

PEDRO AUGUSTO MARINHO PATRIOTA LIMA

**EFEITOS DA DIETA RICA EM CAROÇO DE ALGODÃO CONTENDO
GOSSIPOL NA FERTILIDADE DE MACHOS OVINOS DESLANADOS**

**GARANHUNS - PE
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E
REPRODUÇÃO DE RUMINANTES**

PEDRO AUGUSTO MARINHO PATRIOTA LIMA

**EFEITOS DA DIETA RICA EM CAROÇO DE ALGODÃO CONTENDO
GOSSIPOL NA FERTILIDADE DE MACHOS OVINOS DESLANADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco / Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE/UAG), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro

Co-orientadora:

Profa. Dra. Maria Madalena Pessoa Guerra

GARANHUNS-PE

2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E
REPRODUÇÃO DE RUMINANTES**

**EFEITO DA DIETA RICA EM CAROÇO DE ALGODÃO CONTENDO
GOSSIPOL NA FERTILIDADE DE MACHOS OVINOS DESLANADOS**

Dissertação de mestrado elaborada por

PEDRO AUGUSTO MARINHO PATRIOTA LIMA

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. GUSTAVO FERRER CARNEIRO

Presidente da Banca - Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE

Prof. Dr. AIRON APARECIDO DE MELO

UFRPE/ Unidade Acadêmica de Garanhuns

Profa. Dra. ANDREIA FERNANDES SOUZA

Departamento de Zootecnia - UFRPE

Prof. Dr. CLÁUDIO COUTINHO BARTOLOMEU

DMV - UFRPE

Ficha Catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Setorial UFRPE/UAG

L732e Lima, Pedro Augusto M. Patriota
Efeitos da dieta rica em caroço de algodão contendo
gossipol na fertilidade de machos ovinos deslanados /
Pedro Augusto M. Patriota Lima. _Garanhuns, 2013.

34f.

Orientador: Gustavo Ferrer Carneiro
Dissertação (Mestrado Sanidade e Reprodução de
ruminantes) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco – Unidade Acadêmica de Garanhuns,
2013.

Inclui Anexos e bibliografias

CDD: 636.31

1. Ovinocultura
 2. Reprodução-fertilidade
 3. Infertilidade
 4. Plantas tóxicas –gossipol
 5. Pequenos ruminantes
- I. Carneiro, Gustavo Ferrer
 - II. Título

Dedico esse trabalho ao sertão e ao sertanejo bairsta.

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, meu amigo e companheiro de todas as horas, que me dá discernimento e coragem em toda minha vida.

A meu pai Antonio José de Lima e minha mãe Maria Helena Marinho Patriota Lima

A meus irmãos Ton e Manu, pela amizade e elucubrações sobre a vida, as vidas e os mundos.

Aos carneiros coletados, por toda colaboração e as ovelhas manequins
``Amorosa``e``Ovelhona``.

A Ermilto, por tratar dos animais e me ajudar nas coletas.

Ao Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro, pela paciência, confiança e maneira singular de orientar.

A todos que fazem o ANDROLAB.

Ao Prof. Dr. Valdemiro Junior e suas orientandas Simone e Sandra;

Aos colegas e todos os professores do mestrado;

A todos que fazem a Clínica de Bovinos de Garanhuns, UFRPE e UAG

A todos que encontrei nessa jornada e de alguma forma me ajudaram;

Ao apoio financeiro da CAPES.

*O Nordeste é viável, com certeza
Irigado, o sertão vira um jardim
Pra crescer a lavoura e o capim
O bastante é ajudar a natureza
Irigar plantação, fazer represa
Como existe nas terras do Egito
Para o povo, haverá o pão bendito
Para o bruto animal, água e ração
Eu já vi cabra magra no sertão
Dando leite escorada no cabrito*

Estrofe do Poema “A cabra sertaneja” de Gregório Filó

RESUMO

Efeito da dieta rica em caroço de algodão contendo gossipol na fertilidade de machos ovinos deslanados.

O gossipol é um pigmento polifenólico amarelo ($C_{30}H_{30}O_8$), de natureza tóxica que está presente em todas as partes do algodoeiro e em seus derivados primários. Experimentos realizados mostram os efeitos colaterais na reprodução causadas por rações contendo alta porcentagem de farelo ou caroço de algodão e afirmam que o gossipol pode afetar de maneira multiforme o sistema reprodutivo, causando anormalidade nos espermatozoides e consequente infertilidade. Nesse trabalho foram analisados os efeitos causados pela dieta rica em caroço de algodão contendo gossipol no sêmen de ovinos deslanados da Raça Santa Inês. Para isso, o trabalho foi desenvolvido com 22 ovinos machos, em idade reprodutiva, os quais foram divididos em dois grupos, sendo os animais confinados em baias individuais. O grupo gossipol (Gg = 15), suplementado com 500g de caroço de algodão e o grupo controle (Gc = 7), suplementado com 500g de milho. Os dois grupos foram suplementados durante 104 dias e foram submetidos a coletas de sêmen, pelo método da vagina artificial e aferições de circunferência escrotal (C.E.), antes (7dias), durante (em intervalos de 15 dias) e depois (14 dias) do período de suplementação. Não houve diferença estatística na média de circunferência escrotal (C.E.) sendo a média do grupo tratamento e do grupo controle respectivamente 27,07 cm e 27,08 cm. As variáveis observadas no sêmen foram: coloração, aspecto, volume, turbilhonamento, motilidade, concentração, vigor e morfologia espermática. Para coloração e aspecto as análises foram qualitativas e não foram observadas diferenças nessas variáveis. A média do volume seminal para os animais que consumiram caroço de algodão foi de 1,04 ml e para os que não consumiram foi de 0,94 ml. Nas variáveis de turbilhonamento, motilidade, vigor, concentração e morfologia não houve diferença significativa sendo os valores do grupo tratamento respectivamente 4,12 – 81,6% - 4,26 – 3,57 x 10⁹sptz/ml – 6,7% e do grupo controle 3,91 – 74,77% – 4,07 – 3,48 x 10⁹sptz/ml – 5,97%. Após o término da última coleta de sêmen cinco animais sofreram orquiectomia unilateral, sendo dois do grupo controle e três do grupo gossipol. O material foi utilizado para realização de exame histopatológico comparativo em historesina, onde não apresentou diferença significativa entre tratamento e controle quanto ao diâmetro de túbulo seminífero, e apresentou diferença na altura do epitélio seminífero. Tendo o grupo gossipol maiores medidas de epitélio do que o grupo controle. A altura do epitélio seminífero é uma característica efetiva para a avaliação da produção espermática, entretanto nesse estudo não houve diferença significativa na concentração espermática entre grupo controle e tratamento demonstrando que essa diferença não afetou a produção espermática. Dois dos três animais castrados do grupo gossipol foram utilizados para um teste de fertilidade, onde cobriram 10 ovelhas férteis durante 90 dias, resultando em 6 prenheses positivas. Os resultados da pesquisa mostram que a suplementação com caroço de algodão não influenciou a qualidade espermática, a morfometria testicular, a capacidade fertilizante dos espermatozoides e a morfologia dos túbulos seminíferos.

Palavras-chave: Gossipol. Reprodução. Ovinos. Fertilidade.

ABSTRACT

Effect of cotton seed-rich diet containing gossypol in hair male sheep fertility.

The gossypol is a Polyphenolic yellow pigment ($C_{30}H_{30}O_8$), toxic that is present in all parts of cotton plant and its derivatives. Experiments show the reproductive side effects caused by feed containing high percentage of bran or cottonseed and claim that gossypol might affect in different ways the reproductive system, causing sperm abnormalities and subsequent infertility. In this work, it was examined the effects caused by diet rich in cottonseed containing gossypol on hair sheep ram semen Santa Inês Breed. The work was performed with 22 rams, sexually mature, which were divided into 2 groups, being the animals confined in individual stocks. The gossypol group ($G_g = 15$), was supplemented with 500g of gossypol cottonseed and the control group ($G_c = 7$), supplemented with 500g of corn. The two groups were supplemented during 104 days and underwent semen collections, by the method of artificial vagina and measurements of scrotal circumference (C.E.), before (7 days), during (at intervals of 15 days) and after (10 days) the supplementation period. Non o statistical difference was seen in the mean C.E. group being treatment and control group respectively 27.07 cm and 27.08 cm. The variable observed in the semen were: color, aspect, volume, whirling, motility, concentration, vigor and sperm morphology. For color and aspect analyses were qualitative and no differences were seen in these parameters. The mean for seminal volume for animals who consumed cottonseed was 1.04 ml and for control group was 0.94 ml with no significant difference. In the variable whirling, motility, vigor, concentration and morphology there was no statistical difference and the results was respectively 4.12-81.6%-4.26-3.57 x 10⁹/ml sptz – 6.7% and 3.91 control group – 74.77%-4.07-3.48 x 10⁹ sptz/ml-5.97%. After the last semen collection 5 animals from gossypol group and 2 animals from control group was submitted to unilateral orchiectomy. The material was used to perform the comparative Histopathological examination in historesin, No difference in seminiferous tubule diameter was seen between control and gossypol group. There was a significant difference in seminiferous epithelium height, having a larger measurement at gossypol epithelium compared with control group. The height of seminiferous epithelium is an effective feature for sperm production assessment, however in this study there was no significant difference in sperm concentration between control and treatment group demonstrating that this difference did not affect sperm production. Two out of the three castrated animals from gossypol group were used as a fertility test exposing them to 10 fertile ewes during 90 days, resulting in 6 pregnancies. The results showed that supplementation with cottonseed gossypol rich-diet did not influence sperm quality, testicular morphology, fertilization capacity and seminiferous tubules morphology.

Keywords: Fertility. Gossypol. Reproduction. Ovines.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Quantidade de gossipol livre em miligrama por quilograma, nas sementes provenientes da Bahia, Mato Grosso e Piauí.....33

TABELA 2 Médias das variáveis seminais e da circunferência escrotal de carneiros deslanados suplementados com 500g de caroço de algodão/dia (tratamento) e suplementados com 500g de milho/dia (controle), obtidas no 1º dia do experimento.....36

TABELA 3 Médias das variáveis seminais e da circunferência escrotal de carneiros deslanados suplementados com 500g caroço de algodão/dia (tratamento) e suplementados com 500g de milho/dia (controle), obtidas no 60º dia de experimento.....37

TABELA 4 Médias das variáveis seminais e da circunferência escrotal de carneiros deslanados suplementados com 500g de caroço de algodão/dia (tratamento) e suplementados com 500g de milho/dia (controle), obtidas no 118º dia do início do experimento.....38

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1a. Estrutura Molecular do gossipol.....20

Trabalho Científico

Figura 1. Fotomicrografias dos testículos de ovinos Santa Inês adultos suplementados com caroço de algodão e milho.....40

Figura 2. Parênquima testicular de animais do grupo tratamento suplementado com caroço de algodão. Túbulos seminíferos (TS) em secção transversal e espaço intertubular (EIT). Aumento 100X.....41

Figura 3. Detalhe do grupo controle suplementado com milho. Notar obliteração luminal por células germinativas descamadas e degeneradas (estrela), células gigantes sinciciais apoptótica (seta preta) e espaço intertubular (EIT) aumentado. Aumento 400X.....41

Figura 4. Detalhe do túbulo seminífero (TS) em corte transversal grupo suplementado com caroço de algodão. Observar túbulos seminíferos no estágio VII e VIII do ciclo do epitélio seminífero e espessamento da túnica própria (seta vermelha). Aumento 400X.....41

Gráfico 1. Evolução da motilidade espermática de carneiros deslanados suplementados e não suplementados com caroço de algodão nos dias 30, 60, 90 e 118 do início do experimento (não houve diferença estatística $P>0,05$).....38

Gráfico 2. Evolução da concentração espermática de carneiros deslanados suplementados e não suplementados com caroço de algodão nos dias 30, 60, 90 e 118 do início do experimento (não houve diferença estatística $P>0,05$).....39

LSTA DE ABREVIATURAS

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ABRAPA	Associação Brasileira dos Produtores de Algodão
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
PB	Proteína Bruta
FDN	Fibra em Detergente Neutro
ED	Energia Digestível
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
RNA	Ácido Ribonucleico
NRC	National Research Council
TS	Túbulo Seminífero
EIT	Espaço Intertubular
ELL	Energia Líquida de Lactação
Vol.	Volume
C.E.	Circunferência Escrotal
Gg	Grupo Gossipol
Gc	Grupo Controle
Sptz.	Espermatozoides

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVO.....	16
2.1 Geral.....	16
2.2 Específicos.....	16
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1 Característica da cultura de algodão no Brasil.....	17
3.2 O Gossipol.....	19
3.3 Efeitos do Gossipol na Reprodução.....	21
REFERÊNCIAS.....	24
ARTIGO CIENTÍFICO	28
ANEXOS	44
Anexo A. Carneiros do experimento confinados em baias individuais.....	45
Anexo B. Animais se alimentando de caroço de algodão à direita e já alimentados com Milho a esquerda.....	45
Anexo C: Laudo da amostra de algodão da Bahia, utilizada durante o experimento.....	46
Anexo D: Laudo da amostra de caroço de algodão proveniente do Estado do Piauí	47
Anexo E: Laudo da amostra de algodão proveniente do Estado do Mato Grosso.....	48

1 INTRODUÇÃO

Segundo o censo agropecuário do IBGE (2010) o Brasil possui 17.380,58 ovinos, sendo o Nordeste brasileiro a região que apresenta o maior efetivo dessa espécie, com 9.857,754 animais. Nessa parte do país a maioria do rebanho ovino pertence a raças deslanadas adaptadas ao semiárido e exploradas principalmente para produção de carne e pele. Segundo Viana (2008), a ovinocultura no Nordeste brasileiro cresceu significativamente nos últimos anos. Os rebanhos começaram a ser explorados economicamente com a introdução de raças especializadas, melhoramento genético e técnicas de manejo que propiciaram a elevação da produtividade.

O aumento do interesse econômico pela ovinocultura no Brasil fez com que também aumentasse o interesse científico por essa espécie, e esses estudos já mapearam muitos pontos importantes nessa atividade, desde os fatores socioeconômicos aos fatores técnicos de criação. (MOURA et al 1999).

Dentro do aspecto técnico de criação, três pontos estão intrinsicamente ligados, a nutrição, a sanidade e a reprodução. Nesses últimos 15 anos, muito se estudou e se descobriu sobre esses três pontos supracitados, principalmente sobre a reprodução dos ovinos, que com o advento das biotecnologias, teve lugar de destaque em universidades e centros de pesquisas de todo o país. (VIANA, 2008)

Um das linhas de pesquisa mais estudadas dentro da reprodução e de suas biotecnologias é a andrologia, o macho e suas células germinativas, pois a facilidade com que se consegue colher e manipular os seus gametas fez com que inúmeros trabalhos relacionados a esse gênero fossem realizados (SINGH, 2004).

Com essa atenção dispensada aos reprodutores ovinos, muito se descobriu sobre sua capacidade fertilizante. A fertilidade de um macho reprodutor está relacionada a vários fenômenos: produção de espermatozoides viáveis, desejo sexual ou libido e a habilidade de praticar a cobertura. O reprodutor infértil é rapidamente identificado, porém aquele com fertilidade reduzida apresenta sérios problemas e ocasiona perdas econômicas para os criadores (HAFEZ, 2004).

Como se sabe, o fator nutricional está intimamente ligado ao fator reprodutivo e juntamente com a sanidade formam um tripé que dá sustentação a produção. De maneira geral, os ovinos podem ser mantidos exclusivamente em regime de pastagem, tendo sempre à vontade água e sal mineral. No entanto, em determinadas situações relacionadas à época do ano, exigência da categoria animal e manejo do rebanho, pode ser necessário o fornecimento de um suplemento ou complemento alimentar (BELUZZO et al 2001).

Em decorrência da irregularidade na oferta quantitativa e qualitativa dos recursos forrageiros da região semiárida do nordeste brasileiro, devido às variações climáticas, a produtividade animal nessa região é bastante comprometida. O uso de alternativas alimentares tem sido frequentemente recomendado para criadores da região, no intuito de suprir a deficiência nutricional dos seus rebanhos (CUNHA, 2006).

Culturalmente alguns dos subprodutos mais utilizados na alimentação de ruminantes no Nordeste são os provenientes do cultivo do algodão, como a semente, a torta, o briquete e o farelo, pois a cotonicultura foi durante muito tempo uma das principais atividades econômicas Nordestinas e seus subprodutos, desde então, são utilizados na suplementação de ruminantes (FARIAS, 2012).

No cenário atual o Brasil é o quinto maior produtor de algodão do mundo, com safra recorde de 1,8 milhões de toneladas na safra 2011/2012 de pluma e 5,2 milhões de toneladas de caroço (ABRAPA, 2012). O Mato Grosso é o maior produtor do Brasil, com 2,7 milhões de toneladas de caroço, seguido da Bahia, com 1,5 milhões de toneladas. O Piauí e Maranhão são importantes produtores do Nordeste (CONAB, 2012). A grande maioria da semente de algodão destinada à ração animal do Nordeste é proveniente da Bahia, Piauí e Maranhão, pois o custo com o transporte é menor e existe uma maior facilidade de acesso dos entrepostos de sementes do interior aos fornecedores (CONAB, 2012).

O caroço de algodão é um dos subprodutos da cotonicultura mais utilizados como ração animal, pois além de altos teores de proteína bruta (PB), de fibras em detergente neutro (FDN), possui altos níveis de energia digestível (ED), caracterizando-se como uma excelente fonte de alimentação para ruminantes (GADELHA, 2011).

Agregado as características benéficas dos derivados do algodão vem um fator antinutricional chamado gossipol. O gossipol é um pigmento polifenólico amarelo ($C_{30}H_{30}O_8$), de natureza tóxica que está presente em todas as partes do algodoeiro e em seus derivados primários (PESCE, 2008). Diversos trabalhos científicos foram desenvolvidos para se estudar os efeitos negativos causados pelo gossipol, chegando a conclusões que ele é altamente tóxico para monogástrico e pode causar intoxicação crônica em ovinos (BOVINO et al 2008). Outros trabalhos mostram os efeitos colaterais na reprodução causadas por rações contendo alta porcentagem de farelo ou caroço de algodão, como os desenvolvidos por Arshami e Ruttle (1988) que afirmam que o gossipol pode afetar de maneira multiforme o sistema reprodutivo e Cunha (2006), que afirma que ele pode causar anormalidade nos espermatozoides e infertilidade no macho.

Analisando o efeito da suplementação com caroço de algodão contendo gossipol sobre o aparelho reprodutivo e sobre o sêmen de reprodutores ovinos pôde-se determinar se realmente a

semente de algodão atualmente comercializada e utilizada por produtores do Nordeste, como ração animal, é prejudicial à fertilidade de machos da espécie ovina e quais as patologias que a semente contendo gossipol, oferecida em altas proporções na dieta, poderia causar, tanto nas características seminais como nas características de morfologia testicular.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da dieta rica em caroço de algodão contendo gossipol na reprodução de machos ovinos deslanados.

2.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar as características macroscópicas (volume, aspecto, coloração) e microscópicas (turbilhonamento, motilidade, concentração e morfologia) do sêmen dos reprodutores ovinos submetidos a uma dieta rica em caroço de algodão contendo gossipol;
- b) Observar os efeitos da dieta rica em caroço de algodão contendo gossipol na morfologia dos tecidos germinativos testiculares através de análises histopatológica em historesina comparado ao grupo controle.
- c) Avaliar o potencial de fertilidade de espermatozoides dos machos do grupo tratamento;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Características da Cultura do Algodão no Brasil

A cultura do algodão no Brasil é uma atividade caracterizada por ciclos de expansão e declínio seculares. Quando os portugueses chegaram às terras que hoje constituem o Brasil, o algodão, em sua espécie arbórea (*Gossypium hirsutum*), já era conhecido dos moradores locais. Porém, sua exploração como cultura comercial teve início por volta de 1750, no Maranhão. Após a grande seca de 1845 e a dizimação de quase todo rebanho bovino da região Nordeste, o cultivo do algodão espalhou-se pelo semiárido, e passou a ter destaque na economia regional com a crise do açúcar a partir da década de 1880. Em 1905, o algodão era o cultivo mais importante da economia local. Orientado para o mercado interno, o algodão nordestino perderia importância como matéria-prima para a indústria têxtil do Sudeste, paulatinamente, a partir de meados da década de 1910. As crises da cotonicultura nordestina estavam ligadas às secas e à redefinição da cafeicultura paulista na década de 1930; porém, sua crise definitiva foi em decorrência da praga do bicudo ao final da década de 1980. (MAPA, 2012)

O algodão (*Gossypium* sp) selvagem, presente em muitas regiões da Austrália, África, América Central, Brasil, México e região sul dos Estados Unidos, tem como centros de origem a Ásia e a América. Estão registradas 39 espécies de algodão e, a despeito de muitas não serem exploradas economicamente, representam valiosa fonte genética. Nos dias atuais apenas cinco espécies são utilizadas de forma significativa: Egípcio, Sea Island, Pima Americano, Asiático e o American Upland, destacando-se o American Upland (*Gossypium hirsutum*) e o Pima Americano (*Gossypium barbadense*) (MAPA, 2012).

O algodoeiro pertence ao grupo de plantas dicotiledôneas, da família Malvaceae ao gênero *Gossypium*. É uma planta ereta, anual ou perene, dotada de raiz principal cônica, pivotante, profunda, e com pequeno número de raízes secundárias grossas e superficiais. O caule herbáceo ou lenhoso, tem altura variável e é dotado de ramos vegetativos e ramos frutíferos, é de clima tropical, algumas cultivares podem desenvolver-se em regiões de temperatura amena. A planta também flora em regiões semiáridas. As precipitações pluviométricas anuais necessárias são entre 500 mm³ e 1500 mm³ distribuídas ao longo do ciclo (SEAGRI -BA).

A principal produção do algodoeiro é o fruto e sua massa é composta pelas sementes (52%), fibras (40%) e demais estruturas botânicas (8%). As sementes contêm óleo, fibras,

proteínas e tegumentos. Já as fibras, estruturas compostas por camadas de celulose, são o principal produto econômico do algodoeiro (BELTRÃO, 1999).

A semente é um subproduto dessa cultura quase tão importante quanto à pluma, pois dela se extrai o óleo e a torta de algodão, que ainda hoje, mesmo com a diminuição drástica da distribuição da cultura nos Estados do Nordeste, ainda é base de alimentação para muitos rebanhos nordestinos, assim como a própria semente *in natura*, denominada de caroço de algodão.

A área plantada de Algodão no Brasil é de 1,4 milhões de hectares (ha) com uma produtividade média aproximada de 3.700 kg de caroço/ha. A região do país com maior produção é o Centro-oeste com 871,5 mil ha plantados com média de 3.800 Kg de caroço/ha, seguida da região Nordeste com 461,5 mil hectares e produtividade média de 3.554 kg/ha. No Brasil o Mato Grosso lidera a produção e no Nordeste é a Bahia, seguida do Piauí e Maranhão (CONAB, 2012).

O caroço de algodão integral é um ingrediente utilizado na alimentação animal que vem recebendo crescente atenção de pesquisadores, especialmente nas rações de ruminantes, pois o seu alto teor de lipídeos possibilita elevar a densidade energética das dietas sem diminuir seus teores de fibra e proteína. Devido as suas características bromatológicas o caroço de algodão é uma das alternativas mais utilizadas na alimentação de ruminantes, tanto em animais leiteiros como em animais de corte, pois o aumento na demanda por energia, observado em animais de alta produção tem realçado a importância dessa oleaginosa como suplemento energético (CUNHA, 2006).

A semente de algodão integral é uma matéria prima que contém moderados teores de proteína, altos teores de energia metabolizável e fibra com elevada digestibilidade, sendo ideal para compor a ração para diversas espécies animais (ANDREAZZI, 1995). Existe uma intensa discussão sobre o uso de caroço de algodão em rações animais por parte dos pesquisadores da área, pois consideram um alimento ímpar, em virtude de seus teores de energia, fibra e proteína bruta, (CUNHA, 2006).

De acordo com análise bromatológica, a semente de algodão com linter possui 2,22 Mcal/kg de ELL (Energia líquida de lactação), 24% de proteína bruta, 44% de FDN e 34% de FDA (NRC, 2001). São também importantes fontes de fibra, com teores de fibra bruta (FB) de 17,2 a 28% (GADELHA, 2011), assim o caroço de algodão é uma das fontes de gordura mais utilizadas em propriedades especializadas em produção leiteira e sua disponibilidade no mercado produtor, seu valor energético, proteico e o baixo preço, têm estimulado pecuaristas a adotarem sua utilização na alimentação animal (GADELHA, 2011).

3.2 O Gossipol

Encontrado nas sementes, hastes e raízes da planta do algodão, assim como no óleo proveniente da semente, o gossipol é um pigmento polifenólico amarelo (C₃₀H₃₀O₈), de natureza tóxica e antioxidante (PESCE, 2008). Fatores como espécie, temperatura e índice pluviométrico durante o crescimento afetam a sua concentração na planta, apresentando correlação negativa com a temperatura ambiente, ou seja, quanto mais quente menor a concentração de gossipol na planta, e positiva com o índice pluviométrico, quanto mais chuva maior a concentração de gossipol na planta (CUNHA, 2006). Há uma grande variação entre as espécies de plantas, podendo oscilar de 0,002% a mais de 6%. A semente de algodão pode conter quinze pigmentos diferentes de gossipol em grânulos; enquanto no farelo, o gossipol total é de aproximadamente 1,06% e o livre varia de 0,3 -0,5%, (RANDEL et al 1992).

O gossipol (figura 1a) existe sob duas formas; livre e ligado, tem peso molecular de 518,54 e fórmula 1,1', 6,6', 7,7' dexaidro- 5,5' diisopropil- 3,3' dimetil-2,2' binaftalenil- 8,8' dicarboxialdeído (RANDEL et al. 1992; SANTOS 1997).

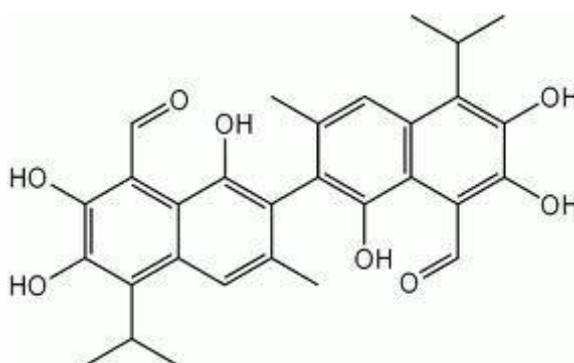


Figura 1a: Estrutura Molecular do Gossipol

Fonte: (Buyreagentes.com; 2005)

Ocorre naturalmente sob as formas dos isômeros (+) e (-), pela capacidade de se ligar imediatamente as proteínas plasmáticas, o negativo (-) tem maior importância biológica (RISCO et al 1992).

Quando alimentados com concentrações elevadas de gossipol, espécies não ruminantes e ruminantes podem sofrer intoxicação (MORGAN et al, 1988). A intoxicação natural por este pigmento ocorre por meio da ingestão prolongada, uma vez que os níveis desta substância no algodão não são suficientemente altos para poder promover intoxicação aguda. Os efeitos do gossipol são cumulativos, e podem surgir abruptamente após um período variável de ingestão (EAGLE, 1950; KERR, 1989).

A ação tóxica do gossipol é maior para os não ruminantes, ou seja, os suínos e aves, que são bastante suscetíveis à toxicidade, assim como os pré-ruminantes, podendo reduzir a capacidade carreadora de oxigênio no sangue desses animais, resultando em respirações curtas e edemas pulmonares (MORGAN et al 1988).

Os sinais de intoxicação aguda pelo gossipol em não ruminantes, pré-ruminantes e ruminantes machos são semelhantes e incluem, dispnéia, diminuição da taxa de crescimento, anorexia, fraqueza, apatia e morte depois de vários dias (ROGERS et al 1975).

Segundo Willard et al (1995), por haver ligação do gossipol com proteínas do fluido rumenal, ruminantes adultos apresentam menor sensibilidade aos efeitos dessa substância.

A ingestão de gossipol em quantidades superiores à capacidade de detoxificação rumenal permite a absorção de gossipol livre. Durante o processamento, parte do gossipol liga-se a proteínas, formando o gossipol ligado. A toxicose é primariamente atribuída à forma livre. Entretanto, existem especulações de que a forma ligada possa ser convertida à forma livre no trato gastroentérico (KERR, 1989).

Até recentemente considerava-se que os ruminantes poderiam inativar mais gossipol do que seriam capazes de consumir. No entanto, métodos modernos de extração do óleo têm aumentado a concentração deste composto fenólico nos subprodutos, ao mesmo tempo em que as vacas de alta produção tendem a aumentar a ingestão de alimentos, e conseqüentemente a de gossipol. O rúmen detoxifica parte do gossipol por diluição e baixa absorção ou unindo-o às proteínas que contêm aminoácidos livres, impedindo seu metabolismo (NRC, 2001).

O gossipol é um composto altamente reativo, que se liga rapidamente a diferentes substâncias, incluindo minerais e aminoácidos. Dentre os minerais aos quais ocorre a ligação, o principal é o ferro, dando origem ao complexo gossipol-ferro. Como o ferro presente neste complexo não é utilizado, desenvolve-se uma deficiência desse metal, afetando principalmente a eritropoiese (HERMAN; SMITH, 1973).

Em 1989, Kerr afirmou que o mecanismo de ação do gossipol não é conhecido e que a toxina afeta importantes variáveis metabólicas, como concentração de hemoglobina no sangue, absorção de ferro no intestino, liberação do oxigênio da hemoglobina e hemólise, e afirma que a ação do gossipol pode diferir entre espécies.

Risco et al (1992), afirma que em ruminantes a toxicidade ao gossipol depende da idade de quem ingere, da duração da ingestão, da função rumenal e do conteúdo de proteínas e minerais na ração. Os dados indicam que para ruminantes jovens a quantidade ingerida deve ser de 10-20 mg/kg de peso ou 1g/50 kg de peso. Em trabalhos realizados por Freedman e

Yeruham (1996) o fornecimento de 200 ppm de gossipol livre a bezerros em crescimento durante 120 dias foi seguro, enquanto 400 ppm foram tóxicos e 800 ppm resultou em alguma mortalidade. Bezerros de duas a quatro semanas de idade, recebendo substituto do leite com 150 g de caroço de algodão/kg (até 6 g de gossipol/kg) morreram segundo dados de Freedman e Yeruham (1996). Ruminantes adultos usualmente toleram até 1000 ppm de gossipol na dieta, mas concentrações de 1500 ppm podem causar toxicose leve a moderada. Enquanto ruminantes jovens, com menos de seis meses de idade, nunca devem receber mais de 100 ppm de gossipol livre na dieta (KERR, 1989).

A atuação desse polifenol é principalmente no metabolismo de aminoácidos, ligando-se às proteínas que contêm aminoácidos livres. As ligações com proteínas, bem como os altos níveis de ferro na dieta podem inativar os pontos de ligação do pigmento, diminuindo a toxicidade. O ferro forma complexos com o gossipol que não são absorvidos pelo organismo, sendo que o seu principal efeito tóxico observado em ruminantes é a alteração dos glóbulos vermelhos (ARSHAMI; RUTTLE, 1988).

Beaudoin (1985) diz que em animais monogástricos o gossipol pode causar anormalidade nas organelas citoplasmáticas, interferir nos processos bioquímicos e inibir a atividade de várias enzimas. Peyster e Wang (1993), após estudos *in vitro* com altas concentrações de gossipol afirmam que ele reduz o índice mitótico e diminui a síntese de DNA e RNA.

3.3 Efeitos do gossipol na reprodução

Qian e Wang (1984), afirmaram que o gossipol é um eficaz agente anti-espermatogênico para certos animais sensíveis e para os seres humanos. Arshami e Ruttle (1988), corroboram que o gossipol afeta de maneira multiforme o sistema reprodutivo e a esteroidogênese de machos monogástricos.

As fêmeas ruminantes parecem particularmente insensíveis, enquanto que os machos apresentam marcado dano testicular (ARIELE, 1998). Segundo Randel et al (1992), em fêmeas, é possível que o gossipol altere o padrão normal do ciclo estral através de seu efeito sobre a secreção de hormônios hipofisários e hipotalâmicos.

Em estudo realizado por Oko e Hrudka (1982) em ratos, a droga foi administrada por via sub cutânea durante 2 a 30 dias na dose de 20mg/kg de peso corporal/dia. Os espermatozoides de todo o epidídimo foram examinados em intervalos regulares, durante e depois do tratamento, por períodos que se estenderam até 70 dias. A droga induziu um efeito

específico na cauda do espermatozoide. Consistiu em aplasia segmentar da bainha mitocondrial observado em alta incidência. Outras lesões secundárias incluindo abaulamento, ruptura de fibras axiais, flexão ou quebra da cauda e de capitação foram observadas.

Segundo Cunha (2006), na reprodução, o gossipol inibe as enzimas necessárias para a síntese de esteroides nas células de Leydig, bem como o lactato desidrogenase, resultando em anormalidades nos espermatozoides e infertilidade.

Santos (1997) afirma que a intoxicação por gossipol causa em machos bovinos efeitos de diminuição nas camadas celulares do epitélio seminífero e defeitos de morfologia espermática.

Touros jovens foram submetidos à dieta contendo gossipol e sofreram aumento do lúmen dos túbulos seminíferos, redução da espessura e do número de células da parede dos túbulos seminíferos, assim como redução do diâmetro das células de Sertoli. Observaram também maior percentagem de espermatozoides anormais submetidos a dietas com gossipol, caracterizando degeneração testicular (ARSHAMI; RUTTLE, 1988).

Segundo Chenoweth et al (1994) touros jovens da raça Brahman alimentados com dieta contendo 2,72 kg de farelo de algodão apresentaram menor percentagem de espermatozoides normais que os submetidos à dieta isenta de gossipol.

De acordo com Santos et al (2008), o consumo de caroço de algodão interferiu na qualidade espermática dos touros, reduziu a motilidade, aumentou o percentual de defeitos espermáticos maiores e totais, em relação aos animais com dieta isenta de gossipol.

Santos et al (2011), demonstraram que jovens machos ovinos (5 meses), mestiços da raça Santa Inês, alimentados com rações contendo 20, 30 e 40 % de caroço de algodão (a partir de 0,71 g de gossipol por animal) tiveram a morfometria testicular alterada, pois houve redução da espessura dos túbulos seminíferos e diminuição da quantidade de células da linhagem espermatogênica, não observando os parâmetros seminais, pois os animais do experimento eram jovens e não tinha idade reprodutiva.

White et al (1988) afirma que estudos com sêmen de carneiro sugerem que o gossipol também pode deprimir a motilidade por inibição da adenilciclase e estudos cinéticos indicam que gossipol inibe a adenilciclase do sêmen de carneiros por competir com o ATP no domínio de ligação a nucleotídeos.

Zahid et al (2003) verificaram que ração para caprinos contendo gossipol, embora não tenha afetado a cor, volume, concentração, percentagem de espermatozoides mortos, afetou significativamente o pH do sêmen, a motilidade espermática relativa e a percentagem de espermatozoides morfologicamente anormais.

Andreazzi et al (1995), avaliando o efeito do caroço de algodão em caprinos, observaram que dietas contendo esse ingrediente não afetaram as características do sêmen, embora o desenvolvimento testicular tenha sido afetado e alterações histomorfológicas e istométricas dos testículos tenham ocorrido.

Algumas pesquisas, todavia, não obtiveram efeitos significativos do gossipol sobre a reprodução dos machos Ferreira et al (1995), por exemplo, ao analisarem o efeito do gossipol na qualidade do sêmen de caprinos, por meio do fornecimento de concentrados com 30 e 60 % de farelo de algodão fornecido numa proporção de 1% do peso vivo, concluíram que o gossipol presente no farelo de algodão não alterou a qualidade do sêmen dos animais.

Majumdar et al (1982), com experimento em ratos, onde administrou 20 e 40 mg de gossipol por via oral em óleo de milho, não observou diferenças estatísticas, entre grupos controle e tratamento, no que diz respeito a quantidade de espermatozoides com problemas de morfologia. Assim como Ye et al (1988) relataram nenhum aumento na frequência de morfologia anormal em ratos ou seres humanos dando gossipol.

Mello (2004), utilizando caroço de algodão na alimentação de bovinos, verificou que dietas com até 30 mg de gossipol/kg de peso vivo não causaram efeito tóxico sobre a quantidade e qualidade do sêmen.

Em trabalho *in vitro* realizado por Brocas et al (1997), os gametas masculinos e femininos bovinos foram resistentes aos efeitos deletérios do gossipol, enquanto o embrião em desenvolvimento foi muito sensível ao gossipol.

Em experimento realizado com carneiros alimentados com 200, 400 e 800 g de caroço de algodão, respectivamente, durante doze semanas, Knights; Connel (1992), não encontraram correlações significativas entre a ingestão de caroço de algodão e qualidade do sêmen de carneiros.

Baseado em estudos como os supracitados, decidiu-se utilizar uma dieta rica em caroço de algodão contendo gossipol, para alimentar 15 ovinos mestiços, machos com idade reprodutiva, confinados em baias individuais, por um período de 104 dias, com o objetivo de conhecer os efeitos da dieta rica em caroço de algodão na função reprodutiva, através de análises de sêmen, análise histológica dos testículos e teste de fertilidade.

REFERÊNCIAS

- ARIELI, A. Whole cottonseed in dairy cattle feeding: a review. **Animal Feed Science and Technology**.v.72, p.97-110, 1998.
- ANDREAZZI, M.A. et al. Efeito do caroço de algodão sobre o desenvolvimento e desempenho reprodutivo de caprinos machos. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.38, n.3, p. 799-813, 1995, 21 p.
- Associação Brasileira dos produtores de Algodão – **ABRAPA** – Disponível em<www.abrapa.com.br>Acesso em 20 de dez. de 2012.
- ARSHAMI, J; RUTTLE, J.L. Effecte of diets containg gossypol on spermatogenic tissues of young bulls. **Theriogenology**, Los, Altos, v.30, p.507-519, 1988.
- BEAUDOIN, A. R. The embriotoxicity of gossypol. **Teratology**, v. 32, n. 2, p. 251-257, 1985.
- BELTRÃO, N.E. de M. Algodão brasileiro em relação ao mundo: situação e perspectivas. O agronegócio do algodão no Brasil. Brasília, DF: **EMBRAPA-CNPA**, v.1, cap. 1, p. 17-27, 1999.
- BELUZZO, C. E. C.; KANETO C. N.; FERREIRA G. M. **Curso de atualização em ovinocultura**. Campus de Araçatuba – SP, v.1, cap.5. p. 2001.
- BOVINO, F. et al. Intoxicação por gossipol em ovinos – relato de caso. **Vet. e Zootec.** v. 15, n.2, supl.1,agost.,p.24, 2008
- BROCAS C. Deleterious actions of gossypol on bovine spermatozoa, oocytes and embryos. **Biol. Reprod.**v.57,p.901-907, 1997.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Algodão em caroço. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, oitavo levantamento, maio 2012.**Disponível em <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em 20 dez. de 2012.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual de exame e avaliação de sêmen animal**. 2ºed. Belo Horizonte, CBRA ,p.49,1998.
- CHENOWETH, P. J. et al. Effects of dietary gossypol on aspects of semen quality, sperm morphology and sperm production in young Brahman bulls. **Theriogenology**. v.42, p.1–13,1994.
- CUNHA, M.G.G. Aspectos nutricionais, produtivos e reprodutivos em ovinos alimentados com rações contendo níveis crescente de Caroço de Algodão, 2006 p.96. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2006.
- EAGLE E. Effect of repeated doses of gossypol on the dog. **Arch. Biochem.** v.26, p.68 71.

FARIAS, P. S. C.. A saga de duas regiões do fazer: as seletividades e as marginalidades do agreste e do sertão paraibanos nas divisões territoriais internacional e nacional da produção do algodão. **GEOTemas**, v. 2, n. 1, p. 17-36, Jan./Jun., 2012.

FERREIRA, R. N. et al Efeitos de dietas contendo gossipol na qualidade de sêmen de caprinos, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, n. 3-4, p. 212-218, 1995.

FREEDMAN, S.; YERUHAM, Y. Suspected gossypol toxicity in calves in two Israeli dairy herds. **Israel Journal Veterinary Medical**. v.51, n.1, p. 67-68. 1996.

GADELHA, Ivana C. N. ; RANGEL, A. H.N., SILVA, A. R., SOTO-BLANCO, B. Efeitos do gossipol na reprodução animal. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, n.2, p.129-135, 2011

GUEDES, F.C.B; SOTO-BLANCO, B. Sperm Quality of Sheep Fed Cottonseed Cake. **Acta Scientia e Veterinariae**. v.38, n.4, p.415-418, 2010.

HAFEZ.E.S.; HAFEZ, B.; **Reprodução Animal**. 7ªed. São Paulo. Manole, 513 p.2004.

HERMAN D.L.; SMITH F.H. Effect of bound gossypol on the absorption of iron by rats. **J. Nutr.** v.103, p.882-889.1973.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA - IBGE. **Produção da Pecuária Municipal** vol.38, 2010: Disponível em: <www.ibge.gov.br> Acessado em dez. de 2012.

JIMENEZ, D.A. et al. Effect of feeding gossypol in cottonseed meal on growth, semen, quality, and spermatogenesis of yearling Holstein bulls. **Journal Dairy Science**. v. 72, p. 1866-1875, 1989.

KERR, L. A. Gossipol toxicosis in cattle. Compendy Continuous Education Practy. **Veterinary**. v. 15, n.9, p. 1139-1146, 1989.

KNIGHTS, A G. I.; CONNELB J. A. The Effect of Whole Cottonseed Feeding On Ram Semen Quality **Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.** v.19 p.425-426, 1992

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. MAPA **Cadeia produtiva do algodão** – Brasília : IICA / MAPA/SPA, 2007.108 p. (Agronegócios ; v. 4)

MAJUMDAR, S.K., H.J. INGRAHAM; D.A. PRYMOWICZ. Gossypol – an effective male contraceptive was not mutagenic in sperm head abnormality assay in mice, **Can. J.Genet. Cytol.** v 24, p.777-780.1982.

MELO, A.O.A.M, **Uso do gossypol na reprodução de ruminantes**, Disponível em <<http://www.boviplan.com.br/artigotecnico4>>. Acesso em dez. 2012.

MORGAN S.E. Clinical, clinicopathologic, pathologic, and toxicology alterations associated with gossypol toxicoses in feeder lambs. **Am. J. Vet. Res.** v. 49, p. 493-499.1988.

MOURA, A. de A. et al. Desenvolvimento ponderal e testicular em carneiros Santa Inês no estado do Ceará. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36,1999, Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre: SBZ,1999.

National Research Council - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. **National Academy Press**, Washington, 381p.2001.

OKO R. and F. HRUDKA. Segmental Aplasia of the Mitochondrial Sheath and Sequela e Induced by Gossypol in Rat Spermatozoa; **Biology of Reproduction**. v. 26, p.183-195.1982.

PEYSTER. Ann de.; Wang. Yi Y,. Genetic toxicity of gossypol. **Elservier Science Publishess**.v.297, p.293-312, 1993.

PESCE, D.M.C. Efeito da dieta contendo caroço de algodão no desempenho, características quantitativas da carcaça e qualitativa da carne de novilhos Nelore confinados . **Tese de doutora do da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos de São Paulo – Pirassununga**. p.155,2008.

QIAN, Shao-Zhen; WANG, Zhen-Gang. Gossypol: a potential Antifertility agent For males **Aann. Rev. Pharmacol. Toxicol.Copyright**. v.24. p329-360,1984.

RANDEL,R.D.; CHASE-JR.,C.C.; WYSE,S.J. Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. **Jornal of Animal Science**, v.7, p. 1628-1638, 1992.

RISCO, C. A. P. J.; The effect of gossypol in cottonseed meal on performance and on hematological and semen traits in post pubertal brahman bulls. **Theriogenology**. v. 40, p. 629–642, 1993.

RODRIGUES, C.E.C.; ONOYAMA , M .M; MEIRELLES, A. J. A. Optmization of de Rice brn oil deacidification process by liquid-liquid extraction. **Journal of food Engineering**.v.73, n. 4, p.370-378, 2006.

ROGERS P.A.M., Henaghan T.P.; Wheeler B. Gossypol poisoning in young calves. Ir. **Vet. J**. v.29, p.9-13, 1975.

RISCO, C. A. et al. Long-term effects of feeding gossypol and vitamin E to dairy calves. **Journal Dairy Science**, v.82, n.6, p. 1240- 251. 1992.

SANTOS, R.L. Efeitos do Gossipol sobre a reprodução. **Cadernos técnicos da escola de Veterinária da UFMG**, n.21, p.73 – 82, 1997.

SANTOS, M. D. Morfologia testicular e qualidade espermática de touros da raça Nelore, submetidos à dieta contendo gossipol. **Rev. bras. Cien. Vet.**, v. 15, n. 3, p. 134-139, set./dez. 2008

SANTOS, M. D. Morfologia testicular de cordeiros confinados, submetidos à dieta contendo diferentes níveis de gossipol. Publicado nos **Anais** do 38º CONBRAVET- Florianópolis – SC, 2011.

SECRETARIA DE AGRICULTURA DO ESTADO DA BAHIA Disponível em:<<http://www.seagri.ba.gov.br>>. (Acesso em 25/12/2012).

SINGH, B.K. **Compêndio de Andrologia e Inseminação Artificial em Animais de Fazenda**. Ed. ANDREI; São Paulo, 2004.

VIANA, João Garibaldi Almeida. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, Ano 4, N° 12, Porto Alegre, Março de 2008.

WILLARD S.T., NEUENDORFF D.A., LEWIS A.W., RANDEL R.D. Effects of free gossypol in the diet of pregnant and postpartum Brahman cows on calf development and cow performance. **J. Anim. Sci.** v.73, p.496-507, 1995.

WHITE I.G., et al. Studies Of The Mechanism of Action of Gossypol As A Male Antifertility Agent. **Contraception**. v. 37, no.3, p.269-277, 1988.

YARNEY, T.A.; SANFORD, L.M.; PALMER, W.M. Pubertal development of ram lambs: body weight and testicular size measurements as indices of post-pubertal reproductive function. **Canadian Journal of Animal Science**, v.70, p.139, 1990.

YE, W.S. Clastogenicity of gossypol as a male contraceptive in sperm head anomalies in mice, Chung Kuo I HsuehK'o Hsueh Yuan Hsueh Pso .**Acta Acad. Med. Sinicae**), v.10, p.127-129, 1988.

ZAHID, I.A. Effectes of gossypol on semen characteristics of teddy male goats. **Pakistan Veterinary Journal**, v.23, p.173 -176. 2003.

ARTIGO CIENTÍFICO**Qualidade espermática, morfologia testicular e teste de fertilidade em carneiros, submetidos à dieta contendo altos níveis de caroço de algodão**

Sperm quality, testicular morphology and fertility test in rams submitted to diet containing high levels of cotton seed

Lima¹. P.A.M.P., Carneiro¹ G.F., M.M.P. Guerra²,

¹PPGSRR-UAG –UFRPE, ¹Professor adjunto da Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE, ²Professora adjunta da UFRPE

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi estudar os efeitos causados pela dieta rica em caroço de algodão contendo gossipol no sêmen de 22 ovinos machos, divididos em dois grupos. O grupo gossipol (Gg = 15), suplementado com 500g de caroço de algodão e o grupo controle (Gc = 7), suplementado com 500g de milho durante 104 dias, submetidos a coletas de sêmen e aferições de testículo. As variáveis observadas foram circunferência escrotal, volume, coloração, aspecto, turbilhonamento, motilidade, morfologia espermática e concentração. Não houve diferença estatística na média de circunferência escrotal (C.E.) sendo a do grupo tratamento e do controle respectivamente 27,07 cm e 27,08 cm. Para as variáveis coloração e aspecto as análises foram qualitativas e não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. A média do volume seminal para os animais que consumiram caroço de algodão foi de 1,04 ml e para os que não consumiram foi de 0,94 ml, também não apresentando diferença significativa. Nas variáveis turbilhonamento, motilidade, vigor, concentração e morfologia não houve diferença estatística, sendo os valores do grupo tratamento respectivamente 4,12 – 81,6% - 4,26 – 3,57 x 10⁹sptz /ml – 6,7% e do controle 3,91 – 74,77% – 4,07 – 3.48 x 10⁹sptz/ml–5,95%. Após o término do período de suplementação cinco animais sofreram orquiectomia unilateral, sendo dois do grupo controle e três do tratamento. O material foi utilizado para realização de exame histopatológico comparativo em historesina, onde não apresentou diferença significativa entre gossipol e controle quanto ao diâmetro de túbulo seminífero, e apresentou diferença na altura do epitélio seminífero, tendo o grupo gossipol maiores medidas de epitélio comparados com o grupo controle. A altura do epitélio seminífero é uma característica efetiva para a avaliação da produção espermática, entretanto nesse estudo não houve diferença significativa na concentração espermática entre grupo controle e tratamento demonstrando que essa diferença não afetou a produção espermática. Dois dos três animais castrados do grupo gossipol foram utilizados para um teste de fertilidade, onde cobriram 10 ovelhas, das quais seis emprenharam. Não foi observada nenhuma relação entre consumo de caroço de algodão, morfometria testicular e qualidade espermática de ovinos.

Palavras-chave: Fertilidade. Gossipol. Reprodução. Ovinos.

Abstract**Lima¹ P.A.M.P., Carneiro¹ G.F., Guerra² M.M.P.**¹PPGSRR-UAG –UFRPE, ¹Professor adjunto da UFRPE/Unidade Acadêmica de Garanhuns, ²Professora adjunta da UFRPE

The objective of this work was to study the effects caused by a diet-rich in cottonseed containing gossypol in the semen of sheep. A total of 22 males, divided into 2 groups were used. The gossypol Group (Gg = 15), supplemented with 500 g cottonseed and the control group (Gc = 7), supplemented with 500 g of corn for 104 days and subjected to semen evaluation and measurements of the testicle. The variables observed were scrotal circumference, volume, color, aspect, whirling, sperm morphology, motility and concentration. No statistical difference was seen in the mean scrotal circumference (C.E.) between treatment (27.07 cm) and control group (27.08 cm). Color and aspect of the semen were performed basa qualitative analyses and no significant differences were observed between groups. The mean seminal volume for the animals who consumed cottonseed was 1.04 ml and for non-consumed was 0.94 ml, also not showing significant difference. In the variables whirling, motility, vigor, concentration and morphology no statistical difference was seen, being the treatment Group's values respectively 4.12-81.6%-4.26-3.57 x 10⁹/ml spz – 6.7% and 3.91 and control group – 74.77%-4.07-3.48 x 10⁹ spz/ml-5.95%. After the end of the supplementation period, 5 animals (2 from control group and 3 from gossypol group) were submitted to unilateral orchiectomy. The material was used to perform a comparative Histopathological examination in historesin. No difference in seminiferous tubule diameter was seen between control and gossypol group. There was a significant difference in seminiferous epithelium height, having a larger measurement at gossypol epithelium compared with control group. The height of seminiferous epithelium is an effective feature for sperm production assessment, however in this study there was no significant difference in sperm concentration between control and treatment group demonstrating that this difference did not affect sperm production. Two out of the three gossypol group male were castrated and the animals used for a fertility test, which was exposed to 10 ewes during 90 days and after this period of time, 6 pregnancies was diagnosed. There was no relationship between consumption of cottonseed and sperm quality in the sheeps.

Keywords: *Fertility. Gossypol. Reproduction. Ovines.*

INTRODUÇÃO

Em decorrência da irregularidade na oferta quantitativa e qualitativa dos recursos forrageiros da região semiárida do Nordeste brasileiro, devido às variações climáticas, a produtividade animal nessa região é bastante comprometida. O uso de alternativas alimentares tem sido frequentemente recomendado para criadores da região, no intuito de suprir a deficiência nutricional dos seus rebanhos (CUNHA, 2006).

Culturalmente alguns dos subprodutos mais utilizados na alimentação de ruminantes no Nordeste são os provenientes do cultivo do algodão, como a semente, a torta, o briquete e o farelo, pois a cotonicultura foi durante muito tempo uma das principais atividades econômicas Nordestinas e seus subprodutos, desde então, são utilizados na suplementação de ruminantes (FARIAS, 2012).

No cenário atual o Brasil é o quinto maior produtor de algodão do mundo, com safra recorde de 1,8 milhões de toneladas de pluma na safra 2011/2012 e 5,2 milhões de toneladas de caroço (ABRAPA, 2012). O Mato Grosso é o maior produtor do Brasil, com 2,7 milhões de toneladas de caroço, seguido da Bahia, com 1,5 milhões de toneladas. O Piauí e Maranhão são importantes produtores do Nordeste (CONAB, 2012). A grande maioria da semente de algodão destinada à ração animal do Nordeste é proveniente da Bahia, Piauí e Maranhão, pois o custo com o transporte é menor e existe uma maior facilidade de acesso dos entrepostos de sementes do interior aos fornecedores.

O caroço de algodão é um dos subprodutos da cotonicultura mais utilizados como ração animal, pois além de altos teores de proteína bruta (PB), de fibras em detergente neutro (FDN), possui altos níveis de energia digestível (ED), caracterizando-se como uma excelente fonte de alimentação para ruminantes.

Agregado as características benéficas dos derivados do algodão vem um fator anti-nutricional chamado gossipol. O gossipol é um pigmento polifenólico amarelo ($C_{30}H_{30}O_8$), de natureza tóxica que está presente em todas as partes do algodoeiro e em seus derivados primários. Diversos trabalhos científicos foram desenvolvidos para se estudar os efeitos negativos causados pelo gossipol, chegando a conclusões que ele é altamente tóxico para monogástrico e pode causar intoxicação crônica em ovinos (BOVINO et al, 2008). Outros trabalhos mostram os efeitos colaterais na reprodução causadas por rações contendo alta porcentagem de farelo ou caroço de algodão, como os desenvolvidos por Arshami; Ruttle (1988) que afirmam que o gossipol pode afetar de maneira multiforme o sistema reprodutivo e Cunha (2006) que afirma que ele pode causar anormalidade nos espermatozoides e infertilidade no macho. Alguns autores obtiveram resultados diferentes e afirmam que o caroço de algodão, mesmo fornecido em altas quantidades

não causaram resultados negativos para a qualidade de gametas, nem masculinos nem femininos e não obtiveram diferenças em histologia testicular (BROCAS et al 1997; MELO, 2004)

Observando na literatura essa discordância entre autores e tendo a necessidade de verificar a ação do gossipol existente na semente de algodão sobre ovinos macho sem idade reprodutiva, decidiu-se utilizar uma dieta rica em caroço de algodão para alimentar ovinos púberes e avaliar em tempos regulares, através da coleta de sêmen pela vagina artificial, a qualidade espermática, a morfologia das estruturas testiculares, através da histologia e a fertilidade do sêmen dos animais tratados, através de um teste de fertilidade com 10 ovelhas.

Estudando-se o efeito da suplementação com caroço de algodão contendo gossipol sobre o aparelho reprodutivo e sobre o sêmen de reprodutores ovinos pode-se determinar se realmente a semente de algodão atualmente comercializada e utilizada por produtores do Nordeste, como ração animal, é prejudicial à fertilidade de machos da espécie ovina.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e período

O experimento foi realizado no período de maio a outubro de 2012, no município de São José do Egito - PE, cidade de clima semiárido situada na região do alto Pajeú com altitude média de 587 metros, índice pluviométrico anual médio de 624 mm e temperatura média de 27 °C.

Animais e manejo zootécnico

Foram utilizados vinte e dois ($n = 22$) ovinos (*ovis aires*) Santa Inês, com idade média de 1 ano e 2 meses e com média de 35 Kg de peso vivo. Os animais foram primeiramente submetidos à avaliação clínica e andrológica para comprovação da higidez e possibilidades de participar do delineamento, com base na qualidade seminal comprovada por exames de rotina e recomendados pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA (1998).

Os animais foram divididos em dois grupos e confinados em baias individuais com espaçamento de dois m², trinta dias (30) antes do início das coletas para um período de adaptação. Nesse período foram vermifugados e vacinados contra clostridioses e alimentados com 1 kg de feno de capim tífton (*Cynodon spp.*) de qualidade e água *ad libitum*.

Os animais do grupo gossipol (Gg), foram suplementados com 500 g de caroço de algodão, contendo o equivalente a 1,696 g de gossipol, quantidade essa, que dividida por uma

média de 35 kg de cada animal resulta em uma dose de 48,5mg de gossipol/kg, e o grupo controle (Gc), com sete animais que foram suplementados com 500 g de milho, equivalente a 0 g de gossipol. Os animais dos dois grupos receberam 800 g de feno de capim tifton (*Cynodon spp.*) por animal a partir do início do experimento e as respectivas suplementações durante 104 dias. Não foi oferecido sal mineral, pois há evidências que alguns minerais reagem com o gossipol e assim pudesse interferir nos resultados.

Todo o caroço de algodão fornecido na dieta dos animais foi proveniente da cidade de Luiz Eduardo Magalhães, situada no Estado da Bahia e analisado quanto aos níveis de gossipol livre pelo laboratório CBO Análises laboratoriais, situado na cidade de Campinas – SP. Os resultados encontrados mostram que a semente de algodão utilizada no experimento apresentava uma quantidade de gossipol de 3.392,87 mg/kg ou seja 3,39g de gossipol/ Kg de caroço (Anexo C). Mais duas amostras de algodão, provenientes do Estado do Mato Grosso (Anexo D e E) e Piauí também foram avaliadas e os valores de gossipol livre foram inferiores ao encontrado na semente utilizada observado na tabela 1.

Tabela 1: Níveis de gossipol livre encontrados em semente de algodão provenientes da Bahia, Mato Grosso e Piauí.

Origem da semente	mg de gossipol/ Kg de caroço
Caroço com origem da Bahia	3.392,87 mg de g/kg*
Caroço com origem do Mato Grosso	948,49 mg de g/kg
Caroço com origem do Piauí	731,53 mg de g/kg

*Semente utilizada no experimento

Em relação aos aspectos reprodutivos foi avaliada a consistência testicular através de uma análise qualitativa por palpação dos testículos em intervalos médios de 14 dias e sempre realizada pelo mesmo avaliador. Os testículos eram classificados em tenso elástico (normal), tenso e flácido (anormal). Essa avaliação pode ajudar a detectar sinais de orquite ou degeneração testicular. O segundo exame foi regularmente a mensuração da circunferência escrotal (C.E.). A circunferência escrotal (CE) é citada como fator de alta correlação com a produção espermática, capacidade de serviço e desenvolvimento sexual, Yarney et al (1990) e Moura et al (1999).

Os animais foram submetidos a coletas de sêmen, antes (15 e 7 dias), durante (D20, D34, D48, D62, D76, D89, D104 dias) e após (14 dias) o período de suplementação. O período de coleta foi estipulado com o propósito de abranger no mínimo dois ciclos da espermatogênese ovina.

O ejaculado foi colhido pelo método da vagina artificial, usando uma fêmea em cio como manequim, facilitando a manifestação da libido dos machos e a consequente monta. Imediatamente após a colheita as amostras de sêmen fresco foram avaliadas macroscopicamente quanto ao volume, aspecto, coloração e microscopicamente quanto à motilidade massal (0-5), motilidade progressiva (MP) (0,0 - 100%), vigor (0-5) e concentração. Todas as avaliações foram de acordo com o Manual de Exame Andrológico do CBRA (1998). Após a análises primárias, cinco microlitros (μL) de sêmen puro foi diluído em 2 ml de solução de formol salino obtendo-se uma diluição final de 1:400 e refrigerado para posterior análise de morfologia espermática e concentração a qual foi determinada por meio da contagem direta dos espermatozoides em câmara hematocitométrica de Neubauer em microscópio de contraste de fase. O resultado foi expresso em spz/ml. Todas as análises de morfologia foram realizadas com menos de 12 horas da coleta.

Após o ultimo dia de coleta cinco animais foram escolhidos aleatoriamente, sendo três do grupo tratamento e dois do grupo controle, para passarem por uma cirurgia de orquiectomia unilateral, com o objetivo de fazer cortes histológicos, para realização da técnica de historesina com os fragmentos de testículos retirados. As cirurgias foram realizadas em sala limpa, protegida de ventos e com toda técnica necessária de assepsia e analgesia (xilazina por via endovenosa na dose de 0,3 mg/kg e lidocaína local na dose de 1,3 mg/kg) . Posteriormente os animais castrados passaram por antibioticoterapia de três dias intercalados (oxitetraciclina intramuscular na dose de 6 mg/kg) e terapia seguida com anti-inflamatório não esteroideal (Flunixin-meglumine a 1% na dose de 1,1 mg/kg).

Os fragmentos colhidos dos testículos foram colocados no glutaraldeído para total fixação e refrigerados. Posteriormente foram processados pelo laboratório de patologia da UFRPE em blocos de historesina e posteriormente em lâminas coradas para posterior leitura e comparação entre os animais dos grupos. As lâminas foram quanto a qualidade dos tecidos testiculares, o diâmetro dos túbulos seminíferos e a espessura da parede dos túbulos.

Passados vinte dias (20) da cirurgia, dois dos animais cirurgiados do grupo gossipol foram soltos por um período de 90 dias com 10 ovelhas jovens e com histórico de serem férteis, para passarem por um teste de fertilidade. Noventa dias após a introdução dos carneiros foi realizado um exame de ultrassonografia com o um aparelho de marca Chison D600 Vet para detectar a prenhes das ovelhas.

Com auxílio do software Epi Info as médias foram analisadas pelo teste de Kruskal Wallis, teste este não paramétrico, utilizado para amostras pequenas e independentes e que não precisam de distribuição normal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante todo o experimento as variáveis observadas nos 22 ovinos foram relacionados à saúde geral dos animais, as características morfológicas macroscópicas de testículos, a libido e facilidade de monta e as características seminais. Ao término das coletas pôde-se observar as características da morfologia testicular microscópica, através de técnicas de histologia e se os animais do grupo tratamento apresentavam fertilidade após um teste com 10 ovelhas férteis.

Quanto às características relacionadas à saúde e higidez, tanto os animais do grupo gossipol como o grupo controle não apresentaram alterações clínicas e comportamentais durante experimento. Não foram observadas apatia, fraqueza, falta de apetite, dispneia ou anemia em nenhum dos animais dos dois grupos. Portanto não foram observados nenhum sinal de intoxicação em animais que consumiram em média 48,5 mg de gossipol/kg por um período de 104 dias. Não achando as características de intoxicação relatadas por Morgan (1988) e Rogers et al (1975), nem os quadros de intoxicação crônica relatados por Bovino et al (2008). No entanto, como relatado por Eagle (1950) e Kerr (1989) os efeitos do gossipol podem ser cumulativos e o tempo de 104 dias com a quantidade utilizada pode não ser o suficiente para induzir efeitos tóxicos ou, ainda, concordando com Andreazzi (1995) que realizou experimento com caprinos consumindo ração balanceada contendo 30% de caroço de algodão durante 1 ano e não observou nenhum efeito tóxico nesse animais, tanto em exames laboratoriais quanto em exames pós-morte, concluindo que o gossipol existente na semente de algodão utilizada não influenciou nenhum parâmetro fisiológico.

Quanto às características de morfologia escrotal macroscópicas foram avaliadas a consistência e circunferência escrotal. Dos vinte e dois animais do experimento, apenas 1 animal do grupo tratamento apresentou flacidez nos testículos após 60 dias de consumo de caroço de algodão. A circunferência escrotal (C.E.) teve média de 27,07 cm para o grupo controle e de 27,08 cm para o grupo tratamento, tendo um $P > 0,05$ não havendo assim diferença estatística. Estes resultados discordam daqueles encontrados por Andreazzi et al (1995), que observaram menor circunferência escrotal em caprinos que receberam 30% de caroço de algodão em relação ao grupo controle e corrobora com Cunha (2006) que com experimento realizado com carneiros em idade reprodutiva durante nove (9) meses consumindo 9,20 a 11,50 mg de gossipol/kg de peso vivo não achou nenhuma diferença nesses dois parâmetros da mesma forma, Jimenez et al (1989) trabalhando com touros, verificaram que a ingestão do gossipol não alterou a C.E. em relação aos animais controle.

A libido dos animais e facilidade de monta pôde ser observada devido o método de coleta de sêmen utilizado, a vagina artificial. Não foi observada nenhuma diferença entre grupos quanto a esses dois aspectos. Esse resultado mostra que o consumo do caroço de algodão, na quantidade e no tempo utilizado, possivelmente não influenciou a síntese de hormônios hipotalâmicos e hipofisários como afirmou Randel et al (1992) e a síntese de esteroides como afirmou Cunha (2006), pois a presença de libido nos animais do experimento perdurou durante todo o período.

Tabela 2. Média das variáveis seminais e da circunferência escrotal de carneiros deslanados suplementados com 500g de caroço de algodão/dia (tratamento) e 500g de milho/dia (controle), obtidas no 1º dia de experimento.

Variáveis Médias	Grupo Tratamento	Grupo Controle	Valor de P
Circunferência escrotal	26,71	26,80	P>0,05
Volume	0,94ml	0,85 ml	P>0,05
Turbilhonamento	3,46	3,85	P>0,05
Motilidade	76%	77%	P>0,05
Vigor	3,86	4,28	P>0,05
Concentração	4,04x10 ⁹ sptz/ml	4,13x10 ⁹ sptz/ml	P>0,05
Patologias	7%	6,2%	P>0,05

Quanto às características seminais foram avaliadas as macroscópicas: aspecto, coloração, volume e as microscópicas: turbilhonamento, motilidade, vigor, concentração e patologias (Tabela 2). O aspecto e a coloração foram avaliados qualitativamente e não apresentaram nenhuma diferença entre grupos durante todo o experimento, resultado esse que difere do experimento de Cunha (2006) que achou alterações de coloração no sêmen de ovinos que consumiram algodão por nove meses e concorda com Andreazzi et al (1995) que não observou alteração na coloração e aspecto do sêmen de caprinos alimentados com algodão durante um ano.

O volume do sêmen coletado foi comparado entre grupos e obteve-se a média de 0,94 ml para o grupo controle e de 1,04 ml para o grupo tratamento obtendo-se um valor de P>0,05, mostrando que não houve diferença estatística para esse aspecto. Resultado semelhante aos de Zahid et al (2003), que em experimento em caprinos consumindo ração com altos níveis de caroço de algodão não observou alteração em volume espermático do grupo tratamento comparado ao grupo controle e aos de Ferreira et al (1995) que não achou diferença no volume de sêmen de caprinos alimentados com ração contendo 0, 30 e 60 % de caroço de algodão, assim como Melo, (2004) também não encontrou diferença entre o volume

de sêmen de touros alimentados com 30 mg de gossipol/kg comparados ao grupo controle. A média de volume de espermatozoides foi semelhante às médias encontradas por Ferreira et al (1995) obtidas pelo método da vagina artificial valores de 0,89 ml, 0,86 e 1,03 ml para caprinos que consumiram dietas com 0, 30 e 60% de caroço de algodão respectivamente.

Quanto ao turbilhonamento também não houve diferença estatísticas entre os grupos tendo o grupo controle uma média de 3,91 e o tratamento uma média de 4,12 apresentando um $P > 0,05$ (Tabela 4). O único trabalho com análise de sêmen com gossipol que cita turbilhonamento é Cunha (2006), que se refere ao mesmo como movimento de massa (MM) e que também não observou diferença estatísticas entre grupos, tendo sua média de movimento de massa de 2,65.

Tabela 3. Média das variáveis seminais e da circunferência escrotal de carneiros deslançados suplementados com 500g de caroço de algodão/dia (tratamento) e com 500g de milho/dia (controle), obtidas no 60º dia de experimento.

Variáveis Médias	Grupo Tratamento	Grupo Controle	Valor de P
Circunferência escrotal	27,06	26,28	$P > 0,05$
Volume	1,08ml	0,91 ml	$P > 0,05$
Turbilhonamento	4,33	4,14	$P > 0,05$
Motilidade	82%	80%	$P > 0,05$
Vigor	4,33	4,42	$P > 0,05$
Concentração	$3,48 \times 10^9$ sptz/ml	$3,47 \times 10^9$ sptz/ml	$P > 0,05$
Patologias	6%	7%	$P > 0,05$

A motilidade espermática média encontrada para o grupo controle foi de 74,77% e para o grupo tratamento foi de 81,66% obtendo-se um valor de $P > 0,05$. Apesar do grupo gossipol ter apresentado um número absoluto um pouco superior não houve diferença estatística (Gráfico 1). Diferente de Santos, 2008 que observou redução da motilidade em bovinos e de Cunha (2006) que observou diminuição da motilidade progressiva em ovinos. Concordando com Melo (2004) que em bovinos não observou diferença na motilidade de touros alimentados com 30 mg de gossipol/kg, com Andreazzi et al (1995) que, em caprinos, não observou redução da motilidade e com Ferreira et al (1995) que também não observou diferença no sêmen de caprinos alimentados com caroço de algodão.

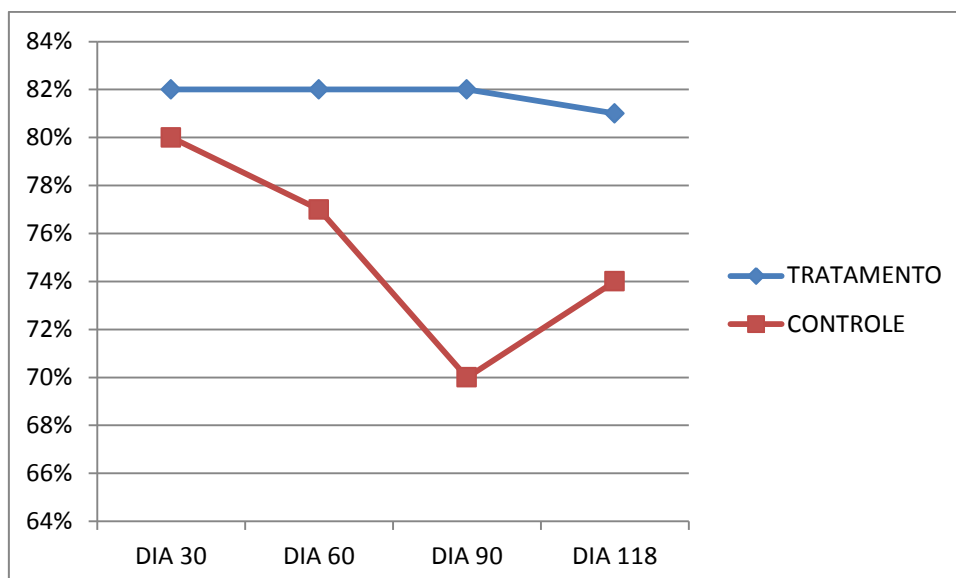


Gráfico1: Evolução da motilidade espermática de carneiros deslanados suplementados e não suplementados com caroço de algodão nos dias 30, 60, 90 e 118 do início do experimento (não houve diferença estatística $P>0,05$).

Nos resultados encontrados para o vigor, obteve-se uma média de 4,07 para o grupo controle e de 4,26 para o grupo tratamento com o valor de $P>0,05$. Não havendo diferença estatística. Dos trabalhos pesquisados apenas Cunha (2006) cita essa variável, onde obteve um resultado negativo para o vigor, apresentando resultado inversamente proporcional ao consumo de algodão.

Tabela 4. Média das variáveis seminais e da circunferência escrotal de carneiros deslanados suplementados com 500g de caroço de algodão/dia (tratamento) e com 500g de milho por dia (controle), após o 118º dia do início do experimento.

Variáveis Médias	Grupo Tratamento	Grupo Controle	Valor de P
Circunferência escrotal	27,08cm	27,07 cm	0,4999
Volume	1,04 ml	0,94 ml	0,7353
Turbilhonamento	4,12	3,91	0,7210
Motilidade	81,66%	74,77%	0,1914
Vigor	4,26	4,07	0,5761
Concentração	$3,57 \times 10^9$ sptz/ml	$3,48 \times 10^9$ sptz/ml	0,4678
Patologias	6,7%	5,95%	0,2812

Para concentração espermática, não observou-se diferença estatística entre o Gg e o Gc, as médias apresentadas respectivamente foram $3,57 \times 10^9$ sptz/ml e $3,48 \times 10^9$ sptz/ml gerando um valor de $P> 0,05$ (Tabela 4). Esse resultado corrobora com todos os demais trabalhos pesquisados, pois nenhum deles observou diferenças de concentração entre animais

que consumiram gossipol no caroço de algodão dos que não consumiram. Com esse dado, um aspecto interessante de se avaliar é a relação da morfometria testicular com a concentração espermática, pois autores como Andreazzi et al (1995) e Santos et al (2008) observaram alterações na morfometria testicular, até mesmo na luz de túbulos seminíferos sem observar alteração de concentração espermática.

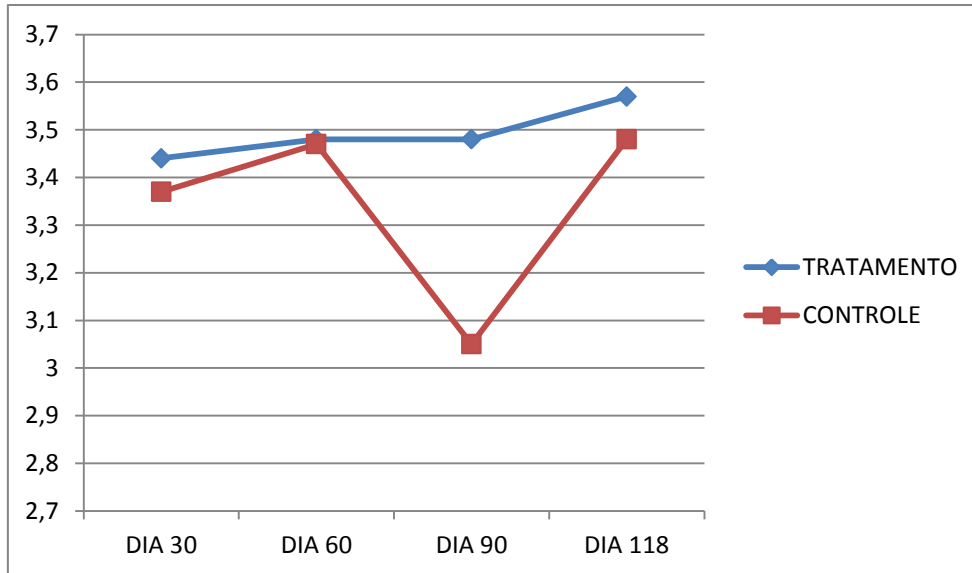


Gráfico 2: Evolução da concentração espermática de carneiros deslanados suplementados e não suplementados com caroço de algodão nos dias 30, 60, 90 e 118 do início do experimento (não houve diferença estatística $P > 0,05$).

As patologias foram avaliadas através da observação da morfologia espermática em microscópio de contraste de fase. A avaliação foi de defeitos totais de formação. Em alguns momentos do experimento houve algumas diferenças individuais entre animais, tanto do grupo controle como do grupo tratamento, porém na comparação do Gg com Gc não houve diferença significativa sendo os resultados respectivos 6 e 5,8% de patologias (Tabela 4) e o valor de $P > 0,05$, sendo esses, tanto do grupo tratamento como controle, um bom resultado para reprodutores. Esses resultados discordam de Chenoweth et al (1994), que em trabalho com bovinos jovens, recebendo 8,2g de gossipol livre por dia, durante 11 semanas, concluíram que a suplementação com farelo de algodão teve efeito adverso sobre a morfologia dos espermatozoides e a espermatogênese, com as primeiras alterações observadas entre a 3ª e 4ª semana da dieta estabelecida. Também difere de Cunha (2006) que observou que o percentual de patologias teve efeito linear crescente, observando que para cada 1% de algodão acrescido na dieta houve aumento de 0,2% de defeitos totais, apesar de não apresentarem mais de 20% de defeitos totais. Discorda também de Zahid et al (2003) que

afirma que caprinos alimentados com caroço de algodão sofreram aumento na porcentagem de espermatozoides morfologicamente anormais. Santos et al (2008) em estudo com bovinos da raça Nelore concluiu que o gossipol existente no caroço aumentou a porcentagem de defeitos totais nos ejaculados. O resultado encontrado corrobora com Mello (2004), que utilizou o caroço de algodão na alimentação de bovinos e verificou que dietas com até 30 mg de gossipol/kg de peso vivo não causaram efeito tóxico sobre a quantidade e qualidade do sêmen e com Knights; Connelb (1992) que em experimento realizado com carneiros alimentados com 200, 400 e 800 g de caroço de algodão, respectivamente, durante doze semanas, não encontrou correlações significativas entre a ingestão de caroço de algodão e qualidade do sêmen de carneiros. Já Guedes; Soto-Blanco (2010) também não observaram alteração na qualidade e patologia espermática de ovinos submetidos à dieta contendo 0,5 kg de torta de algodão em relação aos animais que ingeriram a mesma quantidade de farelo de milho.

Quanto a análise histopatológica, não obteve-se resultados significativamente diferentes na qualidade do tecido testicular e características de túbulos seminíferos, (Figura 1 e 2)

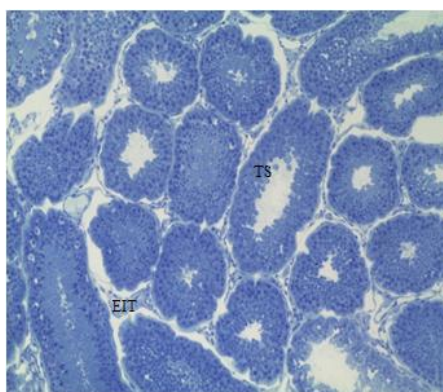


Figura 1: fotomicrografias dos testículos de ovinos Santa Inês adultos suplementados com caroço de algodão e milho

encontrando-se algumas vacuolizações, descamações de epitélio em ambos os grupos e poucos sinais de degeneração testicular que não comprometeram os parâmetros seminais e não foram causados pelo gossipol, pois ambos os grupos apresentaram as mesmas pequenas alterações não significativas (Figura 3, 4 e 5). Na comparação do diâmetro dos túbulos seminíferos entre grupo gossipol e controle não houve diferença significativa. Na altura do epitélio seminífero foi observada uma diferença significativa entre o grupo controle e tratamento, tendo o grupo gossipol maiores medidas que o grupo controle. A altura do epitélio

seminífero é uma característica efetiva para a avaliação da produção espermática, uma vez que acompanha as variações do ciclo do epitélio seminífero, como número de camadas do epitélio seminífero e de células mioides (PAULA; COSTA; MATTA, 2002). Nesse estudo não houve diferença significativa na concentração espermática entre grupo controle e tratamento demonstrando que essa diferença não afetou a produção espermática dos carneiros.

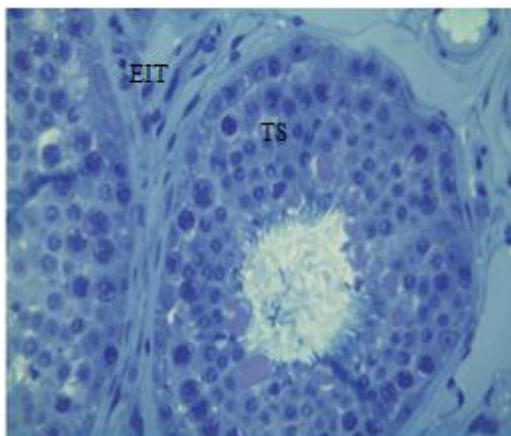


Figura 2: parênquima testicular de animais do grupo tratamento suplementados com caroço de algodão. Túbulos seminíferos (TS) em secção transversal e espaço intertubular (EIT). Aumento de 100x

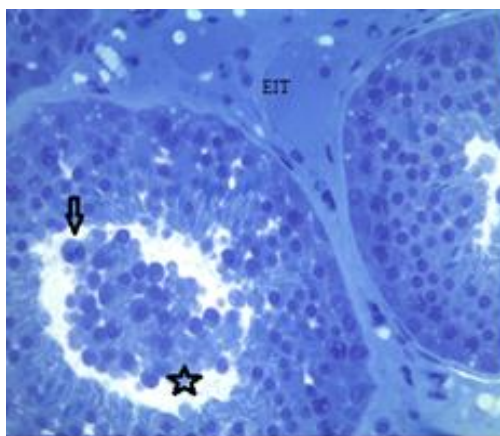


Figura 3: Detalhe do grupo controle suplementado com milho. Notar obliteração luminal por células germinativas descamadas e degeneradas (estrela), células gigantes sinciciais apoptóticas (seta preta) e espaço intertubular aumentado. Aumento 400x.

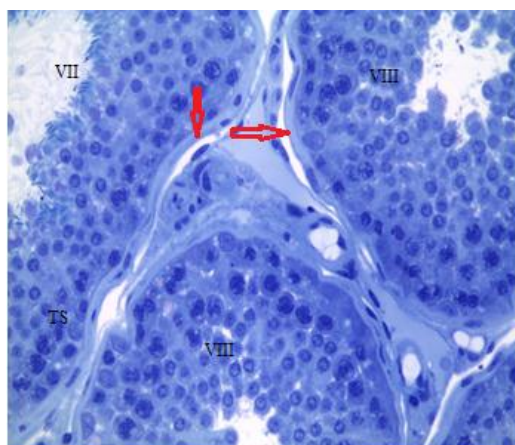


Figura 4: grupo tratamento. Observar túbulos seminíferos no estágio VII e VIII do ciclo do epitélio seminífero e espessamento da túnica própria (seta vermelha). Aumento 400x.

Esse resultado difere do encontrado por Santos et al (2008) que encontrou diferenças de diâmetro de epitélio seminífero em touros Nelore que consumiram caroço de algodão comparados com grupo controle e do encontrado por Santos, (2011) quando, em experimentos

com ovinos jovens, encontrou diferenças significativas entre os grupos em, diâmetro de túbulos.

Para se testar a fertilidade do sêmen dos carneiros do grupo tratamento que sofreram orquiectomia unilateral decidiu-se por fazer um teste de fertilidade in vivo com fêmeas férteis, pois essa é a maneira fidedigna de avaliar a capacidade fecundante de espermatozoides postos em prova. Das dez ovelhas do teste seis ovelhas apresentaram prenhez positiva ultrassonografia realizada no 90° dia pós início de monta, uma porcentagem de 60%. Considerando o período no qual foi realizado a monta, seco, sem chuvas com dias longos que não induzem ciclicidade e a sub-fertilidade induzida dos carneiros pela orquiectomia unilateral obteve-se um bom resultado de fertilidade.

CONCLUSÃO

Com os resultados encontrados nesse trabalho pode-se concluir que a dieta com 500g de caroço de algodão por dia, contendo 1696,43 mg de gossipol, fornecida por um período de 104 dias a carneiros machos deslanados em idade reprodutiva, não influenciou a reprodução, permanecendo todos as variáveis analisadas dentro dos padrões de normalidade.

REFERÊNCIAS

ANDREAZZI, M.A. et al. Efeito do caroço de algodão sobre o desenvolvimento e desempenho reprodutivo de caprinos machos. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.38, n.3, p. 799-813, 1995, 21 p.

Associação Brasileira dos produtores de Algodão – **ABRAPA** – Disponível em <www.abrapa.com.br> Acesso em 20 de dez. de 2012.

ARSHAMI, J; RUTTLE, J.L. Effecte of diets containg gossypol on spermatogenic tissues of young bulls. **Theriogenology**, Los, Altos, v.30, p.507-519, 1988.

BOVINO, F. et al. Intoxicação por gossipol em ovinos – relato de caso. **Vet. e Zootec.** v. 15, n.2, supl.1,agost.,p.24, 2008

BROCAS C. Deleterious actions of gossypol on bovine spermatozoa, oocytes and embryos. **Biol. Reprod.**v.57,p.901-907, 1997.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Algodão em caroço. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, oitavo levantamento, maio 2012.** Disponível em <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em 20 dez. de 2012.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual de exame e avaliação de sêmen animal.** 2ºed. Belo Horizonte, CBRA ,p.49,1998.

CHENOWETH, P. J. et al. Effects of dietary gossypol on aspects of semen quality, sperm morphology and sperm production in young Brahman bulls. **Theriogenology**. v.42, p.1–13,1994.

CUNHA, M.G.G. Aspectos nutricionais, produtivos e reprodutivos em ovinos alimentados com rações contendo níveis crescente de Caroço de Algodão, 2006 p.96. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2006.

EAGLE E. Effect of repeated doses of gossypol on the dog. **Arch. Biochem.** v.26, p.68 71.

FARIAS, P. S. C.. A saga de duas regiões do fazer: as seletividades e as marginalidades do agreste e do sertão paraibanos nas divisões territoriais internacional e nacional da produção do algodão. **GEOTemas**,v. 2, n. 1, p. 17-36, Jan./Jun., 2012.

FERREIRA, R. N. et al Efeitos de dietas contendo gossipol na qualidade de sêmen de caprinos, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, n. 3-4, p. 212-218, 1995.

GUEDES, F.C.B; SOTO-BLANCO, B. Sperm Quality of Sheep Fed Cottonseed Cake. **Acta Scientiae Veterinariae**.v.38, n.4, p.415-418, 2010.

JIMENEZ, D.A. et al. Effect of feeding gossypol in cottonseed meal on growth, semen, quality, and spermatogenesis of yearling Holstein bulls. **Journal Dairy Science**. v. 72, p. 1866-1875, 1989.

KERR, L. A. Gossypol toxicosis in cattle. Compendy Continuous Education Practy. **Veterinary**. v. 15, n.9, p. 1139-1146, 1989.

KNIGHTS, A G. I.; CONNELB J. A. The Effect of Whole Cottonseed Feeding On Ram Semen Quality **Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.** v.19 p.425-426, 1992

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. MAPA **Cadeia produtiva do algodão** – Brasília : IICA / MAPA/SPA, 2007.108 p. (Agronegócios ; v. 4)

MELO, A.O.A.M. Uso do gossypol na reprodução de ruminantes, Disponível em:<<http://www.boviplan.com.br/artigotecnico4>>. Acesso em 2012.

MORGAN S.E. Clinical, clinicopathologic, pathologic, and toxicology alterations associated with gossypol toxicoses in feeder lambs. **Am. J. Vet. Res.** v. 49, p. 493-499.1988.

MOURA, A. de A. et al. Desenvolvimento ponderal e testicular em carneiros Santa Inês no estado do Ceará. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36,1999, Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre: SBZ,1999.

PAULA, T.A.R.; COSTA D.S.; MATTA S.L.P. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. **Biosci J**, v. 18, n. 1, p. 121-136, 2002.

RANDEL,R.D.; CHASE-JR.,C.C.; WYSE,S.J. Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. **Jornal of Animal Science**, v.7, p. 1628-1638, 1992.

ROGERS P.A.M., Henaghan T.P.; Wheeler B. Gossypol poisoning in young calves. **Ir. Vet. J.** v.29, p.9-13, 1975.

SANTOS, M. D. et al. Morfologia testicular e qualidade espermática de touros da raça Nelore, submetidos à dieta contendo gossypol. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 15, n. 3, p. 134-139, set./dez. 2008

SANTOS, M. D. Morfologia testicular de cordeiros confinados, submetidos à dieta contendo diferentes níveis de gossypol. Publicado nos **anais** do 38º CONBRAVET- Florianópolis – SC, 2011.

YARNEY,T.A.; SANFORD,L.M.; PALMER,W.M. Pubertal development of ramambs: body weight and testicular size measurements as indices of post-pubertal reproductive function. **Canadian Journal of Animal Science**,v.70, p.139,1990.

ZAHID,I.A.; Effectes of gossypol on semen characteristics of teddy male goats. **Pakistan Veterinary Journal**, v.23,p .173 -176.2003.

ANEXOS

Anexo A



Carneiros do experimento confinados em baias individuais.

Anexo B



Animais se alimentando de caroço de algodão à direita e já alimentados com milho a esquerda.

Anexo C: Laudo da amostra de algodão utilizada durante o experimento



Amostra: 312030863

Cliente : Universidade Federal Rural de Pernambuco	Univ. Federal Rural Pernambuco(UFPE)
Contato : Ronaldo Olivera Cavalli	Solicitante : PEDRO AUGUSTO MARINHO P. LIMA
Endereço : Rua Luiz Guimarães, 411 - Apto. 201	Cidade : Poço da Panela - Recife - PE
Produto : Semente de Algodão 400	Controle : 1 Lote :
Fornecedor : Não Informado	Quantidade : NF :
Data Produção : Validade :	Data Coleta : Data Envio : 19/7/2012
Data Recepção : 30/7/2012	Data Início : 30/7/2012 Data Liberação : 23/8/2012

Análise	Unidade	Resultado	Padrão		Status
			Mínimo	Máximo	
Gossipol livre	mg/kg	3.662,47			

Comentários

Cliente Produto: Semente de Algodão 400
 Nível Esperado: 1%
Laboratório
 Ensaio de gossipol feito com repetição (3392,87 mg/kg).
Depto. Técnico

Solange Maia da Cunha
 Coordenadora de Qualidade
 CRQ IV 04362107

Oneida Vieira
 Diretora Comercial
 CRQ IV 04219427

O(s) resultado(s) obtido(s) neste relatório de ensaio referem-se somente a amostra enviada. O relatório de ensaio só pode ser reproduzido por completo.

RUA: WALDEMAR JOSÉ STRAZZACAPPA, 272 - CEP. 13050 - 215, Jardim Indianópolis - Campinas - SP
 fone/fax (0xx19) 3229.8886 e-mail: resultados@cboanalise.com.br site: www.cboanalise.com.br

Anexo D: Laudo da amostra de corogo de algodão proveniente do Estado do Piauí.



Amostra: 312054586

Cliente : Pedro Augusto Marinho Patriota Lima	Univ. Federal Rural Pernambuco(UFPE)
Solicitante : PEDRO AUGUSTO MARINHO PATRIOTA LIMA	
Endereço : Rua Dr. Arlindo Leite Lopes nº 74	Cidade : São José do Egito - PE
Produto : Semente de Algodão	Controle : 2012.2PI Lote :
Fornecedor : Não Informado	Quantidade : NF :
Data Produção : Validade :	Data Coleta : Data Envio : 18/12/2012
Data Recepção : 26/12/2012	Data Início : 26/12/2012 Data Liberação : 24/1/2013

Análise	Unidade	Resultado	Padrão		Status
			Mínimo	Máximo	
Umidade e Voláteis	%	7,78			
Proteína Bruta	%	23,70			
Fibra Bruta	%	21,52			
Fibra em Detergente Ácido	%	29,52			
Fibra em Detergente Neutro	%	48,07			
Extrato Etéreo	%	16,86			
Matéria Mineral	%	4,09			
Gossipol livre	mg/kg	948,49			

Comentários

Cliente Produto: Semente de Algodão
Nível Esperado: 1%

Laboratório

Depto. Técnico

Anexo E: Laudo da amostra de algodão proveniente do Estado do Mato Grosso.



Amostra: 312054782

Cliente : Pedro Augusto Marinho Patriota Lima	Univ. Federal Rural Pernambuco(UFPE)
Solicitante : PEDRO AUGUSTO MARINHO PATRIOTA LIMA	
Endereço : Rua Dr. Arlindo Leite Lopes nº 74	Cidade : São José do Egito - PE
Produto : Semente de Algodão	Controle : 2012.2MT Lote :
Fornecedor : Não Informado	Quantidade : NF :
Data Produção : Validade :	Data Coleta : Data Envio : 19/12/2012
Data Recepção : 26/12/2012	Data Início : 27/12/2012 Data Liberação : 24/1/2013

Análise	Unidade	Resultado	Padrão		Status
			Mínimo	Máximo	
Gossipol livre	mg/kg	731,53			
Comentários					
Cliente	Produto: Semente de Algodão Nível Esperado: 1%				
Laboratório					
Depto. Técnico					

**ASSOCIAÇÃO DE ENSINO E CULTURA PIO DÉCIMO
FACULDADE PIO DÉCIMO**



**FACULDADE
PIO DÉCIMO**

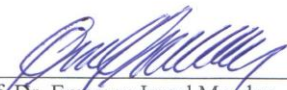
Comissão de Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "EFEITOS DA DIETA RICA EM CAROÇO DE ALGODÃO CONTENDO GOSSIPOL NA FERTILIDADE DE MACHOS OVINOS", protocolo nº 30/2012, utilizando 22 (vinte e dois) carneiros, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade Pio Décimo e foi aprovado em reunião do dia 20/12/2012.

(We certify that the Research " EFFECTS OF DIET RICH IN COTTON SEED GOSSYPOL CONTAINING THE FERTILITY OF MALE SHEEP", protocol number 30/2012, utilizing 22 (twenty-two) sheep, under the responsibility of Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro, conforms to the ethical principles of animal experimentation of the Committee on Bioethics of Faculty Pio Tenth and was approved in a meeting held on 20.12.2012).

Aracaju, 21 de dezembro de 2012.



Prof. Dr. Emerson Israel Mendes
Presidente da Comissão de Bioética
Faculdade Pio Décimo



Associação de Ensino e Cultura Pio Décimo
Campus I: Rua Estância 362/382 – Bairro Centro – Aracaju – Sergipe – Telefones: +55 (79) 2106-3050 – Fax: (79) 3211-3363
Campus II: Av. Augusto Franco, 2685 – Bairro Ponto Novo – Aracaju – Sergipe – Telefone: +55 (79) 3225-7075
Campus III: Av. Tancredo Neves, 5655 – Bairro Jaboatã – Aracaju – Sergipe – Telefones: +55 (79) 3234-8400 – Fax: 3234-8429
www.piodecimo.com.br

DIRETRIZES PARA AUTORES

Os trabalhos podem ser redigidos em português, inglês. Os nomes dos autores, bem como a filiação institucional de cada um dos mesmos, devem ser inseridos nos campos adequados a serem preenchidos durante a submissão, e não devem aparecer no arquivo. Ciência Animal Brasileira sugere que o número máximo de autores por artigo seja de 6 (seis). Artigos com número superior a 6 (seis) serão considerados exceções e avaliados pelo Conselho Editorial e, se necessário, solicitada a correção. O não atendimento de tal proposta pode implicar em recusa de sua publicação. Sugere-se um número máximo de 20 páginas e as figuras, gráficos e tabelas devem ser colocados no corpo do texto onde forem citados. É importante ressaltar que pesquisas feitas com animais devem citar a aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Animais da instituição onde foi realizada a pesquisa. A falta dessa aprovação impede a publicação do artigo. Os textos devem ser organizados da seguinte forma:

Para submissões em português:

Título em português: Fonte Times New Roman 14, caixa alta, centrado, negrito; **Resumo:** Fonte Times New Roman 11, espaço 1, justificado, com um máximo de 200 palavras; **Palavras-chave:** idem, e no máximo 5 palavras chave; **Título em inglês:** Fonte Times New Roman 12, caixa alta, centrado; **Abstract** (e não Summary): Fonte Times New Roman 11, espaço 1, justificado; **Keywords:** idem **Introdução:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5; **Material e Métodos:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5; **Resultados e Discussão:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5 (Preferivelmente evitar a separação destes tópicos) **Conclusões:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5; **Agradecimentos:** (opcional) Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5; **Referências:** (e não bibliografia) Usar fonte Times New Roman 11, espaço 1 entre linhas e colocar espaço 6 pontos acima e abaixo do parágrafo. As referências devem estar em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor, seguindo a NBR 6023, da ABNT. Não colocar nenhum tipo de recuo no parágrafo.

Para as submissões em língua inglesa, a tipografia e espaçamentos são os mesmos, na seguinte sequência:

Título em inglês (Title); Abstract; Keywords; Título em português (obrigatório); Resumo em português (obrigatório); Palavras-chave; Introduction; Material and Methods; Results and Discussion; Conclusions; Acknowledgments (opcional) References

Artigos do tipo Nota Científica, Relato de Caso e similares não estão sendo aceitos para submissão. **Artigos de Revisão de Literatura** somente serão publicados quando solicitados por convite do Conselho Editorial.

A utilização de referências a partir de resumos simples ou expandidos e trabalhos completos em anais de eventos é, em muitas ocasiões, de difícil recuperação. Solicitamos que os autores reduzam ao máximo o número desse tipo de citação e, quando o fizer, obrigatoriamente, citem as páginas eletrônicas para recuperação desses documentos.

Com relação às teses, dissertações, monografias e documentos semelhantes também deve ser seguido o mesmo procedimento, pois existe o cadastro nacional de teses da CAPES e os bancos locais das universidades que publicam esses documentos no formato .pdf. Documentos dessa natureza com mais de cinco anos de conclusão costumam ser de difícil resgate. Além do mais, costumam gerar artigos em revistas científicas e técnicas, cujo acesso, normalmente, é mais fácil. Solicita-se, também, priorizar referências de periódicos, e não de livros-texto. O editor científico pode solicitar essas informações no momento de sua editoração. Seu atendimento agilizará a sua publicação. O processo de resgate fácil das informações é o ponto principal de uma referenciação bibliográfica, técnica ou eletrônica.