inhibée lorsque l'ensilage devient exposé à l'air (Driehuis *et al.*, 1999).

Le *Fusarium graminearum* est une moisissure productrice de toxines fréquente dans le maïs au Québec. Les récoltes contaminées peuvent contenir plusieurs toxines dont le déoxynivalénol (DON) et la zéaralénone (ZÉA). Selon les travaux de Escula (1979), les *Fusarium* peuvent survivre et produire de la ZÉA 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 ZÉA. Par contre, d'autres recherches indiquent que les *Fusarium* sont incapables de croître dans l'ensilage (Scudamore et Livesey, 1998; Niderkorn *et al.*, 2007) et qu'on ne retrouve pas de *Fusarium* viable dans l'ensilage de maïs (Kuldau et Mansfield, 2006). Les études montrent généralement que les fusariotoxines préformées à la mise en silos ne sont pas ou peu dégradées par le procédé d'ensilage (Niderkorn *et al.*, 2007) mais la diminution de la DON a été rapportée (Mansfield *et al.*, 2005).

Les agents de conservation peuvent réduire la croissance des moisissures de conservation et par conséquent la production de leurs mycotoxines dans l'ensilage, mais ils ne sont d'aucune utilité contre les fusariotoxines déjà présentes à la mise en silos (Niderkorn *et al.*, 2007). Ils peuvent tout au plus limiter la production subséquente de ces toxines en inhibant rapidement les *Fusarium*. L'inhibition des moisissures par l'acide propionique est bien documentée (Sherwood et Peberdy, 1974; cité par Escula, 1977). Le développement de *F. graminearum* est aussi inhibé par la présence dans le milieu de culture d'ammoniac sous forme non dissociée (DePasquale et Montville, 1990). Quant aux agents microbiens de conservation, il semble qu'aucune recherche n'ait 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'ammoniac 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 de l'étanchéité des silos

sur la production de mycotoxines fusariennes et sur l'efficacité des agents de conservation dans l'ensilage de MÉH.

Méthodologie

Traitements

Du MÉH (DKC27-12, 2250 UTM) a été récolté au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) les 24 et 25 octobre 2003 à environ 65% de MS avec une fourragère conventionnelle (New Holland, modèle 790) équipée d'une tête cueilleuse d'épis et réglée à une longueur de hachage théorique de 3 mm. Il a été 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). Après avoir été inoculé ou non avec le *F. graminearum* ($2,5 \times 10^2$ spores/g de matière fraîche) le MÉH a 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 matière fraîche (17,8 L/t de matière fraîche),
- 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 matière fraîche,
- 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 matière fraîche.

Le maïs ainsi traité a été ensilé dans des seaux de polyéthylène de 26 litres (44 cm de hauteur et 27,5 cm de diamètre) à une densité de 625 kg de matière fraîche/ m^3 (420 kg MS/ m^3). Le contenu de chaque silo a été pesé. Les silos ont été entreposés dans une pièce dont la température a été ajustée de façon à reproduire celle enregistrée d'octobre à juin à 60 cm de profondeur dans des silos boudin de MÉH voisins (400 à 450 kg MS/ m^3) (figure 1). Des silos ont été gardés hermétiques pendant les 225 jours de conservation (SÉ = silos étanches) alors que les 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), on a ouvert les silos et pesé leur contenu. Un test de stabilité aérobie a été réalisé avec 4,7 kg de MÉH provenant de chaque silo, en plaçant 2,35 kg dans deux bacs (série A et série B) de polystyrène de 7,5 litres (24 cm de longueur x 18 cm de largeur x 17,5 cm de profondeur) maintenus ouverts, mais recouverts de 2 épaisseurs d'étamine (6 mailles/cm) de façon à permettre la circulation de l'air tout en limitant le séchage de la surface. Les bacs ont été placés dans une pièce dont la température ambiante a été

maintenue à 20°C. Des témoins inertes ont été préparés en traitant du MÉH non autrement traité avec de l'acide formique et de l'acide propionique de façon à avoir des concentrations de 7,1 et 9,1 g/kg respectivement et ainsi prévenir totalement la détérioration aérobie (Driehuis *et al.*, 2001). Le contenu de chaque bac de la série A a été pesé au début du test et après 7 jours d'exposition à l'air et le développement des moisissures a alors été évalué visuellement (échelle de 0 à 5). Des fils thermocouples ont été insérés dans chaque bac de la série B et la température a été mesurée en continu pendant 14 jours. L'indice de stabilité aérobie a été défini comme le temps d'exposition à l'air nécessaire pour une augmentation de 2°C (Moran *et al.*, 1996) au-dessus de la température des témoins inertes (Driehuis *et al.*, 2001) et l'indice d'instabilité aérobie comme le rapport « température maximale : nombre de jours pour l'atteindre » (Ruppel *et al.*, 1995).

Échantillonnage

Des échantillons de MÉH de chaque silo ont été prélevés :

- 1- avant de réaliser les traitements,
- 2- lors du remplissage des silos, après avoir réalisé les traitements « agent de conservation » et « *Fusarium* »,
- 3- lors de l'ouverture des silos après 225 jours de conservation,
- 4- à la fin du test de stabilité aérobie de 7 jours.

Les échantillons prélevés au moment de la mise en silos, à l'exception de ceux destinés à la détermination de la MS et au dénombrement des *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 et sucres solubles) et de valeur nutritive (MS et protéine brute), de même qu'au point de vue microbiologique (dénombrement des levures et des moisissures) et toxicologique (DON et ZÉA). Les dénombrements de *Fusarium*

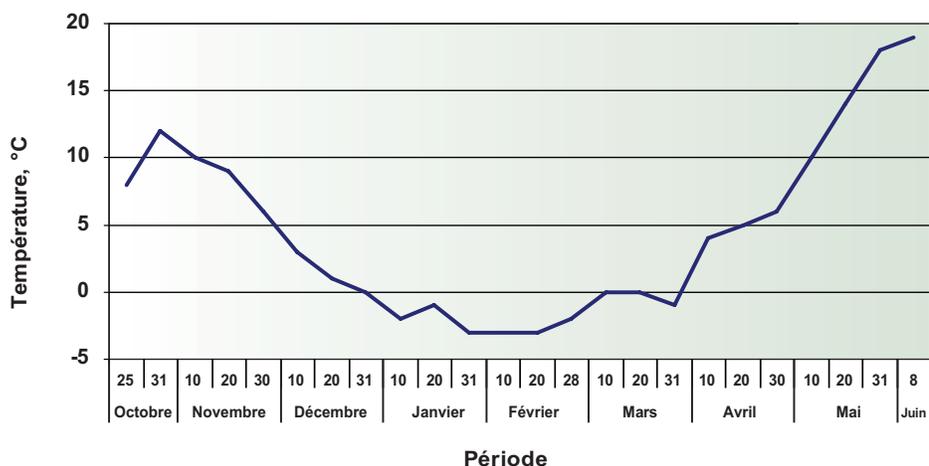


Figure 1. Température d'entreposage des silos de laboratoire d'octobre 2003 à juin 2004

spp. et les teneurs en MS après traitement ont été déterminés sur les échantillons individuels. L'analyse des principaux paramètres de la fermentation (MS, pH, acides gras volatils, acide lactique, sucres solubles et azote ammoniacal), les analyses microbiologiques (dénombrement des levures, des moisissures et de *Fusarium* spp.) et les analyses de mycotoxines (DON et ZÉA) ont été effectuées sur les échantillons prélevés dans chaque silo lors de leur ouverture. La teneur en MS 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 dénombrements microbiologiques ont été conservés au réfrigérateur (3°C) et analysés dans les meilleurs délais.

Analyses chimiques

Pour des fins analytiques, la teneur en MS a été déterminée en séchant 1 g d'échantillons pré-séchés (analyses des paramètres de la valeur nutritive) ou 10 g d'échantillons frais (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). Les sucres solubles, les acides organiques et l'azote ammoniacal (N-ammoniacal) ont été dosés après 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 de réfraction (Waters 410) selon la méthode

de 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 x 6,25) a été réalisé en dosant l'azote (N) selon la méthode Kjeldahl (AOAC, 1990) avec un appareil Tecator (modèle Kjeltex Auto 1030 Analyser) après minéralisation de l'échantillon d'ensilage (digestion system 20, 1015 Digestor). La méthode « don-1c-03-00.1 » de Romer Labs Inc. (2000) a été utilisée pour séparer et quantifier la DON à l'aide d'un système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) alors que l'analyse de la ZÉA 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 dénombrement des levures et des moisissures a été effectué selon la méthode de Santé Canada (2004) modifiée. On a utilisé comme milieu de culture une gélose d'extrait de malt additionnée de rose de Bengal (0,005 %), de streptomycine (100 mg/mL) et de néomycine (50 mg/mL) et on a réalisé une incubation pendant 5 jours. Le dénombrement a été réalisé en 3 répétitions, avec un seuil de détection de 100 ufc/g. Ce seuil a été atteint lorsqu'aucune colonie n'a été dénombrée, pour un volume inoculé

de 0,1 mL et un facteur de dilution de 10. On a alors considéré qu'il y avait 10 ufc/g. 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 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 Agar (Papavizas, 1967), préparé et conditionné par les Laboratoires Quélab, Montréal.

Analyses statistiques

L'expérience a été réalisée selon un dispositif en blocs complets aléatoires. Les différents paramètres étudiés ont été analysés avec la procédure PROC MIXED de SAS/STAT (Version 8.1, SAS Inst. Inc., Cary, NC). Le modèle statistique comporte 15 degrés de liberté pour les traitements et les interactions, 4 pour les répétitions 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). La méthode des moindres carrés a été utilisée de façon à comparer les moyennes des

Tableau 1. Composition chimique et microbiologique du MÉH à la mise en silos, en fonction des traitements appliqués¹.

	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	
Matière sèche, %²	67,5	67,1	67,4	67,4	
pH³	5,6	8,7	5,7	5,7	
Protéine brute, % MS³	8,9	10,3	9,0	8,9	
Levures, log₁₀ ufc/g de matière fraîche³	6,0	0,8	5,7	5,7	
Moisissures, log₁₀ ufc/g de matière fraîche³	5,0	2,3	4,7	4,3	
<i>Fusarium</i> spp., log₁₀ ufc/g de matière fraîche²	Non inoculé	5,5	0,2	5,5	5,5
	Inoculé	5,6	0,0	5,5	5,2
DON, mg/kg MS³	2,2	2,5	2,0	1,9	
ZÉA, mg/kg MS³	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	

1. TÉ = témoin; AM = ammoniac; 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.

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.

Résultats

Caractéristiques du MÉH à la mise en silos

Au moment de la mise en silos, le MÉH traité avec AM avait une teneur en MS de 67,1 %, un pH de 8,7 et une teneur en protéine brute de 10,3 %, alors que les autres traitements présentaient en moyenne une teneur en MS de 67,4 %, un pH de 5,7 et une teneur en protéine brute de 8,9 %. Seulement 40 % 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 % alors que la solution appliquée aurait pu la faire augmenter de 3,62 % si tout l'azote ammoniacal avait été récupéré par le MÉH. Les populations de levures et de moisissures ont été de seulement 0,8 et 2,3 log ufc/g dans le MÉH traité avec AM alors qu'elles ont été de 5,8 et 4,7 log ufc/g en moyenne pour les autres traitements. L'inoculation du *F. graminearum* n'a pas fait augmenter la population totale des *Fusarium* spp. puisque celle-ci était déjà relativement élevée dans le matériel non

inoculé. Quant aux mycotoxines, en moyenne 2,1 mg de DON/kg MS ont été détectés alors qu'il y a eu moins de 0,5 mg de ZÉA/kg MS (tableau 1).

Fusarium et mycotoxines

Les *Fusarium* spp. n'ont pas survécu dans le MÉH puisque les 80 analyses de dénombrement faites sur les échantillons après 225 jours de conservation ont toutes indiqué une présence nulle de *Fusarium* spp. Cependant, la teneur en DON a été de 3,2 mg/kg MS en moyenne à l'ouverture des silos alors qu'elle était de seulement 2,1 mg/kg MS à la mise en silos. De plus, elle a eu tendance à augmenter à la suite de l'inoculation avec le *F. graminearum* (3,4 vs 3,0 mg/kg MS; $P = 0,067$) et a été plus faible dans AM que dans IBHÉ quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 2,7 vs 3,6 mg/kg MS) après 225 jours de conservation (figure 2). Cependant, l'inoculation avec le *F. graminearum* n'a pas influencé les autres paramètres analysés. C'est pourquoi aucun résultat concernant l'effet de l'inoculation avec le *F. graminearum* n'est rapporté dans les figures et les tableaux subséquents.

Populations fongiques et perte de MS en silos

Dans le MÉH entreposé en SÉ, le nombre de levures à l'ouverture des silos a été plus élevé dans IBHO que dans TÉ, AM et IBHÉ (6,4 vs 4,3, 3,3 et 2,5 log ufc/g,

respectivement) et aucun agent ne l'a réduit de façon significative par rapport au témoin, malgré les écarts observés. De plus, le nombre de moisissures a été relativement faible, quel que soit l'agent de conservation (1,6 à 1,8 log ufc/g). Au total, c'est IBHO qui a fait moins bonne figure, avec un nombre total de levures et moisissures

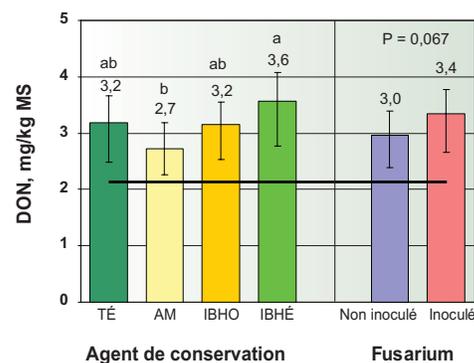


Figure 2. Effet des agents de conservation¹ et de l'inoculation avec le *Fusarium graminearum*² sur la teneur en déoxyvalénol du MÉH après 225 jours de conservation³.

1. TÉ = témoin; AM = ammoniac; IBHO = inoculant bactérien homolactique; IBHÉ = inoculant bactérien hétérolactique.
2. MÉH non inoculé ou inoculé à la dose de $2,5 \times 10^2$ spores/g de matière fraîche.
3. 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.

Le trait horizontal indique la moyenne de 16 échantillons composites au moment de la mise en silos.

Tableau 2. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur les populations fongiques dans le MÉH après 225 jours de conservation³.

	Silos étanches				Silos non étanches				Probabilité ⁴		
	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	Agent (A)	Silo (S)	AxS
Levures, log ₁₀ ufc/g de matière fraîche	4,3 ^B	3,3 ^B	6,4 ^A	2,5 ^B	6,4 ^B	6,5 ^B	7,8 ^A	6,3 ^B	***	***	NS
Moisissures, log ₁₀ ufc/g de matière fraîche	1,80 ^a	1,74 ^a	1,65 ^a	1,62 ^a	6,87 ^{ab}	4,67 ^c	4,71 ^{bc}	7,03 ^a	***	***	0,0015
Levures et moisissures, log ₁₀ ufc/g de matière f raîche	4,5 ^{ab}	3,8 ^b	6,4 ^a	2,9 ^b	7,5 ^a	6,6 ^b	7,9 ^a	7,3 ^{ab}	0,0003	***	0,0333
Mycélium, 0 à 5	0	0	0	0	2,4 ^b	3,7 ^a	2,3 ^b	2,3 ^b	NAS ⁵	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 de conservation x Silo » n'est pas significative.

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 rapportées sont les moyennes des moindres carrés.

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

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

supérieur à AM et IBHÉ (6,4 vs 3,8 et 2,9 log ufc/g), mais on n'a observé aucun développement de mycélium, quel que soit l'agent de conservation. Dans le MÉH entreposé en SNÉ, les populations fongiques à l'ouverture des silos ont été plus élevées qu'en SÉ. En fait, le nombre de levures a été plus élevé dans IBHO que dans TÉ, AM et IBHÉ (7,8 vs 6,4, 6,5 et 6,3 log ufc/g) et aucun agent ne l'a réduit de façon significative par rapport au témoin, comme en SÉ, alors que le nombre de moisissures a été plus faible dans AM que dans TÉ et IBHÉ (4,7 vs 6,9 et 7,0 log ufc/g), et dans IBHO que dans IBHÉ (4,7 vs 7,0 log ufc/g). Au total, c'est AM qui a fait meilleure figure, avec un nombre total de levures et moisissures inférieur à TÉ et IBHO (6,6 vs 7,5 et 7,9 log ufc/g). Cependant, la croissance de mycélium a été plus fournie dans AM que dans chacun des autres traitements (3,7 vs 2,3 à 2,4), ce qui semble indiquer que celle-ci a été favorisée par les conditions d'ensilage particulières à AM (tableau 2).

Dans le MÉH entreposé en SÉ, la perte de MS pendant la période de conservation en silos 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 (1,0 vs 1,7 %; $P = 0,0665$). Dans celui entreposé en SNÉ, AM a vraiment fait meilleure figure que chacun des

autres traitements, puisqu'il a freiné la perte de MS beaucoup mieux que ces derniers (2,3 vs 5,3 à 5,8 %). En fait, la perte de MS a été fortement influencée par l'abondance des moisissures. Elle est le reflet de celle-ci 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 silos, peut aussi être partiellement responsable des différences observées (figure 3).

Produits de fermentation

Les agents de conservation ont eu des effets sur tous les paramètres de conservation mesurés. Il en fut de même de l'étanchéité des silos, sauf pour la teneur en acide acétique. Toutefois, l'effet des agents de conservation n'a pas été le même selon l'étanchéité des silos, tel qu'indiqué par des interactions significatives (tableau 3). Après avoir remonté le pH à 8,7 au moment de la mise en silos, AM a donné un ensilage avec un pH (en moyenne 7,5 vs 4,2 à 4,3) et une teneur en azote ammoniacal (en moyenne 1,9 vs 0,4 à 0,5 % éq. PB) plus élevés que chacun des autres traitements. En fait, AM a produit une fermentation plus limitée et plus hétérolactique que TÉ,

IBHO et IBHÉ, tel qu'indiqué par une plus faible production d'acide lactique (en moyenne 0,3 vs 1,2 à 1,3 %), une teneur en sucres résiduels plus élevée (en moyenne 3,3 vs 1,4 à 1,7 %) et un rapport lactate:acétate plus faible (en moyenne 0,8 vs 2,2 à 3,4), quelle que soit l'étanchéité des silos. AM a aussi présenté la teneur en acide acétique la plus élevée en SÉ (0,7 vs 0,3 à 0,5 %), et la plus faible en SNÉ (0,3 vs 0,5 à 0,6 %) (tableau 3).

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, tel qu'indiqué par une moindre production d'acide acétique (0,3 vs 0,4 à 0,7 %) et un rapport lactate:acétate plus élevé (4,1 vs 0,6 à 3,3). Dans ces conditions, sa fermentation a également été plus poussée que celle de TÉ, tel qu'indiqué par un pH (4,0 vs 4,1) et une teneur en sucres solubles (2,2 vs 2,5 %) plus faibles. De plus, cet inoculant a moins dégradé la protéine en azote ammoniacal que IBHÉ en SÉ et plus que TÉ en SNÉ (tableau 3).

Quant à IBHÉ, en SÉ il a permis une fermentation plus poussée et pas plus hétérolactique que TÉ, tel qu'indiqué par des teneurs en acide lactique (1,5 vs 1,3 %) et en acide acétique (0,5 vs 0,4 %) plus

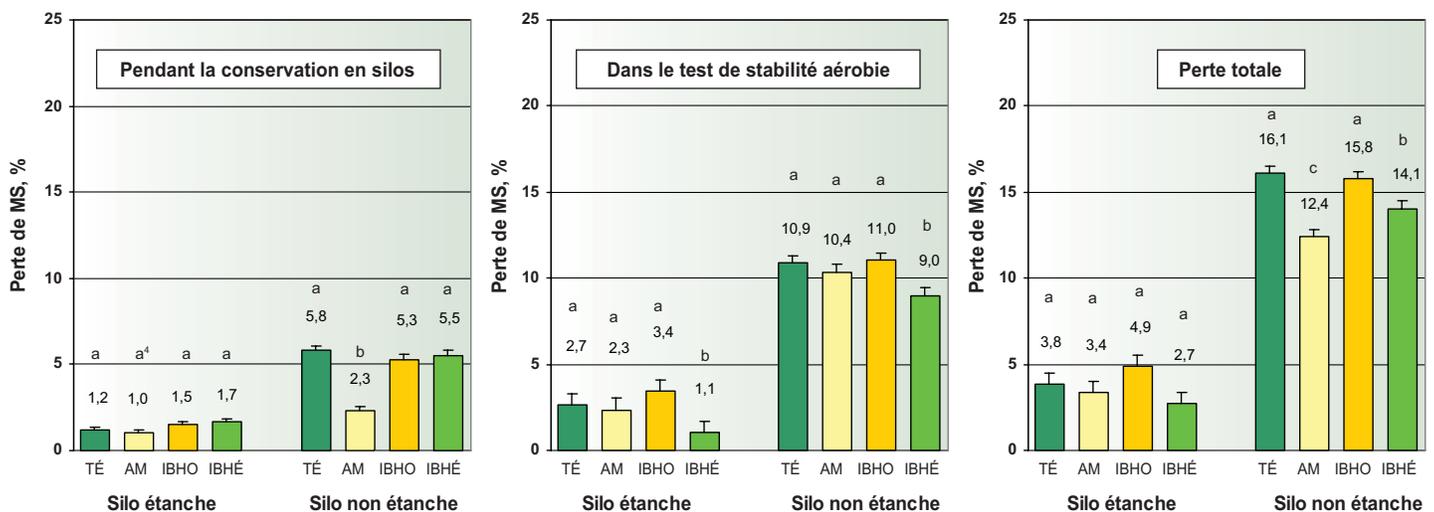


Figure 3. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur la perte de matière sèche dans le MÉH³.

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.

4. Pour la perte de MS pendant la conservation en silo étanche, $P = 0,0665$ pour AM vs IBHÉ.

Tableau 3. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur les produits de fermentation du MÉH après 225 jours de conservation³.

	Silos étanches				Silos non étanches				Probabilité ⁴		
	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	Agent (A)	Silo (S)	AxS
pH	4,06 ^b	7,44 ^a	4,03 ^{bc}	4,00 ^c	4,43 ^c	7,57 ^a	4,44 ^c	4,54 ^b	***	***	***
Acide lactique, % MS	1,3 ^b	0,4 ^c	1,4 ^{ab}	1,5 ^a	1,2 ^a	0,2 ^c	1,2 ^a	0,8 ^b	***	***	***
Acide acétique, % MS	0,4 ^c	0,7 ^a	0,3 ^d	0,5 ^b	0,5 ^b	0,3 ^c	0,5 ^b	0,6 ^a	***	0,1179	***
Lactate/acétate	3,3 ^b	0,6 ^c	4,1 ^a	3,0 ^b	2,4 ^a	0,9 ^c	2,6 ^a	1,4 ^b	***	***	***
N-ammoniacal x 6,25, % MS	0,33 ^{bc}	1,92 ^a	0,29 ^c	0,38 ^b	0,53 ^c	1,82 ^a	0,60 ^b	0,58 ^{bc}	***	0,0488	***
Sucres solubles, % MS	2,5 ^b	4,1 ^a	2,2 ^c	2,2 ^c	0,9 ^b	2,5 ^a	0,9 ^b	0,6 ^c	***	***	0,0227

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. Les valeurs rapportées sont les moyennes des moindres carrés.

4. Signification statistique : *** $P < 0,0001$.

élevées, un pH (4,0 vs 4,1) et une teneur en sucres solubles (2,2 vs 2,5) plus faibles et un rapport lactate:acétate (3,0 vs 3,3) comparable. Dans ces conditions, sa fermentation n'a pas été plus poussée mais a été plus hétérolactique que celle de IBHO, tel qu'indiqué par un pH (4,0 vs 4,0) et des teneurs en acide lactique (1,5 vs 1,4%) et en sucres solubles (2,2 vs 2,2%) comparables, une teneur en acide acétique plus élevée (0,5 vs 0,3%) et un rapport lactate:acétate plus faible (3,0 vs 4,1). Par contre, en SNÉ, IBHÉ a produit une fermentation plus hétérolactique que TÉ et IBHO, tel qu'indiqué par une teneur moindre en acide lactique (0,8 vs 1,2 et 1,2%, respectivement), une teneur plus élevée en acide acétique (0,6 vs 0,5 et 0,5%, respectivement), un rapport lactate:acétate plus faible (1,4 vs 2,4 et 2,6, respectivement), une teneur en sucres solubles plus faible (0,6 vs 0,9 et 0,9%, respectivement) et un pH plus élevé (4,5 vs 4,4 et 4,4, respectivement). 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 la teneur en acide acétique observée dans IBHÉ par rapport à TÉ a été relativement faible (environ 0,1%) (tableau 3).

Stabilité aérobie

Le chauffage du MÉH dans le test de stabilité aérobie a été fortement influencé 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, IBHÉ et AM ont

procuré un indice de stabilité aérobie (ISA = temps pour augmenter la température de 2°C) plus élevé que IBHO (138,4 vs 35,9 h, respectivement). De plus, IBHÉ a présenté un indice d'instabilité aérobie (IIA = vitesse d'augmentation de la température jusqu'au maximum) plus faible que IBHO (3,8 vs 6,7°C/j; $P < 0,01$) mais pas significativement plus faible que TÉ (3,8 vs 5,5°C/j; $P = 0,0753$) et AM (3,8 vs

5,4°C/j; $P = 0,0797$). Dans le MÉH provenant des SNÉ, le chauffage a commencé très rapidement quel que soit l'agent de conservation utilisé (ISA = 5,7 h en moyenne) mais IBHÉ a présenté un IIA plus faible que TÉ, AM et IBHO (8,9 vs 12,6, 15,8 et 13,3°C/j, respectivement). Par contre, celui-ci a été plus élevé dans AM que dans chacun des autres traitements (figure 4).

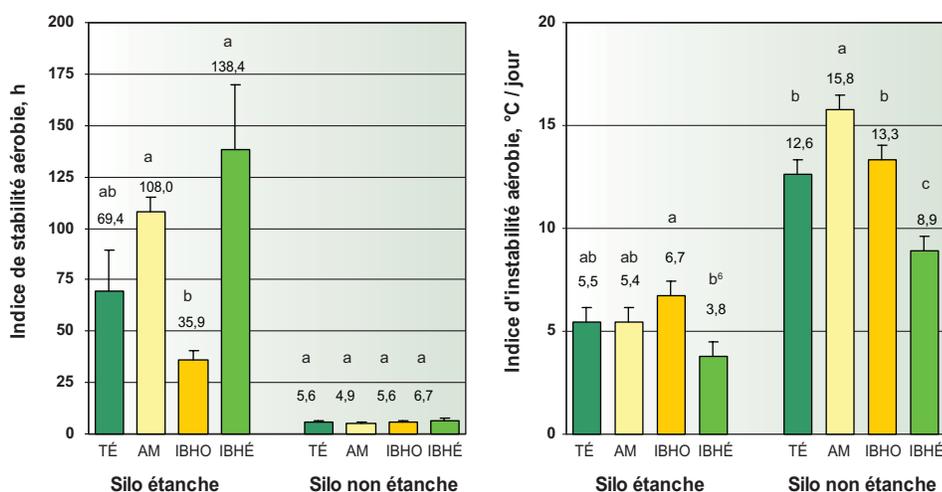


Figure 4. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur l'indice de stabilité aérobie³ et l'indice d'instabilité aérobie⁴ du MÉH dans le test de stabilité aérobie⁵.

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

5. 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.

6. Pour l'indice d'instabilité aérobie en silo étanche, $P = 0,0753$ pour IBHÉ vs TÉ et $P = 0,0797$ pour IBHÉ vs AM.

La croissance de mycélium a été plus abondante dans le MÉH provenant des SNÉ que dans celui provenant des SÉ (en moyenne 4,9 vs 2,1). Elle a été significativement plus faible dans IBHÉ que dans AM et IBHO non seulement en SÉ (0,6 vs 3,7 et 2,5, respectivement) mais aussi en SNÉ (4,8 vs 5,0 et 5,0, respectivement); 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 (0,8 vs 2,1) mais autant que ce dernier en SNÉ (2,1 vs 2,3). Ce résultat semble indiquer que le fait de perforer les 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. Par contre, IBHO n'a pas limité la détérioration du MÉH par rapport à TÉ dans le test de stabilité aérobie, tel qu'indiqué par un développement du mycélium (2,5 vs 1,9 en SÉ et 5,0 vs 4,9 en SNÉ) et un pH (6,1 vs 5,6 en SÉ et 6,7 vs 6,6 en SNÉ) comparables à TÉ, quelle que soit l'étanchéité des silos. Quant à AM, il a présenté un développement de mycélium plus important que TÉ en SÉ (3,7 vs 1,9). Ce résultat suggère que AM avait perdu son effet antifongique (tableau 4).

Dans le test de stabilité aérobie, la perte de MS a été plus importante dans le MÉH provenant des SNÉ que dans celui provenant des silos étanches (en moyenne 10,3 vs 2,4%). Cependant, IBHÉ l'a réduite 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. Par contre, IBHO et AM n'ont pas limité la détérioration du MÉH dans le test de stabilité aérobie, tel qu'indiqué par une perte de MS comparable à TÉ, quelle que soit l'étanchéité des silos (en moyenne 7,2 et 6,4 vs 6,8%, respectivement). Ce résultat semble indiquer que AM avait perdu son effet antifongique et que son pH presque neutre, de même que sa teneur élevée en sucres solubles, a pu favoriser la croissance du 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 être un facteur qui a influencé le développement des moisissures (figure 3). Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'à un pH de 7, la plus grande partie de l'acide acétique est complètement dissociée, c'est-à-dire sous forme de sels.

La perte totale de MS, c'est-à-dire celle mesurée à l'ouverture des silos plus celle cumulée pendant les 7 jours du test de stabilité aérobie, a été comparable quel que soit l'agent de conservation utilisé en SÉ. Toutefois, en SNÉ, cette perte a été plus faible dans IBHÉ (14,1%) que dans TÉ (16,1%) et IBHO (15,8%), et dans AM (12,4%) que dans chacun des autres traitements. La meilleure performance de AM que IBHÉ en SNÉ s'explique par une réduction de perte plus importante pendant la période de conservation en silos que celle due à IBHÉ dans le test de stabilité aérobie. Par contre, en SÉ, la réduction de perte due à IBHÉ dans le test de stabilité aérobie a été en partie annulée par sa moindre performance pendant la période de conservation préalable en silos (figure 3).

Discussion

Fusarium et mycotoxines

Après 225 jours de conservation, on n'a pas trouvé de *Fusarium* viable dans l'ensilage de MÉH, tout comme Kuldau et Mansfield (2006) dans l'ensilage de maïs (plante entière). Par contre, la teneur en DON a semblé augmenter dans le MÉH pendant la période de conservation alors que Mansfield *et al.* (2005) ont rapporté une diminution dans l'ensilage de maïs. Nos résultats vont plutôt dans le même sens que ceux de Lepom *et al.* (1990) qui ont rapporté que la teneur en DON du MÉH n'est pas réduite durant le procédé d'ensilage. De plus, la teneur en DON a eu tendance à être plus élevée dans le MÉH inoculé avec le *F. graminearum* mais son inoculation n'a pas influencé la fermentation du MÉH. Ce résultat semble indiquer que les bactéries lactiques sont résistantes aux mycotoxines des *Fusarium*, non seulement au champ, tel que rapporté par Müller et Seyfarth (1993), mais aussi en silos.

L'effet des agents de conservation sur la teneur en DON du MÉH n'est pas négligeable, même si aucun agent ne l'a porté à un niveau significativement différent du témoin. Le traitement à l'ammoniac est un moyen efficace pour réduire la production subséquente de toxines puisqu'il tue pratiquement tous les *Fusarium*, tel qu'indiqué par les dénombrements effectués lors de la mise en silos. Au contraire, dans l'ensilage témoin et ceux traités avec les inoculants bactériens, les *Fusarium* ont probablement pu croître et produire des

Tableau 4. Effet des agents de conservation¹ et de l'étanchéité des silos² sur les caractéristiques du MÉH après 7 jours d'exposition à l'air dans le test de stabilité aérobie³.

	Silos étanches				Silos non étanches				Probabilité ⁴		
	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	TÉ	AM	IBHO	IBHÉ	Agent (A)	Silo (S)	AxS
pH	5,6 ^{bc}	7,4 ^a	6,1 ^b	4,8 ^c	6,6 ^b	7,2 ^a	6,7 ^b	6,7 ^b	***	***	***
Augmentation de pH	1,5 ^{ab}	0,0 ^c	2,1 ^a	0,8 ^{bc}	2,2 ^a	-0,3 ^b	2,3 ^a	2,1 ^a	***	0,0003	***
Mycélium, 0 à 5	1,9 ^{bc}	3,7 ^a	2,5 ^{ab}	0,6 ^c	4,9 ^{ab}	5,0 ^a	5,0 ^a	4,8 ^b	***	***	0,0010

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 = 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 rapportées sont les moyennes des moindres carrés.

4. Signification statistique : *** $P < 0,0001$.

toxines tant qu'il y a eu de l'air dans la masse d'ensilage et/ou que le pH n'a pas été suffisamment bas pour inhiber leur activité. Alors, comment expliquer que seule la différence entre AM et IBHÉ a été significative? Il semble que ce pourrait être dû à l'effet combiné d'une production de DON moins abondante dans AM que dans les autres traitements, quelle que soit l'étanchéité des silos, à cause de son effet toxique rapide sur les *Fusarium*, et d'une moindre perte de MS dans AM que dans IBHÉ non seulement en SNÉ ($P < 0,0001$), comme pour les autres traitements, mais aussi en SÉ ($P = 0,0665$), contrairement à ces derniers.

Ammoniaque

Quelle que soit l'étanchéité des silos, le traitement à l'ammoniaque à la dose de 16 kg $\text{NH}_4\text{OH}/\text{t}$ de matière fraîche (7,2 kg NH_3/t MS) a donné un ensilage de MÉH avec un pH relativement élevé (7,5 en moyenne) et une teneur en acide lactique plus faible que le témoin. Cette observation va dans le même sens que celles faites par Alli *et al.* (1983) et Phillip *et al.* (1985) dans le MÉH conservé en silos commerciaux après avoir été traité à l'ammoniac à la dose de 1 % de la matière fraîche (15 kg NH_3/t MS) par le procédé « Cold-flo ». Ainsi, l'enrichissement en ammoniac du MÉH à l'aide d'une solution aqueuse, tout comme son enrichissement par le procédé « Cold-flo » qui permet de refroidir et dépressuriser l'ammoniac anhydre (NH_3) et d'incorporer séparément le liquide et la vapeur, a un effet sur sa fermentation qui est différent de celui observé dans l'ensilage de maïs (plante entière) traité à la dose de 10 kg NH_3/t MS (Huber *et al.*, 1979; Buchanan-Smith, 1982; Amyot et Grégoire, 2000). Le MÉH traité à l'ammoniaque a également présenté une teneur en sucres résiduels plus élevée que le témoin alors que ce n'est généralement pas le cas dans l'ensilage de maïs (Amyot et Grégoire, 2000; Kung *et al.*, 2000). De plus, nos résultats indiquent, tout comme ceux de Alli *et al.* (1983), que le MÉH ainsi traité présente, tout comme l'ensilage de maïs (Kung *et al.*, 2000), un rapport lactate:acétate beaucoup plus faible que celui du témoin. Ces derniers ont suggéré que la persistance des entérobactéries et la croissance subséquente de bactéries hétérolactiques peuvent être responsables, du moins

en partie, des concentrations élevées en acide acétique dans l'ensilage de maïs traité à l'ammoniaque.

Les écarts de fermentation observés par rapport à d'autres essais peuvent être dus à la dose d'ammoniac, le taux de récupération de l'azote ammoniacal, la température d'entreposage et la durée d'entreposage qui sont différents d'une expérience à l'autre. Le pH de l'ensilage de MÉH a été plus élevé dans notre expérience que dans celle réalisée par Soderholm *et al.* (1988) avec du MÉH à 63 % MS conservé à la température ambiante (7,5 vs 5,3) malgré une dose d'ammoniaque et une récupération de l'azote ammoniacal comparables. Cette différence s'explique probablement par la température d'entreposage plus basse de nos silos. De plus, la dose de 7,2 kg NH_3/t MS utilisée dans la présente expérience a donné un ensilage avec un pH moins élevé que la dose de 15 kg NH_3/t MS utilisée par Alli *et al.* (1983) et Phillip *et al.* (1985) pour traiter du MÉH conservé en silos commerciaux (conditions froides équivalentes de celles maintenues pour nos silos de laboratoire) (7,5 vs 8,3 et 8,8, respectivement), mais plus élevé que celui (5,7) obtenu par Alli *et al.* (1983) dans du MÉH traité à la dose de 15 kg NH_3/t MS et conservé en silos de laboratoire à 25 °C. En effet, les résultats de ces chercheurs montrent que la fermentation a été inhibée beaucoup moins en conditions chaudes (silos de laboratoire) qu'en conditions froides (silos commerciaux). Un faible taux de récupération de l'azote ammoniacal peut aussi réduire l'efficacité du traitement. Cependant le taux de récupération obtenu dans cette expérience (40 %) est comparable à ceux rapportés par Alli *et al.* (1983) et Phillip *et al.* (1985) (environ 40 et 43 %, respectivement). Il se rapproche aussi de celui (53 %) obtenu par Diaz (2006) à la suite de l'application d'ammoniaque au MÉH à la même dose que celle utilisée dans cette expérience.

Le traitement à l'ammoniaque à la dose de 7,2 kg NH_3/t MS a réduit de façon marquée les populations fongiques (levures et moisissures) au moment de la mise en silos, alors qu'au moment de l'ouverture des silos le nombre de levures et moisissures (total) et la perte de MS par rapport au témoin étaient réduits seulement en SNÉ. Ce

résultat indique que le traitement à l'ammoniaque a protégé le MÉH conservé en SNÉ contre la détérioration alors qu'il n'a pas amélioré significativement celui conservé en SÉ. En ce sens, nos résultats sont différents de ceux obtenus par Alli *et al.* (1983) en silos de laboratoire entreposés à 25 °C. Cela est probablement la conséquence d'une dose d'ammoniac 2 fois moins élevée et d'une température d'entreposage plus basse dans la présente expérience. De plus, le traitement à l'ammoniaque à la dose de 7,2 kg NH_3/t MS n'a pas influencé significativement la stabilité aérobie du MÉH conservé en SÉ, alors que des améliorations marquées de stabilité aérobie ont été rapportées dans le MÉH traité avec l'ammoniac à la dose de 15 kg NH_3/t MS et présentant un pH > 8 (Phillip *et al.*, 1985), tout comme dans le maïs ensilage traité à la dose de 10 kg NH_3/t MS et présentant un pH < 4,5 (Buchanan-Smith, 1982).

Une dose d'ammoniac plus élevée que celle utilisée dans la présente expérience semble nécessaire pour obtenir une amélioration de la stabilité aérobie du MÉH. En effet, nos résultats suggèrent que le traitement à l'ammoniaque à la dose de 7,2 kg NH_3/t MS, même s'il porte le pH du MÉH à un niveau supérieur à 8,5 lors de la mise en silos, n'améliore pas sa stabilité aérobie puisqu'il donne un ensilage avec un pH presque neutre après 225 jours de conservation. Plusieurs chercheurs ont suggéré que l'addition d'ammoniac/ammoniaque ou de sels d'ammoniac améliore la stabilité aérobie de l'ensilage à cause de leurs propriétés fongicides (Britt et Huber, 1975). Les travaux de DePasquale et Montville (1990) ont permis de relier la toxicité de l'ammoniac à un pH élevé qui le maintient sous une forme non dissociée, toxique pour plusieurs moisissures et levures. Ces chercheurs ont montré que le sulfate d'ammonium inhibe la croissance fongique quand le pH est $\geq 8,7$ alors qu'il est inefficace quand le pH est $\leq 7,8$.

Outre son effet fongicide direct, le mécanisme de suppression des moisissures par le traitement à l'ammoniac/ammoniaque serait différent dans le MÉH et le maïs ensilage et ce pour trois raisons. D'abord parce que le pH reste généralement élevé (> 7 à dose modérée, comme dans cette expérience, et > 8 à dose élevée), du moins jusqu'à la venue des températures chaudes,

dans le MÉH traité à l'ammoniac/ammoniaque, lorsque la dose d'ammoniac est suffisamment élevée et le taux de récupération de l'azote ammoniacal de l'ordre de 40 à 50%, alors que, dans l'ensilage de maïs traité à la dose recommandée (10 kg NH₃/t MS), il diminue presque autant que chez le témoin (< 4,5). Ensuite parce que les sucres solubles restent plus élevés que chez le témoin dans le MÉH traité à l'ammoniac/ammoniaque alors que dans l'ensilage de maïs, ils se situent généralement à un niveau inférieur au témoin. Finalement, dans l'ensilage de maïs traité à la dose recommandée, la production d'acide acétique est plus importante que chez le témoin et la plus grande partie de cet acide est sous forme non dissociée puisque le pH est acide. Par contre, dans l'ensilage de MÉH traité à l'ammoniac/ammoniaque la teneur en acide acétique n'influence probablement pas la stabilité aérobie puisque la plus grande partie est sous forme dissociée (sel) lorsque le pH est presque neutre. Kung (1992) a suggéré que l'amélioration de la stabilité aérobie de l'ensilage de maïs suite au traitement à l'ammoniac/ammoniaque ne serait pas due seulement à l'effet fongicide direct de l'ammoniac mais aussi à une augmentation de l'acide acétique (qui est sous forme non dissociée parce que le pH est acide) et possiblement à une diminution des sucres résiduels. Dans le cas du MÉH, nos résultats semblent confirmer que l'amélioration de stabilité aérobie dépend de l'effet fongicide direct de l'ammoniac/ammoniaque et du maintien d'un pH très élevé qui garde l'ammoniac sous une forme non dissociée. Lorsque le pH baisse pour devenir presque neutre, son effet sur la stabilité aérobie diminue de façon marquée.

Inoculant bactérien hétérolactique

Dans cette expérience, le MÉH traité avec IBHÉ contenait plus d'acide acétique et moins de sucres résiduels que l'ensilage témoin, mais ce traitement a eu peu d'effet sur les autres paramètres de la fermentation, n'a pas réduit significativement les levures ni les moisissures et n'a pas influencé significativement la perte de la MS, que les silos aient été maintenus ou non étanches pendant les 225 jours de conservation. En ce sens, nos résultats sont semblables à ceux rapportés par Taylor et Kung

(2002) pour du maïs grain humide (84% MS) traité avec le *L. buchneri* à la même dose et entreposé en silos de laboratoire à 20-27°C pendant 166 jours. Cependant, ces derniers ont observé un indice de stabilité aérobie plus élevé que chez le témoin dans le maïs ainsi traité alors que dans la présente expérience son indice de stabilité aérobie n'a pas été significativement plus élevé que chez le témoin en SÉ. Par contre, son indice d'instabilité aérobie a été moins élevé que chez le témoin en SNÉ. Ainsi, nos résultats montrent, tout comme ceux de Taylor et Kung (2002), que le traitement au *L. buchneri* peut réduire le chauffage du MÉH même s'il ne réduit pas les populations de levures à l'ouverture du silo.

Si le *L. buchneri* n'a pas réduit significativement les populations de levures à l'ouverture des silos, c'est probablement parce que l'augmentation de la teneur en acide acétique a été relativement faible (environ 0,1%). Une telle augmentation est comparable à celle (0,1 à 0,2%) obtenue par Taylor et Kung (2002) dans du maïs grain humide traité avec le *L. buchneri* à la même dose. Elle est par contre plus faible que celles obtenues par les mêmes chercheurs (0,3 à 0,8%) de même que par Ebling *et al.* (2002) (0,4%) lorsque la dose d'inoculation a été dix fois plus grande. Diaz (2006) a par contre rapporté une augmentation de 1,4% de la teneur en acide acétique dans le maïs épi humide traité avec *L. buchneri* à la dose de 1×10^5 ufc/g de matière fraîche.

Comment expliquer que le traitement a amélioré la stabilité aérobie même si le nombre de levures n'a pas été réduit? Ce peut être la conséquence de l'utilisation d'une dose modérée (1×10^5 ufc/g) d'inoculation au *L. buchneri*. Une telle dose n'a pas toujours l'efficacité d'une dose plus élevée (Driehuis *et al.*, 1999; Ranjit et Kung, 2000). De plus, le mécanisme responsable de l'amélioration de la stabilité aérobie lorsque le *L. buchneri* est inoculé à la dose de 1×10^5 ufc/g n'est pas apparent. Cela vient du fait que les levures sont affectées de deux façons à la suite de l'inoculation au *L. buchneri*. Premièrement, la survie des levures est réduite durant la phase anaérobie du procédé d'ensilage, de sorte qu'au moment de l'ouverture du silo, le nombre de levures est plus faible que dans les ensilages non inoculés au *L. buchneri*.

Deuxièmement, la croissance des levures est inhibée lorsque l'ensilage est exposé à l'air (Driehuis *et al.*, 1999). De plus, l'efficacité du *L. buchneri* peut avoir été réduite parce que la température ambiante (de -3 à +19°C) a été plus basse que celle généralement maintenue dans les expériences en silos de laboratoire (20 à 25°C), de sorte que la température permettant le taux de conversion optimal de l'acide lactique en acide acétique (entre 20 et 30°C) (Oude Elferink *et al.*, 2001) n'a jamais été atteinte. La durée de conservation peut aussi avoir été trop courte compte-tenu de la basse température ambiante, pour permettre la transformation d'une quantité suffisante d'acide lactique en acide acétique, puisque l'efficacité du traitement augmente avec la durée de conservation (Taylor et Kung, 2002; Driehuis *et al.*, 1999) et que celle-ci doit être plus longue avec une dose modérée qu'avec une dose plus élevée pour une efficacité équivalente (Taylor et Kung, 2002). Ainsi, la performance mitigée du *L. buchneri* semble due à l'effet combiné d'une dose d'inoculation modérée (1×10^5 ufc/g) et d'une température ambiante basse. Dans ces conditions, c'est seulement après une longue durée de conservation que le *L. buchneri* peut produire une quantité suffisante d'acide acétique pour avoir un effet significatif sur la stabilité aérobie.

Le *L. buchneri* n'a pas produit plus de perte de MS que le témoin pendant la période de conservation, tel que rapporté par Taylor et Kung (2002) dans le maïs grain humide inoculé à 1×10^5 ufc/g ou même 1×10^6 ufc/g. Par contre, dans l'ensilage de maïs inoculé à 1×10^5 ufc/g, la perte de MS a été tantôt comparable au témoin (Kleinschmit *et al.*, 2005), tantôt plus élevée (Driehuis *et al.*, 1999) et a parfois augmenté avec la dose d'inoculation (Driehuis *et al.*, 1999) et parfois non (Kleinschmit *et al.*, 2005). Des augmentations de perte de MS ont aussi été rapportées dans l'ensilage de graminées à faible teneur en MS (Driehuis *et al.*, 2001). S'il peut être avantageux d'augmenter la dose d'inoculation du *L. buchneri* pour augmenter l'efficacité du traitement, on doit par contre être prudent, même si le risque semble moins grand dans les ensilages à teneur en MS élevée que dans ceux à faible teneur en MS, car une dose plus élevée pourrait se traduire en des pertes de MS accrues au bout d'une longue conservation.

Le fait que l'ammoniaque en a produit moins que le *L. buchneri* en SNÉ et a eu tendance à en produire moins en SE (P = 0,0665) invite aussi à la prudence. On doit chercher à réduire au minimum ces pertes « potentielles » durant le procédé d'ensilage, même si l'amélioration de la stabilité aérobie peut les compenser, en réduisant les pertes pendant l'exposition à l'air.

Nos résultats semblent indiquer que sous les conditions de température du Québec, il pourrait être nécessaire d'utiliser une dose d'inoculation du *L. buchneri* plus élevée que 1×10^5 ufc/g pour obtenir une amélioration marquée de la stabilité aérobie du MÉH au début de juin. Nos résultats vont dans le même sens que ceux de Taylor et Kung (2002) qui concluent, à la suite de travaux en silos de laboratoire à une température de 20-27 °C, que le maïs grain humide devrait être inoculé avec *L. buchneri* à une dose minimale de 5×10^5 ufc/g et ensilé pendant plus de 45 jours pour obtenir une amélioration significative de la stabilité aérobie. Cela vient du fait que, contrairement aux autres agents de conservation (acide propionique et ammoniac) utilisés pour améliorer la stabilité aérobie de l'ensilage et dont l'efficacité diminue avec la durée de conservation, celle du *L. buchneri* augmente avec la durée de conservation suite à l'augmentation de la teneur en acide acétique. En fait, il y a 2 lignées de *L. buchneri* commercialisées au Canada et la dose d'application suggérée pour chacune est différente (1 et 4×10^5 ufc/g). D'autres évaluations de ces inoculants sont donc nécessaires afin de préciser

la dose optimale selon la durée de conservation en silos commerciaux, puisqu'une dose trop élevée pourrait résulter en des pertes de MS accrues lorsque la durée de conservation est longue alors qu'une dose trop faible pourrait réduire l'efficacité du traitement lorsqu'elle est courte.

Inoculant bactérien homolactique

Les résultats obtenus en silos étanches indiquent que IBHO peut améliorer légèrement la fermentation du MÉH conservé dans de bonnes conditions, tel qu'indiqué par une moindre teneur en acide acétique, un rapport lactate:acétate plus élevé et un pH plus bas que chez le témoin; cependant, il n'améliore pas la récupération de la MS pendant la conservation. Les effets sur la fermentation observés dans cette expérience sont plus prononcés que ceux obtenus par Kung *et al.* (2004) de même que Phillip et Fellner (1992) mais moins prononcés que ceux obtenus par Fellner *et al.* (2001).

Le traitement du MÉH avec IBHO n'a influencé positivement aucun des paramètres de la stabilité aérobie. En ce sens, nos résultats sont semblables à ceux obtenus par Kung *et al.* (2004) dans le maïs grain humide mais différents de ceux obtenus par Phillip et Fellner (1992) de même que Fellner *et al.* (2001) dans le maïs épi humide. En fait, en silos étanches, ce traitement a donné un ensilage avec une population de levures plus élevée à l'ouverture des silos et un indice de stabilité aérobie plus faible que ceux de AM et IBHÉ mais non significativement différent de celui du témoin. Ainsi, en ce qui concerne

l'indice de stabilité aérobie, l'inoculant homolactique a présenté une performance moins bonne que dans l'expérience de Ranjit et Kung (2000), mais égale ou meilleure que dans celles de Kleinschmit *et al.* (2005) et de Muck (2004), toutes réalisées dans l'ensilage de maïs.

Les résultats indiquent que même si les inoculants bactériens homolactiques peuvent avoir des effets bénéfiques sur la fermentation du MÉH lorsque les silos sont maintenus étanches, ces effets sont mineurs et ils s'effacent à la suite d'une perte d'étanchéité des silos, de sorte qu'il est peu probable que ce traitement donne lieu à une amélioration marquée de la fermentation et à une meilleure récupération de la MS dans le MÉH entreposé en silos commerciaux. Quant à la stabilité aérobie du MÉH, leurs effets semblent faibles sinon nuls. L'agriculteur qui veut solutionner des problèmes de stabilité aérobie devrait envisager d'autres traitements.

Coût des traitements

Le coût des traitements par tonne de MÉH (matière fraîche) est de 1,30 \$ pour l'inoculant bactérien homolactique, 2,38 \$ pour l'inoculant bactérien hétérolactique et s'étale entre 7,20 et 9,60 \$ (8,40 \$ en moyenne) pour la solution ammoniacale appliquée à la dose de 16 kg/t de MÉH (matière fraîche), selon que celle-ci est achetée en vrac ou en barils. Par le seul coût d'achat des produits, les inoculants bactériens sont beaucoup moins chers que l'ammoniaque. Cependant, puisque l'ammoniaque constitue aussi une source d'azote alimentaire,

Tableau 5. Coût du traitement du MÉH avec les inoculants bactériens et l'ammoniaque.

	Prix	Dose par t de MÉH (matière fraîche)	Coût par t de MÉH (matière fraîche)	Valeur de l'N récupéré par t de MÉH (matière fraîche)	Coût de revient par t de MÉH (matière fraîche)
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} 7,25 \$ ^{3,5}	2,35 \$ 0,00 \$
Ammoniaque en barils	600 \$/t	16 kg	9,60 \$	4,85 \$ ^{3,4} 7,25 \$ ^{3,5}	4,75 \$ 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 \$/t.
5. Lorsque le prix du tourteau de canola est de 255 \$/t.

la comparaison doit être faite en prenant en compte l'enrichissement du maïs en azote ammoniacal suite au traitement. Dans cette expérience, le taux de récupération de l'azote ammoniacal a été 40 %, puisque le traitement a fait augmenter le contenu en PB du MÉH de 14,3 kg/t MS ou 9,6 kg/t MÉH (matière fraîche). Pour fournir la même quantité de protéine brute, il faudrait ajouter à la ration 28,4 kg de tourteau de canola (34 % PB)/t MÉH (matière fraîche), ce qui représente un coût de 4,85 \$/t MÉH, lorsque le tourteau de canola vaut 170 \$/t. Dans ces conditions, le coût de revient du traitement à l'ammoniaque est comparable au coût du traitement avec un inoculant bactérien hétérolactique pour des achats d'ammoniaque en vrac (2,35 \$/t MÉH) et le double pour des achats en barils (4,75 \$/t MÉH). Par contre, lorsque le tourteau de canola vaut 255 \$/t, le coût de remplacement de l'azote ammoniacal récupéré s'établit à 7,25 \$/t MÉH, de sorte que le coût de revient du traitement à l'ammoniaque est nul pour des achats en vrac (0,00 \$/t MÉH) et comparable au coût du traitement avec un inoculant bactérien hétérolactique pour des achats d'ammoniaque en barils (2,35 \$/t MÉH) (tableau 5).

Conclusion

Les *Fusarium* ne survivent pas en silos étanches et le niveau d'infestation par le *F. graminearum* n'influence pas la fermentation, ni la stabilité aérobie du maïs épi humide, même lorsque l'air s'infiltré plus tard durant la période de conservation. Quant à la teneur en DON, elle semble augmenter pendant la période de conservation en silos, même si les *Fusarium* ne survivent pas longtemps en ensilage, mais n'est pas influencée par une perte d'étanchéité des silos en cours de conservation, et est plus faible dans le maïs traité à l'ammoniaque que dans celui traité avec l'inoculant bactérien hétérolactique. Ce résultat semble indiquer que le traitement à l'ammoniaque permet d'empêcher toute augmentation subséquente de la teneur en DON du maïs épi humide.

L'inoculant bactérien homolactique améliore la fermentation du maïs épi humide conservé en silos étanches, mais pas sa stabilité

aérobie. Par contre, l'inoculant bactérien hétérolactique semble le traitement qui a le plus de potentiel pour prévenir le chauffage du maïs après l'ouverture du silo et la perte de MS 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'ammoniaque s'est révélée un traitement efficace pour réduire la perte de MS en silos non étanches. Cet effet rapide vient principalement du fait qu'il diminue de façon marquée les populations de levures et de moisissures dès la mise en silos. Cependant, cette dose semble insuffisante pour améliorer la stabilité aérobie du maïs épi humide, lorsqu'il devient 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 celui 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. L'ammoniaque peut être un bon choix si l'objectif est d'empêcher toute augmentation subséquente de la teneur en DON du maïs épi humide ou de réduire la perte de MS liée à une conservation en silos plus ou moins étanches. Lorsque l'objectif est de réduire le chauffage du maïs épi humide après l'ouverture du silo et la perte de MS qui en résulte, l'inoculant bactérien hétérolactique semble un meilleur choix.

Remerciements

Les auteurs remercient la Fédération des producteurs de bovins du Québec, la Coopérative fédérée de Québec et Pioneer Hi-Bred Limited qui ont fourni le financement

nécessaire à la réalisation de cette recherche, de même que le 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 assistés à une étape ou l'autre de la réalisation de ce projet de recherche.

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'ammoniaque 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.
- 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'ammoniaque sur la stabilité aérobie du maïs épi humide et les performances des bouillons 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.
- 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.).
- 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.
- 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.
- 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., C.L. Myers, J.M. Neylon, C.C. Taylor, J. Lazartie, 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.
- 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.
- Moran, J.P., Z.G. Weinberg, G. Ashbell, Y. Hen et T.R. Owen. 1996. A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. Page 162 in Proc. XI Int. Silage Conf. Aberystwyth, UK. University of Newcastle upon Tyne, Tyne et Wear, UK.
- 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.
- Niderkorn, V., H. Boudra et D.P. Morgavi. 2007. Les fusariotoxines : comment limiter leur présence dans les ensilages et leur impact chez les ruminants? *Fourrages* 189: 111-123.

- 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.
- 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.