

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DA ESTRATÉGIA DE VEDAÇÃO NO VALOR  
NUTRITIVO DA SILAGEM DE MILHO PARA NOVILHAS  
LEITEIRAS EM CRESCIMENTO

Autora: Camila Salazar Parra  
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro - 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DA ESTRATÉGIA DE VEDAÇÃO NO VALOR  
NUTRITIVO DA SILAGEM DE MILHO PARA NOVILHAS  
LEITEIRAS EM CRESCIMENTO

Autora: Camila Salazar Parra  
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  
Fevereiro- 2021

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

P259e

Parra, Camila Salazar

Efeito da estratégia de vedação no valor nutritivo da silagem de milho para novilhas leiteiras em crescimento / Camila Salazar Parra. -- Maringá, PR, 2021.  
69 f.tabs.

Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2021.

1. Silagem de milho - Nutrição animal. 2. Silagem de milho - Conservação e deterioração. 3. Silos - Cobertura. I. Daniel, João Luiz Pratti, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 636.2085

Márcia Regina Paiva de Brito - CRB-9/1267



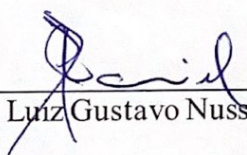
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

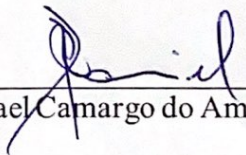
EFEITO DA ESTRATÉGIA DE VEDAÇÃO NO VALOR  
NUTRITIVO DA SILAGEM DE MILHO PARA NOVILHAS  
LEITEIRAS EM CRESCIMENTO

Autora: Camila Salazar Parra  
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 26 de fevereiro de 2021.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luiz Gustavo Nussio

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Rafael Camargo do Amaral

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel  
Orientador

*“Ninguém pode ser perfeito... Mas todos podemos ser melhores...”*

*- Autor desconhecido.*

Aos meus pais, Rita de Cássia dos Santos Salazar Parra e Marco Antonio Chiorato Parra, pelo incentivo, compreensão e esforço para proporcionarem a mim esta oportunidade.

Em memória do meu avô, Anibal Parra Parra. A minha avó Nair Chiorato Parra, ao meu tio Itamar Chiorato Parra e também ao meu irmão, Luís Fernando Salazar Parra.

Aos meus demais familiares e amigos, que tiveram participação na minha jornada e nessa conquista me apoiando e incentivando de alguma maneira...

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por dar sentido a minha vida me guiar por bons caminhos e nunca me deixar desistir em momentos difíceis. À Universidade Estadual de Maringá, por ter-me possibilitado desenvolver este trabalho. Ao Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel, pela dedicada orientação, ensinamentos, estímulo e amizade. Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pelos ensinamentos e por sempre estarem 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.

Aos amigos do Grupo de Pesquisa em Silagem e Feno (GESF), em especial meus companheiros de pós-graduação, Andresa, Janaina, Francisco e Sillas. E, a todos os demais membros do grupo Alana, Beatriz, Carolina, Júlia, Miqueli, Pamela, Regina e Sara, 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.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), em especial ao Wilson Marsola por ter sido essencial na realização deste trabalho a nível de campo;

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA).

À minha família, em especial meu pai, Marco e minha mãe Rita, que sem o apoio e compreensão deles não teria sido possível. Ao meu namorado Bruno, por todo apoio, paciência e compreensão.

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

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



## BIOGRAFIA

Camila Salazar Parra, filha de Rita de Cássia dos Santos Salazar Parra e Marco Antonio Chiorato Parra, nasceu em Promissão, São Paulo, no dia 13 de novembro de 1996.

Em fevereiro de 2014, iniciou no curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Entre fevereiro de 2014 a dezembro de 2014, participou do grupo de pesquisas NUPEL.

Participou da gestão 2016/2017 da Associação Paranaense dos Estudantes de Zootecnia – APEZ e na gestão 2017/2018 da Empresa Zootecnia Consultoria Júnior – ZooJr.

Em 2017, ingressou como bolsista no grupo de pesquisa GESF.

Em dezembro de 2018, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em fevereiro de 2019, 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 fevereiro de 2021, 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

	Páginas
LISTA DE TABELAS .....	x
RESUMO .....	11
ABSTRACT.....	13
I. INTRODUÇÃO .....	15
1. REVISÃO DE LITERATURA .....	16
1.1. Deterioração aeróbia durante o armazenamento de silagens .....	16
1.2. Estratégias de vedação .....	18
1.2.1. Filmes de vedação .....	18
1.2.2. Proteção do filme de vedação.....	22
1.2.3. Proteção de paredes e ombros do silo com filme plástico.....	23
1.2.4. Efeito da vedação na estabilidade aeróbia e na concentração de nutrientes	24
1.2.5. Efeito da vedação na qualidade higiênica da silagem .....	25
1.3. Efeito da estratégia de vedação no desempenho animal.....	27
2. Referências .....	28
II. Effect of sealing strategy on the feeding value of corn silage for growing dairy heifers	
INTERPRETIVE SUMMARY:.....	36
ABSTRACT.....	37
INTRODUCTION .....	39

MATERIAL AND METHODS .....	40
<i>Corn Crop, Ensiling, and Treatments</i> .....	40
<i>Animals and diets</i> .....	42
<i>Laboratory Analyses</i> .....	45
<i>Statistical Analysis</i> .....	47
RESULTS .....	48
DISCUSSION .....	49
CONCLUSIONS.....	54
REFERENCES .....	54

## LISTA DE TABELAS

### Páginas

TABLE 1. Characteristics of whole-plant corn silage at top and bottom layers under PE and OB sealing strategies.....	62
TABLE 2 Composition and aerobic stability of total mixed rations (TMR).....	65
TABLE 3. Feeding behavior and particle sorting index in dairy heifers fed TMR based on whole-plant corn silage stored under PE or OB sealing strategies .....	67
TABLE 4. Growing performance of dairy heifers fed TMR based on whole-plant corn silage stored under PE or OB sealing strategies .....	68
TABLE 5. Total-tract digestibility and blood metabolites in dairy heifers fed TMR based on whole-plant corn silage stored under PE or OB sealing strategies .....	69

## RESUMO

Dentre os tipos de silagem, a de planta inteira de milho (*Zea mays*) é predominante, por sua ótima ensilabilidade e alta produtividade, quando bem manejada agronomicamente. O objetivo foi comparar o desempenho de novilhas leiteiras alimentadas com dietas contendo silagem de milho de planta inteira armazenada em silos trincheira, com as seguintes estratégias de vedação: 1) filme de polietileno (branco sobre preto, espessura real de  $121 \pm 3,1 \mu\text{m}$ ) cobrindo a superfície superior da silagem e apoiado com fileiras de pneus a cada 3 m (PE) ou 2) sistema barreira de oxigênio composto por filme coextrudado de etileno e álcool vinílico (espessura real  $46,7 \pm 2,5 \mu\text{m}$ ) revestindo as paredes laterais, os ombros do silo e cobrindo a superfície superior da silagem, protegido com manta antiUV e apoiado com sacos de cascalho colocados no perímetro da manta antiUV e em linhas transversais a cada 3 m (BO). As plantas de milho foram colhidas mecanicamente quando apresentavam em média 39% de matéria seca (MS). A forragem picada foi compactada simultaneamente em dois silos trincheiras. Ao final do enchimento, os silos foram vedados com os métodos de cobertura PE ou BO. Após 6 meses de armazenamento, os silos foram abertos e 26 novilhas holandesas ( $260 \pm 89,1 \text{ kg}$  de peso corporal inicial) foram alimentadas por 60 d com rações completas contendo as respectivas silagens. As novilhas foram alocadas em blocos ao acaso com base no peso inicial e alojadas em baias individuais. As dietas continham (% MS) 80% de silagem de milho (PE ou BO), 17,5% de farelo de soja e 2,5% de mistura de minerais. O consumo de MS foi medido diariamente, enquanto a altura de cernelha, altura de garupa, circunferência torácica e escore de condição corporal (ECC) foram medidos no início e no final do período experimental. O comportamento alimentar foi registrado nos dias 24 e 46 e a digestibilidade do trato total foi determinada nos dias 26 a 30 e 48 a 52. Durante a alimentação, a qualidade da silagem também foi avaliada na camada superior (15 cm de

profundidade da superfície superior) e na camada inferior (135 cm de profundidade da superfície superior). A silagem armazenada sob o sistema de vedação BO teve menos leveduras, bolores e NH<sub>3</sub>-N, e mais ácido lático e carboidratos solúveis. Houve interação entre a estratégia de vedação e a camada de silo, indicando que a silagem BO apresentou menores valores de temperatura, pH, esporos anaeróbios, ácido acético e perda de MS, e maior digestibilidade *in vitro* da MS e estabilidade aeróbia, principalmente na camada superior do silo. A proporção de silagem deteriorada foi menor no tratamento BO do que no PE (0,82 vs. 4,00% MS). A digestibilidade de nutrientes no trato total foi semelhante entre os tratamentos, mas os animais que receberam a ração BO tiveram maior consumo de MS em aproximadamente 9% (9,39 vs. 10,20 kg/d) pela taxa de ingestão mais rápida e ao maior número de refeições por dia. Portanto, o tratamento BO aumentou a ingestão de energia digestível em 8% (26,3 vs. 28,3 Mcal/d) e o ganho médio diário em 12% (1,08 vs. 1,21 kg/d). O escore de condição corporal foi semelhante entre os tratamentos, mas as novilhas alimentadas com BO apresentaram maior circunferência torácica e tenderam a ter maior altura de garupa ao final do período de alimentação. Em conclusão, a substituição do filme PE padrão por um sistema de vedação BO melhorou a conservação da silagem e o desempenho de novilhas leiteiras em crescimento.

**Palavras-chave:** deterioração aeróbia, consumo de matéria seca, filme plástico, cobertura de silo

## ABSTRACT

Whole-plant corn (*Zea mays*) silage is the main conserved forage used in dairy farms, due to its high feeding value, excellent ensilage process, and high yield when well managed agronomically. Our objective was to compare the performance of dairy heifers fed diets based on whole-plant corn silage stored in bunker silos with the following sealing strategies: 1) polyethylene film (white-on-black, actual thickness  $121 \pm 3.1 \mu\text{m}$ ) covering the top surface of the silage, held with rows of tires every 3 m (PE) or 2) oxygen barrier system comprised of co-extruded film of ethylene and vinyl alcohol (actual thickness  $46.7 \pm 2.5 \mu\text{m}$ ) lining silo side walls and shoulders, covering the silage, protected with a woven anti-ultraviolet cover and supported by gravel bags placed on the perimeter of the anti-UV blanket and in transversal lines every 3 m (OB). Corn plants were harvested mechanically when the crop had approximately 39% dry matter (DM). The chopped forage was packed simultaneously in two bunker silos. Immediately after filling, the silos were sealed with PE or OB covering systems. After 6 mo storage, silos were opened and fed to 26 Holstein heifers ( $260 \pm 89.1$  kg shrunk body weight) for 60 d, as part of total mixed rations. The heifers were allocated in randomized blocks based on the initial weight and housed in individual pens. Diets contained (% DM) 80% corn silage (PE or OB), 17.5% soybean meal, and 2.5% mineral mix. DM intake was measured daily, whereas shrunk body weight (SBW), hip height, heart girth and body condition score were measured at the beginning and end of the experimental period. Feeding behavior was recorded on days 24 and 46, and total tract digestibility was measured from days 26 to 30 and 48 to 52. During the feeding, silage quality was also assessed at the top (15 cm depth from upper surface) and bottom layer (135 cm depth from upper surface). Silage stored under the OB sealing system had less yeasts, molds and  $\text{NH}_3\text{-N}$ , and more lactic acid and soluble carbohydrates. There was an interaction between sealing strategy and silo layer

indicating that OB silage had lower values of temperature, pH, anaerobic spores, acetic acid and DM loss, and higher in vitro DM digestibility and aerobic stability, especially in the top layer of the silo. The proportion of inedible silage was lower in OB than in PE treatment (0.82 vs. 4.00% DM). The total nutrients digestibility was similar between treatments, but animals that received the OB ration had higher DM intake by approximately 9% (9.39 vs. 10.20 kg/d) due to the faster eating rate and the higher number of meals per day. Therefore, OB treatment increased the digestible energy intake by 8% (26.3 vs. 28.3 Mcal/d) and average daily gain by 12% (1.08 vs. 1.21 kg/d). Body condition score change was similar between treatments, but heifers fed OB had higher heart girth and tended to have higher hip height. In conclusion, replacing a standard PE film with an OB sealing system improved silage conservation and performance of growing dairy heifers.

**Key words:** aerobic deterioration, feed intake, plastic film, silo cover



## I. INTRODUÇÃO

A eficiência de preservação de silagens depende do nível de anaerobiose atingido no interior do silo (McDonald et al., 1991; Pahlow et al., 2003). A infiltração de oxigênio no silo desencadeia a proliferação de microrganismos indesejáveis, ocasionando perdas de nutrientes, diminuição da qualidade higiênica e na redução do valor alimentício da silagem (Lindgren et al., 1985; Borreani et al., 2018).

A estratégia de vedação mais comumente utilizada em silos horizontais é a cobertura da massa ensilada com filme de polietileno (PE) e, em alguns casos, pneus são colocados sobre os filmes, para auxiliar na justaposição do filme com a massa ensilada. No entanto, os filmes convencionais de PE não são completamente efetivos em impedir a entrada de oxigênio, gerando perdas principalmente nas camadas periféricas do silo (Borreani e Tabacco, 2017).

No intuito de reduzir a deterioração aeróbia e melhorar a preservação de silagens, novos polímeros de baixa permeabilidade ao oxigênio foram desenvolvidos pela indústria de plásticos. Dentre os desenvolvimentos mais atuais se encontra o filme de copolímeros etileno e álcool vinílico (EVOH), também conhecido como barreira de oxigênio (BO). Como o filme de EVOH não possui proteção contra raios ultravioleta (UV), este filme é frequentemente usado sob um filme de PE ou sob uma manta protetora, que aumenta a vida útil do filme e traz resistência mecânica a este sistema de vedação (Borreani e Tabacco, 2017).

Apesar das alterações químicas, físicas e microbianas em silagens sob diferentes sistemas de vedação serem bem estabelecidas na literatura, os benefícios dos sistemas de vedação mais eficientes no desempenho animal não estão bem estabelecidos na literatura, e, sabe-se que não existe pesquisa avaliando o efeito de sistemas de vedação no valor alimentício de silagem de milho para novilhas leiteiras. No entanto, a taxa de crescimento

de novilhas de reposição afeta a idade ao primeiro parto, a produção de leite ao longo da vida e o retorno econômico em fazendas leiteiras (Cady e Smith, 1996; Ettema e Santos, 2004). Para atingir as metas de GMD com investimento financeiro reduzido, a fonte de forragem deve suportar desempenho adequado com baixa proporção de concentrados na dieta.

O objetivo deste estudo foi comparar o desempenho de novilhas leiteiras em crescimento alimentadas com rações completas à base de silagem de milho armazenada sob um sistema de vedação tradicional (filme de PE branco e preto + pneus) ou sistema barreira ao oxigênio (filme EVOH nas paredes e sobre a massa + manta antiUV).

## **1. REVISÃO DE LITERATURA**

### **1.1. Deterioração aeróbia durante o armazenamento de silagens**

O grau de anaerobiose alcançado no interior do silo é o principal fator que exerce influência sobre a conservação da silagem (McDonald et al., 1991). A deterioração aeróbia de silagens se inicia a partir do momento que ela entra em contato com o oxigênio, que desencadeia a ação de microrganismos aeróbios espoliadores. O processo de deterioração aeróbia pode ocorrer quando a silagem é exposta ao oxigênio na fase de estocagem ou na fase de desabastecimento (Ashbell e Weinberg, 1992; Kung et al., 1998).

Durante a fermentação, microrganismos desejáveis, representados principalmente por bactérias lácticas, promovem a preservação da massa, convertendo carboidratos solúveis em produtos de fermentação como ácidos orgânicos, calor, água e CO<sub>2</sub>. Entretanto, quando a silagem é exposta ao oxigênio, o processo de deterioração se inicia, principalmente pela ação de leveduras, que em silagens de milho são os microrganismos de deterioração primários, embora as bactérias do ácido acético também possam estar envolvidas no desencadear da deterioração aeróbia (Pahlow et al., 2003). As leveduras são capazes de se desenvolverem em baixas concentrações de oxigênio e em ambientes com ampla variação de pH, criando condições adequadas para o desenvolvimento de outras populações microbianas ao longo da deterioração (McDonald et al., 1991). As leveduras degradam o ácido láctico, acompanhado de elevação da temperatura e do pH da silagem. O número de leveduras aumenta e a produção de calor se torna mais intensa favorecendo aumento na temperatura da silagem, que proporciona um ambiente adequado para o desenvolvimento de outros microrganismos, tais como, fungos filamentosos, bacilos, listeria, clostrídeos e enterobactérias (Tabacco et al., 2009).

Conforme esses microrganismos começam a agir, a temperatura e o pH da silagem tende a aumentar ainda mais, pelo metabolismo de substratos. Consequentemente, os teores de carboidratos solúveis, ácidos orgânicos e álcoois tende a diminuir com o avanço da deterioração aeróbia (Spoelstra et al., 1988; Ranjit e Kung, 2000).

Além da perda de nutrientes, o processo de deterioração aeróbia também resulta em perda da qualidade higiênica e do potencial de consumo de matéria seca (MS), resultando em perda do valor alimentício da silagem (Whitlock et al., 2000). Frequentemente o processo de deterioração aeróbia é acompanhado do desenvolvimento de bactérias formadoras de esporos e de toxinas fúngicas (i.e., micotoxinas) e bacterianas, que podem afetar negativamente a saúde animal (Pitt, 1995; Wilkinson, 1999; Pahlow et al., 2003; Cavallarin et al., 2011).

As perdas que ocorrem durante a estocagem da silagem podem ser visíveis e/ou invisível. Nas regiões periféricas e próximo às paredes laterais do silo é o local que se concentram as maiores perdas visíveis, pois nestas regiões o material está menos compactado (i.e., tem maior porosidade) e está em maior contato com o oxigênio, ocasionando na deterioração da massa. Enquanto isso, as perdas invisíveis estão relacionadas ao desaparecimento de nutrientes e a produção de substâncias que podem afetar o consumo de MS e o desempenho dos animais. O valor nutritivo da silagem pode diminuir em até 16% pelo aumento da temperatura da silagem causada pela atividade de microrganismos aeróbios, antes mesmo que os fungos filamentosos se tornem visíveis (Tabacco et al., 2011).

Para evitar que ocorra deterioração aeróbia durante o armazenamento e pós-abertura do silo, todas as etapas da ensilagem e do descarregamento devem ser realizadas adequadamente. Realizar o enchimento do silo de maneira rápida e eficiente, fazer uma boa compactação durante a confecção do silo para atingir densidade adequada. Vedar e cobrir adequadamente o silo para minimizar a penetração de oxigênio durante a fase de conservação (Borreani et al., 2007; Bernardes et al., 2012), usar pesos sobre o filme de cobertura (McDonnell e Kung, 2006), e, revestir as paredes dos silos com filmes plásticos (Lima et al., 2017). Além disto, fazer um planejamento para que o silo atinja a taxa de descarregamento diária correta (Borreani e Tabacco, 2012a; De Oliveira et al., 2018) e a utilização de aditivos para a melhora da estabilidade aeróbia. Nos próximos tópicos serão revisados temas relacionados com as estratégias de vedação e seus efeitos na silagem e no desempenho de animais.

## **1.2. Estratégias de vedação**

### **1.2.1. Filmes de vedação**

Antes do surgimento dos filmes plásticos eram utilizadas construções feitas de concreto ou aço ou buracos na terra para alcançar um ambiente e os materiais mais utilizados como cobertura, eram terra, madeira, palha, serragem, parafina, feltro e calcário moído, porém não eram eficazes em evitar a passagem de ar e água da chuva, ocasionando à deterioração da silagem (Nevens, 1933; Minson e Lancaster, 1965).

Foi no início dos anos 1950 que se começou a utilização de filmes plásticos para cobertura de silagens que permitiu aos agricultores se beneficiassem dessa tecnologia (Anonymous, 1953). Os primeiros filmes plásticos eram feitos de cloreto de polivinila (PVC) e eram usados para proteger pequenos silos da entrada de chuva (Borreani e Tabacco, 2017). Apesar de os filmes de PVC serem mais baratos e oferecem boas características mecânicas, apresentam alta permeabilidade ao oxigênio e durante sua produção, uso e disposição podem liberar dioxinas para o ambiente (Wisner et al., 2005), e logo foram substituídos.

A capacidade dos filmes plásticos em evitar a infiltração de oxigênio tem grande efeito na redução de perdas por deterioração aeróbia nas camadas mais periféricas de silos horizontais (Borreani et al., 2007). Assim, as características consideradas necessárias para um filme plástico ideal para vedação de silos é apresentar alta impermeabilidade ao oxigênio aliado a alta resistência mecânica (resistência à agentes exteriores) e resistência UV (Borreani e Tabacco, 2018). Dessa forma, na década de 1960, filmes plásticos à base de polietileno (PE) começaram a ser produzidos com objetivo de aumentar a impermeabilidade ao oxigênio. Os filmes de PE apresentavam maior resistência, principalmente a raios ultravioleta (UV) e evitava que o material se desintegrasse sob a luz solar (Wilkinson et al., 2003), e também possuíam características mecânicas adequadas, baixo custo e capacidade de criar condições anaeróbias na massa ensilada (Borreani e Tabacco, 2017).

Um silo sem cobertura, com seu material exposto, está sujeito a grandes perdas, pois está em contato com o oxigênio e a água da chuva. Bolsen (1997) observou que deixar a silagem descoberta resulta em perda total média de 47 e 11% de matéria orgânica (OM) nos primeiros 50 cm do topo e nos próximos 50 cm abaixo, respectivamente, enquanto a cobertura com filme de polietileno de baixa densidade reduziu essas perdas

para 20 e 5%, respectivamente. Bolsen (1997) estimou que os custos com perda de silagem deteriorada são em média quatro vezes maiores que o custo de aquisição de filme plástico e pneus, além da mão de obra para remoção da massa deteriorada.

A utilização de filmes de PE se tornou comum em muitas regiões do mundo, porém sua eficiência na vedação é variável e pode mudar conforme o tempo de armazenamento e temperatura ambiente, e também pode ser alterada pela coloração da lona. Em particular, a temperatura ambiente tem alta interferência na permeabilidade do filme PE ao oxigênio (Borreani e Tabacco, 2008, 2010), como por exemplo, aumento de temperatura de 23°C para 50°C aumenta a permeabilidade de aproximadamente 4000 cm<sup>3</sup> de O<sub>2</sub>/m<sup>2</sup> para aproximadamente 12000 cm<sup>3</sup> de O<sub>2</sub>/m<sup>2</sup> em 24 horas (Siqueira et al., 2005).

Com propósito de diminuir a permeabilidade ao oxigênio, aumentar a espessura do filme plástico se tornou uma alternativa neste período. Perdas de MS foram mensuradas em relação a espessura dos filmes por Savoie (1988), que encontrou perdas de 24,4 g/kg a 3,2 g/kg de MS, em um período de armazenamento de 30 dias, quando houve o aumento de espessura de 25 µm para 200 µm, respectivamente. A maior parte dos filmes de PE encontrados no mercado para vedação de silos possuem entre 110 a 200 µm de espessura (Borreani et al., 2007), e segundo Borreani e Tabacco, (2017) representam quase 70-85% dos produtos plásticos agrícolas no mundo.

Além da espessura e temperatura, a coloração dos filmes plásticos pode alterar a permeabilidade ao oxigênio. A cor do material influencia sua permeabilidade principalmente em estações com elevadas temperaturas. Segundo as normas da American Society for Testing and Materials (2010), com a elevação da temperatura de 23 a 50°C, a permeabilidade dos filmes plásticos ao oxigênio aumenta de 3 a 5 vezes. E, acompanhada de cores escuras, mais calor é absorvido. Snell et al. (2002) avaliaram o efeito de cinco filmes de PE de baixa densidade, com três cores e espessuras diferentes. Utilizaram os seguintes filmes: 90 µm branco, 150 µm transparente, 150 µm branco, 150 µm preto e 200 µm branco. Nas silagens cobertas com filmes das cores preta e transparente obtiveram maior temperatura, mas o perfil fermentativo foi semelhante para todos os tratamentos. Em relação a espessura, os autores puderam concluir que as espessuras são inversamente proporcionais à permeabilidade, ou seja, para o filme de maior espessura, a permeabilidade foi menor. Diante disso, filmes de PE com coloração mais clara (e.g., brancos) são preferíveis a filmes de coloração escura (e.g., pretos), pois os filmes escuros refletem menos e radiação solar, absorvem mais calor durante a exposição ao sol e, conseqüentemente, aumentam a permeabilidade ao O<sub>2</sub> (Tabacco e Borreani, 2002).

Na década de 1990, surgiu uma nova tecnologia de processamento chamada de coextrusão, que permite combinar diferentes resinas e formar filmes plásticos com multicamada. A combinação de diferentes resinas viabiliza a produção de filmes com melhores propriedades de barreira ao oxigênio e resistência mecânica. Além do mais, é possível a confecção de filmes mais finos, pois são mais eficientes em reduzir a permeabilidade ao oxigênio. Como a coextrusão de filmes multicamadas ajuda a combinar todas as propriedades necessárias para uma aplicação específica em um material, a tecnologia de cobertura de silos está e modernizando e novos desenvolvimentos em estratégias de vedação foram relatados recentemente (Borreani et al., 2007b; Borreani e Tabacco, 2014; Wilkinson e Fenlon, 2013).

Desde o desenvolvimento da coextrusão, combinações entre PE e outras resinas vêm sendo testadas para produzir o filme plástico ideal, chamados de barreira de oxigênio (BO). No entanto, essa nova geração de plásticos não apresenta proteção contra raios UV e desta forma uma manta protetora deve ser utilizada sobre a lona para evitar danos pelos raios do sol. Dentre as resinas disponíveis, destacam-se a poliamida (PA) e o copolímero de etileno álcool vinílico (EVOH), que parecem mais promissoras, pois uma camada de poucos micrometros dessas resinas coextrusadas com PE são capazes de reduzir em grande medida a permeabilidade ao oxigênio do filme resultante (Borreani e Tabacco, 2017) e o risco de produzirem dioxinas é baixo. Entre os polímeros atualmente disponíveis no mercado, o EVOH oferece as melhores propriedades de barreira ao oxigênio, pois possui permeabilidade ao oxigênio trinta vezes menor do que a poliamida em condições padrão e com espessura igual (Borreani e Tabacco, 2017).

Ainda que os custos dos filmes BO sejam aproximadamente 50 a 60% mais altos que dos filmes comerciais de PE, a redução de perdas de nutrientes pode justificar a utilização destes filmes do ponto de vista econômico. Segundo Borreani e Tabacco, (2014) a economia pela redução das perdas de nutrientes e a melhoria da qualidade microbiológica da silagem é maior do que o custo adicional com o filme BO.

Degano (1999) comparou o efeito dos filmes de PE (200  $\mu\text{m}$ ) e OB (45  $\mu\text{m}$ ) na silagem de milho de planta inteira armazenadas em silos trincheiras. O silo coberto com PE apresentou pior perfil fermentativo quando comparado com o OB. O silo com OB apresentou valores de pH igual 3,73 e teor de ácido lático de 3,67% e o PE, 3,97 e 3,18%, respectivamente. Wilkinson e Fenlon (2013) fizeram algumas análises e ressaltam a grande variação nas perdas de MS de silagens armazenadas em áreas periféricas de silos

horizontais, variando de menos de 50 a 700 g/kg para filmes de LDPE e de 50 a 370 g / kg de silagem para filmes OB.

Borreani et al., (2007) também avaliaram a influência de dois tipos de filmes plásticos na vedação da silagem de milho em silos horizontais do tipo trincheira, o filme de PE convencional de 180  $\mu\text{m}$  e o filme de poliamida de 125  $\mu\text{m}$  (BO). O desenvolvimento do experimento ocorreu em duas fazendas (fazenda 1 e 2) comerciais, e em cada fazenda os silos foram divididos em duas metades longitudinalmente e cada uma das partes receberam uma vedação diferente, sendo que uma metade foi utilizado o PE e na outra o BO. Em ambas as fazendas, as perdas de MO e os valores de pH para as metades cobertas com o filme BO foram menores e a estabilidade foi melhorada. Na fazenda 1, as perdas de MS foram 3,7 vezes menores para o filme BO e na fazenda 2, as perdas foram numericamente maiores na silagem vedada com o filme PE em comparação com o filme OB (9,0 e 5,9%, respectivamente), porém não houve diferença estatística.

Com o avançar das pesquisas em filmes BO, um novo conceito de BO foi desenvolvido, o filme de alta barreira ao oxigênio. São 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 a cerca de 10 vezes, em comparação com a primeira geração de filmes BO, pela 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). Ao comparar a qualidade fermentativa, química e microbiológica da silagem de milho em silos tipo trincheira vedados com filme de alta barreira ao oxigênio (i.e., EVOH), Borreani e Tabacco (2014) reportaram que a silagem vedada com EVOH, apresentou na camada superior teor mais elevado de ácido láctico, menor pH, contagens mais baixas de leveduras, fungos filamentosos e maior estabilidade aeróbia. Além do mais, foi contabilizado menores perdas de MS para a silagem vedada com EVOH, e sugere melhores condições em qualidade e nutricional para essa silagem.

A escolha do filme plástico para a etapa de vedação de um silo é de extrema importância para boa preservação. Fazer a vedação corretamente é essencial para evitar o aparecimento de microrganismos indesejáveis e para assegurar um material de boa qualidade nutricional e higiênica, que não afete negativamente a resposta animal.

### 1.2.2. Proteção do filme de vedação

A intensidade do fluxo de oxigênio para dentro do silo é dependente dos gradientes de temperatura, presença de fendas nas paredes do silo, do filme plástico utilizado na vedação e da porosidade da silagem (Weinberg e Ashbell, 2003). Desta forma, algumas estratégias podem ser empregadas para proteger o filme de vedação, tais como a utilização de terra, bagaço de cana, pneus, entre outros, para diminuição de incidência de raios solares sobre o filme e também melhorar a aderência entre o filme e a silagem, reduzindo assim o fluxo de ar entre o filme e a silagem. Contudo, deve-se considerar o custo do material de proteção, sua disponibilidade na fazenda ou no mercado, a mão de obra para retirar o material durante o descarregamento da silagem e o risco de contaminação da silagem, por exemplo, com o uso de terra (Amaral e Bernardes, 2010).

Amaral et al., (2014) testaram quatro métodos de vedação com base em diferentes tipos de filmes. Os filmes testados foram: filme BO (poliamida de 45  $\mu\text{m}$  de espessura) protegido com filme PE dupla face (200  $\mu\text{m}$ ); filme PE dupla face (200  $\mu\text{m}$ ); filme PE preto (200  $\mu\text{m}$ ; polímero virgem); e filme PE reciclado (200  $\mu\text{m}$ ) protegido com camada de 10 cm de bagaço de cana sobre o filme. Não houve diferença significativa entre os tratamentos no perfil fermentativo das silagens (pH, ácido lático e contagem de microrganismos) e nem para perdas de MO. No entanto, a proporção de silagem deteriorada descartada diariamente (perdas visíveis) foi menor para os tratamentos que utilizaram os filmes OB e filme PE protegido com camada de 10 cm de bagaço de cana. Dessa forma, o uso de BO ou bagaço de cana sobre o filme pode auxiliar na redução da ocorrência de silagem deteriorada no topo do silo.

Pensando na importância do uso dessa estratégia para melhorar a vedação no todo, uma manta protetora (tarp) contra raios UV e danos físicos foi desenvolvida. Em combinação com o filme BO, esta estratégia tem sido chamada de "2-steps". A adoção desta manta protetora facilita o manuseio durante a vedação e o descarregamento da silagem, comparativamente com outras estratégias de proteção do filme plástico. Apesar do custo relativamente elevado (R\$/m<sup>2</sup>) esta manta pode ser reutilizada várias vezes, e, portanto, o custo por tonelada de silagem passa a ser minimizado.

Orosz et al., (2013) comparou duas estratégias de vedação, filme BO coberto com manta antiUV ou filme PE com linhas de pneus. Não houve diferença significativa na contagem de bactérias aeróbias entre as silagens. No entanto, somente na silagem com PE teve contagem de fungos, enquanto na silagem BO não foi encontrado fungos. A contagem de clostrídeos foi mais baixa para o tratamento BO comparado ao PE. Além



disto, a silagem estocada sob o filme BO teve melhor estabilidade aeróbia. Machado (2019) relatou que ao comparar filmes PE e BO, ambos cobertos com o mesmo tipo de manta protetora antiUV, a silagem vedada com BO apresentou contagens menores de leveduras e clostrídeos.

### **1.2.3. Proteção de paredes e ombros do silo com filme plástico**

Nas últimas décadas, a proteção das paredes e dos ombros de silos horizontais tem recebido atenção como estratégia de redução de deterioração aeróbia. A probabilidade de infiltração de oxigênio na silagem armazenada nos ombros do silo é alta, pela descontinuidade (emenda) entre o filme de cobertura e as paredes e a menor densidade da massa nestas zonas do silo.

A prática de proteção dos ombros dos silos consiste em estender o filme que reveste a parede por pelo menos 1,2 m sobre o topo da forragem quando o silo está cheio, e, depois aplicar uma camada superior de plástico. Além de reduzir a penetração de ar, esta estratégia também evita a infiltração da água das chuvas (Bolsen, 2006).

Santos (2015) analisou dois métodos de vedação, no qual utilizou quatro silos tipo trincheira de alvenaria e foram divididos longitudinalmente, tendo uma das paredes revestida com filme BO e a outra parede foi mantida sem nenhum revestimento. Um filme de PE de 200  $\mu\text{m}$  foi utilizado para a cobertura do silo. A silagem armazenada do lado do silo com proteção do ombro e topo com filme BO teve mais ácido láctico, menor pH, menores contagens microbianas e perda de MS e maiores estimativas de NDT e de produção de leite por tonelada de silagem. Diante disto, o autor conclui que a utilização de filme BO diminuiu a entrada de oxigênio e reduziu o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, amenizando os efeitos negativos destes na qualidade microbiológica e nutricional da silagem de milho durante sua utilização.

Lima et al., (2017) avaliaram dois métodos de vedação em oito silos bunker. Cada silo foi dividido longitudinalmente, sendo que uma das paredes foi revestida com filme BO, deixando a cerca de 2 m deste filme em excesso para que o mesmo pudesse ser colocado sobre o topo após o abastecimento total do silo e depois foi coberto com filme PE dupla face (180  $\mu\text{m}$ ). A outra metade da parede do silo não recebeu nenhum revestimento, somente a cobertura após encher o silo, com filme PE. A silagem localizada no ombro do silo sob BO apresentou menores contagens microbianas, menor pH, maior concentração de ácido láctico e NDT, menor perda de MS e maior potencial para geração de leite por tonelada, comparada com a silagem no ombro sem proteção. Adicionalmente,

a composição da silagem localizada no ombro do silo sob o filme BO foi semelhante à silagem no centro do silo (Lima et al., 2017). Os autores concluíram que o revestimento da parede com filme BO foi eficiente em reduzir a entrada de oxigênio, e permitiu que as silagens estocadas entre 0-50 cm da parede fossem bem preservadas e todo o painel apresentasse composição homogênea.

#### **1.2.4. Efeito da vedação na estabilidade aeróbia e na concentração de nutrientes**

A estabilidade aeróbia da silagem pode ser definida como a resistência da massa de silagem à deterioração após a abertura do silo, ou seja, a velocidade com que a massa deteriora após exposta ao ar (Jobim et al., 2007). O contato com oxigênio na abertura e desabastecimento do silo é inevitável e, conseqüentemente, em um determinado momento sua estabilidade aeróbia será quebrada. Contudo, se durante o processo de armazenamento não houver penetração de ar ou a infiltração for reduzida, a silagem permanecerá estável por um período maior. A presença de oxigênio em quantidades pequenas durante o armazenamento mantém a população de leveduras ativa e, quando a silagem entra em contato com o ar durante o desabastecimento do silo, populações de leveduras superiores a  $10^5$  ufc/g podem quebrar a estabilidade aeróbia em poucas horas (Muck, 2004; Tabacco e Borreani, 2002).

Conseqüentemente, adotar estratégias de vedação mais eficientes em conter a entrada de oxigênio é uma maneira de prolongar a estabilidade aeróbia de silagens. E, a qualidade do filme plástico é um fator chave, uma vez que as silagens de milho são armazenadas por períodos de até 12 meses na fazenda (Borreani e Tabacco, 2014). Dentre as escolhas possíveis, o filme BO é o mais efetivo em evitar a entrada de oxigênio no silo.

Dolci et al., (2011), em um trabalho que comparou os filmes BO e PE, relatou que o filme BO proporcionou melhor ambiente anaeróbio. Diante disto, a silagem vedada com BO apresentou maior teor de ácido láctico, menor pH e menor teor de ácido acético e menores perdas de MS. A contagem de leveduras foi menor (abaixo de  $2,0 \log_{10}$  UFC/g de silagem), e refletiu em aumento da estabilidade aeróbia das silagens. Não houve diferença para PB, FDN, FDA e cinzas entre os tratamentos. A melhoria da estabilidade aeróbia é, provavelmente, um reflexo do desenvolvimento mais lento de leveduras e fungos filamentosos (Orosz et al., 2013). A evidência do aumento da vida útil da silagem após a exposição ao ar, pelo uso de um filme OB, foi relatada tanto para silos de laboratório (Dolci et al., 2011) quanto para silos de larga escala (Borreani et al., 2007b;

Orosz et al., 2013; Borreani e Tabacco, 2014). Em meta-análise, Wilkinson e Fenlon (2013) reportaram maior estabilidade aeróbia para silagens armazenadas sob filme BO (135 h) do que para silagens sob filme PE (75 h).

Borreani e Tabacco (2014), comparando os filmes HBO e PE, constataram que a utilização do filme mais impermeável ao oxigênio contribui para redução na contagem de leveduras e para aumento na estabilidade aeróbia da silagem de milho. Além disso, restringiu as perdas de MS nas partes do silo com maior risco de deterioração. Avaliaram a perda de nutrientes como o amido, PB, FDN, FDA e cinzas, e constataram que o teor de amido foi menor, enquanto os teores de PB, FDN e FDA e cinzas foram maiores sob PE do que filme HBO, exceto para silagem do tratamento, no qual a silagem foi conservada longe das paredes e sob o PE na fazenda 2.

Orosz et al., (2013) compararam filmes BO e PE e relataram que embora as silagens de milho não apresentassem diferenças nos valores de pH e ácido láctico entre os sistemas de vedação, o aumento da impermeabilidade resultou em estabilidade mais prolongada para o tratamento BO, havendo diferença de 65 h entre os tratamentos para a quebra da estabilidade.

#### **1.2.5. Efeito da vedação na qualidade higiênica da silagem**

A preocupação com a segurança alimentar nos últimos tempos tem ganhado grande repercussão. Na nutrição animal, o cenário não está sendo diferente e a preocupação com os alimentos destinados aos animais tem sido grande, pois a qualidade da carne e leite podem ser influenciadas pela dieta fornecida ao animal, causando impacto econômico e de saúde pública.

A atenção para a qualidade higiênica das silagens tem sido uma dessas preocupações, principalmente com relação à presença de metabólitos que possam influenciar o consumo de MS e o desempenho animal. Dentre os metabólitos, as micotoxinas são as mais conhecidas. As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos que quando ingeridos por animais causam danos à saúde (Binder et al., 2007). Animais que consomem silagem com micotoxinas podem ter seu desempenho diminuído por aumentar a incidência de doenças.

As aminas biogênicas são outro tipo de metabólitos e que têm recebido atenção. As aminas biogênicas são resultantes da descarboxilação de aminoácidos, pela ação de enzimas vegetais ou enzimas microbianas de várias espécies de bactérias do ácido láctico e espécies dos gêneros *Clostridium*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Pseudomonas*,

*Citrobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella* e *Photobacterium* (Krížek, 1991, 1993; Santos, 1996). No entanto, as análises de aminas raramente estão incluídas nas análises de silagens (Scherer et al., 2015) e a determinação das concentrações de amina na silagem poderiam ajudar a indicar alterações indesejáveis nas silagens e pode prevenir possível toxicidade para o gado (Krížek, 1991).

Além das micotoxinas e das aminas biogênicas existem outros metabólitos, mas pouco se sabe sobre eles e quais seus efeitos sobre os animais. Scherer et al., (2020) em pesquisa recente, identificou centenas de metabólitos que podem estar presentes em silagens e interferir no consumo de MS.

A deterioração aeróbia que ocorre no silo durante o armazenamento é um dos principais contribuintes para o desenvolvimento dessas substâncias, visto que, proporciona o desenvolvimento de microrganismos como os fungos, que geram as micotoxinas, e clostrídeos, entre outros, que podem gerar diversos metabólitos indesejáveis. Logo, evitar ou diminuir entrada de oxigênio no material ensilado, evita ou retarda o processo de deterioração no silo. Diante disto, fazer uso de vedação eficiente que impossibilite ou reduza o influxo de ar no silo, irá conter ou dificultar o processo de deterioração e a perda de qualidade higiênica.

Borreani et al., (2007) e Borreani e Tabacco (2008) também relataram que a contagem de fungos foi mais baixa nas áreas periféricas da silagem de milho armazenada em silo bunker sob filme BO, comparativamente à silagem sob filme PE. Borreani e Tabacco (2014) observou que as silagens conservadas sob o filme HOB tiveram maior teor de ácido lático, pH mais baixo e contagens mais baixas de leveduras, bolores e formadores de esporos aeróbios e anaeróbios, maior estabilidade aeróbia e menores perdas de MS do que as silagens conservadas sob o filme PE.

Orosz et al., (2013) comparou estratégias de vedação, OB com manta protetora e PE com linhas de pneus. Não houve diferença significativa na contagem de bactérias aeróbias entre as silagens. No entanto, a contagem média de fungos foi maior (2,56 log<sub>10</sub> UFC/g) na silagem armazenada sob PE do que na silagem sob BO (não foram encontrados bolores em nenhuma das dez amostras de silagem armazenadas no sistema BO). Desta forma, conclui-se que o sistema de vedação de silo OB teve um efeito benéfico sobre a qualidade higiênica da silagem, com contagens mais baixas de fungos, leveduras e clostrídeos.

### 1.3. Efeito da estratégia de vedação no desempenho animal

Ao longo de décadas, pesquisas vêm sendo realizadas sobre os efeitos das estratégias de vedação no perfil fermentativo, perda de MS e outros parâmetros das silagens, porém são escassas as informações sobre a influência dessas silagens no desempenho animal. Segundo Eisner et al., (2006), a diminuição do consumo de MS (CMS) pode ser afetado pelo padrão de oferta do alimento e quando esse alimento é a silagem, um dos principais fatores que pode afetar é o processo de conservação. O CMS é um dos elementos mais importantes que determinam a produção de leite e o ganho de peso, diante disto, deve-se evitar ao máximo o contato da silagem com o ar e, conseqüentemente, a deterioração aeróbia (Lindgren et al., 1988). A ocorrência da deterioração aeróbia causa mudanças importantes na silagem. A infiltração de certa quantidade de oxigênio pode promover o crescimento de microrganismos indesejáveis e assim, o acúmulo de produtos de fermentação (e.g., ácido acético), capazes de deprimir o consumo de MS (Eisner et al., 2006; Weiss et al., 2016).

Whitlock et al., (2000) realizaram um experimento com quatro tratamentos (A, B, C e D). No tratamento A, foi fornecido 100% silagem de milho normal (bem preservada), no B 75% de silagem normal e 25% de silagem deteriorada, no C 50% normal e 50% deteriorada e no D 25% normal e 75% deteriorada. O consumo e a digestibilidade dos nutrientes diminuíram linearmente com a inclusão de silagem deteriorada, corroborando que a qualidade da silagem tem grande efeito sobre o desempenho animal.

Bispo (2013) avaliou o efeito de três estratégias de vedação de silagem de milho no desempenho de vacas leiteiras: PE dupla face, PE dupla face protegido com uma camada de 10 cm de bagaço de cana e BO (“one-step”, PE coextrusado com poliamida). Houve tendência de aumento no desempenho das vacas alimentadas com ração completa contendo silagens dos tratamentos BO ou PE protegido com bagaço de cana.

Custódio (2013) comparou o efeito de três filmes plásticos no valor nutritivo de silagens de cana-de-açúcar para vacas leiteiras. Foi utilizado o filme de PA (45 µm) recoberto com manta protetora de polietileno, filme coextrusado de polietileno com poliamida dupla face (125 µm) e um de polietileno dupla face (200 µm). Não houve influência dos tratamentos na qualidade da silagem. Diante disto, os tratamentos não afetaram o CMS (19,9 kg/dia), a produção de leite (25,1 kg/dia) e a composição do leite (gordura 3,5%, proteína 3,3%, lactose 4,4%) das vacas.

Amaral et al. (2014) avaliaram o efeito de quatro métodos de vedação no desempenho de vacas leiteiras. Os tratamentos foram: filme BO protegido com filme PE

branco e preto, filme PE branco e preto sem cobertura, filme PE preto sem cobertura e filme PE reciclado protegido com camada de 10 cm de bagaço de cana. O tratamento PE com cobertura de bagaço de cana resultou em maior produção de leite do que o tratamento PE preto, mas os tratamentos PE branco e preto e BO apresentaram resultados intermediários.

Machado (2019) avaliou os efeitos da substituição de um filme fino de PE por um filme fino de EVOH no valor nutritivo da silagem de milho para bovinos de corte em confinamento. Um silo foi coberto com filme de PE de 40  $\mu\text{m}$  e protegido com manta antiUV e o segundo silo foi coberto com filme BO de 45  $\mu\text{m}$  e também foi protegido com manta antiUV. Considerando a composição química, física e microbiana das silagens, o filme BO foi mais eficiente em conter a entrada de oxigênio no silo, mas não houve diferença de desempenho animal entre os tratamentos.

Ndleleni et al. (2020) comparam o efeito de duas estratégias de vedação para silagem de milho ofertada para ovinos. Para vedação dos silos, foi utilizado plástico PE convencional preto coextrusado (150  $\mu\text{m}$ ) com pneus sob todo o filme ou filme coextrusado EVOH (45  $\mu\text{m}$ ) com manta protetora antiUV. A estratégia filme EVOH + manta antiUV melhorou a fermentação e estabilidade aeróbia da silagem, mas não influenciou as respostas avaliadas nos animais.

Em suma, escolher uma estratégia eficiente frequentemente melhorar a preservação da silagem. Porém, seus benefícios no desempenho animal não estão bem estabelecidos na literatura e os resultados iniciais são inconsistentes.

## 2. Referências

- Amaral, R. C. e Bernardes, T. F. 2010. Cobertura da lona no processo de vedação: Uma alternativa. Comunicado Técnico. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/conservacao-de-forragens/cobertura-da-lona-no-processo-de-vedacao-uma-alternativa-60191n.aspx>. Acesso em: 20 dez. 2020.
- 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. Doi: 10.1590/S1516-35982014000900003.

- American society for testing and materials. 2010. ASTM D3985: standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor. Philadelphia.
- Anonymous. 1953. Packaged silage: Will plastics replace silos? *New Jersey Agric.* 35:4–5.
- Ashbell, G. and Weinberg, Z.G., 1992. Top silage losses in horizontal silos. *Canadian Agricultural Engineering*, 34: 171-175.
- Bernardes, T. F., Morais, G. De, Silva, N. C. da. 2012. Alternativas de suplementação volumosa na estação seca do ano. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 33, n. 102-111, jan./fev.
- Binder, E.M., Tan, L.M., Chin, L.J., Handl, J. and Richard, J., 2007. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Anim. feed sci. technol.* 137: 265-282. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.06.005.
- Bispo, A.W., Junges, D., Custódio, L., Lima, J. R., Kleinshmitt, C., Daniel, J.L.P., Santos, M. C. e 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., 1997. Issues of top spoilage losses in horizontal silos. in: *Proc. North American Silage Conf. NRAES-99. Northeast Regional Agricultural Engineering Services*, Ithaca, 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.
- 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. Doi: 10.3168/jds.2007-0310.
- 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. Doi: 10.3168/jds.2008-1151
- 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. Doi: 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. Doi: 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. Doi: 10.1016/B978-0-08-102170-5.00009-9.
- 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. Doi: 10.3168/jds.2017-13837.
- Cady, R. A., and T. R. Smith. 1996. Economics of heifer raising programs. Proc. Calves, Heifers and Dairy Profitability National Conference. Northeast Regional Agricultural Engineering Service Pub. No. 74: 7-24. Cornell University, Ithaca, NY.
- Cavallarin, L., Tabacco, E., Antoniazzi, S. and Borreani, G., 2011. Aflatoxin accumulation in whole crop maize silage as a result of aerobic exposure. *J. Sci. Food Agric.* 91: 2419-2425. Doi: 10.1002/jsfa.4481.
- Custódio, L. 2013. Estratégias de controle de perdas em silagens de cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado. Departamento de Zootecnia, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- De Oliveira, I., Tabacco, E., Ferrero, F., Borreani, G. and Bernardes, T.F., 2018. A new approach to assess feed-out rate in maize silage bunker. In Proc. 18th International Silage Conference. University of Bonn. 18: 454-455.
- Degano, L., 1999. Improvement of silage quality by innovative covering system. in: Proc. XII Int. Silage Conf., Uppsala Sweden, pp. 296–297.
- Dolci, P., Tabacco, E., Cocolin, L., & Borreani, G. 2011. Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington. 77: 7499-7507. Doi: 10.1128/AEM.05050-11.



- Eisner, I., Südekum, K.-H., Kirchhof, S., 2006. Beziehungen zwischen fermentation scharakteristika von silagen und der futteraufnahme von milchkühen. Übers. Tierernährg. 34, 197–221.
- Ettema, J. F., and Santos, J. E. 2004. Impact of age at first calving on lactation, reproduction, health and income in first-parity Holsteins on commercial farms. *J. Dairy Sci.* 87:2730-2742. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73400-1.
- Jobim, C.C., Nussio, L.G., Reis, R.A. e Schmidt, P., 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36: 101-119. Doi: 10.1590/S1516-35982007001000013.
- Křížek, M., 1991. The determination of biogenic amines in silage. *Archiv für Tierernaehrung*, 41: 97-104. Doi: 10.1080/17450399109424736.
- Křížek, M., 1993. Biogenic amines in silage. 1. The occurrence of biogenic amines in silage. *Arch. Anim. Nutr.* 43: 169–177. Doi: 10.1080/17450399309386032.
- Kung Jr, L., Sheperd, A.C., Smagala, A.M., Endres, K.M., Bessett, C.A., Ranjit, N.K. and 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. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75695-4.
- Lima, L.M., dos Santos, J.P., Casagrande, D.R., Ávila, C.L.S., Lara, M.S. and Bernardes, T.F., 2017. Lining bunker walls with oxygen barrier film reduces nutrient losses in corn silages. *J. Dairy Sci.* 100: 1–9. Doi: 10.3168/jds.2016-12129.
- 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.
- Lindgren, S., Pettersson, K., Jonsson, A., Lingvall, P. and Kaspersson, A., 1985. Silage inoculation. Selected strains, temperature, wilting and practical application [Pediococcus acidilactici, Lactobacillus plantarum, Streptococcus faecium]. *Swedish J. Agric. Res.* 15: 9-18.
- Machado, J., 2019. Filmes de vedação na conservação de silagem de milho para bovinos de corte em terminação. Dissertação de Mestrado. Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- McDonald, P., Henderson, N. and Heron, S., 1991. *The biochemistry of silage*, second ed. Chalcombe Publications, Marlow, UK.

- McDonnell, E.E. and L. Kung Jr., 2006. An update on covering bunker silos. University of Delaware, Newark. <https://cdn.canr.udel.edu/wp-content/uploads/2014/02/CoveringBunkerSilos000.pdf>. (accessed 21 December 20).
- Minson, D.J., Lancaster, R.J., 1965. The efficiency of six methods of covering silage. *New Zealand J. Agric. Res.* 8: 542–554. Doi: 10.1080/00288233.1965.10419895.
- Muck, R.E. 2004. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. *Transactions of the Asae, St. Joseph.* 47: 1011-1016. Doi: 10.13031/2013.9144.
- Ndleleni, N. W., I. M. M. Malebana, C. J. L. du Toit, K. A. Nephawe, R. Meeske, and B. D. Nkosi. 2020. Effects of silage sealing films on fermentation dynamics of ensiled maize and nutrient utilization by Damara rams. *S. Afr. J. Anim. Sci.* vol. 50: 17-25. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v50i1.3>.
- Nevens, W.B., 1933. Types and varieties of corn for silage. in: *Univ. Ill. agric. expo Sta. Bull.* 391, 89–94.
- Orosz S, Wilkinson JM, Wigley S, Birò Z and Gallo J. 2013. Microbial status, aerobic stability and fermentation of maize silage sealed with an oxygen barrier film. *Agric Food Sci.* 22: 182–188. Doi: 10.23986/afsci.6705
- Pahlow, G., Muck, R.E., Driehuis, F., Elferink, S.J.O. and Spoelstra, S.F., 2003. Microbiology of ensiling. *Silage sci. technol.* 42: 31-93. Doi: 10.2134/agronmonogr42.c2.
- Pitt, R.E., 1995. A model of aflatoxin formation in stored products. *Transactions of the ASAE.* 38: 1445-1453.
- Ranjit, N.K. and Kung Jr, L.I.M.I.N., 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 83: 526-535. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74912-5.
- Santos, S.M.H., 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 29, 213–231. Doi: 10.1016/0168-1605(95)00032-1.
- Santos, dos J.P. 2015. Utilização de filme de baixa permeabilidade ao oxigênio no revestimento das paredes de silos trincheira. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Savoie, P. 1988. Optimization of plastic covers for stack silos. *J. Agric. Engineering Research.* 41: 65-73. Doi: 10.1016/0021-8634(88)90189-8.
- Scherer, R., Gerlach, K. and Südekum, K.H., 2015. Biogenic amines and gamma-amino butyric acid in silages: Formation, occurrence and influence on dry matter intake and

- ruminant production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 210: 1-16. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.10.001.
- Scherer, R., Gerlach, K., Ghaffari, M.H. and Südekum, K.H., 2020. Linking forage choice behavior of goats with the metabolome of contrasting silages. *J. Dairy Sci.* 104: 308-323. Doi: 10.3168/jds.2020-18628.
- Siqueira, G.R., Bernardes, T.F. and Reis, E.R., 2005. Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção. *Volumosos na produção de ruminantes*, 2, pp.25-60.
- Snell, H.G.J., Oberndorfer, C., Lücke, W. and Van den Weghe, H.F.A., 2002. Effects of the colour and thickness of polyethylene film on ensiling conditions and silage quality of chopped maize, as investigated under ambient conditions and in mini - silos. *Grass and Forage Sci.* 57: 342-350. Doi: 10.1046/j.1365-2494.2002.00334.x.
- Spelstra, S. F., M. G. Courtin, and J. A. C. Van Beers. 1988. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of maize silage. *J. Agric. Sci.* 111:127–132. Doi: 10.1017/S0021859600082915.
- Tabacco, E. and 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., Piano, S., Cavallarin, L., Bernardes, T.F. and Borreani, G., 2009. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. *J. applied microbiology.* 107: 1632-1641. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04344.x.
- 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. Doi: 10.3168/jds.2010-3538.
- Weinberg, Z.G. and Ashbell, G., 2003. Engineering aspects of ensiling. *Biochem. Eng. J.* 13: 181–188. Doi: 10.1016/S1369-703X(02)00130-4.
- Weiss, K., Kroschewski, B. and Auerbach, H., 2016. Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage. *J. dairy sci.* 99: 8053-8069. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10323>.
- Whitlock, L.A., Siefers, M.K., Pope, R.S., Brent, B.E. and 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. Doi: 10.1002/1522-7189(199911/12)7:6<221::AID-NT76>3.0.CO;2-H.
- Wilkinson, J.M., Bolsen, K.K. and 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., Fenlon, J.S., 2013. 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. Doi: doi.org/10.1111/gfs.12087.
- Wisner, D. et al. 2005. PVC environmental, health, safety. In: Wilkes, C. E.; Summers, J. W.; Daniels, C. A. (Ed.). *PVC handbook*. Munich: Hanser. p. 639-678.

## **II. Effect of sealing strategy on the feeding value of corn silage for growing dairy heifers**

(Manuscript style and form consistent with the Instructions for Authors of the Journal of Dairy Science)

## RUNNING HEAD: SILAGE SEALING ON ANIMAL PERFORMANCE

**INTERPRETIVE SUMMARY:**

Whole plant corn silage is the main conserved forage in dairy systems. Meanwhile, the ensiling process may have a significant impact on the feeding value of corn silage for dairy cattle. In this study, we showed that changing the silo covering method by replacing a standard white-on-black polyethylene film with an oxygen barrier sealing system (comprised of ethylene-vinyl alcohol copolymer film lining side walls and covering the silage and protected with a woven anti-ultraviolet cover) improved silage conservation, decreased proportion of inedible silage, and increased the dry matter intake and growing performance of dairy heifers.

## ABSTRACT

Our objective was to compare the performance of dairy heifers fed diets based on whole-plant corn silage stored in bunker silos sealed with either standard polyethylene film (white-on-black, actual thickness  $121 \pm 3.1 \mu\text{m}$ ) covering the top surface, held in place with rows of tires every 3 m (PE) or an oxygen barrier system comprised of an ethylene vinyl alcohol film (actual thickness  $46.7 \pm 2.5 \mu\text{m}$ ) lining side walls and covering the silage, protected with a woven anti-ultraviolet cover and gravel bags placed round the edges and every 3 m across the silo (OB). Whole-plant corn was mechanically harvested at 39% dry matter (DM), packed in bunker silos, and sealed with PE or OB covering methods. After 6 mo storage, silos were opened and fed to 26 Holstein heifers ( $260 \pm 89.1$  kg shrunk body weight) for 60 d. Heifers were blocked by initial weight (13 blocks with two heifers each block) and housed in individual pens. Diets contained (on a DM basis) 80% corn silage (PE or OB), 17.5% soybean meal, and 2.5% mineral mix. Dry matter intake was measured daily, whereas shrunk body weight, hip height, heart girth and body condition score were measured at the beginning and end of the experiment. Feeding behavior was recorded on days 24 and 46, and total tract digestibility was measured from days 26 to 30 and 48 to 52. Data of intake, feeding behavior and digestibility were averaged by animal for the whole feeding period prior to the statistical analysis. Data of animal performance were analyzed as a randomized complete block design. Initial shrunk body weight was used as covariate for analyses of intake and body measures. During feed-out, silage quality was also assessed at the top (15 cm depth from upper surface) and bottom layer (135 cm depth from upper surface) and analyzed as a split-plot design. Silage stored under the OB sealing system had less yeasts, molds and  $\text{NH}_3\text{-N}$ , and more lactic acid and ethanol-soluble carbohydrates. An interaction between sealing strategy and silo layer showed that OB silage had lower values of temperature, pH, anaerobic spores, acetic acid and DM loss, and greater in vitro DM digestibility and aerobic stability, especially in the top layer.

The proportion of inedible silage was lower in OB than in PE treatment (0.82 vs. 4.00% DM). Total-tract digestibility was similar between treatments, but animals that received the OB diet had higher DM intake by approximately 9% (9.39 vs. 10.20 kg/d) due to a faster eating rate and a greater number of meals per day. Therefore, OB treatment increased the digestible energy intake by 8% (26.3 vs. 28.3 Mcal/d) and average daily gain by 12% (1.08 vs. 1.21 kg/d). Body condition score change was similar between treatments, but heifers fed OB had greater heart girth and tended to have higher hip height. In conclusion, replacing a standard PE film with an OB sealing system improved silage conservation and performance of growing dairy heifers.

**Key words:** aerobic deterioration, feed intake, plastic film, silo cover



## INTRODUCTION

Whole-plant corn silage (WPCS) is currently the predominant conserved forage in dairy systems worldwide (Wilkinson and Toivonen, 2003; Ferraretto et al., 2018). High energy content and DM yield, good ensilability, ease of mechanization, lower harvesting cost and flexibility of harvesting for forage or grain are the main factors that contribute to high adoption of WPCS (Allen et al., 2003). The ensiling process, however, may have a significant impact on the feeding value and hygienic quality of WPCS.

Most WPCS is stored in horizontal silos, due to lower construction cost and the ease of filling and unloading (Savoie and Jofriet, 2003). Covering horizontal silos with polyethylene (PE) films is the most widely used sealing strategy. Nevertheless, PE films have in general high oxygen permeability, which may cause loss of nutrients and reduction of hygienic quality mainly at silo top and sides (Bolsen et al., 1993; Borreani et al., 2018). Silages of lower nutritive value associated with poorer hygienic quality may compromise feed intake, digestibility (Whitlock et al., 2000), and animal health (Driehuis et al., 2018).

Silo sealing systems including plastic films with low oxygen permeability, such as the ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH) film, have been developed (Borreani et al., 2007; Wilkinson and Fenlon, 2013). Although, conventional PE films are thicker (e.g., 120 to 200  $\mu\text{m}$ ) than commercially available EVOH film (e.g., 45  $\mu\text{m}$ ), oxygen permeability of EVOH film is lower (American Plastic Council, 1997). Despite the possible benefits of sealing silos with oxygen-barrier systems for silage conservation, there are few studies that have evaluated the effects of sealing strategies on animal performance (Amaral et al., 2014; Ndleleni et al., 2020).

To the best of our knowledge, there is no study examining the effect of sealing systems on the feeding value of WPCS for dairy heifers. Changing the sealing strategy

may affect silage quality (Borreani et al., 2018) and perhaps growing performance of replacement heifers. On dairy farms, growth rate of heifers affects age at first calving, lifetime milk production, and economic returns (Cady and Smith, 1996; Ettema and Santos, 2004), due to rearing costs will be increased for animals with a greater age at first calving (Tozer and Heinrichs, 2001), whereas inadequate size at first parturition may limit milk production during first lactation (Hoffman et al., 1996). Therefore, to achieve ADG targets (e.g., 0.8-0.9 kg/d) with a reduced financial investment (Drackley, 2008; Abeni et al., 2000), the forage source must support adequate performance while reducing the proportion of concentrate in the diet to a minimum.

Therefore, the objective of this study was to compare the growing performance of dairy heifers fed WPCS stored under an oxygen-barrier sealing system or a standard white-on-black PE film. We hypothesized that corn silage stored under OB sealing system increases nutrient intake and digestibility and improves growth of dairy heifers compared to conventional PE film.

## **MATERIAL AND METHODS**

Animal care and handling procedures were approved by the Ethics Committee for Animal Use of the State University of Maringá, Brazil (protocol number 1361301019 – CEUA/UEM). Before entering the trial, all heifers were fed in group with a common diet (~13% CP) containing 80% corn silage and 20% concentrates (% DM), offered once daily (0900 h). One week before the trial, all heifers were dewormed with 1 mL per 50 kg body weight of 1% doramectin (Dectomax; Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda, Campinas, Brazil).

### ***Corn Crop, Ensiling, and Treatments***

Corn hybrid DKB290PRO3 (Bayer Cropscience, São Paulo, Brazil), was planted in October 2018, with 90 cm spacing between rows and 5 seeds per linear meter (55,600

seeds/ha). A fertilizer containing N, P and K (8-28-16) was applied at 250 kg/ha in-furrow with the seed. After 20 d of planting, glyphosate (2 L/ha; Glifosato Atanor 48, Atanor do Brasil Ltda, Porto Alegre, Brazil) and atrazine (2.5 L/ha; AclamadoBR, Ourofino, Uberaba, Brazil) were applied to control weeds, and one week later, urea was spread over the field at 200 kg/ha.

Corn plants were harvested at 2/3 milk-line stage (approximately 39% DM), with a pull-type forage harvester set for chopping a theoretical length of cut of 10 mm and with a kernel processor device (New Pegasus, Nogueira, Itapira, Brazil). Immediately after harvesting, chopped forage was distributed alternately in two bunker silos, with the following dimensions: 4 m wide, 1.5 m high and 14 m long. Each silo was sealed with one of the following sealing methods: PE – white-on-black PE film (nominal thickness of 200  $\mu\text{m}$ ; actual thickness of  $121 \pm 3.1 \mu\text{m}$ ; Supersilo Extra Preto/Branco, Electro Plastic, Varginha, Brazil) covering the top surface of the silo and held in place with rows of tires every 3 m across the silo; or OB - EVOH film (nominal thickness of 45- $\mu\text{m}$ ; actual thickness of  $46.7 \pm 2.5 \mu\text{m}$ ; Silostop Orange, Bruno Rimini Ltd, London, United Kingdom) lining side walls and covering the silage, protected with a tight weave high density polyethylene anti-ultraviolet (UV) cover (213 g/m<sup>2</sup>; Silostop Anti-UV cover, Bruno Rimini Ltd, London, United Kingdom), and gravel bags placed round the edges and in lines across the silo at 3 m intervals.

At ensiling, 16 nylon bags (20  $\times$  40 cm, 60  $\mu\text{m}$  of pore size), each containing 300 g of chopped fresh forage were buried in each silo (total of 32 bags) to characterize the silage composition and DM loss during storage (McGuffey and Owens. 1979). A pair of bags was placed in each spatial coordinate (length  $\times$  width  $\times$  depth), located every 4 m along the length of the silo, in two layers (top layer at 15 cm depth from the upper surface and bottom layer at 135 cm depth from the upper surface), in the middle of the silo. The

same chopped fresh forage was used to fill bags that were positioned given length positions (silo cross section) in both silos, representing different areas of the corn field. Plastic strips (~ 30 cm) were tied to the bags and directed to the silo front, making bag recovery easier without damage the bag during feed-out while allowing simultaneous retrieval of all the eight bags in a length position from both silos.

After 6 mo of storage, the silos were opened for feeding to dairy heifers and retrieving the bags. After retrieving, bags were weighed and transported immediately to a laboratory located on the same site as the silos. Sub-samples (30 g) from each bag were collected for preparing an aqueous extract for measuring pH, fermentation end-products, and microbial counts. Another sub-sample (200 g) was used to determine DM and chemical composition. Silage DM corrected for volatile compounds (DMcorr) was used in the calculation of DM loss. On the same days of bag retrieval, silage wet density was measured with a corer (10 cm in diameter × 20 cm in length) at the top (15 cm from the upper surface) and bottom (135 cm from the upper surface) layers, in the middle of the panel. Silage samples from the top and bottom layers (~ 3 kg from each sampling point) were also collected for an aerobic stability test. On each sampling occasion, the temperature of the silage (top and bottom layers) was measured by a bulb thermometer 20 cm behind the face. Bag retrievals and silage sampling in each cross section occurred at approximately 20 d intervals during the feed-out period.

### ***Animals and diets***

Twenty-six Holstein heifers [ $12.3 \pm 5.1$  mo age,  $260 \pm 89.1$  kg shrunk body weight (SBW)] were blocked by initial SBW (13 blocks with two heifers each block), allocated at random of the two treatments (PE or OB), and housed in individual pens ( $3 \times 2$  m). Every morning, silage was visually assessed at time of unloading (removal rate ~20 cm/d) from the silos to be either edible or inedible (discolored, moldy or rotten). Both edible

and inedible portions were weighed separately and then homogenized before mixing with concentrates as a TMR. Diets contained (on a DM basis) 80% WPCS (PE or OB), 17.5% soybean meal and 2.5% mineral mix. The mineral mix contained per kg as fed: 152 g of Na, 80 g of Ca, 40 g of P, 10 g of S, 3450 mg of Zn, 1334 mg of Cu, 476 mg of Mn, 400 mg of F, 76 mg of Co, 57 g of I and 12 mg of Se. The NRC (2001) model predicted a ADG of ~ 0.9 kg/d and a MP:ME ratio of ~ 42, which is considered adequate to avoid excess of fat accumulation in the parenchymal area of mammary gland (Albino et al., 2015).

The TMR ingredients were mixed manually twice daily, immediately before each feeding at 0900 and 1500 h, in amounts approximately 10% in excess of daily intake. Orts were collected and weighed daily before the morning feeding to determine DMI. Daily samples of TMR and Orts were pooled by week and frozen at -20°C for subsequent analysis. The DMI variation was computed as the difference in DMI between consecutive days throughout the study (Bevans et al., 2005). Heifers were fed their respective diets for 60 d.

At the beginning and end of the experiment, the animals were weighed and hip height, heart girth and BCS were measured at 0800 h, after 14 h of fasting overnight. BCS was an average of three values recorded by three trained persons. The ADG was determined by the difference between final and initial SBW divided by days on feed. Feed efficiency was calculated as ADG/DMI.

From days 24 to 25 and 46 to 47, feeding behavior was visually monitored for 48 h by eight trained evaluators. The criteria for assessing the behaviors were reviewed initially by all evaluators, and then they simultaneously recorded behaviors of a subset of heifers to ensure agreement beforehand. Eating and ruminating activities were recorded at 5-min intervals and the daily pattern was estimated assuming a constant behavior

between observations. Chewing activity was calculated as the sum of time spent eating and ruminating. Number of meals per day, meal size, meal length and eating rate were also computed. A meal was defined by at least 2 consecutive 5-min ingestion events followed by at least 10 min of idling, rumination or water intake. Meal size was estimated by dividing DMI by number of meals. Meal length was obtained by dividing eating time by number of meals. Eating rate was calculated by dividing DMI by eating time. Feed sorting was also evaluated on days of feeding behavior evaluation. Particle size distribution of offered TMR and individualorts was determined using the Penn State particle separator (3-sieve model; Heinrichs and Jones, 2013). Particle sorting index was calculated as described by Leonardi and Armentano (2003), where values <100% indicate selective refusal, those >100% indicate preferential consumption, and those equal to 100% indicate no sorting.

Fecal grab samples were collected in the morning (0800 h) and evening (1700 h), on days 26 to 30 and 48 to 52, for measuring total-tract digestibility using indigestible NDF (iNDF) as an internal marker (Huhtanen et al., 1994). Apparent digestibility was calculated using intake data recorded on days of fecal sampling. Actual concentration of TDN (%) was calculated as digestible NFC + digestible NDF + digestible CP + 2.25 × digestible ether extract. Actual digestible energy (DE) was computed as (Mcal/kg DM corrected for volatiles) = 4.2 × digestible NFC + 4.2 × digestible NDF + 5.6 × digestible CP + 9.4 × digestible ether extract – 0.3 (NRC, 2001). DE intake (Mcal/d) was calculated as DMI × DE.

One days 31 and 53, blood was collected from the external jugular vein 4 h after the morning feeding in vacuum tubes containing EDTA. Plasma was immediately separated by centrifugation at 2500 × g at 4°C for 15 min and frozen at –20°C for analysis of urea and glucose.

### ***Laboratory Analyses***

Silage pH, fermentation products and microbial counts were measured in aqueous extracts prepared by mixing 25 g of silage and 225 mL of distilled water in a blender for 1 min. After filtration in four layers of cheese cloth, silage pH was measured with a pHmeter (Tec3, Tecnal®, Piracicaba, Brazil). The enumeration of microorganisms was performed by plating serial dilutions of aqueous extracts in selective media. Malt extract agar (M137, Himedia, Mumbai, India) acidified to pH 3.5 with lactic acid was used for yeast and mold counts. Lactic acid bacteria were counted in de Man, Rogosa and Sharpe agar (7543A, Acumedia, Lansing, Michigan, USA). The plates were incubated aerobically at 30°C for 2, 3 and 4 d for counting of lactic acid bacteria, yeasts and molds, respectively. For enumeration of anaerobic spores and aerobic spores, the diluted extracts were pasteurized at 80°C for 10 min. The medium used for anaerobic spore counts was reinforced clostridial agar (M154, Himedia, Mumbai, India) supplemented with neutral red and D-cycloserine (Jonsson, 1990), whereas aerobic spores were enumerated in plate count agar (M091A, Himedia, Mumbai, India). Anaerobic spore plates were placed in anaerobic jars and maintained in a biochemical oxygen demand incubator at 37°C for 5 d. The aerobic spore plates were incubated aerobically at 34°C, and counting was performed after 2 d. Colony-forming units were expressed in log<sub>10</sub> cfu/g fresh matter. Volatile fatty acids, alcohols, esters and acetone were determined by GC-mass spectrometry (GCMS QP 2010 plus, Shimadzu, Kyoto, Japan) using a capillary column (Stabilwax, Restek, Bellefonte, PA; 60 m, 0.25 mm ø, 0.25 µm crossbond carbowax polyethylene glycol). Compounds were identified based on their retention time and mass spectra and quantified with external standards. The concentration of lactic acid (Pryce, 1969) and ammonia (Chaney and Marback, 1962) were determined by colorimetry.

The aerobic stability of silage from top and bottom layers and TMR samples was determined in a room with controlled temperature (24 ± 2°C). Samples (3 kg) were

weighed into plastic buckets and exposed to air for 10 d. Temperature of samples and room was recorded every 15 minutes using dataloggers (iMini, Impac, São Paulo, Brazil). Aerobic stability (h) was defined as the time elapsed until silage temperature increases 2°C above the room temperature (O'Kiely, 1993). Silage and TMR pH values were determined at 0 and 24 h after the start of the aerobic stability test.

Sub-samples of silage, TMR, orts and feces were dried for 72 h in an oven at 60°C and ground in a Wiley type mill with a 1-mm pore sieve. Aliquots were used to determine absolute DM at 105°C. Silage DM<sub>corr</sub> was calculated according to Weissbach (2009):  
DM<sub>corr</sub> (% as fed) = DM (% as fed) + acetone (% as fed) + esters (% as fed) + n-alcohols (% as fed) + isopropanol (% as fed) + 2-butanol (% as fed) + 2,3-butanediol (% as fed) + 0.95 × volatile fatty acids (% as fed) + 0.77 × 1,2-propanediol (% as fed) + 0.08 × lactic acid (% as fed). Esters included ethyl lactate, ethyl acetate, and propyl acetate; n-alcohols included methanol, ethanol, and propanol; and volatile fatty acids included acetic, propionic, i-butyric, butyric, i-valeric, and valeric acids.

Sub-samples of TMR, orts and feces were analyzed for ash, CP and ether extract (AOAC, 1990), and NDF (assayed with a heat stable amylase and sodium sulfite, expressed inclusive of residual ash; Mertens, 2002). The OM was calculated as 100 – ash. The concentration of NFC (%) was calculated as 100 – CP – NDF – ether extract – ash (NRC, 2001). The concentration of iNDF was obtained by in situ incubation (Huhtanen et al., 1994). Dried and ground samples were weighed (0.8 g) in filter bags (Ankom F57, 25 µm porosity; Ankom Technology, Macedon, NY, USA) and incubated for 288 h in the rumen ventral sac of two rumen-cannulated non-lactating Holstein cows fed a ration (~13% CP) containing 80% corn silage and 20% concentrates (DM basis). Duplicates from each sample were incubated in each animal. Immediately after retrieval, all bags were washed in distilled water and analyzed for NDF, as described above. The TMR



samples were also analyzed for ADF (assayed sequentially and expressed inclusive of residual ash; Van Soest, 1973). Silage samples were also analyzed for ethanol-soluble carbohydrates (Hall et al., 1999) and in vitro DMcorr digestibility (Goering and Van Soest, 1970). Glucose and urea concentrations were determined in blood plasma using commercial kits of enzymatic-colorimetric assays (Glucose PP and Urea PP, respectively; Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Belo Horizonte, Brazil).

### *Statistical Analysis*

Statistical analysis was performed using the MIXED procedure of SAS (v. 9.4). Animal performance data were analyzed as a randomized complete block design with a model including a random effect of block (13 blocks) and fixed effect of treatment (PE or OB). Initial SBW was used as covariate for analyses of intake and body measures. Data of intake, feeding behavior, apparent digestibility and blood metabolites were averaged by animal for the whole feeding period prior to the statistical analysis. Heifer was considered the experimental unit (n = 13 heifers per treatment). The TMR composition was analyzed with a model including a random effect of week and fixed effect of treatment (PE or OB). Data of silage composition and DM loss during storage were analyzed as a split-plot design. The model included fixed effects of treatment (PE or OB), silo layer (top or bottom) and interaction treatment  $\times$  silo layer, a random effect of silo length position (cross section), and a random effect of silo length position nested within treatment (error term for the main plot). Means were compared using the PDIF option in the LSMEANS statement. Differences were declared significant if  $P \leq 0.05$ , and trends were indicated if  $P > 0.05$  and  $P \leq 0.10$ .

## RESULTS

Silage characteristics are shown in Table 1. Yeasts, molds, NH<sub>3</sub>-N, lactic acid and pH 24 h after aerobic exposure were affected both by treatment and silo layer ( $P \leq 0.05$ ). Counts of yeasts and molds and pH 24 h after aerobic exposure were higher ( $P \leq 0.02$ ) in PE than OB and greater in top than in bottom layer. The OB silage had more lactic acid and less NH<sub>3</sub>-N than PE ( $P \leq 0.05$ ). Bottom layers had more lactic acid and NH<sub>3</sub>-N than top layers ( $P < 0.01$ ). Silage stored under PE tended ( $P = 0.07$ ) to have less ethanol than that under OB. Bottom layers tended to have ( $P = 0.07$ ) less lactic acid bacteria than top layers. Silage wet density was lower ( $P < 0.01$ ) in top layers than in bottom layers. Content of DM<sub>corr</sub> and aerobic spores were neither affected by treatment nor silo layer ( $P > 0.19$ ).

There was a significant ( $P \leq 0.05$ ) interaction between treatment and silo layer for anaerobic spores, acetic acid, 1,2-propanediol, in vitro DM<sub>corr</sub> digestibility, panel temperature, aerobic stability, pH and DM<sub>corr</sub> loss during storage, and a tendency ( $P = 0.10$ ) of interaction between treatment and silo layer for ethanol-soluble carbohydrates. Anaerobic spores, acetic acid, 1,2-propanediol, panel temperature, pH and DM<sub>corr</sub> loss during storage were similar among PE bottom, OB bottom and OB top layer, but higher at PE top layer. Ethanol-soluble carbohydrates and in vitro DM<sub>corr</sub> digestibility were lower at PE top layer than PE bottom, OB bottom and OB top layer. Aerobic stability was longer for silage from bottom layers, but PE top layer had a shorter aerobic stability than OB top layer. The proportion of inedible silage was greater in PE than in OB treatment ( $P < 0.01$ ).

Chemical composition and particle size distribution of TMR were similar ( $P \geq 0.12$ ) between PE and OB treatments (Table 2). However, aerobic stability of TMR was shorter ( $P < 0.01$ ) and TMR pH 24 h after aerobic exposure was higher in PE compared with OB ( $P = 0.03$ ).

Silo sealing strategy affected feeding behavior (Table 3). Cattle fed OB treatment had a faster eating rate ( $P = 0.01$ ), shorter meal length ( $P = 0.01$ ) and a greater number of meals per day ( $P = 0.01$ ) compared with the PE treatment. Heifers fed OB TMR spent less time eating ( $P = 0.04$ ) but more time ruminating ( $P = 0.02$ ). Chewing time (eating + ruminating) was similar between treatments ( $P = 0.21$ ). Sealing strategies did not affect particle sorting index ( $P \geq 0.11$ ).

Heifers fed the TMR containing OB silage had greater ( $P \leq 0.01$ ) DMI, DE intake, ADG, final SBW, heart girth change and final heart girth (Table 4). Heifers on OB treatment also tended to have higher hip height change ( $P = 0.07$ ) and final hip height ( $P = 0.08$ ). Daily intake variation, feed efficiency and BCS did not differ among heifers fed PE or OB treatment. Total-tract digestibility, diet DE and blood concentrations of glucose and ammonia were similar between treatments (Table 5).

## DISCUSSION

Sealing horizontal silos with methods capable of minimizing the entry of oxygen is a requirement to obtain high quality silages (Borreani et al., 2018). Although the effects of better sealing on silage composition have been extensively reported (Wilkinson and Fenlon, 2013; Lima et al., 2017), there is little information on possible consequential benefits to silage intake and animal performance. In the current study, we showed that covering horizontal silos with an OB sealing method was capable of decrease the proportion of inedible silage and increase the feeding value of WPCS for dairy heifers, in comparison with a standard sealing method based on PE film.

The OB sealing system used in our trial was comprised of four components: EVOH film lining side walls, EVOH film covering the silage, woven anti-UV cover, and gravel bags. The lower oxygen permeability of EVOH films compared with PE films is well

known (Borreani et al., 2018). Although thinner than a standard PE film, the EVOH film has a lower gas permeability (Borreani and Tabacco, 2017). However, in the present study a better preservation of OB silage was likely achieved not only due to the lower oxygen entry through the cover film, but also because the bunker walls were lined with the same EVOH film, and the covering film was protected with a tight weave high density polyethylene anti-UV cover weighed with gravel bags. Recently, Lima et al. (2017) reported that lining bunker walls reduced nutrient losses in WPCS at silo shoulders compared with no sidewall plastic. Additionally, weighting the plastic film also contributes to lower oxygen entry in the silo. The anti-UV cover weighed with gravel bags protects the polymer against sun light and reduce billowing caused by the wind (Bernardes, 2016). In the current study, silage assessment revealed that OB sealing system was more effective in preventing oxygen influx in the silo. The OB treatment had less yeasts and molds, and consequently more lactic acid and ethanol-soluble carbohydrates, lower pH and temperature, and longer aerobic stability than the PE treatment. Additionally, the OB silage had less anaerobic spores, NH<sub>3</sub>-N and acetic acid. Such microbial and chemical alterations caused by different degrees of air infiltration in the silo is well reported in the literature (Bolsen et al., 1993; Borreani et al., 2018). As a result, OB sealing system curtailed DM<sub>corr</sub> loss during storage by 46% at silo top layer and reduced the proportion of inedible silage by 80% in our study. Similarly, Wilkinson and Fenlon (2013) reported in a meta-analysis that DM loss at silo top layer was reduced by 42% and the proportion of inedible silage was decreased by 72% for OB systems compared with standard PE films.

Different studies observed shorter aerobic stability of silage stored under PE than OB covering methods, due to the greater oxygen exposure during storage of silages under the PE film (Borreani et al., 2007; Orosz et al., 2013; Borreani and Tabacco, 2014).

Although the proximal composition of TMR was similar in our study, the PE ration heated up before 24 h and showed a significant increase of pH at 24 of aerobic exposure, probably caused by yeast activity. The development of yeasts triggered by an increase in the partial pressure of oxygen in silage has a central role in the aerobic deterioration cascade (McDonald et al., 1991; Pahlow et al., 2003). Although silage data were as typically observed in previous studies, such results should be interpreted with caution because there was only one silo per treatment.

The poorer silage preservation under the PE film was perceived by the animals, resulting in lower DMI in heifers fed the TMR containing the PE silage, which contained more visually inedible silage than in the OB treatment. Whitlock et al. (2000) reported lower DMI by the presence of spoiled silage in the diet of steers. Feeding aerobically spoiling silage-based TMR resulted in lower DMI by heifers, where the TMR exposed to air had more yeasts, greater pH and temperature, and lower concentration of lactic acid than fresh TMR (Windle and Kung, 2013). Gerlach et al. (2013) reported a marked reduction in DMI (-53% on average) of WPCS exposed to air before being fed to goats in a preference trial, with increase in silage temperature relative to ambient temperature during aerobic exposure the best predictor of DMI.

In our study, the higher DMI was a result of faster eating rate and more meals per day in heifers fed the OB ration. Considering that PE and OB rations had the same DE value (Mcal/kg DMcorr) and that animals presented the same meal size (kg DM/meal), differences of eating rate were likely a consequence of ration palatability (Allen, 2020), which did not influence particle sorting or daily variation in feed intake. The proliferation of undesirable microorganisms in PE silage (i.e., yeasts, molds, clostridia, bacillus) (Pahlow et al. 2003), likely stimulated the production of hypophagic compounds that made the ration less palatable. Although the exact cause of poorer palatability in TMR

containing PE silage is unclear, it was probably a combination of factors. Compared with OB, PE silage had lower concentrations of soluble sugars and lactic acid and more NH<sub>3</sub>-N and acetic acid, beyond higher counts of yeasts, molds and anaerobic spores (e.g., clostridia). Greater concentrations of acetic acid and NH<sub>3</sub>-N in silage have been associated with lower DMI (Buchanan-Smith, 1990; Gerlach et al., 2021). Other volatile compounds in PE and OB silages, such as alcohols, volatile fatty acids, esters and acetone were present at low concentrations and did not differ among PE and OB silages. Although not measured in this experiment, other compounds capable of causing hypophagy (e.g., biogenic amines, gamma-amino butyric acid and mycotoxins; Scherer et al., 2015; Queiroz et al., 2018; Ogunade et al., 2018) could have been present in higher concentrations in the top layer of the PE silage, and might have contributed to lower eating rate in heifers given the TMR containing silage covered by PE film. However, changes in individual compounds hardly explain the effect of sealing on silage palatability in our study. Recently, Scherer et al. (2021) studying the nontargeted metabolome of contrasting silages on preference or avoidance by goats reported that changes in abundance of several of compounds (e.g., peptides, lipids, sugars, organic acids, biogenic amines, among others) affected silage preference rather than changes in a single compound. Collectively, those findings suggest that better silage sealing might also improve DMI of other animal categories fed with a high dietary proportion of silage, such as dairy cows.

The greater DMI induced a higher DE intake and led to a greater ADG in heifers fed the OB ration. As expected, based on TMR proximal composition, apparent digestibility of nutrients and DE concentration were similar between PE and OB treatments. Hence, the difference between treatments in DE intake reflected the difference between treatments in DMI. Additionally, heifers fed PE or OB ration had similar

concentrations of blood glucose and ammonia, which may suggest a similar ruminal fermentation profile (i.e., propionate formation and protein metabolism), as the TMR did not differ in proximal composition.

Previous studies in tropical areas involving Holstein heifers fed WPCS as the sole forage source have reported ADG <0.9 kg/d even with a higher proportion of concentrates in diet than that used in the present study (Rangel et al., 2010; Reyes et al., 2014). In our study, the relatively high ADG (1.08 to 1.21 kg/d) reflected a relatively high DMI (9.39 to 10.2 kg/d), despite the inclusion of inedible silage in the TMR. Nonetheless, the NRC (2001) predicted a DMI of 6.4 kg/d for the ration formulate beforehand. Considering the importance of measuring voluntary DMI in performance trials, we did not limit the DMI to restrict ADG. Although excess energy intake can have negative effects on mammary development (Sejrsen et al., 2000), this impact can be at least partially counteracted by balancing diet energy and protein (Radcliff et al., 1997). Abeni et al. (2000) reported that heifers raised on an accelerated growth program decreased age at first parturition without a reduction of milk production in the first lactation. Follow-up research showed that diets containing more than 40 g of MP per Mcal of ME can allow high ADG without induce excess of fat accumulation in the parenchymal area of mammary gland (Albino et al., 2015). The diet formulated for our heifers contained a predicted MP:ME ratio >42, that can be considered adequate to avoid excess of fat accumulation in the parenchymal area of mammary gland (Albino et al., 2015). Besides the greater ADG and heart girth change, heifers fed the OB ration tended to have higher gain of hip height (i.e., skeletal development) whereas BCS was similar to heifers fed the PE ration. Nevertheless, at farm level the ADG obtained in this study may be considered excessive if continued for longer periods. However, the target ADG may be adjusted by restricting the quantity of TMR or

by including a cheaper roughage source with higher fiber content in the ration, which probably will reduce the financial investment and improve the economic return.

## **CONCLUSIONS**

Replacing a standard sealing method based on a polyethylene film with an oxygen barrier sealing system based on an ethylene-vinyl alcohol film protected with a woven anti-ultraviolet cover in WPCS improved silage conservation, aerobic stability of TMR, feed intake and performance of growing dairy heifers. Additional work is needed to identify compounds modified by sealing strategies and capable of altering feeding behavior and feed intake in dairy cattle. Our findings suggest that better silage sealing has a potential to improve feed intake (and performance) of other animal categories fed diets with high proportion of silages (e.g., lactating dairy cows), but further research is warranted to address such hypothesis.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We gratefully acknowledge financial support from Bruno Rimini Ltd (London, UK). Gratitude is also expressed to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 (Grant PROEX-CAPES 88882.181488/2007-01) for a scholarship provided to the first author.

## **REFERENCES**

Abeni, F., L. Calamari, L. Stefanini, and G. Pirlo. 2000. Effects of daily gain in pre-and postpubertal replacement dairy heifers on body condition score, body size, metabolic profile, and future milk production. *J. Dairy Sci.* 83:1468-1478. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75019-3.



- Albino, R. L., M. I. Marcondes, R. M. Akers, E. Detmann, B. C. Carvalho, and T. E. Silva. 2015. Mammary gland development of dairy heifers fed diets containing increasing levels of metabolisable protein: metabolisable energy. *J. Dairy Res.* 82: 113-120. doi: 10.1017/S0022029914000697.
- Allen, M. S., J. G. Coors, and G. W. Roth. 2003. Corn silage. In: D.R. Buxton, R.E. Muck, J.H. Harrison, editor, *Silage Science and Technology*. Agron. J, Crop Sci., Soil Sci. Soc. Am. J., Madison, WI. 42:547-608. doi: 10.2134/agronmonogr42.c12.
- Allen, M. S. 2020. Review: Control of feed intake by hepatic oxidation in ruminant animals: integration of homeostasis and homeorhesis. *Animal*, 14: 55-64. doi:10.1017/S1751731119003215.
- Amaral, R. C., M. C. Santos, J. L. P. Daniel, A. Sá Neto, A. W. Bispo, E. H. Cabezas-Garcia, T. F. Bernardes, and L. G. Nussio. 2014. The influence of covering methods on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. *R. Bras. Zootec.* 43: 471-478. doi: 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. <https://plastics.americanchemistry.com/Understanding-Plastic-Film/>. Accessed on 2020/11/07.
- AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.
- Bernardes, T. F. 2016. Advances in Silage Sealing. in: Da Silva, T., E.M. Santos, editor, *Advances in Silage Production and Utilization*. InTech Open, Rijeka, Croatia. p. 53–62. doi: 10.5772/65445.
- Bevans, D. W., K. A. Beauchemin, K. S. Schwartzkopf-Genswein, J. J. McKinnon, and T. A. McAllister. 2005. Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute

- acidosis and feed intake by feedlot cattle. *J. Animal Sci.* 83:1116-1132. <https://doi.org/10.2527/2005.8351116x>.
- Bolsen, K. K., J. T. Dickerson, B. E. Brent, R. N. Sonon Jr, B. S. Dalke, C. Lin, and J. E. Boyer Jr. 1993. Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos. *J. Dairy Sci.* 76: 2940-2962. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77634-1.
- Borreani, G., E. Tabacco, and L. Cavallarin. 2007. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. *J. Dairy Sci.* 90:4701-4706. doi:10.3168/jds.2007-0310.
- Borreani, G., and E. Tabacco. 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. doi: 10.3168/jds.2013-7632.
- Borreani, G., and E. Tabacco. 2017. Charter 9: Plastics in animal production. In: M. D. Orzolek, editor, *A Guide to the Manufacture, Performance, and Potential of Plastics in Agriculture*. Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands. p. 145-185. doi:10.1016/B978-0-08-102170-5.00009-9.
- Borreani, G., E. Tabacco, R. J. Schmidt, B. J. Holmes, and R. E. Muck. 2018. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *J. Dairy Sci.* 101: 3952-3979. doi: 10.3168/jds.2017-13837.
- Buchanan-Smith, J. G. 1990. An investigation into palatability as a factor responsible for reduced intake of silage by sheep. *Anim. Sci.* 50: 253-260. doi:10.1017/S0003356100004700.
- Cady, R. A., and T. R. Smith. 1996. Economics of heifer raising programs. *Proc. Calves, Heifers and Dairy Profitability National Conference*. Northeast Regional Agricultural Engineering Service Pub. No. 74: 7-24. Cornell University, Ithaca, NY.

- Chaney, A. L., and E. P. Marback. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8: 130–137. doi: 10.1093/clinchem/8.2.130.
- Drackley, J. K. 2008. Calf nutrition from birth to breeding. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 24:55-86. doi: 10.1016/j.cvfa.2008.01.001.
- Driehuis, F., J. M. Wilkinson, Y. Jiang, I. Ogunade, and A. T. Adesogan. 2018. Silage review: Animal and human health risks from silage. *J. Dairy Sci.* 101:4093-4110. doi: 10.3168/jds.2017-13836.
- Ettema, J. F., and Santos, J. E. 2004. Impact of age at first calving on lactation, reproduction, health and income in first-parity Holsteins on commercial farms. *J. Dairy Sci.* 87:2730-2742. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73400-1.
- Ferraretto, L. F., R. D. Shaver, and B. D. Luck. 2018. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *J. Dairy Sci.* 101: 3937-3951. doi: 10.3168/jds.2017-13728.
- Gerlach, K., F. Roß, K. Weiß, W. Büscher, and K. H. Südekum. 2013. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. *Agric. Food Sci.* 22: 168–181. doi:10.23986/afsci.6739.
- Gerlach, K., J. L. P. Daniel, C. C. Jobim, and L. G. Nussio. 2021. A data analysis on the effect of acetic acid on dry matter intake in dairy cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 272: 114782. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114782.
- Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis. *Agricultural Handbook* No. 379, Agricultural Research Service, USDA, Washington, D.C.
- Hall, M. B., W. H. Hoover, J. P. Jennings, and T. K. M. Webster. 1999. A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. *J. Sci. Food Agric.* 79: 2079–2086. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199912)79:15<2079::AID-JSFA502>3.0.CO;2-Z.

- Heinrichs, J., and C. M. Jones. 2013. The Penn State Particle Separator. DSE 2013–186. <https://extension.psu.edu/penn-state-particle-separator>. Accessed on 2020/11/07.
- Hoffman, P.C., N. M. Brehm, S. G. Price, and A. Prill-Adams. 1996. Effect of accelerated post-pubertal growth and early calving on lactation performance of primiparous Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 79:2024-2031. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(96)76575-X.
- Huhtanen P., K. Kaustell, and S. Jaakkola. 1994. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48:211–227. doi: 10.1016/0377-8401(94)90173-2.
- Jonsson, A. 1990. Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages using neutral red, d-cycloserine, and lactate dehydrogenase activity. *J. Dairy Sci.* 73:719-725. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78725-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78725-5).
- Leonardi, C., and L. E. Armentano. 2003. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 557–564. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73634-0.
- Lima, L. M., J. P. Dos Santos, D. R. Casagrande, C. L. S. Ávila, M. S. Lara, and T. F. Bernardes. 2017. Lining bunker walls with oxygen barrier film reduces nutrient losses in corn silages. *J. Dairy Sci.* 100: 4565-4573. doi:10.3168/jds.2016-12129.
- McDonald, P., N. Henderson, and S. Heron. 1991. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Marlow (UK): Chalcombe Publications.
- McGuffey, R. K., and M. J. Owens. 1979. Effect of covering and dry matter at ensiling on preservation of alfalfa in bunker silos. *J. Anim. Sci.* 49: 298-305.
- Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85: 1217-1240.

- Ndleleni, N. W., I. M. M. Malebana, C. J. L. du Toit, K. A. Nephawe, R. Meeske, and B. D. Nkosi. 2020. Effects of silage sealing films on fermentation dynamics of ensiled maize and nutrient utilization by Damara rams. *S. Afr. J. Anim. Sci.* vol. 50: 17-25. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v50i1.3>.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Ogunade, I. M., C. Martinez-Tupia, O. C. M. Queiroz, Y. Jiang, P. Drouin, F. Wu, D. Vyas, and A. T. Adesogan. 2018. Silage review: Mycotoxins in silage: Occurrence, effects, prevention, and mitigation. *J. Dairy Sci.* 101: 4034–4059. doi: 10.3168/jds.2017-13788.
- O’Kiely, P. 1993. Influence of a partially neutralised blend of aliphatic organic acids on fermentation, effluent production and aerobic stability of autumn-grass silage. *Ir. J. Agric. Food Res.* 32:13-26.
- Orosz, S., J. M. Wilkinson, S. Wigley, Z. Birò, and J. Gallo. 2013. Microbial status, aerobic stability and fermentation of maize silage sealed with an oxygen barrier film. *Agric. Food Sci.* 22: 182–188. doi: 10.23986/afsci.6705.
- Pahlow, G., R. E. Muck, F. Driehuis, S. J. W. H. Oud Elferink, and S. F. Spoelstra. 2003. Microbiology of ensiling. Chapter 2. In: Buxton, D. R., R. E. Muck, and J. H. Harrison, editors. *Silage science and technology*. Madison (WI): American Society of Agronomy; p. 31–93.
- Pryce, J. D. 1969. A modification of Barker-Summerson method for determination of lactic acid. *Analyst.* 94: 1151–1152. doi: 10.1039/AN9699401151.
- Queiroz, O. C. M., I. M. Ogunade, Z. Weinberg, and A. T. Adesogan. 2018. Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *J. Dairy Sci.* 101:4132–4142. doi: 10.3168/jds.2017-13901.

- Radcliff, R. P., M. J. Vandehaar, A. L. Skidmore, L. T. Chapin, B. R. Radke, J. W. Lloyd, E. P. Stanisiewski, and H. A. Tucker. 1997. Effects of diet and bovine somatotropin on heifer growth and mammary development. *J. Dairy Sci.* 80:1996-2003. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76143-5.
- Rangel, A. H. N., J. M. S. Campos, A. S. Oliveira, S. C. Valadares Filho, A. J. Assis, and S. M. Souza. 2010. Performance and nutritional parameters of growing heifers fed corn silage or sugar cane with concentrate. *R. Bras. Zootec.* 39: 2518-2526. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001100027>.
- Reyes, J., O. Montañez-Valdez, C. Guerra, and J. Palma. 2014. Effect of sugarcane silage on productive parameters of replacement Holstein-Friesian heifers. *Rev. MVZ Córdoba* 19: 3962-3969. <https://doi.org/10.21897/rmvz.116>.
- Savoie, P., and J. C. Jofriet. 2003. Silage storage. Chapter 9. In: Buxton, D. R., R. E. Muck, and J. H. Harrison, editors. *Silage science and technology*. Madison (WI): American Society of Agronomy; p. 405–467.
- Scherer, R., K. Gerlach, and K. H. Südekum. 2015. Biogenic amines and gamma-amino butyric acid in silages: Formation, occurrence and influence on dry matter intake and ruminant production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 210: 1-16. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.10.001.
- Scherer, R., K. Gerlach, M. H. Ghaffari, and K.-H. Südekum. 2021. Linking forage choice behavior of goats with the metabolome of contrasting silages. *J. Dairy Sci.* 104:308-323. doi: 10.3168/jds.2020-18628.
- Sejrsen, K., S. Purup, M. Vestergaard, and J. Foldager. 2000. High body weight gain and reduced bovine mammary growth: Physiological basis and implications for milk yield potential. *Domest. Anim. Endocrinol.* 19:93-104. doi: 10.1016/s0739-7240(00)00070-9.

- Tozer, P. R., and A. J. Heinrichs. 2001. What affects the costs of raising replacement dairy heifers: A multiple-component analysis? *J. Dairy Sci.* 84:1836-1844. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74623-1.
- Van Soest, P. J. 1973. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 56:781-784. doi: 10.1093/jaoac/56.4.781.
- Weissbach, F. 2009. Correction of dry matter content of silages used as substrate for biogas production. In: G. A. Broderick, A. T. Adesogan, L. W. Bocher, K. K. Bolsen, F. E. Contreras- Govea, J. H. Harrison, R. E. Muck, editor, *Proceedings XV International Silage Conference*, Madison, WI. p. 483–484.
- Whitlock, L. A., T. J. Wistuba, M. K. Seifers, R. V. Pope, and K. K. Bolsen. 2000. Effect of level of surface-spoiled silage on the nutritive value of corn silage diets. *J. Dairy Sci.* 83: 110.
- Wilkinson, J. M., and M. I. Toivonen. 2003. *World silage: a survey of forage conservation around the world*. Marlow (UK): Chalcombe Publications.
- Wilkinson, J. M., and J. S. Fenlon. 2013. 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. doi:10.1111/gfs.12087.
- Windle, M., and L. Kung Jr. 2013. The effect of a feed additive on the feeding value of a silage-based TMR exposed to air. *J. Dairy Sci.* 91 (E-Suppl. 1):16.

**Tables**

**Table 1.** Characteristics of whole-plant corn silage at top and bottom layers under PE and OB sealing strategies

Item <sup>3</sup>	Treatment <sup>1</sup>				SEM	<i>P</i> -value <sup>2</sup>		
	PE		OB			T	L	T × L
	Bottom	Top	Bottom	Top				
DMcorr <sup>4</sup> , % as fed	38.6	38.3	38.4	39.3	0.95	0.36	0.26	0.19
Wet density, kg as fed/m <sup>3</sup>	631 <sup>a</sup>	497 <sup>b</sup>	618 <sup>a</sup>	504 <sup>b</sup>	101.8	0.60	<0.01	0.46
Lactic acid bacteria, log cfu/g as fed	5.43	6.58	5.38	6.19	0.419	0.62	0.07	0.71
Yeasts, log cfu/g as fed	4.42 <sup>b</sup>	5.61 <sup>a</sup>	3.68 <sup>c</sup>	4.97 <sup>b</sup>	0.304	0.02	<0.01	0.80
Molds, log cfu/g as fed	4.16 <sup>b</sup>	5.35 <sup>a</sup>	3.54 <sup>c</sup>	4.96 <sup>b</sup>	0.340	0.02	<0.01	0.82
Anaerobic spores, log cfu/g as fed	3.93 <sup>b</sup>	4.51 <sup>a</sup>	3.64 <sup>b</sup>	3.54 <sup>b</sup>	0.171	<0.01	0.04	0.02
Aerobic spores, log cfu/g as fed	5.12	5.78	4.84	4.90	0.532	0.20	0.78	0.83
NH <sub>3</sub> -N, % total N	9.71 <sup>a</sup>	8.12 <sup>b</sup>	9.22 <sup>a</sup>	7.31 <sup>b</sup>	0.479	0.04	<0.01	0.54
Lactic acid, % DMcorr	4.32 <sup>b</sup>	1.90 <sup>d</sup>	5.58 <sup>a</sup>	2.84 <sup>c</sup>	0.454	0.05	<0.01	0.73



Acetic acid, % DMcorr	1.05 <sup>b</sup>	1.48 <sup>a</sup>	1.05 <sup>b</sup>	1.05 <sup>b</sup>	0.054	<0.01	<0.01	<0.01
Ethanol, % DMcorr	0.25 <sup>ab</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.31 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.091	0.07	0.25	0.19
1,2-Propanediol, % DMcorr	0.17 <sup>b</sup>	0.42 <sup>a</sup>	0.20 <sup>b</sup>	0.22 <sup>b</sup>	0.044	0.15	0.04	0.05
Ethanol-soluble carbohydrates, % DMcorr	3.18 <sup>a</sup>	2.26 <sup>b</sup>	3.48 <sup>a</sup>	3.33 <sup>a</sup>	0.187	0.02	0.06	0.10
In vitro DMcorr digestibility, % DMcorr	76.5 <sup>a</sup>	68.3 <sup>b</sup>	76.1 <sup>a</sup>	74.9 <sup>a</sup>	1.56	0.05	<0.01	0.03
Panel temperature <sup>5</sup> , °C	30.9 <sup>c</sup>	41.0 <sup>a</sup>	28.8 <sup>c</sup>	34.3 <sup>b</sup>	1.12	<0.01	<0.01	0.04
Aerobic stability <sup>6</sup> , h	44.9 <sup>a</sup>	18.5 <sup>c</sup>	45.2 <sup>a</sup>	27.3 <sup>b</sup>	5.38	0.06	<0.01	0.05
pH	3.98 <sup>b</sup>	4.23 <sup>a</sup>	3.94 <sup>b</sup>	3.99 <sup>b</sup>	0.031	<0.01	<0.01	0.02
pH 24 h after aerobic exposure <sup>7</sup>	4.52 <sup>c</sup>	5.19 <sup>a</sup>	4.10 <sup>d</sup>	4.83 <sup>b</sup>	0.103	<0.01	<0.01	0.79
DMcorr loss during storage, % DMcorr	4.85 <sup>b</sup>	8.43 <sup>a</sup>	4.42 <sup>b</sup>	4.59 <sup>b</sup>	0.536	<0.01	<0.01	<0.01
Visual loss (inedible silage) <sup>8</sup> , % DMcorr	4.00 <sup>a</sup>		0.82 <sup>b</sup>		0.348	<0.01	-	-

<sup>1</sup>PE: silo covered with polyethylene film; OB: silo sealed with ethylene vinyl alcohol film lining side walls and covering the silage and protected with a woven anti-UV cover; Top layer: 15 cm depth from upper surface; Bottom layer: 135 cm depth from upper surface.

<sup>2</sup>T: effect of treatment (PE or OB); L: effect of silo layer (top or bottom); T × L: interaction between treatment and silo layer.

<sup>3</sup>Silage traits were measured at ~20 d intervals (n = 4). Concentrations of acetone, ethyl acetate, propyl acetate, ethyl lactate, methanol, isopropanol, 2-butanol, 1-propanol, 2,3-butanediol, propionic acid, i-butyric acid, butyric acid, i-valeric acid and valeric acid were <0.05% DMcorr and did not differ among treatments ( $P \geq 0.16$ ).

<sup>4</sup>Dry matter corrected for volatile compounds.

<sup>5</sup>Silage temperature measured 20 cm behind the face.

<sup>6</sup>Hours to temperature rise 2°C above ambient temperature (24°C).

<sup>7</sup>pH recorded during the aerobic stability test in a room with controlled temperature (24°C).

<sup>8</sup>Data of visual loss averaged by week (n = 8).

<sup>a,b,c,d</sup>Different superscripts indicate significant differences between means within a row ( $P < 0.05$ ).

**Table 2.** Composition and aerobic stability of total mixed rations (TMR)

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM	<i>P</i> -value
	PE	OB		
Composition of TMR <sup>2</sup> , % DMcorr <sup>3</sup>				
DMcorr, % as fed	44.1	44.3	0.53	0.54
CP	14.7	14.6	0.16	0.46
Ash	4.03	4.00	0.09	0.68
NDF	31.7	31.3	0.15	0.45
ADF	17.7	17.4	0.14	0.15
Ether extract	3.10	3.05	0.02	0.12
NFC <sup>4</sup>	46.5	47.1	0.23	0.41
Aerobic stability of TMR <sup>5</sup> , h	19.3	47.9	11.1	<0.01
pH of TMR at time of mixing	4.48	4.42	0.053	0.19
pH of TMR 24 h after aerobic exposure <sup>6</sup>	4.78	4.41	0.112	0.03
Particle size distribution of TMR <sup>7</sup>				
> 19 mm, % as fed	9.8	10.0	0.82	0.85
8 – 19 mm, % as fed	44.2	43.5	1.06	0.67
4 – 8 mm, % as fed	22.8	22.4	0.85	0.79
Pan, % as fed	23.2	24.1	0.89	0.56

<sup>1</sup>PE: silo covered with polyethylene film; OB: silo sealed with ethylene vinyl alcohol film lining side walls and covering the silage and protected with a woven anti-UV cover.

<sup>2</sup>TMR samples were aggregated by week (n = 8).

<sup>3</sup>Dry matter corrected for volatile compounds.

<sup>4</sup>NFC (%) = 100 – CP – NDF – ether extract – ash.

<sup>5</sup>Hours to temperature rise 2°C above ambient temperature (24°C) (n = 4).

<sup>6</sup>pH recorded during the aerobic stability test in a room with controlled temperature (24°C) (n = 4).

<sup>7</sup>Particle size distribution of TMR was determined on days 24, 25, 46 and 47 (n = 4).

**Table 3.** Feeding behavior and particle sorting index in dairy heifers fed TMR based on whole-plant corn silage stored under PE or OB sealing strategies

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM	<i>P</i> -value
	PE	OB		
Feeding behavior				
Meals, /d	10.8	12.3	0.35	0.01
Meal size, kg DMcorr <sup>2</sup> /meal	0.918	0.907	0.0494	0.88
Meal length, min/meal	21.2	17.2	0.62	0.01
Eating rate, g DMcorr/min	44.3	53.7	1.94	0.01
Eating, min/d	224	210	4.26	0.04
Eating, min/kg DMcorr	26.4	20.3	1.37	0.01
Ruminating, min/d	483	517	8.9	0.02
Ruminating, min/kg DMcorr	57.1	50.5	2.57	0.09
Chewing, min/d	708	728	10.6	0.21
Chewing, min/kg DMcorr	83.5	70.9	3.85	0.04
Particle sorting index				
> 19 mm, %	93.3	95.4	2.11	0.44
8 – 19 mm, %	100	100	0.2	0.85
4 – 8 mm, %	101	100	0.4	0.11
Pan, %	103	102	0.6	0.11

<sup>1</sup>PE: silo covered with polyethylene film; OB: silo sealed with ethylene vinyl alcohol film lining side walls and covering the silage and protected with a woven anti-UV cover.

<sup>2</sup>Dry matter corrected for volatile compounds.

**Table 4.** Growing performance of dairy heifers fed TMR based on whole-plant corn silage stored under PE or OB sealing strategies

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM	P-value
	PE	OB		
DMI <sup>2</sup> , kg/d	9.39	10.2	0.55	0.01
Daily DMI variation, %	6.18	6.28	0.278	0.80
DE <sup>3</sup> intake, Mcal/d	26.3	28.3	1.53	0.01
Initial SBW <sup>4</sup> , kg	260	261	25.1	0.97
Final SBW, kg	324	335	5.1	<0.01
ADG, kg/d	1.08	1.21	0.085	0.01
Feed efficiency	0.119	0.119	0.005	0.98
Initial BCS	3.11	3.10	0.110	0.84
Final BCS	3.55	3.60	0.067	0.18
BCS change, /d	0.00716	0.00829	0.00127	0.27
Initial heart girth, cm	151	151	1.8	0.74
Final heart girth, cm	161	164	1.8	<0.01
Heart girth change, cm/d	0.173	0.229	0.0166	0.01
Initial hip height, cm	122	122	2.3	0.24
Final hip height, cm	126	128	2.2	0.08
Hip height change, cm/d	0.0567	0.0948	0.0138	0.07

<sup>1</sup>PE: silo covered with polyethylene film; OB: silo sealed with ethylene vinyl alcohol film lining side walls and covering the silage and protected with a woven anti-UV cover.

<sup>2</sup>Intake of dry matter corrected for volatile compounds.

<sup>3</sup>Shrunk body weight.

**Table 5.** Total-tract digestibility and blood metabolites in dairy heifers fed TMR based on whole-plant corn silage stored under PE or OB sealing strategies

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM	<i>P</i> -value
	PE	OB		
Apparent digestibility, %				
DMcorr <sup>2</sup>	66.5	66.1	0.75	0.62
OM	69.6	69.5	0.82	0.90
NDF	38.1	36.4	1.65	0.41
CP	68.0	65.6	1.16	0.08
Ether extract	82.9	84.7	1.86	0.51
NFC	91.5	91.7	0.60	0.71
TDN, %	70.1	69.6	0.82	0.60
Diet DE, Mcal/kg DMcorr	2.78	2.77	0.037	0.92
Blood metabolites				
Plasma glucose, mg/dL	65.8	65.5	1.30	0.82
Plasma urea, mg/dL	29.8	29.1	1.69	0.65

<sup>1</sup>PE: silo covered with polyethylene film; OB: silo sealed with ethylene vinyl alcohol film lining side walls and covering the silage and protected with a woven anti-UV cover.

<sup>2</sup>Dry matter corrected for volatile compounds.