

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

FILMES DE VEDAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE SILAGEM  
DE MILHO PARA BOVINOS DE CORTE EM TERMINAÇÃO

Autor: Juliana Machado  
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Janeiro - 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

FILMES DE VEDAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE SILAGEM  
DE MILHO PARA BOVINOS DE CORTE EM TERMINAÇÃO

Autor: Juliana Machado  
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

Dissertação apresentada,  
como parte das exigências  
para a obtenção do título de  
MESTRE EM ZOOTECNIA,  
no Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia da  
Universidade Estadual de  
Maringá - Área de  
concentração Produção  
Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Janeiro - 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

M149f Machado, Juliana  
Filmes de vedação na conservação de silagem de milho para bovinos de corte em terminação -- Maringá, 2019.  
34 f. : il., tabs.

Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa Associado de Pós-Graduação em Zootecnia - Área de Concentração: Produção Animal, 2019.

1. Deterioração aeróbica. 2. Desempenho animal. 3. Vedação de silo. I. Daniel, João Luiz Pratti, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa Associado de Pós-Graduação em Zootecnia - Área de Concentração: Produção Animal. III. Título.

CDD 21.ed. 636.2

AHS-CRB-9/1065



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

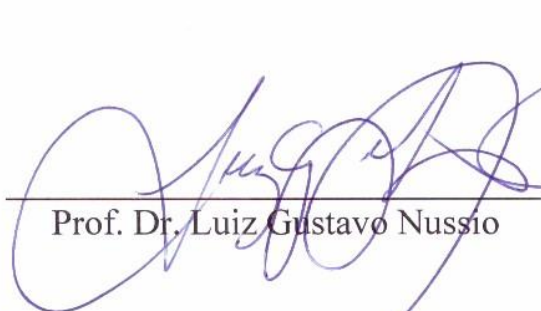
FILMES DE VEDAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE  
SILAGEM DE MILHO PARA BOVINOS DE CORTE  
EM TERMINAÇÃO

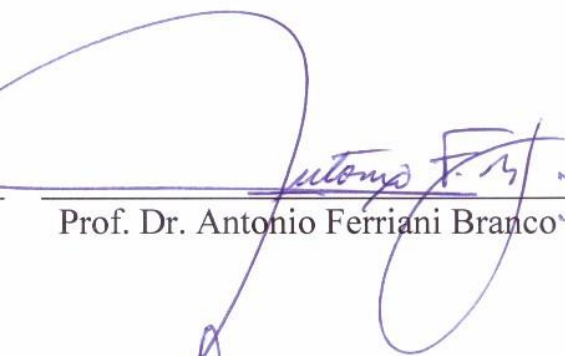
Autora: Juliana Machado


Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 28 de janeiro de 2019.

  
Prof. Dr. Luiz Gustavo Nussio

  
Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

  
Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel  
Orientador

*"A mente que se abre a uma nova ideia jamais volta ao seu tamanho original"*

*Albert Einstein*

*A Deus, à minha família e aos amigos especiais.*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por dar sentido a minha vida me guiar por bons caminhos e nunca deixar desistir em momentos difíceis;

À Universidade Estadual de Maringá, que proporcionou excelente estrutura para o desenvolvimento da pesquisa;

Ao Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel, por depositar confiança no meu trabalho, por supervisionar e amparar os projetos e por todo crescimento profissional e pessoal que a orientação me proporcionou;

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pelos ensinamentos e por sempre estar dispostos a contribuir para o desenvolvimento dos trabalhos, em especial ao Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim, pela coorientação e pelo apoio na condução desta pesquisa;

To professor J. Mike Wilkinson, University of Nottingham, UK, for his valuable contributions during project conception and manuscript preparation;

Aos amigos do Grupo de Pesquisa em Silagem e Feno (GESF), Kácia, Tatiana, Milene, Alessandra, Geovana, Rafaela, Andresa, Bruna, Camila, Carla, Sara, Caroline, Pamela, Matheus, Alecsander, Gustavo, Rafael, Fábio, Jonhunny, Bruno, Fernando, Saute,

por todo aprendizado, risadas, ajuda durante a execução do experimento, além de total apoio! Sem vocês não seria possível! Os meus mais sinceros agradecimentos, desejo muito sucesso;

À Ana Luiza pela amizade, companhia, risadas e ajuda durante os anos de Mestrado;

À Amanda Poppi, que sempre esteve disposta a ajudar quando precisei, por participar dos melhores momentos e melhores memórias. Por tudo, gratidão imensurável;

À Kássia Hellen, pela amizade e companheirismo durante os anos de Mestrado, por me incentivar e compartilhar inúmeros momentos;

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), em especial ao Wilson Marsola e José Carlos da Silva, por terem sido pessoas essenciais na realização deste trabalho a nível de campo;

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), em especial à Angélica, por toda paciência em me ensinar como utilizar os equipamentos de laboratório;

Aos amigos de Ponta Grossa que mesmo distantes se fizeram presentes em momentos importantes, e compreenderam minha ausência;

À minha família, em especial Natalia, Marco e Julio, peças vitais da minha felicidade e combustível para seguir em frente, por todo apoio e amor irrefutável. Sou grata;

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa;

To Bruno Rimini Ltd, London, UK, for funding this project.



## BIOGRAFIA

JULIANA MACHADO, filha de Natalia Ivani Baran Machado e Marco Antonio Machado, nasceu em Ponta Grossa, Paraná, no dia 09 de setembro de 1992.

Em março de 2011, ingressou na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e, em julho de 2015, obteve o título de bacharel em Zootecnia.

Em março de 2017, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá (UEM), em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes e Conservação de Forragens.

Em janeiro de 2019, submeteu-se à banca de defesa da Dissertação, requerimento para obtenção do título de Mestre em Produção Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	ix
RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xii
I. INTRODUÇÃO .....	1
1. Revisão de literatura .....	2
1.1. Abertura e desabastecimento do silo .....	2
1.2. Processo de deterioração aeróbia .....	2
1.3. Vedação de silos .....	5
1.4. Desempenho animal em função do método de vedação de silos .....	10
2. Referências .....	11
II. Replacement of polyethylene film with oxygen barrier film: Influence on nutritive value of maize silage for finishing beef cattle .....	19
Abstract .....	19
Introduction .....	20
Material and methods .....	20
Results .....	24
Discussion .....	25
Conclusions .....	26
References .....	26

## LISTA DE TABELAS

	Página
Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets .....	30
Table 2. Composition of maize silages stored under polyethylene film (PE) or oxygen barrier (OB) film (mean $\pm$ standard deviation) .....	31
Table 3. Feeding behaviour of feedlot cattle fed maize silage stored under polyethylene film (PE) or oxygen barrier (OB) film .....	32
Table 4. Performance and carcass traits of feedlot cattle fed maize silage stored under polyethylene film (PE) or oxygen barrier (OB) film .....	33
Table 5. Digestibility and net energy values of diets and maize silages stored under polyethylene film (PE) or oxygen barrier (OB) film .....	34

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da substituição de filme de polietileno (PE) por filme de copolímero de etileno e álcool vinílico (EVOH) no valor nutritivo de silagem de milho para bovinos de corte em terminação. A cultura do milho foi colhida a 31% da MS e ensilado simultaneamente em dois silos trincheira de 30 t, sem aditivo. Um silo foi vedado com filme de PE de 40  $\mu\text{m}$  e coberto com proteção anti-UV de polietileno de alta densidade. O segundo silo foi vedado com filme de EVOH de 45  $\mu\text{m}$  e também coberto com proteção anti-UV. Durante o enchimento dos silos, sacos de nylon com forragem fresca picada (300 g) foram inseridos em três camadas (15, 75 e 135 cm de profundidade) para determinar a perda de MS durante o período de armazenamento. Após 93 dias de estocagem, os silos foram abertos e as silagens usadas para alimentar bovinos de corte em terminação. As silagens foram descarregadas manualmente uma vez por dia (8h), após avaliação da proporção de silagem visualmente deteriorada. Toda a silagem descarregada foi fornecida aos animais. Trinta tourinhos da raça Nelore ( $352 \pm 17$  kg) foram bloqueados pelo peso vivo inicial e confinados em baias individuais por 94 dias (10 dias de adaptação às instalações + 84 dias de comparação). As rações experimentais continham 40% de silagem de milho (PE ou EVOH) e 60% de concentrados e foram fornecidas duas vezes ao dia (9h e 15h). As avaliações dos animais incluíram consumo de matéria seca (CMS), ganho médio diário (GMD), eficiência alimentar, digestibilidade, comportamento ingestivo e características de carcaça. Amostras de silagem foram retiradas da parte superior (15 cm) e inferior (135 cm) do painel para caracterização da composição química, produtos de fermentação, contagens de microrganismos (bactérias lácticas,

leveduras, fungos, clostrídios e esporos aeróbicos), temperatura e pH. As características da silagem foram apresentadas como média  $\pm$  desvio padrão. Não houve silagem visualmente deteriorada em ambos os tratamentos. A silagem vedada com filme EVOH apresentou menores contagens de leveduras e clostrídios na camada superficial, menor temperatura, maior concentração de carboidratos solúveis e maiores valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca do que a silagem sob o filme PE. A perda de matéria seca foi menor na camada superior do silo vedado com filme EVOH. Entretanto, as diferenças na composição das silagens foram menores do que a expectativa com base na literatura. Os animais alimentados com rações contendo silagem de milho vedada com filme PE ou EVOH apresentaram desempenho e características de carcaça semelhantes. O bom manejo de ensilagem e descarregamento e a cobertura de ambos os filmes com proteção anti-UV devem ter atenuado a influência dos filmes na qualidade da silagem e, conseqüentemente, no desempenho dos animais.

Palavras-chave: deterioração aeróbia, desempenho animal, vedação de silo

## ABSTRACT

This study evaluated the replacing effects of conventional polyethylene film (PE) by an oxygen barrier (OB) film containing ethylene vinyl alcohol (EVOH) on nutritive value of maize silage for feedlot cattle. Whole-plant maize was harvested with 310 g DM/kg of fresh weight and packed in two bunker silos simultaneously. One silo was covered with a 40- $\mu$ m PE film and protected with an anti-ultraviolet (UV) cover. The second silo was covered with a 45- $\mu$ m OB film and protected with the same anti-UV cover. After 93 days of storage, the silos were opened for a feeding trial. Silage samples were taken from the top (15 cm depth from top surface) and bottom (135 cm from top surface) of the exposed feed-out face to measure silage composition, fermentation products, microbial counts, temperature, pH and dry matter loss. Thirty Nellore bulls [352  $\pm$  17 kg shrunk body weight (SBW)] were blocked by initial SBW and allotted in individual pens for 94 days (10 days of adaptation to facilities + 84 days of diets comparison). Experimental diets contained 600 g/kg DM of concentrates and 400 g/kg DM of maize silage covered with PE or OB film. There was no visually spoiled silage in both treatments and all silage was fed to the animals. Silage covered with OB film had lower levels of yeast and clostridium counts in the top layer, lower temperature, higher concentration of soluble carbohydrates and higher *in vitro* dry matter digestibility than silage under the PE film. Dry matter loss was lower in the top layer of the silo sealed with OB film than for PE film. Bulls fed maize silage covered with PE or OB film showed similar performance rates and carcass traits. Although the OB film was more effective than PE film in preventing

oxygen influx into the outer layer of the silo, the protection of both films with a woven anti-UV cover attenuated the influence of silo covering film on animal performance.

**Keywords:** aerobic deterioration, animal performance, silo covering

## I. INTRODUÇÃO

No Brasil, a silagem de milho é o volumoso predominante nos confinamentos (Oliveira e Millen, 2014) e a preservação da sua qualidade depende, principalmente, do grau de anaerobiose alcançado no interior do silo (Pahlow et al., 2003; Borreani et al., 2007). Silos horizontais são as estruturas predominantes para o armazenamento de silagem de milho (Savoie e Jofriet, 2003), em razão de seu baixo custo de construção e facilidade de abastecimento e descarregamento. Porém, grande superfície dos silos horizontais fica exposta ao ambiente, e torna as silagens mais susceptíveis à deterioração aeróbia (Bolsen et al., 1993). Possíveis falhas na vedação do silo podem reduzir a estabilidade aeróbia da massa ensilada e, aumentar perdas de nutrientes (Borreani e Tabacco, 2014, 2017). Dentre as estratégias de manejo para prevenir a deterioração aeróbia, a impermeabilidade ao oxigênio dos filmes plásticos utilizados para vedar a silagem tem grande efeito na redução de perdas (Borreani et al., 2007; Muck, 2011).

Filmes de polietileno (PE) têm sido utilizados desde a década de 1950 para vedar silos horizontais, pelas suas características físicas e baixo custo. Porém, os filmes convencionais de PE não impedem completamente a passagem de oxigênio, que aumenta notoriamente com a elevação da temperatura ambiente (Degano, 1999).

Na tentativa de reduzir o influxo de oxigênio durante o armazenamento da silagem, foi desenvolvido filme de copolímeros etileno e álcool vinílico (EVOH - ethylene-vinyl alcohol) com menor permeabilidade ao oxigênio em comparação com filmes convencionais de PE (Borreani et al., 2007; Wilkinson e Fenlon, 2014), além de boas características mecânicas, como resistência à perfuração, resistência ao rasgo e



estiramento (Borreani et al., 2011). Como não possuem proteção contra a radiação ultravioleta, os filmes de EVOH devem ser utilizados em conjunto com uma manta protetora (Wilkinson e Fenlon, 2014), pois as propriedades físicas das películas plásticas podem ser alteradas durante o período de armazenamento pela exposição dos filmes em alta temperatura ambiente e na radiação solar (Paillat e Gaillard, 2001).

Sabendo-se da importância da vedação na conservação da silagem de milho, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito da substituição de um filme de PE pelo filme de EVOH sobre a conservação de milho ensilado para bovinos de corte em terminação.

## 1. Revisão de literatura

### 1.1. Abertura e desabastecimento do silo

Na fase pós-abertura, o painel do silo é exposto ao oxigênio, que pode penetrar na silagem, especialmente nas regiões periféricas do silo (Pahlow et al., 2003; Borreani et al., 2007; Weinberg e Ashbell, 2003). A taxa de movimentação de oxigênio através da massa de silagem é proporcional com sua porosidade (Pitt e Muck, 1993).

A taxa de remoção da silagem da face do silo representa um dos fatores mais importantes para evitar a deterioração após a abertura do silo (Honig et al., 1999; Borreani e Tabacco, 2012a). Quanto maior a taxa de remoção, menores as perdas (Borreani et al., 2018). Tradicionalmente, a taxa de remoção de silagem tem sido recomendada com base no avanço linear do painel (cm/d ou m/semana). Entretanto, esta recomendação não considera a densidade da silagem. Assim, De Oliveira et al., (2018) sugeriram uma taxa de retirada com base no consumo diário de silagem por área de painel, e concluíram que um desabastecimento superior a 250 kg de silagem/m<sup>2</sup>/d reduz o risco de deterioração em silagens de milho, e a remoção maior que 375 kg de silagem/m<sup>2</sup>/d pode garantir silagem não contaminada na ração.

### 1.2. Processo de deterioração aeróbia

A deterioração aeróbia é um problema significativo que afeta a rentabilidade das fazendas e a segurança alimentar em todo o mundo (Tabacco et al., 2011). Causada pela atividade de leveduras, fungos e bactérias na presença de oxigênio, a deterioração aeróbia altera a composição química da silagem e reduz sua qualidade nutricional (Rotz, 2003; Borreani e Tabacco, 2010a). Além disso, existe risco de proliferação de microrganismos

patogênicos (Lindgren et al., 2002), que podem afetar negativamente a saúde dos animais e a qualidade sanitária dos produtos de origem animal (te Giffel et al., 2002; Cavallarin et al., 2011).

A deterioração aeróbia é um processo complexo envolvendo a sucessão de comunidades microbianas. Geralmente é iniciado por leveduras, que consomem carboidratos solúveis e ácido lático, elevando o pH e a temperatura da silagem (Pahlow et al., 2003; Wilkinson e Davies, 2013). Segundo McDonald et al. (1991) as leveduras são capazes de se desenvolverem em baixas concentrações de oxigênio e em ambientes com ampla variação de pH, incluindo ambientes com  $\text{pH} < 4,0$ , criando condições adequadas para o desenvolvimento de outras populações microbianas ao longo da deterioração.

As áreas superficiais dos silos são mais sujeitas a infiltração de ar, por causa da menor compactação e maior porosidade da massa, bem como dos materiais utilizados na cobertura. Nessas condições a multiplicação de leveduras pode ocorrer durante todo o período de estocagem e no momento de abertura do silo a população pode ser elevada (Tabacco e Borreani, 2002).

Segundo Kung et al. (1998) silagens com contagens de leveduras acima de  $10^5$  ufc/g são mais propensas a deterioração aeróbia, podendo quebrar a estabilidade em poucas horas após o desabastecimento do silo. Em condições de anaerobiose e baixo pH o desenvolvimento da grande maioria dos fungos é inibido. Entretanto, a entrada de ar, em caso de perfurações na lona ou durante o período de abertura do silo, viabiliza o desenvolvimento destes microrganismos (McDonald et al., 1991; Pahlow et al., 2003).

Os fungos filamentosos têm sido frequentemente observados em estágios avançados de deterioração aeróbia (Woolford, 1990; Pahlow et al., 2003), são coadjuvantes na deterioração de silagens, pois, durante o desabastecimento do silo, o desenvolvimento deles acontece em sucessão ao crescimento das leveduras (McDonald et al., 1991). A atividade desses organismos leva à oxidação de produtos da fermentação e está ligada a produção de dióxido de carbono e água, gerando calor (McDonald et al., 1991). A deterioração aeróbia dos alimentos causado por fungos filamentosos determina perda de nutrientes, além do risco de contaminação com micotoxinas (Lindgren et al., 2002).

A deterioração de silagens ocorrida durante a estocagem e após a abertura dos silos pode ser evidenciada por picos de aquecimento do material, resultantes do crescimento inicial de leveduras, seguidas pelo desenvolvimento de fungos filamentosos e bactérias

(Pahlow et al., 2003; McDonald, 1991). Hoffman e Combs (2009) revelaram que o aumento de 8,3°C na temperatura em 1 tonelada de MS de silagem, consome mais de 26 MJ (6,3 Mcal) de energia e custa cerca de 4 kg na produção de leite perdido por tonelada de silagem. Quando a temperatura da silagem começa a aumentar devido à atividade de microrganismos aeróbicos, o valor nutritivo da silagem pode diminuir em até 16% antes que os fungos filamentosos se tornem visíveis (Tabacco et al., 2011).

As perdas de MS relacionadas a contagens de fungos nas silagens já foram descritas em vários trabalhos (Borreani et al., 2007; Bernardes et al., 2012; Borreani e Tabacco, 2012a, 2014; Lima et al., 2017), em que o nível superior a 5 log<sub>10</sub> ufc/g (fungos visíveis na silagem), sugere perdas maiores que 20% de MS. Quando as contagens de fungos excedem 6 log<sub>10</sub> ufc/g, as perdas podem ser de 40% da MS da massa ensilada. Além disso, quando a contagem de fungos aumenta para mais do que 5 log<sub>10</sub> ufc/g, ocorrem mudanças substanciais na qualidade nutricional, por exemplo, com declínio no teor de amido.

Os gêneros *Clostridium* e *Bacillus* são formadores de esporos, que os torna resistentes ao oxigênio, ao calor, ácidos orgânicos e enzimas digestivas (Lindgren et al., 2002; Pahlow et al., 2003). A maior parte das bactérias do gênero *Bacillus* são aeróbias mais algumas podem crescer em condições microaerofílicas (te Giffel et al., 2002). Já bactérias do gênero *Clostridium* são estritamente anaeróbias, porém durante a deterioração aeróbia eles podem se multiplicar pela formação de nichos de baixa concentração de oxigênio e pH elevado na massa de silagem (Tabacco e Borreani, 2002). Estes nichos são produzidos por outros microrganismos, tais como as leveduras, que consomem ácido lático e oxigênio (Jonsson, 1990; Pahlow et al., 2003).

A qualidade microbiológica adequada da massa ensilada pode ser obtida aumentando a densidade da silagem por meio da compactação adequada durante o enchimento do silo (Muck e Holmes, 2000); planejando o tamanho do silo para atingir a taxa de descarregamento diária correta (Borreani e Tabacco, 2012a); vedando e cobrindo adequadamente o silo para minimizar a penetração de oxigênio durante a fase de conservação (Borreani et al., 2007; Bernardes et al., 2012); usando um aditivo para aumentar a estabilidade aeróbia da silagem (Kristensen et al., 2010; Tabacco et al., 2011); aumentando o peso sobre o filme de cobertura (McDonnell e Kung, 2006); revestindo as paredes dos silos com filmes plásticos (Lima et al., 2017); e reduzindo o risco de danos mecânicos no sistema de vedação (Wilkinson e Davies, 2013).

### 1.3. Vedação de silos

O filme plástico assume papel importante no conjunto de estratégias associadas à vedação e na manutenção da anaerobiose dentro do silo, reduzindo perdas causadas pela deterioração, principalmente nas camadas superficiais (Bolsen, 1997). Até a década de 1950, o ambiente anaeróbico em silos só poderia ser alcançado com o uso de construções feitas de concreto ou aço (Nevens, 1933), e os materiais mais utilizados como cobertura, eram parafina, palha, serragem, feltro, calcário moído e madeira, porém esses eram ineficientes e permitiam a passagem de ar e água da chuva, levando à deterioração da silagem (Nevens, 1933; Morrison e Moore, 1954; Morrison et al., 1953; Minson e Lancaster, 1965).

A partir da década de 1960, início da utilização do plástico na agricultura, os filmes plásticos começaram a ser produzidos de polietileno (PE) por serem mais resistentes, principalmente a raios ultravioleta (UV) para evitar que o material se desintegrasse sob a luz solar (Wilkinson et al., 2003). O polietileno foi escolhido por suas características mecânicas adequadas, baixo custo e por sua capacidade de redução da entrada de oxigênio na massa ensilada (Borreani e Tabacco, 2017). Minson e Lancaster (1965), realizaram um experimento com silos bunker de 25 toneladas para comparar métodos de cobertura (telhado de ferro a 60,96 cm da silagem, terra, filme de PE, pedra calcária triturada, serragem e sem cobertura). As perdas foram de 34,2%, 32,6%, 30,0%, 25,0%, 23,6% e 12% de MS para os tratamentos sem cobertura, telhado, serragem, terra, calcário e PE, respectivamente. Bolsen et al. (1993), registrou perdas de MS nos primeiros 90 cm de 8% a 46% para silos cobertos e sem cobertura, respectivamente.

A introdução de filmes plásticos no início dos anos 1950 pode ser considerada grande marco, já que permitiu que os agricultores se beneficiassem das vantagens da ensilagem podendo preservar forragens em silos horizontais (Borreani et al., 2018). Até 2005, os silos do tipo bunker eram cobertos por filmes de PE com 110 a 200 µm de espessura (Borreani et al., 2007), e a única maneira de reduzir a permeabilidade do filme ao oxigênio era aumentar sua espessura. Savoie (1987) mediu as alterações nas propriedades de resistência física de cinco filmes plásticos PE comerciais com diferentes espessuras (de 96 a 192 µm), e verificou que após 10 meses de uso, a resistência do filme foi maior com o aumento da espessura, diminuindo proporcionalmente a duração do intemperismo.

Em 1992, Daponte propôs o uso de filmes de barreira ao oxigênio (BO) coextrusados para vedar a silagem, mas naquela época os fabricantes de plásticos não tinham interesse comercial em produzir esses filmes por serem mais caros. Em 1996, um fabricante de filmes plásticos no norte da Itália produziu um protótipo de um novo filme coextrusado com poliamida como polímero de barreira para cobrir silos bunker (Borreani et al., 2014). A produção desses novos filmes permitiu que vários filmes plásticos estivessem disponíveis para os fazendeiros no século 21 (Wilkinson e Rimini, 2002; Borreani e Tabacco, 2012b).

O aumento da impermeabilidade ao oxigênio do filme foi uma das formas mais eficazes de melhorar a qualidade de conservação (Borreani e Tabacco, 2017) e aumentar a estabilidade da silagem após a exposição ao ar, sendo relatado tanto para silos de laboratório (Dolci et al., 2011) quanto para silos em escala de fazenda (Borreani et al., 2007).

Os filmes BO podem ser feitos com diferentes polímeros, combinando propriedades que os tornam ideal para a finalidade desejada (American Plastic Council, 1997), adicionando uma camada ou multicamadas de polímeros com baixa permeabilidade ao oxigênio (Borreani et al., 2007; Borreani e Tabacco, 2014, Wilkinson e Fenlon, 2014). A primeira geração de filmes BO incluiu poliamida (PA) e EVOH, que melhoram a impermeabilidade do filme aos gases ( $O_2$  e  $CO_2$ ), com características mecânicas adequadas em comparação aos filmes plásticos à base de PE (Borreani et al., 2007; Borreani et al., 2011; Borreani e Tabacco, 2014). São filmes mais finos (45  $\mu m$  de espessura), pois apenas uma camada de alguns micrometros dessas resinas coextrusadas com PE são capazes de reduzir a permeabilidade ao oxigênio (American Plastic Council, 1997).

O aumento da impermeabilidade ao oxigênio de filmes utilizados para cobrir silagem em silos superficiais obtidos pela coextrusão de polímeros com PE proporcionaram melhores propriedades mecânicas quando comparado ao filme PE de melhor qualidade (Borreani et al., 2009). Borreani e Tabacco (2010b) encontraram maiores valores de permeabilidade ao oxigênio (7120 e 408  $cm^3/m^2$  em 24 h), resistência a perfuração (20,8 e 12,4 mm), resistência a ruptura (62,0 e 34, 1 Mpa) e alongamento na ruptura (534 e 425%) para filmes de PE quando comparados aos filmes BO de mesma espessura (25  $\mu m$ ).

Os primeiros experimentos com filme BO para cobrir silos horizontais foram feitos com um filme coextrusado com PA como um polímero barreira para espessuras de 45  $\mu m$

(Wilkinson e Rimini, 2002) e 125  $\mu\text{m}$  (Borreani et al., 2007). Bernardes et al. (2012) verificaram que o filme coextrusado com PA foi efetivo na redução das perdas de MS durante o armazenamento (8,2%), e o filme coextrusado com álcool polivinílico (PVOH) apresentou valor intermediário de perda de MS (10,1%). Filmes de PE e PVC tiveram maiores perdas (13,8 e 14%, respectivamente). Os filmes PA e PVOH apresentaram melhores perfis de temperatura e fermentação que os filmes mais permeáveis (PE e PVC). Os resultados indicam que a permeabilidade ao  $\text{O}_2$  através do filme plástico é um fator crucial para manter a qualidade da silagem na camada superior do silo.

Borreani et al. (2007) avaliaram filmes plásticos com diferentes propriedades físico-químicas e observaram que os materiais confeccionados com polietileno coextrusado com PA, atuaram melhor como barreiras ao oxigênio. As silagens que foram vedadas com esse material apresentaram maior estabilidade aeróbia e menor perda de matéria seca comparada às silagens vedadas com filmes convencionais de PE. Da mesma forma, Bernardes et al. (2012) testando diferentes filmes plásticos na cobertura de silos de 500 L, observaram que o filme coextrusado com poliamida apresentou menores valores de pH e contagem de leveduras do os que filmes dupla-face.

Os filmes BO além de aumentarem a estabilidade aeróbia da silagem pós abertura, melhoram a qualidade higiênica da silagem. Borreani e Tabacco (2008) e Borreani et al. (2013) observaram melhora na estabilidade aeróbia quando filmes de BO foram utilizados, levando a reduções nas perdas de MS e esporos aeróbios e anaeróbios de microrganismos de deterioração em áreas periféricas do silo e durante testes de estabilidade aeróbia. Em meta-análise de 41 comparações, a perda média de MS na camada superior da silagem em silos do tipo bunker foi de 19,5% para o filme de PE em comparação com 11,4% para o filme BO (Wilkinson e Fenlon, 2014).

Os filmes BO apresentam boas características mecânicas comparadas com filmes comerciais de PE da mesma espessura, porém, não possuem proteção contra a radiação UV, que pode ser utilizado sob uma lona protetora (Wilkinson e Fenlon, 2014), formando um sistema de cobertura de 2 passos, pois utiliza um filme plástico mais fino em contato com a silagem e um filme ou lona mais grossa por cima para proteger o inferior (Borreani et al., 2014). Quando avaliado um filme BO (45  $\mu\text{m}$  de espessura) em comparação ao filme de PE (50  $\mu\text{m}$  de espessura), protegidos com filme plástico branco e preto de PE (120  $\mu\text{m}$  de espessura), houve maior concentração amido, maior digestibilidade da FDN e menores concentrações de cinzas para a silagem protegida com o filme BO. As perdas de MO foram de 17% para filme de BO e de 23,2% para filme de PE (Wang et al., 2017).

O EVOH combina as excelentes propriedades de barreira ao oxigênio do álcool polivinílico com as do PE contra a água (Mark, 1985; Borreani et al., 2011), além de possuir permeabilidade ao oxigênio trezentas vezes menor do que a poliamida em condições padrão e com espessura igual (Borreani e Tabacco, 2012b). Borreani e Tabacco (2014) descreveram que a impermeabilidade do EVOH ao oxigênio está abaixo de  $10 \text{ cm}^3 \mu\text{m}/\text{m}^2$  por 24 h quando comparado a  $158.000$  e  $1.375 \text{ cm}^3 \mu\text{m}/\text{m}^2$  por 24 h, para filmes PE e PA, respectivamente. Dessa forma, quando o PA é utilizado como polímero de barreira, uma espessura mínima de  $14 \mu\text{m}$  deve ser aplicada no filme coextrusado, enquanto a redução da permeabilidade ao oxigênio em filmes puros de PE só pode ser obtida com espessura superior a  $2000 \mu\text{m}$  (Borreani e Tabacco, 2017).

Nos anos 2000, pesquisas levaram a próxima geração de filmes de alta barreira ao oxigênio (HOB - high oxygen barrier film) feitos pela coextrusão de uma camada de EVOH entre 2 camadas de PE (Borreani e Tabacco, 2012b). A camada de EVOH melhorou a impermeabilidade ao oxigênio do filme HOB em cerca de 10 vezes, em comparação com a primeira geração de filmes BO, devido à nova fórmula de EVOH, que tornou o filme particularmente mais macio em temperatura ambiente e com espessura reduzida da camada EVOH (de 2 a  $3 \mu\text{m}$ ) (Borreani e Tabacco, 2014).

Quando um filme de HOB foi utilizado para vedar silagem de milho em silos bunkers, houve atraso no início da deterioração aeróbia, com interação positiva entre o tempo de armazenamento e o aumento da anaerobiose durante a conservação, resultando em menores perdas de MS e menor descarte de material estragado, levando a maior ganho econômico pela maior recuperação de MS e redução no tempo de trabalho para limpar a camada superior (Borreani e Tabacco, 2014).

A permeabilidade ao oxigênio está relacionada à espessura do filme, além disso, filmes menos espessos estão mais susceptíveis a rasgos e perfurações (Bernardes et al., 2009), embora, atualmente estejam disponíveis no mercado filmes mais finos com baixa permeabilidade e com alta resistência a rasgos, como é o caso dos filmes BO. Snell et al. (2002) avaliaram a permeabilidade ao oxigênio de filmes PE de coloração branca com espessura de 90, 150 e  $200 \mu\text{m}$  e encontraram valores de 459, 258 e  $188 \text{ cm}^3/\text{m}^2$  em 24 h, respectivamente, indicando que, para o mesmo tipo de material, a permeabilidade ao oxigênio é inversamente proporcional à espessura do filme. Segundo Kuzin e Savoie (2001) as perdas nas áreas periféricas do silo são influenciadas pela espessura do filme plástico que deve ser proporcional ao tempo de armazenamento da silagem. Os autores

recomendam que filmes com espessura de 100  $\mu\text{m}$  devam ser utilizados por um tempo de armazenamento próximo a 125 dias e os de 200  $\mu\text{m}$  para dias superiores.

Além da qualidade do plástico, da impermeabilidade ao oxigênio, da relação da espessura e da cor, a maneira como o filme cobre a silagem também é importante. Recentemente, a prática de revestir as paredes dos silos com filme plástico e estender pelo menos 1,2 m do filme sobre o topo da forragem quando o silo está cheio, e depois aplicar uma camada superior de plástico, mostra ser uma maneira eficaz para excluir o ar e escoar a água da chuva (Bolsen, 2006). Lima et al. (2017) avaliaram dois sistemas de cobertura em oito silos bunker em propriedades de bovinos leiteiros: um filme BO (45  $\mu\text{m}$  de espessura) nas paredes, que se estendia por aproximadamente 2 m sobre o topo, comparado a nenhum filme nas paredes. Ambos os tratamentos possuíam uma única camada de cobertura padrão de filme PE (180  $\mu\text{m}$  de espessura). A silagem localizada no ombro do silo sob o filme BO foi semelhante ao centro do silo (controle positivo) e significativamente melhor do que a silagem do ombro sob o sistema de cobertura padrão, com menor contagem de microrganismos deterioradores, menor perda de MS e maior quantidade estimada de leite por tonelada de silagem (Lima et al., 2017).

A permeabilidade ao oxigênio, aumenta notadamente com a elevação da temperatura ambiente (Degano, 1999). Portanto, em condições tropicais, os filmes plásticos podem facilmente se tornar mais permeáveis ao ar e menos resistentes a radiação (Paillat e Gaillard, 2001), especialmente se forem utilizados para cobrir as silagens por longos períodos de armazenamento, elevando o risco de deterioração aeróbia (Bernardes et al., 2018). Frick (2004) reportou aumentos de até três vezes na permeabilidade ao oxigênio de filmes pretos que atingiram temperaturas de até 60°C quando expostos ao sol, comparados à permeabilidade ao oxigênio de filmes brancos e verdes, que mudaram apenas ligeiramente.

Há vários filmes plásticos no mercado, porém nem todos garantem a devida proteção contra os efeitos prejudiciais do oxigênio. Uma cobertura de vedação adequada é, portanto, essencial para reduzir as perdas de MS (Bolsen et al., 1993), a possível produção de micotoxinas (Cheli et al., 2013) e o crescimento de microrganismos patogênicos (Ivanek et al., 2006; Spadaro et al., 2015), que tornam a silagem menos palatável e podem causar distúrbios metabólicos nos animais e comprometer a qualidade higiênica dos produtos de origem animal.



#### 1.4. Desempenho animal em função do método de vedação de silos

A conservação eficiente das culturas forrageiras como silagem, com perdas mínimas durante o período de armazenamento, é determinante do valor nutritivo e na qualidade sanitária dos volumosos conservados (Winkinson e Fenlon, 2014). No entanto, para que a silagem seja considerada de alta qualidade, há necessidade de explorar melhor todos os fatores relacionados ao processo de produção de silagem, desde a condução da lavoura até o descarregamento, passando pela vedação do silo (Borreani et al., 2007; Silva et al., 2015).

A deterioração aeróbia pode reduzir não apenas o valor nutritivo do produto conservado, mas também aumentar os riscos para a saúde animal por causa da presença de toxinas (fúngicas e bacterianas) e bactérias patogênicas (Wilkinson, 1999). Em um experimento com bovinos com cânula ruminal, o consumo de silagem e a digestibilidade foram reduzidos significativamente quando silagem de milho deteriorada do topo de um silo não vedado foi misturada (25% do total de MS da silagem na ração) com silagem vedada e bem conservada da mesma colheita original (Whitlock et al., 2000).

O consumo de matéria seca (CMS) é um dos fatores mais importantes que determinam a produção de leite e o ganho de peso, portanto deve-se evitar ao máximo o contato da silagem com o ar e, conseqüentemente, a deterioração aeróbia (Lindgren et al., 1988). O fornecimento de ração que inclui apenas 5% da MS de silagem que sofreu deterioração aeróbia, reduziu o CMS e a digestibilidade de toda a ração (Bolsen et al., 2001). Gerlach et al. (2013) relataram redução média de 53% no CMS de silagens de milho expostas ao ar por 8 dias antes de serem fornecidas as cabras, além do que, a silagem deteriorada resultou em maior separação e seleção da ração.

Além do efeito negativo de silagens deterioradas no CMS, o desempenho dos animais pode ser afetado pela pior composição da silagem. Tabacco et al. (2011) relacionaram a produção estimada de leite por tonelada de MS com a contagem de fungos após exposição ao ar de silagens de milho e sorgo. Houve reduções (1450 e 1350 kg/Mg de MS para milho e sorgo, respectivamente) na produção potencial de leite quando a contagem de fungos excedeu 4 log ufc/g de silagem, e diminuiu (990 kg/Mg de MS para milho e sorgo) ainda mais quando a contagem foi maior que 8 log ufc/g de silagem.

Bispo et al. (2013), avaliando diferentes estratégias de vedação de silos trincheira sobre o desempenho produtivo de vacas holandesas em lactação, observaram maior eficiência energética da dieta (secreção de energia no leite/CMS), devido a tendência de

maior produção de leite corrigida para gordura e excreção de energia do leite em vacas alimentadas com silagens cujos silos foram vedados com filme coextrusado de PA ou com filme de PE protegido com bagaço de cana.

Custódio et al. (2012) avaliaram o desempenho de vacas leiteiras alimentadas com rações contendo silagens de cana-de-açúcar provenientes de silos horizontais vedados com filme de PA 45  $\mu\text{m}$ , coberto com manta de polietileno (PA45+M); filme de PE coextrusado com PA de 125 $\mu\text{m}$  (PA125); ou filme de PE, dupla face, 200 $\mu\text{m}$  (DF). As diferentes estratégias de vedação não afetaram o CMS (19,9 kg/dia), a produção (25,1 kg/dia) e a composição do leite (gordura 3,5%, proteína 3,3%, lactose 4,4%) das vacas.

Amaral et al. (2014), avaliando o efeito de métodos de vedação no valor nutritivo da silagem de milho para vacas leiteiras, observaram maior produção de leite para vacas alimentadas com silagem de milho coberta com filme de PE (200  $\mu\text{m}$ ) protegido com bagaço de cana (34,4 kg/d), comparado com as silagens de milho vedadas com filme preto de PE (200  $\mu\text{m}$ ) (30,4 kg/d). A digestibilidade *in vivo* da MO foi maior nos animais alimentados com silagem de milho com filme BO (45  $\mu\text{m}$  de espessura) protegido com filme de PE (200  $\mu\text{m}$ ), em comparação com as silagens de milho do tratamento com filme dupla face de PE (200  $\mu\text{m}$ ). Portanto, a utilização de filmes BO e a proteção do filme de PE (por exemplo com bagaço de cana) são estratégias eficazes para aumentar a recuperação de nutrientes digestíveis e, conseqüentemente, melhorar a eficiência produtiva de vacas leiteiras em lactação.

Um ponto fundamental, quando se utiliza filmes de vedação, é conhecer o quanto ele pode melhorar o processo fermentativo, o consumo voluntário, a digestibilidade, o desempenho animal e se é economicamente viável. Entretanto, são poucos trabalhos na literatura que abordam todos esses parâmetros, e nenhum até o momento avaliou os benefícios da cobertura com um filme BO na qualidade da silagem de milho para bovinos de corte em terminação.

## 2. Referências

Amaral, R.C., Santos, M.C., Daniel, J.L.P., Neto, A.S., Bispo, A.W., Cabezas-Garcia, E.H., Bernardes, T.F., Nussio, L.G., 2014. The influence of covering methods on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. R. Bras. Zootec. 43, 471–478. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014000900003>

- American Plastics Council, 1997. Understanding plastic film: its uses, benefits and waste management options. American Plastics Council by Headley Pratt Consulting. <http://plastics.americanchemistry.com/Understanding-Plastic-Film>. (accessed 30 Dezember18).
- Bernardes, T.F., Reis, R.A., Miyazaki, M.K., Roth, A.P.T.P., 2009. Aerobic deterioration in corn silage covered with oxygen barrier film in stack silos. in: Proc. XV Int. Silage. Conf., Madison. U.S. Dairy Forage Research Center, USDA-Agricultural Research Service and University of Wisconsin-Madison, College of Agricultural and Life Sciences. pp. 215–216.
- Bernardes, T.F., Nussio, L.G., Amaral, R.C., 2012. Top spoilage losses in maize silage sealed with plastic films with different permeabilities to oxygen. *Grass Forage Sci.* 67, 34–42. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2011.00823.x>
- Bernardes, T.F., Daniel, J.L.P., Adesogan, A.T., McAllister, T.A., Drouin, P., Nussio, L.G., Huhtanen, P., Tremblay, G.F., Bélanger, G., Cai, Y., 2018. Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. *J. Dairy Sci.* <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13703>
- Bispo, A.W., Junges, D., Custódio, L., Lima, J. R., Kleinshmitt, C., Daniel, J.L.P., Santos, M. C., Nussio, L.G., 2013. Performance of dairy cows fed diets containing corn silage from silos with different sealing strategies. in: Proc. III Int. Symp. Forage Cons. and Qual., Campinas, Brazil. pp. 1–2.
- Bolsen, K.K., Dickerson, J.T., Brent, B.E., Sonon, R.N., Dalke, B.S., Lin, C., Boyer, J.E., 1993. Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos. *J Dairy Sci.* 76, 2940–2962. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77634-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77634-1)
- Bolsen, K.K., 1997. Issues of top spoilage losses in horizontal silos. in: Proc. North American Silage Conf. NRAES-99. Northeast Regional Agricultural Engineering Services, Ithaka, NY, pp. 137–149.
- Bolsen, K.K., 2006. Silage management: common problems and their solution. in: Tri-State Dairy Nutrition Conference, Wayne, IN. pp. 83–93.
- Bolsen, K.K., Whitlock, L.A., Wistuba, T., Pope, R.V., 2001. Effect of level of surface spoilage on the nutritive value of whole crop maize silage diets. in: Proc. 10th International Symposium of Forage Conservation. V. Jambor, P. Dolezal, L. Zeman, R. Loucka, S. Rudolfova, and P. Prochazka, ed. Brno, Czech Republic. pp. 174–175.
- Borreani, G., Dolci, P., Tabacco, E., Cocolin, L., 2013. Aerobic deterioration stimulates outgrowth of spore-forming *Paenibacillus* in corn silage stored under oxygen-barrier

- or polyethylene films. *J. Dairy Sci.* 96, 5206–5216. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6649>
- Borreani, G., Piano, S., Tabacco, E., 2014. Aerobic stability of maize silage stored under plastic films with different oxygen permeability. *J. Sci. Food Agric.* 94, 2684–2690. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6609>
- Borreani, G., Revello-Chion, A., Tabacco, E., 2009. Enhancing oxygen impermeability of stretch film for wrapped silage with the use of new polymers. in: *Proc. XV Int. Silage Conf. Madison, WI, USA*, pp. 97–98.
- Borreani, G., Tabacco, E., 2008. Low permeability to oxygen of a new barrier film prevents butyric acid bacteria spore formation in farm maize silage. *J. Dairy Sci.* 91, 4272–4281. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1151>
- Borreani, G., Tabacco, E., 2010a. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *J. Dairy Sci.* 93, 2620–2629. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2919>
- Borreani, G., Tabacco, E., 2010. Use of new plastic stretch films with enhanced oxygen impermeability to wrap baled alfalfa silage. *Trans. ASABE.* 53, 635–641. <https://doi.org/10.13031/2013.29555>
- Borreani, G., Tabacco, E., 2012a. Effect of silo management factors on aerobic stability and extent of spoilage in farm maize silages. in: *Proc. XVI Int. Silage Conf. K. Kuoppala, M. Rinne, and A. Vanhatalo, ed. MTT Agrifood Research Finland, Hameenlinna, Finland*, pp. 71–72.
- Borreani, G., Tabacco, E., 2012b. Special EVOH films with lowered oxygen permeability reduce dry matter losses and increase aerobic stability of farm maize silages. in: *Proc. XVI Int. Silage Conf., Finland*, pp. 302–303.
- Borreani, G., Tabacco, E., 2014. 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. *J. Dairy Sci.* 97, 2415–2426. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7632>
- Borreani, G., Tabacco, E., 2017. Charter 9: Plastics in animal production, in: Orzolek, M. (Ed.), *A Guide to the Manufacture, Performance, and Potential of Plastics in Agriculture*. Elsevier Ltd., Amsterdam, pp. 145–185. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102170-5.00009-9>

- Borreani, G., Tabacco, E., De Angelis, D., 2011. Special EVOH: based films improve quality and sanity of farm corn silage. in: Proc. Int. Conf. Agri. Hort. Film Ind. Applied Market Information Ltd., Barcelona, Spain, pp. 1–15.
- Borreani, G., Tabacco, E., Cavallarin, L., 2007. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. *J. Dairy Sci.* 90, 4701–4706. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0310>
- Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R.J., Holmes, B.J., Muck, R.E., 2018. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *J. Dairy Sci.* 101, 3952–3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>
- Cavallarin, L., Tabacco, E., Antoniazzi, S.; Borreani, G., 2011. Aflatoxin accumulation in whole crop maize silage as result of aerobic exposure. *J. Sci. Food Agr.* 91, 2419–2425. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4481>
- Cheli, F., Campagnoli, A., Dell’Orto, V., 2013. Fungal populations and mycotoxins in silages: from occurrence to analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 183, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.01.013>
- Custódio, L., Fernandes, J., Lima, J.R., Carvalho, P.A, Figueiredo, C.A., Bach, B.C., Morais, G., Nussio, L.G., 2012. Desempenho de vacas leiteiras alimentadas com silagens de cana-de-açúcar submetidas a diferentes estratégias de vedação. in: Anais da 49<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. pp. 1–3.
- Daponte, T., 1992. Coextruded films in silage. *Plasticulture.* 96, 35–44.
- Degano, L., 1999. Improvement of silage quality by innovative covering system. in: Proc. XII Int. Silage Conf., Uppsala Sweden, pp. 296–297.
- De Oliveira, I.L., Tabacco, E., Ferrero, F., Borreani, G., Bernardes, T.F., 2018. A new approach to assess feed-out rate in maize silage bunker. in: Proc. XVIII Int. Silage Conf., Bonn, Germany. pp. 454–455.
- Dolci, P., Tabacco, E., Cocolin, L., Borreani, G., 2011. Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 7499–7507. <https://doi.org/10.1128/AEM.05050-11>
- Frick, R., 2004. Aptitude des films d’enrubannage pour l’ensilage des bales. in: Rapport FAT, n. 615. Station Fédérale de Recherches en Economie et Technologie Agricoles (FAT), Tanikon, Swiss. pp. 16.
- Gerlach, K., Weiss, K., Ross, F., Buscher, W., Sudekum, K.H., 2013. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and its impact on feed intake by goats. *Agric. Food Sci.* 22, 168–181. <https://doi.org/10.23986/afsci.6739>

- Hoffman, P.C., Combs, D.K., 2009. Molds and mycotoxins in corn silage and high moisture corn. Part I. Managing aerobic stability. Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison.
- Honig, H., Pahlow, G., Thaysen, J., 1999. Aerobic instability—Effects and possibilities for its prevention. in: Proc. XII Int. Silage Conf., Uppsala, Sweden. pp. 288–289.
- Ivanek, R., Grohn, Y., Wiedmann, M., 2006. *Listeria monocytogenes* in multiple habitats and host populations: review of available data for mathematical modeling. *Foodborne Pathog. Dis.* 3, 319–336. <https://doi.org/10.1089/fpd.2006.3.319>
- Jonsson, A., 1990. Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages using neutral red, d-cycloserine, and lactate dehydrogenase activity. *J. Dairy Sci.* 13, 719–725. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78725-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78725-5)
- Kristensen, N. B., K. H. Sloth, O. Hojberg, N. H. Spliid, C. Jensen, Thogersen, R., 2010. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *J. Dairy Sci.* 93, 3764–3774. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3136>
- Kung Jr, L., Sheperd, A.C., Smagala, A.M., Endres, K.M., Bessett, C.A., Ranjit, N.K., Glancey, J.L., 1998. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81, 1322–1330. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75695-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75695-4)
- Kuzin, V., Savoie, P., 2001. Modeling air infiltration in bunker silos to optimize the cover. ASAE Meeting Paper n. 01-1090. ASAE, St Joseph, MI, USA, pp. 9.
- Lindgren, S., Pahlow, G., Oldenburg, E., 2002. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. in: Proc. XIX Gen. Meet. EGF, La Rochelle, France. Br. Grassl. Soc., Reading, UK. pp. 503–511.
- Lindgren, S., Pettersson, K., Jonsson, A., Lingvall, P., Kaspersson, A., 1988. Silage inoculation: selected strains, temperature, wilting and practical application. *Swe. J. Agr. Res.* 15, 9–18.
- Lima, L.M., dos Santos, J.P., Casagrande, D.R., Ávila, C.L.S., Lara, M.S., Bernardes, T.F., 2017. Lining bunker walls with oxygen barrier film reduces nutrient losses in corn silages. *J. Dairy Sci.* 100, 1–9. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12129>
- Mark, H.F., 1985. Barrier polymers. in: Second ed Mark, H.F. (Ed.), *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, vol. 2. John Wiley and Sons, New York, NY, USA, pp. 177–192.

- McDonald, P., Henderson, N., Heron, S., 1991. *The biochemistry of silage*, second ed. Chalcombe Publications, Marlow, UK.
- McDonnell, E.E., L. Kung Jr., 2006. An update on covering bunker silos. University of Delaware, Newark. [https://cdn.canr.udel.edu/wp-content/uploads/2014/02/CoveringBunkerSilos\\_000.pdf](https://cdn.canr.udel.edu/wp-content/uploads/2014/02/CoveringBunkerSilos_000.pdf). (accessed 06 January 19).
- Minson, D.J., Lancaster, R.J., 1965. The efficiency of six methods of covering silage. *New Zealand J. Agric. Res.* 8, 542–554. <https://doi.org/10.1080/00288233.1965.10419895>
- Morrison, J., Moore, T., 1954. *Scot. Agric.* 34, 122–6.
- Morrison, J., Stephenson, W.A., Brown, W.O., 1953. *Agriculture, Lond.* 60, 272–5.
- Muck, R.E., 2011. The art and science of making silage. <http://alfalfa.ucdavis.edu/+symposium/proceedings/2011/11-36.pdf>. (accessed 29 Dezember18).
- Muck, R.E., Holmes, B.J., 2000. Factors affecting bunker silo densities. *Appl. Eng. Agric.* 16, 613–619. <https://naldc.nal.usda.gov/download/14056/PDF>
- Nevens, W.B., 1933. Types and varieties of corn for silage. in: *Univ. Ill. agric. expo Sta. Bull.* 391, 89–94.
- Oliveira, C.A., Millen, D.D., 2014. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197, 64-75. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.08.010>
- Pahlow, G., Muck, R.E., Driehuis, F., Oude-Elferink, S.J.W.H., Spoelstra, S.F., 2003. Microbiology of Ensiling, in: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology*, American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 31-93.
- Pailat, J.M., Gaillard, F., 2001. Air-tightness of wrapped bales and resistance of polythene stretch film under tropical and temperate conditions. *J. Agr. Eng. Res.* 79, 15–22. <https://doi.org/10.1006/jaer.2000.0666>
- Pitt, R.E., Muck, R.E., 1993. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. *J. Agr. Eng. Res.* 55, 11–26. <https://doi.org/10.1006/jaer.1993.1029>
- Rotz, C.A., 2003. How to maintain forage quality during harvest and storage. in: *Proc. Western Canadian Dairy Seminar, Advances in Dairy Technology*, 15, pp. 227–239.
- Savoie, P., 1987. Physical alterations of polyethylene film used to cover silage. *Appl. Eng. Agric.* 3, 145–147.

- Savoie, P., Jofriet, J.C., 2003. Silage storage. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology*. Agronomy Monograph 42. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, pp. 405–467, Chapter 9. <https://doi:10.2134/agronmonogr42.c9>
- Silva, M.S.J., Jobim, C.C., Poppi, E.C., Tres, T.T., Osmari, M.P., 2015. Production technology and quality of corn silage for feeding dairy cattle in Southern Brazil. *Rev. Bras. Zootec.* 44, 303–313. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902015000900001>
- Snell, H.G.J., Oberndorfer, C., Lücke, W., Van den Weghe, H.F.A., 2002. Effects of the colour and thickness of polyethylene film of ensiling conditions and silage quality of chopped maize, as investigated under ambient conditions and in minisilos. *Grass Forage Sci.* 57, 342–350. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2494.2002.00334.x>
- Spadaro, D., Bustos-Lopez, M.P., Gullino, M.L., Piano, S., Tabacco, E., Borreani, G., 2015. Evolution of fungal populations in corn silage conserved under polyethylene or biodegradable films. *J. Appl. Microbiol.* 119, 510–520. <https://doi.org/10.1111/jam.12852>
- Tabacco, E., Borreani, G., 2002. Extent of aerobic deterioration in farm maize silage as affected by silo management. in: *Proc. XIII Int. Silage Conf.*, Auchincruive, Scotland, pp. 178–179.
- Tabacco, E., Righi, F., Quarantelli, A., Borreani, G., 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *J. Dairy Sci.* 94, 1409–1419. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3538>
- Te Giffel, M.C., Wagendorp, A., Herrewegh, A., Driehuis, F., 2002. Bacterial spores in silage and raw milk. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 625–630. <https://doi.org/10.1023/A:1020578110353>
- Wang, K., Uriarte, M.E., Li, S.C., Rich, K., Banchemo, C., Bu, D.P., Wilkinson, J.M., Bolsen, K.K., 2017. Effect of type of underlay film on fermentation profile, nutritional quality and estimated loss of organic matter in the outer layer of whole-plant maize ensiled in large bunker silos. *Grass Forage Sci.* 72, 772–776. <https://doi.org/10.1111/gfs.12283>
- Weinberg, Z.G., Ashbell, G., 2003. Engineering aspects of ensiling. *Biochem. Eng. J.* 13, 181–188. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00130-4](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00130-4)
- Whitlock, L.A., Siefers, M.K., Pope, R.S., Brent, B.E., Bolsen, K.K., 2000. Effect of surface spoiled silage on the nutritive value of corn silage-based rations. in: *Kansas*



State University Agricultural Experimental Station Report of Progress 861. pp.36–38.

Wilkinson, J.M., 1999. Silage and animal health. *J. Nat. Toxins.* 7, 221-232.

Wilkinson, J.M., Rimini, R., 2002. Effect of triple co-extruded film on losses during the ensilage of ryegrass. in: *Proc. XIII Int. Silage Conf.*, Scotland: Auchincruive, pp. 168–169.

Wilkinson, J.M., Bolsen, K.K., Lin, C.J., 2003. History of silage. in: *Silage Science and Technology (Agronomy Series No. 42)*. Buxton D. R., R. E. Muck, and H. J. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI. pp. 1–30.

Wilkinson, J.M., Davies, D.R., 2013. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass Forage Sci.* 68, 1–19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00891.x>

Wilkinson, J.M., Fenlon, J.S., 2014. A meta-analysis comparing standard polyethylene and oxygen barrier film in terms of losses during storage and aerobic stability of silage. *Grass Forage Sci.* 69, 385–392. <https://doi.org/10.1111/gfs.12087>

Woolford, M.K., 1990. The detrimental effect of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.* 68, 101–116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02554.x>

## II. Replacement of polyethylene film with oxygen barrier film: Influence on nutritive value of maize silage for finishing beef cattle

(Animal Feed Science and Technology)

### Abstract

This study evaluated the replacing effects of a conventional polyethylene film (PE) by an oxygen barrier (OB) film containing ethylene vinyl alcohol (EVOH) on the nutritive value of maize silage for feedlot cattle. Whole-plant maize was harvested with 310 g DM/kg fresh weight and packed in two bunker silos simultaneously. One silo was covered with a 40- $\mu$ m PE film and protected with an anti-ultraviolet (UV) cover. The second silo was covered with a 45- $\mu$ m OB film and protected with the same anti-UV cover. After 93 days of storage, the silos were opened for a feeding trial. Silage samples were taken from the top (15 cm depth from top surface) and bottom (135 cm from top surface) of the exposed feed-out face to measure silage composition, fermentation products, microbial counts, temperature, pH and dry matter loss. Thirty Nellore bulls [352  $\pm$  17 kg shrunk body weight (SBW)] were blocked by initial SBW and allotted in individual pens for 94 days (10 days of adaptation to facilities + 84 days of diets comparison). Experimental diets contained 600 g/kg DM of concentrates and 400 g/kg DM of maize silage covered with PE or OB film. There was no visually spoiled silage in both treatments and all silage was fed to the animals. Silage covered with OB film had lower levels of yeast and clostridium counts in the top layer, lower temperature, higher concentration of soluble carbohydrates and higher *in vitro* dry matter digestibility than silage under the PE film. Dry matter loss was lower in the top layer of the silo sealed with OB film than for PE film. Bulls fed maize silage covered with PE or OB film showed similar performance rates and carcass traits. Although the OB film was more effective than PE film in preventing oxygen influx into the outer layer of the silo, the protection of both films with a woven anti-UV cover attenuated the influence of silo covering film on animal performance.

*Keywords:* animal performance; silage; silo covering

*Abbreviations:* ADG: average daily gain; aNDF: neutral detergent fibre assayed with sulphite and heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash; CP: crude protein; DM: dry matter; DMI: DM intake; EE: ether extract; EVOH: ethylene vinyl alcohol; IVDMD: true dry matter digestibility measured *in vitro*; NEg: net energy for gain; NEm: net energy for maintenance; NFC: nonfibre carbohydrates; NH<sub>3</sub>-N: ammonia

34 nitrogen; OB: oxygen barrier; PE: polyethylene; SBW: shrunk body weight; SE: standard  
35 error of the mean; TMR: total mixed ration; UV: ultraviolet.

36

## 37 **1. Introduction**

38 Maize silage (*Zea mays*) is by far the main forage source in Brazilian and U.S.  
39 feedlots (Oliveira and Millen, 2014; Samuelson et al., 2016). Most maize silage is stored  
40 in horizontal silos due to the lower construction cost and higher efficiency of filling and  
41 unloading than tower silos (Savoie and Jofriet, 2003). Horizontal silos, however, allow a  
42 large area of ensiled material to be exposed to the environment (Bolsen et al., 1993;  
43 Bernardes, 2016), which increases the risk of aerobic deterioration, mainly in the outer  
44 layer of the silos (Ashbell and Kashanchi, 1987; Honig, 1991). Air ingress into the silo  
45 decreases aerobic stability, increases nutrients loss and reduces hygienic silage quality,  
46 especially at the periphery (Honig et al., 1999; Whitlock et al., 2000). Therefore, oxygen  
47 impermeability is a very important trait of silo covering films (Borreani et al., 2007).

48 Polyethylene (PE) films have been used since 1950s to cover horizontal silos  
49 (Wilkinson, 2014). Nevertheless, PE films do not completely prevent the oxygen passage,  
50 which increases notably at higher environmental temperatures (Degano, 1999), causing  
51 significant losses in the surface layers compared to the central part of the silo (Ashbell  
52 and Kashanchi, 1987). In order to reduce oxygen ingress into the ensiled mass during  
53 storage, co-extruded oxygen barrier films containing PE and ethylene vinyl alcohol film  
54 (EVOH), have been developed. These films have low oxygen transmission rate and higher  
55 physical resistance compared with standard PE films (Borreani and Tabacco, 2017).

56 To date, few studies have been devoted to the effects of silo covering on animal  
57 performance and there are no studies to measure the benefits of covering silage with an  
58 OB film on beef cattle performance. The objective of this study was to evaluate the effect  
59 of replacing a conventional PE film by an OB film on the nutritive value of maize silage  
60 for finishing beef cattle.

61

## 62 **2. Material and methods**

### 63 *2.1. Ensiling*

64 Maize hybrid DKB 177 PRO3<sup>®</sup> (Dekalb, IL, USA) was sown at the Iguatemi  
65 Experimental Farm (23°21'13''S, 52°04'27''W; 550 m of altitude) in the second crop of  
66 2017. After 110 days of growth, when the DM concentration was at 310 g DM/kg fresh  
67 weight, whole plant corn was harvested using a pull-type forage harvester (New Pecu,

68 Nogueira, Itapira, Brazil) set to 7-mm theoretical length of cut and fitted with a kernel  
69 processing device designed by the company.

70 Two bunker silos (4 m width, 1.5 m height, 14 m length) with approximately 30-  
71 t capacity were filled and packed simultaneously, without additive application. Each silo  
72 was sealed with one of the following covering methods: 1) PE film, 40- $\mu$ m thickness  
73 (Solplast S.A., Lorca, Spain) protected with a tight weave high density polyethylene anti-  
74 ultraviolet (UV) cover, 213 grams per square metre (Bruno Rimini Ltd, London, UK); 2)  
75 OB film, 45- $\mu$ m thick (Silostop Orange, Bruno Rimini Ltd, London, UK) protected with  
76 woven anti-UV cover (Silostop Anti-UV cover, Bruno Rimini Ltd, London, UK). Silo  
77 walls were lined with the respective films before filling. Gravel bags were placed on the  
78 edges and every 4 m across the silo. Silages were stored for 93 days before feeding.  
79 During the storage period, the farm weather station registered minimum environment  
80 temperatures from 8 to 24°C and maximum temperatures from 12 to 35°C, with 71% of  
81 relative humidity, on average.

82

### 83 *2.2. Silage sampling*

84 The DM losses during silage storage were determined by buried bags. At ensiling,  
85 36 nylon bags (~300 g of forage) were buried in each silo for measuring the DM loss  
86 during storage. The bags were positioned in three layers: top (15 cm depth from top  
87 surface), middle (75 cm depth from top surface) and bottom (135 cm depth from top  
88 surface), every 4.5 m across the silo length.

89 During the feeding trial, the exposed silo feed-out face was sampled at the top (15  
90 cm from top surface) and bottom (135 cm from top surface) layers at the half of the panel,  
91 three times at 20-days intervals. On each sampling occasion, silage temperature was  
92 measured by a bulb thermometer at 20 cm behind the face. Silage samples were collected  
93 at the same temperature evaluation sites for measuring pH, fermentation end-products  
94 and microbial counts. After sampling, silage density was measured using a corer (10 cm  
95 diameter  $\times$  20 cm length) at twelve sampling points on the silo feed-out face.

96

### 97 *2.3. Animals, facilities, experimental diets and sampling*

98 Animal care and handling procedures were approved by the Ethics Committee for  
99 Animal Use of the Maringa State University (protocol number 1864280617 –  
100 CEUA/UEM). Thirty Nellore bulls (352  $\pm$  17 kg, 24 months old) were housed in  
101 individual pens with concrete floor, individual feedbunk and water bowl. The feeding

102 period lasted 94 days, being the first 10 days for adaptation to the facilities and the last  
 103 84 days for diet comparison. At the end of the adaptation period, animals were weighed,  
 104 blocked according to initial body weight, and assigned to treatment. Dietary treatments  
 105 consisted of two total mixed rations (TMR) containing 600 g/kg DM of concentrates and  
 106 400 g/kg DM of maize silage covered with PE or OB film (Table 1). Every morning,  
 107 silages were judged according to appearance as edible or inedible, unloaded manually  
 108 using a fork and weighed. The TMR were offered twice daily (09:00 and 15:00 h) in  
 109 amounts of approximately 100 g/kg (as fed basis) in excess of daily intake. Feed refusals  
 110 were collected, weighed daily to determine feed intake before the morning feeding.

111 Particle size distribution of total mixed rations was determined using a Penn State  
 112 particle separator (Kononoff et al., 2003). Offered ration and refusals were sampled three  
 113 times during the feeding trial, with 20-days intervals. The sorting index was calculated  
 114 by the observed intake of each fraction retained in each sieve expressed as a percentage  
 115 of the predicted intake (as fed basis). Values < 1000 g/kg indicate refusal, values > 1000  
 116 g/kg indicate preference and values = 1000 g/kg no sorting (Leonardi and Armentano,  
 117 2003).

118 Chewing behaviour was evaluated on day 41. Animals were observed every 10  
 119 min during 24 h (Maekawa et al., 2002). Chewing activity was obtained by the sum of  
 120 eating and rumination activities. The number of meals per day, meal size, meal length,  
 121 meal interval, rate of intake and duration of the first meal were also recorded.

122 The SBW was recorded after 14 h of fasting (during the night) in the beginning of  
 123 the comparison period and every 28 days. Average daily gain (ADG) was determined as  
 124 the slope of the SBW linear regression on days of diet comparison. Feed efficiency was  
 125 computed as ADG/DM intake. Total-tract apparent digestibility was determined using  
 126 indigestible neutral detergent fibre as an internal marker (Huhtanen et al., 1994). From  
 127 the individual DM intake (DMI) and ADG data, diet net energy was estimated using the  
 128 equations proposed by Zinn and Shen (1998). Energy requirement for gain was calculated  
 129 as:  $E_g$  (MJ/day) =  $4.184 \times (0.0493 \times ((BW \times 478 / MFW)^{0.75}) \times ADG^{1.097})$ , where BW is  
 130 mean SBW, 478 is standard reference shrunk weight and MFW is mature final weight.  
 131 Energy requirement for maintenance was calculated as:  $E_m$  (MJ/day) =  $4.184 \times 0.077 \times$   
 132  $BW^{0.75}$ . Diet net energy for maintenance was estimated by the equation:  $NE_m$  (MJ/kg DM)  
 133 =  $4.184 \times ((-b - (b^2 - 4ac)^{0.5}) / 2a)$ , where:  $a = -0.877 \times DMI$ ,  $b = (0.877 \times (E_m / 4.184)) +$   
 134  $(0.41 \times DMI) + (E_g / 4.184)$  and  $c = -0.41 \times (E_m / 4.184)$ . Diet net energy for gain was

135 calculated as:  $NE_g$  (MJ/kg DM) =  $4.184 \times ((0.877 \times (NE_m / 4.184)) - 0.41)$ . Silage  $NE_m$   
136 and  $NE_g$  were estimated by difference according to Owens et al. (1997).

137

#### 138 2.4. Carcass traits and slaughter

139 At the final weighting, carcass traits were evaluated via ultrasound (Aloka  
140 SSD500). Images were collected using a 17 cm, 3.5 MHz probe. Ribeye area and rib fat  
141 thickness were measured between the 12<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> rib transversally to the *Longissimus*  
142 muscle. Marbling score (1 to 10) was recorded from the 11<sup>th</sup> to 13<sup>th</sup> rib longitudinally to  
143 the *Longissimus* muscle. *Biceps femoris* fat thickness was also recorded. A single trained  
144 technician scanned all animals. The images were analysed using the software Bia Pro Plus  
145 (Designer Genes Technology). Afterwards, animals were transported 22 km to a  
146 commercial abattoir. Bulls were slaughtered according to animal welfare and pre-  
147 slaughter practices established by the local sanitary inspection. The hot carcass weight  
148 was recorded, and dressing calculated as hot carcass weight/SBW.

149

#### 150 2.5. Feed analysis

151 Samples of diet ingredients, fresh forage and silages from top and bottom layers  
152 of the silos were dried at 55°C for 72 h and ground to pass a 1-mm screen using a Wiley  
153 mill (Marconi MA340, Piracicaba, Brazil). After grinding, absolute DM was obtained by  
154 oven-drying at 105°C (method 934.01). Ash concentration was determined by complete  
155 combustion in a muffle furnace at 600°C for 5 h (AOAC method 942.05), crude protein  
156 (CP) by Kjeldahl was calculated as total N  $\times$  6.25 (AOAC method 984.13) and ether  
157 extract (EE; AOAC method 920.29) according to AOAC (1990). Neutral detergent fibre  
158 (aNDF) was assayed with sodium sulphite and a heat stable amylase and expressed  
159 inclusive of residual ash (Mertens, 2002). The content of non-fibre carbohydrate was  
160 calculated as  $NFC = 100 - (CP + aNDF + EE + ash)$ . The concentration of soluble  
161 carbohydrates was determined by the phenol-sulfuric acid method (Hall, 2014). True dry  
162 matter digestibility (IVDMD) was measured *in vitro* using a Daisy<sup>II</sup> incubator (ANKOM  
163 Technology, Macedon, USA).

164 Silage aqueous extracts from top and bottom layers of the silos were prepared by  
165 mixing 25 g of fresh silage and 225 g of distilled water for 2 min in a blender and filtering  
166 through cheesecloths. After measuring the pH (pH meter model Tec5, Tecnal<sup>®</sup>,  
167 Piracicaba, Brazil), an aliquot was frozen at -20°C for analysis of fermentation products  
168 and a second aliquot was diluted in ringer solution ( $10^{-1}$  to  $10^{-6}$ ) and pour plated in

169 selective media for microbial counts. The concentrations of ammonia (Chaney and  
170 Marbach, 1962) and lactic acid (Pryce, 1969) were determined by colorimetric methods,  
171 using a spectrophotometer (model Janway 6305, Marconi<sup>®</sup>, Piracicaba, Brazil) with  
172 wave-lengths of  $\lambda=630$  nm and  $\lambda=565$  nm, respectively. Volatile fatty acids and ethanol  
173 were determined by gas chromatography (GCMS QP 2010 plus, Shimadzu, Kyoto, Japan)  
174 using a capillary column (Stabilwax, Restek, Bellefonte, PA; 60 m, 0.25 mm  $\varnothing$ , 0.25  $\mu$ m  
175 crossbond carbowax polyethylene glycol).

176 Malt extract agar (M137, Himedia<sup>®</sup>, Mumbai, India) acidified to pH 3.5 with lactic  
177 acid was used for enumeration of yeasts and moulds. Lactic acid bacteria were  
178 enumerated in the Man, Rogosa and Sharpe agar (7543A, Acumedia<sup>®</sup>, Michigan, EUA).  
179 The plates were incubated aerobically at 30°C during 2, 3 and 4 d for counting of lactic  
180 acid bacteria, yeasts and moulds, respectively. For counts of clostridium spores and  
181 aerobic spores, the diluted extracts ( $10^{-1}$  to  $10^{-3}$ ) were pasteurized at 80°C for 10 min. The  
182 medium used for clostridium counts was reinforced clostridial agar, with the addition of  
183 neutral red and D-cycloserine (Jonsson, 1990). Aerobic spores were enumerated in the  
184 plate count agar. The clostridia plates were placed in anaerobic jars and maintained in a  
185 biochemical oxygen demand incubator at 37°C for 5 d. The aerobic spores plates were  
186 held in the incubator at 34°C and counting was done after 2 d. The number of  
187 microorganisms were counted as colony forming unit (cfu) and expressed as  $\log_{10}$ .

188

### 189 2.6. Statistical analysis

190 Statistical analysis was performed using the Mixed procedure of SAS (v 9.4).  
191 Silage traits were presented as mean  $\pm$  standard deviation. Animal performance outcomes  
192 were analysed using a model including fixed effects of block and plastic film. Means were  
193 compared by Tukey's test ( $\alpha = 0.05$ ).

194

## 195 3. Results

196 There was no visually spoiled silage in both treatments and all silage was fed to  
197 the animals. Silage covered with OB film showed lower levels of yeast and clostridium  
198 counts in the top layer, lower temperature, higher soluble carbohydrates concentration  
199 and higher DM digestibility values than silage under the PE film. Dry matter loss was  
200 lower in the top layer of the silo sealed with OB film (Table 2).

201 Type of silo covering film did not affect, feeding behaviour, diet particle sorting  
202 index, DMI (average 8.85 kg/d) and daily DMI variation (Tables 3 and 4). Daily weight

203 gain (average 1.283 kg/d), carcass gain (average 0.910 kg/d) and feed efficiency (average  
204 0.144 kg/kg) and carcass traits were similar between treatments. Total tract digestibility  
205 and diet net energy values were not altered by the sealing film (Table 5).

206

#### 207 **4. Discussion**

208 The silos used in this study were made of concrete and the walls were lined with  
209 plastic film, therefore, it is likely that any oxygen inflow during storage might have  
210 occurred through the films. The top layer of silage covered with OB film contained lower  
211 levels of yeasts, clostridia and temperature, and higher levels of soluble carbohydrates  
212 and DM digestibility than top layer silage covered by PE film, as has been previously  
213 well established in the literature (Borreani et al., 2007; Borreani and Tabacco, 2008;  
214 Wilkinson and Fenlon, 2013; Borreani and Tabacco, 2014).

215 The differences between silages were much smaller than expected for the  
216 evaluated films. The DM losses in top layer were 1.76 times lower for OB films than for  
217 the PE film. The analysis made by Wilkinson and Fenlon (2013) underscore the great  
218 variation in DM losses of silages stored in peripheral areas of horizontal silos, ranging  
219 from less than 50 to 700 g/kg for PE films and from 50 to 370 g/kg of silage for OB films.

220 In the current trial, covering the films with a woven anti-UV cover might have  
221 helped in preserving the film properties and reducing air infiltration, as observed by the  
222 absence of visually deteriorated silage on the upper layer of both silos. Amaral et al.  
223 (2014) reported lower proportion of inedible maize silage covered with PE and protected  
224 with sugarcane bagasse in comparison with PE alone. Furthermore, the authors reported  
225 that the better preservation of the silage under the film covered with bagasse resulted in  
226 higher milk yield and higher feed efficiency by lactating cows.

227 Lining the silo walls with plastic films might also have contributed to the absence  
228 of visually deteriorated silage. Lima et al. (2017) observed that the OB film system  
229 reduced DM and nutrients losses on the shoulders of bunker silos compared to the lateral  
230 wall without films. Lining the walls also prevented rain water from entering the silage,  
231 thus deterioration (Muck, 2011).

232 The relatively low DM content of the silage (~300 g/kg) may have also contributed  
233 to the good silage preservation in the top layer. Lower DM content typically induces  
234 heterofermentation and, in turn, a higher compounds formation with antifungal capacity,  
235 such as acetic acid (McDonald et al., 1991; Pahlow et al., 2003; Wilkinson and Davies,  
236 2013). Higher concentration of acetic acid reduces the risk of aerobic deterioration in



237 silages (Wolthusen et al., 1989; Danner et al., 2003). In the current experiment, acetic  
238 acid concentration in the top layer was relatively high (average 47.9 g/kg DM) and higher  
239 than the lactic acid concentration. Additionally, feed-out management (removal rate > 12  
240 cm/d, without disturbing the remaining silage and keeping a smooth face) was another  
241 factor that may contributed to the deterioration absence of the exposed silo feed-out faces  
242 (Pitt and Muck, 1993).

243 Since the differences in silage composition were not large, no significant  
244 differences were observed in animal performance. The relatively low proportion of silage  
245 used in the diet (400 g/kg of DM), which is typical in feedlot diets, also attenuated  
246 possible differences in animal performance. Further studies are warranted to determine  
247 the effect of plastic film without a woven protective cover, which in the current trial may  
248 have had an influence on silage preservation.

249

## 250 **5. Conclusions**

251 Although the OB film was more effective than PE film in preventing oxygen  
252 influx into the outer layer of the silo, no differences were observed in growing  
253 performance of feedlot beef cattle fed silages sealed with PE or OB films protected with  
254 a woven anti-UV cover. The protection of both films with an anti-UV cover might have  
255 attenuated the influence of type of film on silage quality and animal performance.

256

## 257 **References**

- 258 Amaral, R.C., Santos, M.C., Daniel, J.L.P., Neto, A.S., Bispo, A.W., Cabezas-Garcia,  
259 E.H., Bernardes, T.F., Nussio, L.G., 2014. The influence of covering methods on the  
260 nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. *R. Bras. Zootec.* 43, 471–478.  
261 <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014000900003>
- 262 Association of Official Analytical Chemists – AOAC, 1990. *Official methods of analysis*,  
263 fifteenth ed. Arlington, VA, USA.
- 264 Ashbell, G., Kashanchi, Y., 1987. In silo losses from wheat ensiling in bunker silos in  
265 subtropical climate. *J. Sci. Food Agric.* 40, 95–103.  
266 <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740400202>
- 267 Bernardes, T. F., 2016. Advances in silage sealing. in: Da Silva, T., Santos, E. M. (Eds.)  
268 *Advances in Silage Production and Utilization*. Vol. 1., InTech, Rijeka, Croatia, pp.  
269 53–62.

- 270 Bolsen, K.K., Dickerson, J.T., Brent, B.E., Sonon, R.N., Dalke, B.S., Lin, C., Boyer, J.E.,  
271 1993. Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos. *J Dairy Sci.* 76, 2940-  
272 2962. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77634-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77634-1)
- 273 Borreani, G., Tabacco, E., Cavallarin, L., 2007. A new oxygen barrier film reduces  
274 aerobic deterioration in farm-scale corn silage. *J. Dairy Sci.* 90, 4701–4706.  
275 <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0310>
- 276 Borreani, G., Tabacco, E., 2008. Low permeability to oxygen of a new barrier film  
277 prevents butyric acid bacteria spore formation in farm maize silage. *J. Dairy Sci.* 91,  
278 4272–4281. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1151>
- 279 Borreani, G., Tabacco, E., 2014. Improving corn silage quality in the top layer of farm  
280 bunker silos through the use of a next-generation barrier film with high  
281 impermeability to oxygen. *J. Dairy Sci.* 97, 2415–2426.  
282 <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7632>
- 283 Borreani, G., Tabacco, E., 2017. Charter 9: Plastics in animal production, in: Orzolek, M.  
284 (Ed.), *A Guide to the Manufacture, Performance, and Potential of Plastics in*  
285 *Agriculture*. Elsevier Ltd., Amsterdam, pp. 145–185. [https://doi.org/10.1016/B978-](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102170-5.00009-9)  
286 [0-08-102170-5.00009-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102170-5.00009-9)
- 287 Chaney, A.L., Marbach, E.P., 1962. Modified reagents for determination of urea and  
288 ammonia. *Clin. Chem.* 8, 130–132.
- 289 Danner, H., Holzer, M., Mayrhuber, E., Braun, R., 2003. Acetic acid increases stability  
290 of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 562-567.  
291 <https://doi:10.1128/AEM.69.1.562-567.2003>
- 292 Degano, L., 1999. Improvement of silage quality by innovative covering system. in: Proc.  
293 XII International Silage Conference, Uppsala Sweden, pp. 296–297.
- 294 Hall, M.B., 2014. Selection of an empirical detection method for determination of water-  
295 soluble carbohydrates in feedstuffs for application in ruminant nutrition. *Anim. Feed*  
296 *Sci. Technol.* 198, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.08.009>
- 297 Honig, H., 1991. Reducing losses during storage and unloading of silage. In: Pahlow, G.,  
298 Honig, H. (Eds.), *Institute of Grassland and Forage Research and Federal Research*  
299 *Center of Agriculture*. Braunschweig, Germany, pp. 116–128.
- 300 Honig H., Pahlow, G., Thaysen, J., 1999. Aerobic instability – Effects and possibilities  
301 for its prevention. In: Proc. XII International Silage Conference, Uppsala, Sweden,  
302 pp. 288–289.

- 303 Huhtanen, P.; Kaustell, K.; Jaakkola, S., 1994. The use of internal markers to predict total  
304 digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Anim.*  
305 *Feed Sci. Technol.* 48, 211–227. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90173-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90173-2)
- 306 Jonsson, A., 1990. Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages  
307 using neutral red, d-cycloserine, and lactate dehydrogenase activity. *J. Dairy Sci.* 13,  
308 719–725. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78725-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78725-5)
- 309 Kononoff, P.J., Heinrichs, A.J., Buckmaster, D.R., 2003. Modification of the Penn State  
310 forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content  
311 on its measurements. *J. Dairy Sci.* 86, 1858–1863.  
312 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73773-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73773-4)
- 313 Leonardi, C., Armentano, L.E., 2003. Effect of quantify, quality, and length of alfalfa hay  
314 on selective consumption by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 557–564.  
315 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73634-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73634-0)
- 316 Lima, L.M., dos Santos, J.P., Casagrande, D.R., Ávila, C.L.S., Lara, M.S., Bernardes,  
317 T.F., 2017. Lining bunker walls with oxygen barrier film reduces nutrient losses in  
318 corn silages. *J. Dairy Sci.* 100, 4565–4573. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12129>
- 319 Maekawa, M., Beauchemin, K.A., Christensen, D.A., 2002. Chewing activity, saliva  
320 production and ruminal pH of primiparous and multiparous lactating dairy cows. *J.*  
321 *Dairy Sci.* 85, 1176–1182. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74180-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74180-5)
- 322 Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent  
323 fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC*  
324 *Int.* 85, 1217-1240.
- 325 Muck, R.E., 2011. The art and science of making silage. Accessed Aug. 26, 2018.  
326 <http://alfalfa.ucdavis.edu/+symposium/proceedings/2011/11-36.pdf>
- 327 Oliveira, C.A., Millen, D.D., 2014. Survey of the nutritional recommendations and  
328 management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Anim. Feed*  
329 *Sci. Technol.* 197, 64-75. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.08.010>
- 330 Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R. 1997. The effect of grain source and  
331 grain processing on performance of feedlot cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 75, 868-  
332 879. [https://pdfs.semanticscholar.org/212a/26d879ea450c813d08f51fe68954c9955](https://pdfs.semanticscholar.org/212a/26d879ea450c813d08f51fe68954c995519e.pdf)  
333 19e.pdf
- 334 Pitt, R. E.; Muck, R. E. 1993. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed  
335 face of bunker silos. *J. Agric. Engng. Res.*, 55, 11-26.  
336 <https://doi.org/10.1006/jaer.1993.1029>

- 337 Pryce, J.D., 1969. A modification of Barker-Summerson method for the determination of  
338 lactic acid. *Analyst*. 94, 1151–1152. <https://doi.org/10.1039/AN9699401151>
- 339 Samuelson, K.L., Hubbert, M.E., Galyean, M.L, Loest, C.A., 2016. Nutritional  
340 recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2015 New Mexico State  
341 and Texas Tech University survey. *J. Anim. Sci.* 94, 2648–2663.  
342 <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0282>
- 343 Savoie, P., Jofriet, J.C., 2003. Silage storage. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison,  
344 J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology*. American Society of Agronomy, Inc.,  
345 Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc,  
346 Madison, WI, USA, pp. 405–467. <https://doi:10.2134/agronmonogr42.c9>
- 347 Wilkinson, J.M., Davies, D.R., 2013. The aerobic stability of silage: key findings and  
348 recent developments. *Grass Forage Sci.* 68, 1-19. [https://doi:10.1111/j.1365-](https://doi:10.1111/j.1365-2494.2012.00891.x)  
349 [2494.2012.00891.x](https://doi:10.1111/j.1365-2494.2012.00891.x)
- 350 Wilkinson, J.M., Fenlon, J.S., 2013. A meta-analysis comparing standard polyethylene  
351 and oxygen barrier film in terms of losses during storage and aerobic stability of  
352 silage. *Grass Forage Sci.* 69, 385–392. <https://doi.org/10.1111/gfs.12087>
- 353 Wilkinson, J.M., 2014. Fifty years progress in forage conservation and challenges for the  
354 future, in: 16<sup>th</sup> International Symposium Forage Conservation, Brno, Czech  
355 Republic, pp. 9-23.
- 356 Whitlock, L.A., Wistuba, T.J., Seifers, M.K., Pope, R.V., Brent, B.E., Bolsen, K.K., 2000.  
357 Effect of level of surface-spoiled silage on the nutritive value of corn silage diets. In:  
358 Kansas State University Agricultural Experimental Station Report of Progress 861,  
359 Manhattan, Kansas, USA: Kansas State University, pp. 36–38.
- 360 Wolthusen, E., Weissbach, F., Derno, M., 1989. Fermentation acid content and aerobic  
361 stability of silages, in: Proc. International Symposium on Producing, Evaluating and  
362 Feeding Silage, Rostock, Germany, pp. 123–132.
- 363 Woolford, M.K., 1990. The detrimental effect of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.* 68,  
364 101–116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02554.x>
- 365 Zinn, R.A., Shen, Y., 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and  
366 metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *J. Anim. Sci.* 76, 1280–  
367 1289. <https://doi.org/10.2527/1998.7651280x>

368 **Table 1**  
 369 **Ingredients and chemical composition of the experimental diets.**

Item	Treatment <sup>1</sup>	
	PE	OB
Ingredients, g/kg DM		
Maize silage PE	400	-
Maize silage OB	-	400
Maize grain, ground	537	537
Soybean meal	31.0	31.0
Limestone	1.32	1.32
Urea	13.0	13.0
Mineral premix <sup>2</sup>	18.0	18.0
Nutrients, g/kg DM		
Dry matter	504	510
Crude protein	129	128
Neutral detergent fibre	281	280
Ether extract	36.4	36.3
Ash	47.8	47.3
Non-fibre carbohydrates	506	508

370 <sup>1</sup>PE: silo covered with a polyethylene film and protected with anti-UV cover. OB: silo covered with film  
 371 containing EVOH and protected with anti-UV cover.

372 <sup>2</sup>Composition per kg: 160 g Ca, 64 mg Co, 800 mg Cu, 22 g S, 300 mg F, 30 g P, 48 g I, 24 g Mg, 800 mg  
 373 Mn, 12 mg Se, 110 g Na, 2400 mg Zn and 1500 mg of monensin sodium.

374 **Table 2**  
 375 Composition of maize silages stored under polyethylene film (PE) or oxygen barrier (OB)  
 376 film (mean  $\pm$  standard deviation).

Item	Treatment <sup>1</sup>			
	PE		OB	
	Top <sup>2</sup>	Bottom <sup>2</sup>	Top	Bottom
DM, g/kg fresh weight	287 $\pm$ 11	297 $\pm$ 12	287 $\pm$ 18	300 $\pm$ 13
Density, kg fresh weight/m <sup>3</sup>	484 $\pm$ 20	724 $\pm$ 78	468 $\pm$ 56	718 $\pm$ 46
Temperature, °C	34.8 $\pm$ 0.5	29.8 $\pm$ 0.1	32.8 $\pm$ 1.1	29.4 $\pm$ 0.7
pH	3.78 $\pm$ 0.15	3.43 $\pm$ 0.08	3.79 $\pm$ 0.17	3.42 $\pm$ 0.07
NH <sub>3</sub> -N, g/kg N	101 $\pm$ 3.3	80.0 $\pm$ 3.6	98.0 $\pm$ 3.0	79.4 $\pm$ 5.1
Lactic acid, g/kg DM	25.3 $\pm$ 1.9	72.9 $\pm$ 3.0	33.2 $\pm$ 2.8	71.2 $\pm$ 4.6
Acetic acid, g/kg DM	48.8 $\pm$ 27.3	29.1 $\pm$ 16.4	47.0 $\pm$ 26.4	32.5 $\pm$ 18.0
Butyric acid, mg/kg DM	22.8 $\pm$ 13.7	16.6 $\pm$ 8.5	12.3 $\pm$ 3.4	15.1 $\pm$ 1.9
Ethanol, g/kg DM	10.5 $\pm$ 4.7	79.2 $\pm$ 2.8	11.8 $\pm$ 4.8	77.7 $\pm$ 0.8
Lactic acid bacteria, log cfu/g fresh weight	3.70 $\pm$ 0.89	3.60 $\pm$ 0.52	4.57 $\pm$ 1.10	3.53 $\pm$ 1.17
Yeasts, log cfu/g fresh weight	4.93 $\pm$ 0.44	3.49 $\pm$ 0.21	3.42 $\pm$ 0.60	2.68 $\pm$ 0.09
Moulds, log cfu/g fresh weight	3.33 $\pm$ 0.46	2.15 $\pm$ 0.21	2.85 $\pm$ 1.20	3.00 $\pm$ 0.00
Clostridia, log cfu/g fresh weight	2.74 $\pm$ 0.64	2.54 $\pm$ 0.22	2.13 $\pm$ 0.15	2.11 $\pm$ 0.22
Aerobic spores, log cfu/g fresh weight	3.44 $\pm$ 0.40	3.57 $\pm$ 0.30	3.47 $\pm$ 0.25	3.30 $\pm$ 0.07
Storage DM loss <sup>3</sup> g/kg DM	166 $\pm$ 20	53 $\pm$ 20	94 $\pm$ 16	56 $\pm$ 31
Crude protein, g/kg DM	64.0 $\pm$ 2.7	65.9 $\pm$ 2.6	62.2 $\pm$ 1.0	65.0 $\pm$ 4.1
Soluble carbohydrates, g/kg DM	35.2 $\pm$ 5.7	45.0 $\pm$ 2.8	38.4 $\pm$ 5.0	49.1 $\pm$ 4.4
Neutral detergent fibre, g/kg DM	566 $\pm$ 11.0	539 $\pm$ 8.1	564 $\pm$ 5.6	537 $\pm$ 1.7
Ash, g/kg DM	39.2 $\pm$ 0.9	37.7 $\pm$ 0.5	39.0 $\pm$ 1.0	36.2 $\pm$ 0.8
IVDMD <sup>4</sup> , g/kg DM	0.646 $\pm$ 0.014	0.668 $\pm$ 0.003	0.665 $\pm$ 0.005	0.666 $\pm$ 0.005

377 <sup>1</sup> PE: silo covered with polyethylene film and protected with anti-UV cover. OB: silo covered with film  
 378 containing EVOH and protected with anti-UV cover.

379 <sup>2</sup> Top = 15 cm depth; bottom = 135 cm depth from top surface.

380 <sup>3</sup> Measured with buried bags.

381 <sup>4</sup> Dry matter digestibility *in vitro*.

382

383 **Table 3**  
 384 Feeding behaviour of feedlot cattle fed maize silage stored under polyethylene film (PE)  
 385 or oxygen barrier (OB) film.

Item	Treatment <sup>1</sup>		SE <sup>2</sup>	P-value
	PE	OB		
Eating, min/d	173	167	14.6	0.76
Ruminating, min/d	358	355	15.2	0.90
Chewing, min/d	531	521	27.3	0.81
Chewing/DMI, min/kg DM	51.6	50.7	2.66	0.82
Meals, /d	10.5	10.5	0.64	0.94
Meal size, g DM/meal	1046	1019	66.9	0.79
Meal length, min/meal	16.4	15.7	0.71	0.49
Intermeal interval, min	128	127	9.9	0.94
Intake rate, g DM/min	65.0	67.3	5.34	0.76
Duration of first meal, min	26.1	24.7	3.04	0.75
Particle sorting index, g/kg as fed				
>19 mm	1060	1060	13.5	0.91
8-19 mm	1010	1020	7.2	0.50
1.18-8 mm	988	995	3.5	0.15
Pan	979	952	8.7	0.08

386 <sup>1</sup> PE: silo covered with polyethylene film and protected with anti-UV cover. OB: silo covered with film  
 387 containing EVOH and protected with anti-UV cover.

388 <sup>2</sup> Standard error of the mean.

389 **Table 4**  
 390 Performance and carcass traits of feedlot cattle fed maize silage stored under polyethylene  
 391 film (PE) or oxygen barrier (OB) film.

Item	Treatment <sup>1</sup>		SE <sup>2</sup>	P-value
	PE	OB		
DMI, kg/d	8.87	8.83	0.261	0.91
Daily DMI variation, g/kg	82.6	81.1	6.18	0.87
Initial BW, kg	353	352	1.1	0.68
Final BW, kg	462	462	9.3	0.98
ADG, kg/d	1.28	1.29	0.165	0.97
Carcass gain, kg/d	0.916	0.904	0.045	0.85
Feed efficiency	0.142	0.146	0.010	0.80
Carcass traits				
Hot carcass weight, kg	255	253	3.9	0.81
Dressing, g/kg	551	548	4.7	0.63
Backfat thickness at 12 <sup>th</sup> -rib, mm	4.61	4.75	0.289	0.73
<i>Biceps femoris</i> fat thickness, mm	6.26	6.46	0.535	0.80
Marbling score at 12 <sup>th</sup> -rib (0 – 10)	2.93	3.17	0.105	0.14
<i>Longissimus</i> muscle area at 12 <sup>th</sup> -rib, cm <sup>2</sup>	75.3	72.1	1.84	0.24

392 <sup>1</sup> PE: silo covered with polyethylene film and protected with anti-UV cover. OB: silo covered with film  
 393 containing EVOH and protected with anti-UV cover.

394 <sup>2</sup> Standard error of the mean.



395 **Table 5**  
 396 Digestibility and net energy values of diets and maize silages stored under polyethylene  
 397 film (PE) or oxygen barrier (OB) film.

Item	Treatment <sup>1</sup>		SE <sup>2</sup>	P-value
	PE	OB		
Total-tract DM digestibility	0.724	0.727	0.0086	0.83
Diet and silage energy <sup>3</sup>				
Diet NEm <sup>4</sup> , MJ/kg DM	7.32	7.41	0.28	0.90
Diet NEg <sup>5</sup> , MJ/kg DM	4.73	4.77	0.24	0.89
Silage NEm, MJ/kg DM	5.98	6.07	0.69	0.90
Silage NEg, MJ/kg DM	3.39	3.51	0.61	0.90

398 <sup>1</sup>PE: silo covered with polyethylene film and protected with anti-UV cover. OB: silo covered with film  
 399 containing EVOH and protected with anti-UV cover.

400 <sup>2</sup> Standard error of the mean.

401 <sup>3</sup> Calculated from animal performance data.

402 <sup>4</sup> Net energy for maintenance.

403 <sup>5</sup> Net energy for gain.