

ESTABILIDAD AERÓBICA Y CALIDAD FERMENTATIVA E HIGIÉNICA DE ENSILADOS DE MAÍZ. EFECTO DE LA FECHA DE APROVECHAMIENTO Y DEL USO DE INOCULANTES

B. FERNÁNDEZ-LORENZO¹, M. L. BARREAL², G. FLORES¹, A. GONZÁLEZ-ARRÁEZ¹, J. VALLADARES¹, S. PEREIRA¹ Y M. CARDELLE³

1 Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM). Apartado 10. 15080 A Coruña (España). 2 Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite (LIGAL). Carretera N-VI, km 581. 15640 Guísamo. A Coruña (España). 3 Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia. Carretera de Betanzos a Mesón do Vento, km 7. 15318 Abegondo. A Coruña (España). bruno.fernandez.lorenzo@xunta.es

RESUMEN

Los años 2004 y 2005, se realizaron dos ensayos, para estudiar el efecto de la fecha de corte (semanas 9, 11 y 13 tras la floración femenina) y el uso de inoculantes comerciales (L Fresh y P11A44, a base de *Lactobacillus buchneri*, y LMS01 y P1188, a base de bacterias lácticas homofermentativas) sobre la calidad de los ensilados de maíz en silos de laboratorio. Se detectó la presencia de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* en 30 y 29 muestras de maíz fresco, respectivamente, de un total de 30, y en cero y dos de maíz ensilado, respectivamente, de un total de 120. Los ensilados de maíz cosechado en la semana nueve tuvieron un porcentaje menor de N-NH₃ sobre N total. Se concluyó que el uso de inoculantes a base de *Lactobacillus buchneri* puede reducir los recuentos de mohos y levaduras, y la inestabilidad aeróbica de los ensilados de planta entera de maíz.

Palabras clave: *Lactobacillus buchneri*, mohos, levaduras, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal más usado como forraje ensilado en las explotaciones de vacuno de leche de Galicia debido a su alta producción, elevado contenido en energía y facilidad para ensilar. El principal objetivo en la elaboración del ensilado debe ser maximizar la conservación del valor nutritivo del forraje original y garantizar su calidad higiénica. La flora microbiana presente en el ensilado juega un papel central en el éxito del proceso. Ésta se puede dividir en beneficiosa e indeseable. En el primer grupo, se encuentran las bacterias productoras de ácido láctico y, en el segundo, los

microorganismos implicados en los procesos de deterioro anaeróbico, como clostridios y enterobacterias, y en el deterioro aeróbico, como levaduras, mohos y listeria. Muchos de estos microorganismos no sólo disminuyen el valor nutricional del ensilado sino que, además, pueden tener un efecto negativo en la calidad de la leche y en la salud animal y humana (Driehuis y Oude Elferink, 2000).

El deterioro aeróbico es uno de los principales problemas que afectan a la conservación y la calidad higiénica de los ensilados de maíz. Se manifiesta por el incremento de la temperatura del forraje y de su pH que acompaña a la multiplicación de levaduras, primero, y de mohos, después, una vez que se reestablecen las condiciones de aerobiosis en la masa forrajera ensilada, bien por rotura del plástico o por la apertura del silo (McDonald *et al.*, 1991). El uso de bacterias lácticas heterofermentativas, como *Lactobacillus buchneri*, puede mejorar la estabilidad aeróbica en ensilados de maíz (Oude Elferink *et al.*, 1999 y Driehuis *et al.*, 1999). Sin embargo, otros autores critican su uso porque puede llevar a una pérdida excesiva de materia seca en el proceso de ensilado.

El riesgo de producir ensilados inseguros desde el punto de vista higiénico es mayor cuanto más se retrasa el aprovechamiento de la planta a partir del momento óptimo de cosecha, que, en las condiciones de Galicia, tiene lugar entre las semanas ocho y nueve tras la floración femenina (Flores *et al.*, 2004).

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la fecha de cosecha y el uso de inoculantes sobre la calidad fermentativa, la estabilidad aeróbica y la calidad higiénica del ensilado de maíz.

MATERIAL Y MÉTODOS

El cultivo del maíz utilizado en los dos ensayos se realizó en la Finca que el CIAM tiene en Abegondo (A Coruña, España, a 43° 24' de latitud norte, 8° 26' de longitud oeste y 94 m de altitud), de clima tipo B2rB'2a' (Thornawaite), sobre un suelo de esquistos de Ordes, con textura franco-limosa (USDA) y que previamente había ocupado una pradera.

Variedades y fechas de corte

El año 2004, se cultivaron tres variedades de maíz, cv. Magellán, cv. Benicia y cv. Ovni. La siembra de las dos primeras se realizó el 14 de mayo y la de la tercera el 31 de mayo; en todos los casos a una distancia entre líneas de 80 cm y una densidad de 75.000 plantas/ha. La cosecha se realizó en tres fechas distintas, correspondiendo con las semanas nueve, once y trece después del inicio de la floración femenina de cada variedad. La variedad Maguellán se cosecho el 28 de septiembre, 13 y 26 de octubre; Benicia el 5

de octubre, 20 de octubre y 3 de noviembre; y Ovni el 13 de octubre, 27 de octubre y 9 de noviembre.

El año 2005, se sembraron dos variedades, cv. Buxi el 19 de mayo y Anjou 304 el 9 de junio. Siguiendo el mismo criterio que el año anterior, la variedad Buxi se cosechó los días 3, 17 y 31 de octubre, y la variedad Anjou 304 los días 10 de octubre, 25 de octubre y 7 de noviembre.

Elaboración de los silos

En cada fecha y para cada variedad, se cortaron, a 20 cm del suelo, 30 plantas de maíz escogidas al azar, se picaron con una picadora de forrajes marca Viking y se tomaron cuatro alcuotas de seis kg cada una. Cada fracción, se extendió sobre un plástico y se pulverizó, con pulverizador manual, con uno de los cuatro aditivos ensayados, un control y tres inoculantes. De la fracción de control, se tomaron dos muestras de 500 g cada una, para análisis microbiológico, y otras dos para la determinación del contenido en materia seca. De cada combinación de factores (variedad, fecha y aditivo), se elaboraron dos silos de laboratorio (repeticiones) en bolsas de polietileno, dentro de un tubo de PVC de 2,2 L de capacidad, según el sistema descrito por Flores *et al.* (1997). Se hicieron, en total, 72 silos el año 2004 y 48 el 2005.

Aditivos

Cada año se utilizaron tres inoculantes comerciales, resuspendidos en 100 ml de agua a la dosis recomendada por el fabricante y un control, consistente en agua en igual cantidad. Los inoculantes fueron Lalsil MS01 (compuesto por *Lactobacillus plantarum*, a una concentración de $>3 \times 10^{10}$ ufc/g, y *Propionibacterium acidipropionici*, a igual concentración, y dosis de aplicación recomendada: 5 g/1000kg de forraje fresco), Lalsil Fresh LB (a base de *Lactobacillus buchneri*, a una concentración de $>6 \times 10^{10}$ ufc/g e igual dosis de aplicación), ambos de la casa Lallemand, y P-11A44 (a base de *Lactobacillus buchneri*, a una concentración de $>10^{11}$ ufc/g y dosis de aplicación recomendada 1g/1000kg de forraje fresco), de la casa Pioneer. El segundo año, este último se substituyó por el inoculante P-1188 (a base de *Lactobacillus plantarum* y *Enterococcus faecium*, a una concentración total de $>10^{11}$ ufc/g y dosis de aplicación recomendada 1g/1000kg de forraje fresco), también de Pioneer. Antes de cada ensayo, se comprobó que la riqueza de los inoculantes en bacterias lácticas correspondía con la indicada por el fabricante, mediante recuento en medio MRS agar a pH 5,4, incubando a 30 °C, en jarras de anaerobiosis, durante 72 horas.

Determinaciones

Se registró el peso neto de cada silo a los cero días y en el momento de la apertura, a los 120 días, con lo que se calculó la pérdida de materia fresca en porcentaje sobre el peso inicial. Una vez abiertos, se tomaron cuatro muestras de cada silo, sobre las que se realizaron las determinaciones de materia seca, calidad fermentativa, estabilidad aeróbica y calidad higiénica, respectivamente. El contenido en materia seca se determinó por secado en estufa de aire forzado a 80 °C durante 16 horas y se corrigió por pérdida de volátiles, aplicando los coeficientes de volatilidad propuestos por Dulphy y Demarquilly (1981). Sobre el extracto de 50 g de muestra fresca de ensilado, macerada a temperatura ambiente durante 2 horas en 150 ml de agua destilada, se determinó el pH, N amoniacal (N-NH₃) con un electrodo selectivo (Orion) y ácidos de fermentación (láctico, acético, butírico y propiónico) por cromatografía de gases.

Las determinaciones de calidad higiénica, realizadas por el Laboratorio Interprofesional Gallego de Análisis de la Leche (LIGAL), incluyeron recuentos en placa de microorganismos aerobios totales, por el método ISO 1833:2003, *Staphylococcus* coagulasa positivos, por el método UNE-EN ISO 6888-2:2000, enterobacterias, por el método ISO 21528-2:2004, mohos y levaduras, por el método ISO 7954:1987 y clostridios sulfitorreductores, por el método ISO 15213:2003. También se determinó la presencia o ausencia de *Escherichia coli*, por el método ISO 7251. Apdo.9.1:2005., *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.*, por inmunofluorescencia (VIDAS).

Las determinaciones de estabilidad aeróbica se realizaron en cámara isoterma a 25 °C, según O'Kiely (1993). Cada media hora durante siete días, se registró la diferencia de temperaturas (Tdif) entre el ambiente y la temperatura de 500 g de muestra de ensilado depositados dentro de una caja de poliestireno de 35 x 23 x 8 cm, con dos orificios para la entrada de aire. Se utilizaron cuatro índices de estabilidad aeróbica (los tres primeros propuestos por O'Kiely (1993) y el cuarto por los autores de este trabajo) que fueron los siguientes: la diferencia de temperaturas máxima (Tdif máx), el tiempo en horas hasta que la diferencia de temperaturas, Tdif, superó 2 °C (HORAS Tdif > 2), el tiempo en horas hasta que se alcanzó Tdif máx (HORAS Tdif máx) y la suma de las diferencias de temperatura positivas registradas durante 144 horas (INTEGRAL).

El efecto del proceso de ensilado sobre la calidad higiénica del forraje se analizó mediante análisis de tablas de contingencia, para las variables presencia-ausencia de microorganismos, y comparación de medias mediante t de *Student*, para las variables de recuentos microbianos. Para ello, se utilizaron los procedimientos FREQ y TTEST del paquete estadístico SAS. Los efectos de los distintos tratamientos sobre el ensilado se analizaron mediante análisis de varianza, siguiendo un diseño factorial con dos repeticiones, considerando fijos los factores semana de corte y aditivo, y aleatorio el factor variedad,

para lo que se utilizó el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS. Para los contrastes entre medias se empleó la mínima diferencia significativa protegida de Fisher.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de ensilado puede tener un efecto higienizante sobre el maíz forrajero. En la Tabla 1, se muestran los valores medios de calidad higiénica de las muestras de maíz tomadas en fresco y ensilado a los 120 días, así como el nivel de significación.

TABLA 1
Valores medios de calidad higiénica del maíz antes y después de ensilar.
Mean values for hygienic quality of maize before and after ensiling.

| | 2004/05 | | | 2005/06 | | |
|--|---------|----------|-----|---------|----------|-----|
| | fresco | ensilado | p | fresco | ensilado | p |
| n° de muestras | 18 | 72 | | 12 | 48 | |
| Presencia de microorganismos | | | | | | |
| <i>Salmonella spp.</i> | 0 | 0 | - | 0 | 0 | - |
| <i>Escherichia coli</i> | 18 | 0 | *** | 12 | 0 | *** |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 17 | 0 | *** | 12 | 2 | *** |
| Recuentos microbianos en log ₁₀ ufc/g | | | | | | |
| Microorg. aerobios totales | . | 8,00 | - | 8,22 | 7,60 | *** |
| <i>Staphylococos spp.</i> | < 1 | < 1 | - | < 1 | < 1 | - |
| Enterobacterias | > 5,18 | < 1 | *** | > 5,18 | < 1 | *** |
| Mohos y levaduras | 6,06 | 5,31 | ** | 6,18 | 5,37 | *** |
| Clostridios sulfitorreductores | 2,76 | 2,13 | * | 2,64 | 1,87 | ** |

> y <: valores por encima y por debajo de los límites de recuento, respectivamente.

Significación del test χ^2 (en las variables presencia-ausencia) y *t*-student (en las variables de recuentos). *, ** y ***: diferencias significativas ($p < 0.05$, $p < 0.01$ y $p < 0.001$, respectivamente)

No se detectó presencia de *Salmonella spp.* en ninguna muestra. *Escherichia coli* fue aislada en todas las muestras de forraje fresco, pero no sobrevivió al proceso de ensilado; estos datos se acompañan con la disminución en los recuentos de enterobacterias. En un trabajo similar, con silos de hierba, Byrne *et al.* (2002) también observó una reducción de los recuentos de enterobacterias, de 7-8 log₁₀ ufc/g en fresco a valores indetectables

en ensilado. *Listeria monocytogenes* se aisló en 29 de las 30 muestras de forraje fresco, y sólo en dos de 120 de ensilado, las dos con los mayores recuentos de microorganismos aerobios totales ($> 8,48 \log_{10}$ ufc g^{-1}) y clostridios sulfitorreductores ($3,76$ y $2,85 \log_{10}$ esporas g^{-1}), una con valor de pH elevado (pH 4,46) y otra con pH 3,8. Estos resultados confirman que el maíz fresco es un vector de transmisión de *Listeria monocytogenes* y de *Escherichia coli*, que un correcto ensilado reduce el riesgo de contaminación y que *Listeria monocytogenes* puede llegar a sobrevivir en un ensilado con pH 3,8. Los recuentos de microorganismos aerobios totales, mohos y levaduras, y clostridios sulfitorreductores también se redujeron durante el proceso de ensilado, pero en menor medida que las enterobacterias. Los recuentos de *Staphylococcus* fueron, en todas las muestras, inferiores al límite de detección ($< 1 \log_{10}$ ufc g^{-1}).

En la Tabla 2, se muestran los valores medios de los efectos de la semana de corte y el tipo de inoculante, y el nivel de significación del ANOVA en el primer año.

El retraso de la cosecha no aumentó significativamente los recuentos de microorganismos ni la inestabilidad aeróbica. Sólo se detectaron diferencias significativas entre semanas para las variables MS y N-NH₃, siendo ésta última menor en la semana nueve, lo que indica un incremento de la proteólisis durante el ensilado en los cortes más tardíos. Esta puede ser otra razón por la que recomendar la cosecha del maíz para ensilar en dicha semana, además de por maximizar la producción de materia orgánica digestible por ha (Flores *et al.*, 2004). Los ensilados tratados con *L. buchneri* (P11A44 y Lfresh), no mostraron mayores pérdidas de materia fresca que el resto, pero sí mostraron mayor contenido en ácido acético y propiónico, inhibidores del crecimiento de los hongos, y mayor pH. Lfresh, proporcionó menor contenido en ácido láctico que el resto. El contenido en N-NH₃ fue inferior en los tratados con LMS01. En los tratados con *L. buchneri*, los recuentos de microorganismos aerobios totales fueron superiores, sin embargo los de mohos y levaduras fueron inferiores, predisponiéndolos para una mayor estabilidad aeróbica, indicada por valores mayores de HORA Tdif máx y menores de la INTEGRAL de Tdif. Cuando las interacciones variedad x aditivo y semana x aditivo fueron significativas, se analizaron los efectos del aditivo para cada variedad y cada semana por separado. En todos los casos las diferencias entre aditivos fueron de grado, pero no de orden, confirmando el efecto positivo de los inoculantes a base de *L. buchneri*.

En la Tabla 3, se muestran los valores medios y el nivel de significación del ensayo en el segundo año. Ese año el número de silos se redujo a 48, lo que puede explicar, en parte, que no se detectasen diferencias significativas entre aditivos, salvo para el recuento de microorganismos aerobios totales.

TABLA 2

Valores medios de pérdidas de materia fresca, calidad fermentativa e higiénica, y estabilidad aeróbica de los ensilados de maíz, año 2004-2005.

Mean values for fresh matter losses, fermentative and hygienic quality, and aerobic stability of maize silages, year 2004-05.

| | Semana | | | Aditivo | | | | Significación del ANOVA | | | | | | |
|---------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------------|-----|-----|-------|-------|-------|----------|
| | 9 | 11 | 13 | Control | LMS1 | PIIA44 | LFresh | se | ad | va | se*ad | va*se | va*ad | se*va*ad |
| MSc | 38,5 ^b | 40,5 ^{ab} | 43,3 ^a | 41,0 ^a | 40,4 ^a | 40,8 ^a | 40,8 ^a | * | ns | *** | ns | *** | ns | ns |
| Pérdida MF (%) | 1,0 | 1,3 | 1,1 | 1,0 | 1,0 | 1,1 | 1,2 | ns | ns | ** | ns | ** | ** | ** |
| pH | 3,8 ^a | 3,9 ^a | 3,8 ^a | 3,8 ^c | 3,8 ^c | 3,9 ^b | 3,9 ^a | ns | ** | *** | ns | *** | ** | *** |
| N total | 1,1 ^a | 1,1 ^a | 1,2 ^a | 1,1 ^a | 1,1 ^a | 1,1 ^a | 1,2 ^a | ns | ns | *** | ns | ns | ns | ns |
| NH ₃ | 4,7 ^b | 5,7 ^{ab} | 6,2 ^a | 5,7 ^a | 4,8 ^b | 5,8 ^a | 5,8 ^a | * | ** | *** | ns | *** | ns | * |
| N soluble | 45,7 ^a | 48,9 ^a | 46,2 ^a | 47,7 ^a | 46,7 ^a | 47,0 ^a | 46,6 ^a | ns | ns | *** | ns | * | ns | ns |
| Ac. Acético | 1,0 ^a | 0,8 ^a | 0,7 ^a | 0,6 ^c | 0,5 ^d | 0,9 ^b | 1,2 ^a | ns | *** | *** | ns | *** | *** | *** |
| Ac. Propiónico | 0,3 ^a | 0,4 ^a | 0,2 ^a | 0,0 ^c | 0,0 ^c | 0,4 ^b | 0,8 ^a | ns | ** | *** | ns | *** | *** | *** |
| Ac. Butírico | 0,0 ^a | 0,1 ^a | 0,1 ^a | 0,1 ^a | 0,1 ^a | 0,1 ^a | 0,0 ^a | ns | ns | *** | ns | *** | *** | *** |
| Ac. Láctico | 3,4 ^a | 3,7 ^a | 3,6 ^a | 3,8 ^a | 3,9 ^a | 3,6 ^a | 2,8 ^b | ns | *** | *** | ns | *** | * | *** |
| Etanol | 1,3 ^a | 1,9 ^a | 1,7 ^a | 1,6 ^a | 1,8 ^a | 1,7 ^a | 1,6 ^a | ns | ns | *** | ns | *** | *** | *** |
| Mic. Aer. Totales | 7,9 ^a | 8,0 ^a | 8,1 ^a | 7,8 ^b | 7,2 ^c | 8,5 ^a | 8,5 ^a | ns | ** | *** | ns | *** | *** | *** |
| Staphylococos | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | ns | ns | . | ns | . | . | . |
| Enterobacterias | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a | ns | ns | . | ns | . | . | . |
| Mohos y levaduras | 5,2 ^a | 5,3 ^a | 5,4 ^a | 5,9 ^a | 6,1 ^a | 4,8 ^b | 4,4 ^b | ns | ** | *** | ns | *** | *** | *** |
| Clostridios sulf. | 2,1 ^a | 2,1 ^a | 2,1 ^a | 2,0 ^b | 2,1 ^{ab} | 2,2 ^a | 2,2 ^a | ns | ns | *** | ns | *** | *** | ns |
| T ^o dif. máxima (°C) | 11,5 ^a | 11,1 ^a | 10,5 ^a | 13,3 ^a | 11,7 ^{ab} | 9,2 ^b | 10,0 ^{ab} | ns | ns | *** | ns | *** | * | ** |
| Hora Tdif > 2 | 48,0 ^a | 29,1 ^a | 40,0 ^a | 20,6 ^b | 18,4 ^b | 64,4 ^a | 49,4 ^{ab} | ns | ns | *** | ns | *** | *** | *** |
| Hora Tdif = máx | 45,5 ^a | 47,8 ^a | 56,8 ^a | 37,6 ^b | 32,5 ^b | 61,4 ^a | 67,8 ^a | ns | * | ** | ns | ** | ns | ** |
| INTEGRAL | 880 ^a | 805 ^a | 1083 ^a | 1292 ^a | 1032 ^a | 530 ^b | 807 ^{ab} | ns | * | *** | ns | *** | ** | ** |

MSc: materia seca corregida por pérdida de volátiles; MF: materia fresca; N total, ácidos y etanol en % sobre MSc; NH₃ y N soluble en % s/N total; se: semana; ad: aditivo; va: variedad; ns: diferencias no significativas al 5%. *, ** y ***: diferencias significativas ($p < 0.05$, $p < 0.01$ y $p < 0.001$, respectivamente). Para cada tratamiento, medias con letras distintas se consideran significativamente diferentes, siempre que el ANOVA haya sido significativo. Los recuentos microbianos se expresan en log₁₀ ufc/g, salvo los clostridios que se expresan en log₁₀ esporas/g.

TABLA 3

Valores medios de pérdidas de materia fresca, calidad fermentativa e higiénica, y estabilidad aeróbica de los ensilados de maíz, año 2005-2006.

Mean values for fresh matter losses, fermentative and hygienic quality, and aerobic stability of maize silages, year 2005-06.

| | Semana | | | Aditivos | | | | Significación del ANOVA | | | | | | |
|----------------------|--------|--------|--------|----------|--------|--------|--------|-------------------------|----|-----|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 9 | 11 | 13 | Control | LMS01 | P1188 | Lfresh | se | ad | va | se ^{ad} | va ^{se} | va ^{ad} | se ^{va} |
| MSc | 39,9 a | 41,8 a | 44,1 a | 41,8 a | 42,2 a | 41,9 a | 42,0 a | ns | ns | *** | ns | *** | ns | ns |
| Pérdida MF (%)1,6 a | 1,6 a | 1,2 a | 1,0 a | 1,4 a | 1,2 a | 1,1 a | 1,3 a | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| pH | 3,8 a | 3,8 a | 3,8 a | 3,8 a | 3,7 a | 3,7 a | 3,8 a | ns | ns | ** | ns | * | ns | ns |
| N total | 1,1 c | 1,3 a | 1,2 b | 1,2 a | 1,2 a | 1,2 a | 1,2 a | ** | ns | *** | ns | ns | ns | ns |
| NH ₃ | 4,8 b | 5,9 a | 6,4 a | 5,9 a | 5,4 a | 5,6 a | 5,8 a | * | ns | *** | ns | ns | *** | ns |
| N soluble | 43,9 a | 39,2 a | 43,8 a | 41,9 a | 42,1 a | 41,9 a | 43,3 a | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Ac. Acético | 0,9 a | 0,7 a | 0,7 a | 0,7 b | 0,7 ab | 0,8 ab | 0,9 a | ns | ns | *** | ns | *** | * | *** |
| Ac. propiónico | 0,3 a | 0,0 b | 0,0 b | 0,1 a | 0,1 a | 0,1 a | 0,2 a | ** | ns | ns | ns | ns | *** | *** |
| Ac. Butírico | 0,0 a | 0,0 a | 0,0 a | 0,0 a | 0,0 a | 0,0 a | 0,0 a | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Ac.láctico | 3,6 a | 4,4 a | 3,1 a | 3,5 a | 3,9 a | 3,8 a | 3,5 a | ns | ns | * | ns | *** | ns | ns |
| Etanol | 2,4 a | 2,4 a | 1,5 a | 1,9 a | 2,3 a | 2,0 a | 2,3 a | ns | ns | ns | ns | *** | ns | ns |
| Mic. Aer. Totales | 7,6 a | 7,4 a | 7,8 a | 7,5 b | 7,4 b | 7,3 b | 8,2 a | ns | * | *** | ns | *** | ** | ns |
| <i>Staphylococos</i> | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Enterobacterias | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | 1,0 a | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Mohos y levaduras | 5,1 b | 5,6 a | 5,4 ab | 5,5 ab | 5,6 a | 5,5 ab | 5,0 b | ns | ns | *** | ns | ns | *** | *** |
| Clostridios sulf. | 1,7 a | 1,9 a | 2,0 a | 1,9 a | 1,9 ab | 1,8 b | 1,9 ab | ns | ns | *** | ns | *** | ns | *** |
| Tª dif. máxima (°C) | 10,6 a | 8,9 a | 10,4 a | 10,7 a | 10,7 a | 10,9 a | 7,5 b | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ** |
| Hora Tdif > 2 | 34,9 a | 37,8 a | 43,3 a | 30,1 a | 33,5 a | 32,5 a | 58,5 a | ns | ns | *** | ns | *** | *** | *** |
| Hora Tdif = máx | 36,3 a | 76,8 a | 71,2 a | 62,8 a | 50,3 a | 64,8 a | 67,8 a | ns | ns | ns | ns | *** | ns | ns |
| INTEGRAL | 799 a | 598 a | 602 a | 652 a | 710 a | 762 a | 489 a | ns | ns | ** | ns | * | ns | ns |

Significado de las abreviaturas igual que en la tabla 2

Las diferencias entre semanas fueron significativas con las variables N total, N-NH₃ y PROP. N total fue superior en la semana 11 e inferior en la 9. Al igual que el año anterior, el contenido en N-NH₃ fue inferior en la semana 9 y los recuentos de microorganismos aerobios totales fueron superiores con el inoculante a base de *L. buchneri*, este año Lfresh.

CONCLUSIONES

Un correcto ensilado mejora la calidad higiénica del maíz, disminuyendo la contaminación de este con *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*, dos de las bacterias potencialmente patógenas que aparecen en el maíz forrajero, de forma natural. El maíz cosechado la semana nueve tras la floración femenina proporciona una mejor calidad fermentativa que en las semanas 11 y 13, indicada por un menor porcentaje de N-NH₃. El uso de inoculantes a base de *Lactobacillus buchneri* puede reducir la presencia de mohos y levaduras, y como consecuencia, la inestabilidad aeróbica de los ensilados de planta entera de maíz. El uso de inoculantes a base de bacterias homofermentativas (*Lactobacillus plantarum*, *Propionibacterium acidipropionici* y *Enterococcus faecium*) no mejora los parámetros de estabilidad aeróbica, pero puede disminuir el porcentaje de N-NH₃ sobre N total.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a la colaboración de la Cooperativa Agraria Provincial de A Coruña y a la financiación de la Xunta de Galicia (Proyecto 04RAG011E).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BYRNE, C. M.; O'KIELY, P.; BOLTON, D. J.; SHERIDAN, J. J.; McDOWELL, D. A.; BLAIR, I.S., 2002. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 during silage fermentation. *Journal of food protection*, **65** (12), 1854-1860.
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S. J. W. H.; VAN WIKSELAAR, P. G., 1999. *Lactobacillus buchneri* improves aerobic stability of laboratory and farm scale whole crop maize silage but does not affect feed intake and milk production of dairy cows. *XII Int. Silage Conf.*, 264-265. Ed. T. PAULY. Uppsala (Sweden).
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S. J. W. H., 2000. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: A review. *The Veterinary Quarterly*, **22** (4), 212-216.
- DULPHY, J.P. y DEMARQUILLY, C., 1981. Problèmes particuliers aux ensilages. In: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 81-104. INRA Public. Francia.
- FLORES, G.; GONZALEZ-ARRAEZ, A.; CASTRO, J., 1997. Evaluación de la utilidad de los silos a pequeña escala para experimentación en calidad de ensilados. *Actas de la XXXVII Reunión Científica de la S.E.E.P.* 373-378. Sevilla-Huelva, (España).
- FLORES, G.; GONZALEZ-ARRAEZ, A.; CASTRO, P.; VALLADARES, J.; CARDELLE, M.; FERNANDEZ-LORENZO, B.; DIAZ-VILLAMIL, L., 2004. Efecto de la fecha de recolección sobre la calidad y el rendimiento de la planta de maíz forrajero en Galicia. *Actas de la XLIV Reunión Científica de la S.E.E.P.*, 297-302, Salamanca (España).
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E., 1991. *The Biochemistry of Silage*. Chalcombe publications, 340 pp. Bucks (Gran Bretaña).

- O'KIELY, P, 1993. Influence of partially neutralised blend of aliphatic organic acids on fermentation, effluent production and aerobic stability of autumn grass silage. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, **32**, 12-26.
- OUDE ELFERINK, S. J. W. H.; DRIEHIS, F.; KROONEMAN, J.; GOOSCHAL, J. C.; SPOELSTRA, S. F., 1999. *Lactobacillus buchneri* can improve the aerobic stability of silage via a novel fermentation pathway: the anaerobic degradation of lactic acid to acetic acid and 1, 2 –propanediol. *XII Int. Silage Conf.*, 266-267. Ed. T. PAULY. Uppsala (Sweden).

FERMENTATION QUALITY, AEROBIC STABILITY AND HYGIENIC QUALITY OF MAIZE SILAGE. EFFECT OF HARVEST TIME AND INOCULANTS

SUMMARY

Two experiments were carried out in two consecutive years (2005 and 2006) to compare the effect of harvest time (week 9, 11 and 13 after feminine flowering) and the use of commercial inoculants (L Fresh and P11A44, composed of on *Lactobacillus buchneri*, and LMS01 and P1188, composed of homofermentative lactic bacteria). The presence of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* was detected on 30 and 29 fresh maize samples, out of 30, and zero and two maize silage samples, out of 120, respectively. Silages made of maize harvested on week nine showed less percentage of N-NH₃ on total N. The first year, silages treated with *L. buchneri* showed higher pH, lower lactic acid content, higher acetic and propionic acid content, higher counts of total aerobic microorganisms but lower counts of yeasts and moulds, and higher aerobic stability than silages treated with homofermentative bacteria. In the second year, with lesser number of silages, significant differences between inoculants were detected just in total aerobic microorganisms counts.

Key words: *Lactobacillus buchneri*, moulds, yeasts, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*.