**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Qualidade de silagens de milho confeccionadas com diferentes
filmes de vedação e desempenho produtivo de
vacas em lactação**

Alvaro Wosniak Bispo

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Ciências. Área de
concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2013**

Alvaro Wosniak Bispo
Zootecnista

**Qualidade de silagens de milho confeccionadas com diferentes filmes de
vedação e desempenho produtivo de vacas em lactação**

Orientador:
Prof. Dr. **LUIZ GUSTAVO NUSSIO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

**Piracicaba
2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP

Bispo, Alvaro Wosniak

Qualidade de silagens de milho confeccionadas com diferentes filmes de vedação e desempenho produtivo de vacas em lactação / Alvaro Wosniak Bispo. - Piracicaba, 2013.

104 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Deterioração aeróbia 2. Controle de perdas 3. Temperatura Estratégia de vedação
4. Produção de leite I. Título

CDD 636.08552
B622q

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte -O autor"

À minha mãe Cleide Wosniak que nunca mediu esforços para que eu chegasse
onde estou hoje...

Dedico

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à minha família pela paciência e apoio, AMO TODOS VOCÊS.

Ao Prof. Antonio Fernando Bergamaschine, pelo grande incentivo, sem o qual não teria chegado onde cheguei...

Ao Prof. Luiz Gustavo Nussio, pelo exemplo de conduta profissional e pela oportunidade, à qual sou eternamente agradecido...

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de Bolsa de estudos e financiamento do projeto de pesquisa;

À todos os amigos do QCF – Rafael, João, Maity, (N)Adir, Biribol, Daniel (Forage), Cristiano (Juvenal), Juliana, Janaína, Greici, Paula, Max, Edward (El Magnífico Panochero)... ... e aos estagiários que por lá passaram – Igor Freitas (Mato Grosso/Caboclo), Bruna Queiroz (Kalha), Vitor Cecato (Senteça), Robson Mengati (Mincoxa), Eduardo (Toke Mágico), Eduardo (Sortudo), Tiago Amparo (Igual), Gustavo Morone (Poka Sombra) Ô Meu, é que lá em SP..., João Marcos (100-kina), Carol Picinini (Soldadinho) Oh, meu bem..., Amanda Gilabel (Báskara), Fusário, Menotti, Lucas e Alsiane.

Aos parceiros da República Central do Brasil – Tchê, Goiano, Marcão, Diegão, Renan & Renê, Paraíba, Ricardo, Pedrão e ao Patrão Rodrigo (Dig, dig, dig, hé).

Aos amigos da ESALQ – Carol Guerra, Cris Sitta, Steben (ou seria Steban?) Crestani, Acreano, Eliana Geremia, Laíz Pamplona.

Aos funcionários do departamento de Zootecnia – Seu Wagner, Seu Neco, Tim, Robson, Seu Laureano, Pomba, Danilo, Benedito, Denivaldo, Émerson e Juscelino, Primo, Joaquim, Pedro, Seu Natalino (é bacana, eu acho que vai chover...), pela ajuda.

Aos técnicos do laboratório de Bromatologia – Carlos Cézar & Alan, pela grande ajuda durante as análises laboratoriais.

À nossa querida Tânia Ferri, mais conhecida como vóia...pela amizade e conselhos...

À Karime Pissinato, que com sua alegria contagiante, tornou-se uma grande incentivadora, e me apoiou nos momentos em que mais precisei de ajuda. Nunca me esquecerei de você, onde quer que eu esteja, pois, “de tudo fica um pouco...”

MUITO OBRIGADO

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	15
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1 Perdas no processo de ensilagem	23
2.2 Fatores que interferem na deterioração aeróbia	23
2.3 Estratégias de vedação	24
2.3.1 Uso de filmes plásticos para a vedação	25
2.3.2 Efeito da espessura e coloração do filme plástico.....	25
2.3.3 Tipos de filmes plásticos	27
2.3.4 Materiais alternativos para vedação de silos.....	31
2.4 Abertura e desabastecimento do silo	32
2.4.1 Qualidade higiênica de silagens.....	33
2.4.2 Fungos e micotoxinas.....	34
2.5 Desempenho animal em função do método de vedação de silos	35
Referências	37
3 QUALIDADE DE SILAGENS DE MILHO SOB DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE VEDAÇÃO DE SILOS	43
Resumo.....	43
Abstract	44
3.1 Introdução	45
3.2 Material e métodos.....	47
3.2.1 Preparo e armazenamento das silagens.....	47
3.2.2 Amostras e variáveis analisadas na forragem fresca	48
3.2.3 Recuperação de matéria seca (RMS) no armazenamento.....	49
3.2.4 Tamanho médio de partículas	50
3.2.5 Avaliação nas silagens.....	50
3.2.6 Perdas de matéria seca e matéria orgânica	52

3.2.7 Temperatura dos painéis dos silos	52
3.2.8 Perfil microbiano das silagens	53
3.2.9 Carboidratos solúveis	55
3.2.10 Extrato aquoso das silagens	56
3.2.11 Análises estatísticas	56
3.3 Resultados e discussão	57
3.3.1 Características da forragem no momento da ensilagem	57
3.3.2 Composição química das silagens	59
3.3.3 Perdas de matéria seca, matéria orgânica e recuperação de ms	62
3.3.4 Temperatura dos painéis dos silos	64
3.3.5 Perfil microbiano e padrão fermentativo das silagens	67
3.3.6 Conclusões	73
Referências	74
4 DESEMPENHO DE VACAS EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO SILAGENS DE MILHO SOB DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE VEDAÇÃO	81
Resumo	81
Abstract	82
4.1 Introdução	83
4.2 Material e métodos	84
4.2.1 Ensilagem e tratamentos	84
4.2.2 Animais e instalações	85
4.2.3 Rações experimentais e manejo alimentar	86
4.2.4 Controle leiteiro e análises no leite	89
4.2.5 Coeficiente de digestibilidade aparente	90
4.2.6 Análises estatísticas	92
4.3 Resultados e discussão	93
4.4 Conclusões	102
Referências	103

RESUMO

Qualidade de silagens de milho confeccionadas com diferentes filmes de vedação e desempenho produtivo de vacas em lactação

Foram realizados dois experimentos visando avaliar diferentes estratégias de vedação para silos do tipo trincheira. No experimento I, objetivou-se avaliar as características fermentativas, composição química e perdas de matéria seca e de matéria orgânica em silagens de milho vedadas com diferentes tipos de filmes plásticos e com ou sem a adição de camada de bagaço de cana. Os tratamentos utilizados foram: ET_{NC}: filme dupla face de polietileno com 200 µm de espessura; ET_C: filme dupla face de polietileno com 200 µm de espessura recoberto com camada de 10 cm de bagaço de cana e ET+AD_{NC}: filme co-extrudado dupla face de poliamida e polietileno, com 120 µm de espessura. O delineamento experimental foi de blocos casualizados. Os dados foram submetidos à análise de variância e suas médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de significância. A quantidade de silagem deteriorada foi menor para o tratamento ET_C, enquanto que os demais tratamentos foram semelhantes entre si. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para a composição bromatológica, entretanto, observou-se diferença para entre os diferentes pontos amostrados (TL: topo lateral, TC: topo central e C: centro) para as variáveis MS, FDA, amido, hemicelulose e DVIVMO, sendo que os piores resultados foram encontrados nas regiões periféricas (TL e TC) dos silos. Os tratamentos não influenciaram na contagem de microrganismo (BAL: bactérias ácido lácticas, FF: fungos filamentosos e LEV: leveduras), porém, com relação ao local de coleta houve diferença para BAL e FF. Como esperado, a população de FF foi maior na periferia dos silos, enquanto que a de BAL foi maior no centro. A contagem de leveduras não sofreu influência do tratamento e local de amostragem. No experimento II, objetivou-se avaliar o desempenho animal em função da estratégia de vedação de silagens de milho. Foram utilizadas 15 vacas distribuídas aleatoriamente em cinco quadrados latinos 3x3, com períodos de 21 dias. Os animais foram mantidos em sistema de confinamento Tie-Stall com baias individuais e alimentadas duas vezes ao dia. Os tratamentos foram definidos de acordo com o método de vedação: ET_{NC}, ET_C e ET+AD_{NC}. As dietas foram formuladas para serem isoproteicas, com 53% de silagem de milho (% MS). As porções deterioradas das silagens foram descartadas diariamente, as rações foram preparadas utilizando apenas silagem não deteriorada. O consumo de matéria seca, a produção e composição do leite foram determinados entre os dias 15 e 21 de cada período experimental. Os dados foram analisados utilizando o Proc Mixed, do software estatístico SAS. Os tratamentos ET+AD_{NC} e ET_C apresentaram maior eficiência energética enquanto que os tratamentos ET+AD_{NC} e ET_{NC} tiveram tendência de maior produção de leite corrigido para 3,5% de gordura e excreção de energia no leite; da mesma forma, a excreção de proteína no leite também foi aumentada. O tratamento ET_C não promoveu melhoras no valor nutritivo das silagens, enquanto que os tratamentos ET+AD_{NC} e ET_{NC} apresentaram tendência em maximizar o desempenho das vacas.

Palavras-chave: Deterioração aeróbia; Controle de perdas; Temperatura; Estratégia de vedação; Produção de leite

ABSTRACT

Quality of corn silage made from different sealing films and performance of dairy cows

Two experiments were conducted to evaluate different strategies to cover silos. The experiment I evaluate the chemical fermentation profile, chemical composition and losses of dry matter and organic matter in corn silage covered with different types of plastic film and with or without the added layer of sugarcane bagasse. The treatments were: ET_{NC}: 200µm black-on-white polyethylene film; ET_C: black-on-white polyethylene film plus sugarcane bagasse over the film and ET+AD_{NC}: 125µm polyamide/polyethylene coextruded film. The experimental design was randomized blocks. The data were subjected to analysis of variance and their means were compared by Tukey test at 5% significance. The amount of spoiled silage was lower for treatment ET_C, while the other treatments were similar. There was no significant difference between treatments for the chemical composition, although differences were observed between different sampling sites (TL: side wall, TC: top center and C: bottom) for the variables DM, ADF, starch, hemicellulose and IVOMD, while the worst results were found in the peripheral regions (TL and TC) of the silo. Treatments did not affect the count of microorganisms (BAL: lactic acid bacteria, FF: filamentous fungi; LEV: yeasts), however the FF account was greater in the TL and TC, while BAL was higher in the C. The yeast count was not influenced by treatment or sampling site. In the experiment II was evaluated performance of dairy cows fed corn silage covered with different sealing strategies. Fifteen lactating cows were randomly assigned to 5 replicated 3x3 Latin square design with 21-d periods. Animals were housed in sand-bedded tie-stall barn and individually fed ad libitum to achieve approximately 10% refusals twice daily. Treatments were defined according to the method of sealing: ET_{NC}, ET_C and ET+AD_{NC}. Diets were formulated to be isonitrogenous with 53% corn silage (DM%) to meet the nutrient requirements of a dairy cow producing 35 kg×d⁻¹ of milk. The deteriorated inedible silage was discarded every day and only edible silage was used to prepare the total mixed rations. Dry matter intake (DMI) and milk yield were recorded from d-15 to d-21 in each period, as well milk composition. Data were analyzed using the Mixed procedure of SAS. Treatments ET+AD_{NC} and ET_C showed higher energy efficiency while treatments ET+AD_{NC} and ET_{NC} tended to higher milk yield and energy excretion in milk, as well the excretion of protein in the milk was also increased. Contrary to expected, the ET_C treatment did not improve the nutritive value of silages. In conclusion, treatments ET+AD_{NC} and ET_{NC} tended to maximize the performance of dairy cows.

Keywords: Aerobic deterioration; Losses control; Temperature; Sealing strategies; Milk yield

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Revestimento dos silos com filme plástico e fixação do filme de cobertura com sacos de seixo rolado	48
Figura 2 - Seções longitudinal e transversal dos silos indicando a localização dos sacos traçadores (destacados em vermelho)	50
Figura 3 - Representação esquemática das coordenadas de coleta de temperatura, unidade em centímetros.	53
Figura 4 - Representação dos pontos de coleta de amostras para a determinação da composição bromatológica e contagem de microrganismos.	54
Figura 5 - Placa Petrifilm® para a contagem de bactérias ácido lácticas.	55
Figura 6 - Temperatura das silagens de milho em função do método de vedação e da localidade da silagem no painel do silo.	66
Figura 7 - Temperatura média de silagens de milho vedada com (a) filme de polietileno dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 200 µm de espessura; (b) filme de polietileno dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 200 µm de espessura com adição de uma camada de 10 cm de espessura de bagaço de cana por toda a extensão do filme e (c) filme co-extrusado de polietileno e poliamida, dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 125 µm de espessura.....	65
Figura 8 - Tie Stall e área de descanso.....	85
Figura 9 - Ordenha mecânica e medidor automático de produção.....	90
Figura 10 - Índice de seleção de partículas por vacas leiteiras alimentadas com silagens sob diferentes estratégias de vedação.....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características da forragem no momento da ensilagem	57
Tabela 2 - Composição química de silagens de milho sob diferentes estratégias de vedação	60
Tabela 3 - Indicadores de perdas das silagens ao longo do armazenamento e do desabastecimento dos silos....	63
Tabela 4 - Recuperação de matéria seca de silagens de milho em função do método de vedação e local de amostragem	64
Tabela 5 - Características microbiológicas ($\log_{10}$ ufcxg ⁻¹) e fermentativas de silagens de milho sob estratégias de vedação....	68
Tabela 6 - Composição bromatológica das silagens em função do tratamento	87
Tabela 7 - Composição bromatológica das dietas ofertadas....	88
Tabela 8 - Consumo dos nutrientes das dietas oferecidas para vacas em lactação alimentadas com as diferentes silagens	93
Tabela 9 - Participação dos nutrientes (%) na dieta oferecida e consumida por vacas em lactação alimentadas com rações contendo diferentes silagens	95
Tabela 10 - Consumo de nutrientes durante o ensaio de digestibilidade das dietas experimentais	96
Tabela 11 - Coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes (%) em vacas holandesas em lactação alimentadas com rações contendo diferentes silagens.....	97
Tabela 12 - Produção leiteira de vacas holandesas alimentadas com silagens provenientes de silos vedados sob diferentes estratégias de vedação.....	98
Tabela 13 - Produção dos constituintes do leite (kgxdia ⁻¹) de vacas em lactação alimentadas com as diferentes silagens	99
Tabela 14 - Porcentagem dos constituintes do leite (%) de vacas em lactação alimentadas com as diferentes silagens	100
Tabela 15 - Contagem de células somáticas e teor de nitrogênio uréico no leite de vacas alimentadas com as diferentes silagens.	101

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAL	bactérias ácido lácticas
CEL	celulose
CHO _{sol}	carboidratos solúveis
CNF	carboidratos não fibrosos
DVIVMO	digestibilidade verdadeira in vitro da matéria orgânica
DVIVMS	digestibilidade verdadeira in vitro da matéria seca
EE	extrato etéreo
FDA	fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	fibra insolúvel em detergente neutro
HEMI	hemicelulose
LEV	leveduras
LIG	lignina
MM	matéria mineral
MS	matéria seca
N-NH ₃	nitrogênio amoniacal
PB	proteína bruta

1 INTRODUÇÃO

Silagem é o termo utilizado para definir o produto que sofreu fermentação no silo. Mais precisamente, silagem se refere ao produto da fermentação anaeróbia da forragem fresca, no qual os carboidratos solúveis (CHO_{sol}) foram convertidos em ácidos orgânicos, principalmente ácido láctico e ácido acético; este processo é realizado por bactérias presentes na cultura no momento anterior ao corte (microrganismos epifíticos), ou inoculadas (JASTER, 1995).

O primeiro objetivo do processo de ensilagem é a preservação da cultura. O segundo é inibir a atividade de microrganismos indesejáveis como os clostrídeos e as enterobactérias, em função da sua capacidade de deteriorar a matéria orgânica, originar perdas energéticas e produzir substâncias tóxicas (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Vários são os fatores que influenciam o processo de ensilagem, os principais são: pH, poder tampão, temperatura, microrganismos epifíticos, conteúdo de carboidratos solúveis, teor de matéria seca, conteúdo de nitrogênio total (MUCK, 1988; JASTER, 1995).

As características químicas e microbiológicas de silagens de alta qualidade incluem altas concentrações de ácido láctico em relação às concentrações de ácido acético e butírico, baixo pH e baixo teor de amônia (McDONALD, 1976).

De acordo com Rotz; Muck (1994), o processo de ensilagem pode ser dividido em quatro principais etapas: enchimento, fermentação, fase estável e abertura. O contato da massa com o oxigênio é inevitável durante as fases de enchimento e abertura, ocasionando um maior potencial de perdas nestas fases.

A fase de enchimento compreende o tempo entre o início da colheita até a vedação; o oxigênio estará em contato com a forragem durante toda esta fase. Nesta etapa a qualidade da silagem é influenciada principalmente pela respiração da planta (ROTZ; MUCK, 1994). A respiração causa elevação na temperatura da massa e além das perdas de matéria seca, o calor gerado pode induzir reações dependentes de temperatura, como as reações de Maillard, ocorrendo a complexação de carboidratos e aminoácidos, e tornando indisponível parte do nitrogênio (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Segundo Pahlow (2002), em um silo bem vedado o oxigênio presente na massa é consumido rapidamente, sendo que os responsáveis por essa redução são

a respiração celular da planta e os microrganismos aeróbios. Cerca de 15 minutos após a vedação aproximadamente 90% do oxigênio é removido e após 30 minutos resta por volta de 0,5% (JASTER, 1995; PAHLOW, 2002). As perdas de matéria seca durante este processo são da ordem de 1 a 2% (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Esta fase inicial é mais demorada em silos do tipo trincheira, principalmente quando a compactação é deficiente e mais oxigênio permanece no interior do silo, como resultado estas silagens apresentarão elevada temperatura. Tipicamente silagens de boa qualidade apresentam temperatura inferior a 32°C (SMITH; BULA; WALGENBACH, 1986). Segundo McDonald; Henderson; Heron (1991), a temperatura final dependerá da quantidade de ar presente, da temperatura inicial da forragem e do ar e calor específico da massa de silagem, sendo que, bactérias ácido lácticas apresentam melhor desenvolvimento em temperatura de 30°C, enquanto que para o gênero *Clostridium* a temperatura ideal é de aproximadamente 37°C.

Após a vedação e o consumo do oxigênio residual estabelece-se ambiente anaeróbio, sob estas condições de meio ocorre o rompimento das paredes celulares da forragem, permitindo o extravasamento do conteúdo celular, o qual apresenta alto teor de carboidratos solúveis, que por sua vez dão suporte ao crescimento microbiano. Neste ambiente há abundância de enterobactérias e bactérias ácido lácticas (BAL), com a redução do pH abaixo de 5,0 ocorre rápido declínio na população de enterobactérias, assim as BAL tornam-se predominantes nesta condição (MUCK, 1991).

Ambos os grupos apresentam como substrato principal de degradação açúcares solúveis, porém, o produto de fermentação das enterobactérias é composto predominantemente por ácido acético, enquanto que as BAL produzem principalmente ácido láctico (ROTZ; MUCK, 1994). Eventualmente, além dos produtos acima citados pode ocorrer produção de etanol, 2,3-butanodiol, ácido fórmico e manitol (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

O crescimento ativo das bactérias ácido lácticas (BAL) varia de 1 a 4 semanas, sua ação fermentativa e produção de ácidos faz com que o pH decresça à valores próximos a 4,0, este processo é dependente do teor de umidade, poder tampão e conteúdo de carboidratos solúveis. Quando o pH se torna baixo o suficiente para restringir o crescimento das BAL, ou os CHO_{sol} sejam totalmente fermentados, as BAL tornam-se inativas e começa ocorrer declínio de sua população (MUCK, 1991).

Caso não haja a penetração de oxigênio no interior do silo, o que pode ser ocasionado por rasgos no filme, por exemplo, ocorrerá a estabilização da fermentação e microrganismos antes ativos tem sua população drasticamente reduzida. Alguns microrganismos ácido-tolerantes sobrevivem a esta fase em estado de inatividade ou com a formação de esporos. Algumas proteases e carboidrases tolerantes a acidez, bem como microrganismos especializados (ex. *Lactobacillus buchneri*) podem apresentar atividade, embora bastante reduzida (OUDE ELFERINK et al., 1999).

Quando o silo é aberto o ambiente até então anaeróbio se torna aeróbio. Microrganismos que permaneciam inativos devido à ausência de oxigênio passam a se multiplicar resultando na deterioração da silagem, que é manifestada pela elevação de temperatura e aparecimento de fungos filamentosos (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). A deterioração aeróbia é indesejável em função das altas perdas de nutrientes. Silagens deterioradas normalmente são rejeitadas pelos animais, além disso caso sejam consumidas podem ocasionar sérios distúrbios e até mesmo a morte do animal (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Perdas no processo de ensilagem

A eficiência de qualquer método de conservação deve levar em consideração não apenas o valor nutritivo do produto, mas também as perdas que ocorrem desde a colheita até a ingestão pelo animal (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). A mensuração das perdas reais de matéria seca (MS) e de nutrientes durante o processo de ensilagem é extremamente dificultosa, pois para simular as condições de campo são necessários silos de larga escala.

Durante a ensilagem, as perdas de nutrientes podem ser evitáveis ou inevitáveis; as perdas consideradas inevitáveis variam de 7 a 10 % da MS e são as oriundas do processo de respiração do oxigênio residual, do processo fermentativo, da produção de efluente e do processo de colheita no campo. As perdas evitáveis podem chegar a 30 % da MS e são provenientes de fermentação por microrganismos indesejáveis, deterioração aeróbia durante o período de armazenamento ou deterioração aeróbia após a abertura do silo (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Dentre as causas de perdas consideradas evitáveis, a deterioração aeróbia pós abertura é a que apresenta maior potencial, nesse sentido a adoção de práticas que visem o aumento na estabilidade aeróbia tem grande efeito sobre a redução destas perdas (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

2.2 Fatores que interferem na deterioração aeróbia

Segundo Woolford (1990) o fator mais importante que exerce influência sobre a qualidade da forragem ensilada é o grau de anaerobiose alcançado. Grande parte das silagens armazenadas em silos horizontais está exposta ao oxigênio e, portanto, é passível de ser degradada, principalmente na camada superficial próxima das paredes, devido à dificuldade em vedar e compactar esta região de forma apropriada (ASHBELL; LISKER, 1988). Caso a vedação não seja suficientemente adequada para garantir a anaerobiose no interior do silo, ou durante o desabastecimento do mesmo, o oxigênio poderá penetrar na massa, permitindo a multiplicação de

microrganismos espoliadores, resultando em deterioração aeróbia (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2008). A susceptibilidade da forragem à deterioração aeróbia é determinada por fatores físicos, químicos e microbianos, como teor de matéria seca na ensilagem, tamanho de partícula, taxa de enchimento e compactação (JOHNSON et al., 2002).

Silagens que apresentam boa qualidade fermentativa, como prevenção da fermentação butírica e minimização na produção de ácido acético, podem apresentar elevada instabilidade aeróbia (BERGER; BOLSEN, 2006). Os efeitos do oxigênio sobre a qualidade da silagem se manifestam de duas formas. Primeiro através da deterioração da camada superficial durante o armazenamento, que pode ser notado pelo desenvolvimento de fungos. Segundo, através da deterioração aeróbia durante o desabastecimento do silo, que tem como característica a elevação da temperatura da silagem (PAHLOW et al., 2003).

Compactação e qualidade do filme plástico (espessura, composição do polímero e cor) são pontos fundamentais a serem considerados quando se visa a redução nas perdas durante o armazenamento da silagem.

2.3 Estratégias de vedação

As silagens podem ser armazenadas de diversas formas, como em silos do tipo torre, trincheira, superfície, bolsa, fardo, entre outros. Silos horizontais (trincheira, bunker e superfície) têm-se tornado atrativos em função da grande capacidade de armazenamento e pelos custos de manutenção, que são relativamente baixos. Por outro lado estes silos permitem que uma grande quantidade de material fique exposta aos efeitos do ambiente (BERGER, 2005; BOLSEN, 1993). Como mencionado anteriormente, um dos fatores chave para se obter sucesso na ensilagem é a manutenção de ambiente anaeróbio. Quando a vedação não é feita, ou feita de forma inadequada, oxigênio e umidade são carregados para o interior do silo, reduzindo a qualidade da silagem (BERNARDES et al., 2009); dessa forma, a vedação é feita por duas principais razões. Primeiro, a vedação minimiza a exposição ao oxigênio, que é necessário para o desenvolvimento de microrganismos espoliadores e segundo, a vedação protege contra chuvas, evitando que ácidos orgânicos e outros compostos solúveis da

silagem sejam lixiviados. Dessa forma, a escolha do método de vedação deve ser feita considerando-se estes dois fatores (HOLMES, 2006).

2.3.1 Uso de filmes plásticos para a vedação

Berger; Bolsen (2006) avaliaram perdas de matéria seca e nutrientes, em silos dos tipos trincheira e superfície, a partir de dados obtidos de 127 silos vedados e não vedados, no estado norte-americano do Kansas entre os anos de 1990 e 1993. Foram amostrados pontos em duas profundidades (0 a 45 cm e de 45 a 90 cm) a partir da superfície do silo, as quais foram confrontadas com amostras referência (150 cm de profundidade). Os valores médios de perdas são reduzidos à menos da metade na camada de 0 a 45 cm quando se utiliza filme plástico na vedação do silo; enquanto que na profundidade de 45 a 90 as perdas são cerca de 2/3 menores quando se veda o silo.

Quando não se utiliza filme para a vedação, a camada mais superficial que se torna bastante degradada atua como proteção para as camadas abaixo dela. É comum observar camadas de cerca de 30 cm de silagem deteriorada em silos horizontais não vedados. Estas silagens apresentam baixo valor nutritivo para o animal e devem ser descartadas (McDONELL; KUNG JR, 2006).

Os custos da silagem deteriorada foram avaliados em aproximadamente quatro vezes os custos com a aquisição de filmes plásticos e pneus para a vedação, somado com os gastos com a mão de obra para a remoção destes materiais por ocasião do desabastecimento do silo (BERGER, 2005; SAVOIE et al., 2003). Dessa forma fica evidente que em sistemas de produção que visem a redução nas perdas é fundamental se fazer a vedação dos silos de forma adequada.

2.3.2 Efeito da espessura e coloração do filme plástico

Filmes mais espessos normalmente são mais resistentes à danos físicos provocados por animais ou intempéries, além disso atuam como barreira, impedindo a penetração de oxigênio e água no interior do silo (HOLMES; MUCK, 2000). Segundo KUZIN; SAVOIE (2001) as perdas nas áreas periféricas do silo são

influenciadas pela espessura do filme plástico que deve ser proporcional ao tempo de estocagem da silagem. De acordo com SAVOIE (1988), as espessuras de filmes de polietileno indicadas para confecção de silos horizontais são de 100, 150 e 200 μm e devem ser utilizadas para armazenar silagens durante 3, 7 e 12 meses, respectivamente. Filmes muito finos são ineficientes devido ao excesso de infiltração de oxigênio durante o período de armazenamento. Permeabilidade ao oxigênio está relacionada à espessura do filme, além disso, filmes menos espessos estão mais susceptíveis a rasgos e perfurações (BERNARDES et al., 2009a), embora atualmente esteja disponíveis no mercado filmes mais finos com baixa permeabilidade e com alta resistência a rasgos, como é o caso dos filmes de poliamida.

Snell et al. (2002) avaliaram a influência da coloração e espessura do filme sobre a qualidade da silagem. Para isto foram utilizados 30 mini silos com 0,3 m³ de volume e foram comparados cinco tipos de filmes plásticos: branco de 90 μm , transparente de 150 μm , branco de 150 μm , preto de 150 μm e branco de 200 μm . Os padrões fermentativos foram semelhantes para todos os tratamentos. A temperatura da superfície externa dos plásticos foram maiores para os filmes de coloração transparente e preto. Houve diferença de temperatura na camada de silagem logo abaixo do filme (0 a 20 cm), porém, as diferenças de temperatura não influenciaram no crescimento de microrganismos espoliadores. Neste mesmo estudo foi avaliada a permeabilidade ao oxigênio dos filmes de coloração branca com espessura de 90, 150 e 200 μm ; os autores encontraram que valores de 459, 258 e 188 $\text{cm}^3.\text{m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, respectivamente. Isto demonstra que, para o mesmo tipo de material, a permeabilidade ao oxigênio é inversamente proporcional à espessura do filme.

Snell et al., (2003) em experimento semelhante ao descrito anteriormente, com a mesma quantidade de unidades experimentais, testaram o efeito de filmes plásticos (branco de 90 μm , verde de 125 μm , preto de 150 μm , verde de 200 μm e branco de 200 μm) sobre a qualidade de silagens de capim. Não foram observadas diferenças significativas na composição química das silagens para os diferentes tipos de filmes utilizados. Os pesquisadores concluíram que a qualidade da fermentação não depende da espessura ou coloração do filme, porém estes resultados foram obtidos a partir de silos experimentais, e não há literatura disponível sobre estes parâmetros para silos de larga escala.

2.3.3 Tipos de filmes plásticos

O material mais comum utilizado para a vedação de silos horizontais são filmes de polietileno com espessura entre 100 e 200 μm . Entretanto esta proteção é altamente variável em razão de alterações durante o armazenamento (SAVOIE, 1988). Filmes de polietileno não são completamente “impermeáveis” ao oxigênio, dessa forma, a condição de ambiente completamente hermético nunca é alcançada na prática. Os filmes de polietileno apresentam permeabilidade ao oxigênio, que é variável em função da temperatura ambiental, maiores temperaturas elevam a permeabilidade (O'KIELY; FORRISTAL, 2003 citados por BERNARDES et al., 2009). Segundo as normas da American Society for Testing and Materials Standards (AMST D3985-81), com a elevação da temperatura de 23 a 50 °C, a permeabilidade dos filmes plásticos ao oxigênio aumenta de 3 a 5 vezes. Dessa forma, infere-se que no verão as silagens podem tornar-se mais susceptíveis à deterioração aeróbia. Na escolha do filme é preferível optar pela cor branca, pois filmes de outras cores, especialmente os escuros, aumentam a permeabilidade ao O_2 pela característica de absorver calor, em função da dilatação dos microporos existentes no filme (TABACCO; BORREANI, 2002).

Recentemente foi desenvolvido um filme coextrusado de poliamida e polietileno, o qual alia as características de baixa permeabilidade ao oxigênio e espessura reduzida. Este filme consiste basicamente de duas camadas externas de polietileno e uma central de poliamida, totalizando 125 μm de espessura, com nome comercial de Silostop[®] 1-Step (OS) (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007). Pesquisas com este tipo de filme datam do início da década de 1990, porém, a indústria não demonstrava interesse comercial em função dos elevados custos de produção (BORREANI et al., 2007). Posteriormente foi desenvolvido um filme de poliamida de 45 μm de espessura, transparente, porém sem proteção contra a radiação ultra violeta (UV), o qual é utilizado em conjunto com uma lona protetora de polipropileno, com nome comercial de Silostop[®] 2-Step (TS). (BERNARDES et al., 2009a).

Degano (1999) testou o efeito do filme oxygen barrier (OB) de 45 μm contra filme de polietileno de 200 μm em silos trincheira, com silagem de planta inteira de milho. O silo coberto com o filme de polietileno apresentou maiores valores de pH (3,97) e nitrogênio amoniacal (6,12% do nitrogênio total) e menor teor de ácido láctico

(3,18% da MS), enquanto que para o filme co-extrusado os valores foram 3,78, 5,33% e 3,67%, respectivamente. Wilkinson; Rimini (2002), avaliaram o efeito de filme sobre a qualidade de silagens de azevém. Utilizou-se tetraformato de amônio como aditivo, na dose de $2,0 \text{ L.t}^{-1}$ (na base fresca). Os tratamentos utilizados foram: cobertura única com filme de polietileno de 125 μm ; cobertura dupla com filme de polietileno de 125 μm e cobertura única com filme co-extrusado. Decorridos 175 dias de armazenamento os mini silos foram abertos. A cobertura única com filme de polietileno proporcionou perdas de 14,4% e crescimento de fungos em 15,3 cm da camada superficial; para a cobertura dupla, houve 12,5% de perdas e crescimento de fungos numa camada de 9,3 cm. Com o filme co-extrusado as perdas foram as menores (7,3%) e não houve crescimento visível de fungos na camada superficial.

Borreani; Tabacco; Cavallarin (2007) conduziram dois experimentos em duas fazendas comerciais entre os anos de 2005 e 2006. Foram avaliados dois tipos de filmes plásticos para a vedação de silos (filme de polietileno de 180 μm e filme OB de 125 μm). Os silos foram divididos em duas metades longitudinalmente e cada uma delas vedada com um dos filmes descritos anteriormente. Para ambos os experimentos os valores de pH foram menores para o material armazenado sob a filme OB. No experimento 1, as perdas de MS foram 3,7 vezes menores para o filme OB. Os resultados indicam que o filme OB pode auxiliar na redução de perdas de MS em condições de fazenda, principalmente quando quantidades inadequadas de silagem são removidas diariamente.

Amaral et al. (2009a e 2009b) realizaram experimentos para a avaliação da eficiência de diferentes estratégias de vedação em silagens de planta inteira de milho. Foram avaliados tipo de filme (filme dupla face de polietileno de 200 μm e filme OS), aditivos (controle, *Lactobacillus buchneri* $1 \times 10^6 \text{ ufc} \times \text{g}^{-1}$ de forragem e benzoato de sódio na dose de 0,02%, com base na matéria fresca) e uso ou não de camada de terra sobre o filme (100 kg.m^{-2}). Foram utilizados silos de 500 L, os quais foram abertos decorridos 90 dias de armazenamento. O padrão fermentativo e as perdas de MS não foram influenciadas pelo tipo de filme, entretanto silagens com aditivos apresentaram menores perdas. A temperatura da camada superficial das silagens cobertas com filme OS foi em média 2°C menor do que as silagens com filme de polietileno. A estabilidade aeróbia não foi afetada pelo tipo de filme, porém a utilização de benzoato de sódio associado com o filme OS proporcionou em média 80h a mais de estabilidade em relação aos demais tratamentos.

Basso et al. (2009) avaliaram a deterioração aeróbia de silos horizontais do tipo superfície em dois experimentos. Foram utilizados dois silos, os quais foram divididos longitudinalmente, sendo que cada uma das metades foram vedadas com filme de polietileno dupla-face (200 μm) ou filme de poliamida com barreira de oxigênio (OB) de 45 μm de espessura com cobertura adicional de filme de polietileno dupla-face (200 μm). No primeiro experimento as características fermentativas, contagens microbianas e as perdas de MS não foram afetadas pela presença do filme OB. Na segunda avaliação os valores de pH, ácido propiônico e contagem de leveduras foram menores para silagens vedadas com o filme OB, porém não houve diferença estatística para perdas de MS. Os autores concluíram que o filme OB proporciona melhorias no perfil fermentativo e reduzem a contagem de microrganismos espoliadores de silagem.

Bernardes et al. (2009b) testaram oito tipos de filmes plásticos na cobertura de silos de 500 L, com duas aberturas (75 e 150 dias); durante o enchimento dos silos foram inseridos *data loggers* para a mensuração da temperatura no decorrer do período de armazenamento. Foram realizadas avaliações de perdas com base na composição química e contagem microbiológica. O filme co-extrudado apresentou menores valores de pH e contagem de leveduras do os que filmes dupla-face. As perdas foram menores para silagens armazenadas durante 75 dias.

Bernardes et al. (2009c) conduziram dois experimentos para avaliar o efeito do filme OB sobre a qualidade e contagem de microrganismos em silagens de planta inteira de milho. Foram utilizados dois silos trincheira, os quais foram divididos longitudinalmente em duas metades. Os tratamentos utilizados foram: filme de polietileno dupla-face 180 μm e filme de poliamida (OB) transparente (45 μm) com cobertura adicional de filme de polietileno dupla-face (180 μm). No experimento 1 houve redução no pH e nas contagens de leveduras e fungos filamentosos para o filme OB, porém as perdas de matéria seca foram semelhantes para ambos os tratamentos. No segundo experimento não houve diferença significativa para os parâmetros avaliados. A qualidade da silagem nas áreas periféricas dos silos foi melhorada, quando a taxa de retirada diária foi maior (experimento 1). Os autores concluíram que a utilização do filme OB proporcionou uma ligeira redução na população de microrganismos espoliadores e melhoras no perfil fermentativo das silagens nas áreas periféricas do silo.

Com o objetivo de avaliar o efeito do tipo de filme na composição e perdas de MS na camada superficial (25 cm) de silagens de sorgo em silos trincheira, Rich et al (2009) testaram dois filmes plásticos (filme OS e filme convencional de polietileno, 150 μm). Diferenças na composição da silagem em relação ao material fresco foram menores para silagens cobertas com filme OS. A ensilagem da forragem com filme de polietileno ocasionou elevação nas concentrações de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) em relação à forragem fresca, em contraste, em silagens vedadas com filme OS estes mesmos parâmetros foram menores em relação à forragem fresca. Os autores atribuem este fato à possível fermentação de frações fibrosas. As perdas de matéria orgânica foram maiores para o filme convencional (19% contra 11% do filme OS).

Recentemente, Amaral et al. (2012) testaram quatro métodos de vedação com base em diferentes tipos de filmes. Os tratamentos utilizados foram: 1) filme OB (45 μm de espessura) associado com filme dupla-face de polietileno (200 μm) sobre o filme OB; 2) filme dupla face de polietileno (200 μm); 3) filme preto de polietileno (200 μm) e 4) filme reciclado de polietileno (200 μm) com camada de 10 cm de bagaço de cana sobre o filme. A quantidade de silagem deteriorada descartada diariamente foi menor para os tratamentos 1 e 4. Para perdas de matéria orgânica, pH, ácido láctico e contagem de microrganismos (bactérias ácido lácticas, leveduras e fungos filamentosos) não houve diferença significativa entre os tratamentos. Dessa forma, a utilização de filmes OB ou bagaço de cana sobre o filme pode auxiliar na redução de silagem deteriorada.

Com o objetivo de se avaliar o perfil fermentativo, desenvolvimento de microrganismos e estabilidade aeróbia da camada superficial em silos trincheira, Orosz et al. (2012) testaram dois tipos de cobertura: a) filme OB (45 μm) mais lona de polipropileno, para garantir proteção contra radiação UV e sacos com seixos rolados nas extremidades do filme e em faixas transversais; b) filme de cor preta (125 μm), em cima do filme foram utilizados pneus (1,6 pneus.m⁻²). Para a avaliação das perdas de MS foram colocados sacos traçadores no centro dos silos e na profundidade de 30 cm, à partir da superfície. Após 365 dias de armazenamento os silos foram abertos. Para pH e ácido láctico não houve diferença significativa entre os tratamentos, entretanto as concentrações de ácido acético, ácido propiônico e etanol foram inferiores para o tratamento OB, não houve ocorrência de fungos para o tratamento OB, enquanto que para o filme preto a contagem foi de 2,56 log₁₀ ufcxg⁻¹.

Neste estudo, o maior benefício da utilização de filme OB foi o aumento de 65 horas na estabilidade aeróbia em comparação ao filme convencional, mesmo com o filme OB apresentando menor concentração de ácido acético.

2.3.4 Materiais alternativos para vedação de silos

A escolha da estratégia de vedação é uma importante etapa da confecção de silagens, pois pode auxiliar na redução das perdas e, consequentemente, na obtenção de produto final de alta qualidade. Tradicionalmente utiliza-se filmes de polietileno e pneus para a cobertura, porém este sistema apresenta algumas desvantagens, como gasto excessivo com mão de obra necessária para a colocação e retirada destes materiais, por ocasião da vedação e abertura, respectivamente (BERGER, 2005). Além disso, o descarte deste tipo de material pode tornar-se um sério problema ambiental, pois, não é biodegradável e assim permanece no ambiente (SAVOIE et al., 2003).

Segundo Berger; Bolsen (2006) o método de vedação convencional (filmes de polietileno e pneus) pode ser substituído por coberturas comestíveis, porém alguns fatores devem ser considerados. Esta cobertura deve ser de fácil aplicação, baixo custo, ser efetiva como proteção contra penetração de oxigênio e água, o material deve ser comestível, nutritivo e palatável aos animais que estiverem consumindo estas silagens. Até o momento várias foram as alternativas propostas, como polpa de maçã, melaço, palha, manteiga de amendoim, cera, matrizes à base amido e sal são algumas das coberturas testadas em silos do tipo trincheira (BOLTON; HOLMES, 2004). Apesar do progresso obtido em cada um destes estudos, nenhum deles apresenta ainda 100% de eficácia.

Savoie et al. (2003) testaram polpa de maçã e manteiga de amendoim como coberturas alternativas em silagens de gramíneas temperadas (*timothy grass*), as quais foram comparadas com o controle negativo (sem cobertura) e controle positivo (tampa de rosca), trabalhando com mini-silos. Foram utilizadas 60 unidades experimentais com 5 aberturas (3, 7, 14, 21 e 42 dias de armazenamento). Os autores concluíram que as coberturas orgânicas foram ineficientes em impedir a penetração de oxigênio na massa.

Denoncourt et al. (2006) avaliaram silagens de gramíneas temperadas (*timothy grass*) em três tratamentos (cobertura biodegradável à base de proteína, sem cobertura e cobertura de filme plástico) quanto ao perfil microbiológico e perdas de MS. Foram utilizados mini silos, sob duas condições ambientais (protegido (P) ou não protegido (NP) da chuva) e dois períodos de armazenamento (35 e 70 dias). Para o maior período de armazenamento os silos vedados com cobertura biodegradável apresentaram maior contagem de leveduras e fungos (P: $5,98 \log_{10} \text{ufc} \times \text{g}^{-1}$ e NP: $7,73 \log_{10} \text{ufc} \times \text{g}^{-1}$) comparado com sem cobertura (P: $3,62 \log_{10} \text{ufc} \times \text{g}^{-1}$ e NP: $4,52 \log_{10} \text{ufc} \times \text{g}^{-1}$) e com filme plástico (P: $5,92 \log_{10} \text{ufc} \times \text{g}^{-1}$ e NP: $6,05 \log_{10} \text{ufc} \times \text{g}^{-1}$). Com 35 dias de armazenamento o filme biodegradável foi eficiente em reduzir as perdas de MS. Estes resultados mostraram que filmes biodegradáveis são eficientes em preservar as qualidades da silagem por períodos inferiores a 35 dias, não sendo recomendado para maiores períodos de armazenamento.

Até o presente momento estas alternativas de vedação apresentaram melhores resultados do que silos descobertos, porém ainda são ineficientes em relação aos filmes plásticos disponíveis no mercado.

2.4 Abertura e desabastecimento do silo

Uma vez aberto, o silo deixa de ser um ambiente anaeróbio, a silagem se torna exposta ao oxigênio, permitindo o desenvolvimento de leveduras e fungos, que irão converter os nutrientes em dióxido de carbono, água e calor (BOLTON; HOLMES, 2004). A penetração de oxigênio através do painel é dependente da densidade de compactação alcançada durante o enchimento (PITT; MUCK, 1993; WEINBERG; ASHBELL, 2003). As perdas pós abertura são influenciadas pela disponibilidade de nutrientes, pela temperatura ambiental (ASHBELL et al., 2002) e pelo tempo que a silagem permanece em contato com o oxigênio (WOOLFORD, 1984; WEINBERG; ASHBELL, 2003). A rota fermentativa denominada homolática é a que proporciona melhor conservação dos nutrientes da forragem, com menores perdas de MS e energia (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Por outro lado, esta maior preservação de nutrientes torna o material altamente instável; altas concentrações de ácido lático não são suficientes para garantir a estabilidade da silagem (KUNG, 2003), pois silagens bem fermentadas, com altos teores de

carboidratos solúveis e ácido láctico são mais susceptíveis à deterioração (WEINBERG; MUCK, 1996).

Os principais microrganismos iniciadores do processo de deterioração são leveduras, que possuem a capacidade de assimilar o lactato presente na silagem. As principais espécies são *Candida*, *Endomycopsis*, *Hansenula* e *Pichia* (LOWES, 2000; WOOLFORD, 1990). Sob condições favoráveis ao seu desenvolvimento a população de levedura presente na forragem pode passar de 10^2 a 10^{12} ufcxg⁻¹ MS em três dias (WOOLFORD, 1990). Silagens com população de leveduras maior que 10^5 ufcxg⁻¹ MS são mais propensas à deterioração aeróbia (HONIG; WOOLFORD, 1980; WOOLFORD, 1990). Bactérias produtoras de ácido acético pertencentes ao gênero *Acetobacter* também têm sido identificadas como iniciadoras da deterioração aeróbia (SPOELSTRA; COURTIN; VAN BEERS, 1988). Outras espécies de bactérias e fungos possuem grande importância no processo de deterioração aeróbia, entretanto seu desenvolvimento é restrito a etapas mais avançadas da deterioração. Bactérias com atividade proteolítica (gênero *Bacillus*) podem ser encontradas em silagens deterioradas (HONIG; WOOLFORD, 1980). Fungos geralmente são encontrados em silagens que apresentam vedação inadequada, sendo que sua ocorrência é mais frequente nas camadas superficiais. Os fungos mais comumente encontrados em silagens pertencem aos gêneros *Aspergillus*, *Bysoclamys*, *Fusarium*, *Monascus* e *Thricoderma* (DRIEHUIS; OUDE ELFERINK, 2000).

Muitos microrganismos encontrados em silagens deterioradas podem ser considerados prejudiciais à saúde animal. Problemas associados com fungos são comuns, principalmente devido à produção de micotoxinas (DRIEHUIS; OUDE ELFERINK, 2000). A contaminação dos alimentos destinados ao consumo animal por micotoxinas além de representarem grandes perdas econômicas oferecem risco à saúde animal (HUSSEIN; BRASEL, 2001) e humana, pois resíduos de micotoxinas podem ser encontrados em produtos de origem animal (WOOD, 1991).

2.4.1 Qualidade higiênica de silagens

Produtores de alimentos são responsáveis pela segurança e qualidade de seus produtos para os consumidores, e para isto é necessário garantir a qualidade e

a segurança em todos os estágios da cadeia produtiva (DRIEHUIS, 2012). A qualidade do leite e da carne está diretamente relacionada com o tipo e a qualidade da dieta fornecida ao animal. O valor nutritivo e a qualidade sanitária dos volumosos conservados, como silagem e feno são de grande importância para a pecuária, pois, além de ser fonte de nutrientes, os alimentos podem ser fonte de microrganismos e toxinas prejudiciais à saúde do animal (JOBIM: CECATO; CANTO, 2001). Os alimentos consumidos por vacas são uma importante fonte de contaminantes químicos e microbiológicos do leite. A dieta usual de vacas leiteiras consiste basicamente de duas classes de alimentos: volumosos e concentrados, sendo que a forragem fresca, seca ou ensilada compreende de 50 a 75 % da dieta (DRIEHUIS, 2012). Em razão de sua alta inclusão em dietas de vacas leiteira, o potencial de contaminação da forragem, seja por esporos de *Clostridium* ou micotoxinas, é bastante elevado. Dessa forma a busca pela qualidade da silagem produzida deve considerar não apenas as perdas durante o processo, mas também assegurar que o material tenha a menor quantidade possível de contaminantes. Visto que a contaminação por esporos de *Clostridium* ou por micotoxinas pode ocorrer em momento anterior ao processo de ensilagem, a preocupação com a qualidade deve ser desde o estabelecimento da cultura no campo.

2.4.2 Fungos e micotoxinas

Fungos filamentosos tem papel secundário no processo de deterioração aeróbia da silagem, seu crescimento normalmente só ocorre quando a silagem já apresenta algum grau de degradação, geralmente após o início da deterioração aeróbia, que é promovido por leveduras (McDONALD; HENSERSON; HERON, 1991). A deterioração aeróbia promovida por fungos causam redução do valor nutritivo e perdas energéticas (LINDGREN; OLDENBURG; PAHLOW, 2002), além disso, o material deteriorado é passível de contaminação com micotoxinas. Micotoxinas são metabólitos secundários secretados por algumas espécies de fungos (DRIEHUIS, 2011), principalmente pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Monascus* (YIANNIKOURIS; JOUANY, 2002). Micotoxinas podem ser encontradas em uma variedade de culturas, incluindo culturas

comumente utilizadas para a produção de silagem, como milho, trigo e gramíneas (DRIEHUIS, 2011).

Micotoxinas também afetam negativamente os animais domésticos, causando supressão do sistema imune, desequilíbrio hormonal, redução da assimilação dos nutrientes da dieta, o qual resulta em redução no desempenho, e eventualmente, ocasiona morte (QUEIROZ, et al., 2011). Para os produtores, os custos associados com a alimentação contaminada por micotoxinas ocorre na forma de redução do desempenho, e descarte do leite devido a altas concentrações de toxinas (KUTZ, 2009).

Anaerobiose e baixo pH inibem o desenvolvimento de grande parte dos fungos, desta forma a ensilagem é uma importante estratégia para prevenir a formação de micotoxinas produzidas por fungos que se desenvolvem durante o armazenamento (QUEIROZ, et al., 2011). Entretanto as condições que previnem o crescimento de grande parte dos fungos na silagem também proporcionam um ambiente propício ao desenvolvimento de fungos tolerantes a baixo pH e baixas concentrações de oxigênio, como *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus fumigatus*, *Byssoschlamys nivea* e várias espécies de *Fusarium* (PAHLOW et al., 2003).

O manejo inadequado da silagem pode prejudicar a fermentação, promovendo condições aeróbias no interior da massa e assim favorecendo o desenvolvimento de fungos que são mais sensíveis a pH baixo e anaerobiose, como o *Aspergillus flavus* (GONZALES-PEREYRA, et al., 2008).

2.5 Desempenho animal em função do método de vedação de silos

O foco da pesquisa com filmes plásticos tem sido nos parâmetros fermentativos, desenvolvimento de microrganismos e principalmente nas perdas de matéria seca e matéria orgânica das silagens. Nos últimos anos vários trabalhos testaram diferentes métodos de vedação, e diferentes tipos de filmes plásticos, porém poucos trabalhos incluíram avaliações de desempenho animal. Até o presente momento um único trabalho, de autoria de Amaral et al. (2012), foi publicado com dados de desempenho, o que demonstra a escassez de dados e a necessidade de mais estudos.

Referências

- AMARAL, R.C.; NUSSIO, L.G.; BERNARDES, T.F.; SARTURI, J.O.; MURARO, G.; DANIEL, J.L.P. Top losses in silos containing corn silage according to the sealing method adopted. In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K. K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009a. p. 197- 198.
- AMARAL, R.C.; NUSSIO, L.G.; BERNARDES, T.F.; MURARO, G.; SANTOS, V.P. TOLEDO FILHO, S.G.; GOULART, R.S. Aerobic stability of corn silage from the top of silos submitted to different sealing methods. In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K.K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009b. p. 199- 200.
- AMARAL, R.C.; DANIEL, J.L.P.; SÁ NETO, A.; BISPO, A.W.; LIMA, J.R.; CABEZAS-GARCIA, E.H.; ZOPOLLATTO, M.; SANTOS, M.C.; BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G. Performance of Holstein cows fed diets containing maize silage from silos with different covering methods. In: KUOPPALA, K.; RINNE, M.; VANHATALO, A. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Hämeenlinna. **Proceedings...** Hämeenlinna, 2012. p. 470- 471.
- ASHBELL, G.; LISKER, N. Aerobic deterioration in maize silage stored in a bunker silo under farm conditions in a subtropical climate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 45, p. 307-315, 1988.
- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; HEN, Y. FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. **Journal Industrial Microbiology and Biotechnology**, Waukegan, v. 28, p. 261-263, 2002.
- BASSO, F.C.; BERNARDES T.F.; CASAGRANDE, D.R.; LODO, B.N.; ROTH, A.P.T.P.; REIS, R. A. Aerobic deterioration in corn silage sealed with oxygen barrier film under farm conditions. In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K.K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009. p. 211- 212.
- BERGER, L.L. Covering Bunker Silos. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2005. p.45-49.
- BERGER, L.L.; BOLSEN, K.K. Sealing Strategies for Bunker Silos and Drive-over Piles. 2006. Disponível em: <<http://counties.cce.cornell.edu/oneida/Agriculture/Ag/crops/bunk%20silo%20cover%20comparison%20and%20bmps.pdf>> Acesso em: 17 fev. 2013.
- BERNARDES, T.F.; AMARAL, R.C.; NUSSIO, L.G. Sealing strategies to control the top losses in horizontal silos. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro, 2009a, p. 190-209.

BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G.; AMARAL, R.C.; SCHOGOR, A.L.B. Sealing strategies to control the top losses of corn silage. In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K.K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009b. p. 213- 214.

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; MIYAZAKI, M.K.; ROTH, A.P.T.P. Aerobic deterioration in corn silage covered with oxygen barrier film in stack silos. In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K.K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009c. p. 213-214.

BOLSEN, K.K.; DICKERSON, J.T.; BRENT, B.E.; SONON JR, R.N.; DALKE, B.S.; LIN, C.; BOYER JR, J.E. Rate and Extent of Top Spoilage Losses In Horizontal Silos. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.76, p.2940-2962, 1993.

BOLTON, K.; HOLMES, B.J. **Management of bunker silos and silage piles**. 2004. Disponível em: <<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/mgmt-bunkers-piles-bjh2.PDF>> Acesso em: 26 fev. 2013.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 90, p. 4701-4706, 2007.

DEGANO, L. Improvement of silage quality by innovative covering system. In: THE INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 12., 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala, 1999. p. 296-297.

DENONCOURT, P.; AMYOT, P.A.; LACROIX, M. Evaluation of two biodegradable coating on corn silage quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 86, p. 392-400, 2006.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: a review. **Veterinary Quarterly**, Utrecht, v. 22, p. 212-217, 2000.

DRIEHUIS, F.; Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. In: KUOPPALA, K.; RINNE, M.; VANHATALO, A. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Hämeenlinna. **Proceedings...** Hämeenlinna, 2012. p. 87-104.

DRIEHUIS, F. Occurrence of mycotoxins in silage. In: II International Symposium on Forage Quality and Conservation, 2011, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro, 2011. p. 85-104.

GONZALEZ-PEREYRA, M.L.; ALONSO, V.A.; SAGER, R.; MORLACO, M.B.; MAGNOLI, C.E.; ASTORECA, A.L.; ROSA, C.A.; CHIACCHIERA, S.M.; DALCERO, AM.; CAVAGLIERI, L.R. Fungi and selected mycotoxins from pre- and postfermented corn silage". **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.104, p. 1034–1041, 2008.

HOLMES, B.J.; MUCK, R.E. Preventing silage storage losses. 2000. Disponível em: < <http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/prevent-silage-storage7.PDF> > Acesso em: 21 fev. 2013.

HONIG, H.; WOOLFORD, M.K. Changes in silage exposure to air. In: FORAGE CONSERVATION IN THE 80's, 1979, Brighton. **Proceedings...** Oxford: British Grassland Society, 1980. p.76-87.

HUSSEIN, S.H.; BRASEL, J.M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, Oxford, v. 167, n. 2, p. 101-134, 2001.

JASTER, E.H. Legume and grass silage preservation. In: MOORE, K.J.; KRAL, D.M.; VINEY, M.K. (Ed). **Post-harvest physiology and preservation of forages**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 1995. p.91-115.

JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. Utilização de silagem de grãos de cereais na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2001. p.146-176.

JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; DAVIDSON, D.; MAHANNA, W.C.; SHINNERS, K.; LINDER, D. Corn silage management: Effects of maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 85, p. 434-444, 2002.

KUNG, L., Jr.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. p. 305-360.

KUTZ, R.E.; SAMPSON, J.D.; POMPEU, L.B.; LEDOUX, D.R.; SPAIN, J.N.; VÁZQUEZ-AÑÓN, M.; ROTTINGHAUS, G.E. Efficacy of Solis, NovasilPlus, and MTB-100 to reduce aflatoxin M1 levels in milk of early to mid lactation dairy cows fed aflatoxin B1. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.92, p. 3959-3963, 2009.

KUZIN, V.; SAVOIE, P. Modeling air infiltration in bunker silos to optimize the cover. In: ANNUAL INTERNATIONAL MEETING SPONSORED, 2001. Sacramento. **Proceedings...** Sacramento: American Society of Agricultural and Biological Engineers, Saint Joseph, 2001. 10p.

LINDGREN, S.; OLDENBURG, E.; PAHLOW, G. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION. 19., 2002. La Rochelle. **Proceedings...** La Rochelle, 2002. p.503-511.

LOWES, K.F.; SHEARMAN, C.A.; PAYNE, J.; MACKENZIE, D.; ARCHER, D.B.; MERRY, R.J.; GASSON, M.J. Prevention of Yeast Spoilage in Feed and Food by the Yeast Mycocin HMK. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, p. 1066-1076, 2000.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **Biochemistry of silage**. 2nd ed. Marlow: Chalcombe Publication, 1991. 340p.

McDONELL, E.E.; KUNG JR, L. AN UPDATE ON COVERING BUNKER SILOS. 2006. Disponível em: < <http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/documents/CoveringBunkerSilos.pdf>> Acesso em: 21 fev. 2013.

MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.71, n.11, p.2992-3002, 1988.

MUCK, R.E. **Silage fermentation**In: Zeikus, G. ; Johnson, E.A. (Ed.) **Mixed cultures in biotechnology**. New York:McGraw-Hill, 1991. p. 171-204.

OROSZ, S.; WILKINSON, M.; WIGLEY, S.; BÍRÓ, Z.; GALLÓ, J. Oxygen barrier film improves fermentation, microbial status and aerobic stability of maize silage in the upper 30 cm of the silo. In: KUOPPALA, K.; RINNE, M.; VANHATALO, A. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE,16., 2012. Hämeenlinna. **Proceedings...** Hämeenlinna, 2012. p. 292-293.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; DRIEHUIS, F.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J.C.; SPOELSTRA, S.F. *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. In: PAULY, T. (Ed.) INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 12., 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala, 1999. p.266-267.

PAHLOW, G. Application of a new concept for the estimation of the ensiling potential of forages for a range of crops. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE,13., 2002. Auchincruive, Scotland, 2002. p.361-371.

PAHLOW, G; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA,S.F. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Ed.).**Silage Science and Technology**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. p. 31-94.

PITT, R.E.; MUCK, R.E. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Easton, v. 55, p. 11- 26, 1993.

QUEIROZ, O.C.M.; RABAGLINO, M.B.; ADESOGAN, A.T. Mycotoxins in silage. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION,2., 2011, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro, 2011, p. 105-126.

RICH, K.; SCHOORL, T.; WIGLEY, S.; WILKINSON, J.M. Effect of an oxygen barrier film ("Silostop") on composition and losses of organic matter from the upper layers of forage sorghum ensiled in large bunker silos In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN, K.K.; CONTRERAS-GOVEA, F.E.; HARRISON, J.H.; MUCK R.E. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE,15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009a. p. 305-306.

ROTZ, C.A.; MUCK, R. Changes in forage quality during harvest and storage. Chapter 20. In: FAHEY JR. (Ed.). **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison, Wisconsin: ASA, CSSA, SSSA, 1994. p.843-859.

SAVOIE, P.; BERNIER-ROY, M.; PEDNEAULT, M.L.; AMYOT, A. Evaluation of apple pulp and peanut butter as alternative bunker silo covers. **Canadian Biosystems Engineering**, Saskatoon, v.45, p. 2.17, 2003.

SAVOIE, P. Optimization of plastic covers for stack silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Easton, v. 41, p. 65-73, 1988.

SAVOIE, P.; JOFRIET, J.C. Silage Storage. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. p. 405-468.

SMITH, D. ;BULA, R.J.; WALGENBACH, R.P. Legume and grass silage.. In: _____ **Forage management**. 5th ed. Dubuque:Kendall Hunt,, 1986. p. 231-238

SNELL, H.G.J.; OBERNDORFER, C.; LÜCKE, W.; VAN DEN WEGHE, H.F.A. Effects of polyethylene colour and thickness on grass silage. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.58, p. 239-248, 2003.

SNELL, H.G.J; OBERNDORFER, C; LÜCKE, W.; VAN DEN WEGHE, H.F.A. Effects of the colour and thickness of polyethylene film on ensiling conditions and silage quality of chopped maize, as investigated under ambient conditions and mini-silos. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 57, p. 342-350, 2002.

SPOELSTRA, S.F.; COURTIN, M.G.; VAN BEERS, J.A.C. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge v.111, p. 127- 132, 1988.

TABACCO, E.; BORREANI, G. Extent of aerobic deterioration in farm maize silage as affected by silo management. In: THE INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 13.,, 2002, Auchincruive. **Proceedings...** Auchincruive, 2002. p. 178-179.

WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G. Engineering aspects of ensiling. **Biochemical Engineering Journal**, Manchester, v. 13, p. 181-188, 2003.

WEINBERG, Z.G.; MUCK, R.E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, Lausanne, v.19, p.53-68, 1996.

WILKINSON, J.M.; RIMINI, R. Effect of triple co-extruded film (TCF) on losses during the ensilage of ryegrass. In: THE INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 13.,, 2002, Auchincruive. **Proceedings...** Auchincruive, 2002. p.168-169.

WOOD, G.E. Aflatoxin M₁. In: SHARMA, R.P.; SALUNKHE, D.K. (Ed.). **Mycotoxins and phytoalexins**. London: CRC Press, 1991. p.145-164.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York:Marcel Dekker,1984. p.23-132.

WOOLFORD, M.K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, Malden, v. 68, p. 101-116, 1990.

YIANNIKOURIS, A.; JOUANY,J.P. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: A review. **Animal Research**, Les Ulis, v.51, p. 81-99, 2002.

3 QUALIDADE DE SILAGENS DE MILHO SOB DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE VEDAÇÃO DE SILOS

Resumo

Este experimento teve por objetivo avaliar as perdas de matéria seca, composição química, temperatura do painel, perfil fermentativo e microbiológico em silagens de milho vedadas com diferentes filmes plásticos, associado ou não à cobertura de bagaço de cana. Utilizou-se três silos do tipo trincheira, com capacidade de aproximadamente 40 toneladas de forragem fresca, vedados de três formas distintas (Filme ET+AD_{NC}: co-extrusado dupla face de poliamida e polietileno com 120 µm de espessura; ET_{NC}: filme dupla face de polietileno com 200 µm e ET_C: filme dupla face de polietileno com 200 µm + cobertura de bagaço de cana). O experimento teve duração de doze semanas, sendo dividido em quatro períodos de três semanas cada, o delineamento experimental utilizado foi blocos inteiramente casualizados. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para a composição bromatológica, entretanto, observou-se diferença para entre os diferentes pontos amostrados (TL: topo lateral, TC: topo central e C: centro) para as variáveis MS, FDA, amido, hemicelulose e DVIVMO, sendo que os piores resultados foram encontrados nas regiões periféricas (TL e TC) dos silos. A quantidade de silagem deteriorada foi menor para o tratamento ET_C, enquanto que os demais tratamentos foram semelhantes entre si. A recuperação de matéria seca não foi influenciada pelos tratamentos, porém houve tendência de maior recuperação para os tratamentos ET_{NC} e ET_C. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a temperatura das silagens, porém foi observado que silagens provenientes das regiões periféricas apresentaram temperaturas mais elevadas. As temperaturas mensuradas nas regiões TL e TC foram semelhantes entre si, enquanto que na região C as temperaturas foram mais brandas. Este comportamento foi observado para todos os tratamentos, entretanto o tratamento ET_C apresentou menor amplitude de variação. Este resultado era esperado, pois a região periférica do silo está mais susceptível à deterioração em razão da proximidade com o filme plástico, além disso a compactação próxima às paredes laterais é mais dificultosa. Os tratamentos não influenciaram na contagem de microrganismo (BAL: bactérias ácido lácticas, FF: fungos filamentosos e LEV: leveduras), porém o relação ao local de coleta houve diferença para BAL e FF. Como esperado, a população de FF foi maior na periferia dos silos, em virtude da maior temperatura presença de oxigênio nestas áreas. A população de BAL teve mesmo comportamento, contrariando a lógica, pois as condições de meio encontradas na periferia são inibitórias ao desenvolvimento deste microrganismo. A contagem de leveduras não sofreu influência do tratamento e local de amostragem. A produção de ácidos (ácido acético e ácido láctico) apresentou elevação no sentido da periferia para o centro do silo, o que era esperado. Porém houve produção excessiva de ácido acético em todos os tratamentos, o que contribuiu para o relativamente baixo teor de MS encontrado. A razão ácido láctico: ácido acético, ficou próxima de 1,0, sendo que o ideal é acima de 2,0. Conclui-se que a adição de cobertura de bagaço sobre o filme auxilia na redução de perdas de MS.

Palavras-chave: Deterioração aeróbia; Controle de perdas; Temperatura

Abstract

This trial aimed to evaluate the losses of dry matter, chemical composition, temperature profile, fermentative and microbiological profiles in corn silage sealed with plastic films, with or without coverage bagasse. We used three types of trench silos with a capacity of approximately 40 tons of fresh forage, sealed in three different ways (Filme ET+AD_{NC}:: double-sided co-extruded polyamide and polyethylene with 120 µm thick; ET_{NC}: double-sided film polyethylene with 200 µm and ET_C: double-sided polyethylene film with 200 µm + coverage sugar cane bagasse). The trial lasted twelve weeks, divided into four periods of three weeks each, the experimental design was completely randomized. There was no significant difference between treatments for the chemical composition, however, differences were observed for between different sampling sites (TL: top side, TC: top center and C: bottom) for the variables DM, ADF, starch, hemicellulose and DVIVMO, while the worst results were found in the peripheral regions (TL and TC) of the silo. The amount of spoiled silage was lower for treatment ET_C, while the other treatments were similar. The dry matter recovery was not influenced by the treatments, but there was a trend toward greater recovery for treatments ET_{NC} and ET_C. There was no significant difference between treatments in the temperature of the silage, but it was observed that silages from the peripheral regions showed higher temperatures. The temperatures measured in the regions TL and TC were similar, whereas the C temperatures were milder. This behavior was observed for all treatments, but the treatment ET_C showed lower amplitude of variation. This result was expected, because the peripheral region of the silo is more susceptible to deterioration due to the proximity to the plastic film further compression next to the side walls is more difficult. Treatments did not affect the count of microorganisms (LAB: lactic acid bacteria, FF: LEV and filamentous fungi: yeasts), but compared to the collection site was no difference in BAL and FF. As expected, the FF population was greater in the vicinity of the silos at higher temperature due to the presence of oxygen in these areas. The population of BAL had the same behavior, contrary to the logic means for conditions found in the periphery are inhibitory to the growth of this microorganism. The yeast count was not influenced by treatment and sampling site. The production of acid (lactic acid and acetic acid) increased towards the periphery to the center of the silo, which was expected. But there was overproduction of acetic acid in all treatments, which contributed to the relatively low DM content found. The reason lactic acid: acetic acid, was close to 1.0, and the ideal is above 2.0. It was concluded that the addition of coverage of the film mulch helps reduce losses of DM.

Keywords: Aerobic deterioration; Losses control; temperature

3.1 Introdução

A silagem de milho é um dos volumosos conservados mais conhecidos e utilizados em todo o mundo, principalmente por sua qualidade nutricional elevada e suas

características favoráveis à ensilagem. A fermentação da silagem ocorre de forma espontânea, sob condições de anaerobiose, resultante da atividade de microrganismos, que metabolizam os carboidratos presentes na planta, produzindo ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico. Fatores como teor de matéria seca, poder tampão da cultura e teor de carboidratos solúveis afetam intensamente o processo fermentativo (KUNG JR., 2008).

A manutenção da anaerobiose e a queda do pH são os principais fatores responsáveis pela preservação da forragem armazenada (PAHLOW et al., 2003), pois os microrganismos capazes de deteriorar a silagem são inibidos pelo efeito sinérgico dos ácidos produzidos durante a fermentação, pelo aumento da pressão osmótica e pela ausência de oxigênio (WOOLFORD, 1990).

No Brasil, o armazenamento de volumosos conservados na forma de silagem é feito principalmente em silos horizontais dos tipos trincheira ou superfície. Devido à grande superfície exposta, silagens armazenadas nestes tipos de silo estão mais propensas à deterioração aeróbia. As regiões periféricas são mais críticas em função da menor densidade atingida durante a compactação, o que ocasiona maior porosidade na massa de forragem proporcionando maior penetração de oxigênio. Quanto mais porosa é a massa, mais facilmente o ar poderá penetrar no seu interior, portanto, a redução da porosidade é a prerrogativa principal para restringir a deterioração aeróbia (BERNARDES; AMARAL; NUSSIO, 2009).

O processo de deterioração aeróbia é essencialmente microbiano (leveduras, fungos filamentosos e bactérias aeróbias), sendo que o desenvolvimento destes é condicionado por fatores como temperatura, presença de oxigênio e disponibilidade de nutrientes (PAHLOW et al., 2003). Nesse sentido, um dos principais requisitos para se produzir silagens de qualidade é limitar a quantidade de oxigênio presente no silo após seu fechamento. Portanto, o filme plástico desempenha uma importante função durante o armazenamento, pois irá garantir a anaerobiose no interior do silo (HONIG, 1991).

Os filmes de polietileno utilizados, prioritariamente na vedação dos silos por suas características mecânicas e pelo baixo custo, apresentam permeabilidade ao oxigênio, a qual tende a aumentar notavelmente com a elevação da temperatura ambiental (DEGANO, 1999). Esse aumento da permeabilidade possibilita trocas gasosas entre os meios interno e externo do silo (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007), ocasionando maiores perdas de matéria seca nas camadas

mais superficiais, de modo que as perdas alcançadas nas regiões periféricas podem ser até 60% maiores quando comparada à região central do silo (ASHBELL; KASHANCI, 1987).

As perdas nas áreas periféricas do silo também podem ser influenciadas pela espessura do filme plástico, que deve ser proporcional ao tempo de estocagem da silagem (KUZIN; SAVOIE, 2001). De acordo com SAVOIE (1988), as espessuras do filme de polietileno indicadas para confecção de silos de superfície são de 100, 150 e 200 μm e devem ser usadas por 3, 7 e 12 meses, respectivamente.

Nos últimos anos têm-se buscado alternativas ao filme de polietileno convencional; alguns estudos do início da década de 1990 (DAPONTE, 1992 citado por BERNARDES; AMARAL; NUSSIO, 2009) sugeriam a poliamida em substituição ao polietileno devido à sua baixa permeabilidade ao oxigênio, que é cerca de 90 vezes inferior aos filmes convencionais. Entretanto, em razão dos altos custos de produção a indústria não demonstrava interesse no desenvolvimento de um produto comercial. Recentemente, com desenvolvimento da tecnologia e o barateamento do processo produtivo, tornou-se possível a fabricação em larga escala destes tipos de filme. Atualmente há disponível no mercado dois tipos de filmes de baixa permeabilidade ao oxigênio: primeiramente desenvolveu-se um filme co-extrudado de poliamida e polietileno, o qual é composto por duas camadas externas de polietileno e uma camada central de poliamida, totalizando 125 μm de espessura (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007); posteriormente foi desenvolvido um filme constituído apenas por poliamida, com 45 μm de espessura, porém sem proteção contra radiação ultra-violeta, dessa forma é necessária a utilização de uma lona de polipropileno para garantir a proteção. Em termos de permeabilidade ao oxigênio, ambos os filmes são equivalentes (BERNARDES; AMARAL; NUSSIO, 2009).

Além da baixa permeabilidade ao oxigênio, a utilização de poliamida possibilita a fabricação de filmes menos espessos, porém com alta resistência mecânica, contribuindo para a redução da utilização de plásticos para a confecção de silos.

Desta forma no presente estudo, objetivou-se avaliar as perdas de matéria seca, composição química, temperatura do painel, perfil fermentativo e microbiológico em silagens de milho vedadas com diferentes filmes plásticos, associado ou não à cobertura de bagaço de cana, em silos do tipo trincheira.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Preparo e armazenamento das silagens

O experimento foi conduzido nas dependências do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), em Piracicaba - SP (22°42'17" S; 47°37'16" W). Utilizou-se o híbrido de milho Pioneer 30F90 Bt; realizou-se o corte quando a planta atingiu cerca de 35% de MS, utilizando colhedora de forragem de duas linhas, tracionada por trator (Menta[®]). O equipamento foi regulado para um tamanho teórico de corte de 10 mm.

Os tratamentos consistiram de três diferentes estratégias de vedação dos silos:

- **ET_{NC}**: Silagem de milho vedada com filme de polietileno dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 200 µm de espessura (Neoplastic[®]).
- **ET_C**: Silagem de milho vedada com filme de polietileno dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 200 µm de espessura com adição de uma camada de 10 cm de espessura de bagaço de cana por toda a extensão do filme (Neoplastic[®]).
- **ET+AD_{NC}**: Silagem de milho vedada com filme co-extrudado de polietileno e poliamida, dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 125 µm de espessura (Silostop[®]).

Os silos experimentais utilizados foram do tipo trincheira com capacidade para cerca de 40 t de forragem fresca, com cerca de 4,0 m base menor, 4,5 m base maior, 1,8 m de altura e 12 m de profundidade. Os silos foram escavados em área de declive, sem revestimento por alvenaria. O fundo e laterais foram revestidos por filme preto de polietileno, para evitar o contato da forragem com o solo (Figura 1). Os três silos foram abastecidos de forma simultânea. A compactação da massa ocorreu durante tempo semelhante ao gasto na colheita, utilizando tratores com peso superior a 40% da massa de forragem descarregada no silo a cada hora. Após o enchimento dos silos procedeu-se a vedação com os respectivos filmes plásticos, os quais foram definidos de forma casualizada. A operação de ensilagem foi realizada durante os dias 12/04 e 16/04/2011, sendo que houve paralização na operação entre os dias 13/04 e 14/04/2011 por motivo de chuva.

Figura 1 - Revestimento dos silos com filme plástico e fixação do filme de cobertura com sacos de seixo rolado

Sobre os filmes plásticos foram colocados sacos de náilon (0,15 m x 1,00 m) contendo seixos rolados, de modo a garantir a fixação do filme e a sua compressão sobre a massa da forragem; os sacos foram colocados por todo o perímetro dos filmes e transversalmente a cada 5,0 m (Figura 1). Os silos foram abertos no dia 24/06/2011, após 63 dias de armazenamento.

3.2.2 Amostragens e variáveis analisadas na forragem fresca

Durante o procedimento de ensilagem realizou-se amostragens da forragem fresca, que foram desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55 a 60°C por 72 horas, para a obtenção dos valores de matéria seca (AOAC, 1990). Subsequentemente estas amostras foram moídas em moinho de facas tipo Wiley utilizando peneira com diâmetro de 1,0 mm. A partir das amostras secas e moídas determinou-se a concentração de matéria mineral, segundo metodologia descrita pela AOAC (1990).

A estimativa da composição bromatológica da forragem fresca foi realizada com base no método de espectroscopia de reflectância de infravermelho proximal (NIRS) (BERZAGHI; COZZI; ANDRIGHETTO, 1997; COZZOLINO; ACOSTA; GARCIA, 2001). As amostras secas e moídas em peneira de 1,0 mm foram escaneadas para a obtenção dos espectros utilizando o equipamento NIRS 5000 (NIRSystems®, Silver Spring, MD, USA). As amostras escaneadas geraram os

dados de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).

3.2.3 Recuperação de matéria seca (RMS) no armazenamento

Para a avaliação das perdas fermentativas durante o armazenamento das silagens, foram posicionados seis sacos de náilon (sacos traçadores) durante o abastecimento dos silos, em cada unidade experimental, contendo aproximadamente 2,5 kg de forragem fresca. A disposição dos sacos traçadores foi realizada mantendo a distância de 5,0 m, contados à partir da região posterior dos silos (Figura 2), que modo que quatro sacos fossem posicionados no plano transversal e os demais a uma profundidade de 0,2 m do filme plástico, no mesmo eixo vertical que os anteriores; com o objetivo de se avaliar as perdas nas regiões centrais e periféricas dos silos, de acordo com a seguinte equação, proposta por Bolsen (1997).

$$RMS = ((MFf \times MSf) / (MF_i \times MS_i)) \times 100$$

Onde:

RMS = recuperação de matéria seca (%); MF_i = massa de forragem inicial (kg);

MS_i = concentração de matéria seca inicial (%); MF_f = massa de forragem final (kg);

MS_f = concentração de matéria seca final (%).

Figura 2 - Seções (a) longitudinal e (b) transversal dos silos indicando a localização dos sacos traçadores (destacados no interior do silo)

3.2.4 Tamanho médio de partículas

O tamanho médio de partículas das silagens foi avaliado por estratificação das amostras com conjunto de peneiras "Penn State Particle Size Separator" (LAMMERS; BUCKMASTER; HEINRICHS, 1996). Entretanto, incorporou-se adaptação ao método original realizada por Mari; Nussio (2002) com a inserção de uma peneira com orifícios de diâmetro de 38 mm. Dessa forma, foi obtido o material retido com diâmetro superior a 38 mm, entre 38 e 19 mm, entre 19 e 7,8 mm e inferior a 7,8 mm. O tamanho médio de partículas foi estimado por meio da ponderação da proporção de retenção do material em cada peneira.

3.2.5 Avaliação nas silagens

Os silos foram abertos no dia 24 de junho de 2011, decorridos 63 dias de armazenamento. As análises laboratoriais foram conduzidas no Laboratório de Bromatologia do departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP). As amostras foram desidratadas em estufa de ventilação forçada, com temperatura de 55 a 60°C por período de 72 horas, para a determinação da matéria seca (AOAC, 1990). Em seguida foram processadas em moinhos de facas tipo Wiley até atingirem diâmetro inferior a 1,0 mm e armazenadas em embalagens plásticas até o momento da análise. A determinação do teor de matéria mineral (MM) foi realizada segundo método descrito pela AOAC (1990).

A composição bromatológica das silagens foi determinada na forma de química líquida para os teores de proteína bruta e fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, lignina e extrato etéreo. O teor de proteína bruta (PB) foi determinado pelo método de Dumas, que consiste da combustão das amostras na presença de catalizador (óxido cúprico) e oxigênio. O nitrogênio presente nas amostras é convertido a NO_2 , que sofre redução a N_2 . A determinação do nitrogênio é feita por condutividade térmica. Utilizou-se equipamento autoanalisador de nitrogênio, marca LECO modelo FP-528, segundo os métodos descritos por Wiles; Gray; Kissling (1998). As concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram realizadas através do método sequencial proposto pela ANKOM® Fiber Analyser (ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY) e

descrito por Holden (1999), para determinação da FDN utilizou-se amilase termoestável e sulfito de sódio. A determinação da lignina foi realizada por meio do método da lignina em detergente ácido, no qual a amostra anteriormente utilizada para a determinação da fibra em detergente ácido (FDA) passa por digestão em solução de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 72%), que solubiliza a celulose. Assume-se que todo o resíduo é lignina. A celulose é determinada por diferença entre o material inicial e o resíduo obtido (VAN SOEST, 1963). O extrato etéreo (EE) foi determinado com base na extração a quente com éter de petróleo em extrator Soxhlet, por período de 6 horas (SILVA; QUEIROZ, 2002). O teor de matéria orgânica foi obtido por meio da equação: $MO = 100 - MM$; onde: MO = matéria orgânica e MM = matéria mineral, ambos em porcentagem.

Paralelamente às avaliações das silagens foi conduzido experimento de desempenho com vacas leiteiras. Retirou-se diariamente uma camada de aproximadamente 15 cm do painel de cada silo, sendo que o manejo de retirada era realizado duas vezes ao dia (6h00 e às 17h00). Primeiramente identificava-se visualmente a porção contendo contaminação fúngica da silagem, que em seguida era separada e removida. Na sequência eram computadas as quantidades (kg) das silagens consideradas aptas e inaptas ao consumo pelos animais, em cada um dos silos. As perdas decorrentes da deterioração foram expressas como porcentagem do total de silagem retirada.

3.2.6 Perdas de matéria seca e matéria orgânica

O experimento teve duração de 12 semanas, subdivididas em quatro períodos de 21 dias. Com exceção das perdas de matéria natural, na forma de silagem deteriorada, que eram quantificadas diariamente, as demais avaliações foram realizadas durante a última semana de cada período. As amostras de silagens consideradas aptas e deterioradas foram compostas e analisadas quanto ao teor de MS e MM, segundo AOAC (1990). Com a análise do teor de cinzas das silagens, foi realizado o cálculo do quanto representou a porção mineral da silagem deteriorada (MMd) em relação à porção mineral total (MMt), bem como, a elevação do teor de cinzas da silagem deteriorada (MMd) em relação a silagem normal (MMn). As perdas

de matéria orgânica da porção superior do silo foram realizadas conforme equação proposta por Dickerson et al. (1992):

$$PMO_{\text{topo}} = (1 - ((MMn \times MOd) / (MMd \times MOn))) \times 100$$

Onde:

PMO_{topo} = perdas de matéria orgânica no topo (%); MMn = matéria mineral proveniente da silagem normal (%); MMd = matéria mineral proveniente da silagem deteriorada (%); MOn = matéria orgânica proveniente da silagem normal (%); MOd = matéria orgânica proveniente da silagem deteriorada (%).

3.2.7 Temperatura dos painéis dos silos

Durante os sub-períodos destinados à coleta foram realizadas avaliações da temperatura do painel dos silos. Aferiu-se as temperaturas em 7 vetores verticais (0, 10, 20, 30, 50, 100 e 150 cm no sentido da superfície em contato com o filme para o fundo do painel) e 5 vetores horizontais (0, 60, 120, 180 e 240 cm no sentido da parede lateral para o centro do painel), totalizando 35 coordenadas por silo (Figura 3). Utilizaram-se termômetros de bulbo para medição das temperaturas, sendo que os mesmos eram posicionados perpendicularmente em relação ao painel do silo a cerca de 10 cm de profundidade. Esta metodologia foi adaptada do modelo proposto por Borreani; Tabacco, (2009), na qual foi sugerida a coleta em 77 coordenadas do painel do silo. Em função da quantidade de silos a serem avaliados e do tempo gasto nas medições, as coordenadas foram reduzidas para 35, sendo coletadas em apenas uma das metades (esquerda ou direita) do painel. A partir das leituras de temperatura foram geradas imagens termográficas dos painéis, com o auxílio do software Golden Software Surfer 11.0, para cada período de avaliação, bem como para a média de temperatura de cada silo.

Figura 3 - Representação esquemática das coordenadas de pontos de coleta de temperatura, unidade em centímetros (cm)

3.2.8 Perfil microbiano das silagens

Foram coletadas 3 amostras (TL: 20 cm do topo e 40 cm da parede lateral; TC: 20 cm do topo; C: 80 cm do topo) de silagem de cada um dos silos (Figura 4) para a determinação da composição bromatológica e contagem da população de fungos filamentosos, leveduras e bactérias ácido-láticas. Este procedimento foi realizado durante a semana de coleta de cada um dos períodos.

Para as contagens de microrganismos foram pesados 25 g de silagem fresca em sacos plásticos juntamente com 225 mL de solução salina (2,25g NaCl, 0,105g de KCl, 0,9g de CaCl₂ dihidratado e 0,05g de NaHCO₃) e homogeneizada durante quatro minutos em velocidade de 150 rpm por meio do equipamento Lab-Blender Stomacher 400 (Steward Laboratory, London). A partir dos extratos diluídos e filtrados em gaze foram realizadas as demais diluições (10^{-2} a 10^{-6}) e o plaqueamento em meio seletivo (Petrifilm 3M[®] AC e YM). Após o plaqueamento os filmes foram armazenados em incubadora (BOD) com temperatura controlada, sendo aqueles para crescimento de bactérias ácido lácticas incubados por 48 horas a 32°C e os filmes para crescimento de leveduras e fungos incubados por 72 e 120 horas, respectivamente, a 23°C. As contagens de microrganismos foram expressas

como unidades formadoras de colônias por grama de silagem e convertidos em logaritmo na base 10.

Figura 4 - Representação do pontos de coleta de amostras para a determinação da composição bromatológica, perfil fermentativo e contagem de microrganismos

TL: Topo lateral; **TC:** Topo central; **C:** Centro

As placas Petrifilm® (Figura 5) consistem basicamente de cartões de papel quadriculados revestidos de polietileno recoberto com nutrientes desidratados e gel hidrossolúvel a frio, protegidos por filme plástico recoberto internamente pelo mesmo gel e corante indicador de trifeniltetrazólio (TCC) nas placas para crescimento de bactérias. Ao adicionar um mL de amostra, os nutrientes se hidratam e o gel se solidifica. Com auxílio de difusor específico, delimita-se a área de solidificação em 20cm² para placas de bactérias e 30cm² nas placas de leveduras e fungos. Após a solidificação (aproximadamente um minuto) as placas estão prontas para serem incubadas. As bactérias reduzem o TCC por meio de enzimas, formando o composto denominado formazan, que se acumula no interior das células e se torna vermelho, facilitando as contagens (SANT'ANA; AZEREDO, 2005).

Utilizou-se placas Petrifilm® com a finalidade de facilitar a condução das análises e diminuir as contaminações em placas convencionais, devido às dificuldades no preparo de meio de cultivo e maior exposição ao ambiente quando foram utilizados protocolos convencionais. A metodologia para contagem de bactérias e leveduras utilizando Petrifilm® não apresenta diferenças em relação à

metodologia tradicional em placas e meio de cultivo líquido (KNIGHT et al., 1997; BEUCHAT et al., 1998, SANT'ANA; AZEREDO, 2005).

Figura 5 – Placa Petrifilm® para contagem de bactérias ácido lácticas

3.2.9 Carboidratos solúveis

A concentração de carboidratos solúveis (CHO_{sol}) nas amostras de silagens foi determinada em extrato alcoólico, pelo método fenol-sulfúrico (HALL, 2000). Para a obtenção do extrato alcoólico foram pesados $0,500 \pm 0,002$ g de amostra seca e moída em peneira com diâmetro de 1,0 mm em balões do tipo *erlenmeyer*, adicionou-se 100 ± 2 mL de solução alcoólica (solução etanol 80%). As bocas dos balões foram vedadas e em seguida os mesmos foram submetidos à agitação durante 4h. Após o período de agitação os extratos foram filtrados em papel de filtro qualitativo e armazenados em tubos para microcentrifuga de 2,0 mL a 20°C negativos. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro Janway 6305, com $\lambda=490$ nm.

3.2.10 Extrato aquoso das silagens

A partir das amostras das silagens frescas foram preparados os extratos aquosos, de acordo com metodologia proposta por Kung Jr et al. (1984). O pH das amostras foi medido com pHmetro digital Digimed® DM-20. Para análise dos ácidos

graxos voláteis (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico), 800 µL do extrato aquoso da silagem, juntamente com 200 µL de ácido fórmico e 100 µL de padrão interno foram transferidos para um frasco de vidro (*vials*). A leitura foi realizada em cromatógrafo líquido gasoso, CLG (Hewlett Packard® 5890, series II) (PALMQUIST; CONRAD, 1971).

A determinação da concentração de ácido láctico foi realizada por método colorimétrico, proposto por Pryce (1969). O aumento das concentrações da curva padrão, 10 vezes maior do que a sugerida foi necessária devido à elevada concentração de ácido láctico proveniente de silagem, frente ao tipo de amostra utilizada na metodologia original (plasma sanguíneo e urina). A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro Janway 6305, com $\lambda=565$ nm.

O nitrogênio amoniacal foi determinado por colorimetria, com base na metodologia descrita por Chaney; Marbach, (1962), adaptada para amostras de silagens. Esta metodologia tem por base a reação da amônia presente nas amostras com soluções de hipoclorito e fenol, utiliza-se como catalizador o nitroprussiato diidratado, levando à formação de indofenol. A concentração de amônia é proporcional à absorbância de indofenol. A leitura das amostras foi realizada em leitor de microplacas Asys® Expert Plus, com filtro de 550 nm.

3.2.11 Análises estatísticas

O delineamento utilizado para avaliar as características fermentativas da silagem foi o de blocos casualizados, com parcelas sub-divididas. Os dados foram submetidos à análise de variância e suas médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de significância utilizando o PROC MIXED do software estatístico SAS.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Características da forragem no momento da ensilagem

Na Tabela 1 estão apresentados os dados referentes à forragem no momento da ensilagem para caracterização da forragem utilizada. O estágio de maturidade da planta no momento da colheita é um dos principais determinantes da qualidade da silagem de milho (FILYA, 2004). Grandes variações no valor nutritivo da planta de milho ocorrem nos estádios iniciais de maturidade, onde há baixo teor de MS e alto conteúdo de CHO_{sol}; com a formação da linha negra na base do grão o teor de MS se torna elevado, por outro lado ocorre queda acentuada no teor de CHO_{sol} em decorrência do acúmulo de amido (JOHNSON et al. 1999). O amido é a maior fonte de energia na silagem de milho, contribuindo com 50 a 70 % da digestibilidade da matéria orgânica, seu teor na silagem é variável em função da proporção de grãos na silagem. (MARTIN et al., 2008).

Tabela 1 - Características da forragem no momento da ensilagem

Variável ¹	Tratamentos ²		
	ET _{NC}	ET _C	ET+AD _{NC}
MS %	35,28	36,24	36,66
MM, %MS	1,60	1,50	2,10
PB, %MS	7,09	6,94	7,16
FDN, %MS	51,80	51,39	53,52
FDA, %MS	36,06	35,91	35,70
EE, %MS	2,28	2,35	2,29
pH	5,86	5,94	5,84
CHO _{sol} , %MS	5,43	5,97	5,72
Amido, %MS	23,12	22,79	22,21
DVIVMO, %MS	60,20	59,74	59,25

¹MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido; EE: extrato etéreo; pH: potencial hidrogeniônico; TMP: tamanho médio de partículas; CHO_{sol}: carboidratos solúveis; DVIVMO: digestibilidade verdadeira in vitro da matéria orgânica. ²ET_{NC}: filme de polietileno dupla face (200 µm); ET_C: filme de polietileno dupla face (200 µm) recoberta por 10 cm de bagaço de cana; ET+AD_{NC}: filme co-extrudado de polietileno e poliamida (125 µm).

A recomendação do ponto de colheita da planta de milho para a ensilagem é quando a planta atinge entre 32 e 35% de MS (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). O ponto ideal de colheita corresponde àquele em que a planta apresenta maior produção de matéria seca digestível por hectare e teor de umidade que propicie a ocorrência de um processo de fermentação satisfatório (NUSSIO;

SIMAS; LIMA, 2000). No presente estudo a média obtida foi de 36,06% de MS, ainda contido no limite superior ao ponto considerado ideal. A forragem colhida com baixo teor de matéria seca (abaixo de 28 %) favorece o desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium*, enquanto que, a colheita da planta com alto teor de matéria seca acarreta dificuldade de compactação e, conseqüentemente, aumento da porosidade da massa; a menor densidade permite que mais oxigênio fique aprisionado no interior do silo, ocasionando o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e perda de qualidade (NUSSIO; SIMAS; LIMA, 2000).

Bal; Coors; Shaver (1997) obtiveram valores médios de 7,1% de proteína bruta quando a planta atingiu 2/3 da linha do leite. Filya (2004) encontrou valores médios de 48,4, 28,8, 6,2 e 4,1% da MS para fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, proteína bruta e matéria mineral. No presente trabalho, para estas variáveis, encontrou-se 52,4, 35,89, 7,06 e 1,83% da MS, respectivamente, o que pode ser considerado como valores normais aos esperados.

O teor de CHO_{sol} pode ter relação com o teor de matéria seca, fato que é explicado devido à grande demanda metabólica durante o enchimento dos grãos (NUSSIO; SIMAS; LIMA, 2000), de modo que com teores mais elevados de matéria seca são esperados menores teores de CHO_{sol}. Diversos autores (JOHNSON et al., 2003; FILYA 2004; FILYA et al., 2006) apontam para teores de carboidratos solúveis entre 3 e 10 % da matéria seca, na forragem fresca, quando o milho é colhido no estágio de 2/3 da linha do leite. No presente trabalho, o milho colhido apresentou teor médio de CHO_{sol} de 5,71 % da matéria seca, que se enquadra aos padrões nacionais.

O teor de amido aumenta com a maturidade da planta e enchimento de grãos, entretanto a digestibilidade torna-se menor em virtude da maior vitreosidade do endosperma (MARTIN et al., 2008). No presente estudo, apesar do elevado teor de matéria seca, observou-se teor médio de amido da ordem de 22,70% da MS, típico para híbridos nacionais com bom desempenho agrônômico. Antoniali et al. (2003) em experimento onde avaliaram cultivares de milho para a produção de silagens obtiveram valores médios de 17,4% de amido, para plantas de milho colhidas nos estádios de desenvolvimento entre 1/3 e 2/3 da linha do leite. Rodrigues et al. (2004), por sua vez, observaram média superior a 30 %, em comparação de diferentes híbridos. Como visto, os dados apresentados mostram uma grande variação, superior a 10 %, isto pode ser explicado pela variação na proporção de

grãos no material ensilado, que é influenciado principalmente pelo híbrido utilizado e as condições agrônômicas de cultivo. Contudo, o amido é um importante nutriente, e híbridos que apresentem maior proporção de grãos devem ser considerados para a confecção de silagens.

Os valores de pH encontrados (5,88) estão coerentes com os valores reportados por Filya; Sucu; Karabulut (2006) de 5,94, por Filya (2004) de 5,86 e por Driehuis; Oude Elferink; Spoelstra (1999) de 5,87 em planta de milho colhidas com teores de matéria seca semelhante à do presente estudo.

3.3.2 Composição química das silagens

Na Tabela 2 estão apresentadas as variáveis relacionadas com o valor nutritivo das silagens em função dos tratamentos e do local de amostragem. Não foi verificada diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para nenhuma das variáveis relacionadas à composição química das silagens. Os valores médios encontrados foram: 31,07% de matéria seca, 4,45% de matéria mineral, 6,83% de proteína bruta, 52,01% de fibra em detergente neutro, 36,66% de fibra em detergente ácido, 23,20% de amido, 27,82% de celulose, 16,15% de hemicelulose, 37,49% carboidratos não fibrosos, 5,65% de nitrogênio indisponível e 60,09% de digestibilidade verdadeira in vitro da matéria orgânica, valores típicos para silagens nacionais (VALADARES FILHO et al., 2006)

Com relação ao local de amostragem no silo, verificou-se diferença para os teores de matéria seca ($P < 0,05$), fibra em detergente ácido ($P < 0,001$) amido ($P < 0,05$), hemicelulose ($P < 0,05$) e digestibilidade verdadeira in vitro da matéria orgânica ($P < 0,05$). Com exceção do teor de fibra insolúvel em detergente ácido, que apresentou maiores valores nas regiões periféricas, provavelmente devido ao maior aquecimento na face externa, as demais variáveis apresentaram maiores valores na região central do silo, sugerindo que houve preservação dos nutrientes.

Tabela 2 - Composição química de silagens de milho sob diferentes estratégias de vedação

Variável ¹	Tratamentos ²									EPM ³	P ⁴		
	ET _{NC}			ET _C			ET+AD _{NC}				Trat	Loc	Trat x Loc
	C	TC	TL	C	TC	TL	C	TC	TL				
MS, %	32,67	30,81	30,51	32,69	30,66	28,47	31,88	31,57	30,38	0,64	0,47	<0,01	0,17
MM, % MS	4,11	4,06	3,89	4,08	4,48	4,44	5,07	5,06	4,87	0,37	0,25	0,59	0,43
PB, % MS	6,81	7,01	7,04	6,92	6,49	6,69	6,63	6,97	6,89	0,18	0,33	0,85	0,33
FDN, % MS	51,03	52,01	52,64	49,36	55,49	54,55	49,32	51,53	52,18	1,31	0,16	0,01	0,28
FDA, % MS	36,08	36,25	36,83	35,10	38,34	38,03	35,98	36,11	37,18	0,79	0,44	0,05	0,27
EE, % MS	2,27	2,19	2,28	2,25	2,14	2,24	2,32	2,21	2,21	0,06	0,61	0,07	0,74
AMIDO, % MS	23,61	23,18	22,90	24,38	20,71	22,16	25,31	23,48	23,12	1,02	0,19	0,03	0,48
NFDA, % MS	5,17	5,86	5,56	5,33	6,12	6,04	5,13	5,65	5,96	0,22	0,29	0,003	0,71
CNF, % MS	38,59	37,42	36,61	40,50	34,29	34,72	40,47	37,71	37,11	1,27	0,18	0,001	0,25
CEL, % MS	27,81	27,50	28,00	26,38	29,37	28,77	27,32	27,26	27,93	0,67	0,50	0,13	0,13
HEMI, % MS	16,00	16,23	16,62	15,09	16,73	17,42	15,56	15,36	16,40	0,58	0,37	0,01	0,24
MO, % MS	95,89	95,94	96,12	95,92	95,52	95,56	94,94	94,94	95,13	0,37	0,25	0,59	0,43
DVIVMS, % MS	60,43	59,69	60,58	61,14	59,38	58,90	61,88	60,84	58,06	0,76	0,77	0,001	0,01

¹MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido; N-FDA: nitrogênio indisponível; CNF: carboidratos não fibrosos; CEL: celulose; HEMI: hemicelulose; DVIVMS: digestibilidade verdadeira in itro da matéria seca. ²ET_{NC}: filme de polietileno dupla face (200 µm); ET_C: filme de polietileno dupla face (200 µm) recoberto por 10 cm de bagaço de cana; ET+AD_{NC}: filme co-extrudado de polietileno e poliamida (125 µm); C: centro; TC: topo central; TL: topo lateral. ³EPM: erro padrão da média; ⁴Trat: tratamento; Loc: local de amostragem; Trat x Loc: interação entre tratamento e local de amostragem.

Os teores de MS e MM situaram-se próximos à média nacional das silagens de milho (30,92 % MS e 4,79 % MM) (VALADARES FILHO et al., 2006). A redução no teor de matéria seca em relação à forragem fresca é decorrente do processo respiratório da planta e do metabolismo dos microrganismos anaeróbios durante a ensilagem. Esses microrganismos são responsáveis pelo consumo de açúcares, produzindo CO₂, água e calor. A grande diferença entre os teores de matéria seca se deve, provavelmente, ao fato de ter ocorrido fermentação heterolática, com produção de dióxido de carbono. Do ponto de vista de perdas de matéria seca, esse tipo de fermentação é indesejável, por outro lado o ácido acético apresenta propriedades inibidoras ao desenvolvimento de leveduras no painel. O teor de matéria seca da região central do silo foi superior aos das regiões periféricas, isto demonstra que na região central ocorre maior preservação dos nutrientes, principalmente pela maior facilidade de compactação, proporcionando menor porosidade da massa, e pela distância do filme, o que torna a silagem menos susceptível à perdas em função de trocas gasosas. Além disso, a temperatura das amostras provenientes deste local, normalmente, é menor que na periferia do silo.

Os teores de PB foram superiores aos encontrados por PEREIRA et al. (2007), que avaliaram diferentes híbridos de milho (AG122, AG9090, AG5011, DOW766 e DKB747) e obtiveram média de 6,52%. As perdas da fração proteica podem ser atribuídas às enzimas proteolíticas da planta, que agem no início da ensilagem, até que elas se tornem inativas em função do abaixamento do pH, também ocorrem perdas em virtude da atividade de microrganismos proteolítico, principalmente do gênero *Clostridium*, que são ativos em ambiente anaeróbio.

Os teores de FDN e HEM apresentaram-se abaixo do encontrado por VALADARES FILHO et al. (2006) que foram de 55,41, 23,71, respectivamente. Entretanto, os teores de FDA e CEL foram superiores aos encontrados pelos referidos autores, que verificaram 30,63% de FDA e 24,94% de CEL. Os teores de FDN nas silagens ficaram muito próximos aos obtidos com a forragem fresca, normalmente, espera-se elevação da fração FDN em razão do desaparecimento dos compostos solúveis, dessa forma há um aumento proporcional desta fração. Quanto ao local de amostragem, houve tendência de redução nos teores de FDN e FDA para a região central do silo, que foi melhor preservada.

Os valores de amido, hemicelulose e digestibilidade verdadeira in-vitro da matéria orgânica foram superiores para as silagem provenientes do centro dos silos,

com valores inferiores para as regiões topo central e topo lateral, enquanto que o comportamento para a variável fibra em detergente ácido foi inverso. Estes resultados dão suporte à ideia de que a silagens provenientes da região central dos silos apresentam maior qualidade em relação à região periférica.

Os teores de FDN e HEM apresentaram-se abaixo do encontrado por VALADARES FILHO et al. (2006) que foram de 55,41, 23,71, respectivamente. Entretanto, os teores de FDA e CEL foram superiores aos encontrados pelos referidos autores, que verificaram 30,63% de FDA e 24,94% de CEL.

Os valores de matéria seca, amido, hemicelulose e digestibilidade verdadeira in-vitro da matéria orgânica foram superiores para as silagem provenientes do centro dos silos, com valores inferiores para as regiões topo central e topo lateral, enquanto que o comportamento para a variável fibra insolúvel em detergente ácido foi inverso. Estes resultados provavelmente se devem à deterioração mais intensa ocorrida na região periférica dos silos.

3.3.3 Perdas de matéria seca e de matéria orgânica

Na Tabela 3 estão apresentados os indicadores de deterioração aeróbia das silagens ao longo do período de descarregamento. As quantidades de silagens descartadas, com base na matéria seca e na matéria verde foram diferentes ($P < 0,001$) entre os tratamentos. O tratamento ET_C apresentou menores quantidades de silagem descartada, enquanto que os tratamentos ET_{NC} e $ET+AD_{NC}$ apresentaram perdas semelhantes, tanto para MS quanto para MN. O tratamento ET_C apresentou perdas de 3,18 e 3,64%, em matéria seca e matéria natural respectivamente, que foram em média 3,42 e 4,43 pontos percentuais menores que a média dos demais tratamentos. Durante as 12 semanas de avaliação a quantidade de silagem descartada foi de 1384, 2226 e 2804 kg de matéria natural para os tratamentos ET_C , ET_{NC} e $ET+AD_{NC}$, respectivamente, portanto a proteção adicional oferecida pelo bagaço de cana foi efetiva em evitar as perdas tanto de matéria seca, quanto de matéria verde. Benardes et al., (2009) testaram a efetividade de algumas estratégias de vedação objetivando a redução nas perdas nas camadas periféricas. As menores perdas foram observadas onde sobre o filme plástico colocou-se cerca de 100 kg de terra por m^2 . isso se deve à maior adesão do filme sobre a forragem, evitando a

entrada de oxigênio, e também à menor temperatura observada quando se utiliza esta técnica. O efeito da utilização de bagaço de cana é, provavelmente, semelhante.

A razão entre material mineral da porção deteriorada da silagem e silagem total apresentou diferença ($P < 0,001$) entre os tratamentos. O tratamento ET_C apresentou menor valor para esta relação; os demais tratamentos (ET_{NC} e ET+AD_{NC}) foram semelhantes.

Tabela 3 - Indicadores de perdas das silagens ao longo do armazenamento e do desabastecimento dos silos

Variável ¹	Tratamentos ³			EPM ⁴	Efeito ⁵
	ET _{NC}	ET _C	ET+AD _{NC}		
Silagem deteriorada, %MS	5,95 ^b	3,18 ^a	7,25 ^b	0,76	**
Silagem deteriorada, %MV	7,37 ^b	3,64 ^a	8,76 ^b	0,91	**
MMd/MMt, %	10,79 ^b	4,39 ^a	11,02 ^b	1,15	**
Aumento MMd/MMn, %	51,30 ^b	24,15 ^a	37,16 ^{ab}	4,96	*
Perdas de MO, % ²	34,56 ^b	19,28 ^a	26,72 ^{ab}	2,86	*

¹MS: matéria seca; MV: matéria verde; MMd: matéria mineral da porção de silagem deteriorada; MMn: matéria mineral da porção de silagem normal; MMt: somatório de MMd+MMn; MO: matéria orgânica; ²Dickerson et al. (1992); ³ ET_{NC}: filme de polietileno dupla face (200 µm); ET_C: filme de polietileno dupla face (200 µm) recoberta por 10 cm de bagaço de cana; ET+AD_{NC}: filme co-extrudado de polietileno e poliamida (125 µm); ⁴EPM: erro padrão da média; ⁵ **P<0,001; *P<0,05; NS: não significativo.

Segundo Bolsen (1997) o teor de matéria mineral pode se elevar caso ocorra perdas de matéria orgânica, pois havendo o consumo da matéria orgânica a porção mineral se tornará proporcionalmente maior. De acordo com este mesmo autor este fato só é perceptível em caso de deterioração intensa. Houve diferença ($P < 0,05$) para as perdas de matéria orgânica e para o aumento da concentração de matéria mineral da silagem deteriorada em relação à concentração de matéria mineral da silagem normal. Os tratamentos ET_{NC} e ET+AD_{NC} apresentaram maiores aumentos da matéria mineral da porção deteriorada em relação à silagem normal e, também, maiores perdas de matéria orgânica. O tratamento ET_C apresentou menores valores para ambas variáveis, possivelmente em função da proteção adicional proporcionada pelo bagaço de cana, que aumenta a adesão do filme plástico à massa, além de reduzir a incidência da radiação solar sobre o filme, permitindo a manutenção de menor temperatura na superfície e, conseqüentemente, menor permeabilidade do filme ao oxigênio. Além disso, a menor exposição do filme à radiação solar poderia aumentar sua vida útil.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores de recuperação de matéria seca (RMS) das silagens em função do tratamento. Não foi verificada diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 4 – Recuperação de matéria seca de silagens de milho em função do método de vedação e local de amostragem

Variável ¹	Tratamentos ²			EPM ³
	ET _{NC}	ET _C	OS	
RMS, %	88,94	88,69	86,31	2,02

¹RMS: recuperação de matéria seca; ² ET_{NC}: filme de polietileno dupla face (200 µm); ET_C: filme de polietileno dupla face (200 µm) recoberta por 10 cm de bagaço de cana; ET+AD_{NC}: filme co-extrusado de polietileno e poliamida (125 µm); ²EPM: erro padrão da média; ³EPM: erro padrão da média.

Segundo MUCK (1993) a ação de bactérias lácticas homofermentativas, como *Lactobacillus plantarum*, inibe o aparecimento de microrganismos indesejáveis, reduzindo as perdas e promovendo maior recuperação de matéria seca. Kleinschmit; Kung Jr (2006), em estudo de meta-análise encontraram valores de RMS, para silagens de milho sem inoculantes, próximos a 95 %. No presente estudo houve produção de ácido acético demasiadamente elevada, que caracteriza ocorrência de fermentação heterolática, que pode ter contribuído para o valor de RMS relativamente baixo.

3.3.4 Temperatura dos painéis dos silos

A avaliação das temperaturas das silagens em função do tratamento e local de amostragem é apresentada na Figura 6. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Entretanto, houve diferença ($P < 0,05$) entre os locais de amostragem, sendo que a região central dos silos apresentou menor temperatura que o topo central e topo lateral, que foram semelhantes entre si ($P > 0,05$). Ao relacionar a temperatura e teor de ácidos orgânicos, as regiões que apresentaram maiores temperaturas, apresentaram também menores teores de ácidos orgânicos ($P < 0,05$), embora não tenha havido diferença na contagem de microrganismos e pH.

Após a abertura do silo, a presença de oxigênio estimula microrganismos espoliadores a utilizar os nutrientes da silagem como substrato para seu desenvolvimento (ASHBELL; LISKER, 1988). Ácido láctico, ácido acético e

carboidratos solúveis são as principais fontes de energia para os microrganismos (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). A oxidação destes nutrientes resulta na produção de dióxido de carbono e água, com elevação na temperatura e pH (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Em função desta oxidação ser associada com geração de calor, a temperatura pode ser um indicativo da intensidade da deterioração (HONIG; WOOLFORD, 1980; BORREANI; TABACCO, 2009).

A silagem é considerada deteriorada quando no mínimo 10% da superfície do painel apresenta temperatura superior a 10°C em relação à temperatura da região central do silo, ou quando apresenta fungos visíveis nas camadas periféricas próximas às paredes laterais (BORREANI; TABACCO, 2009).

Figura 6 - Temperaturas de silagens de milho em função do método de vedação e da localidade da silagem no painel do silo

ET_{NC}: filme de polietileno dupla face (200 µm); ET_C: filme de polietileno dupla face (200 µm) recoberta por 10 cm de bagaço de cana; ET+AD_{NC}: filme co-extrudado de polietileno e poliamida (125 µm)

Na figura 7 são apresentadas as temperaturas médias dos quatro períodos de avaliação dos silos experimentais. As temperaturas médias mensuradas para as regiões centrais (core) dos silos foram 25,5, 24,5 e 24,8°C para os tratamentos ET_{NC}, ET_C e ET+AD_{NC}, respectivamente.

Figura 7 – Temperatura média de silagens de milho vedada com **(a)** filme de polietileno dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 200 μm de espessura; **(b)** filme de polietileno dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 200 μm de espessura com adição de uma camada de 10 cm de espessura de bagaço de cana por toda a extensão do filme e **(c)** filme co-extrusado de polietileno e poliamida, dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 125 μm de espessura

As áreas dos painéis com temperaturas superiores a 10°C em relação à região central foram de 9,66, 4,37 e 1,00% para os tratamentos ET_{NC}, ET_C e ET+AD_{NC}, respectivamente. Todos os tratamentos apresentaram menos de 10% da área de painel com temperaturas superiores a 10°C em relação ao centro do silo, porém apresentaram fungos visíveis nas regiões periféricas próximas à parede do silo.

3.3.5 Perfil microbiano e padrão fermentativo das silagens

Na Tabela 5 estão apresentadas as características microbiológicas das silagens em função dos tratamentos e dos locais de amostragem. Não foi observada diferença na contagem de microrganismos em função dos tratamentos ($P > 0,05$), porém quando se considera o local de amostragem houve diferença ($P < 0,001$) na contagem de bactérias ácido lácticas, sendo que a posição topo lateral apresentou maior contagem, os demais locais foram semelhantes entre si.

O crescimento ativo das bactérias ácido lácticas (BAL) ocorre de 1 a 4 semanas, ao final deste período os valores de pH normalmente ficam ao redor de 3,8 a 4,2. As BAL tem seu desenvolvimento limitado pelo baixo pH ou falta de substrato para produção de energia (MUCK; PITT; LEIBENSPERGER, 1991).

No presente estudo obteve-se valor médio de 5,48 log₁₀ ufcxg⁻¹ de silagem, para silagens com período de armazenamento variando de 63 a 147 dias, valor semelhante ao encontrado por Nishino et al. (2004), que trabalhando com silos de pequena escala observaram que a população de BAL, após 60 dias de fermentação, sofreu declínio (8,05 para 5,72 log₁₀ ufcxg⁻¹ de silagem). Amaral et al. (2012), encontraram população de BAL variando de 5,29 (centro do silo) a 5,90 (regiões periféricas) log₁₀ ufcxg⁻¹ de silagem, enquanto que no presente estudo as amostragens das regiões centrais e periféricas (topo central e topo lateral) proporcionaram contagens médias de 5,85 e 4,76 log₁₀ ufcxg⁻¹ de silagem, respectivamente.

Para contagem de fungos filamentosos houve diferença ($P < 0,001$) entre os locais de amostragem, topo lateral e topo central foram semelhantes, enquanto que a posição central apresentou menores contagens. A contagem de leveduras não foi influenciada pelo tratamento ($P > 0,05$) ou local de amostragem ($P > 0,05$).

Tabela 5 - Características microbiológicas ($\log_{10}$ ufc/g) e fermentativas de silagens de milho sob estratégias de vedação

Variável ¹	Tratamentos ²									EPM ³	<i>P</i> ⁴		
	ET _{NC}			ET _C			ET+AD _{NC}				Trat	Loc	Trat x Loc
	C	TC	TL	C	TC	TL	C	TC	TL				
BAL	6,13	5,07	4,06	6,26	5,56	5,21	6,65	5,40	5,03	0,46	0,13	< 0,01	0,56
F. Filamentosos	3,20	3,18	4,34	2,90	3,23	4,09	2,90	3,23	4,09	0,55	0,51	0,05	0,68
Leveduras	3,35	3,85	3,76	3,28	3,20	3,91	4,07	2,90	3,37	0,49	0,76	0,49	0,20
CHOsol	1,14	1,17	1,06	1,61	0,99	1,29	1,10	1,08	1,24	0,23	0,62	0,34	0,29
pH	3,76	3,80	3,91	3,81	3,96	3,89	3,90	4,00	4,05	0,10	0,18	0,17	0,85
Ác láctico	6,03	5,07	3,39	6,04	2,79	3,60	4,39	3,68	2,15	1,17	0,36	0,05	0,69
Ác acético	4,59	4,30	3,93	4,81	4,45	4,24	5,01	4,27	3,76	0,23	0,13	0,01	0,38
Ác prop	0,40	0,54	0,52	0,71	0,40	0,47	0,56	0,51	0,66	0,12	0,38	0,23	0,43
Ác isobutírico	0,54	0,51	0,08	0,43	0,43	0,35	0,37	0,33	0,11	0,09	0,29	0,01	0,31
Ác butírico	0,24	0,06	0,10	0,48	0,08	0,36	0,08	0,08	0,27	0,16	0,49	0,38	0,77
Ác isovalérico	0,04	0,01	0,05	0,14	0,02	0,10	0,09	0,02	0,08	0,05	0,57	0,26	0,95
Ác valérico	0,02	0,01	0,02	0,15	0,02	0,12	0,01	0,02	0,09	0,05	0,33	0,47	0,72
Ác lat/Ác acét	1,31	1,18	0,89	1,07	0,63	0,85	0,88	0,86	0,58	0,27	0,19	0,02	0,55
AGV total	5,84	5,44	4,70	6,39	5,39	5,90	6,46	5,22	4,96	0,35	0,31	0,34	0,82
N-NH3 (% N Total)	7,50	5,41	4,44	8,14	8,39	6,53	6,18	4,97	4,80	1,36	0,08	0,07	0,71

¹BAL: bactérias ácido lácticas; F. Filamentosos: fungos filamentosos; CHO_{sol}: carboidratos solúveis; Ác Lat/Ác Acet: razão entre ácido lático e ácido acético; AGV: ácidos graxos voláteis. ²ET_{NC}: filme de polietileno dupla face (200 μ m); ET_C: filme de polietileno dupla face (200 μ m) recoberto por 10 cm de bagaço de cana; ET+AD_{NC}: filme co-extrudado de polietileno e poliamida (125 μ m); C: centro; TC: topo central; TL: topo lateral. ³EPM: erro padrão da média;

⁴Trat: tratamento; Loc: local de amostragem; Trat x Loc: interação entre tratamento e local de amostragem.

Borreani; Tabacco (2008) obtiveram contagem de leveduras que variaram de 1,60 a 3,05 $\log_{10}$ ufcxg⁻¹ de silagem, para a região central, enquanto que nas regiões periféricas a contagem foi de < 1,00 a 1,66 ufcxg⁻¹ de forragem, para silagens de milho vedadas com filme coextrusado de poliamida e polietileno e filme dupla-face de polietileno, a forragem foi amostrada no momento da abertura dos silos, que variou de 260 a 325 dias. Neste mesmo estudo, a população de fungos filamentosos foi em média de 1,26 ufcxg⁻¹ de silagem na região central, e de 1,39 a 5,07 para as regiões periféricas.

Sob condições de aerobiose, leveduras podem oxidar o ácido láctico, ocasionando a elevação do pH da silagem, possibilitando o desenvolvimento de outros microrganismos, como fungos. Portanto, as leveduras são consideradas responsáveis pelo início da deterioração aeróbia (NISHINO, 2011). Populações de leveduras podem aumentar de contagens inferiores a 10² para cerca 10¹² ufcxg⁻¹ de amostra em apenas 3 dias, entretanto o fator determinante para a deterioração aeróbia e o tamanho da população de leveduras no momento da exposição ao oxigênio. Silagens que apresentem contagens superiores a 10⁵ ufcxg⁻¹ de silagem são particularmente mais propensas à deterioração (et al., 1970; KUNG JR.; STOKES, 2001). Entretanto altas contagens de leveduras não necessariamente implicam que a silagem sofrerá deterioração, para que isto se confirme é necessário que as leveduras sejam capazes de metabolizar ácidos (WOOLFORD, 1990).

De acordo com Pitt; Muck (1993) as perdas de MS durante o desabastecimento de silos, em função da atividade microbiana, são potencializadas sob baixas taxas de descarregamento (< 10 cmxdia⁻¹). Dados mais recentes apontam que pode ocorrer influência da temperatura ambiental (BORREANI; TABBACO, 2012), de modo que sob condições de temperaturas ambientais mais elevadas a taxa de retirada deve ser maior. Segundo estes mesmo autores para temperaturas acima de 20°C, a taxa de desabastecimento deve ser superior a 30 cm por dia para que se evite a deterioração aeróbia após a abertura.

Todos os tratamentos e pontos de amostragem apresentaram contagens de leveduras inferiores ao nível considerado crítico (5,00 $\log_{10}$ ufcxg⁻¹ de silagem), isso pode ser atribuído ao manejo de painel, onde era retirado, no mínimo, a camada de 15 cm diariamente, de cada um dos silos. Além disso, as quantidades elevadas de ácido acético encontradas nas silagens (Tabela 5) podem ter contribuído para as baixas contagens de leveduras. Segundo Danner et al. (2003), o ácido acético é um

forte inibidor da atividade de leveduras, microrganismos precursores da degradação aeróbia de silagens, sendo esses responsáveis pelo consumo de açúcares no processo, liberando dióxido de carbono resultante de seu metabolismo (MOON, 1983; McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Segundo esses autores, a inoculação das silagens com bactérias heteroláticas, que produzem os ácidos acético e/ou propiônico, é uma boa possibilidade para elevar a estabilidade aeróbia de silagens.

As variáveis relacionadas com as características fermentativas das silagens em função dos tratamentos e do local de amostragem estão apresentadas na Tabela 5. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis fermentativas, sendo os valores médios de 3,90 para pH, 1,19% para CHO_{sol} , 4,13% para ácido láctico, 4,48% para ácido acético, 0,64% para ácido propiônico, 0,35% para ácido isobutírico, 0,19% ácido butírico, 0,06% para ácido isovalérico, 0,05% para ácido valérico, 5,77% para ácidos graxos voláteis totais, 0,92% para a razão ácido láctico: ácido acético e 6,26% para nitrogênio amoniacal em relação ao N total.

Com relação ao local de amostragem verificou-se diferença para ácido láctico ($P < 0,05$), ácido acético ($P < 0,001$) e ácido isobutírico ($P < 0,05$). Os maiores valores para estas variáveis foram observados no centro do silo (ácido láctico e ácido isobutírico) e no centro e topo central (ácido acético). O local de amostragem não influenciou as demais variáveis.

Durante a ensilagem ocorre a fermentação anaeróbia dos açúcares solúveis presentes na planta promovida por microrganismos, que obtém energia para seu crescimento e produção de ácidos orgânicos (ROOKE; HATFIELD, 2003), dessa forma ocorre redução no teor de CHO_{sol} quando se compara a planta fresca com a silagem. Arriola; Kim; Adesogan, (2011) obtiveram valor de carboidratos solúveis de 1,22 % da MS para silagens de milho ensiladas com 35,8 % de MS, enquanto que Filya (2004) observou teores de 1,30 % da MS para silagens de milho ensiladas com 37,1 % de MS. Os valores encontrados no presente estudo estão coerentes com os reportados na literatura, porém é importante ressaltar a ocorrência de chuvas durante a ensilagem, que ocasionou maior tempo de operação e, consequentemente, maior exposição da massa de forragem ao oxigênio, dessa forma o processo respiratório permaneceu ativo por mais tempo.

Huhtanen et al. (2002) obtiveram incrementos de 5,8 g na produção diária de leite e de 0,03 g no teor de gordura para cada $\text{g} \times \text{kg}^{-1}$ de matéria seca de aumento

nos níveis de CHO_{sol} . Portanto, a preservação desta fração deve ser uma meta a ser alcançada no processo de ensilagem.

Borreani; Tabacco e Cavallarin (2007) obtiveram valores de pH médios das regiões periféricas de 3,92 e 4,97, para silagens vedadas com filme coextrusado de poliamida (ET+AD_{NC}) e filme convencional de polietileno, respectivamente, enquanto que, naquele estudo, na região central o pH médio variou de 3,60 a 3,80 para ambos os tratamentos. Estes autores observaram que o filme ET+AD_{NC} foi efetivo na manutenção do baixo pH das regiões periféricas do silo.

Borreani; Tabacco (2008) testaram o efeito de diferentes filmes plásticos (filme coextrusado de poliamida e polietileno com 125 μm , e filme convencional dupla face de polietileno, 200 μm) sobre as características microbiológicas e perfil fermentativo em silagens de milho em duas fazendas comerciais e encontraram menores valores de pH (3,83) para silagens amostradas no centro do silo e de regiões periféricas cobertas com filme ET+AD_{NC}, enquanto que com filme convencional obteve-se pH de 4,05. No presente estudo os valores de pH não diferiram entre as silagens (média 3,97) permanecendo dentro do limite de 3,7 a 4,2 considerado adequado para silagens de milho (KUNG JR.; SHAVER (2001)

Segundo Kung Jr; Stokes, (2001) os teores médios de ácido láctico, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico, em silagens bem preservadas, são da ordem de 4,0 a 7,0%, 1,0 a 3,0%, < 0,1 e 0%, respectivamente. Na literatura encontra-se grande variação nestes teores, principalmente para ácido láctico (2,68 a 7,76 % da MS, BAL et al., (1999); RANJIT; KUNG JR, (2000); JOHNSON et al., (2002); JENSEN et al., (2005); SANTOS et al., (2009); AMARAL et al., (2012)) e ácido acético (0,57 A 3,63 % da MS, BAL et al., (1999); RANJIT; KUNG JR, (2000); JOHNSON et al., (2002); JENSEN et al., (2005); BASSO et al., (2009); BERNARDES et al., (2009); SANTOS et al., (2009); AMARAL et al., (2012)), os quais, normalmente, são encontrados em maiores quantidades. No presente estudo encontraram-se médias de 4,12, 4,48, 0,64 e 0,19 % da MS para ácido láctico, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico, respectivamente. Os valores obtidos estão coerentes com os reportados pela literatura. Os teores de ácido acético foram semelhantes ao de ácido láctico, o que evidencia a ocorrência de intensa fermentação heterolática. Normalmente a relação ácido láctico:ácido acético observada em silagens de milho é maior que 2:1 (WARD, 2000). Entretanto, este resultado é semelhante aos obtidos por Bernardes et al., (2009), que reportaram

teores de ácido acético de 3,23% da MS em silagens com 31,3 % de MS e Ward (2000), que encontrou, para silagens de milho com cerca de 30 a 32 % de matéria seca, teores de ácido acético da ordem de 3,2 % da matéria seca. Considerando o teor de matéria seca das silagens do presente estudo, os elevados teores de ácido acético obtidos estão coerentes, pois, segundo Nussio; Simas; Lima (2000), em silagens de milho observa-se que ocorre redução na concentração de ácidos orgânicos quando a matéria seca se eleva, por outro lado, pode ocorrer incremento na porcentagem de ácido lático em relação ao total de ácidos.

Em relação à origem do ácido acético, embora a fermentação predominante em silagens de milho seja a homolática, certas condições podem favorecer à ocorrência da fermentação heterolática. Segundo Oude Elferink et al. (2001) bactérias ácido acéticas são encontradas em silagens de milho e outros cereais, é necessário ambiente aeróbico para o desenvolvimento destes microrganismos, entretanto, cepas capazes de sobreviver em ambiente anaeróbico já foram identificadas (NISHINO, 2011). O principal gênero isolado de silagens é *Acetobacter*, embora sejam conhecidos pelo menos dez outros gêneros (YAMADA; YUKPHAN, 2008). A principal rota metabólica consiste da oxidação de etanol a ácido acético, entretanto, na ausência de etanol, são capazes de assimilar ácido lático e ácido acético, com produção de dióxido de carbono e água (NISHINO, 2011).

Quanto à síntese de proteína microbiana, os microrganismos ruminais obtêm pouca energia por meio da fermentação dos ácidos orgânicos presentes nas silagens, pois somente a fermentação do ácido lático gera ATP (CHAMBERLAIN, 1987; DOANE et al., 1996). A redução da proporção de ácido lático e aumento proporcional de outros ácidos orgânicos nas silagens limitam a síntese de proteína microbiana no rúmen e, conseqüentemente, o desempenho dos animais (NUSSIO; SIMAS; LIMA, 2000).

A degradação da proteína da planta durante a ensilagem é inevitável e resulta em alterações dos constituintes nitrogenados da planta ensilada, reduzindo o teor de proteína bruta quando comparada à forragem fresca (ROOKE; HATFIELD, 2003). Segundo Ferreira (2001), silagens de boa qualidade apresentam teor de nitrogênio amoniacal inferior à 10% do nitrogênio total. No presente estudo a média entre os tratamentos foi de 6,26% do nitrogênio total, semelhante aos resultados encontrados por Borreani; Tabacco; Cavallarin (2007), que obtiveram teores de N-NH₃ variando de 8,89 (para regiões periféricas) a 6,31% no nitrogênio total (região central do silo).

3.3.6 Conclusões

A adição de bagaço de cana sobre o filme de polietileno em cobertura do silo se mostrou eficiente em reduzir as perdas de matéria seca e de matéria orgânica, porém sem promover alterações na composição química da silagem.

A melhor vedação reduziu as diferenças nos parâmetros fermentativos e microbiológicos entre silagens amostradas na região central ou periférica do silos.

Referências

AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington: AOAC, 1990.

AMARAL, R.C.; DANIEL, J.L.P.; SÁ NETO, A.; BISPO, A.W.; LIMA, J.R.; CABEZAS-GARCIA, E.H.; ZOPOLLATTO, M.; SANTOS, M.C.; BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G. Influence of covering strategies on feed losses and fermentation quality of maize silage stored in bunker silos. In: KUOPPALA, K.; RINNE, M.; VANHATALO, A. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Hämeenlinna. **Proceedings...** Hämeenlinna, 2012. p. 290- 291.

ANTONIALI, M.; REIS, R.A.; MOREIRA, A.L.; SIMILI, F.F.; MARCELINO, H.A.B. Avaliação de cultivares de milho (*Zea mays* L.) para a produção de silagem: produção de matéria seca e análise morfológica. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria:SBZ, 2003. 1 CD-ROM

ASHBELL, G.; KASHANCI, Y. In silo losses from wheat ensiled in bunker silos in a subtropical climate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.40, p.95-103, 1987.

BAL, M.A.; COORS, J.G.; SHAVER, R.D. Impact of maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion and milk production. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.80, n.10, p.2497-2503, 1997.

BASSO, F.C.; BERNARDES T.F.; CASAGRANDE, D.R.; LODO, B.N.; ROTH, A.P.T.P.; REIS, R. A. Aerobic deterioration in corn silage sealed with oxygen barrier film under farm conditions. In: BRODERICK G.A., ADESOGAN A.T., BOCHER L.W., BOLSEN K. K.; CONTRERAS-GOVEA F.E., HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009. p. 211- 212.

BEUCHAT, L.R.; COPELAND, M.S.; CURIALE, T.; DANISAVICH, V.; GANGAR, B.W.; KING, T.L.; LAWLIS, R.O.; LIKIN, J.; OKWUSOA, C.F.; SMITH, TOWNSEND, D.E. Comparison of the simplate total plate count method with petrifilm, redigel, and conventional pour-plate methods for enumerating aerobic microorganisms in foods. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 61, n. 1, p.14-18, 1998.

BERNARDES, T.F.; AMARAL, R.C.; NUSSIO, L.G. Sealing strategies to control the top losses in horizontal silos. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro, 2009a, p. 190-209.

BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G.; AMARAL, R.C.; SCHOGOR, A.L.B. Sealing strategies to control the top losses of corn silage. In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K. K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009b. p. 213- 214.

BERZAGHI, P.; COZZI, G.; ANDRIGHETTO, I. The use of near infrared analysis for *in situ* studies. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.80, n.12, p.3263-3270, 1997.

BOLSEN, K.K. Issues of top spoilage losses in horizontal silos. In: _____
Silage: Field to the feedbunk, 1., 1997. Hershey, 2003. **Proceedings...Hershey:**
NRAES, 1997. p.251-304.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 90, p. 4701-4706, 2007.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Low permeability to oxygen of a new barrier film prevents butyric acid bacteria spore formation in farm corn silage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 91, n. 11, p. 4272-4281, 2008.

BORREANI, G.; TABACCO, E. A new oxygen barrier stretch enhances quality alfalfa wrapped silage. **Agronomy Journal**, Madison, v.100, n.10, p.942-948, 2008.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Temperature measurements of large scale silo face to asses aerobic deterioration of corn silage on farm. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro, 2009. p. 175-187.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Effect of silo management factors on aerobic stability and extent of spoilage in farm maize silages. In: KUOPPALA, K.; RINNE, M.; VANHATALO, A. (Ed.). INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Hämeenlinna. **Proceedings...** Hämeenlinna, 2012. p. 71- 72.

CAMPOS, F.P. de; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análise de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004. 135p.

CHAMBERLAIN, D.G. The silage fermentation in relation to the utilization of nutrients in the rumen. **Process Biochemistry**, Oxford, v.4, n.1, p.60-63, 1987.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Washington, v.8, p.130-137, 1962.

COZZOLINO, D.; ACOSTA, Y.; GARCIA, J. Application of near infrared reflectancy spectroscopy (NIRS) to forage evaluation in Uruguay. In: INTERNATIONAL GRASSLANDS CONGRESS, 19., 2001. São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 370.

DANIEL, P.; HONIG, H.; WEISE, F.; ZIMMER, E. The action of propionic acid in the ensilage of green fodder. **Das Wirtschaftseigene Futter**, Berlin, v. 16, p. 239-252, 1970.

DEGANO, L. Improvement of silage quality by innovative covering system. In: THE INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 12., 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala, 1999, p. 296-297.

DICKERSON, J.T.; ASHBELL, G.; BOLSEN, K.K.; BRENT, B.E.; PFAFF, L.; NIWA, Y. Top spoilage in horizontal silos in western Kansas. **Kansas Agricultural Experimental Station**, Manhattan v.1, p.71-74, 1992.

DOANE, P.H.; PELL, A.N.; SCHOFIELD, P.; PITT, R.E. Soluble carbohydrate in silage. In: PROCEEDINGS OF CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 1996, Rochester. **Proceedings...** Rochester, 1996, p. 115-120.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, W.H.; SPOELSTRA, S.F. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v.87, p. 583-594, 1999.

FERREIRA, J.J. Estágio de maturação ideal para ensilagem do milho e do sorgo. In: CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; RODRIGUES, J.A.S. et al. (Ed.). **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. p.405-428.

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.86, n. 11, p.3575-3581, 2003.

FILYA, I. Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage harvested at four stages of maturity. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.116, p.141-150, 2004.

FILYA, I.; SUCU, E.; KARABULUT, A. The effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v.101, p. 1216-1223, 2006.

HALL, M.B. **Neutral detergent-soluble carbohydrates, Nutritional relevance and analysis**: a laboratory manual. Gainesville: University of Florida, 2000. 42p. (Bulletin, 339).

HONIG, H. Reducing losses during storage and unloading of silage. In: PAHLOW, G; HONIG, H. (Ed.). **Forage conservation towards 2000**. Braunschweig: European Grassland Federation, 1991. p.116-128.

HUHTANEN, P.; NOUSIAIMEN, J. I.; KHALILI, H.; JAAKKOLA, S.; HEIKKILÄ, T. Relationships between silage fermentation characteristics and milk production parameters: analyses of literature data. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 81, p. 57-73, 2002.

JENSEN, C.; WEISBJERG, M.R.; NORGAARD, P.; HVELPLUND, T. Effect of maize silage maturity on site of starch and NDF digestion in lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.118, p.279-294, 2005.

JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; DAVIDSON, D.; MAHANNA, W.C.; SHINNERS, K.; LINDER, D. Corn silage management: Effects of maturity, inoculation, and

mechanical processing on pack density and aerobic stability. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 85, p. 434-444, 2002.

KLEINSCHMIT, D.H; KUNG, Jr. L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 88, p. 2130-2139, 2006.

KNIGHT, M.; NEWMAN, M.; BENZINGER, K.; NEUFANG, J.; AGIN, J.; MCALLISTER, J.S.; RAMOS, M. Comparison of the petrifilm dry rehydratable film and conventional culture methods for enumeration of yeasts and molds in foods: collaborative study. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 80, n. 4, p. 806-823, 1997.

KUNG JR., L. The aerobic stability of silages. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL PRODUCTION UNDER GRAZING, 2., 2008, Viçosa, . **Proceedings ...** Viçosa, 2008. p. 233-248.

KUNG JR., L.; GRIEVE, D.B.; THOMAS, J.W. HUBER, J.T. Added ammonia or microbial inoculant for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.67, p.299-306, 1984.

KUNG JR, L.; STOKES, M.R., Analysing silages for fermentation end products. 2001. Disponível em: <http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/articles/analyzing_silages_for_fermentati.htm>. Acesso em: 14 fev. 2013.

KUZIN, V.; SAVOIE, P. Modeling air infiltration in bunker silos to optimize the cover. In: ANNUAL INTERNATIONAL MEETING SPONSORED. Sacramento: ASAE. 2001. 10p.

LAMMERS, B.P.; BUCKMASTER, D.R.; HEINRICHS, E.J. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 79, n. 5, p. 922-928, 1996.

MARI, L.J.; NUSSIO, L.G. **O método Penn State Particle Size Separator para a predição do tamanho de partículas de silagens**. 2002. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/conservacao-de-forragens/o-metodo-penn-state-particle-size-separator-para-a-predicao-do-tamanho-de-particulas-de-silagens-6531/>>. Acesso em: 23 fev. 2013.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **Biochemistry of silage**. 2nd ed. Marlow: Chalcombe Publication, 1991. 340p.

MOON, N.J. Inhibition of growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate, propionate and their mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 55, n.3, p.453-460, 1983.

MUCK, R.E.; PITT, R. E., LEIBENSPERGER, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage.1. Microbial characteristics. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 46, n. 3, p. 283-290, 1991.

MUCK, R.E. Silage fermentation. In: ZEIKUS, G.; JOHNSON, E.A. (Ed.). **Mixed cultures in biotechnology**. New York: McGraw-Hill, 1991. p.171-204.

MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage. In: Silage Production from Seed to Animal. 1993. New York. **Proceedings...**, New York: , n.67, p.106-116, 1993.

NISHINO, N. Aerobic stability and instability of silages caused by bacteria. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 3., 2011, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro, 2011, p. 127-141.

NISHINO, N.; WADA, H.; YOSHIDA, M.; SHIOTA, H. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 87, p. 2563-2570, 2004.

NUSSIO, L.G.; SIMAS, J.E.C.; LIMA, M.L.M. Determinação do ponto de maturidade ideal para colheita do milho para silagem. In: NUSSIO, L.G.; ZOPOLLATO, M.; MOURA, J.C (Ed). **Milho para silagem**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 11-26.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; DRIEHUIS, F.; BECKER, P.M.; GOTTSCHAL, J.C.; FABER, F.; SPOELSTRA, S.F. The presence of Acetobacter sp. in ensiled forage crops and ensiled industrial byproducts. **Mededelingen van de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen**, Gent, v. 66, p. 427-430, 2001.

PAHLOW, G; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA, S. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p.31-94.

PALMQUIST, D.L.; CONRAD, H. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high fat diets. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 54, p.1025-1033, 1971.

PEREIRA, E.S.; MIZUBUTI, I.Y.; PINHEIRO, S.M.; VILLARROEL, A.B.S.; CLEMENTINO, R.H. Avaliação da qualidade nutricional de silagens de milho (*Zea mays*, L). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n.3, p. 8-12, 2007.

PITT, R.E.; MUCK, R.E. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Easton, v. 55, p. 11-26, 1993.

PRYCE, J.D. A modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. **Analyst**, Cambridge, v. 94, p. 1151-1152, 1969.

RANJIT, N.K.; KUNG, L., Jr. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservation on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 83, p. 526-535, 2000.

RODRIGUES, P.H.M.; RUZANTE, J.M.; SENATORE, A.L.; LIMA, F.R.; MELOTTI, L.; MEYER, P.M. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 538-545, 2004.

ROOKE, J.A.; HATFIELD, R.D. Biochemistry of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p.251-304.

SANT'ANA, A.D.S.; AZEREDO, D.R.P. Comparação entre o sistema Petrifilm RSA® e a metodologia convencional para a enumeração de estafilococos coagulase positiva em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 531-535, 2005.

SANTOS, M.C.; TATIT, L.T.; DER BEDROSIAN, M.C.; HU, W.; PEREIRA, O.G.; WILLIAMS, L.; GILINSKY, M.; KUNG JR, L. Effects of microbial inoculants and dry matter content (maturity) at harvest on the fermentation, aerobic stability and digestion of NDF of two corn silage hybrids. In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K. K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). **INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE**, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009b. p. 213-214.

SAVOIE, P. Optimization of plastic covers for stack silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Easton, v. 41, p. 65-73, 1988.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SNELL, H.G.J; OBERNDORFER, C; LUCKE, W; VAN DEN WEGHE, H.F.A. Effects of the colour and thickness of polyethylene film on ensiling conditions and silage quality of chopped maize, as investigated under ambient conditions and mini-silos. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 57, p. 342-350, 2002.

VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JUNIOR, V.R.; CAPELLE, E.R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 329p.

VAN SOEST, P.J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v.46, p.829-835, 1963.

WARD, R. Fermentation analysis: use and interpretation. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE. Indiana:Fort Wayne, 2000. p. 117-135.

WOOLFORD, M.K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, Malden, v. 68, p. 101-116, 1990.

YAMADA, Y.; YUKPHAN, P. Genera and species in acetic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v 125, p. 15-24, 2008.

4 DESEMPENHO DE VACAS EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO SILAGENS DE MILHO SOB DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE VEDAÇÃO

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar diferentes estratégias de vedação de silos trincheira sobre o desempenho produtivo de vacas holandesas em lactação. Foram utilizadas 15 vacas distribuídas aleatoriamente em cinco quadrados latinos 3x3, com períodos de 21 dias. Os animais foram mantidos em sistema de confinamento *Tie- Stall* com baias individuais e alimentadas duas vezes ao dia. Os tratamentos foram definidos de acordo com o método de vedação: ET_{NC} (filme de polietileno dupla-face, 200 µm), ET_C (filme de polietileno dupla-face, 200 µm, com cobertura de bagaço de cana sobre o filme) e OS (filme coextrusado de polietileno e poliamida, 125 µm). As dietas foram formuladas para serem isoproteicas, com 53% de silagem de milho (% MS). As porções deterioradas das silagens foram descartadas diariamente, as rações foram preparadas utilizando apenas silagem não deteriorada. O consumo de matéria seca, a produção e composição do leite foram determinados entre os dias 15 e 21 de cada período experimental. Os dados foram analisados utilizando o Proc Mixed, do software estatístico SAS. Os tratamentos OS e ET_C apresentaram maior eficiência energética enquanto que os tratamentos OS e ET_{NC} tiveram tendência de maior produção de leite corrigido para 3,5% de gordura e excreção de energia no leite; da mesma forma, a excreção de proteína no leite também foi aumentada. Contrariando as expectativas, o tratamento ET_C não melhorou o valor nutritivo das silagens. Em conclusão, os tratamentos OS e ET_{NC} foram efetivos em maximizar o desempenho das vacas.

Palavras chave: Filme plástico; Estratégia de vedação; Silagem de milho; produção de leite

Abstract

The objective of this trial was to evaluate different plastic films to seal horizontal silos on the performance of Holstein cows. Fifteen lactating cows were randomly assigned to five replicated 3x3 Latin square design with 21-d periods. Animals were housed in a tie-stall barn and individually fed ad libitum twice daily (6:30 a.m. and 5:30 p.m.). Treatments were defined according to silo covering method: ET_{NC}, 200 µm black-on-white polyethylene film; ET_C, black-on-white polyethylene film plus sugarcane bagasse over the film; and OS, 125 µm polyamide/polyethylene copolymer film. Diets were formulated to reach isonitrogen content and contained 53% of corn silage (% DM) to meet NRC (2001) requirements. The deteriorated inedible silage was discarded every day and only edible silage was used to prepare the total mixed rations. Dry matter intake, milk yield and milk composition were recorded from d-15 to d-21 in each period. Data were analyzed using the Mixed procedure of SAS. The OS and ET_C sealing strategy showed extra protection resulting in higher dietary energy efficiency; the treatments OS and ET_{NC} showed a tendency of higher 3,5 % fat corrected milk yield and milk energy excretion. In this way, milk protein excretion was also enhanced for OS and ET_{NC} treatments. Contrary to expectations, covering the ET_{NC} film with sugarcane bagasse (ET_C) did not improve the nutritive value of corn silage. In conclusion, the treatments OS and ET_{NC} were effective on maximizing the animal performance.

Keywords: Plastic film; Sealing strategy; Corn silage; Milk yield

4.1 Introdução

O armazenamento de forragens na forma de silagem pode se dar em diversas estruturas, incluindo silos do tipo torre, silos horizontais ou silos bag. Entre estes, os silos horizontais são os mais atrativos, devido à possibilidade de armazenar grandes quantidades de forragem, baixo custo de construção, e relativamente baixo custo de manutenção ao longo do tempo. Entretanto, estes tipos de silos permitem que uma grande área do material ensilado fique exposta às condições ambientais, tornando esta silagem propensa à deterioração aeróbia, principalmente nas camadas superficiais e próximo às paredes laterais (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007).

Há muito tempo sabe-se que a prática da vedação evita a perda de qualidade da silagem. Tradicionalmente o método utilizado para a vedação consiste da utilização de filmes de polietileno, entretanto esta proteção é altamente variável durante o período de armazenamento (SAVOIE, 1988). A alta permeabilidade dos filmes de polietileno contribui para a baixa qualidade das silagens nas camadas superficiais (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007).

Recentemente novos polímeros foram desenvolvidos com a característica de apresentarem baixa permeabilidade ao oxigênio, resistência a rasgos e perfurações. Estes filmes foram desenvolvidos com o objetivo de reduzir a deterioração aeróbia das silagens e dessa forma promover um aumento na qualidade da mesma. O filme coextrusado de poliamida e polietileno (OS) foi testado em diversos países, como Itália (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007), Estados Unidos (MUCK; HOLMES, 2009) e Austrália (RICH et al., 2009). Estes estudos demonstraram que a utilização deste filme proporcionou menores perdas de matéria seca e menor deterioração nas camadas superficiais quando comparado aos filmes convencionais de polietileno.

A utilização de pneus sobre os filmes é uma prática que reduz as perdas nas camadas superficiais (BERGER, 2005), entretanto, a retirada deste material por ocasião da abertura dos silos demanda excessiva mão de obra, além disso o descarte deste tipo de material pode se converter em um sério problema ambiental. Dessa forma a utilização de materiais biodegradáveis para esta finalidade tem se tornado uma alternativa bastante atraente, como a utilização de bagaço de cana sobre o filme plástico, que auxilia na redução da radiação solar sobre o filme,

ocasionando menores perdas superficiais. Este método de vedação tem importância muito grande, principalmente em países de clima tropical, ou durante o verão, pois a permeabilidade ao oxigênio dos filmes é influenciada pelas condições ambientais. Dessa forma o objetivo deste estudo foi testar os efeitos de diferentes métodos de vedação de silos sobre a qualidade de silagens e sobre o desempenho produtivo de vacas em lactação.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Ensilagem e tratamentos

O experimento foi conduzido nas dependências do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), em Piracicaba - SP (22°42'17" S; 47°37'16" W). Para a confecção das silagens utilizou-se o híbrido de milho Pioneer 30F90 Bt; o corte foi realizado quando a planta atingiu cerca de 35% de MS, utilizando colhedora de forragem da marca Menta[®], tracionada por trator. O equipamento foi regulado para para picagem de partículas com tamanho teórico de 10 mm.

Os tratamentos utilizados foram três diferentes estratégias de vedação dos silos que consistiram de:

- **ET_{NC}**: Silagem de milho vedada com filme de polietileno dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 200 µm de espessura (Neoplastic[®]).
- **ET_C**: Silagem de milho vedada com filme de polietileno dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 200 µm de espessura com adição de uma camada de 10 cm de espessura de bagaço de cana por toda a extensão do filme (Neoplastic[®]).
- **ET+AD_{NC}**: Silagem de milho vedada com filme co-extrusado de polietileno e poliamida, dupla-face (face interna na cor preta e externa branca) com 125 µm de espessura (Silostop[®])

Os silos experimentais utilizados foram do tipo trincheira com capacidade individual para cerca de 40 t de forragem fresca. Os três silos foram abastecidos de forma simultânea. A compactação da massa ocorreu durante tempo semelhante ao

gasto na colheita, utilizando tratores com peso superior a 40% da massa de forragem descarregada no silo a cada hora. Após o enchimento dos silos procedeu-se a vedação com os respectivos filmes, as quais foram definidas de forma casualizada. A operação de ensilagem foi realizada durante os dias 12/04 e 16/04/2011. Os silos foram abertos em 24/06/2011, após 63 dias de armazenamento.

4.2.2 Animais e instalações

O ensaio de desempenho foi realizado com 15 vacas da raça Holandesa (peso médio de 680 kg) com produção de 20 a 45 litros de leite por dia e com média de 220 dias de lactação ao início do experimento. Os animais foram mantidos em sistema de confinamento “*tie stall*” (Figura 8), com cocho individual e bebedouro comum a cada duas vacas. As instalações possuíam sistema de arrefecimento composto por micro aspersores e ventiladores.

A ordenha das vacas era realizada duas vezes ao dia (6h30 e às 17h30). Após cada ordenha, os animais permaneciam em área de descanso (Figura 10) por período de aproximadamente de 30 minutos a 1 hora.

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 3x3, com três tratamentos e cinco repetições. Cada QL era composto por cinco animais. O período experimental foi de 63 dias, com três períodos de 21 dias, sendo as duas primeiras semanas destinadas à adaptação e na terceira semana eram realizadas as coletas de dados.

Figura 8 – *Tie Stall* e área de descanso

4.2.3 Rações experimentais e manejo alimentar

Os tratamentos eram constituídos de rações contendo as silagens de cada um dos três silos (Tabela 6), compreendendo rações com 53% de volumoso, formuladas de acordo com o NRC Gado de Leite (2001), visando permitir produção potencial de 30 kg/dia. Os ingredientes concentrados utilizados na ração eram: milho moído fino (11,70 %), polpa cítrica peletizada (11,70 %), farelo de soja (21,10 %) e mistura mineral (2,5 %). A alimentação era fornecida *ad libitum*, duas vezes ao dia, sendo permitida sobras de 10% do total ofertado. A quantidade de alimento ofertado e as sobras foram quantificados diariamente, sendo que, semanalmente eram efetuados ajustes quanto ao teor de MS dos ingredientes. A distribuição da ração era realizada durante os períodos de ordenha (6h30 e 17h30), na forma de ração completa.

O volumoso e o concentrado de cada tratamento foram pesados e misturados em vagão autopropelido (Calan Super Data Ranger, American Calan, USA) por período de 10 minutos. Após este período o alimento foi pesado e distribuído nos cochos individuais. Antes do início do experimento foram realizadas análises bromatológicas dos volumosos e dos ingredientes concentrados utilizados na formulação das rações.

As amostragens do volumoso e do concentrado ofertado de cada tratamento foram realizadas do 17º ao 19º dia de cada período experimental, gerando uma amostra composta de cada um dos ingredientes por período experimental. Amostras das sobras individuais foram coletadas da mesma forma que as amostras de oferta, porém do 18º ao 20º dia de cada período experimental.

As amostras dos volumosos, concentrados, ração ofertada e sobras foram analisadas no Laboratório de Bromatologia do departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP). As amostras foram desidratadas em estufa de ventilação forçada, com temperatura de 55 a 60°C por período de 72 horas. Em seguida foram processadas em moinhos de facas até atingirem diâmetro inferior a 1,0 mm e guardadas em embalagens plásticas até o momento da análise. A determinação do teor de matéria mineral (MM) foi realizada segundo método descrito pela AOAC (1990).

A estimativa da composição bromatológica das silagens (Tabela 6) foi realizada com base no método de espectroscopia de reflectância de infravermelho

proximal (NIRS) (BERZAGHI; COZZI; ANDRIGHETTO, 1997; COZZOLINO; ACOSTA; GARCIA, 2001). As amostras secas e moídas em peneira de 1,0 mm foram escaneadas para a obtenção dos espectros utilizando o equipamento NIRS 5000 (NIRSystems®, Silver Spring, MD, USA). As amostras escaneadas geraram os dados de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).

A determinação da lignina foi realizada através do método da lignina em detergente ácido, no qual a amostra anteriormente utilizada para a determinação da fibra em detergente ácido (FDA) passa por digestão em solução de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 72%), que solubiliza a celulose. Assume-se que todo o resíduo é lignina. A celulose é determinada por diferença entre o material inicial e o resíduo obtido (VAN SOEST, 1963).

A determinação dos ácidos graxos voláteis (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico), ácido láctico e nitrogênio amoniacal foram realizadas de forma semelhante à descrição do item 3.2.10.

Tabela 6 – Composição bromatológica das silagens em função do tratamento

Item ¹	Tratamentos ²		
	ET _{NC}	ET _C	ET+AD _{NC}
MS	31,80	29,94	30,30
MM, % da MS	3,95	4,30	4,25
PB, % da MS	5,57	6,04	6,06
FDN, % da MS	51,72	52,75	51,49
FDA, % da MS	27,49	28,34	27,01
EE, % da MS	2,45	2,48	2,51
CEL, % da MS	23,99	24,39	23,72
LIG, % da MS	3,50	3,95	3,29
N-NH ₃ , % do NT	7,30	7,82	8,12
LAT, % da MS	4,63	4,89	4,45
ACET, % da MS	4,33	4,65	4,61
PROP, % da MS	0,45	0,53	0,57
BUT, % da MS	0,05	0,06	0,10

¹MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; FDN: fibra insolúvel em detergente ácido; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido; EE: extrato etéreo; CEL: celulose; LIG: lignina; N-NH₃: nitrogênio amoniacal; NT: nitrogênio total; LAT: ácido láctico; ACET: ácido acético; PROP: ácido propiônico; BUT: ácido butírico. ²ET_{NC}: filme de polietileno dupla face (200 µm); ET_C: filme de polietileno dupla face (200 µm) recoberta por 10 cm de bagaço de cana.

A composição bromatológica das rações (Tabela 7) foi determinada na forma de química líquida para os teores de proteína bruta e fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e extrato etéreo. As concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram realizadas através do método sequencial proposto pela ANKOM® Fiber Analyser (ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY) e descrito por Holden (1999), para determinação da FDN utilizou-se amilase termoestável e sulfito de sódio. O extrato etéreo (EE) foi determinado através da extração a quente com éter de petróleo em extrator Soxhlet, por período de 6 horas. O teor de matéria mineral (MM) foi obtido através da equação: $MO = 100 - MM$; onde: MO = matéria orgânica e MM = matéria mineral, ambos em porcentagem.

Tabela 7 – Composição bromatológica das dietas ofertadas

	Tratamentos ¹		
	ET _{NC}	ET _C	ET+AD _{NC}
Silagem de milho	52,79	52,41	52,33
Polpa cítrica peletizada	11,47	11,91	11,77
Milho moído	11,59	11,93	11,21
Farelo de Soja	21,57	21,09	22,17
Núcleo mineral ²	2,58	2,66	2,61
Composição química ³			
MS	47,49	44,95	45,47
MO, % da MS	93,62	93,72	93,48
PB, % da MS	15,98	16,19	16,07
FDN, % da MS	37,63	37,47	38,57
CNF, % da MS	37,09	36,93	35,83
EE, % da MS	2,92	3,13	3,01
Estratificação de partículas			
> 38 mm, %	1,31	0,73	1,12
19 – 38 mm, %	7,81	6,98	8,07
8 – 19 mm, %	35,63	37,95	37,66
< 8 mm, %	55,25	54,32	53,15
TMP ⁴ , mm	12,50	12,38	12,73

¹ET_{NC}: filme dupla face de polietileno; ET_C: filme dupla face de polietileno com cobertura de 10 cm de bagaço de cana. ET+AD_{NC}: filme dupla face coextrusado de poliamida e polietileno; ²Composição por kg de produto: 10% Ca; 2% S; 4% P; 5% Mg; 2% K; 2800 ppm Zn; 490 ppm Cu; 18 ppm Se; 1400 ppm Mn; 14 ppm Co; 56 ppm I; 20 ppm Cr; 400 KU.I. Vit. A; 40 KU.I. Vit. D; 1200 U.I Vit. E; 80 mg Biotina; 600 mg Monensina sódica; ³MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos [100-(PB+FDN+EE+MM)]; EE: extrato etéreo; ⁴TMP: tamanho médio de partículas.

O teor de proteína bruta (PB) foi determinado pelo método de Dumas, que consiste da combustão das amostras na presença de catalizador (óxido cúprico) e oxigênio. O nitrogênio presente nas amostras é convertido a NO_2 , que sofre redução a N_2 . A determinação do nitrogênio é feita por condutividade térmica. Utilizou-se equipamento autoanalisador de nitrogênio, marca LECO modelo FP-528, segundo os métodos descritos por Wiles; Gray; Kissling (1998).

O tamanho médio de partícula das rações foi determinado com base na estratificação por meio do método "Penn State Particle Size Separator" (LAMMERS; BUCKMASTER; HEINRICHS, 1996). Entretanto, foi incorporada uma adaptação ao método original realizada por Mari e Nussio (2002) com a inserção de uma peneira adicional com orifícios de diâmetro de 38 mm. Dessa forma, foi obtido o material retido com diâmetro superior a 38 mm, entre 38 e 19 mm, entre 19 e 7,80 mm e inferior a 7,80 mm. O tamanho médio de partículas foi estimado por meio da ponderação da proporção de retenção do material em cada peneira.

A proporção de material retido em cada uma das peneiras para a ração ofertada e sobras serviu de base para o cálculo do índice de seleção, que foi calculado como o consumo observado de cada fração retida em cada peneira expresso como porcentagem do consumo predito (% da matéria natural). Valores indicaram recusa (< 100%), ingestão preferencial (> 100%) ou ausência seleção (=100%) (LEONARDI; ARMENTANO, 2003).

4.2.4 Controle leiteiro e análises no leite

A produção de leite foi mensurada diariamente em medidor automático (Figura 9). Amostras foram coletadas para determinação da composição na terceira semana de cada período experimental por quatro ordenhas consecutivas.

As amostras coletadas foram encaminhadas para o Laboratório de Análise de Leite, da Clínica do Leite do Departamento de Zootecnia da USP/ESALQ. As concentrações de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram determinadas por leitura de absorção infravermelha utilizando-se o equipamento Bentley 2000® e a contagem de células somáticas foi realizada pelo método de citometria fluxométrica utilizando-se equipamento Somacount 300®. As concentrações de nitrogênio ureico

do leite (NUL) foram estimadas utilizando-se o equipamento ChemSpeck 150®, por método enzimático e espectrofotométrico de trans-reflectância.

A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (LC 3,5% G) foi calculada a partir da fórmula (TYRRELL; REID, 1965):

$$\text{LC 3,5\% G} = (0,432 + 0,1625 \times \% \text{ de gordura}) \times \text{kg de leite.}$$

O teor e a excreção de energia no leite, em Mcal.d^{-1} , foram calculados segundo as equações (NRC, 2001):

$$\text{EL}_L (\text{Mcal} \times \text{kg}^{-1}) = (0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ lactose})$$

$$\text{Excreção de EL}_L (\text{kg} \times \text{dia}^{-1}) = \text{Prod. Leite (kg} \times \text{dia}^{-1}) \times \text{EL}_L (\text{Mcal} \times \text{kg}^{-1})$$

Figura 9 – Ordenha mecânica e medidor automático de produção

4.2.5 Coeficiente de digestibilidade aparente

A digestibilidade aparente dos nutrientes foi pelo método do óxido crômico (método indireto), que é utilizado como marcador externo. Este método consiste da adição de marcador, que é fornecido em sua forma insolúvel (Cr_2O_3), e, portanto, atravessa o sistema digestório sem reagir, solubilizar-se ou sofrer absorção, devendo ser totalmente recuperado através das fezes (BREMNER NETO et al., 2003).

Dez dias antes do término do quarto período experimental administrou-se por via oral cápsulas contendo 10 g de Cr_2O_3 , cada animal ingeriu duas cápsulas diariamente (5h30 e às 16h00). As amostras de fezes foram coletadas nos últimos cinco dias, diretamente do reto dos animais. Foram coletadas duas amostras

diariamente, após a administração das cápsulas, totalizando 10 sub amostras por animal, as quais foram compostas para a determinação de matéria seca e demais análises bromatológicas, que foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

Analisa-se as amostras quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA); as metodologias empregadas foram as mesmas utilizadas nas análises das rações.

A concentração de cromo nas fezes foi determinada por fluorescência de raio X com dispersão de energia (EDXRF), no laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP, Piracicaba, SP. Alíquotas de 1 g de fezes foram inseridas em recipientes próprios (polyethylene X-ray sample cups. Chemplex Industries. USA) para determinação por meio de EDXRF de forma individual correspondendo a cada animal em cada subperíodos experimental. As amostras foram agitadas por 50 segundos com tubos de raio X com alvo de molibdênio e filtro de níquel, operando a 10 KV/20 mA. Para a detecção de raios X característicos, foi utilizado um sistema de alta resolução, utilizando um semicondutor de silício ativado com lítio acoplado a um analisador de pulsos multicanal. Os espectros obtidos foram interpretados pelo aplicativo Analysis of X-Ray Spectra by Iterative Least Square Fitting (AXIL).

A produção de fecal (PF) foi estimada segundo a equação (MERCHEN, 1993):

$$PF (g \times dia^{-1}, \text{ em MS}) = (IM \times g \times dia^{-1}) / (EM \text{ em } g \times g^{-1})$$

Onde:

IM = Ingestão do marcador, em gramas por dia;

EM = Excreção do marcador, em gramas por grama de matéria seca de fezes.

O coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDA MS) foi calculada segundo a equação (MERCHEN, 1993):

$$CDA \text{ MS } (\%) = ((IMS - PF) / (IMS)) \times 100$$

IMS = ingestão, em $kg \times dia^{-1}$, em matéria seca;

PF = produção fecal, em $kg \times dia^{-1}$, em matéria seca.

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes foi calculado segundo a equação (MERCHEN, 1993):

$$\text{CDA MS (\%)} = (((\text{IMS} \times \% \text{NA}) - (\text{PF} \times \% \text{NF})) / (\text{IMS} \times \% \text{NA})) \times 100$$

IMS = ingestão, em $\text{kg} \times \text{dia}^{-1}$, em matéria seca;

PF = produção fecal, em $\text{kg} \times \text{dia}^{-1}$, em matéria seca;

%NA = porcentagem do nutriente presente no alimento;

%NF = porcentagem do nutriente presente nas fezes.

4.2.6 Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 3X3. Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por contrastes ortogonais, utilizando-se o PROC MIXED do programa SAS (2003).

O delineamento experimental utilizado na avaliação da digestibilidade in vivo foi blocos casualizados. Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e as suas médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o recurso PROC MIXED do programa SAS (2003).

4.3 Resultados e discussão

O consumo de nutrientes provenientes das dietas oferecidas aos animais está apresentado na Tabela 8. O consumo de matéria seca, expresso como porcentagem do peso corporal dos animais, apresentou diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos, sendo que o maior consumo foi observado para o tratamento ET_{NC} , enquanto que os demais tratamentos foram semelhantes. Quando se confronta o tipo de polímero (polietileno ou coextrusado de poliamida e polietileno) não é observada diferença ($P > 0,05$), entretanto, quando se compara a adição ou não de bagaço de cana sobre o filme de polietileno verificou-se diferença ($P < 0,05$). Há muito se conhece os efeitos positivos que a adição de materiais, como pneus, terra, ou material orgânico como bagaço de cana (BERNARDES; AMARAL; NUSSIO, 2009), sobre o filme de vedação apresenta sobre a qualidade da silagem. Ruppel (1993) reportou aumento na disponibilidade da proteína, diminuição da temperatura e redução das perdas de matéria seca das camadas superficiais quando se utilizou pneus sobre o filme de vedação. Porém, contrariando as expectativas, o tratamento ET_C apresentou tendência na diminuição no consumo de matéria seca.

Tabela 8 - Consumo dos nutrientes das dietas oferecidas para vacas em lactação alimentadas com as diferentes silagens

Variável ¹	Tratamento ²			EPM ³	P ⁴	
	ET_{NC}	ET_C	$ET+AD_{NC}$		$(ET_{NC} + ET_C)$ vs. OS	ET_{NC} vs. ET_C
MS, % PC	3,57 ^a	3,37 ^b	3,42 ^b	0,24	0,46	0,02
MS, kgxdia ⁻¹	24,34	22,98	23,37	1,19	0,47	0,03
MO, kgxdia ⁻¹	22,56	21,37	21,61	1,19	0,42	0,03
PB, kgxdia ⁻¹	3,95	3,73	3,82	0,19	0,70	0,03
FDN, kgxdia ⁻¹	8,68	8,36	8,38	0,44	0,35	0,16
EE, kgxdia ⁻¹	0,63	0,60	0,61	0,03	0,51	0,18
CNF, kgxdia ⁻¹	9,30	8,57	8,80	0,46	0,43	0,03

¹MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos. ² ET_{NC} : filme dupla face de polietileno; ET_C : filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. $ET+AD_{NC}$: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno. ³EPM: erro padrão da média. ⁴ $(ET_{NC}+ET_C)$ vs. $ET+AD_{NC}$: comparação dos tratamentos entre o tipo de filme (poliamida ou polietileno); ET_{NC} vs. ET_C : comparação dos tratamentos entre a presença ou não de bagaço de cana como cobertura adicional sobre o filme de polietileno.

Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para os consumos de matéria seca (kgxdia⁻¹), matéria orgânica, proteína bruta e fibra insolúvel em detergente neutro extrato etéreo e carboidratos não fibrosos, os quais apresentaram

médias de 23,56; 21,85; 3,83; 8,47; 0,61 e 8,89 kg, respectivamente. Contudo, houve diferença ($P < 0,05$) entre a utilização ou não de camada de bagaço de cana sobre o filme de polietileno, onde se verificou menor consumo de matéria orgânica, proteína bruta e carboidratos não fibrosos para o tratamento ET_C, em consequência do menor consumo de matéria seca.

As participações dos nutrientes na dieta oferecida e consumida pelos animais estão apresentadas na Tabela 9. Não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos na proporção dos nutrientes (MM, PB e FDN) da dieta oferecida, sendo que os valores médios foram de 6,64%, 15,89% e 36,31%, para matéria mineral, proteína bruta e fibra em detergente neutro, respectivamente. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos para MM, PB e FDN na dieta consumida, entretanto verificou-se que para as variáveis MM e FDN a porcentagem dos mesmos foi inferior ao ofertado, enquanto que para PB, a porcentagem foi maior. Esta diferença pode ser explicada pelo índice de seleção de partículas (Figura 12), onde houve consumo preferencial de partículas com tamanho inferior a 19 mm, em detrimento das partículas maiores, provenientes da forragem. A diferença obtida entre a porcentagem de nutrientes no material ofertado e no material consumido não apresentou diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para nenhuma das variáveis.

Quanto ao tipo de polímero (polietileno ou coextrusado de poliamida e polietileno) foi verificada diferença ($P < 0,001$), para a porcentagem de MM, tanto no material ofertado, quanto no consumido; para a porcentagem de PB, houve diferença ($P < 0,05$) apenas para o material ofertado; em todas as comparações o tratamento ET+AD_{NC} apresentou maiores valores que a média dos tratamentos ET_{NC} e ET_C. Quanto à presença ou não de bagaço sobre o filme de polietileno, verificou-se diferença ($P < 0,001$) para a porcentagem de MM (ofertado e consumido), PB (ofertado) e FDN (ofertado) e para FDN (consumido; $P < 0,05$), sendo que o tratamento ET_{NC} apresentou maior porcentagem de PB no material ofertado, nas demais observações o tratamento ET_C apresentou valores superiores.

Não houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$) para o índice de seleção de partículas (Figura 10). Como era esperado, o consumo de partículas pequenas (diâmetro médio inferior a 19 mm) foi priorizado pelos animais em detrimento de partículas maiores. De acordo com Leonardi et al. (2005), a preferência por partículas de menor tamanho é um comportamento considerado comum em bovinos.

Tabela 9 – Participação dos nutrientes (%) na dieta oferecida e consumida por vacas em lactação alimentadas com rações contendo diferentes silagens

Variável ¹	Tratamento ²			EPM ³	P ⁴	
	ET _{NC}	ET _C	ET+AD _{NC}		(ET _{NC} + ET _C) vs. OS	ET _{NC} vs. ET _C
	MM					
Ofertada (a)	6,50	6,71	6,72	0,28	< 0,001	< 0,001
Consumida (b)	6,24	6,47	6,50	0,16	< 0,001	< 0,001
Diferença (a-b)	0,26	0,24	0,22	0,39	0,20	0,65
	PB					
Ofertada (c)	15,93	15,76	15,97	0,13	0,04	< 0,001
Consumida (d)	16,49	16,36	16,49	0,65	0,62	0,43
Diferença (c-d)	-0,55	-0,60	-0,52	0,74	0,54	0,65
	FDN					
Ofertada (e)	37,63	37,47	38,57	0,35	0,82	< 0,001
Consumida (f)	36,24	35,75	36,95	0,11	0,83	0,04
Diferença (e-f)	1,69	1,72	1,62	0,94	0,73	0,94

¹MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; ²ET_{NC}: filme dupla face de polietileno; ET_C: filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. ET+AD_{NC}: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno. ³EPM: erro padrão da média. ⁴(ET_{NC}+ET_C) vs. ET+AD_{NC}: comparação dos tratamentos entre o tipo de filme (poliamida ou polietileno); ET_{NC} vs. ET_C: comparação dos tratamentos entre a presença ou não de bagaço de cana como cobertura adicional sobre o filme de polietileno.

O consumo de partículas com diâmetro inferior a 8 mm (fundo) ficou próximo ao valor predito e portanto pode-se assumir que não houve a seleção de partículas com este tamanho. Entretanto, houve consumo preferencial de partículas com diâmetro entre 8,0 e 19,0 mm para todos os tratamentos, enquanto que nas demais peneiras houve recusa parcial do material. Estes dados dão suporte ao que era observado durante a retirada da sobra dos cochos dos animais, onde era evidente a maior proporção de material volumoso, como pedaços da palha da espiga do milho na composição das sobras.

O consumo de nutrientes durante o ensaio de digestibilidade das dietas experimentais está apresentado na Tabela 10. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o consumo de nutrientes ao longo dos 5 dias de avaliação da digestibilidade das dietas, apresentando consumo médio de matéria seca de 22,77 kg×dia⁻¹. As médias de consumo (kg×dia⁻¹) de matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e detergente ácido e carboidratos não fibrosos foram 21,30; 3,59; 0,63; 8,36; 4,61 e 8,72, respectivamente.

Figura 10 - Índice de seleção de partículas por vacas leiteiras alimentadas com silagens sob diferentes estratégias de vedação

ET_{NC}: filme dupla face de polietileno; ET_C: filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. ET+AD_{NC}: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno

Tabela 10 – Consumo de nutrientes durante o ensaio de digestibilidade das dietas experimentais

Variável ¹	Tratamento ²				EPM ³	P ⁴	
	ET _{NC}	ET _C	ET _C	ET+AD _{NC}		(ET _{NC} + ET _C) vs. OS	ET _{NC} vs. ET _C
Matéria seca	21,44	23,34	23,53	1,07	0,25	0,12	
Matéria orgânica	20,06	21,82	22,03	0,99	0,25	0,12	
Proteína Bruta	3,38	3,63	3,77	0,17	0,11	0,20	
Extrato etéreo	0,60	0,65	0,65	0,03	0,29	0,12	
FDN	7,91	8,33	8,83	0,40	0,08	0,33	
FDA	4,34	4,49	5,01	0,22	0,02	0,53	
CNF	8,18	9,22	8,77	0,40	0,83	0,04	

¹FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; CNF: carboidratos não fibrosos. ² ET_{NC}: filme dupla face de polietileno; ET_C: filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. ET+AD_{NC}: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno. ³EPM: erro padrão da média. ⁴(ET_{NC}+ET_C) vs. ET+AD_{NC}: comparação dos tratamentos entre o tipo de filme (poliamida ou polietileno); ET_{NC} vs. ET_C: comparação dos tratamentos entre a presença ou não de bagaço de cana como cobertura adicional sobre o filme de polietileno..

O tratamento ET_{NC} apresentou tendência de redução de consumo de nutrientes, em virtude do menor consumo de matéria seca, embora não tenha sido observada diferença estatística. Houve diferença na comparação por contrastes para

o consumo de FDA, onde os animais alimentados com silagens provenientes dos silos vedados com filme de polietileno apresentaram menor consumo. A adição de camada de bagaço de cana sobre o filme de polietileno proporcionou maior consumo de CNF.

Na tabela 11 estão apresentados os coeficientes de digestibilidade aparente para matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos e extrato etéreo. Não foi verificada diferença ($P > 0,05$) no coeficiente de digestibilidade aparente para matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo e carboidratos não fibrosos, os quais apresentaram valores médios de 76,18%, 77,55%, 77,66%, 53,89%, 89,90% e 88,50%, respectivamente. Não verificou-se diferença ($P > 0,05$) para tipo de polímero e presença ou não de bagaço de cana sobre o filme em nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela 11 – Coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes (%) em vacas holandesas em lactação alimentadas com rações contendo diferentes silagens

Variável ¹	Tratamento ²			EPM ³	P ⁴	
	ET _{NC}	ET _C	OS		(ET _{NC} + ET _C) vs. OS	ET _{NC} vs. ET _C
MS	74,69	75,07	73,11	1,08	0,21	0,80
MO	77,92	77,71	75,98	0,79	0,11	0,85
PB	73,87	74,05	73,75	0,82	0,83	0,88
EE	90,69	88,62	90,41	0,71	0,42	0,08
FDN	52,51	53,95	48,90	1,93	0,10	0,60
CNF	90,82	93,59	93,05	1,32	0,62	0,19

¹MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; CNF = carboidrato não fibroso; EE = extrato etéreo. ²ET_{NC}: filme dupla face de polietileno; ET_C: filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. ET+AD_{NC}: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno. ³EPM: erro padrão da média. ⁴(ET_{NC}+ET_C) vs. ET+AD_{NC}: comparação dos tratamentos entre o tipo de filme (poliamida ou polietileno); ET_{NC} vs. ET_C: comparação dos tratamentos entre a presença ou não de bagaço de cana como cobertura adicional sobre o filme de polietileno..

A silagem proveniente do tratamento ET_C apresentou menores perdas de MO e menor porcentagem de silagem descartada, embora não tenha havido diferença na composição química das silagens. Dessa forma esperava-se que as maiores perdas de MO, e conseqüentemente, de nutrientes, afetassem negativamente a digestibilidade dos nutrientes dos tratamentos ET_{NC} e ET+AD_{NC}, porém isto não foi observado, além disso, a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura foi

numericamente superior para os tratamentos ET_{NC} e $ET+AD_{NC}$, em relação ao tratamento ET_C .

De modo geral, os dados da digestibilidade aparente dos nutrientes apresentaram valores elevados em relação ao que normalmente se encontra para silagens de milho, porém deve-se considerar que a digestibilidade é um fator que depende não apenas da qualidade do alimento, como também do animal.

Na Tabela 12 estão apresentados os valores de produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5 % de gordura, eficiência alimentar, concentração de energia no leite, excreção de energia no leite e eficiência. Houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos para a eficiência alimentar. As dietas que continham silagens provenientes dos silos vedados com filme de polietileno dupla face com proteção de bagaço e filme dupla face coextrusado de poliamida e polietileno apresentaram os maiores valores, sendo a menor média verificada para no tratamento cujo silo foi vedado com filme de polietileno dupla face.

Tabela 12 – Produção leiteira de vacas holandesas alimentadas com silagens provenientes de silos vedados sob diferentes estratégias de vedação

Variável ¹	Tratamento ²				P ⁴	
	ET_{NC}	ET_C	$ET+AD_{NC}$	EPM^3	$(ET_{NC} + ET_C)$ vs. OS	ET_{NC} vs. ET_C
Produção de leite, $kg \times dia^{-1}$	27,26	26,60	28,30	4,64	0,12	0,22
PLC 3,5%, $kg \times dia^{-1}$	27,63	26,84	28,10	3,39	0,09	0,18
EA, $kg \text{ leite} \times kg \text{ MS}^{-1}$	1,12 ^b	1,17 ^a	1,20 ^a	0,15	0,04	0,20
ELi $kg \text{ Leite, Mcal}$	0,70	0,70	0,69	0,03	0,25	0,65
Excreção ELi Leite, $Mcal \times dia^{-1}$	19,08	18,49	19,43	2,16	0,07	0,14
EL Leite $\times CMS^{-1}$, $Mcal \times kg^{-1}$	0,77	0,79	0,82	0,06	0,02	0,46

¹PCL: Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura; EA: eficiência alimentar; EL_L: energia líquida por kg de leite; EL Leite/CMS: eficiência energética em Mcal por kg de MS ingerido ² ET_{NC} : filme dupla face de polietileno; ET_C : filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. $ET+AD_{NC}$: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno. ³EPM: erro padrão da média.

⁴ $(ET_{NC}+ET_C)$ vs. $ET+AD_{NC}$: comparação dos tratamentos entre o tipo de filme (poliamida ou polietileno); ET_{NC} vs. ET_C : comparação dos tratamentos entre a presença ou não de bagaço de cana como cobertura adicional sobre o filme de polietileno..

Para as variáveis produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, concentração de energia no leite, excreção de energia líquida no leite e eficiência energética não houve diferença entre os tratamentos, os valores médios

observados foram: 27,70 kg; 27,43 kg; 0,70 Mcal.L⁻¹; 18,93 Mcal.dia⁻¹ e 0,80 Mcal.kg MS⁻¹.

Na comparação das médias por contrastes houve diferença apenas quanto ao tipo de polímero (polietileno ou coextrusado de polietileno e poliamida) para as variáveis EA e EL, em ambas o filme coextrusado de poliamida e polietileno (ET+AD_{NC}) apresentou maiores médias. Os animais alimentados com silagens provenientes do tratamento ET+AD_{NC} precisaram ingerir menos alimento para manter a produção de em níveis semelhantes à média dos demais tratamentos. Da mesma forma, a secreção de energia no leite por unidade de consumo de matéria seca também foi melhorada.

A produção dos constituintes do leite dos animais em kg/dia está apresentada na Tabela 13. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para a produção diária de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado, apresentando valores médios de 0,95 kg; 0,94 kg; 1,25 kg, 3,38 kg e 2,44 kg, respectivamente.

Tabela 13 - Produção dos constituintes do leite (kg×dia⁻¹) de vacas em lactação alimentadas com as diferentes silagens

Variável	Tratamento ²				P ⁴	
	ET _{NC}	ET _C	ET+AD _{NC}	EPM ³	(ET _{NC} + ET _C) vs. OS	ET _{NC} vs. ET _C
Gordura	0,96	0,94	0,97	0,09	0,81	0,54
Proteína	0,94	0,91	0,97	0,10	0,02	0,09
Lactose	1,26	1,22	1,27	0,21	0,48	0,33
Sólidos Totais	3,42	3,28	3,45	0,42	0,19	0,11
ESD ¹	2,46	2,40	2,46	0,24	0,61	0,32

¹ESD: extrato seco desengordurado ² ET_{NC}: filme dupla face de polietileno; ET_C: filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. ET+AD_{NC}: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno. ³EPM: erro padrão da média. ⁴(ET_{NC}+ET_C) vs. ET+AD_{NC}: comparação dos tratamentos entre o tipo de filme (poliamida ou polietileno); ET_{NC} vs. ET_C: comparação dos tratamentos entre a presença ou não de bagaço de cana como cobertura adicional sobre o filme de polietileno..

Na Tabela 14 estão apresentadas as porcentagens dos constituintes do leite em função dos tratamentos. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado, apresentando os mesmos valores médios de 3,53%, 3,48%, 4,50%, 12,41% e 8,92%, respectivamente.

Segundo Fredeen (1996) a concentração de lactose é pouco influenciada pela dieta, dessa forma, era esperado níveis semelhantes entre os tratamentos. O teor de gordura do leite normalmente é menor durante o pico de produção, e é esperado que ocorra uma elevação com o avançar da lactação. No presente estudo os animais estavam com média superior a 200 dias de lactação, ou seja, bastante distante do pico de lactação, assim é possível que a diferença nos teores de gordura, entre o início e o final do experimento, teve pequena variação.

Tabela 14 - Porcentagem dos constituintes do leite (%) de vacas em lactação alimentadas com as diferentes silagens

Variável	Tratamento ²			EPM ³	P ⁴	
	ET _{NC}	ET _C	ET+AD _{NC}		(ET _{NC} + ET _C) vs. OS	ET _{NC} vs. ET _C
Gordura	3,58	3,56	3,45	0,26	0,19	0,85
Proteína	3,48	3,44	3,53	0,20	0,16	0,45
Lactose	4,53	4,52	4,45	0,07	0,26	0,89
Sólidos Totais	12,52	12,34	12,37	0,50	0,65	0,23
ESD ¹	8,94	8,90	8,92	0,69	0,95	0,39

¹ESD: extrato seco desengordurado; ²ET_{NC}: filme dupla face de polietileno; ET_C: filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. ET+AD_{NC}: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno. ³EPM: erro padrão da média. ⁴(ET_{NC}+ET_C) vs. ET+AD_{NC}: comparação dos tratamentos entre o tipo de filme (poliamida ou polietileno); ET_{NC} vs. ET_C: comparação dos tratamentos entre a presença ou não de bagaço de cana como cobertura adicional sobre o filme de polietileno.

Diferenças no desempenho animal normalmente não são verificadas em experimentos envolvendo aditivos ou estratégias de vedação em forragens conservadas; sendo que a maior resposta à utilização destas técnicas é observada na redução de perdas de matéria seca. Até o momento, trabalhos com filmes plásticos para a vedação de silos não conseguiram mostrar diferenças em desempenho animal. Grande parte da ausência de resposta se deve ao fato silagens deterioradas serem descartadas, sendo que no preparo da ração só é incluída silagens consideradas não deterioradas.

Na Tabela 15 estão apresentados os valores de contagem de células somáticas e a concentração de nitrogênio uréico no leite dos animais. Não foi verificada diferença entre os valores de contagem de células somáticas e teor de nitrogênio uréico no leite. O nitrogênio uréico excretado no leite é uma das vias de eliminação do nitrogênio em excesso do organismo animal, dessa forma, a sua concentração no leite é utilizada para o monitoramento da nutrição proteica

(JONKER et al., 1999; KOHN, 2000) principalmente no que se refere à relação proteína:energia da dieta (BRODERICK; CLAYTON, 1997). Concentração elevada de nitrogênio uréico no leite é indicativo de excesso ou uso inadequado da proteína da dieta (GUSTAFSSON; PALMQUIST, 1993). Os valores obtidos no presente estudo estão dentro da amplitude de 8,5 a 16 mg/dL, que é considerada normal (KOHN et al., 2002).

Tabela 15 - Contagem de células somáticas e teor de nitrogênio uréico no leite de vacas alimentadas com as diferentes silagens

Variável	Tratamento ²				P	
	ET _{NC}	ET _C	ET+AD _{NC}	EPM ³	(ET _{NC} + ET _C) vs. OS	ET _{NC} vs. ET _C
CCS, x1000/mL	171,64	181,54	154,84	36,85	0,32	0,68
Log CCS	2,05	2,15	2,06	0,11	0,55	0,19
N Ureico, mg/dL	12,24	12,21	11,40	0,93	0,23	0,97

CCS: contagem de células somáticas; Log: logaritmo na base 10 da CCS; N Ureico: nitrogênio excretado no leite na forma de uréia. ² ET_{NC}: filme dupla face de polietileno; ET_C: filme dupla face de polietileno com cobertura de bagaço de cana. ET+AD_{NC}: filme dupla face coextrusada coextrusada de poliamida e polietileno. ³EPM: erro padrão da média. ⁴(ET_{NC}+ET_C) vs. ET+AD_{NC}: comparação dos tratamentos entre o tipo de filme (poliamida ou polietileno); ET_{NC} vs. ET_C: comparação dos tratamentos entre a presença ou não de bagaço de cana como cobertura adicional sobre o filme de polietileno.

4.4 Conclusões

A eficiência alimentar foi melhorada em vacas alimentadas com silagens, cujos silos foram vedados com filme co-extrusado de poliamida e polietileno ou com filme de polietileno com cobertura de bagaço de cana.

O filme coextrusado de polietileno e poliamida apresentou tendência de elevação no desempenho animal, porém, dados de um único estudo são insuficientes para garantir que há diferenças em termos de desempenho.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. v. 1, 1117p.

BERGER, L.L. Covering Bunker Silos. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE. 2005. p.45-49.

BERZAGHI, P.; COZZI, G.; ANDRIGHETTO, I. The use of near infrared analysis for in situ studies. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.80, n.12, p.3263-3270, 1997.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 90, p. 4701-4706, 2007.

BREMER NETO, H.; GRANER, C.A.F.; PEZZATO, L.E. ;PADOVANI, R.C. CANTELMO, O.A. Diminuição do teor de óxido de cromo (III) usado como marcador externo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.2, p.249-255, 2003.

BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentration of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.80, p.2964-2971, 1997.

COZZOLINO, D.; ACOSTA, Y.; GARCIA, J. Application of near infrared reflectancy spectroscopy (NIRS) to forage evaluation in Uruguay. In: INTERNATIONAL GRASSLANDS CONGRESS, 19., 2001. São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 370.

FREDEEN, A.H. Considerations in the nutritional modification of milk composition. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 59, p. 185-197, 1996.

GUSTAFSSON, A.H.; PALMQUIST, D.L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea and milk urea in dairy cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 76, n. 2, p. 475-484, 1993.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 82, n. 8, p. 1791-1794, 1999.

JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAN, R.A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.82, p.1261-1273, 1999.

KOHN, R.A. Caution needed when interpreting MUN. **Hoard's Dairyman**, Fort Atkinson, v.145, p.58, 2000.

KOHN, R.A.; KALSCHER, K.F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.85, p. 227-233, 2002.

LAMMERS, B.P.; BUCKMASTER, D.R.; HEINRICHS, E.J. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 79, n. 5, p. 922-928, 1996.

LEONARDI, C.; ARMENTANO, L.E. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 86, p. 557-564, 2003.

LEONARDI, C.; GIANNICO, F.; ARMENTANO, L.E. Effect of water addition on selective consumption (sorting) of dry diets by dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 88, p. 1043–1049, 2005.

MARI, L.J.; NUSSIO, L.G. **O método Penn State Particle Size Separator para a predição do tamanho de partículas de silagens**. 2002. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/conservacao-de-forragens/o-metodo-penn-state-particle-size-separator-para-a-predicao-do-tamanho-de-particulas-de-silagens-6531/>>. Acesso em: 23 fev. 2013.

MERCHEN, N.R. Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: CHURCH, D. C. (Ed). **The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition**. Long Grove: Waveland Press, 1988. p.172-201.

MUCK, R.E.; HOLMES, B.J. Influence of cover type on silage quality in bunker silos In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K.K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). **INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE**, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009. p. 277-278.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7thed. Washington: National Academic Press, 2001. 408p.

RICH, K.; SCHOORL, T.; WIGLEY, S.; WILKINSON, J.M. Effect of an oxygen barrier film ("Silostop") on composition and losses of organic matter from the upper layers of forage sorghum ensiled in large bunker silos In: BRODERICK G.A.; ADESOGAN A.T.; BOCHER L.W.; BOLSEN K.K.; CONTRERAS-GOVEA F.E.; HARRISON J.H.; MUCK R.E. (Ed.). **INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE**, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison, 2009a. p. 305- 306.

SAVOIE, P. Optimization of plastic covers for stack silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Easton, v. 41, p. 65-73, 1988.

SKLAN, D.; ASHKENAZI, A; BRAUN, A. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.75, n.9, p.2463–2472, 1992.

TYRRELL, H.F.; REID, J.T. Prediction of the energy value of cow's milk. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.48, n.9, p.1215–1223, 1965.

WILES, P.G.; GRAY, I.K.; KISSLING, R.C. Routine analysis of protein by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. **Journal of the AOAC International**, Washington, v. 81, p. 620-632, 1998.