



LUCIANA MIRANDA LIMA

**NOVO MÉTODO DE VEDAÇÃO NO
CONTROLE DA DETERIORAÇÃO AERÓBIA
DE SILAGENS DE MILHO ESTOCADAS EM
TRINCHEIRA**

LAVRAS – MG

2016

LUCIANA MIRANDA LIMA

**NOVO MÉTODO DE VEDAÇÃO NO CONTROLE DA
DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO ESTOCADAS
EM TRINCHEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dr. Carla Luiza da Silva Ávila

Coorientador

Dr. Thiago Fernandes Bernardes

LAVRAS – MG

2016

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Lima, Luciana Miranda.

Novo método de vedação no controle da deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em trincheira / Luciana Miranda Lima. – Lavras: UFLA, 2016.

46 p.

Dissertação (mestrado acadêmico) – Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Carla Luiza da Silva Ávila.

Bibliografia.

1. Filme de barreira ao oxigênio. 2. Estratégia de vedação. 3. Deterioração aeróbia. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

LUCIANA MIRANDA LIMA

**NOVO MÉTODO DE VEDAÇÃO NO CONTROLE DA
DETERIORAÇÃO AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO ESTOCADAS
EM TRINCHEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 11 de Março de 2016.

Dr. Aníbal Coutinho do Rêgo – UFRA
Dr. Daniel Rume Casagrande - UFLA

Dr. Carla Luiza da Silva Ávila
Orientadora

Dr. Thiago Fernandes Bernardes
Coorientador

LAVRAS – MG

2016

AGRADECIMENTOS

Em 2013, quando estava me formando fui conversar com meu orientador a respeito do que fazer naquele momento (e agora professor????). Neste dia percebi que poderia ir além daquele título de graduação quando fui intencionalmente desafiada por ele, e aquele desafio fez crescer em mim uma vontade infinita de mostrar que era capaz. Hoje estou defendendo minha dissertação em resposta aquele desafio. “Professor”, muito obrigada. A Deus por ter me dado forças para superar todas as dificuldades enfrentadas. Aos meus pais e à minha irmã pela confiança, estímulo e amor acima de tudo. Ao professor Thiago Bernardes pela orientação, paciência e auxílio sempre que necessário. A professora Carla Ávila pelo apoio, atenção e orientação. Ao professor Daniel Casagrande pelo auxílio nas análises estatísticas. Ao meu namorado, por sempre me apoiar, ensinar, corrigir e pelo prazer em dividir a vida ao seu lado. A Josi (Suzy), pelo companheirismo, principalmente na fase de campo, durante os 2 anos experimentais. Aos “CONSERVANTES”, Eveline (Djovem), Isabella (Caju), Jéssica (Djéssica), Jéssica (Djhuliana), Malafaia (Sillas) e Marcim, sem o apoio de vocês em todas as etapas, este trabalho não seria defendido. A todos os alunos do NEFOR, grupo que há cinco anos faço parte e que auxiliou muito no trabalho de campo. Ao Márcio, técnico do laboratório, pela boa vontade e ajuda na condução das análises. Ao Rafael Andrade e equipe SILOSTOP pela confiança para a realização do trabalho. Às companheiras de república Fofonda, Karla, Carla e Josi, pela convivência. A todos os funcionários das fazendas Vargem Grande e Rincão, pela paciência nos dois anos de trabalho. À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de minha formação. À CAPES pela concessão da bolsa de estudos. A todos vocês que contribuíram de diferentes maneiras para a realização e conclusão deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

“Matar o sonho é matarmo-nos. É mutilar a nossa alma. O sonho é o que temos de realmente nosso, de impenetravelmente e inexpugnavelmente nosso.”

Fernando Pessoa

RESUMO GERAL

Silagens de milho quando estocadas em silos trincheira estão propensas à deterioração, especialmente nas camadas superiores e próximas às paredes, visto que estas apresentam menor densidade, maior porosidade e conseqüentemente maior intensidade de trocas gasosas. Filmes plásticos com barreira ao oxigênio têm se tornado uma alternativa para reduzir perdas por deterioração. Objetivou-se com este trabalho determinar a eficiência de um filme com barreira ao oxigênio (FBO) sob uma nova estratégia de vedação (“2-step”) no controle da deterioração aeróbia de silagens estocadas em silos trincheira. O experimento foi conduzido em 2014 e 2015 em um total de oito silos, os quais foram divididos longitudinalmente. Uma das paredes do silo foi revestida com FBO e a outra metade somente com cobertura convencional (polietileno- PE). Foram enterrados três sacos, contendo cerca de 6 kg de forragem, na região central (CT) em três diferentes seções onde as mesmas eram equidistantes. Após o abastecimento dos silos, 18 sacos foram enterrados no topo, sendo 9 sacos para cada método. Os sacos foram posicionados em três diferentes distâncias no topo lateral, a partir da parede (0–50, 51–100 e 101–150 cm), os quais foram denominados como FBO50, FBO100, FBO150 e PE50, PE100 e PE150. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com sete tratamentos (posições dos sacos dentro do silo) e oito repetições (silo). Os dados foram analisados pelo método de modelos mistos utilizando PROC MIXED, SAS 9.0. Contrastes ortogonais a 5% de probabilidade foram realizados para se verificar a comparação das duas laterais com a região central e o efeito das posições de cada lateral. Silagens armazenadas sob FBO foram mais bem preservadas do que silagens PE, tendo seus valores semelhantes à silagem CT. O filme FBO proporcionou silagens com maiores teores de amido, DIVMS, NDT, EL_{lac} e produção de leite. Quanto aos aspectos fermentativos, FBO obteve maiores concentrações de ácido láctico, menor pH, perdas de energia e MS. Nestas silagens também foi observado menor contagem de leveduras e fungos filamentosos, principais microrganismos relacionados à deterioração aeróbia. Ficou evidente que a nova estratégia de vedação “2step” utilizando FBO, resultou em silagens melhor conservadas, levando à redução de perdas do valor nutritivo provenientes do processo de deterioração provavelmente resultante do menor ingresso de O_2 na massa.

Palavras-chave: Filme de barreira ao oxigênio. Estratégia de vedação. Deterioração aeróbia.

GENERAL ABSTRACT

Spoiled silage at the shoulders of bunker silo is a common sight. The objective of this study was to evaluate the effect of two systems for covering corn silage in bunker silos. The first system comprised a sheet of 45- μ m-thick oxygen barrier film (OB, polyethylene+ethylene-vinyl alcohol) placed along the length of the sidewall before filling, with approximately two meters of excess draped over the wall. After filling, the excess film was pulled over the wall, and a sheet of polyethylene was placed on top. The second system involved using a standard sheet (ST) of 180- μ m-thick polyethylene film. Eight commercial bunker silos were divided into two parts lengthwise so that half of the silo was covered with OB and other with ST system. During the filling, three bags with chopped corn were buried in the central part of the bunkers (CORE) in three 10-m-apart sections. After filling, eighteen bags (9 per covering system) were buried in the upper layer of the three sections. These bags were placed at three distances from the bunker walls (0 to 50, 51 to 100 and 101 to 150 cm). During unloading, the bags were removed from the silos to determine the dry matter (DM) losses, fermentation end-products and nutritive value. The Milk2006 spreadsheet was used to estimate milk per ton of DM. The experiment was set up as randomized blocks with eight replicates (silos). Two orthogonal contrasts were tested to compare silages under the two covering system with that in the CORE (OB versus CORE and ST versus CORE). Three orthogonal contrasts compared the distances from the bunker walls (OB50 versus ST50, OB100 versus ST100 and OB150 versus ST 150). Variables were analyzed with the PROC MIXED procedure of the SAS at 5%. OB method produced well-fermented silages, which were similar to CORE, whereas PE system showed less lactic acid and greater pH and molds counts compared with CORE. PE method had 116.2 kg of milk/ton less than CORE ($P = 0.0016$), as OB system and CORE were similar (1258.3 and 1294.0 kg/ton, respectively). Regarding the distances from the walls, the effects were more pronounced in the corner zones (0 to 50 cm). OB50 silages had better fermentation profile and lower spoiled microorganisms and DM losses than ST50. Corn silage at the shoulders has its quality similar to CORE when OB system is used.

Keywords: Aerobic deterioration. Bunker silo. Silage covering.

LISTA DE ABREVIATURAS

- BAL – Bactérias ácido lácticas
- CT – Centro
- DIVFDN – Digestibilidade *in vitro* da FDN
- DIVMS – Digestibilidade *in vitro* da MS
- EL_{LAC} – Energia líquida para lactação
- EVOH – Etileno vinil álcool
- FBO – Filme de baixa permeabilidade ao oxigênio
- FDN – Fibra em detergente neutro
- MS – Matéria seca
- NDT – Nutrientes digestíveis totais
- PA – Poliamida
- PB – Proteína Bruta
- PE – Polietileno

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1	10
1	INTRODUÇÃO GERAL	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Deterioração aeróbia em silagens	12
2.2	Filmes plásticos como controladores da deterioração aeróbia	15
	REFERÊNCIAS	18
	CAPÍTULO 2 Novo método de vedação no controle da deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em trincheira ..	22
1	INTRODUÇÃO	23
2	MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1	Localização e clima	25
2.2	Ensilagem e estabelecimento dos tratamentos	25
2.3	Análises químicas, perdas de matéria seca e estimativa da produção de leite	28
2.4	Análises fermentativas	29
2.5	Análises microbiológicas	29
2.6	Análises estatísticas	30
3	RESULTADOS	31
4	DISCUSSÃO	37
5	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	43

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho é uma espécie bem adaptada às condições climáticas do Brasil, sendo a cultura mais utilizada para a produção de silagens em fazendas leiteiras no país (BERNARDES; RÊGO, 2014). Entretanto, por apresentar elevado valor nutritivo, este alimento está propenso à deterioração aeróbia quando exposto ao ar durante o período de estocagem e na fase de desabastecimento, especialmente em ambientes de clima quente (ADESOGAN, 2009; ASHBELL et al., 2002; BORREANI; BERNARDES; TABACCO, 2008).

No Brasil, silos trincheira são amplamente utilizados nas fazendas zootécnicas (BERNARDES; RÊGO, 2014), devido às suas vantagens relacionadas ao manejo. Silos horizontais são preferidos no Brasil, pois seu custo de produção é considerado inferior quando comparados às demais estruturas de estocagem, além de permitir a manipulação de grandes volumes de forragem no momento do abastecimento e desabastecimento (SAVOIE; JOFRIET, 2003). Todavia, sua configuração permite que grandes áreas do material ensilado estejam expostas ao ambiente, especialmente nas camadas superiores (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007) e próximas às paredes (BOLSEN et al., 1993; MCDONELL et al., 2007). A camada periférica da silagem se torna mais deteriorada por ser uma zona de intensa troca gasosa e de difícil compactação, conseqüentemente menor densidade e maior porosidade da massa (PITT; MUCK, 1993). Somado a isso, as laterais superiores do silo são dificilmente bem vedadas, propiciando um ambiente favorável para deterioração (ASHBELL; LISKER, 1988). Desse modo, evitar e/ou reduzir a deterioração aeróbia em silagens de milho estocadas em trincheira se torna ponto chave para os produtores que utilizam este sistema de conservação. O grau de anaerobiose

alcançado no interior do silo é o principal fator relacionado com a preservação da massa (WOOLFORD, 1990), e este é dependente do método de vedação. Nos últimos anos diversos estudos têm buscado alternativas para conter a deterioração durante a etapa de estocagem por meio de filmes plásticos com menor permeabilidade ao oxigênio na etapa de vedação (BERNARDES; NUSSIO; AMARAL, 2011; BORREANI; TABACCO, 2014; BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007; TABACCO; BORREANI, 2002; WILKINSON; FENLON, 2013). A baixa permeabilidade ao oxigênio dos filmes plásticos pode ter grande efeito na redução das perdas por deterioração no topo da massa, mas não tão efetiva em zonas próximas às paredes do silo.

Considerando que a produção tecnificada de silagens é reportada desde o ano de 1900 (WILKINSON; BOLSEN; LIN, 2003), e as perdas por deterioração nas laterais superiores e próximo às paredes do silo não foram completamente controladas até os dias atuais, objetivou-se com este estudo determinar a eficácia de uma nova estratégia de vedação, por meio do posicionamento de um filme plástico com baixa permeabilidade ao oxigênio nas paredes da trincheira e capaz de controlar as perdas nas laterais superiores, onde o risco de deterioração é considerado frequente e intenso.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Deterioração aeróbia em silagens

Dentre as diferentes silagens, a de milho é particularmente susceptível à deterioração aeróbia quando exposta ao oxigênio na fase de estocagem ou na fase de desabastecimento (ASHBELL;WEINBERG, 1992; KUNG; SHEPERD; SMAGALA, 1998). A manutenção de um ambiente anaeróbio é essencial para conservação de forragens na forma de silagem, sendo que a presença de oxigênio geralmente resulta em elevadas perdas de matéria seca (BOLSEN, 1997; WOOLFORD, 1990) e perdas de importantes componentes nutricionais (KUNG; SHEPERD; SMAGALA, 1998) devido à oxidação do ácido lático e de carboidratos solúveis, ocasionando uma redução na qualidade da preservação da forragem.

Após os dois principais mecanismos de preservação da silagem serem perdidos, anaerobiose e aumento do pH, diferentes grupos de microrganismos começam a se desenvolver. Todavia o centro das atenções acaba sendo o controle dos microrganismos aeróbios espoliadores, pois sem o avanço de suas populações, a deterioração aeróbia não ocorre. Os fungos, em particular as leveduras, são geralmente responsáveis pelo início da deterioração aeróbia (WOOLFORD, 1990), embora os bacilos e as bactérias ácido acéticas possam determinar a deterioração inicial (PAHLOW et al., 2003; SPOELSTRA; COURTIN; VAN BEERS, 1983). Estes microrganismos se desenvolvem a partir de substratos presentes na forragem, levando ao consumo desses nutrientes, o que acarreta perdas no valor nutritivo da silagem e redução do consumo pelos animais (LINDGREN et al., 1985).

Quando este volumoso entra em contato com o ar durante o desabastecimento do silo, populações de leveduras superiores a 10^5 ufc/g podem

quebrar a estabilidade aeróbia em poucas horas (KUNG; SHEPERD; SMAGALA, 1998; MUCK, 2004; TABACCO; BORREANI, 2002). As leveduras em geral têm intervalo ótimo de temperatura para o crescimento que vai de 28°C até 40°C e, sendo que acima de 45°C, a população tende a diminuir (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Na presença de O₂, o ácido láctico é transformado em ácido acético, CO₂, e água, acompanhado de elevação da temperatura e do pH da silagem. Uma vez iniciado este processo, o calor que é gerado causará um aumento na temperatura da silagem propiciando um ambiente adequado para o desenvolvimento de outros microrganismos, tais como, fungos filamentosos, bacilos, listeria, clostrídeos e enterobactérias (TABACCO et al., 2009). A atividade em aerobiose por leveduras é a principal razão para a deterioração da silagem quando exposta ao O₂ (ROOKE; HATFIELD, 2003).

O desenvolvimento de fungos filamentosos acontece em sucessão ao aparecimento das leveduras (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991) e a deterioração causada pelos mesmos determina as perdas de elementos nutritivos e de energia, além do risco de contaminação por micotoxinas (LINDGREN; OLDENBURG; PAHLOW, 2002) e redução do consumo pelos animais (LINDGREN et al., 1985). Assim, animais que são alimentados com grande quantidade de silagem deteriorada na dieta, como as vacas leiteiras, podem intoxicar-se, causando efeitos indiretos ao homem ao longo da cadeia produtiva do leite (WHITLOW; HAGLER JÚNIOR, 1997).

A ocorrência de fungos na silagem geralmente é relatada nas áreas mais superficiais, sendo que os mesmos podem indicar má vedação e/ou compactação. Estes microrganismos se desenvolvem em estágios avançados de deterioração (WOOLFORD, 1990), e sua relevância não está restrita unicamente à geração de perdas e redução da aceitabilidade. Fungos visíveis na silagem subestimam áreas circundantes muito maiores, sendo que estas podem conter

micélio invisível, bem como a ocorrência de micotoxinas (PAHLOW et al., 2003).

O caminho e a extensão pela qual a silagem se deteriora quando exposta ao O₂, dependem principalmente da interação entre bactérias e fungos (leveduras e fungos filamentosos) já presentes na cultura, das características químicas e físicas do alimento e das condições do ambiente. Estes fatores são influenciados pelo manejo de confecção e de uso da silagem.

Recentes estudos em deterioração aeróbia têm mostrado o efeito de inoculantes em inibir ou diminuir a taxa de deterioração. Ademais, existe um número considerável de pesquisas que contribuem para o entendimento da dinâmica do processo de deterioração. Dolci et al. (2011), identificou uma espécie de bactéria acética (*Acetobacter pasteurianus*), Bacilos (*Bacillus subtilis*), e duas espécies de fungos filamentosos (*Kazachstania exigua*, *Aureobasidium pullulans*), em silagens armazenadas sob filmes de barreira ao oxigênio e PE. Neste trabalho os autores associam o início da deterioração aeróbia à presença de *Acetobacter* no filme de barreira ao oxigênio (125µm), enquanto que uma espécie desconhecida de fungo filamentoso iniciou a deterioração no tratamento PE. Espécies de *Bacillus* e fungos se tornaram mais prevalentes após o aquecimento da massa e aumento do pH. Outros trabalhos utilizando diferentes métodos de identificação de microrganismos (LI; NISHINO; LI, 2011; ROSSI; DELLAGLIO, 2007), mostraram que diferentes microrganismos encontrados na silagem podem estar relacionados ao processo de deterioração, o que poderá auxiliar em um melhor entendimento do controle deste processo.

2.2 Filmes plásticos como controladores da deterioração aeróbia

Em silos trincheira, a superfície a ser coberta é grande em relação ao conteúdo total, portanto, a qualidade do filme plástico utilizado para vedar silos horizontais (BORREANI; TABACCO, 2014) é de elevada consideração, pois pode definir a quantidade de perdas do material ensilado. O filme plástico deve: I) ser resistente à penetração de raios ultravioleta, a fim de resistir a uma exposição prolongada à luz solar, II) prevenir a massa de danos causados por intempéries climáticas ou animais, o que exige certas características mecânicas e III) garantir anaerobiose do material ensilado. O polietileno é o filme mais utilizado para a composição de filmes plásticos, entretanto, a proteção fornecida por este material é altamente variável e muitas vezes muda durante o período de armazenamento.

Desse modo, espera-se que uma redução na permeabilidade ao oxigênio por meio da utilização de filmes com barreira ao oxigênio tenha efeito benéfico sobre a deterioração aeróbia da silagem, principalmente na camada mais externa (WILKINSON; FENLON, 2013). A impermeabilidade ao oxigênio dos filmes plásticos usados na vedação de silos horizontais tem grande efeito na redução das perdas por deterioração do topo (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007). No entanto, é fundamental aliar a essa característica as características de proteção mecânicas. Borreani, Tabacco e Cavallarin (2007) demonstraram uma notável redução em perdas de MS, devido à adoção de uma película de barreira coextrusa (barreira de oxigênio) com poliamida (PA) como um polímero de barreira para cobrir silos trincheira. Para se obter uma película de plástico com a permeabilidade ao oxigênio $<100 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}$ (em condições padrão de 23 ° C, 100 kPa, e 65% de umidade relativa), é necessário dispor de uma camada de PA de pelo menos 14 μm de espessura.

A primeira geração de películas que usava PA como camada de barreira, possuía características mecânicas semelhantes ao filme constituído de PE (BORREANI; TABACCO; DEANGELIS, 2011). Além disso, algumas experiências práticas (STAPLES, 2009), em que a PA foi utilizada como filme de barreira, relataram problemas de fragilidade do plástico, o que levou à necessidade de substituir a poliamida por outro polímero, o que foi considerado um segundo avanço no sistema de cobertura.

Entre os polímeros atualmente disponíveis no mercado, o etileno vinil álcool (EVOH) oferece a melhor barreira ao oxigênio, pois combina altas propriedades de barreira com boas características mecânicas, tais como resistência à perfuração, resistência ao rasgo e flexibilidade (BORREANI; TABACCO; DEANGELIS, 2011). Estas características o tornam adequado para a produção de películas para aplicações agrícolas, por meio de coextrusão com polietileno para produzir filmes plásticos com 20 a 200 μm de espessura. A disponibilidade de uma nova formulação de EVOH, em conjunto com novos maquinários e tecnologia (RÜBBELKE, 2012) tornaram possível produzir uma nova geração de plásticos com alto poder de barreira ao oxigênio para vedar silagens (BORREANI; TABACCO, 2012). Estes autores avaliaram o efeito sobre a qualidade da fermentação química e microbiológica da silagem de milho em silos trincheira coberto com FBO, coextruso com EVOH, em comparação com um filme padrão de PE, e relataram que a camada superior de silagens conservadas sob FBO apresentaram maiores valores de ácido láctico e menor pH, ademais apresentou contagens mais baixas de leveduras e fungos filamentosos, estabilidade aeróbia mais prolongada e menores perdas de MS. Estes resultados propiciaram um ganho econômico quando FBO foi utilizado, devido ao aumento da recuperação de MS, além de garantir uma vida útil mais longa da silagem durante o consumo e reduzir o efeito prejudicial dos fungos sobre a qualidade nutricional e microbiológica da silagem.

A utilização de películas de plástico com barreira ao oxigênio pode garantir uma vida útil mais longa da silagem, protegendo-a contra a deterioração além de poder adiar o crescimento de fungos patogênicos, capazes de produzir micotoxinas que são prejudiciais para os animais e seres humanos (CAVALLARIN et al., 2011; DOLCI et al., 2011).

REFERÊNCIAS

ADESOGAN, A.T. Challenges of tropical silage production. In: BRODERICK, G.A. et al. (Ed.). In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison: University of Wisconsin, 2009. p. 139–154.

ASHBELL, G. et al. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. **Journal Industrial Microbiology and Biotechnology**, Houndmills, v. 28, p. 261–263, 2002.

ASHBELL, G.; LISKER, N. Aerobic deterioration in maize silage stored in a bunker silos 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. Top silage losses in horizontal silos. **Canadian Agricultural Engineering**, Warszawa, v. 34, n. 2, p. 171–175, 1992.

BERNARDES, T. F.; NUSSIO, L. G.; AMARAL, R. C. Top spoilage losses in maize silage sealed with plastic films with different permeabilities to oxygen. **Grass Forage Science**, Malden, v. 67, p. 34–42, 2011.

BERNARDES, T. F.; RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, p. 1852-1861, 2014.

BOLSEN, K. K. et al. Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.6, p.2940-2962, 1993.

BOLSEN, K.K. Issues of top spoilage losses in horizontal silos. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK, 1., 1997, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: [s. n.], 1997. p.137-150.

BORREANI, G.; BERNARDES, T.F.; TABACCO, E. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm in high quality milk and cheese production chains. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, p. 68-77, 2008.

BORREANI, G. et al. Aerobic deterioration stimulates outgrowth of spore-forming *Paenibacillus* in corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.96, p. 5206–5216, 2013.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 10, p. 4701-4706, Oct. 2007.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; DEANGELIS, D. Special EVOH: based films improve quality and sanity of farm corn silage. In: INTERNATIONAL CONFERENCE AGRICULTURAL AND HORTICULTURAL FILM INDUSTRY, 1., 2011, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona: Applied Market Information Ltda, 2011. p. 1-15.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Effect of silo management factors on aerobic stability and extent of spoilage in farm maize silages. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Hämeenlinna. **Proceedings...** Hämeenlinna: [s. n.], 2012. p. 71-72.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Improving corn silage quality in the top layer of farm bunker silos through the use of a next-generation barrier film with high impermeability to oxygen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, p. 2415-2426, 2014.

CAVALLARIN, L. et al. Aflatoxin accumulation in whole crop maize silage as a result of aerobic exposure. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, n. 13, p. 2419-2425, June 2011.

DOLCI, P. et al. Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, p. 7499-7507, 2011.

KUNG, L.; SHEPERD, A.C.; SMAGALA, A.M. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, p.1322-1330, 1998.

LINDGREN, S. et al. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, London, v.36, p.765-774, 1985.

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, 29., 2002, La Rochelle. **Proceedings...** La Rochelle: [s. n.], 2002. p.503-511.

LI, Y.; NISHINO, N.; LI, Y.B. Effects of inoculation of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability and microbial communities in whole crop corn silage. **Grassland Science**, Tochigi, v. 57, p. 184-191, 2011.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2nd ed. Marlow: Chalcombe, 1991.

McDONELL, E. E. et al. An evaluation of two methods to cover bunker silos to maintain the nutritive value of silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 180, 2007.

MUCK, R.E. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. **Transactions of the Asae**, St. Joseph, v.47, p.1011-1016, 2004.

PAHLOW, G. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.; HARRISON, J. R. (Ed.). **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.31-93.(Monograph, 42).

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

ROOKE, J.A.; HATFIELD, R. D. Biochemistry of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. **Silage science and technology**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 2003. p.95-140.

ROSSI, F.; DELLAGLIO, F. Quality of silages from Italian farms as attested by number and identify of microbial indicators. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 103, p. 1707-1715, 2007.

RÜBBELKE, I. Technology trends and requirements to modern extrusion machinery for silage stretch. In: INTERNATIONAL CONFERENCE AGRICULTURAL AND HORTICULTURAL FILM INDUSTRY, 1., 2012, Madrid. **Proceedings...**Madrid: Applied Market Information Ltda, 2012. p. 4.1–4.20.

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, 2003. p. 405-468.

SPOELSTRA, S.F.; COURTIN, M.G.; VAN BEERS, J.A.C. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of maize silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.111, p.127-132, 1983.

STAPLES, C. **Covering bunker silos with plastic**. 2009. Disponível em: <<http://animal.ifas.ufl.edu/extension/CSFD/2009csfdpredpdf/staples09.pdf>>. Acesso em: 21 jan. 2016.

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: SAC, 2002. p. 178-179.

TABACCO, E. et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.107, p.1632–1641, 2009.

WHITLOW, L. W.; HAGLER JÚNIOR, W. N. Effects of mycotoxins on the animal: the producer's perspective. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK, 1., 1997, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1997. p. 222-232.

WILKINSON, J.M.; BOLSEN, K.K.; LIN, C.J. **History of silage: silage science and technology**. Madison: ASA, 2003. p. 1-30.

WILKINSON, J. M.; FENLON, J. S. A meta-analysis comparing standard polyethylene and oxygen barrier film in terms of losses during storage and aerobic stability of silage. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 69, n, 3, p. 385-392, 2013.

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

CAPÍTULO 2

Novo método de vedação no controle da deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em trincheira

RESUMO

Com o intuito de controlar perdas por deterioração nas áreas periféricas de silos trincheira, este experimento avaliou a eficiência de um filme com barreira ao oxigênio posicionado na parede de silos trincheira visando controlar ou a deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas nessas estruturas. O experimento foi realizado em 2014 e 2015. Oito silos foram divididos longitudinalmente, sendo que uma das paredes foi revestida com filme de barreira ao oxigênio (45 μm), de modo que a vedação contivesse na metade do topo a presença do FBO e a outra metade somente uma cobertura convencional (polietileno) de 200 μm . Durante o abastecimento dos silos, foram enterrados três sacos, contendo cerca de 6 kg de forragem na região central (CT) em três diferentes seções equidistantes. Após o abastecimento dos silos, 18 sacos foram enterrados no topo, sendo 9 sacos para cada método e seis em cada seção. Os sacos foram posicionados em três diferentes distâncias a partir da parede (0–50, 51–100 e 101–150 cm), os quais foram denominados como FBO50, FBO100, FBO150 e PE50, PE100 e PE150. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com sete tratamentos (posições dos sacos dentro dos silos) e oito repetições (silos). Os dados foram analisados pelo método de modelos mistos utilizando o recurso PROC MIXED do programa SAS 9.0. Contrastes ortogonais a 5% de probabilidade foram realizados para comparar as duas laterais com a região central e o efeito das posições de cada lateral. Silagens armazenadas sob o FBO apresentaram menores valores para pH, amônia e contagem microbiana, além de maiores valores para NDT, EL_{lac} , produção de leite e ácido láctico. Dentre as posições comparadas, as mais próximas à parede e o topo lateral, FBO50, apresentaram diferenças quanto aos valores de DIVFDN, DIVMS, amido, NDT, EL_{lac} , produção de leite e ácido láctico. O revestimento das paredes com FBO proporcionou melhor perfil fermentativo e preservou mais satisfatoriamente os nutrientes de silagens armazenadas nas zonas periféricas de silos trincheira, além de ter reduzido perdas de matéria seca na posição mais próxima à parede, onde o risco de deterioração é considerado intenso e recorrente.

Palavras chave: Filme de barreira ao oxigênio. Estratégia de vedação. Regiões periféricas.

1 INTRODUÇÃO

O fator que mais influencia na preservação da forragem sob a forma de silagem é o grau de anaerobiose alcançado no interior do silo (WOOLFORD, 1990). Grande parte da forragem estocada em silos trincheira está exposta ao ar e propensa às perdas, especialmente nas camadas superficiais e próximas às paredes, sendo essas regiões consideradas críticas para uma adequada vedação (ASHBELL; LISKER, 1988). O contato da massa com o oxigênio estimula o crescimento de bactérias aeróbias, leveduras e fungos filamentosos, levando ao processo de deterioração aeróbia. Esse processo resulta em perdas de MS e de nutrientes, além de uma possível presença de micotoxinas, o que pode levar a uma redução no consumo da silagem pelos animais (PAHLOW et al., 2003) além de causar problemas relacionados à segurança alimentar.

Filmes de polietileno têm sido utilizados desde a década de 1950 para vedar silos e evitar perdas no topo; contudo, estes filmes são permeáveis ao oxigênio (O'KIELY; FORRISTAL, 2003). Uma forma de tentar reduzir a permeabilidade ao oxigênio dos filmes plásticos tem sido a utilização de filmes com barreira ao oxigênio, os quais são desenvolvidos pela coextrusão de polietileno com poliamida, e mais recentemente, com o etileno vinil álcool (EVOH). Até o momento, estudos envolvendo a associação de EVOH e PE foram conduzidos por meio do sistema de vedação '1-step' (BORREANI; TABACCO, 2014), no qual uma lona coextrusa de 125 µm de espessura é posicionada diretamente sobre o topo da massa em silos trincheira.

Estudos têm mostrado que as perdas próximo às paredes (laterais superiores) são maiores que aquelas no topo (ASHBELL; KASHANCHI, 1987; ASBELL; LISKER, 1988; BERGER; BOLSEN, 2006). Este fato pode ser explicado pela menor densidade nas laterais superiores (BORREANI; BERNARDES; TABACCO, 2008) e pela possível penetração do oxigênio por

meio das paredes do silo (HONIG, 1991). Desse modo, um problema que ainda precisa ser solucionado é a redução do processo de deterioração próximo às paredes da trincheira.

Um método conhecido como '2-step', o qual consiste no revestimento das paredes dos silos com um plástico fino (45 μm) e transparente contendo EVOH e PE ainda não foi testado. Nesse sistema, o filme plástico com barreira ao oxigênio posicionado entre a parede do silo e a massa de silagem, é levado até o topo e posteriormente coberto por uma segunda lona de PE, concluindo assim a vedação. Acredita-se que o revestimento das paredes com FBO e o envelopamento da massa de forragem por meio do sistema '2-step' reduzam as perdas nas regiões próximas as paredes já que estas são consideradas mais críticas, em função da menor densidade e maior porosidade, tendo assim maior ingresso de oxigênio. Portanto, o objetivo deste estudo foi de determinar se o revestimento das paredes com filme plástico contendo barreira ao oxigênio ("2-step") permite o controle ou a redução da deterioração aeróbia de silagens de milho estocadas em trincheiras e em qual posição do topo é mais efetivo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e clima

O experimento foi conduzido ao longo dos anos de 2014 e 2015, em duas fazendas localizadas na região Sul de Minas Gerais. Fazenda Vargem Grande, localizada no município de Itutinga (latitude 21° 18' 53" Sul; longitude 44° 41' 36" oeste, altitude 945m), e Fazenda Rincão, município de Itumirim (latitude 21° 16' 75" Sul; longitude 44° 47' 27" Oeste, altitude 871m).

O clima de ambas as cidades é classificado como Cwb- tropical mesotérmico brando semiúmido, pelo sistema internacional de Koppen (SÁ JUNIOR, 2011). A temperatura média no mês mais quente é de 28°C e 16,9°C no mês mais frio.

2.2 Ensilagem e estabelecimento dos tratamentos

Para cada ano foram utilizados quatro silos trincheira de alvenaria (2 em cada fazenda) com dimensões próximas de 50 m (+ - 3 m) de comprimento, 4,9 m (+ - 0,5 m) de largura e 3 m (+ - 0,20 m) de altura. O híbrido de milho utilizado pelas fazendas nos dois anos experimentais foi o AG 8041 (Agrocere Sementes, Brasil).

Em 2014, o milho foi colhido nos meses de Janeiro e Fevereiro por uma colhedora automotriz (John Deere 7350) regulada para tamanho teórico de corte de 13 mm e dispositivo para rompimento de grãos para 2,5mm. Em 2015, o milho foi colhido entre os meses de Fevereiro e Março, por uma colhedora tracionada por trator (Nogueira, New CAT 1200), regulada para tamanho teórico de corte 12mm, tendo as facas amoladas a cada 6h trabalhadas e dispositivo para rompimento de grãos ajustado para 2 mm. Em ambos os anos, a forragem foi

inoculada com uma associação de *Pediococcus acidilactic* e *Lactobacillus plantarum*(Kerasil, KERA Brasil) na concentração de $3,2 \times 10^4$ ufc/g.

Foram avaliados dois métodos de vedação. O primeiro consistiu do posicionamento de uma lona de 45 μm com alta barreira ao oxigênio (composta de PE e EVOH) ao longo de toda extensão de uma das paredes de cada silo. Cerca de 2m desse filme foram deixados em excesso para que o mesmo pudesse ser colocado sobre o topo após o abastecimento total do silo. Após este procedimento, uma lona convencional de 200 μm (composta somente de PE) foi posicionada sobre o FBO. O segundo sistema de vedação consistiu no posicionamento do filme PE sobre a massa, ou seja, não houve revestimento da outra parede com FBO. Os silos foram divididos longitudinalmente em duas partes, de modo que metade da massa ensilada de cada trincheira ficasse coberta com um dos métodos de avaliação.

Durante o abastecimento dos silos, foram colocados três sacos de nylon (50 cm largura), contendo cerca de 6 kg de forragem, na posição central (CT) do painel do silo (metade da altura das paredes), em três diferentes seções transversais e equidistantes. Após o abastecimento dos silos, 18 sacos foram alocados no topo em contato com a lona, sendo 6 sacos em cada seção transversal, totalizando 9 sacos para cada método de vedação. Estes sacos foram posicionados em três diferentes distâncias a partir da parede (0–50, 51–100 e 101–150 cm), os quais foram denominados como FBO50, FBO100 e FBO150 e PE50, PE100 e PE150, para os métodos FBO e PE nas respectivas distâncias. O esquema utilizado para o estabelecimento dos tratamentos pode ser visualizado nas Figura 1 e 2.

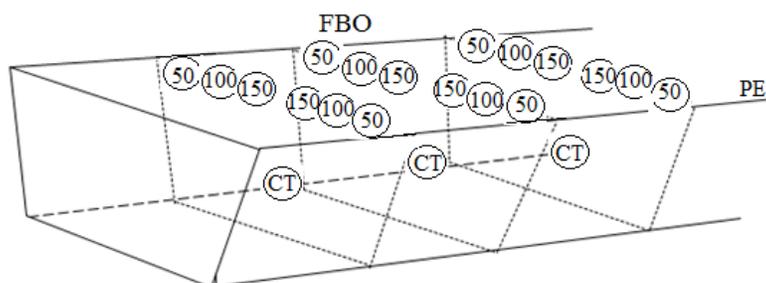


Figura 1 Posicionamento dos sacos de nylon na superfície e centro dos silos trincheira, em três seções equidistantes

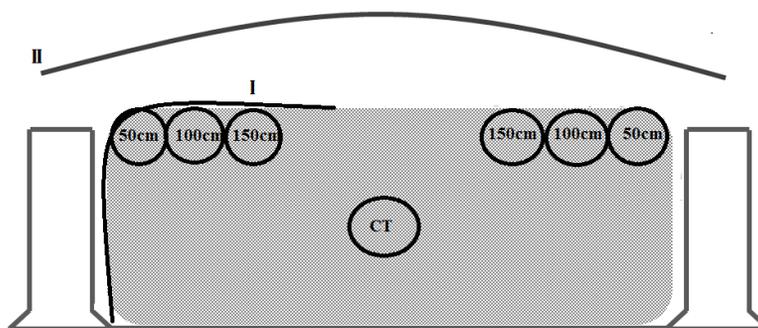


Figura 2 Posicionamento dos filmes e dos sacos sob: I = método FBO e II = método PE e CT

Os silos foram abertos de acordo com a gestão de cada fazenda e, à medida que ocorria o desabastecimento, os sete sacos de cada seção eram recolhidos simultaneamente, pesados e levados ao laboratório para realização das análises químicas e microbiológicas. O tempo de armazenamento, período de utilização e avanço médio diário das fazendas estão mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 Tempo de armazenamento, dias de utilização e avanço médio de silagens armazenadas em silos trincheira nos anos de 2014 e 2015

	Mínimo	Máximo	Média
Tempo de armazenamento (dias)	22	246	134
Dias de utilização (dias)	28	58	43
Avanço (m/dia)	0,68	1,13	0,9

2.3 Análises químicas, perdas de matéria seca e estimativa da produção de leite

Amostras da forragem e das silagens, ambos em duplicata, foram levadas à estufa de ventilação forçada à 60°C por 72 horas, para determinação da matéria seca (MS), conforme a Association of Official Analytical Chemists-AOAC (1990) e moídas em moinho com peneira de crivo de 1 mm para posterior determinação das cinzas (AOAC, 1990), da proteína bruta (PB) (AOAC, 1990), fibra em detergente neutro (FDN) (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991) e do amido (HALL; MERTENS, 2008).

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da FDN (DIVFDN) foram determinadas pelo método proposto por Holden (1999), por meio do equipamento DAISY II (ANKOM Technology Corp, Fairport, NY, EUA). O fluido ruminal foi coletado via canula, duas horas após a alimentação matinal. Os dois animais foram alimentados com uma dieta contendo 80% de silagem de milho e 20% de concentrado.

Nutrientes digestíveis totais (NDT), energia líquida para lactação (ELI_{ac}) e a produção de leite (kg/ton MS) foram estimadas de acordo com a planilha MILK 2006 (SHAVER et al., 2006). As perdas de MS foram calculadas como a diferença entre o peso de MS colocado em cada saco na ensilagem e a MS

removida no final do armazenamento, conforme equação proposta por Bolsen (1997).

2.4 Análises fermentativas

A determinação do pH e do nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) foram obtidos por meio de um extrato aquoso preparado com 30g de amostra e 270g de água destilada. A mensuração de cada variável ocorreu por meio de um eletrodo específico, acoplado a um multiparâmetro (Thermo Scientific Orion Star A214 pH / ISE).

Na determinação dos ácidos (lático, acético, propiônico, butírico, cítrico, málico, succínico) e etanol foi utilizada a cromatografia líquida de alta precisão (Shimadzu LC 10 Ai; Shimadzu Corp., Tokyo, Japão). O extrato de silagem foi obtido após homogeneização em stomacher durante 4 minutos, de 270 ml de água destilada e 30g de amostra fresca. Dois ml de amostra foram alocadas em eppendorfs contendo 0,01 ml de ácido sulfúrico 50%, posteriormente levadas ao laboratório para centrifugação, filtragem e injeção. Para ácidos orgânicos foi utilizado o detector de radiação ultra violeta (UV-vis) com comprimento de onda de 210nm e para etanol, um detector de índice de refração (RID; 10A SPD-10Ai). O aparelho foi equipado com uma coluna de exclusão de íon (SUPELCO – SUPELCOGEL 8H-5cm-4.8mm) operando a 30°C com um fluxo de corrida de 0,6ml/min com fase móvel água e ácido sulfúrico 0,005M.

2.5 Análises microbiológicas

A contagem de leveduras e fungos filamentosos foi feita a partir de um extrato aquoso com 30 g de amostra e 270g de água peptonada, o qual foi

homogeneizado durante 4 minutos, utilizando o aparelho Stomacher (modelo Stomacher® 400, Seward). As contagens foram feitas utilizando a técnica de plaqueamento em superfície com o meio de cultura YGC Agar (Fluka, Sigma Aldrich Química Brasil LTDA) e as diluições feitas em série e em duplicata. As placas de petri foram incubadas a 28 °C durante cinco dias para posterior contagem das colônias, com base em suas características macromorfológicas (TABACCO et al., 2009). Houve transformação dos dados das contagens microbiológicas para \log_{10} , visando obter distribuição normal dos dados.

2.6 Análises estatísticas

O delineamento experimental realizado foi em blocos casualizados, com sete tratamentos (posições dos sacos dentro dos silos) e oito repetições (silos), considerando posição como efeito fixo e silo como aleatório e, das três seções dos silos, foram feitas médias para cada tratamento. Os dados foram analisados pelo método de modelos mistos utilizando o recurso PROC MIXED do programa SAS 9.0 (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2002). Contrastes ortogonais à 5% de probabilidade foram realizados para se verificar a comparação das duas laterais com a região central (FBO versus CT e PE versus CT) e o efeito das posições de cada lateral (FBO50 versus PE50, FBO100 versus PE100 e FBO150 versus PE150). O modelo estatístico foi:

$$Y_{jk} = \mu + S_j + T_i + e$$

Onde:

μ = média geral

S_j = efeito de silo

T_i = efeito de tratamento

e = erro experimental

3 RESULTADOS

Quando FBO foi contrastado com CT, não houve diferença para as concentrações de MS, cinzas, PB, amido, DIVFDN, DIVMS, NDT, EL_{lac} , estimativas da produção de leite, pH, os ácidos acético, propiônico, butírico, cítrico, málico, succínico, etanol, contagem de fungos filamentosos e as perdas de MS, ($P > 0,05$). Houve diferença apenas para as concentrações de FDN ($P = 0,0329$), $N-NH_3$ ($P = 0,0222$), ácido láctico ($P = 0,0105$) e contagem de leveduras ($P < 0,0001$).

Quando a lateral contendo o método PE foi comparada com CT, não houve diferença para as concentrações de MS, DIVFDN, $N-NH_3$, para os ácidos acético, propiônico, butírico, málico, succínico e perdas de MS ($P > 0,05$). O método PE apresentou diferenças quanto aos teores de cinzas ($P = 0,0021$), PB ($P = 0,0020$), amido ($P = 0,0032$), FDN ($P = 0,0001$), DIVMS ($P = 0,0001$). Para as concentrações de NDT, EL_{lac} e estimativas da produção de leite, PE obteve valores inferiores quando comparados com CT ($P = 0,0016$, $P = 0,0014$ e $P = 0,0016$) respectivamente. Quanto aos aspectos fermentativos, PE apresentou maiores valores para pH ($P = 0,0001$) e etanol ($P = 0,0193$) e menores concentrações de ácido láctico ($P < 0,0001$) e ácido cítrico ($P = 0,0333$) em comparação com silagens estocadas em CT. Para a contagem de leveduras e fungos filamentosos PE obteve os maiores valores destas variáveis ($P < 0,0001$ e $P = 0,0057$) respectivamente

Tabela 2 Composição química, estimativas da produção de leite, perfil fermentativo, contagem microbiana e perdas de MS das silagens armazenadas no centro (CT) e nas laterais de silos trincheira sob o filme barreira ao oxigênio (FBO) e polietileno (PE)

	FBO	PE	CT	EPM	VALOR DE <i>P</i>	
					FBO*CT	PE*CT
MS (%)	36,1	37,9	36,0	1,36	0,9810	0,0894
Cinzas (%MS)	3,42	3,61	3,19	0,18	0,0840	0,0021
PB (%MS)	8,52	9,13	8,24	0,35	0,2896	0,0020
Amido (%MS)	34,7	31,5	36,5	3,28	0,2514	0,0032
FDN (%MS)	44,5	46,3	42,5	2,52	0,0329	0,0001
DIVFDN (%MS)	47,5	46,6	47,1	3,14	0,7145	0,5839
DIVMS (%MS)	68,8	66,0	70,6	1,80	0,0699	0,0001
NDT (%)	63,4	60,1	64,3	2,09	0,3390	0,0016
ELlac. (Mcal/kg MS)	1,39	1,32	1,42	0,04	0,2749	0,0014
Leite (Kg/ton MS)	1258,3	1177,8	1294,0	62,6	0,3044	0,0016
pH	3,89	4,33	3,77	0,12	0,2959	0,0001
N-NH ₃ (%N total)	5,67	5,95	6,62	0,93	0,0222	0,1000
Ác. láctico(%MS)	6,56	5,22	7,99	0,76	0,0105	<0,0001
Ác. acético(%MS)	0,88	0,67	0,95	0,22	0,7920	0,2394
Ác. propiônico(%MS)	0,42	0,45	0,65	0,20	0,1388	0,1768
Ác. butírico(%MS)	0,21	0,33	0,07	0,18	0,3089	0,0622
Ác. cítrico(%MS)	0,97	0,72	1,53	0,42	0,1271	0,0333
Ác. málico(%MS)	0,09	0,27	0,07	0,14	0,8751	0,2307
Ác. succínico(%MS)	0,50	0,91	0,77	0,30	0,4554	0,7090
Etanol (%MS)	0,53	0,80	0,27	0,21	0,2091	0,0193
Levedura (log ufc/g)	4,18	5,42	1,50	0,94	<0,0001	<0,0001
FF (log ufc/ g)	< 2,00	2,39	< 2,00	0,53	0,7385	0,0057
Perdas MS (%)	5,80	9,34	7,03	1,37	0,3981	0,1131

Dados de composição química e perfil fermentativo são apresentados como % MS; MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; DIVFDN: digestibilidade *in vitro* da FDN; DIVMS: digestibilidade *in vitro* da MS, NDT: nutrientes digestíveis totais; ELlac.: energia líquida para lactação; N-NH₃: nitrogênio amoniacal; FF – fungos filamentosos. CT: centro; FBO: filme barreira ao oxigênio e PE: filme de polietileno

Não houve diferença entre as posições de ambos os filmes para as concentrações de MS, cinzas e FDN ($P > 0,05$). A concentração de PB foi superior apenas para a posição PE50, em relação a FBO50 ($P = 0,0049$). Para as concentrações de amido, silagens armazenadas em FBO50 apresentaram diferença quanto ao filme PE50 ($P = 0,0454$). A DIVFDN foi superior apenas

para a posição FBO50 ($P= 0,0121$). Os valores de DIVMS foram superiores para as posições FBO50 E FBO100 ($P = 0,0094$ e $P = 0,007$) respectivamente. As variáveis NDT, El_{lac} e produção de leite foram superiores apenas para silagens armazenadas em FBO50 cm ($P = 0,0094$, $P = 0,031$ e $P = 0,0186$) respectivamente.

Tabela 3 Composição química e estimativa da produção de leite das silagens armazenadas nas posições FBO50, FBO100, FBO150, PE50, PE100 e PE150

	50cm			P-Valor	100cm			P-Valor	150cm			P-Valor
	FBO	PE	EPM		FBO	PE	EPM		FBO	PE	EPM	
MS (%)	36,2	38,8	1,31	0,0571	36,2	38,8	1,36	0,4248	35,8	37,7	1,36	0,1577
Cinzas (%)	3,42	3,64	0,15	0,1416	3,53	3,62	0,18	0,7409	3,36	3,65	1,18	0,0695
PB (%)	8,20	9,00	0,30	0,0049	8,91	8,92	0,35	0,7937	8,52	9,28	0,35	0,0315
Amido (%)	34,5	30,4	1,97	0,0454	34,0	30,1	3,28	0,1285	35,4	33,1	3,28	0,2416
FDN (%)	44,9	46,6	1,10	0,1262	43,9	45,8	2,52	0,0901	44,8	46,5	2,52	0,1272
DIVFDN (%)	49,3	46,3	1,11	0,0121	46,8	47,8	3,14	0,3412	46,5	45,8	3,14	0,5552
DIVMS (%)	69,3	66,2	1,15	0,0094	69,3	66,0	1,80	0,007	67,8	65,9	1,80	0,1117
NDT (%)	63,5	60,2	1,21	0,0094	63,5	61,5	2,09	0,1039	63,1	61,3	2,09	0,1368
EL_{lac}(Mcal/Kg MS)	1,38	1,31	0,03	0,031	1,41	1,33	0,04	0,0575	1,39	1,34	0,04	0,1478
Leite (Kg/ ton MS)	1255,1	1152,1	42,06	0,0186	1265,1	1188,2	62,58	0,0747	1254,8	1193,1	62,58	0,1498

Dados de composição química e perfil fermentativo são apresentados como %MS; MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; DIVFDN: digestibilidade *in vitro* da FDN; DIVMS: digestibilidade *in vitro* da MS; NDT: nutrientes digestíveis totais; EL_{lac}: energia líquida para lactação; FBO: filme barreira ao oxigênio e PE: filme de polietileno

Tabela 4 Perfil fermentativo, população de microrganismos e perdas de MS de silagens armazenadas nas posições FBO50, FBO100, FBO150, PE50, PE100 e PE150cm

	50cm			P- Valor	100cm			P- Valor	150cm			P- Valor
	FBO	PE	EPM		FBO	PE	EPM		FBO	PE	EPM	
pH	3,94	4,41	0,14	0,002	3,86	4,23	0,12	0,013	3,88	4,36	0,126	0,0016
N-NH₃(%Ntotal)	5,41	6,22	0,48	0,1070	5,43	6,34	0,93	0,0925	5,19	5,44	0,93	0,1018
Ácido láctico (%)	6,94	4,62	0,76	0,0030	5,97	5,51	0,79	0,5454	6,18	5,54	0,76	0,0399
Ácido acético (%)	0,85	0,63	0,22	0,4382	0,74	0,63	0,22	0,6862	1,18	0,64	0,22	0,0601
Ácido propiônico(%)	0,42	0,47	0,20	0,7966	0,37	0,46	0,20	0,6203	0,49	0,42	0,20	0,8892
Ácido butírico(%)	0,28	0,43	0,18	0,3736	0,08	0,22	0,18	0,4057	0,29	0,36	0,18	0,3934
Ácido cítrico (%)	1,31	0,68	0,42	0,1576	0,65	0,82	0,42	0,6900	0,96	0,68	0,42	0,5189
Ácido málico(%)	0,12	0,54	0,14	0,0579	0,07	0,17	0,14	0,6313	0,09	0,12	0,14	0,4240
Ácido succínico(%)	0,56	0,66	0,30	0,8168	0,46	0,53	0,30	0,8787	0,49	1,54	0,30	0,7054
Etanol (%)	0,34	0,89	0,21	0,0443	0,66	0,69	0,23	0,8970	0,61	0,84	0,21	0,0637
Levedura (log ufc/g)	4,72	6,42	0,67	0,0172	3,92	5,11	0,94	0,0812	3,94	4,75	0,94	0,2375
FF (log ufc/g)	< 2,00	2,61	0,58	0,009	< 2,00	2,44	0,53	0,0216	< 2,00	2,18	0,53	0,2419
Perdas MS (%)	5,02	9,73	1,73	0,0098	4,85	7,61	1,37	0,1223	7,57	10,7	1,47	0,2418

Nas concentrações de N-NH₃, os ácidos acético, propiônico, butírico, cítrico, málico e succínico, não apresentaram diferenças para as três posições de ambos os filmes ($P > 0,05$). Silagens armazenadas em FBO, apresentaram menores valores de pH para todas as posições ($P = 0,002$, $P = 0,013$ e $P = 0,0016$) respectivamente e apenas em FBO50 houve diferença para a concentração de ácido láctico ($P = 0,0030$) e etanol ($P = 0,0443$). A contagem de leveduras foi superior em PE50 ($P = 0,0172$). Para a contagem de fungos filamentosos, PE50 e PE100 foram superiores e diferentes daquelas encontradas nas mesmas posições FBO, ($P = 0,009$ e $P = 0,0216$). Em relação às perdas de matéria seca, esta foi inferior apenas para FBO50 ($P = 0,0098$).

4 DISCUSSÃO

Para que uma silagem seja produzida e utilizada de forma adequada, várias etapas são exigidas, o que faz da ensilagem um processo de alto custo e risco. A eficiência de todo o sistema de conservação de forragem deve levar em conta não só o valor nutritivo do produto, mas também as perdas que ocorrem entre a colheita e a fase de alimentação. Um fator de grande importância que afeta ambos, o valor nutritivo e as perdas em silagem de milho é sua alta propensão à deterioração quando exposta ao ar, devido principalmente ao desenvolvimento de leveduras que metabolizam o ácido láctico, ocasionando elevação do pH da silagem e perdas nutricionais (RANJIT; TAYLOR; KUNG, 2002).

A preservação dos nutrientes das silagens FBO pode favorecer a redução dos custos com alimentação, devido à possível diminuição na compra de nutrientes energéticos sob a forma de concentrado para balanceamento das dietas. Estudos feitos por Bal et al. (2000) e Johnson et al. (2002) mostraram a necessidade de maximizar a quantidade de MS digestível colhida por hectare, trabalhando de maneira eficiente desde a colheita da cultura até o desabastecimento e fornecimento da forragem para os animais.

A melhor conservação da energia, principal contribuinte das silagens de milho favoreceu uma maior estimativa da produção de leite para silagens FBO o que poderia levar a um maior retorno líquido para as propriedades leiteiras. Tabacco et al. (2011) utilizaram a planilha MILK2006 e observaram uma correlação negativa entre a produção estimada de leite e contagem de fungos filamentosos, fato que pôde ser visto no presente trabalho, onde silagens armazenadas próximas à parede com revestimento tiveram menor contagem destes microrganismos e, conseqüentemente, apresentaram maiores estimativas

para a produção de leite, demonstrando a eficiência do revestimento com o filme de baixa permeabilidade ao oxigênio em preservar os nutrientes da silagem.

Se o silo é bem vedado, o oxigênio será rapidamente consumido pela atividade respiratória da planta e por microrganismos aeróbios (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Bactérias aeróbias podem consumir o O_2 residual durante as primeiras horas do processo de conservação, criando um ambiente favorável para o desenvolvimento mais rápido de BAL (BOLSEN et al., 1993). As BAL são o principal grupo de microrganismos que atuam no processo fermentativo para a conservação da massa ensilada, produzindo principalmente ácido lático como produto da fermentação dos açúcares (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; ROOKE; HATFIELD, 2003).

A presença de ácido acético, em silagens pode ser proveniente do metabolismo de bactérias heterofermentativas. O aumento da concentração deste ácido é fator determinante para a redução da atividade de leveduras durante a fase de utilização da silagem. Pahlow et al. (2003) relataram que ácidos graxos de cadeia curta são capazes de inibir estes microrganismos em baixo pH. A não dissociação do ácido acético permite que este penetre na célula microbiana e se dissocie, baixando o pH intracelular pela liberação de íons H^+ . Este processo irá rapidamente matar a célula de levedura, que gastará energia através de um mecanismo ativo para liberação destes íons. Além disso, pode-se especular que o estabelecimento de leveduras durante o armazenamento das silagens PE deve-se a uma maior difusão de oxigênio causada pela permeabilidade do filme plástico (WILKINSON; DAVIES, 2013) o que resulta numa menor estabilidade aeróbia após a exposição ao ar. Isto é consistente com as observações feita por (BORREANI; TABACCO, 2014), que encontraram uma correlação negativa entre o número de leveduras e as horas de estabilidade aeróbia da silagem de milho.

Os principais ácidos associados com o processo fermentativo são láctico, acético, butírico, propiônico e etanol (ROOKE; HATFIELD, 2003), todavia outros ácidos como cítrico, málico e succínico também podem estar presentes. VandenBergh et al. (1999), associaram a presença de ácido cítrico ao metabolismo aeróbio de leveduras. Segundo estes autores, os gêneros *Candida*, *Saccharomicopsis* e *Hansenula*, produzem este composto em seu metabolismo. Lindgren, Axelsson e Mcfeeters (1990), relataram que o ácido cítrico pode ser importante no metabolismo anaeróbio de *Lactobacillus plantarum*, já que o mesmo pode ser convertido em ácido málico. Este ácido também pode estar associado ao metabolismo de leveduras (ZELLE et al., 2008), e predominantemente metabolizado a ácido láctico, por alguns microrganismos (por exemplo: *Lactococcus*), o que pode favorecer a manutenção de um baixo pH (ROOKE; HATFIELD, 2003).

A maior concentração de etanol na lateral PE, PE50 e PE150, também está associada ao metabolismo de leveduras. Estes microrganismos podem utilizar açúcares e ácido láctico, empreendendo competição com as BAL no início do processo fermentativo, formando principalmente etanol. Uma quantidade mínima de O₂ é requerida por leveduras para a produção deste composto (ROOKE; HATFIELD, 2003). Filmes PE não possuem barreira ao oxigênio e, portanto, permitem a entrada desse gás para o interior da massa, favorecendo a fermentação alcoólica de leveduras. A formação deste composto não tem valor preservativo para a silagem, com o agravante de ocasionar perdas de MS, que podem chegar a 48% (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; WILKINSON; BOLSEN; LIN, 2003).

No decorrer do processo de deterioração, mudanças contínuas no perfil químico e fermentativo vão ocorrendo; sendo assim, a microbiota também muda de acordo com o ambiente (LINDGREN et al., 1985). Por exemplo, espécies capazes de degradar amido e a hemicelulose, são capazes de desenvolverem

nessas condições de menor acidez, aerobiose e maior temperatura (PAHLOW et al., 2003). Segundo este mesmo autor, bacilos e fungos filamentosos são os primeiros grupos de microrganismos a desenvolverem-se após a fase inicial da deterioração causada por microrganismos aeróbios. A ocorrência de fungos filamentosos em silagens é normalmente restrita às camadas superficiais e muitas vezes indicam má vedação e ou má compactação. O revestimento da parede com FBO reduziu a entrada de O_2 e retardou o crescimento de fungos em silagens próximas à parede. Segundo Woolford (1990), o aparecimento de fungos ocorre em estágios mais avançados de deterioração. A prevalência destes microrganismos não está associada somente às perdas de MS e redução da aceitabilidade pelos animais, mas também com a produção de micotoxinas, o que compromete a qualidade higiênica e sanitária da silagem (PAHLOW et al., 2003). Um atraso no início da deterioração aeróbia da silagem de milho estocada sob o sistema “2-step” está relacionado com a menor permeabilidade ao oxigênio, resultando em menores perdas de MS e uma menor quantidade de silagem deteriorada que poderia ser descartada no momento do fornecimento aos animais.

Uma menor troca gasosa entre o ambiente e a massa, implica em níveis relativamente elevados de CO_2 na silagem durante o período de estocagem, indicando maior anaerobiose e, conseqüentemente, preservação da massa. Desse modo, minimizar a entrada de oxigênio na massa é fundamental para a conservação desta cultura. Honig (1991) relatou que o oxigênio pode penetrar na massa por meio do filme plástico utilizado na cobertura e pelas paredes do silo. O revestimento das paredes com filme de baixa permeabilidade pode reduzir a difusão desse gás e, conseqüentemente, seus efeitos deletérios, especialmente nas áreas próximas à parede de silagens estocadas em trincheiras.

O revestimento da parede com FBO permitiu que silagens estocadas entre 0-50 cm da parede fossem mais bem preservadas (FBO50) e apresentassem

diferenças significativas para os fatores em estudo e de importância nutricional. O uso de filmes com barreira ao oxigênio em condições de fazenda resulta em uma melhoria na qualidade da silagem e uma redução nas perdas de MS nas zonas periféricas do silo. O polímero EVOH é conhecido por sua baixa permeabilidade ao oxigênio. A baixa polaridade das moléculas de CO₂ e O₂ possui pouca interação com as moléculas polarizadas encontradas nas camadas deste polímero. Essa menor interação dos gases com a superfície do filme combinada com regiões cristalinas presentes no plástico, reduz as taxas de permeabilidade desses gases (STERN; SHAH; HARDY, 1987).

O posicionamento de FBO entre a parede e a massa de silagem é um método eficiente para reduzir o ingresso de O₂ pelas paredes e nas zonas periféricas, tornando mais eficaz a conservação dos nutrientes de silagens estocadas nessas regiões. Sendo assim, a nova estratégia de vedação permitiu que os valores de composição química, perfil microbiológico, características fermentativas e estimativas de produção de leite da silagem sob o método FBO, fosse semelhante àquela localizada no centro, considerada ideal.

5 CONCLUSÃO

O método de vedação denominado “2-step”, o qual um filme de alta barreira ao oxigênio é associado a uma lona convencional é uma ferramenta eficaz na redução das perdas nutricionais e de MS em silagens de milho que estão localizadas próximas às paredes de silos trincheira.

REFERÊNCIAS

ASHBELL, G.; KASHAN, Y. C. I. Silo losses from wheat ensiled in bunker silos in a subtropical climate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 40, p. 95-98, 1987.

ASHBELL, G.; LISKER, N. Aerobic deterioration in maize silage stored in a bunker silos under farm conditions in a subtropical climate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 45, p. 307–315, 1988.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists**. 15th ed. Arlington, 1990. 1117p.

BAL, M. A. et al. Crop processing and chop length of corn silage: effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, p. 1264–1273, 2000.

BERGER, L. L.; BOLSEN, K. K. Sealing strategies for bunkersilos and drive-over piles. In: CONFERENCE SILAGE FOR DAIRY FARMS: GROWING, HARVESTING, STORING, AND FEEDING, 1., 2006, Harrisburg. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 2006. p. 266–283.

BOLSEN, K. K. et al. Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 6, p. 2940-2962, 1993.

BOLSEN, K.K. Issues of top spoilage losses in horizontal silos. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK, 1., 1997, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: [s. n.], 1997. p.137-150.

BORREANI, G.; BERNARDES, T.F.; TABACCO, E. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm in high quality milk and cheese production chains. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, p. 68–77, 2008.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Improving corn silage quality in the top layer of farm bunker silos through the use of a next-generation barrier film with high impermeability to oxygen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, p. 2415-2426, 2014.

HALL, M. B.; MERTENS, D. R. Technical note: effect of sample Processing procedures on measurement of starch in corn silage and corn grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n.12, p. 4830-4833, 2008.

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

HONIG, H. Reducing losses during storage and unloading of silage. **Landbauforschung Volkenrode**, Sonderheft, v. 123, p.116-128, 1991.

JOHNSON, L. M. et al. Corn silage management: Effects of maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, p. 434-444, 2002.

LINDGREN, S.; AXELSSON, L.T.; McFEETERS, R. F. Anaerobic L-lactate degradation by *Lactobacillus plantarum*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 66, p. 209-214, 1990.

LINDGREN, S. et al. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, London, v.36, p.765-774, 1985.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2nd ed. Marlow: Chalcombe, 1991.

O'KIELY, P.; FORRISTAL, P. D. **An alternative plastic film for sealing ensiled forage**. 2003. Disponível em: <<http://www.agresearchforum.com/publicationsarf/2003/page029.pdf>>. Acesso em: 3 mar. 2015.

PAHLOW, G. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.; HARRISON, J.R. (Ed.). **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.31-93.(Monograph, 42).

RANJIT, N.K.; TAYLOR, C.C.; KUNG, L. Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability, and nutritive value of maize silage. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.57, p.73-81, 2002.

ROOKE, J.A.; HATFIELD, R.D. Biochemistry of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. **Silage science and technology**. Madison: ASA, 2003. p.95-140.

SÁ JUNIOR, A. et al. **Application of the Köppen classification for climatic zoning in the state of Minas Gerais, Brazil**. New York:Springer-Verlag, 2011. 108 p.

SHAVER, R. D. et al. **MILK2006 corn silage**: calculates TDN-1x, NEL-3x, milk per ton, and milk per acre. 2006. Disponível em: <<http://www.uwex.edu/ces/dairynutrition/>>. Acesso em: 10 jan. 2016.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **User's guide**: version 8. Cary, 2000.1 CD ROM.

STERN, S.A.; SHAH, V.M.; HARDY, B.J. Structurepermeability relationships in silicone polymers. **Journal of PolymerScience**, New York, v. 25,p. 1263–1298, 1987.

TABACCO, E. et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 107, n. 5, p. 1632-1641, Nov. 2009

TABACCO, E. et al. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n.11, p. 5589-5598, 2011.

VANDENBERGHE, L. P. S. et al. Microbial production of citric acid. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 42,p. 263–276, 1999.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, p.3583–3597, 1991.

WILKINSON, J. M.; BOLSEN, K. K.; LIN, C. J. **History of silage**: silage science and technology. Madison: ASA, 2003. p. 1-30.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass Forage and Science**, Oxford, v.68, p. 1–19, 2013.

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

ZELLE, R. M. et al. Malic acid production by *Saccharomyces cerevisiae*: engineering of pyruvate carboxylation, oxaloacetate reduction, and malate export. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 74, p. 2766–2777, 2008.