

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-graduação em Zootecnia

**DESENVOLVIMENTO CORPORAL, IDADE À PUBERDADE
E DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE
FÊMEAS MISTIÇAS LEITEIRAS ALEITADAS COM
DIFERENTES TEORES DE SÓLIDOS TOTAIS NA DIETA
LÍQUIDA**

CAMILA FLÁVIA DE ASSIS LAGE

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2016**

CAMILA FLÁVIA DE ASSIS LAGE

**DESENVOLVIMENTO CORPORAL, IDADE À PUBERDADE E
DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE FÊMEAS
MISTIÇAS LEITEIRAS ALEITADAS COM DIFERENTES
TEORES DE SÓLIDOS TOTAIS NA DIETA LÍQUIDA**

Dissertação apresentada à Escola de
Veterinária da Universidade Federal de
Minas Gerais, como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.
Área de concentração: Produção Animal

Orientadora:

Profa. Sandra Gesteira Coelho

Coorientadoras:

Dra. Fernanda Samarini Machado

Dra. Mariana Magalhães Campos

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2016

Tudo neste mundo tem seu tempo;
cada coisa tem sua ocasião.
Há um tempo de nascer e tempo de morrer;
tempo de plantar e tempo de arrancar;
tempo de matar e tempo de curar;
tempo de derrubar e tempo de construir;
Há tempo de ficar triste e tempo de se alegrar:
tempo de chorar e tempo de dançar;
tempo de espalhar pedras e tempo de ajuntá-las;
tempo de abraçar e tempo de afastar;
Há tempo de procurar e tempo de perder;
tempo de economizar e tempo de desperdiçar;
tempo de rasgar e tempo de remendar;
tempo de ficar calado e tempo de falar.
Há tempo de amar e tempo de odiar
tempo de guerra e tempo de paz.
Salomão

Venham até a borda, ele disse. Eles disseram: Nós temos medo. Venham até a borda, ele insistiu. Eles foram. Ele os empurrou... E eles voaram.

Guillaume Apollinaire

Dissertação defendida e aprovada em 21 de janeiro de 2016 pela comissão examinadora constituída por:

Prof.^a. Sandra Gesteira Coelho
Orientadora
(Escola de Veterinária da UFMG)

Prof. Alan Maia Borges
(Escola de Veterinária da UFMG)

Prof. Helton Matanna Saturnino
(Escola de Veterinária da UFMG)

AGRADECIMENTOS

“Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra! Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.”

Charles Chaplin

E esses dois anos foram assim, cheio de encontros e despedidas de pessoas especiais que deixaram muito aprendizado pelo caminho. Agradeço a Deus, pela oportunidade de crescimento sempre!

À minha família como um todo, por ser sempre o meu porto seguro. A vontade de voar só é grande quando se sabe que tem para onde voltar...

À todos os meus amigos de longa data e amigos de faculdade que fazem a vida ser mais leve!

Ao Victor Hugo, pelo incentivo e apoio.

Companheiros de experimento, funcionários e estagiários, acima de tudo, novos amigos adquiridos na Embrapa Gado de Leite, sem vocês nada disso seria possível.

À todos os mestres que de alguma forma me auxiliaram, pelos ensinamentos.

Agradeço a Professora Sandra, pelos ensinamentos, oportunidade e disponibilidade.

A todos os pesquisadores e analistas da Embrapa Gado de leite, pela oportunidade e auxílio, em especial às minhas co-orientadoras Fernanda e Mariana.

Agradeço aos membros da banca Prof. Alan e Prof. Helton, pela disponibilidade de participação e sugestões.

A Intergado e funcionários, pelos cochos automatizados e todo o auxílio nessa jornada.

À Capes, pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVO.....	16
2.1Objetivos específicos.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 Planos alimentares na criação de fêmeas	17
3.1.1 Efeitos de médio e longo prazo do aleitamento intensivo	19
3.2 Puberdade de novilhas.....	23
3.2.1 Eventos endócrinos ligados à puberdade.....	23
3.2.2 Eventos endócrinos e neurológicos para a puberdade	24
3.2.3 Fatores que afetam a puberdade	25
3.3 Desenvolvimento da glândula mamária e influência da nutrição sobre o seu desenvolvimento	26
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
5. ARTIGO CIENTÍFICO	36
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	68

LISTA DE TABELAS DISSERTAÇÃO:

Tabela 1. Peso corporal (kg), eficiência alimentar (g/g) e medidas de crescimento corporal (cm) de novilhas aleitadas com diferentes % ST durante o aleitamento até os 90 dias de idade.....	50
--	----

LISTA DE TABELAS ARTIGO:

Tabela 1. Nutrient composition (DM basis) of total mix ration (TMR) offered for heifers from 105 d of age to age at first artificial insemination	61
Tabela 2. Postweaning (120 to 240 d of age) feed and water intake, performance, feed efficiency and body frame development of dairy heifers (n = 58) fed different TS contents in whole milk during the preweaning period (5 to 59 d of age)	63
Tabela 3. Body weight, body frame development, age at puberty and age at the artificial insemination of dairy heifers (n = 58) fed different TS contents in whole milk during the preweaning period (5 to 59 d of age)	64
Tabela 4. The effect of fed different TS contents in whole milk during the preweaning period (5 to 59 d of age) on glucose and insulin responses to an intravenous glucose tolerance test in dairy heifers (n = 26) with 280 d of age	65
Tabela 5. Average number of pixels of the front and rear mammary glands pooled for each animal from 4 months of age to puberty in heifers (n = 58) fed different TS contents in whole milk during the preweaning period (5 to 59 d of age)	66

LISTA DE GRÁFICOS E FIGURAS DO ARTIGO:

Figura 1 (a) heart girth (cm) and (b) hip width during the postweaning period (120 to 240 d of age) and (c) Average number of pixels of the front and rear mammary glands pooled for each animal from 5 to 11 months of age in dairy heifers fed different TS contents (13.5, 16.1, 18.2, and 20.4%) in liquid diet).....67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC: aleitamento convencional
AI: aleitamento intensivo
AOAC: Association of analytical communities
BMP: bitmap
Cm: centímetro
CMS: consumo de matéria seca
DHI: Dairy Records Management System, Raleigh, NC
EA: eficiência alimentar
EE: extrato etéreo
EL: energia líquida
EPM: erro padrão da média
FDA: fibra em detergente ácido
FDN: fibra em detergente neutro
GABA: ácido gama-aminobutírico
GMD: ganho médio diário
GnRH: hormônio liberador de gonadotrofina
GMD: ganho de peso corporal
IA: inseminação artificial
IGF1: fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IPP: idade ao primeiro parto
LH: hormônio luteinizante
LI: leite integral
LIC: leite integral acrescido de carboidrato
LICA: leite integral acrescido de carboidrato e aminoácidos
Mcal: megacaloria
MG: Minas Gerais
min: minuto
MM: matéria mineral
mm: milímetro
MS: matéria seca
NDT: nutrientes digestíveis totais
NPY: neuropeptídeo Y
PAR: parênquima

PB: proteína bruta

PGF 2 α : prostaglandina F2 α

PL: produção de leite

PLCG: produção de leite corrigido para gordura

PPC: puro por cruza

PV: peso vivo

RFID: identificação por radiofrequência

SNK: Student Newman Keuls

ST: sólidos totais

RESUMO – Objetivou-se determinar o efeito do aumento de sólidos totais (**TS**) na dieta líquida composta por leite integral adicionada de sucedâneo em pó no pré-desaleitamento sobre o desempenho, idade a puberdade, idade a primeira inseminação, metabolismo de glicose e mammary fat pad de novilhas leiteiras. Novilhas mestiças Holandês x Gir (n = 58) foram distribuídas em quatro diferentes tratamentos durante o aleitamento, os quais consistiram de dietas líquidas com diferentes concentrações de TS: 13.5% (n = 15); 16.1% (n = 15); 18.2% (n = 13) e 20.4% (n = 15), fornecidas até os 59 dias de idade. Dos 60 aos 89 dias de idade os animais receberam o mesmo concentrado da fase de pré-aleitamento, e silagem de milho foi adicionada a dieta aos 70 dias de idade. Dos 90 aos 104 dias os animais foram adaptados a dieta de pós-desaleitamento. Aos 105 dias de idade os animais foram distribuídos em quatro piquetes coletivos, com cochos e bebedouros eletrônicos (Intergado® Ltd., Minas Gerais, Brazil) e receberam a mesma dieta total à vontade. Avaliações individuais do consumo de alimentos e de água, do peso corporal e do desenvolvimento corporal foram realizadas até a inseminação artificial (**IA**) das novilhas aos 350 kg de BW. Avaliações da glândula mamária com uso de ultrassom foram realizadas de 120 dias de idade até a puberdade. Puberty was considered to have occurred when plasma progesterone concentrations of 1 ng/mL were present in 2 consecutive samples. The date of puberty was recorded as the time the first of these samples was collected. Teste de tolerância à glicose foi realizado aos 280 dias de idade. O aumento da concentração de ST na dieta líquida durante a fase de aleitamento não afetou o consumo de matéria seca, o desempenho, a idade a puberdade, a idade a primeira IA, o metabolismo de glicose, e o mammary fat pad da glândula mamária. Porém, aumentou linearmente as medidas de largura de garupa e de perímetro torácico até os 150 e 240 dias de idade, respectivamente.

Palavras chave: idade a primeira inseminação, efeitos de longo prazo, glândula mamária, puberdade

ABSTRACT - The aim of this paper was to determine the effect of increasing total solids (TS) on the liquid diet composed of whole milk with addition of milk replacer powder in preweaning on performance, age at puberty, age at first insemination, glucose metabolism and mammary fat pad of dairy heifers. Crossbreed Holstein x Gyr heifers (n = 58) were distributed in four different treatments during preweaning period, which consisted of liquid diets with different TS concentrations: 13.5% (n = 15); 16.1% (n = 15); 18.2% (n = 13) and 20.4% (n = 15), provided up to 59 d of age. From 60 to 89 d of age the animals received the same starter from the preweaning period and corn silage was added to the diet at 70 d of age. From 90 to 104 d of age the animals were adapted to the postweaning diet. At 105 d of age, the animals were distributed in 4 collective paddocks, with electronic feed and water bins (Intergado® Ltd., Minas Gerais, Brazil) and received the same total diet ad libitum. Individual evaluations of feed and water intake, body weight and body development were performed until artificial insemination (AI) of heifers at 350 kg BW. Ultrasound mammary gland evaluations were performed from 120 d of age until puberty. Puberty was considered to have occurred when plasma progesterone concentrations of 1 ng/mL were present in 2 consecutive samples. The date of puberty was recorded as the time of the first of these samples were collected. Glucose tolerance test was performed at 280 d of age. The increased TS concentration of liquid feed during the preweaning period did not affect dry matter intake, performance, age at puberty, age at first AI, glucose metabolism and fat pad of the mammary gland. However, measurements of hip width and heart girth linearly increased up to 150 and 240 d of age, respectively.

Key words: age at first artificial insemination, long-term effects, mammary gland, puberty.

1. INTRODUÇÃO

A cria e recria de animais na bovinocultura leiteira é uma fase que demanda muito investimento principalmente durante a fase de aleitamento. Para reduzir os custos, o fornecimento restrito de leite (10% do peso corporal) (Appleman e Owen, 1975) e o desaleitamento precoce (30 dias de idade) (Kertz et al., 1979) foram preconizados. Porém, com o intuito de reduzir as taxas de mortalidade, à nutrição nas fases iniciais da vida se tornou foco de estudos. Trabalhos com bezerros aleitados a vontade ou de forma intensiva demonstraram ganhos de peso corporal (GMD) superiores ao tradicionalmente alcançado em sistemas convencionais (Jasper e Weary, 2002), além de serem observadas melhorias no desenvolvimento corporal (Moallem et al., 2010), na saúde (Foote et al., 2006), bem como a expressão de comportamento animal mais próximo do natural, sem estereotípias e comportamentos típicos de fome (Miller-Cushon et al., 2013).

Porém, apesar desses benefícios, a administração de grandes quantidades de dieta líquida vem sendo questionada devido a possível redução da ingestão de alimentos sólidos no período de pré-desaleitamento (Terré et al., 2007), proporcionado desenvolvimento ruminal mais lento (Khan et al., 2007), e possíveis perdas de peso no pós-aleitamento (Weary et al., 2008).

O desenvolvimento da glândula mamária, a reprodução e a produtividade futura dos animais aleitados intensivamente é outro ponto questionado. Os estudos de desenvolvimento da glândula mamária de fêmeas que receberam ou não nutrição intensiva tem sido realizados com o abate dos animais, não permitindo o acompanhamento dos mesmos durante a puberdade e as lactações seguintes. A ultrassonografia metodologia não invasiva, com potencial de acompanhamento do animal em longo prazo e consequentemente com capacidade para avaliar o impacto da nutrição sobre o desenvolvimento da glândula mamária vem atualmente sendo utilizada (Nishimura et al., 2011; Esselburn et al., 2015; Albino et al., 2015). Do ponto de vista produtivo e reprodutivo, os estudos demonstram benefícios das maiores taxas de crescimento na fase de aleitamento sobre idade à puberdade, idade ao primeiro parto e produção de leite futura das fêmeas (Moallem et al., 2010, Davis-Rincher et al., 2011). No entanto, outros estudos não encontraram resultados para índices reprodutivos (Yunta et al., 2015) ou produtivos (Morrison et al., 2009, Raeth-Knight et al., 2009, Terré et al., 2009) das novilhas.

Diante dos resultados controversos encontrados na literatura em relação aos efeitos de programas de aleitamento e os seus efeitos em longo prazo, estudos que incluam a avaliação da glândula mamária nas diferentes fases de crescimento, associados com os dados de reprodução e desempenho, podem auxiliar a definição de melhores programas de aleitamento.

Com a evolução do conceito de Zootecnia de precisão, novos sensores, com diversas aplicações estão sendo criados e testados. A utilização de informações provenientes de sistemas automatizados é de grande importância para viabilizar a utilização dos mesmos, uma vez que melhora seu custo-benefício. Por isso é importante à realização de estudos que visam explorar melhor as informações dos sensores. Estudos que avaliam o comportamento de ingestão de alimentos e o relacionam com evento de estro são importantes para avaliar se esses parâmetros tem potencial para auxiliar na detecção do estro.

1. OBJETIVO

Avaliar o desempenho, a idade à puberdade e o desenvolvimento da glândula mamária após os 90 dias de idade de fêmeas mestiças alimentadas com diferentes teores de sólidos totais na dieta líquida durante o aleitamento e avaliar o consumo de alimento e de água, e o comportamento de ingestão de alimentos de fêmeas em estro através de equipamentos eletrônicos.

1.1 Objetivos específicos

Avaliar o efeito em longo prazo do aumento dos teores de sólidos totais da dieta líquida durante o aleitamento sobre:

- Consumo de água, alimentos, ganho de peso médio diário e eficiência alimentar;
- Desenvolvimento corporal (altura de cernelha e de garupa, circunferência torácica e largura de garupa);
- Desenvolvimento da glândula mamária;
- Idade a puberdade;
- Idade em que atingiu 350 kg (Idade a primeira I.A); e
- Avaliar o comportamento e o consumo de ingestão de alimentos e água e a sua relação com o estro.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Planos alimentares na criação de fêmeas leiteiras

Em revisão sobre os estudos em nutrição de fêmeas leiteiras, Drackley (2004) relatou que desde o estabelecimento da indústria leiteira nos EUA, pesquisadores, produtores e técnicos avaliam a melhor forma de criação de fêmeas, a qual deve ser tecnicamente adequada, mas também financeiramente viável. Nesse contexto surgiram à criação individualizada, afastando as fêmeas das mães logo após o nascimento, o aleitamento artificial e a substituição de leite por sucedâneo. Além disso, era financeiramente interessante retirar a dieta líquida do animal o mais rápido possível transferindo-o para dieta sólida, a base de concentrado e forragem, os quais são alimentos mais baratos em relação a dieta líquida.

A recomendação de restrição de leite surgiu a partir de uma revisão realizada por Appleman e Owen (1975) e o desaleitamento precoce, aos 28 dias de idade, foi discutido em uma revisão de literatura logo em seguida por Kertz et al. (1979). As duas práticas visavam rápido aumento do consumo de alimentos sólidos e menor impacto na adaptação durante a fase de desaleitamento, sendo denominado aleitamento convencional, com restrição da dieta líquida em torno de 10% do peso corporal (PC) dos animais. Apesar desse sistema ter sido preconizado por muito tempo e sendo ainda utilizado em todo o mundo, técnicos nos EUA começaram a questionar se as taxas de mortalidade de 10,8% relatadas pelo National Animal Health Monitoring System (2003) estavam de alguma forma ligadas a esse sistema de criação. Diante disso pesquisas sobre dieta líquida voltaram a ser realizadas. Nos sistemas de aleitamento artificial à vontade, os bezerros consomem até 10 kg/d de dieta líquida (Jasper e Weary, 2002; Sweeney et al., 2010) e nos sistemas que os bezerros são criados mamando nas mães, em dois turnos de 2 h/d, ingerem 6,5 kg/d de leite na primeira semana de vida e 12,5 kg/d na nona semana (de Passillé et al., 2008), demonstrando que a quantidade de dieta líquida fornecida no aleitamento convencional é bem menor do que o consumo a vontade. Além disso, o GMD também é diferente, podendo chegar a 63% a mais em animais aleitados de forma intensiva do que aqueles em sistema convencional de aleitamento (Jasper e Weary, 2002).

Segundo Drackley (2004) a ideia de estudar aleitamento intensivo versus convencional não é nova, porém, a perspectiva de benefícios difere muito nos estudos atuais frente aos estudos antigos. Em estudos mais antigos os sucedâneos fornecidos não

eram de boa qualidade, não tinham proteína de qualidade para permitir maiores taxas de crescimento e nem fontes energéticas que permitissem total aproveitamento desse componente. Além disso, quando o animal era desaleitado, não tinha acesso a concentrado e forragem adequados que permitissem bons GMD, o que atrapalhava os resultados de um possível benefício de maiores taxas de crescimento no início da vida (Drackley, 2004).

Atualmente, além de serem encontrados sucedâneos de ótima qualidade, que permitem taxas de crescimento próximas ao fornecimento de leite integral (Davis e Drackley, 1998), os estudos não estão preocupados apenas com os efeitos diretos no GMD, sendo apontados benefícios do aleitamento intensivo sobre o sistema imune (Foote et al., 2006, Ballou et al., 2015), endócrino (Bartlett, 2001, Smith et al., 2002) e desenvolvimento corporal (Moallem et al., 2010, Davis-Rincker et al., 2011), além de possíveis efeitos nos índices produtivos em longo prazo como a idade reprodutiva mais precoce e a maior produção de leite futura (Davis-Rincker et al., 2011).

Porém, apesar dos possíveis benefícios, alguns pesquisadores questionam a administração de grandes quantidades de dieta líquida devido a possível redução da ingestão de alimentos sólidos no período de pré-desaleitamento (Terré et al., 2007; Weary et al., 2008), proporcionando desenvolvimento ruminal mais lento (Khan et al., 2007), e possíveis perdas de PC e de GMD no pós-aleitamento (Terré et al., 2007; Budzynska e Weary, 2008; Weary et al., 2008).

Outro problema do fornecimento de maior quantidade de dieta líquida sem o aumento da frequência de fornecimento, foi apontado por Bach et al. (2013) que demonstraram resistência à insulina aos sete, 30 e 60 dias de idade em fêmeas que receberam 8 L/d de sucedâneo, em duas refeições diárias. Os animais precisaram secretar mais insulina por mol de glicose consumida para controlar a glicemia, quando o leite é fornecido em grande volume duas vezes ao dia. Segundo esses autores, a alteração no metabolismo da glicose pode interferir tanto no desempenho, quanto no metabolismo futuro desses animais, principalmente durante o período de transição. Yunta et al. (2015) também levantaram essa questão da resistência a insulina, mostrando que animais recebendo 8 L/d de leite, em duas refeições, têm menor eficiência alimentar dos 35 aos 63 dias de idade, frente aos que estava recebendo 6L e 4L/d, possivelmente em resposta a alteração no metabolismo de glicose e a maior deposição de gordura, o que não é desejável para animais em crescimento.

Tentando resolver em parte esses problemas, várias estratégias estão sendo estudadas para garantir desaleitamento eficiente, por exemplo o desaleitamento de acordo com o consumo de concentrado (Leaver e Yarrow, 1972; Greenwood et al., 1997; Roth et al., 2009; de Passillé e Rushen, 2012), redução gradual da ingestão de dieta líquida até o desaleitamento conhecido como step-down (Khan et al., 2007, Silper et al., 2014), extensão do período de desaleitamento (Terré et al., 2006; Sweeney et al., 2010; Hill et al., 2012) e aumento da idade ao desaleitamento para aumentar o consumo de concentrado (Eckert et al., 2015).

A adição de sucedâneo ao leite, com o objetivo de aumentar a concentração de sólidos totais (ST) por litro de leite sem aumentar o volume (Glosson et al., 2015), buscando reduzir o impacto da saciedade por distensão do trato gastrointestinal tem sido ainda pouco explorada.

Apesar de algumas dificuldades de estabelecimento do aleitamento intensivo, principalmente no que se diz respeito a melhor manejo de desaleitamento e transição dos animais para não ocorrer perdas no pós-aleitamento, os benefícios dessa estratégia refletidos no desempenho dos animais ao desaleitamento são visíveis. Porém, poucos estudos foram publicados relacionando a nutrição no início da vida com os efeitos na produtividade em longo prazo, sendo que aqueles publicados possuem diferenças metodológicas tanto de plano nutricional quanto de avaliação que dificultam o entendimento do custo-benefício de utilização dessas estratégias, além de poucas análises financeiras terem sido feitas. Apesar de alguns indicarem maiores produções de leite futuras e menor idade a reprodução mais estudos acompanhando a produção dos animais precisam ser realizados, buscando encontrar o ponto ótimo de nutrição que não prejudique o animal e que seja financeiramente viável.

3.1.1 Efeitos de médio e longo prazo do aleitamento intensivo

Desde que os estudos sobre aumento do aporte nutricional, principalmente proveniente da dieta líquida reiniciaram, uma importante vertente foi também iniciada, que é o estudo sobre os efeitos em longo prazo dessas estratégias, principalmente efeitos sobre reprodução e produção de leite.

Raeth-Knight et al. (2009) trabalharam com 133 fêmeas da raça Holandês, provenientes de três fazendas, distribuídas em cinco tratamentos: sucedâneo convencional (20% de proteína (PB), 20% de gordura (G), à 13,9% de sólidos totais (ST)), sucedâneo convencional acidificado (20% de proteína (PB), 20% de gordura (G),

à 13,9% de sólidos totais (ST)), ambos em 3,5 litros, aleitamento intensivo com sucedâneo (28% PB, 18% G, 680 g de sucedâneo/dia até os 10 dias e 1000 g de sucedâneo/dia até os 42 dias) à 16,7% ST em 3,4 litros, aleitamento intensivo com sucedâneo (28% PB, 18% G, 680 g de sucedâneo/dia até os 10 dias e 1000 g de sucedâneo/dia até os 42 dias) à 12,5% ST em 4,76 litros de água e grupo que recebeu sucedâneo intensivo à 16,7% de ST em maior volume (5,10 litros - grupo alto consumo). Os grupos foram desaleitados aos 42 dias, exceto o grupo alto consumo, que foi desaleitado aos 49 d. Concentrado foi oferecido à vontade desde o 2º dia de vida. Animais dos tratamentos convencionais recebiam concentrado de 20,2% PB, já nos tratamentos intensivos foi oferecido um concentrado de 25% de PB. Aos 56 dias de idade os animais foram transferidos para baias e alimentados com rações de crescimento. Animais em aleitamento convencional receberam concentrado de 18% PB e animais em aleitamento intensivo 21%PB. Após os 112 dias de idade os animais passaram a ter a mesma dieta. Dados de lactação de 95 animais desse experimento foram analisados. Não foram observadas diferenças entre os grupos no desempenho produtivo da primeira lactação. As vantagens de desempenho dos animais em aleitamento intensivo não foram mantidas até o final do crescimento das novilhas. Porém, animais no grupo intensivo alto consumo foram 27,5 dias mais precoces ao parto do que os animais dos tratamentos convencionais.

Segundo Soberon et al. (2012), há carência potencial de sensibilidade na determinação de diferenças de produção de leite no trabalho de Raeth-Knight et al. (2009), uma vez que, após a fase de aleitamento as fêmeas foram criadas em fazendas diferentes da utilizada durante a fase de aleitamento. Sendo difícil separar os efeitos de rebanho, estação, dias em lactação, dias de gestação, e outros fatores ambientais, entre as fazendas.

Morrison et al. (2009) também conduziram experimento para avaliar diferentes planos de aleitamentos. Um total de 153 animais (88 fêmeas e 65 machos) foram alocados em um dos quatro tratamentos ao nascimento: um fatorial 2 x 2 foi desenhado para avaliar dois planos de fornecimento de sucedâneo: 5 ou 10 litros/dia de dieta líquida constituída de 120 g/sucedâneo por litro de água, que poderia ser de um sucedâneo com 210 g/PB/kg de matéria seca (MS) ou 270 g/PB/kg de MS. Todos os animais foram aleitados do dia 5 aos 56. Os animais foram alojados em baias com alimentadores automáticos. Água e concentrado com 22% PB foram administrados à vontade para todos os grupos. Após o desaleitamento todos os animais passaram a

receber a mesma dieta. Os animais foram inseminados aos 13,5 meses com 315 kg de peso corporal. Dados de 88 animais na primeira lactação e 66 animais na segunda lactação foram avaliados. Não houve diferença entre os grupos em idade e peso ao primeiro parto. Não houve diferença em produção de leite nas lactações avaliadas.

Terré et al. (2009) realizaram um estudo com 60 animais comparando aleitamento convencional e aleitamento intensivo, 31 fêmeas foram utilizadas no aleitamento convencional (AC) e 29 no aleitamento intensivo (AI). A primeira semana de experimento foi de adaptação, os animais em AC receberam 4L/dia a 12% de sólidos totais (ST) e AI receberam 4L a 12% durante quatro dias e a 15% durante os outros quatro dias. Após a adaptação os animais do AC receberam 4L a 12% de MS durante os 27 dias experimentais, e de 28 até 34 dias experimentais (50 dias de idade), 2 litros a 12%, quando foram desaleitados. Os animais do AI receberam 4 litros a 18% de MS nos primeiros seis dias experimentais, dos dias 7 aos 13 6 litros a 18%, dos dias 14 a 20 7 litros a 18%, dos dias 21 aos 27 6 litros a 18%, dos dias 28 aos 34 3 litros a 18%, foram desaleitados no 35º dia experimental (50 dias de idade). Os animais receberam o mesmo sucedâneo (25% PB e 19% de gordura) e o mesmo concentrado (21% PB). Água foi fornecida à vontade. Após o desaleitamento os animais passaram a receber a mesma dieta. A lactação de 14 animais por tratamento foi avaliada e nenhuma diferença foi observada para produção de leite e idade ao primeiro parto. Nesse estudo, a ausência de diferença ($P = 0,21$) para produção de leite pode ter sido devida ao pequeno número de animais ($n = 14$) avaliados.

Davis-Rincker et al. (2011) estudaram o efeito do aleitamento intensivo sobre o crescimento, idade a puberdade, idade ao primeiro parto e produção de leite, fizeram também análise econômica das estratégias. Foram avaliados 40 animais em cada grupo experimental. O aleitamento convencional com sucedâneo (21,5% de PB, 21,5% gordura) a 1,2% peso vivo (PV) na MS seca foi comparado com aleitamento intensivo com sucedâneo (30,6% PB e 16,1% gordura) administrado a 2,1% PV na MS. Os animais foram desaleitados aos 42 dias de idade. O grupo de AC recebeu concentrado com 20% PB e AI concentrado com 24% PB. Após o desaleitamento os animais foram submetidos ao mesmo manejo sendo liberados para IA com 405 kg. Os animais em AI foram 31 dias mais precoces a puberdade do que os animais em AC. Porém, essa diferença não se manteve, e a idade e peso ao primeiro parto e a produção de leite não foram diferentes entre os tratamentos, assim como não houve diferença em produção de leite. Quando foi avaliado o mérito genético dos animais houve tendência ($p=0,08$) para

maior produção de leite nos animais em AI. Os autores desse trabalho consideraram essa tendência na avaliação econômica, e não encontraram diferença de custo entre os tratamentos, deixando a cargo do produtor a escolha do melhor manejo nutricional das fêmeas.

Soberon et al. (2012) fizeram análise de dados de duas fazendas distintas que possuíam manejos parecidos. Uma aleitava os bezerros com sucedâneo (28% PB e 15% ou 20% de gordura) e eram desaleitados aos 50 dias. Na outra, eram fornecidos 900 g/d de sucedâneo comercial em volume final 3,8 litros (28% PB e 15% de gordura) sendo os animais desaleitados também aos 50 dias. Nesse trabalho, foram avaliados o GMD durante o aleitamento, a ingestão de energia proveniente do sucedâneo, além de outras variáveis no modelo “Test day” para avaliar a influência do GMD no período de aleitamento sobre a lactação futura das fêmeas. Segundo os autores o plano nutricional durante o aleitamento contribui com 22% da variação na produção de leite na primeira lactação, mostrando que os planos nutricionais durante o aleitamento possuem efeito na produção dos animais.

Yunta et al. (2015) avaliaram os efeitos em curto e médio prazo, do fornecimento de 4, 6 ou 8 L/d de sucedâneo duas vezes ao dia, sobre o desempenho e metabolismo de glicose fêmeas da raça Holandês. O sucedâneo foi preparado para conter 15% de sólidos totais (ST) (22,8% PB e 19,4% gordura). Segundo os autores, os animais que receberam 6 ou 8 L/d de sucedâneo tiveram maior GMD durante o aleitamento e atingiram maior PC, porém, durante o desaleitamento eles não conseguiram compensar a perda dos nutrientes provenientes do sucedâneo com o aumento do consumo de alimentos sólidos, os animais que receberam 4 L/d passaram então a apresentar maior GMD. Por outro lado, os animais que receberam 6 ou 8 L/d foram mais precoces a primeira I.A, não sendo observada essa diferença para idade a prenhes e taxa de concepção.

Kiezebrink et al. (2015) utilizaram 152 fêmeas da raça Holandês em dois tratamentos: 4 versus 8 L/d de leite integral e relataram que ao desaleitamento as fêmeas alimentadas com 8 L/d apresentaram maiores PC e eram mais altas, porém, essas diferenças desapareceram aos 112 dias de idade, não sendo observada nenhuma diferença nos parâmetro reprodutivos ou de produção de leite na primeira lactação em relação aos animais aleitados convencionalmente.

Em síntese, os resultados são controversos e as conclusões mostram que aumentar o aporte nutricional no início da vida não garante um aumento da produção de leite futura. Existem muitos fatores de confundimento entre os trabalhos avaliados que

dificultam a elaboração de uma conclusão sobre o tema. Mais trabalhos devem ser realizados buscando contornar esses fatores para maior segurança das recomendações de aleitamento. Fatores de manejo dentro da propriedade devem ser observados para avaliar o grau de desafio dos animais em aleitamento, buscando utilizar uma dieta que atenda aos requisitos nutricionais dos animais, de forma a melhorar a saúde, o bem estar e o desempenho. Além disso, fatores econômicos devem ser levados em consideração para a tomada de decisão.

3.2 Puberdade de novilhas

A puberdade é definida como a manifestação da competência reprodutiva, evento que marca o início da vida produtiva do animal, ocorrendo frequentemente, em novilhas com a idade de 10 a 15 meses (*Bos taurus*) e de 15 a 17 meses (*Bos indicus*) (Chenoweth, 1994).

Existem vários métodos para a detecção da puberdade em novilhas, sendo a observação do comportamento de estro o método mais utilizado nas fazendas. A puberdade pode também ser detectada pela palpação do primeiro corpo lúteo e/ou a primeira dosagem de progesterona no plasma ou soro com concentração acima de 1ng/mL (Gasser et al., 2006).

A primeira ovulação e a puberdade não são sempre coincidentes, uma vez que ovulações silenciosas de fase lútea curta podem ocorrer na fase pré-púbere (Moran et al., 1989). Por isso, Moran et al. (1989) definem puberdade como ovulação que resulta em fase lútea de duração normal, uma vez que, ovulação com fase lútea reduzida pode não ser uma ovulação fértil, ou seja, não resulta em prenhes já que ocorre liberação de prostaglandina F 2 α (PGF 2 α) antes do reconhecimento materno da gestação.

Após a puberdade o processo de maturação sexual, continua por algum tempo, como evidenciado pelo aumento expressão comportamental no estro e aumento da fertilidade (Bagley, 1993).

3.2.1 Eventos endócrinos ligados à puberdade

A puberdade envolve a maturação do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, e é dependente de secreção adequada de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e, conseqüentemente de hormônio luteinizante (LH). Antes do início da puberdade a secreção do GnRH está inibida pelo *feedback* negativo do estradiol circulante. Opióides

endógenos também parecem fazer regulação conjunta com o estradiol na regulação da secreção das gonadotrofinas (Wolfe et al., 1992).

À medida que as novilhas se aproximam da puberdade a concentração de receptores de estradiol encontrados na parte anterior e média do hipotálamo sofre declínio e o *feedback* negativo do estradiol diminui gradativamente (Day et al., 1987). Durante essa fase de declínio do *feedback* do estradiol, ocorre aumento na frequência de pulsos de LH, aproximadamente 50 dias antes da puberdade, essa fase é chamada período peripuberal (Day et al., 1987) e esse comportamento do LH é uma das características mais importantes das mudanças hormonais que resultam na puberdade. A alta frequência de pulsos de LH estimula a maturação folicular, o que gera aumento no estradiol circulante. Essa elevação do estrógeno causa *feedback* positivo no GnRH resultando em ovulação (Gonzalez-Padilla et al., 1975).

A concentração de progesterona aumenta rapidamente imediatamente antes da puberdade. Este aumento pré-púbere de origem lútea resulta da primeira ovulação não fértil. Esse aumento causado pela fase lútea curta auxilia a regular os receptores de progesterona no útero e na prevenção de liberação prematura da PGF2 α resultando em ciclos estrais de duração normal (Garverick et al., 1992).

Até a puberdade o trato reprodutivo das novilhas passa por mudanças, levando ao aumento do tamanho e peso do útero, cérvix e vagina, rapidamente antes da puberdade (Honaramooz et al., 2004). Este rápido crescimento do trato reprodutivo ocorre, parcialmente, devido à estimulação do aumento das concentrações de estrógeno.

3.2.2 Estímulos endócrinos e neurológicos para puberdade

A secreção em concentrações adequadas de GnRH é preponderante para a ocorrência da puberdade, porém, os mecanismos que levam ao aumento da secreção episódica de GnRH ainda não são totalmente conhecidos. O GnRH é produzido pelos neurônios que se originam no nervo craniano olfativo e migram para o cérebro anterior durante a vida embrionária (Wray et al., 1989). Em ruminantes domésticos, a baixa frequência de liberação de GnRH/LH antes da puberdade em fêmeas, pode ser consequência da alta sensibilidade do eixo neuroendócrino para o efeito inibitório do estradiol (Foster e Ryan, 1979).

Na fase pré-púbere, elevadas concentrações de estradiol fazem efeito estimulador sobre o eixo hipotálamo-hipófise, promovendo os picos pré-ovulatórios de GnRH (Yoshioka et al., 2001). Apesar do importante papel do estradiol no controle da secreção

de GnRH, os neurônios liberadores de GnRH não contêm o receptor α de estrógeno e outros tipos de receptores encontrados não tem função clara no controle de liberação de GnRH (Noel et al., 2009). Por isso, uma variedade de sinais inibitórios e excitatórios têm sido estudados para entender o controle da atividade de GnRH podendo afetar a função por mecanismos sinápticos e não sinápticos.

O ácido gama-aminobutírico (GABA), e opióides endógenos neuropeptídeo Y (NPY) são moléculas inibidoras que influenciam diretamente a secreção de GnRH. O glutamato, kisspeptina, neuroquinina B, e fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) são fatores estimulantes. Uma alteração de sinais inibitórios para excitatórios está envolvida no aumento da frequência de pulsos GnRH (Ojeda e Skinner, 2006). O Ácido gama aminobutírico (GABA) é considerado o principal neurotransmissor inibidor para secreção de GnRH antes da puberdade em primatas, em ovinos ele parece suprimir a síntese e a liberação do GnRH (Ciechanowska et al., 2009).

Peptídeos opióides endógenos também enviam sinais inibitórios para neurônios liberadores de GnRH. A administração do inibidor do opióide naloxona, estimula a liberação de LH em ovelhas e novilhas pré-púberes (Wolfe et al., 1992). O NPY, é conhecido por seu envolvimento no controle de diversas funções do hipotálamo. Axônios contendo NPY são observados ao longo do cérebro (Fetissoff et al., 2004). Nos ruminantes, o NPY tem efeito inibitório sobre a liberação de LH e de GnRH na presença e na ausência de estradiol. Já o glutamato é conhecido como um estimulador da liberação de GnRH (Ojeda e Skinner, 2006). O glutamato induz liberação de LH em ovelhas pré-púberes e a puberdade em cabras (Meza-Herrera et al., 2011).

A kisspeptina, um produto do gene *KISS1*, é um estimulador potente da liberação de GnRH e tem sido considerado um “gatilho” importante da maturação reprodutiva em mamíferos (Kauffman, 2010). Já o IGF-1 é um hormônio que tem atividade de promoção de crescimento, propõe-se que seja um dos fatores derivados da glia que estimulam a liberação de GnRH (Ojeda et al., 2008). Os neurônios de GnRH contêm receptores do IGF-1, e o IGF-1 pode ter ação na expressão e liberação de GnRH facilitando o processo de puberdade (Hiney et al., 1996).

3.2.3 Fatores que afetam a idade a puberdade

A idade a puberdade é influenciada por vários fatores incluindo: peso e composição corporal, raça, nutrição e genética. Além disso, quaisquer fatores de impacto negativo como incidência de doenças e condições climáticas desfavoráveis

podem causar redução no desempenho e, portanto, atrasar a puberdade. Schillo et al. (1992) demonstraram que a puberdade é influenciada mais pelo PC do que pela idade. Porém, animais de diferentes potenciais de tamanho adulto (*frame size*), podem ter o mesmo PC e não entrarem juntos na puberdade, o que indica que a composição corporal é importante, principalmente a quantidade de gordura na carcaça. Embora o mecanismo molecular que ligue a nutrição a função reprodutiva não seja completamente compreendido, este pode envolver a sinalização por hormônios que incluem a insulina, hormônio do crescimento, IGF-1, grelina e a adiponectina (Cheng et al., 2011). A raça é outro fator importante na diferença de idade e peso a puberdade. Geralmente, raças que possuem maior tamanho a idade adulta são mais pesadas e mais velhas a puberdade (Laster et al., 1972). Um fator muito importante para a puberdade é o plano nutricional em que o animal foi submetido. A leptina pode ter papel fundamental na programação das vias do hipotálamo que controlam funções neuroendócrinas (Pinto et al., 2004).

Com o avanço da biologia molecular estão sendo descobertos marcadores genéticos que indicam se o animal tem maior ou menor probabilidade de ser precoce a puberdade, sendo essa linha de pesquisa muito estudada para novilhas de corte (Fortes et al., 2010).

3.3 Desenvolvimento da glândula mamária e influência da nutrição sobre o seu desenvolvimento

O desenvolvimento da glândula mamária das fêmeas tem início antes do nascimento. No primeiro dia de vida do animal já é possível identificar o parênquima mamário, que nessa fase é composto por um sistema de ductos rudimentares. O parênquima (PAR) é circundado por tecido adiposo (*fat pad*) (Turner, 1930). O *fat pad* é um conjunto de tecido conjuntivo, adiposo, vasos sanguíneos e linfáticos e nervos (Turner, 1930). Do nascimento até em torno dos 2-3 meses de idade o conjunto de tecidos que formam a glândula mamária crescem na mesma taxa do corpo (crescimento isométrico) (Meyer et al., 2006).

Após essa primeira fase de crescimento, o animal entra em uma fase de crescimento alométrico. Nessa fase, que vai de 2-3 meses até a puberdade o parênquima cresce a uma taxa mais rápida do que o corpo (Meyer et al., 2006). Após a puberdade a glândula mamária passa por mais uma fase de crescimento isométrico até a gestação. Nesse ponto o ciclo estral é o maior estimulador do desenvolvimento mamário, sendo que a cada estro do animal o parênquima passa por uma fase de crescimento (Sinha e

Tucker, 1969). Durante a gestação e principalmente no terceiro trimestre da prenhez, ocorre o maior desenvolvimento da glândula mamária com a diferenciação das células epiteliais do parênquima em células produtoras de leite, formando os alvéolos (Sinha e Tucker, 1969). A proliferação e diferenciação dessas células estão quase completas ao parto (Sejrsen et al., 2000). Após o parto, proliferação celular ocorre a taxa isométrica para renovação celular ao longo da lactação. Apoptose celular (morte celular programada) também ocorre, e quando a taxa de apoptose é maior que a taxa de renovação, ocorre redução na produção de leite, sendo melhor observada ao fim da lactação (Capuco et al., 2001).

O GMD excessivo na fase de crescimento alométrico da glândula mamária, que coincide com o pós-aleitamento, tem sido alvo de pesquisas de longa data, muitos autores associam maiores taxas de ganho nessa fase com desenvolvimento prejudicado da glândula mamária e menor produção de leite na primeira lactação (Sejrsen & Purup, 1997; Radcliff et al., 2000). Outros trabalhos sugeriram que não há efeito negativo quando a dieta tem equilíbrio entre proteína e energia (Capuco et al., 1995; Dobos et al., 2000; Whitlock et al., 2002) e Meyer et al. (2006) não encontraram efeito prejudicial quando a idade dos animais é colocada na análise estatística como covariável, uma vez que animais em planos nutricionais mais altos são mais precoces.

Os resultados na literatura são controversos e podem estar associados a diferenças nos métodos de avaliação (Lohakare et al., 2012).

Já o impacto da nutrição durante o aleitamento sobre o desenvolvimento da glândula mamária (fase de crescimento isométrico) ganhou mais relevância nos últimos anos devido a estudos que demonstraram aumento na produção de leite quando maior aporte nutricional é dado durante o período de aleitamento (Soberon et al., 2012). Segundo Esselburn et al. (2015) é crença geral de que o aumento do plano de ingestão de nutrientes durante os primeiros dois meses de vida não prejudica o crescimento do parênquima mamário, e pode realmente aumentar o crescimento independente do ganho de peso do animal. Brown et al. (2005) demonstraram que o aumento nutricional nessa idade levou a maior desenvolvimento do parênquima mamário.

A quantidade de leite que uma vaca produz está correlacionada positivamente com o número e função de células epiteliais mamárias (Boutinaud et al., 2004), e isso pode estar relacionado com a formação do tecido mamário no período pré-puberal. O potencial produtivo de um animal está relacionado à genética, mas o manejo que ele está inserido pode alterar a expressão dessa característica. Dentro dessa lógica, estudos

têm sido feitos para entender como a nutrição no período de aleitamento pode afetar o desenvolvimento da glândula mamária, principalmente o PAR, e se isso pode ou não impactar na produção futura.

Estudos que visam entender a nutrição e seu impacto no desenvolvimento do PAR têm sido prejudicados pela limitação de técnicas para obter informações sobre a glândula mamária. Para obter essas informações era necessário abater os animais, impedindo os pesquisadores de estudar as implicações em longo prazo da quantidade de PAR no início da vida, por exemplo sua relação com a produção de leite (Esselburn et al., 2012). Avanços na tecnologia de ultrassom com melhor resolução de imagens têm permitido que os pesquisadores realizem esse tipo de análise.

Nishimura et al. (2011) realizaram um trabalho comparando as imagens de ultrassom da glândula mamaria com as características encontradas no abate, validando essa técnica.

Diferenças no desenvolvimento da glândula mamária no início da vida do animal podem ser a explicação para o aumento na produção de leite de fêmeas que foram submetidas a maior plano nutricional. Diante dos resultados controversos encontrados na literatura sobre esse possível aumento, estudos que incluam a avaliação da glândula nas diferentes fases de crescimento associado com os dados de produção de leite podem ajudar a definir melhor se a nutrição no início da vida pode influenciar a produtividade futura do animal.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APPLEMAN, R.D.; OWEN, F.G. Breeding, housing, and feeding management. *J. Dairy Sci.*, v.58 p.447-464, 1975.

BACH, A.; DOMINGO, L.; MONTORO, C.; TERRÉ, M. Short communication: Insulin responsiveness is affected by the level of milk replacer offered to young calves. *J. Dairy Sci.*, v.96 p.4634 - 4637, 2013.

BAGLEY, C.P. Nutritional management of replacement beef heifers: a review. *J. Anim. Sci.*, v.71 p.3155-3163, 1993.

BALLOU, M.A.; HANSOM, D.L.; COBB, C.J. et al. Plane of nutrition influences the performance, innate leukocyte responses, and resistance to an oral *Salmonella enterica*

serotype Typhimurium challenge in Jersey calves. *J. Dairy Sci.*, v.98 p.1972-1982, 2015.

BOUTINAUD, M.; GUINARD-FLAMENT, J.; JAMMES, H. The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.44 p.499-508, 2004.

BROWN, E.G.; VANDERHAAR, M.J.; DANIELS, K.M. et al. Effect of increasing energy and protein intake on mammary development in heifer calves. *J. Dairy Sci.*, v.88 p.595-603, 2005.

BUDZYNSKA, M.; WEARY, D.M. Weaning distress in dairy calves: Effects of alternative weaning procedures. *Appl. Anim. Behav. Sci.* v.112 p.33–39, 2008.

CAPUCO, A.V.; SMITH, J.J.; WALDO, D.R.; REXROAD, C.E. Influence of prepubertal dietary regimen on mammary growth of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, v.78 p.2709-2725, 1995.

CAPUCO, A.V.; WOOD, D.L.; BALDWIN, R. et al. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: Relation to milk production and effect of bST. *J. Dairy Sci.*, v.84 p.2177-2187, 2001.

CHENG, X.B.; WEB, J.P.; YANG, J. et al. GnRH secretion is inhibited by adiponectin through activation of AMP-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinase. *Endocr. J.*, v.39 p.6-12, 2011.

CHENOWETH, P.J. Aspects of reproduction in female *Bos indicus* cattle: a review. *Aust. Vet. J.*, v.71 p.422-426, 1994.

CIECHANOWSKA, M.; ŁAPOT, M.; MALEWSKI, T. et al. Effects of GABA receptor modulation on the expression of GnRH gene and GnRH receptor (GnRH-R) gene in the hypothalamus and GnRH-R gene in the anterior pituitary gland of follicular-phase ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.111 p.235-248, 2009.

DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J.K. The development, nutrition and management of the young calf. Ames: Iowa State University Press, 1998. 339p.

DAVIS RINCHER, L.E.; VANDERHAAR M.J.; WOLF C.A. et al. Effect of intensified feeding of heifer calves on growth, pubertal age, calving age, milk yield, and economics. *J. Dairy Sci.*, v.94 p.3554–3567, 2011.

DAY, M.L.; IMAKAWA, K.; WOLFE, P.L. et al. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamo-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Biol. Reprod.*, v.37 p.1054-1065, 1987.

DE PASSILLÉ, A.M.; MARNET, P.G.; LAPIERRE, H. et al. Effects of nursing on milk ejection and milk yield during nursing and milking in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 91, p.1416-1422, 2008.

DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M. Expression and detection of oestrus in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, v. 40 p.481-491, 2000.

DOLECHECK, K.A.; SILVIA, W.J.; HEERSCHER Jr, G.; CHANG, Y.M.; RAY, D.L.; STONE, A.E.; WADSWORTH, B.A.; e BEWLEY, J.M. Behavioral and physiological changes around estrus events identified using multiple automated monitoring technologies. *J. Dairy Sci.*, v.98 p.1-9, 2015.

DOBOS, R.C.; NANDRA, K.S.; RILEY, K. et al. The effect of dietary protein level during the pre-pubertal period of growth on mammary gland development and subsequent milk production in Friesian heifers. *Livest. Prod. Sci.*, v.63 p.235–243, 2000.

DRACKLEY, J.K. Feeding for accelerated Growth in Dairy Calves. 2004. Disponível em: <<https://conservancy.umn.edu/handle/11299/109089>>. Acessado em: 30/11/2015 às 16:23.

ECKERT, E.; BROWN, H.E.; LESLIE, K.E. et al. Weaning age affects growth, feed intake, gastrointestinal development, and behavior in Holstein calves fed an elevated plane of nutrition during the preweaning stage. *J. Dairy Sci.*, v.98 p.1–12, 2015.

ESSELBURN, K.M. Ultrasonographic monitoring of mammary parenchyma growth in preweaned holstein heifers. 2012. 89 f. Thesis (Graduate Program in Animal Sciences) The Ohio State University, Ohio.

ESSELBURN, K.M.; HILL, T.M.; BATERMAN, H.G.; et al.; Examination of weekly mammary parenchymal area by ultrasound, mammary mass, and composition in Holstein heifers reared on 1 of 3 diets from birth to 2 months of age. *J. Dairy Sci.*, v.98 p.1–14, 2015.

FERREIRA, F. Fluidoterapia endovenosa e oral em bezerros com diarreia osmótica induzida. 2001. 71p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FETISSOV, S.O.; KOOP, J.; HOKFELT, T. Distribution of NPY receptors in the hypothalamus. *Neuropeptides*, v.38 p.175-188, 2004.

FOOTE, M.R.; NONECKE, B.J.; BEITZ, D.C.; WATERS, W.R. High growth rate dails to enhance adaptative responses of neonatal calves and is associated with reduced lymphocyte viability. *J Dairy Sci.*, v.90 p.404-417, 2007.

FORTES, M.; LEHNERT, S.; BOLORMA, S. et al. Finding genes for economically important traits: Brahman cattle puberty. *Anim Prod Sci.*, v.52 p.143–150, 2012.

FOSTER, D.L.; RYAN, K.D. Endocrine mechanisms governing transition into adulthood: a marked decrease in inhibitory feedback action of estradiol on tonic secretion of luteinizing hormone in the lamb during puberty. *Endocrinology*, v.105 p.896-904, 1979.

GARVERICK, H.A.; ZOLLERS, W.G.; SMITH, M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim. Reprod. Sci.*, v.28 p.111-124, 1992.

GASSER, C.L.; BEHLKE, E.J.; GRUM, D.E. et al. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *J. Anim. Sci.*, v.84 p.3118-3122, 2006.

GONZALEZ-PADILLA, E.; WILTBANK, J.N.; NISWENDER, G.D. Puberty in beef heifers. The interrelationship between pituitary, hypothalamic and ovarian hormones. *J. Anim. Sci.*, v.40 p.1091-1104, 1975.

GREENWOOD, R.H.; MORRILL, J.L.; TITGEMEYER, E.C. Using dry feed intake as a percentage of initial body weight as a weaning criterion. *J. Dairy Sci.*, v.80 p.2542–2546, 1997.

HILL, T.M.; BATEMAN, H.G.; ALDRICH, M.; SCHLOTTERBECK, R.L. Methods of reducing milk replacer to prepare dairy calves for weaning when large amounts of milk replacer have been fed. *Prof. Anim. Sci.*, v.28 p.332–337, 2012.

HINEY, J.; SRIVASTAVA, V.; NYBERG, C. et al. Insulin-like growth factor I of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty. *Endocrinology*, v.137 p.3717-3728, 1996.

HONARAMOOZ, A.J.; ARAVINDAKSHAN, R.K.; CHANDOLIA, A.P. et al. Ultrasonographic evaluation of the prepubertal development of the reproductive tract in beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, v.80 p.15-29, 2004.

JASPER, J.; WEARY, D.M. Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v.85 p.3054-3058, 2002.

WEARY, D.M.; JASPER, J.; HOTZEL, M.J. Understanding weaning distress. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, v.110 p.24-41, 2008.

KAUFFMAN, A.S. Coming of age in the Kisspeptin Era: Sex differences, development, and puberty. *Mol. Cell. Endocrinology*, v.324 p.51-63, 2010.

KERTZ, A.F.; PREWITT, L.R.; EVERETT, J.P. An early weaning calf program: summarization and review. *J. Dairy Sci.*, v.62 p.1835-1843, 1979.

KHAN, M.A.; LEE, W.S.; KIM, H.S. et al. Pre and postweaning performance of Holstein female calves fed milk through step-down and conventional methods. *J. Dairy Sci.*, v.90 p.876–885, 2007.

KIEZEBRINK, D.J.; EDWARDS, A.M.; WRIGHT, T.C. et al. Effect of enhanced whole-milk feeding in calves on subsequent first-lactation performance. *J. Dairy Sci.*, v.98 p.349-356, 2015.

LASTER, D.; SMITH, G.; CUNDIFF, L.; GREGORY, K. Characterization of biological types of cattle (Cycle II). Post weaning growth and puberty of heifers. *J. Anim. Sci.*, v.48 p.500–508, 1979.

LEAVER, J.D.; YARROW, N.H. Rearing of dairy cattle. Weaning calves according to their concentrate intake. *Anim. Prod.*, v.14 p.161–165, 1972.

MEYER, M.J.; CAPUCO, A.V.; ROSS, D.A. et al. Developmental and nutritional regulation of the prepubertal heifer mammary gland: I. Parenchyma and fat pad mass and composition. *J. Dairy Sci.*, v.89, n.11, p.4289-4297, 2006.

MEZA-HERRERA, C.; TORRES-MORENO, M.; LÓPEZ MEDRANO et al. Glutamate supply positively affects serum release of triiodothyronine and insulin across time without increases of glucose during the onset of puberty in female goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v.125 p.74-80, 2011.

MILLER-CUSHON, E.K.; BERGERON, R.; LESLIE, K.E.; DE VRIES, T.J. Effect of milk feeding level on development of feeding behavior in dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v.96 p.551–564, 2013.

MOALLEM, U.; WERNER, D.; LEHRER, H. et al. Long-term effects of ad libitum whole milk prior to weaning and prepubertal protein supplementation on skeletal growth rate and first-lactation milk production. *J. Dairy Sci.*, v.93 p.2639–2650, 2010.

MORAN, C.; QUIRKE, J.; ROCHE, J. Puberty in heifers: a review. *Anim Reprod Sci.*, v.18 p.167-182, 1989.

MORRISON, S.J.; WICKS, H.C.F.; CARSON, A.F. et al. The effect of calf nutrition on the performance dairy herd replacements. *Animal*, v.6 p.909–919, 2012.

NEVES, R.C.F. Investigation of automated activity monitoring systems for reproduction in dairy cattle. 2011 107f. Dissertação (Mestrado em Ciência) The University of Guelph, Guelph, 2011

NISHIMURA, M.; YOSHIDA, T.; EL-KHODERY, S. et al. Ultrasound imaging of mammary glands in dairy heifers at different stages of growth. *J. Vet. Med. Sci.*, v.73 p.19–24, 2011.

NOEL, S.D.; KEEN, K.L.; BAUMANN. Involvement of G protein-coupled receptor 30 (GPR30) in rapid action of estrogen in primate LHRH neurons. *J. Mol. Endocrinol.*, v.23 p.349-359, 2009.

OJEDA, S.; SKINNERS, M. "Puberty in the rat," in Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, ed. J. Neill. (New York/Oxford, UK: Elsevier/Academic), 2061-2126, 2006.

OJEDA, S.; LOMNICZI, A.; SANDAU, U. Glial–gonadotrophin hormone (GnRH) neurone interactions in the median eminence and the control of GnRH secretion. *J. Neuroendocrinol.*, v.20 p.732-742, 2008.

PINTO, S.; ROSEBERRY, A.G.; LIU, H. et al. Rapid Rewiring of Arcuate Nucleus Feeding Circuits by Leptin. *Science*, v.304 p.110-115, 2004.

RADCLIFF, R.P.; VANDERHAAR, M.J.; CHAPIN, L.T. et al. Effects of diet and injection of bovine somatotropin on pre-pubertal growth and first-lactation milk yields of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, v.83 p.23–29, 2000.

RAETH-KNIGHT, M.L.; CHESTER-JONES, H.; HAYES, S. et al. Impact of conventional or intensive milk replacer programs on Holstein heifer performance through six months of age and during first lactation. *J. Dairy Sci.*, v.92 p.799–809, 2009.

ROTH, B.A.; NEIL, N.M.; GYGAX, L.; HILLMANN, E. Influence of weaning method on health status and rumen development in dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v.92 p.645–656, 2009.

SCHILLO, K.K.; HALL, J.B.; HILEMAN, S.M. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *J. Anim. Sci.*, v.70 p.3994-4005, 1992.

SEJRSEN, K.; PURUP, S. Influence of prepubertal feeding level on milk yield potential of dairy heifers: a review. *J. Anim. Sci.*, v.75 p.828-835, 1997.

SEJRSEN, K.; PURUP, S.; VESTERGAARD, M.; FOLDAGER, J. High body weight gain and reduced bovine mammary growth: Physiological basis and implications for milk yield potential. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.19 p.93-104, 2000.

SHAMAY, A.; WERNER, D.; MOALLEM, U. et al. Effect of nursing management and skeletal size at weaning on puberty, skeletal growth rate, and milk production during first lactation of dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v.88 p.1460–1469, 2005.

SILPER, B.F.; LANA, A.M.Q.; CARVALHO, A.U. Effects of milk replacer feeding strategies on performance, ruminal development, and metabolism of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v.97 p.1016-1025, 2014.

SINHA, Y.N.; TUCKER, H.A. Mammary development and pituitary prolactin level of heifers from birth through puberty and during estrous cycle. *J. Dairy Sci.*, v.52 p.507-512, 1969.

SOBERON, F.; RAFFRENATO, E.; EVERETT, R.W.; VAN AMBURGH, M.E. Prewaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v.95 p.783-793, 2012.

SWEENEY, B.C.; RUSHEN, J.; WEARY, D.M.; DE PASSILLÉ, A.M. Duration of weaning, starter intake, and weight gain of dairy calves fed large amounts of milk. *J. Dairy Sci.*, v.93 p.148-152, 2010.

TERRÉ, M.; DEVANT, M.; BACH, A. Performance and nitrogen metabolism of calves fed conventionally or following an enhanced-growth feeding program during the preweaning period. *Livest. Sci.*, v.105 p.109-119, 2006.

TERRÉ, M.; DEVANT, M.; BACH, A. Effect of level of milk replacer fed to Holstein calves on performance during the preweaning period and starter digestibility at weaning. *Livest. Sci.*, v.110 p.82-88, 2007.

TERRÉ, M.; TEJERO, C.; BACH, A. Long-term effects on heifer performance of an enhanced-growth feeding programme applied during the preweaning period. *J. Dairy Res.*, v.76 p.331–339, 2009.

TURNER, C. The anatomy of the mammary gland of cattle. I. Embryonic development Research Bulletin of the Missouri Agricultural Experiment Station, 140 (1930), pp. 3–34

WEARY, D.M.; JASPER, J. e HOTZEL, M.J. Understanding weaning distress. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, v.110 p.24–41, 2008.

WHITLOCK B.K.; VANDEHAAR, M.J.; SILVA, K.F.P.; TUCKER, H.A. Effect of dietary protein on pre-pubertal mammary development in rapidly growing dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v.85 p.1516–1525, 2002.

WOLFE, M.; ROBERSON, M.; STUMPF, T. et al. Modulation of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in circulation by interactions between endogenous opioids and estradiol during the peripubertal period of heifers. *J. Reprod. Fertil.*, v.96 p.165-174, 1992.

WRAY, S.; GRANT, P.; GAINER, H. et al. Evidence that cells expressing luteinizing hormone-releasing hormone mRNA in the mouse are derived from progenitor cells in the olfactory placode. *Proc Natl Acad Sci.*, v.86 p.8132-8136, 1989.

YOSHIOKA, K.; SUZUKI, C.; ARAI, S. et al. Gonadotropin-releasing hormone in third ventricular cerebrospinal fluid of the heifer during the estrous cycle. *Biol. Reprod.*, v.64 p.563-570, 2001.

YUNTA, C.; TERRÉ, M.; BACH, A. Short and medium-term changes in performance and metabolism of dairy calves offered different amounts of milk replacers. *Livest. Sci.*, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2015.09.008>> Acessado em: 05/12/2015.

5. SITUAÇÃO DOS ANIMAIS NO PERÍODO PRÉ-EXPERIMENTAL:

Foram utilizadas 60 fêmeas mestiças Holandês x Gir em grupos genéticos $\frac{3}{4}$ Holandês, $\frac{7}{8}$ Holandês a Holandês puro por cruz (PPC). Os animais foram distribuídos aos tratamentos mantendo balanceamento quanto à composição genética, peso ao nascimento e concentração de proteína total sérica. Nasceram de abril a junho de 2014 e tiveram peso médio de $34,5 \pm 4,6$ kg. Foram alojados em abrigos individuais sobre pastagem tropical (*Cynodon* sp). Até 56 dias de idade, as fêmeas receberam quatro diferentes dietas líquidas em relação aos sólidos totais (ST): 13,5% (n=15),

16,1% (n=15), 18,2% (n=13), 20,4% (n=15). Todos os animais receberam de 5 a 56 dias de idade 6L de leite integral em duas refeições iguais em baldes as 08 e 16 h. A correção de ST feita com adição do sucedâneo Sprayfo Violeta SSP. Concentrado comercial (Soylac Rumen 20% floculado, Total Alimentos) e água foram fornecidos à vontade. O desaleitamento iniciou-se aos 56 dias de idade com o fornecimento da metade do volume inicial pela manhã. Aos 60 dias os animais foram desaleitados e permaneceram individualizados recebendo água, e o mesmo concentrado, sendo introduzida a dieta silagem de milho a partir dos 70 dias de idade. Todos os alimentos foram fornecidos à vontade em baldes com capacidade para 8 litros. Após o desaleitamento não houve diferença ($p < 0,05$) no consumo de concentrado, água e silagem para os animais experimentais. Aos 90 dias, o peso corporal, as medidas de desenvolvimento corporal e a eficiência alimentar estão apresentados na tabela 1. Dois animais do tratamento 18,2% ST foram retirados do experimento por motivo de morte e fratura de membro.

Tabela 1. Peso corporal (kg), eficiência alimentar (g/g) e medidas de crescimento corporal (cm) de novilhas aleitadas com diferentes % ST durante o aleitamento até os 90 dias de idade

Item	Grupos, % ST					EPM	<i>P</i> -valor ¹		
	13,5	16,1	18,2	20,4	T		P	TxP	
PC (kg)	101,5	104,9	107,1	110,7	2,36	0,01	<0,01	0,91	
Medidas de crescimento corporal (cm)									
Altura de cernelha	91,9	92,4	93,6	94	0,2	0,06	<0,01	0,53	
Perímetro torácico	100,5	101,5	103,9	104,3	0,3	<0,01	<0,01	0,29	
Largura de garupa	23,7	24,3	24,6	24,6	0,1	0,03	<0,01	0,89	
Eficiência alimentar	0,32	0,31	0,30	0,29	0,01	0,52	<0,01	0,99	

6. ARTIGO CIENTÍFICO

Increasing amounts of milk replacer powder added to whole milk and the post-weaning effects on performance, reproduction, glucose metabolism and mammary fat pad in dairy heifers.

ABSTRACT

The aim of this paper was to determine the effect of increasing total solids (TS) on the liquid diet composed of whole milk with addition of milk replacer powder in preweaning on performance, age at puberty, age at first insemination, glucose metabolism and mammary fat pad of dairy heifers. Crossbreed Holstein x Gyr heifers (n = 58) were distributed in four different treatments during preweaning period, which consisted of liquid diets with different TS concentrations: 13.5% (n = 15); 16.1% (n = 15); 18.2% (n = 13) and 20.4% (n = 15), provided up to 59 d of age. From 60 to 89 d of age the animals received the same starter from the preweaning period and corn silage was added to the diet at 70 d of age. From 90 to 104 d of age the animals were adapted to the postweaning diet. At 105 d of age, the animals were distributed in 4 collective paddocks, with electronic feed and water bins (Intergado® Ltd., Minas Gerais, Brazil) and received the same total diet ad libitum. Individual evaluations of feed and water intake, body weight and body development were performed until artificial insemination (AI) of heifers at 350 kg BW. Ultrasound mammary gland evaluations were performed from 120 d of age until puberty. Puberty was considered to have occurred when plasma progesterone concentrations of 1 ng/mL were present in 2 consecutive samples. The date of puberty was recorded as the time of the first of these samples were collected. Glucose tolerance test was performed at 280 d of age. The increased TS concentration of liquid feed during the preweaning period did not affect dry matter intake, performance, age at puberty, age at first AI, glucose metabolism and fat pad of the

mammary gland. However, measurements of hip width and heart girth linearly increased up to 150 and 240 d of age, respectively.

Key words: age at first artificial insemination, long-term effects, mammary gland, puberty

INTRODUCTION

Different strategies for increasing nutrient intake of liquid feed diets in the preweaning and their effects on the performance (Omid-Mirzaei et al., 2015; Azevedo et al., 2016a, b; Overvest et al., 2016), health (Obeidat et al., 2013; Ballou et al., 2015), behavior (Miller-Cushon et al., 2013; Guindon et al., 2015; Jensen et al., 2015), postweaning performance (Terré et al., 2009; Kiezebrink et al., 2015; Azevedo et al., 2016a), insulin resistance (Bach et al., 2013; MacPherson et al., 2016) and mammary gland development (Esselburn et al., 2015; Geiger et al., 2016a, b) of dairy heifers have been evaluated. These strategies aim to increase nutrient intake of the liquid diet compared to conventional liquid diet feeding (10% of BW at birth) for improving the future productivity of animals. Studies investigating the long-term effects of preweaning calf management with higher growth rates in reproductive traits, performance and gland development have shown variable results (Raeth-Knight et al., 2009; Yunta et al., 2015; Gelsinger et al., 2016). According to Bach et al. (2013), the supply of liquid diet twice a day intensively (8 L/d) led to lower insulin sensitivity during the preweaning period. Nevertheless, this effect was not evaluated in the long-terms.

The evaluation of mammary gland development (parenchyma and mammary fat pad) of heifers that received or not intensive nutrition is usually done after the slaughter (Capuco et al., 1995; Brown et al., 2005; Geiger et al. 2016a, b), and then it is unfeasible to follow the animal during its development, besides presenting high costs,

limiting the research. Nishimura et al. (2011); Albino et al. (2015) and Esselburn et al. (2015) used ultrasonography to evaluate developmental characteristics and lesions of the mammary gland in dairy heifers.

The aim of this study was to evaluate the effect of increased TS concentrations in whole milk added with milk replacer powder during the preweaning period and its long-term effects on performance, age at puberty, age at first artificial insemination (**AI**), glucose metabolism and development of the mammary gland of dairy heifers. Our hypothesis is that heifers fed higher TS levels of liquid diet will present a reduction in age at puberty and first AI, and may present alterations in glucose metabolism and in the fat pad of the mammary gland compared to the lower TS concentrations.

MATERIAL AND METHODS

The study was approved by the Ethics Committee of Embrapa Dairy Cattle, Brazil (protocol no. 21/2014). The experiment was conducted at the Embrapa Dairy Cattle Experimental Farm, located in Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brazil.

Animals, Housing, Management and Treatments

Holstein × Gyr crossbred heifers (n = 58) were used; their genetic composition was 5/8 or more Holstein and 3/8 or less Gyr. These heifers were previously part of the study conducted by Azevedo et al. (2016a) that evaluated the effect of increasing solids concentration by the addition of milk replacer powder (**MRP**) to whole milk on the performance, intake and health from 5 to 89 d of age. The animals were randomly distributed in four treatments, trying to maintain the balance of BW at birth, total plasma protein concentration and genetic composition. Detailed descriptions of the facilities, initial care and nutritional composition of the diets from preweaning (5 to 59 d of age) and postweaning (60 to 89 d of age) can be found in Azevedo et al. (2016a).

Prewaning treatments consisted of increasing amounts of MRP (Sprayfo Violet SSP, Sloten BV, Deventer, the Netherlands) added to 6 L/d of whole milk ($12.6 \pm 0.7\%$ TS, mean \pm SD; Table 1) to adjust the TS to expected concentrations of $13.5 \pm 0.53\%$ ($n = 15$), $16.1 \pm 0.03\%$ ($n = 15$), $18.2 \pm 0.14\%$ ($n = 13$) and $20.4 \pm 0.24\%$ ($n = 15$). The MRP was added to the whole milk immediately before it was supplied to the heifers. The total volume of treatment (6 L/d) was divided into 2 equal meals (0800 and 1600 h) and provided to heifers in buckets from 5 to 55 d of age. At 56 d of age, the total volume of liquid feed was reduced by half (3 L/d provided at 0800 h only) and heifers were weaned at 60 d of age. Starter (Soylac Rumen 20% Flocculated, Total Alimentos, Três Corações, Brazil) and water were offered *ad libitum* during the experimental period. At 70 d of age, corn silage was included in the diet. Between 90 and 104 d of age, heifers were housed in pens (280 m²/pen), distributed in four groups according to birth date, for socializing and adaptation to the total mix ration (TMR) composed by corn silage and concentrate.

At 105 d of age, heifers were moved, keeping the previous groups, to pens with 450 m² equipped with three electronic feed bins and one electronic water bin (Intergado® Ltd., Minas Gerais, Brazil). The TMR (Table 1) was offered twice a day (0800 and 1500h). TMR consisted of 2 kg concentrate/animal, including 1.2% mineral premix and corn silage *ad libitum*, which was adjusted weekly for 10% leftovers.

Animals were observed daily for any injury or disease problems and treated according to the normal farm management practices.

Intake, Performance and Growth

Performance, body frame development, feed and water intake of heifers were monitored from 105 d of age until the first AI. All heifers received an ear tag with a passive transponder (FDX - ISO 11784/11785; Allflex; Joinville, SC, Brazil), which

allowed the individual recording of daily feed intake and water consumption by the Intergado® electronic system, previously validated by Chizzotti et al. (2015). Feed efficiency was calculated using the ratio between ADG and total DM intake (Khan et al., 2007).

Heifers were weighed before morning feeding time at 7-d intervals using electronic scale (Toledo MGR – 2000, Brazil). Regression models were created to calculate the weight of the animals at the evaluated ages, from 120 d of age. The ADG was calculated as the difference in weight between the evaluated periods divided by the number of days within the interval. The morphometric measurements were performed every 14 d, in two replications, in a flat location, allowing the animals to remain with their limbs well-set. The withers height (distance from the withers to the ground) and hip height (from iliosacral tuberosity to the ground) were evaluated using a hipometer (Walmur, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil). The heart girth (directly behind the front legs) and the hip width (distance between the two iliac tuberosity) were evaluated with a tape (Bovitec, Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil).

Reproductive Performance

To determine the age of puberty, blood samples were collected weekly from each heifer that had reached 200 kg of BW. Blood was collected in EDTA tubes and plasma was immediately separated by centrifugation at 1500 g for 15 min and stored at -20° C until it was analyzed for progesterone concentrations using solid-phase radioimmunoassay kits (ImmuChem Coated Tube, ICN Paharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, CA, EUA). The intra-assay and inter-assay were 12% and 11%, respectively. In addition, all data were within the maximum and minimum points of the curve. Puberty was considered to have occurred when plasma progesterone concentrations of 1 ng/mL were present in 2 consecutive samples. The age of puberty was recorded as the time the

first of these samples was collected. BW at puberty was estimated by interpolation from 2 weekly weighing. The age at first AI was calculated as the age the animal reached 350 kg, since that was the BW stipulated for the beginning of the AI protocol. All evaluated animals had already entered puberty before reaching 350 kg.

Mammary Ultrassound

The mammary gland development in heifers was evaluated monthly, from 120 d of age until puberty. Ultrasound images were obtained always by the same evaluator using a B-mode ultrasound equipped with micro-convex transducer of 6 MHz frequency (DP 2200, Mindray, China). For the evaluation of the mammary glands (front and rear quarters), the animals remained standing and were contained in Coimma® Head Gate (Dracena, Sao Paulo, Brazil), with the probe in a standardized position with a 45° inclination in relation to the teat position, always in caudal-cranial direction (Nishimura et al., 2011). To improve the visualization of the images, the area to be evaluated was wetted with 70% alcohol and then the ultrasound gel was placed (Carbogel ULT®, Sao Paulo, Brazil).

An image of each mammary gland of each animal was captured. The images obtained were saved in BMP format and then transferred to the ImageJ® program (National Institutes of Health; <http://imagej.nih.gov/ijindex.html>) for further analysis. In each image, four squares with 20 mm² were randomly drawn, avoiding the area above the teat cistern by about 4 mm (Albino et al., 2015). The average pixels of each square was grouped to calculate the average pixels in each image. The average pixels of the front and rear mammary glands were obtained, grouped for each animal and in each period. Specifically, in 8-bit images, each pixel was represented numerically on a scale of 255 thousand shades of gray (0 = black; 255000 = white) according to its brightness (Ferreira and Rasband, 2011). The amplitude or brightness of pixels (0-255000 scale)

can be defined in terms of echogenicity, that is, structures with high capacity to reflect sound waves are hyperechoic and with more pixels (adipose tissue). Structures with limited capacity to reflect sound waves are hypoechoic and have fewer pixels (mammary parenchyma) (Albino et al., 2015).

Glucose Tolerance Test

Heifers (13.5% TS, n = 6; 16.1% TS, n = 6; 18.2% TS, n = 7, and 20.4% TS, n = 7) were given an intravenous glucose tolerance test (GTT) at 280 ± 5 d of age. To ensure that basal plasma glucose levels were achieved before the infusion, TMR was withdrawn 8 h before the GTT time. The GTT consisted of an intravenous infusion of glucose (0.3 g of glucose/kg of BW [50% dextrose solution]) (Glucose 50%, Isofarma®, Eusébio, Ceará, Brazil) via jugular catheter (administered over 1 min). The dose was based on previous studies reported in calves (Bach et al., 2013; Yunta et al., 2015). The GTT was measured 5 h post morning feeding (1300h). Blood samples were collected at -20, -10, -1, 0, 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, and 240 min relative to the glucose infusion. During sampling, heifers were restricted from access to TMR and water at all times.

Blood Samples

Each blood sample was collected using sodium-heparinized vacuum tubes for glucose analyses and vacutainers without anticoagulant for insulin analyses (BD Vacutainer Systems, Plymouth, UK), immediately chilled on ice, and then centrifuged at $1.800 \times g$ for 10 min. Plasma and serum were decanted and stored at -20°C until analyzed for glucose and insulin concentrations. Plasma glucose was measured on a microplate Spectrophotometer EON (Biotek Instruments Inc., Vermont, EUA) using an enzymatic colorimetric method (Kovalent do Brazil Ltda., Rio de Janeiro/RJ). The within-run and between-run CV were $\leq 3\%$. Insulin was analyzed using a bovine ELISA

kit (MercoDIA, Uppsala, Sweden). The within-run and between-run CV were ≤ 7.0 and 8.2%, respectively.

Nutritional Composition Analysis

Samples of the total diet, silage and concentrate supplied were collected three times a week, then mixed to form a weekly sample and stored at -20°C until processing and analysis could be completed as described under laboratory analysis. Feed samples (TMR and corn silage) were dried in a forced-ventilation oven at 55°C for 72 h, and were ground to a 1-mm particle size in a Wiley Mill (model 3, Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA). All samples were analyzed for DM, CP, ether extract, Ash, TDN, Ca and P, according to the International AOAC (1990). The NDF and ADF were analyzed in sequence using the method describe by Van Soest et al. (1991) (Table 1).

Statistical Analysis

Data were analyzed using SAS 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC). Regression models were generated for intake, performance and growth data to compare the animals among the periods of 120, 150, 180, 210 and 240 d of age. For glucose and insulin during the GTT, blood samples collected at -20 , -10 , and 0 min relative to glucose infusion were used to determine baseline concentrations of glucose and insulin. The maximum increase in glucose and insulin were the mean maximum concentrations achieved by each group post-glucose infusion, and the insulin/glucose rate at 10 min post infusion was calculated by dividing the insulin concentration by the glucose concentration at that evaluated time. The positive incremental area under the curve (AUC) for glucose and insulin was evaluated using the trapezoid rule for values above baseline and was calculated over 540 min for the postprandial responses and 60 min for the GTT. The clearance rate of glucose and insulin during the GTT were calculated using the method established by Pires et al. (2007):

$$\text{Clearance rate (\%/min)} = \{(\ln[ta] - \ln[tb]) / (ta - tb)\} \times 100,$$

where [ta] and [tb] are the concentration of insulin or glucose at times *ta* or *tb*, respectively. Furthermore, insulin sensitivity was estimated using a simplified model described by Christoffersen et al. (2009). Other studies that evaluated glucose metabolism in young and old heifers used similar methodologies (Bach et al., 2013; Yunta et al., 2015; MacPherson et al., 2016).

The variables before puberty and glucose metabolism were analyzed using a repeated-measures mixed model (PROC MIXED), including heifer as the random component and treatment, week, block (group genetic [$\frac{3}{4}$ Holstein (n = 20), $\frac{7}{8}$ Holstein (n = 28) e Holstein (n = 10)]), and their interaction as fixed components. The variables regarding the mammary gland development were analyzed using a repeated-measures mixed model (PROC MIXED), including heifer as the random component and treatment, week, block (group genetic), mammary gland (front and rear), and their interaction as fixed components. Differences among treatments were assessed using orthogonal polynomial contrasts to estimate linear, quadratic, and cubic effects of increasing TS concentrations of liquid feed during the preweaning. The differences between groups for the variables BW at puberty, body frame development at puberty, age at puberty and age at first AI were assessed using orthogonal polynomial contrasts to estimate linear, quadratic, and cubic effects of increasing TS concentrations of liquid feed during the preweaning. It was analyzed differences on average pixels in the mammary gland (front and rear) and differences between genetic groups, including mammary gland or genetic group as a fixed effect and using a Tukey adjustment for *P*-values. Least squares means for each treatment were reported. The variables age, BW at 280 d of age and body condition score were considered covariates for the glucose metabolism analyses. Significance was declared at $P \leq 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Intake, Performance and Growth Measurements from 120 to 240 d of age

Total dry matter intake and water consumption up to 240 d of age were similar among the treatments and increased with the age ($P \leq 0.01$; Table 2), following the same pattern observed by Azevedo et al. (2016a) at postweaning (60-90 d of age). At 120 d of age, the mean DMI was 3.2 kg/d (37%) lower than at 240 d of age (5.1 kg/d). The water consumption at 120 d of age was 14 kg/d, corresponding to 34% less than that observed at 240 d of age (21 kg/d).

Azevedo et al. (2016b) demonstrated that male calves receiving the same TS concentrations of liquid diet evaluated in the present study did not show differences in ruminal development, indicating similarity between the digestive and absorptive capacities of the animals. These results suggest that the provision of higher TS concentrations of liquid diet during the preweaning period did not affect the rumen development of heifers, therefore not compromising feed consumption in the postweaning period. The same was observed in other studies, which demonstrate that the provision of higher volume of liquid diet does not impair the development of the digestive tract, especially when strategies are adopted such as weaning at 57 d of age (Eckert et al. 2015) or gradual weaning (Khan et al., 2007, Sweeney et al., 2010; Silper et al., 2014)

The final BW, ADG, feed efficiency, as well as withers height and hip height up to 240 d of age were similar among treatments (Table 2). Interactions ($P \leq 0.05$; Table 2) among treatments and ages for heart girth and hip width up to 240 d of age were observed. Up to 180 d of age there was an increase (linear, $P \leq 0.05$) in the heart girth of heifers fed with higher TS concentrations in the liquid diet during the preweaning

period, with no effect after 210 d of age (Figure 1a). For hip height measurements, a linear growth ($P \leq 0.05$) was observed according to the increasing TS concentrations in the liquid diet during the preweaning period up to 120 d of age, with no effect after 150 d of age (Figure 1b). Disappearance of residual gains in the medium and long-terms were also observed by Kiezebrink et al. (2015), who did not find BW differences from 354 d of age in animals that received 4 or 8 L/d of liquid diet until 56 d of age and verified that differences in hip height disappeared at 112 d of age. Yunta et al. (2015) reported that at 300 d of age there was no difference in BW between heifers fed with 6 or 8 L/d of liquid diet during the preweaning period.

BW and Development at Puberty, and Reproductive Parameters

BW and body development measurements were similar among treatments (Table 3) at puberty. Age at puberty and age at first artificial insemination were similar among treatments (Table 3). The supply of 6 L/d of 13.5% TS in the liquid diet during the preweaning phase was sufficient to ensure satisfactory body development of the animals. Since there was no difference in ADG at postweaning, the onset of puberty occurred at a similar age between the groups. Therefore, the "carry over" effect of the greatest nutritional plan during the preweaning period on age at puberty and age at first AI did not occur. According to Schillo et al. (1992), puberty occurs when animals reach 40-50% of adult BW. Since there was no difference in BW between the animals from 120 d of age, the onset of puberty occurred at similar ages for all heifers.

Similar results were observed by Terré et al. (2009) and Yunta et al. (2015), who did not find differences in conception age and age at first calving in animals fed with 3 or 7 L/d of liquid diet and animals fed with 4.6 or 8.0 L/d, respectively. On the other hand, Shamay et al. (2005) verified that heifers receiving liquid diet *ad libitum* delivered 23 d before animals fed 450 g DM/d of liquid diet.

It is important to point out those heifers in this study entered puberty on average at 10 months of age, younger than previously reported by Facó et al. (2005) for crossbred HG heifers. It shows that crossbred animals raised under experimental conditions and with nutritional management adopted up to 90 d of age (Azevedo et al., 2016a) and in the preweaning period have potential to express precocity.

Glucose metabolism

The increase in glucose and serum insulin concentration after GTT (measured as the area under the curve) was similar between heifers that received different TS concentrations in liquid diet during the preweaning period (Table 4), indicating that the animals were able to control blood glucose effectively. The maximum concentration of glucose and insulin (above baseline) and glucose or insulin clearance time to reach basal concentrations were similar among treatments, justifying the similarity between insulin sensitivity among treatments (Table 4). This indicates that the provision of greater amounts of TS during the preweaning period in two daily supplies did not cause insulin resistance. Similar results were observed by MacPherson et al. (2016), who also did not find alterations in the glucose metabolism for heifers receiving 4 or 8 L/d of liquid diet and that were submitted to the GTT in the pre and the postweaning period.

In the present study, GTT was performed only in the postweaning period. If insulin resistance occurred at some stage of the animal's life, this condition disappeared before 280 d of age, when GTT was performed. Yunta et al. (2015) verified that differences in glycemia among the groups found in the preweaning period disappeared at 84 d of age and reversed at 300 d of age. Complementary, heifers receiving 8 L/d required lower amounts of insulin to control blood glucose than heifers who received 4 or 6 L/d of liquid diet in the preweaning period. These results indicate that the insulin resistance condition in animals with high nutrition levels during preweaning period may

occur, but it seems to be a transient condition. Studies of glucose metabolism in heifers at pre and postweaning periods should be performed to better understand the effect of diets on glucose metabolism, since the mechanisms of insulin secretion by the pancreas in response to concentrations of glucose after birth are not fully developed until several months after birth. After two months of age, specific changes occur in the liver and rumen gene expression to sustain the use of energy derived from ruminal fermentation (Grütter and Blum, 1991; Baldwin et al., 2004). During the transition in which the animal becomes completely ruminant with reduced supply of lactose as an energy source, adaptations in glucose metabolism occur (Baldwin et al., 2004), which may prevent the persistence of possible insulin resistance present in the previous period.

Mammary gland

The average pixels in the mammary fat pad area was not influenced by the TS concentrations of the liquid diet provided during the preweaning period (Table 5), with an increase in the average pixels as heifers developed ($P = 0.01$, Figure 1c). This indicates that the increase of fat pad in the mammary gland occurred according to age, with no residual effect of nutrition in the preweaning period on the development of the mammary gland in the postweaning period. According to Capuco et al. (2005), as the BW of animals increase, the fat pad of the mammary gland also increases. Meyer et al. (2006) found no differences in parenchyma composition among animals submitted to restricted or elevated nutritional plans, showing that the development of parenchyma seems to be more related to the chronological age than to nutrition. However, the fat pad is sensitive to nutritional changes and the higher the nutrient intake the greater the accumulation of lipids in the adipocytes, resulting in hypertrophy (Meyer et al., 2006). All animals were evaluated at the same age and there was no difference for BW and ADG in the studied periods, which may justify the absence of differences in mammary

fat pad among groups. These results, combined with that observed by Azevedo et al. (2016b), who reported that there was no change in the percentage of fat in the body composition of male dairy calves under diets with TS concentrations similar to that of the present study, support the hypothesis that the same has occurred for the body composition and the mammary gland of heifers.

Differences were observed for the average pixels among the evaluated quarters ($P = 0.01$), with higher pixel values in the rear mammary glands (108.489 ± 775 pixels) in relation to the front glands (105.048 ± 770 pixels).

CONCLUSIONS

Increasing TS in whole milk by adding milk replacer powder up to 20.4% during the preweaning phase did not affect intake, performance and age at puberty and age at first AI of dairy heifers, as well as did not alter glucose metabolism, and fat pad of the mammary gland. However, the increase in %TS in the liquid diet during the preweaning period linearly increased the measurements of hip width and heart girth up to 150 and 240 d of age, respectively. Studies evaluating the effect of increased TS concentrations of liquid diet on future lactation of the animals should be performed to better understand the impact of this diet on preweaning and its possible long-term benefits.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasília, Brazil), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, Minas Gerais, Brazil), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Minas Gerais, Brazil), and Embrapa Dairy Cattle (Minas Gerais, Brazil) for their financial support on this research.

REFERENCES

- 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.
- Arnold, J. W., J. K. Bertrand, L. L. Benyshek, and C. Ludwig. 1991. Estimates of genetic parameters for live animal ultrasound, actual carcass data, and growth traits in beef cattle. *J. Animal Sci.* 69:985-992.
- AOAC: Official Methods of Analysis of AOAC International. 1995. 16th ed. Arlington: AOAC International. Chapter 4: Animal Feed. Windham, W. R. p. 1-30.
- Azevedo, R. A., F. S. Machado, M. M. Campos, P. M. Furini, S. R. A. Rufino, L. G. R. Pereira, T. R. Tomich, and S. G. Coelho. 2016a. The effects of increasing amounts of milk replacer powder added to whole milk on feed intake and performance in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 99:8018–8027.
- Azevedo, R. A., F. S. Machado, M. M. Campos, D. R. G. Lopes, S. F. Costa, H. C. Mantovani, F. C. F. Lopes, M. I. Marcondes, L. G. R. Pereira, T. R. Tomich, and S. G. Coelho. 2016b. The effects of increasing amounts of milk replacer powder added to whole milk on passage rate, nutrient digestibility, ruminal

development, and body composition in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 99:1-13. (in press)

Bach, A., L. Domingo, C. Montoro, and M. Terré. 2013. Short communication: Insulin responsiveness is affected by the level of milk replacer offered to young calves. *J. Dairy Sci.* 96:4634–4637.

Baldwin, R. L. VI, K. R. McLeod, J. L. Klotz, and R. N. Heitmann. 2004. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant. *J. Dairy Sci.* 87(E. Suppl.):E55–E65.

Ballou, M. A., D. L. Hanson, C. J. Cobb, B. S. Obeidat, M. D. Sellers, A. R. Pepperyowell, J. A. Carrol, T. J. Earleywine, and S. D. Lawhon. 2015. Plane of nutrition influences the performance, innate leukocyte responses, and resistance to an oral *Salmonella enterica* serotype Typhimurium challenge in Jersey calves. *J. Dairy Sci.* 98:1972-1982.

Brown, E. G., M. J. Vandehaar, K. M. Daniels, J. S. Liesman, L. T. Chapin, J. W. Forrest, R. M. Akers, R. E. Pearson, and M. S. Nielsen. 2005. Effect of increasing energy and protein intake on mammary development in heifer calves. *J. Dairy Sci.* 88:595–603.

Capuco, A. V., J. J. Smith, D. R. Waldo, and C. E. Rexroad. 1995. Influence of prepubertal dietary regimen on mammary growth of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 78:2709–2725.

- Chizzotti, M. L., F. S. Machado, E. E. L. Valente, L. G. R. Pereira, M. M. Campos, T. R. Tomich, S. G. Coelho and M. N. Ribas. 2015. Technical note: validation of a system for monitoring individual feeding behavior and individual feed intake in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98:3438–3442.
- Christoffersen, B., U. Ribel, K. Raun, V. Golozoubova, and G. Pacini. 2009. Evaluation of different methods for assessment of insulin sensitivity in Gottingen minipigs: Introduction of a new, simpler method. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 297:R1195–R1201.
- Eckert, E., H. E. Brown, K. E. Leslie, T. J. DeVries, and A. Steele. 2015. Weaning age affects growth, feed intake, gastrointestinal development, and behavior in Holstein calves fed an elevated plane of nutrition during the preweaning stage. *J. Dairy Sci.* 98:1–12.
- Esselburn, M., T. M. Hill, H. G. Bateman, F. L. Fluharty, S. J. Moeller, K. M. O'diam, and K. M. Daniels. 2015. Examination of weekly mammary parenchymal area by ultrasound, mammary mass, and composition in Holstein heifers reared on 1 of 3 diets from birth to 2 months of age. *J. Dairy Sci.* 98:1–14.
- Facó, O., R. N. B. Lôbo, R. M. Filho, and F. A. M. Lima. 2005. Idade ao Primeiro Parto e Intervalo de Partos de Cinco Grupos Genéticos Holandês x Gir no Brasil. *Rev. Bras. Zootecn.* 34:1920-1926.

Ferreira, T. and W. S. Rasband. 2011. "ImageJ User Guide – IJ 146"
imagej.nih.gov/ij/docs/guide

Geiger, A. J., C. L. M. Parsons, R. E. James, and R. M. Akers. 2016a. Growth, intake, and health of Holstein heifer calves fed an enhanced pre-weaning diet with or without exogenous estrogen. *J. Dairy Sci.* 99:3995–4004.

Geiger, A. J., Parsons, C. L. M., & Akers, R. M. 2016b. Feeding a higher plane of nutrition and providing exogenous estrogen increases mammary gland development in Holstein heifer calves. *J. Dairy Sci.* 99:7642-7653.

Gelsinger, S. L., A. J. Heinrichs, and C. M. Jones. 2016. A meta-analysis of the effects of preweaned calf nutrition and growth on first-lactation performance. *J. Dairy Sci.* 99:1-9.

Grütter, R., and J. W. Blum. 1991. Original article Insulin and glucose in neonatal calves after peroral Division of Nutrition. *Reprod. Nutr. Dev.* 31:389–397.

Guindon, N. E., N. T. Antaya, R. G. Cabral, N. L. Whitehouse, T.J. Earleywine, and P. S. Erickson. 2015. Effects of human visitation on calf growth and performance of calves fed different milk replacer feeding levels *J. Dairy Sci.* 98:8952–8961.

Jensen, M. B., L. R. Duve, and D. M. Weary. 2015. Pair housing and enhanced milk allowance increase play behavior and improve performance in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 98:2568–2575.

- Khan, M.A., H. J. Lee, W. S. Lee, H. S. Kim, K. S. Ki, T. Y. Hur, G. H. Suh, S. J. Kang, and Y. J. Choi. 2007. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. *J. Dairy Sci.* 90:3376-3387.
- Kiezenbrink, D. J., A. M. Edwards, A. T. C. Wright, J. P. Cant, and V. R. Osborne. 2015. Effect of enhanced whole-milk feeding in calves on subsequent first-lactation performance. *J. Dairy Sci.* 98:349-356.
- MacPherson, J. A. R, H. Berends, L. N. Leal, J. P. Cant, J. Martin-Tereso, and M. A. Steele. 2016. Effect of plane of milk replacer intake and age on glucose and insulin kinetics and abomasal emptying in female Holstein Friesian dairy calves fed twice daily. *J. Dairy Sci.*, 99:1-11 (in press).
- Meyer, M. J., A. V. Capuco, D. A. Ross, L. M. Lintault, and M. E. Van Amburgh. 2006. Developmental and nutritional regulation of the pre-pubertal heifer mammary gland: parenchyma and fat pad mass and composition. *J. Dairy Sci.* 89:4289–4297.
- Miller-Cushon, E. K., R. Bergeron, K. E. Leslie, and T. J. DeVries. 2013. Effect of milk feeding level on development of feeding behavior in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 96:551–564.

- Moallem, U., D. Werner, H. Lehrer, M. Zachut, L. Liveshitz, S. Yakoby and A. Shamay. 2010. Long-term effects of ad libitum whole milk prior to weaning and prepubertal protein supplementation on skeletal growth rate and first-lactation milk production. *J. Dairy Sci.* 93:2639–2650.
- Nishimura, M., T. Yoshida, S. El-Khodery, M. Miyoshi, H. Furuokam, J. Yasuda, and K. Miyahara. 2011. Ultrasound imaging of mammary glands in dairy heifers at different stages of growth. *J. Vet. Med. Sci.* 73:19–24.
- Obeidat, B. S., C. J. Cobb, M. D. Sellers, A. R. Pepper-Yowell, T. J. Earleywine, and M. A. Ballou. 2013. Plane of nutrition during the preweaning period but not the grower phase influences the neutrophil activity of Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 96:7155–7166.
- Omidi-Mirzaei, H., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, B. Moshiri, M. Mirzaei, A. Pezeshki, and M. H. Graffari. 2015. Effects of the step-up/step-down and step-down milk feeding procedures on the performance, structural growth, and blood metabolites of Holstein dairy calves. *J. Dairy Sci.* 98:7975–7981.
- Overvest, M., R. Bergeron, D. B. Haley, and T. J. DeVries. 2016. Effect of feed type and method of presentation on feeding behavior, intake, and growth of dairy calves fed a high level of milk. *J. Dairy Sci.* 99:317–327.
- Raeth-Knight, M., H. Chester-Jones, S. Hayes, J. Linn, R. Larson and D. Ziegler. 2009. Impact of conventional or intensive milk replacer programs on Holstein heifer

performance through six months of age and during first lactation. *J. Dairy Sci.* 92:799–809.

Schillo, K. K., J. B. Hall, and S. M. Hileman. 1992. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *J Anim Sci.*70:3994-4005.

Shamay, A. D. Werner, U. Moallem, H. Barash, and I. Bruckental. 2005. Effect of nursing management and skeletal size at weaning on puberty, skeletal growth rate, and milk production during first lactation of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 88:1460–1469.

Silper, B. F., A. M. Q. Lana, A. U. Carvalho, C. S. Ferreira, A. P. S. Franzoni, J. A. M. Lima, H. M. Saturnino, R. B. Reis, and S. G. Coelho. Effects of milk re-placer feeding strategies on performance, ruminal development, and metabolism of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 97:1016-1025.

Sweeney, B. C., J. Rushen, D. M. Weary, and A. M. De Passillé. 2010. Duration of weaning, starter intake, and weight gain of dairy calves fed large amounts of milk. *J. Dairy Sci.* 93:148-152.

Terré, M., C. Tejero, and A. Bach. 2009. Long-term effects on heifer performance of an enhanced-growth feeding programme applied during the preweaning period. *J. Dairy Res.* 76:331–339.

Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.

Yunta, C., M. Terré, and A. Bach. 2015. Short- and medium-term changes in performance and metabolism of dairy calves offered different amounts of milk replacers. *Livest. Sci.* 181:249–255

TABLES AND FIGURES

Table 1. Nutrient composition (DM basis) of total mix ration (TMR) offered for heifers from 105 d of age to age at first artificial insemination

Item	Total mix ration
<hr/>	
Ingredient (DM basis, %)	
<hr/>	
Corn silage	70.0
Soybean meal	28.8
Mineral Premix ¹	1.2
<hr/>	
Nutrient composition (DM basis, %)	
<hr/>	
DM ²	48.2
CP	19.5
Ether extract	2.8
Ash	7.2
NDF	40.6
ADF	21.5
Total digestive nutrients	71.6
Phosphorus	0.4
Magnesium	0.6
<hr/>	

¹Mineral and vitamin composition: Calcium (192 g/kg), Cobalt (90 mg/kg), Copper (1500 mg/kg), Sulphur (25 g/kg), Fluorine (897 mg/kg), Phosphorus (80g/kg), Iodine (90 mg/kg), Magnesium (20 g/kg), Manganese (3000 mg/kg), Selenium (25 mg/kg), Sodium (103 g/kg), Vitamin A (160.000 IU/kg), Vitamin D3 (40.000 IU/kg), Vitamin E (1000 IU/kg), and Zinc (5000 mg/kg).

²As-fed basis.

Table 2. Postweaning (120 to 240 d of age) feed and water intake, performance, feed efficiency and body frame development of dairy heifers (n = 58) fed different TS contents in whole milk during the preweaning period (5 to 59 d of age)

Item	Treatment (TS% in whole milk)				SEM	<i>P</i> -value ¹		
	13.5	16.1	18.2	20.4		T	W	T x W
Intake								
DMI (kg of DM/d)	4.2	4.1	4.1	4.3	0.05	0.69	0.01	0.26
Water (kg/d)	18.1	17.1	18.8	18.5	0.28	0.55	0.01	0.41
Performance								
Final BW (kg)	180	180	178	186	2.3	0.56	0.01	0.91
ADG (g/d)	869	850	836	832	0.01	0.57	0.78	0.99
Feed efficiency	0.21	0.22	0.21	0.20	0.01	0.19	0.01	0.24
Body frame development (cm)								
Withers height	107	106	107	108	0.33	0.27	0.01	0.08
Heart girth	125	126	126	129	0.59	0.26	0.01	0.01
Hip width	36	37	36	37	0.26	0.56	0.01	0.02
Hip height	112	111	112	114	0.33	0.27	0.01	1.00

¹T = treatment effect; W = week effect; T x W = treatment by week interaction

Table 3. Body weight, body frame development, age at puberty and age at the artificial insemination of dairy heifers (n = 58) fed different TS contents in whole milk during the preweaning period (5 to 59 d of age)

Item	Treatment				SEM	Contrast, <i>P</i> -value	
	(% TS in whole milk)					Linear	Quadratic
	13.5	16.1	18.2	20.4			
BW at puberty (kg)	279	286	284	294	3.41	0.15	0.77
Body frame development at puberty(cm)							
Withers height	119	121	121	122	0.51	0.11	0.85
Heart girth	151	152	153	154	0.76	0.10	0.79
Hip width	48	49	48	49	0.32	0.71	0.88
Hip height	123	122	125	126	0.71	0.10	0.72
Age at puberty	292	308	308	315	4.73	0.10	0.60
Age at AI	392	389	400	391	4.66	0.85	0.79

Table 4. The effect of fed different TS contents in whole milk during the preweaning period (5 to 59 d of age) on glucose and insulin responses to an intravenous glucose tolerance test in dairy heifers (n = 26) with 280 d of age

Item	Treatment (% TS in whole milk)				SEM	Contrast, <i>P</i> -value ¹	
	13.5	16.1	18.2	20.4		Linear	Quadratic
Glucose baseline (mg/dL)	72.83	72.12	69.71	70.52	1.26	0.36	0.75
Insulin baseline (μU/mL)	2.73	2.36	3.09	2.56	0.28	0.93	0.90
Glucose AUC ¹ (mg/dL x 60 min)	3260.80	2603.87	3425.41	3882.17	176.27	0.08	0.09
Insulin AUC ¹ (μU/mL x 60 min)	1109.26	505.22	1060.57	567.35	137.81	0.37	0.84
Maximum glucose increase (mg/dL)	204.49	173.93	212.18	207.41	5.62	0.24	0.13
Maximum insulin increase (μU/mL)	20.85	20.57	21.76	23.10	2.56	0.76	0.89
Clearance rate of glucose (%/min)	0.45	0.39	0.45	0.38	0.02	0.50	0.98

Clearance rate of insulin (%/min)	1.26	0.95	1.25	1.49	0.10	0.27	0.21
Insulin to glucose ($\mu\text{U}/\text{mg}$) (10 min)	18.49	13.75	21.13	12.73	2.40	0.63	0.70
Insulin sensitivity ² ($\text{mL}/\text{min} \times \mu\text{U}/\text{mL}$ per kg of BW)	0.06	0.07	0.03	0.05	0.01	0.27	1.00

¹AUC: Area under the curve (discounting baseline concentration).

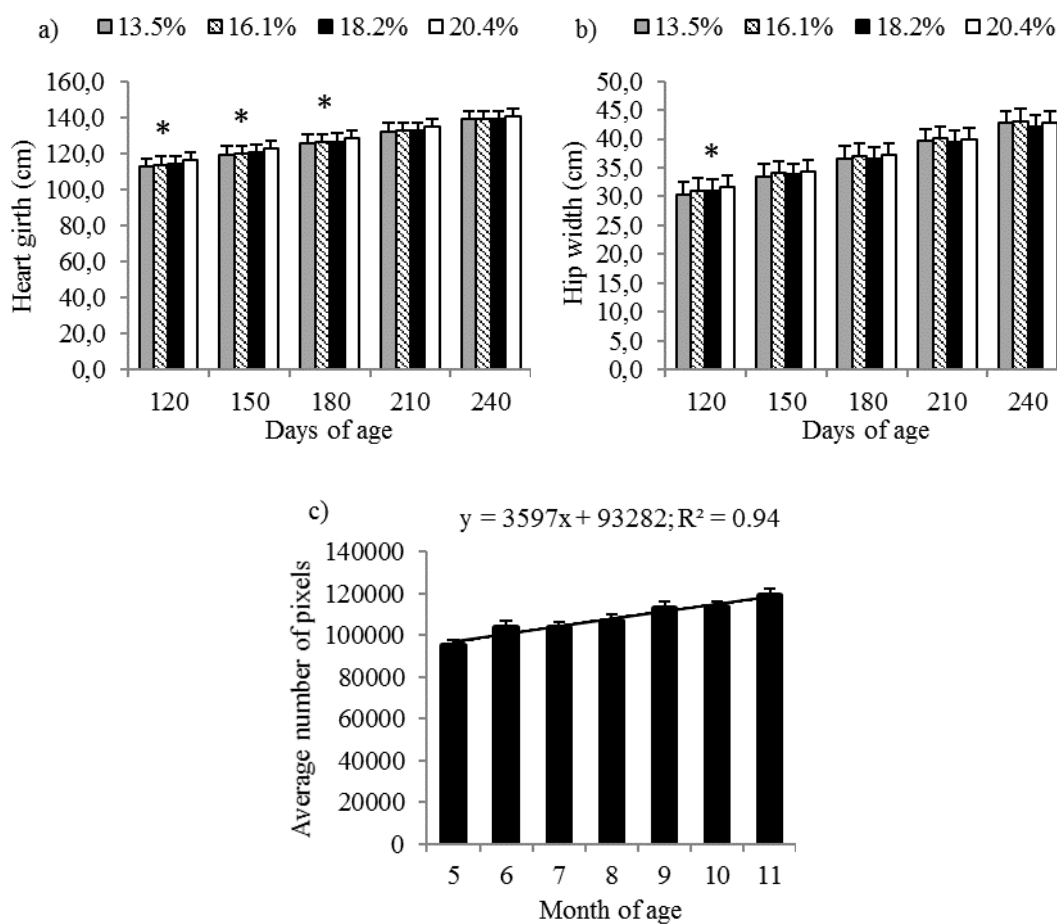
²Calculated according to Christoffersen et al. (2009).

Table 5. Average number of pixels of the front and rear mammary glands pooled for each animal from 4 months of age to puberty in heifers (n = 58) fed different TS contents in whole milk during the preweaning period (5 to 59 d of age)

Item	Treatment (% TS in whole milk)				SEM	<i>P</i> -value ¹						
	13.5	16.1	18.2	20.4		T	W	MG	T x W	T x MG	W x MG	T x W x MG
Average												
number of pixels	106.633	111.693	106.244	106.109	549.80	0.08	0.01	0.01	0.76	0.75	0.76	0.99

¹T = treatment effect; W = week effect; MG = mammary gland effect; T x W = treatment by week interaction; T x MG = treatment by mammary gland interaction; W x MG = week by mammary gland interaction; T x W x MG = treatment by week by mammary gland interaction.

Figure 1. (a) heart girth (cm) and (b) hip width during the postweaning period (120 to 240 d of age) and (c) Average number of pixels of the front and rear mammary glands pooled for each animal from 5 to 11 months of age in dairy heifers fed different TS contents (13.5, 16.1, 18.2, and 20.4%) in liquid diet *Linear effect of treatments ($P \leq 0.05$). Error bars represent SE.



Lage. Figure 1.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse e em outros experimentos os efeitos do aumento do volume de leite ou sucedâneo fornecido durante o aleitamento não foram mantidos até a puberdade. Não foram observados efeitos das dietas utilizadas durante o aleitamento sobre o desenvolvimento da glândula mamária. Mais experimentos que avaliam os efeitos de longo prazo devem ser feitos para melhor entendimento dos efeitos da nutrição na fase inicial sobre o ganho de peso e desenvolvimento corporal pós-desaleitamento dos animais e índices reprodutivos e produtivos como produção de leite na primeira lactação. Experimentos que incluam avaliação da imunidade e avaliação financeira são interessantes para melhor entendimento do custo-benefício das diferentes estratégias de nutrição sempre levando em consideração os conceitos de bem-estar na produção animal.