



**Programa de Mestrado em Biociência Animal
Área de Concentração Saúde Animal**

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE INGESTÃO DE GOSSIPOL
LIVRE SOBRE MORFOMETRIA TESTICULAR E QUALIDADE SEMINAL DE
TOUROS DA RAÇA NELORE**

JOSETE MARIA DA SILVA

Cuiabá
2015

JOSETE MARIA DA SILVA

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE INGESTÃO DE GOSSIPOL
LIVRE SOBRE MORFOMETRIA TESTICULAR E QUALIDADE SEMINAL DE
TOUROS DA RAÇA NELORE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociência Animal, da Universidade de Cuiabá – UNIC como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Diniz dos Santos

Cuiabá
2015

FICHA CATALOGRÁFICA
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S586e SILVA, Josete Maria.
Efeito de diferentes concentrações de ingestão de gossipol livre sobre morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça nelore / Josete Maria da Silva. – Cuiabá, 2015.
41 f. : il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Mestrado em Biociência Animal, Universidade de Cuiabá, ano de publicação.
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Diniz dos Santos.

1. Carço de algodão. 2. Degeneração Testicular. 3. Exame Andrológico. 4. Infertilidade de Touros. I. Título.

CDU 591.133.1

Normalização e Ficha Catalográfica

Valéria Oliveira dos Anjos
Bibliotecária CRB1/1713

JOSETE MARIA DA SILVA

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE INGESTÃO DE GOSSIPOL
LIVRE SOBRE MORFOMETRIA TESTICULAR E QUALIDADE SEMINAL DE
TOUROS DA RAÇA NELORE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociência Animal, da Universidade de Cuiabá – UNIC como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Diniz dos Santos - UNIC
Orientador

Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza - UNIC

Prof. Dr. Eduardo Paulino da Costa - UFV

Cuiabá, ____ de _____ de 2015

Conceito Final: _____

Dedico este trabalho à minha família que tanto me incentivou.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força e coragem nos momentos de desânimo.

Ao professor Dr. Marcelo Diniz dos Santos, meu orientador, por me orientar, pela ideia do tema e por seu apoio em momentos cruciais da elaboração dessa dissertação.

Agradeço também a Marcel, pela incrível disponibilidade oferecida. Vocês foram simplesmente essenciais.

Por fim agradeço a mãe Mairce, o meu irmão Jean Rafael e a minha filha Cláudia Sofia. Deixei vocês por último, porque sempre deixo o melhor para o final, e vocês são o melhor da minha vida. Obrigada mãe, pelo seu apoio incondicional ao longo deste processo de dissertação e de muitos outros. Obrigada por acreditar em mim, mesmo quando eu não acreditava. Você é minha fortaleza.

O significado das coisas não está nas coisas em si, mas sim em nossa atitude com
relação a elas.
Antoine de Saint-Exupéry

EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE INGESTÃO DE GOSSIPOL LIVRE SOBRE MORFOMETRIA TESTICULAR E QUALIDADE SEMINAL DE TOUROS DA RAÇA NELORE

Effect of free gossypol intake in different concentration in the testicular morphometry and seminal quality of Nelore bulls

RESUMO

SILVA, J. M. **Efeito de diferentes concentrações de ingestão de gossipol livre sobre morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore**. 2015. 40 f. Dissertação (Mestrado Biociência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2015.

A cotonicultura tem forte fator de impacto na economia nacional e o estado de Mato Grosso se destaca por ser o maior produtor de algodão herbáceo e deter o maior rebanho bovino do país, condições estas que estimulam muitos pecuaristas e empresas da área de nutrição a utilizarem o caroço, torta e farelo de algodão na alimentação animal. Considerando que o gossipol está presente nos subprodutos do algodão e que seus efeitos sobre a reprodução podem reduzir a fertilidade dos animais, objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito da ingestão de dietas com diferentes teores de gossipol livre por dia, sobre a morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore. Foram utilizados 28 touros, distribuídos aleatoriamente em seis tratamentos, que após a avaliação do consumo de caroço de algodão realizada ao término do experimento, resultou em: T0, 0 grama de gossipol livre/touro/dia (isenta de caroço de algodão); T1, 1,08 grama de gossipol livre/touro/dia; T2, 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia; T3, 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia; T4, 3,82 gramas de gossipol livre/touro/dia e T5, 5,08 gramas de gossipol livre/touro/dia. Os animais de cada tratamento foram mantidos confinados em área média de 100 m², dotada de bebedouro, cochos para mistura mineral e para volumoso/concentrado. O consumo de 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia (média de 5,9 mg de gossipol livre/kg de peso vivo) alterou a qualidade espermática e a morfometria testicular de touros.

Palavras-chave: Caroço de algodão. Degeneração Testicular. Exame Andrológico. Infertilidade de touros.

ABSTRACT

SILVA, J.M. **Effect of free gossypol intake in different concentration in the testicular morphometry and seminal quality of Nelore bulls.** 2015. 40 f. Dissertação (Mestrado Biociência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2015.

The cotton industry has a strong impact factor in the Brazilian economy and the state of Mato Grosso stands out for being the largest upland-type cotton producer and also holds the largest cattle herd in the country, conditions that stimulate many farmers and businesses in the nutrition area to use the core, pie and cottonseed meal in animal feed. Whereas gossypol is present in cotton by-products and their effects on reproduction can reduce the animal fertility, this research evaluate the effect of diets with different free gossypol contents in the testicular morphometry and semen quality of Nelore bulls. 28 bulls were randomly allotted into six treatments, which after evaluation of consumption of cottonseed carried out at the end the experiment resulted in:: T0, receiving no free gossypol; T1, receiving 1.08 g / bull / day; T2, receiving 2.07 g / bull / day; T3, receiving 3.24 g / bull / day; T4, receiving 3.82 g / bull / day and T5, receiving 5.08 g / bull / day of free gossypol respectively. The animals of each treatment were kept confined in an averaged area of 100 m², having fresh water, troughs for mineral mixture and roughage / concentrate. The consumption of 3.24 g of free gossypol / bull / day (mean 5.9 mg free gossypol / kg body weight) altered the bulls sperm quality and testicular morphometry.

Keywords: Breeding Soundness Exam. Bulls Infertility. Cotton Seed. Testicular degeneration.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1 – Efeito de diferentes níveis de ingestão de gossipol livre sobre morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore

Tabela 1 -	Composição percentual preconizada para as rações experimentais na matéria seca.....	31
Tabela 2 -	Consumo médio da dieta na matéria natural (CMN), de caroço de algodão (CCA) e de gossipol livre (CGL) pelos touros submetidos aos tratamentos contendo diferentes concentrações de gossipol, durante 85 dias de período experimental	33
Tabela 3 -	Valores médios da motilidade espermática (MOTIL), concentração espermática (CONC), defeitos espermáticos menores (DEME), defeitos espermáticos maiores (DEMA) e defeitos espermáticos totais (DET), dos touros utilizados nos tratamentos, T0, 0 grama de gossipol livre/touro/dia (isenta de caroço de algodão); T1, 1,08 grama de gossipol livre/touro/dia; T2, 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia; T3, 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia; T4, 3,82 gramas de gossipol livre/touro/dia e T5, 5,08 gramas de gossipol livre/touro/dia, no início (D0) e final do experimento (D85).	36
Tabela 4 -	Número médio de camadas de células da linhagem espermatogênica e espessura média das paredes dos túbulos seminíferos (μm) dos testículos dos touros submetidos à dieta dos Tratamentos T0, isenta de gossipol livre; T1, 1,08 grama de gossipol livre/touro/dia; T2, 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia; T3, 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia; T4, 3,82 gramas de gossipol livre/touro/dia e T5, 5,08 gramas de gossipol livre/touro/dia, após 85 dias de período experimental	37

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1 – Efeito de diferentes concentrações de ingestão de gossipol livre sobre morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore

Figura 1 - Testículos dos touros submetidos às dietas com diferentes teores de gossipol livre/dia. Observa-se redução da espessura da parede dos túbulos seminíferos nos tratamentos T2, T3, T4 e T5, após 85 dias de período experimental. H&E OBJ 10x.....37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	CAROÇO DE ALGODÃO.....	14
2.2	GOSSIPOL	15
2.3	EFEITOS TÓXICOS DO GOSSIPOL.....	16
2.4	QUALIDADE ESPERMÁTICA E FERTILIDADE	17
2.5	INTERFERÊNCIAS DO GOSSIPOL NA QUALIDADE ESPERMÁTICA E FERTILIDADE ANIMAL	20
	REFERÊNCIAS	22
3	OBJETIVOS	25
3.1	OBJETIVO GERAL	25
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4	ARTIGO 1	26
	Efeito de diferentes concentrações de ingestão de gossipol livre sobre morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore	26
	INTRODUÇÃO	28
	MATERIAL E MÉTODOS	30
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
	CONCLUSÕES	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
	CONCLUSÕES GERAIS	41

1 INTRODUÇÃO

A atividade pecuária relativa ao PIB (Produto Interno Bruto) do agronegócio brasileiro cresceu no primeiro quadrimestre do ano de 2015, quando comparado ao setor agrícola. Contudo, em 2014 ocorreu redução do número de bovinos abatidos e do peso das carcaças. Essa menor oferta de carne, acarretou valorizações significativas em todos os elos da cadeia (CENTRO..., 2015).

O estado de Mato Grosso tem como base econômica o seu potencial agropecuário, sendo detentor do maior rebanho bovino do país com 28.472.038 cabeças, em novembro de 2014 (INSTITUTO..., 2015).

A cotonicultura tem forte fator de impacto na economia nacional, com uma área plantada de 1.102,8 mil hectares e produção de 4.238,9 mil toneladas de algodão em caroço (safra 2013/2014), com destaque para o estado de Mato Grosso, maior produtor de algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum*) do País, com área plantada de 627,4 mil hectares e produção de 2.390,4 mil toneladas de algodão em caroço (safra 2013/2014) (COMPANHIA..., 2014). Estes fatores têm estimulado muitos pecuaristas e empresas da área de nutrição a adotarem sua utilização na alimentação animal, dada a oferta do caroço e do farelo de algodão no mercado, seu valor energético, proteico e baixo preço (SANTOS et al., 2013).

A utilização de alimentos ricos em lipídeos na dieta de ruminantes é importante por aumentar a densidade energética da dieta sem aumentar os riscos de ocorrências de acidose ruminal, assim, o caroço de algodão tem sido muito utilizado como fonte de gordura em propriedades especializadas em produção leiteira (APPER-BOSSARD et al., 2006; DEGARIS et al., 2008).

O algodão possui um pigmento polifenólico de cor amarela, tóxico, e antipolimerizante denominado gossipol. Este é produzido em glândulas localizadas nas raízes, folhas, caule e sementes do algodão tendo sua fórmula $C_{30}H_{28}O_8$ (RANDEL et al., 1992).

No Brasil as informações disponíveis sobre o teor de gossipol no caroço de algodão e seu efeito tóxico sobre a reprodução animal ainda são bastante incipientes. Vinne (1992) relatou que touros produziram sêmen de qualidade reduzida ao consumir 2 a 4 gramas de gossipol livre diariamente, sugerindo que touros com acesso a alimentação com caroço de algodão podem ser menos férteis.

Já Santos et al. (2008), observaram que o consumo médio de 1,71 kg de caroço

de algodão/touro/dia interferiu na morfologia dos testículos e na qualidade espermática de touros da raça Nelore.

Considerando a importância da utilização dos subprodutos do algodão na nutrição de ruminantes (ROGÉRIO et al., 2003; ARAUJO et al., 2013) e os efeitos do gossipol sobre a reprodução, podendo reduzir a fertilidade dos animais (ARSHAMI; RUTLE, 1988; SANTOS et al., 2013), bem como não se tem definido o limite de consumo de caroço de algodão e gossipol livre que não altera a morfologia espermática, morfometria dos túbulos seminíferos e a fertilidade dos bovinos, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da ingestão de dietas com diferentes concentrações de gossipol livre por dia, sobre a morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore, bem como, determinar a quantidade máxima de gossipol livre que pode ser ingerido pelos touros, sem acarretar problemas reprodutivos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CAROÇO DE ALGODÃO

O cultivo do algodão é realizado em alguns estados brasileiros como matéria prima na indústria têxtil para obtenção de fibras, e sua semente (caroço de algodão) é utilizada para extração de óleo, bem como é fornecido in natura para alimentação de ruminantes (ARAUJO et al., 2013).

A oferta total de algodão em caroço na safra 2013/14 está prevista atingir 4.238,9 mil toneladas, representando um incremento de 27,3% em relação a safra 2012/13. Essa performance deverá redundar numa produção estimada de algodão em pluma de 1.672,3 mil toneladas contra uma produção de 1.310,3 mil toneladas verificadas na safra 2012/13 (COMPANHIA..., 2014). O estado de Mato Grosso, líder no processo produtivo brasileiro e responsável por 56% da produção brasileira de algodão em caroço (COMPANHIA..., 2014).

O caroço de algodão se destaca entre as alternativas de alimentos utilizados na elaboração de dietas para ruminantes, principalmente por ter reflexos positivos nos índices de produtividade e qualidade dos produtos de origem animal. Nutricionistas o utilizam por conter altas concentrações de óleo, proteína e fibra, permitindo assim a substituição de alimentos volumosos sem prejudicar a fermentação ruminal, refletindo em seu conteúdo energético (ARAUJO et al., 2013). Poucos alimentos conseguem reunir tais nutrientes em um só produto, além disto, o caroço de algodão possui fibra de alta degradabilidade (ROGÉRIO et al., 2003).

Composto por semente (65%), linters (9%) e casca (26%), o caroço de algodão passa por um processamento comercial para obtenção do óleo e farelo de algodão. Neste processo ocorre destruição das glândulas pigmentares, liberando o gossipol livre, que se liga a outros componentes da semente. Assim, a extensão e a forma desta ligação podem variar com o método de processamento. Após este processamento obtém-se a torta e o farelo de algodão, que possuem alto teor proteico (ANDRIGUETTO et al., 2002).

O caroço de algodão é considerado um alimento muito palatável para ruminantes, sendo difícil sua classificação, pois reúne características de alimento volumoso (mais 18% de fibra bruta na matéria seca), de concentrado proteico (mais 20% de proteína bruta na matéria seca) e de concentrado energético (SAVASTRANO,

2007). O algodão é considerado a segunda maior fonte de proteína do mundo, pois gera subprodutos como caroço, torta e farelo de algodão, empregados na nutrição de ruminantes. O caroço de algodão possui menor conteúdo de proteína bruta e mais óleo em relação ao farelo (BORGES et al., 2008).

2.2 GOSSIPOL

O gossipol é um composto fenólico formado por aldeídos e terpenos biossintetizado por planta do gênero *Gossypium* da família Malvaceae sendo produzidos em suas glândulas subepidérmicas e encontradas sobre cotilédones, folhas, estípulas, sépalas, caule, ramos, frutos e na amêndoa da semente apresentando baixo peso molecular (MACEDO et al., 2007; GADELHA et al., 2011). As glândulas de gossipol são macroscopicamente visíveis como pequenos pontos escuros de tamanho diminuídos contendo dois pigmentos; um de cor amarelada que contém o pigmento tóxico gossipol e outros de colorações escuras que resulta a coloração castanha quando se extrai o óleo do caroço de algodão (MACEDO et al., 2007).

A maior concentração de gossipol está na parte interna da semente do algodão “amêndoa” confinada em glândulas, na forma de ovo esferoidal com o diâmetro entre 100 e 400 μm . A glândula de pigmento possui uma parede que protege o conteúdo dos demais tecidos dentro da semente intacta, sendo resistente a pressões em presença de baixa umidade. Representam em geral 2,4 a 4,8% do miolo da semente e o gossipol representa 20,6 a 39,0% da massa das glândulas, enquanto outros pigmentos contam apenas com 2% (JORGE, 2006). A concentração de gossipol na semente de algodão varia amplamente com os genótipos da planta, podendo variar de plantas com ausência de gossipol até 9% do peso da semente (JORGE, 2006).

O gossipol livre, que tem o efeito tóxico, é a parte do gossipol que é solúvel em acetona. Normalmente no caroço de algodão, o teor de gossipol livre é semelhante ao teor total, o que tem restringido a utilização deste na alimentação de ruminantes e não ruminantes (RANDEL et al., 1992). O conteúdo médio de gossipol total no caroço de algodão é de 1,32% (variando de 0,59 a 2,35%) em espécies comumente cultivadas nos Estados Unidos (PONDEY; THEJAPPA, 1975). Este conteúdo foi correlacionado positivamente com o período de chuva e negativamente com a temperatura, além destes, outros fatores como a fertilidade do solo, suprimento de água, adubações e

crescimento vegetativo afetam a concentração de gossipol na planta (RANDEL et al., 1992).

Panice e Santos (2009, dados não publicados) observaram diferença no teor de gossipol livre (g) por kg de caroço de algodão de cultivares de algodão plantadas em Mato Grosso: CV 22 (3,034 g/kg), FMT 701 (2,744 g/kg), FIBERMAX 966 (2,303 g/kg), FIBERMAX 993 (0,707 g/kg) e FIBERMAX 908 (transgênica) (0,706 g/kg).

A cromatografia líquida de alta eficiência tem se mostrado eficiente, considerando sua exatidão e sensibilidade, na determinação o teor de gossipol livre. Entretanto, é imprescindível que a amostra analítica seja capaz de representar adequadamente a amostra total (ROMERO et al., 2011).

2.3 EFEITOS TÓXICOS DO GOSSIPOL

No início do século XX foi observado em não ruminante efeito tóxico do gossipol causado pelo excessivo consumo de produtos de algodão. Existe diferença marcante do efeito tóxico entre as espécies. Em suínos os sintomas da ingestão crônica de altos níveis de gossipol livre do farelo de algodão, incluem dispneia, redução da taxa de crescimento e anorexia. Os achados pós-morte mostraram acúmulo de fluídos nas cavidades corporais, edema e congestão do fígado, pulmão e baço (RANDEL et al., 1992). O gossipol é uma cardiotoxina, de mecanismo ainda não conhecido, acarreta necrose muscular cardíaca, falhas cardíacas congestivas e dilatações cardíacas e edema (POORE; ROGERS, 1995).

As tortas de algodão apresentam valores de gossipol que variam de 0,2 a 0,5%, variação que pode estar relacionada ao clima e solo. A ingestão de 150g de gossipol livre levaram suínos a morte em 25 a 30 dias. As aves, principalmente pintinhos, são ainda mais sensíveis (ANDRIGUETTO et al., 2002).

A toxicidade do gossipol é um problema potencial para os animais não ruminantes, enquanto os animais ruminantes parecem ser mais resistentes. Ruminantes tem a habilidade de tolerar o gossipol, devido a existência de microrganismos do rúmen que promovem ligações com o grupo e-amino da lisina de proteína solúveis que impedem sua absorção, tornando-se fisiologicamente inativo, razão pela qual não se recomenda a inclusão em dietas de bezerros, sem o pleno desenvolvimento ruminal (RANDEL et al., 1992). Portanto, problemas reprodutivos podem ocorrer se esta utilização for acima dos níveis recomendados, sendo que 3 a

4 kg de caroço de algodão/animal/dia podem levar a intoxicação (ROGERIO et al., 2003).

Os sinais clínicos e os achados de necrópsia de bezerros intoxicados por gossipol são semelhantes aos descritos em suínos (RANDEL et al., 1992). Segundo Tool Vera (1997), o nível de tolerância de vacas ao consumo de gossipol é de 9g/kg de peso vivo na dieta e para bezerros acima de quatro meses de idade é de 0,2g de gossipol/kg de peso vivo. O mesmo autor concluiu que o caroço de algodão não deve ser fornecido para bezerros com menos de quatro meses e para touros e vacas em reprodução.

A intoxicação pode resultar em anorexia, dispneia, fraqueza, deficiência reprodutiva e morte. Algumas lesões decorrentes da intoxicação incluem presença de grande quantidade de fluido proteináceo amarelo em todas as cavidades corporais, degeneração, necrose do miocárdio e hepática, sendo considerada como de caráter crônico (ARAÚJO et al., 2008).

2.4 QUALIDADE ESPERMÁTICA E FERTILIDADE

O exame andrológico tem como objetivo avaliar as condições clínicas do animal, fazendo a observação do histórico da vida reprodutiva, avaliação do estado geral, do sistema locomotor, dos órgãos genitais externos e internos, aspectos físicos e morfológicos do sêmen, bem como, se possível o comportamento sexual do animal (DIAS et al., 2009). Após o exame, os resultados são interpretados e o animal é classificado como: apto ou satisfatório a reprodução; questionável, devendo aguardar novos exames e inapto ou insatisfatório para reprodução e descarte (VALE FILHO, 1997).

O exame clínico externo se faz com inspeção e palpação dos órgãos genitais externos dos touros, para verificar se existe alguma alteração ou enfermidade. A consistência dos testículos exige a palpação bimanual, que deve ser feita de maneira que facilite a observação de alterações leves. O exame clínico interno pode ser feito por palpação transretal ou ultra-sonografia transretal, sendo mais usada à palpação transretal. Deve-se avaliar nesse exame as ampolas dos ductos deferentes, as glândulas vesiculares e a próstata (COLÉGIO..., 2013).

A circunferência escrotal (CE) passou a ser considerada como um bom indicador de potencial de produção espermática de reprodutores bovinos, pois

verificam alta correlação da circunferência escrotal com o volume testicular, atribuídos aos túbulos seminíferos, podendo o volume testicular ser determinado pela mensuração da circunferência escrotal (GARCIA DERAGON; LEDIC, 1990).

Na avaliação da capacidade reprodutivas de touros, comumente se examina os aspectos físicos do sêmen como volume, turbilhonamento, vigor, motilidade e concentração espermática. Para se ter uma fertilidade adequada deve-se garantir um número de espermatozoides acima de 10 bilhões/ejaculado, 70% dos espermatozoides com movimentação progressiva retilínea, baixo número de patologias espermáticas, com vigor 3 (0-5), e alta movimentação no turbilhonamento (COLÉGIO..., 2013).

O turbilhonamento é o movimento em massa dos espermatozoides, que é avaliado quando coloca-se uma gota de sêmen em uma lâmina, observado em microscópio com aumento de 40x, atribuindo nota de 0 a 5 dependendo do movimento em massa (COLÉGIO..., 2013). Para minimizar erros, a avaliação do turbilhonamento deve ser feita com a parte rica de sêmen. No entanto, contribui pouco para a classificação de touro em apto ou inapto, pois touros podem não apresentar turbilhonamento e ter fatores de qualidade espermática normal (MARQUES, 2006).

A motilidade refere-se à porcentagem de espermatozoides móveis, que deve ser analisada logo após a colheita do ejaculado, para não comprometer a qualidade do sêmen e evitando possível choque térmico. Para sua análise, uma gota de sêmen deve ser colocada sobre uma lâmina coberta com lamínula e levada ao microscópio ótico, com aumento de 200x ou 400x para estimar a motilidade espermática. Deve se fazer um esfregaço em outra lâmina para avaliar a morfologia espermática (HAFEZ et al., 2004; COLÉGIO..., 2013).

O vigor é dado pelo deslocamento dos espermatozoides de um lado para o outro do campo do microscópio, a nota é dada de 0 a 5 sendo 0 com ausência espermatozoides móveis e 5 na presença de rápido movimento retilíneo progressivo (COLÉGIO..., 2013).

A concentração espermática em touros varia entre 200×10^6 espermatozoides por mL em touros jovens e de 1800×10^6 espermatozoides por mL em touros adultos. A determinação da concentração pode ser feita com a utilização da Câmara de Neubauer, pelo espectrofotômetro ou contador de células (HAFEZ et al., 2004).

O método de eletroejaculador inicia-se com a introdução via retal de uma probe (eletrodo) com 2 ou 3 eletrodos que emitem estímulos elétricos na região, sendo

responsável pela ereção e ejaculação. O volume de sêmen nesse método varia de 7 a 10 mL e com 1,0 a 1,5 bilhões de espermatozoides/mL, assim a coleta deve começar depois da saída de fluídos das glândulas acessórias (plasma seminal) após os primeiros estímulos (HAFEZ et al., 2004). O sêmen deve ser coletado em tubos aquecidos a 37°C para evitar choque térmico (SILVA et al., 2002; SCHERMACK, 2006).

As morfologias espermáticas são divididas em defeitos maiores e menores. Em bovinos o número de espermatozoides anormais não deve exceder a 30% do total (COLÉGIO..., 2013). Os defeitos maiores são anomalias de origem testicular e epididimária que acarretam maior influência sobre a fertilidade do animal, sendo classificados como: subdesenvolvidos, formas duplas, alterações de acrossoma, decapitados, piriforme, estreito na base, contorno anormal, cabeça pequena anormal, cabeça isolada anormal, defeitos da peça intermediária, gota protoplasmática proximal, pseudo-gotas, cauda fortemente dobrada e enrolada, dentre outros (HAFEZ et al., 2004). Os defeitos menores são anomalias espermáticas menos importantes, ligada a alterações patológicas não diretamente relacionadas aos testículos, sendo classificados como: cabeça delgada, pequena, larga, gigante e curta, cabeça isolada normal, abaxial, gota protoplasmática distal, cauda dobrada e enrolada, dentre outros (BALL et al., 1983; SCHERMACK, 2006).

O touro classificado como satisfatório deve ser livre de anormalidades genitais ou físicas, ter uma circunferência escrotal (CE) de acordo com os padrões mínimos para a idade (18 meses maior que 26 cm e com idade superior a 24 meses maior que 30 cm de CE), motilidade espermática acima de 60% e mais de 70% de espermatozoides normais (VALE FILHO, 1997). Touros classificados como questionáveis seriam aqueles que, não atendendo os padrões mínimos para serem considerados satisfatórios, poderiam alcançar esses padrões com o tempo. Já touros insatisfatórios seriam aqueles que falharam em alcançar os critérios mínimos em uma ou mais características, com problemas irreversíveis (FONSECA, 2009).

Os estudos de maneira geral demonstram que touros com alta qualidade espermática apresentam melhores índices de fertilidade em relação aos de baixa qualidade. Porém, muitas características seminais a partir de certos limites não resultam no aumento da fertilidade. Essa relação inexata entre a característica seminal e fertilidade torna difícil demonstrar pequenas variações na fertilidade de indivíduos com alta qualidade espermática utilizada tanto em inseminação artificial

como em monta natural (SAACKE et al., 1992). Em função disso, a definição dos indicadores da qualidade seminal e, sobretudo o estabelecimento de limites ou padrões para sua avaliação ainda devem ser estudados e constituem o principal questionamento em relação a fertilidade potencial do macho (FONSECA, 2009).

2.5 INTERFERÊNCIAS DO GOSSIPOL NA QUALIDADE ESPERMÁTICA E FERTILIDADE ANIMAL

Foi observado redução na fertilidade de ratos e hamsters (HAHM et al., 1981) e de touros (ARSHAMI; RUTTLE, 1988) por efeito dietas contendo gossipol. Touros jovens foram submetidos a dieta de 2,72 kg de farelo de algodão contendo gossipol resultando em maior porcentagem em espermatozoides anormais e degeneração testicular, o que não foi observado em dieta fornecida sem gossipol (CHENOWETH et al., 1994).

Em bovinos o gossipol inibe as enzimas necessárias para a produção de esteroides nas células de Leydig resultando em anormalidades nos espermatozoides e infertilidade (CUNHA, 2006). Em fêmeas é possível que o gossipol altere o padrão normal do ciclo estral através do seu efeito sobre a secreção de hormônios hipotalâmicos e hipofisários (RANDEL et al., 1992; SOTO-BLANCO, 2008). Machos apresentam danos testiculares e são 10 vezes mais susceptíveis ao efeito do gossipol do que as fêmeas, pois os machos podem reduzir a qualidade seminal subitamente (CUNHA, 2006).

Santos et al. (2008), observaram que o consumo médio de 1,71 kg de caroço de algodão/touro/dia interferiu na morfologia dos testículos, reduzindo o número de camadas de células da linhagem espermatogênica, o volume dos núcleos das células de Sertoli e a espessura da parede dos túbulos seminíferos dos animais submetidos à dieta contendo caroço de algodão. A avaliação da ultra-estrutura dos túbulos seminíferos dos testículos dos touros mostrou espermátides com alterações nucleares indicativas de processo apoptótico. Os touros que não consumiram caroço de algodão apresentaram todas as estruturas citadas com morfologia normal.

Adicionalmente, Santos et al. (2013) relataram que o consumo médio de 3,3 g de gossipol livre/touro/dia (média 7,1 mg de gossipol livre/kg/dia) reduziu a motilidade, a concentração espermática e aumentou a porcentagem de defeitos espermáticos maiores e totais de touros da raça Nelore. Além disso, os animais apresentaram

testículos com túbulos seminíferos de menor espessura de parede, menor número de camadas de células espermatogênicas, menor espessura do epitélio epididimário e menor número de espermatozoides no interior dos ductos epidídímários, em relação aos animais com dieta isenta de gossipol.

REFERÊNCIAS

- ACOMPANHAMENTO da safra brasileira de grãos. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 1, n. 9, Safra 2013/14, jun. 2014. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_07_16_14_59_31_boletim_graos_junho_2014.pdf#page=39&zoom=auto,-107,478>. Acesso em: 30 set. 2014.
- ANDRIGUETTO, I. M. et al. **Nutrição animal**: as bases e os fundamentos da nutrição animal, 5. ed. São Paulo: Nobel, 2002. 395 p.
- APPER-BOSSARD, E. et al. Changing dietary cation-anion difference for dairy cows fed with two contrasting levels of concentrate in diets. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 749-60, 2006.
- ARAÚJO, A. E. et al. **Cultura do algodão herbáceo na agricultura familiar**. 2013. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar/autores.htm>>. Acesso em: 7 jul. 2014.
- ARAÚJO, M. A. et al. Intoxicação por gossipol em ovinos: relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n. 2, p. 24-8, 2008. Suplemento.
- ARSHAMI, J.; RUTTLE, J. L. Effects of diets containing gossypol on spermatogenic tissues of young bulls. **Theriogenology**, v. 30, n. 3, p. 507-16, 1988.
- BALL, L.; OTT, R. S.; MORTIMER, E. G.; SIMONS, J. C. Manual For breeding soundness examination of bulls. **Theriogenology**, v. 12, n. 1, p. 1-65, 1983.
- BORGES, I. et al. **Utilização de subprodutos da agroindústria na alimentação de caprinos e ovinos**. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/894687/1/AACUtilizacaodesubprodutos.pdf>>. Acesso em: 31 jul. 2015.
- CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA (CEPEA) - ESALQ/USP. PIB Agro CEPEA-USP/CNA Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/pib/>>. Acesso em: 31 jul. 2015.
- 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, n. 1, p. 1-13, 1994.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**, 3.ed. CBRA, Belo Horizonte, 2013, p.104.
- CUNHA, M. G. G. **Aspectos nutricionais, produtivos e reprodutivos em ovinos alimentados com rações contendo níveis crescente de Caroço de Algodão**. 2006. 96 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

- DEGARIS, P. J. et al. Effects of increasing days of exposure to prepartum transition diets on milk production and milk composition in dairy cows. **Australian Veterinary Journal**, v. 86, p. 341-51, 2008.
- DIAS, J. C.; ANDRADE, V. J.; MARTINS, J. A. M.; EMERICK, L. L.; GONÇALVES, P. E. M.; VALE FILHO, V. R. Classificação andrológica por pontos (CAP) de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) de dois e três anos de idade, criados sob pastejo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1094-99, 2009.
- FONSECA, V. O. Avaliação reprodutiva de touros para monta a campo: análise crítica. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, n. 6, p. 36-41, 2009. Suplemento.
- GADELHA, I. C. N. et al. Efeitos do gossipol na reprodução animal. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 2, p. 129-35, 2011.
- GARCIA DERAGON, L. A.; LEDIC, I. L. Avaliação da circunferência escrotal em touros Nelore. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 14, n. 4, p. 227-33, 1990.
- HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M. R.; ROSNINA, Y. Hormones, growth factors, and reproduction. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reproduction in farm animals**. 7. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2004. 509 p. Cap. 3, p. 107-10.
- HAHN, D.W; RUSTICUS, C; PROBST, A; HOMM, R; JOHNSON, A.N. Antifertility and endocrine activities of gossypol in rodents. **Contraception**, n.24, p.97-105, 1981.
- INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE MATO GROSSO (INDEA). **Relatório de população bovina existente - Novembro/2014**. Disponível em: <<http://www.indea.mt.gov.br/download.php?id=286900>>. Acesso em: 13 jul. 2015.
- JORGE, S. A. F. **Estudo da adsorção do gossipol existente em óleo de semente de algodão**. 2006. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006. Disponível em: <http://www.teses.ufc.br/tde-busca/arquivo.php?cadarquivo=1524>. Acesso em: 19 jul. 2015.
- MACEDO, L. P. M; CUNHA, U. S.; VENDRAMIM, J. D.; **Gossipol**: fator de resistência inseto-praga. **Campo Dig.**, v. 2, n. 1, p. 34-42, jan./jun. 2007. Disponível em: <<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital/article/view/308/144>> Acesso em: 15 jun. 2015.
- MARQUES, D. C. **Criação de Bovinos**. 7. ed. Belo Horizonte: CVP – Consultoria Veterinária e publicações, 2006. Cap. 3, p. 269-76.
- PONDEY, S. N.; THEJAPPA, N. Study on relationship between oil, protein and gossypol in cottonseed kernels. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 52, n. 8, p. 312-15, 1975.
- POORE, M. H.; ROGERS, G. Feeding whole cottonseed and other cotton by-products to beef cattle. **Veterinary Medicine**, v. 90, n. 11, p. 1077-87, 1995.

RANDEL, R. D.; CHASE, C. C.; WYSE, S. J. Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. **Journal Animal of Science**, v. 70, p. 1628-1638, 1992.

ROGÉRIO, M. C. P. et al. Uso do caroço de algodão na alimentação de ruminantes. **Arquivo de Ciência Veterinária Zootecnia UNIPAR**, v. 6, p. 75-80, 2003.

ROMERO, A. C. et al. Implicações para exatidão na quantificação do gossipol livre: I. Análise da variabilidade intrínseca à matriz. **Revista Educação Continuada Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 9, n. 3, p. 70-1, 2011.

SAACKE, R. G. et al. Accessory sperm: their importance to fertility and embryo quality, and attempts to alter their numbers in artificially inseminated cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 484-91, 1992.

SANTOS, M. D. et al. Morfologia testicular e qualidade espermática de touros da raça Nelore, submetidos à dieta contendo gossipol. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 134-9, 2008.

SANTOS, M. D. et al. Qualidade seminal, morfologia dos testículos e epidídimos de touros submetidos à dieta contendo gossipol. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 4, p. 975-80, 2013.

SAVASTRANO, S. **Caroço de algodão na alimentação bovinos**. 2007, Disponível em: <http://www.cati.sp.gov.br/cati/-tecnologias/bovinocultura/caroçoalgodao.php>. Acesso em: 25 set. 2015.

SCHERMACK, R. **Exame Andrológico em bovinos**. 2006. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Integrada de Brasília, Brasília- DF, 2006. p. 24-36.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 178 p.

SIMPOSIO DE REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2008. Pelotas. **Anais...**, EMBRAPA, Pelotas, p. 37-75, 2008.

SOTO-BLANCO, B. Gossipol e fatores anti-nutricionais da soja. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; PALERMO NETO, J. **Toxicologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Manole, 2008. 942 p. Cap. 19, p. 531-45.

TOOL VERA, J. R. La semilla de algodón en la alimentación de ruminantes. **Avance Agroindustrial**, v. 17, n. 68, p. 33-5, 1997.

VALE FILHO, V. R. Andrologia no touro: avaliação genital, exame do sêmen e classificação por pontos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, p. 7-13, 1997.

VINNE, J. U. V. D. Alimentação de gado. Quanto de semente de algodão é muito? **Revista Batavo**, v. 9, p. 20, 1992.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da ingestão de dietas com diferentes teores de gossipol livre por dia, sobre a morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da ingestão de dietas com diferentes teores de gossipol livre por dia, sobre os aspectos físicos, defeitos espermáticos maiores, menores e totais do sêmen de touros da raça Nelore.

Avaliar o efeito da ingestão de dietas com diferentes teores de gossipol livre por dia, sobre a espessura da parede dos túbulos seminíferos e número de camadas de células da linhagem espermatogênica de touros da raça Nelore.

Determinar a quantidade máxima de gossipol livre que pode ser fornecida para touros, sem acarretar problemas reprodutivos.

4 ARTIGO 1

Efeito de diferentes cocentrações de ingestão de gossipol livre sobre morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore

Effect of free gossypol intake in different levels in the testicular morphometry and seminal quality of Nelore bulls

RESUMO

SILVA, Josete M. **Efeito de diferentes concentrações de ingestão de gossipol livre sobre morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore.** 2015. 40 f. Dissertação (Mestrado Biociência Animal) – Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2015.

A cotonicultura tem forte fator de impacto na economia nacional e o Estado de Mato Grosso se destaca por ser o maior produtor de algodão herbáceo e deter o maior rebanho bovino do país, condições estas que estimulam muitos pecuaristas e empresas da área de nutrição a utilizarem o caroço, torta e farelo de algodão na alimentação animal. Considerando que o gossipol está presente nos subprodutos do algodão e que seus efeitos sobre a reprodução podem reduzir a fertilidade dos animais, objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito da ingestão de dietas com diferentes teores de gossipol livre por dia, sobre a morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore. Foram utilizados 28 touros, distribuídos aleatoriamente em seis tratamentos: T0, 0 grama de gossipol livre/touro/dia (isenta de caroço de algodão); T1, 1,08 grama de gossipol livre/touro/dia; T2, 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia; T3, 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia; T4, 3,82 gramas de gossipol livre/touro/dia e T5, 5,08 gramas de gossipol livre/touro/dia. Os animais de cada tratamento foram mantidos confinados em área média de 100 m², dotada de bebedouro, cochos para mistura mineral e para volumoso/concentrado. O consumo de 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia (média de 5,9 mg de gossipol livre/kg de peso vivo) alterou a qualidade espermática e a morfometria testicular de touros.

Palavras-chave: Caroço de algodão. Degeneração testicular. Exame andrológico. Infertilidade de touros.

ABSTRACT

Effect of free gossypol intake in different levels in the testicular morphometry and seminal quality of Nelore bulls

SILVA, J. M. **Effect of free gossypol intake in different levels in the testicular morphometry and seminal quality of Nelore bulls**. 2015. 40 f. Dissertação (Mestrado Biociência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2015.

The cotton industry has a strong impact factor in the Brazilian economy and the state of Mato Grosso stands out for being the largest upland-type cotton producer and also holds the largest cattle herd in the country, conditions that stimulate many farmers and businesses in the nutrition area to use the core, pie and cottonseed meal in animal feed. Whereas gossypol is present in cotton by-products and their effects on reproduction can reduce the animal fertility, this research evaluate the effect of diets with different free gossypol contents in the testicular morphometry and semen quality of Nelore bulls. 28 bulls were randomly distributed in six treatments: T0, receiving no free gossypol; T1, receiving 1.08 g / bull / day; T2, receiving 2.07 g / bull / day; T3, receiving 3.24 g / bull / day; T4, receiving 3.82 g / bull / day and T5, receiving 5.08 g / bull / day of free gossypol respectively. The animals of each treatment were kept confined in an averaged area of 100 m², having fresh water, troughs for mineral mixture and roughage / concentrate. The consumption of 3.24 g of free gossypol / bull / day (mean 5.9 mg free gossypol / kg body weight) altered the bulls sperm quality and testicular morphometry.

Keywords: Breeding Soundness Exam. Bulls Infertility. Cotton Seed. Testicular Degeneration.

INTRODUÇÃO

A cotonicultura tem forte fator de impacto na economia nacional, com uma área plantada de 1.102,8 mil hectares e produção de 4.238,9 mil toneladas de algodão em caroço (safra 2013/2014), com destaque para o estado de Mato Grosso, maior produtor de algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum*) do País, com área plantada de 627,4 mil hectares e produção de 2.390,4 mil toneladas de algodão em caroço (safra 2013/2014) (ACOMPANHAMENTO..., 2014). Estes fatores têm estimulado muitos pecuaristas e empresas da área de nutrição a adotarem sua utilização na alimentação animal, dada a oferta do caroço e do farelo de algodão no mercado, seu valor energético, proteico e baixo preço (SANTOS et al., 2013).

O Estado de Mato Grosso tem como base econômica o seu potencial agropecuário, sendo detentor do maior rebanho bovino do país, com 28.472.038 cabeças registradas em novembro de 2014 (INDEA, 2015). Assim, o caroço de algodão se destaca entre as alternativas de alimentos utilizados na elaboração de dietas para ruminantes, principalmente por ter reflexos positivos nos índices de produtividade e qualidade dos produtos de origem animal. Nutricionistas o utilizam por conter altas concentrações de óleo, proteína e fibra, permitindo assim a substituição de alimentos volumosos sem prejudicar a fermentação ruminal, refletindo em seu conteúdo energético (ARAUJO et al., 2013). Poucos alimentos conseguem reunir tais nutrientes em um só produto, além disto, o caroço de algodão possui fibra de alta degradabilidade (ROGÉRIO et al., 2003).

Contudo, um dos fatores limitantes para utilização dos subprodutos do algodão é a presença de um pigmento polifenólico formado por aldeídos e terpenos biossintetizado por planta do gênero *Gossypium* da família Malvaceae, de cor amarela, tóxico, e antipolimerizante denominado gossipol (RANDEL et al., 1992). Este é produzido em suas glândulas subepidérmicas e encontradas sobre cotilédones, folhas, estipulas, sépalas, caule, ramos, frutos e na amêndoa da semente, apresentando baixo peso molecular tendo sua fórmula C₃₀ H₂₈ O₈ (RANDEL et al., 1992; MACEDO et al., 2007).

No Brasil as informações disponíveis sobre o teor de gossipol no caroço de algodão e seu efeito tóxico sobre a reprodução animal ainda são bastante incipientes. Vinne (1992) relatou que touros produziram sêmen de qualidade reduzida ao terem recebido de 2 a 4 gramas de gossipol livre diariamente, sugerindo que animais com

acesso a alimentação contendo com caroço de algodão podem ser menos férteis.

Em bovinos o gossipol inibe as enzimas necessárias para a produção de esteroides nas células de Leydig resultando em anormalidades nos espermatozoides e infertilidade (CUNHA, 2006). Em fêmeas é possível que o gossipol altere o padrão normal do ciclo estral através do seu efeito sobre a secreção de hormônios hipotalâmicos e hipofisários (RANDEL et al., 1992; SOTO-BLANCO, 2008). Machos apresentam danos testiculares e são 10 vezes mais susceptíveis ao efeito do gossipol do que as fêmeas, pois os machos podem reduzir a qualidade seminal subitamente (CUNHA, 2006).

Santos et al. (2008), observaram que o consumo médio de 1,71 kg de caroço de algodão/touro/dia interferiu na morfologia dos testículos, reduzindo o número de camadas de células da linhagem espermatogênica, o volume dos núcleos das células de Sertoli e a espessura da parede dos túbulos seminíferos dos animais submetidos à dieta contendo caroço de algodão. A avaliação da ultra-estrutura dos túbulos seminíferos dos testículos dos touros mostrou espermátides com alterações nucleares indicativas de processo apoptótico. Os touros que não consumiram caroço de algodão apresentaram todas as estruturas citadas com morfologia normal.

Corroborando, Santos et al. (2013) relataram que o consumo médio de 3,3 g de gossipol livre/touro/dia (média 7,1 mg de gossipol livre/kg/dia) reduziu a motilidade e a concentração espermática e aumentou a porcentagem de defeitos espermáticos maiores e totais de touros da raça Nelore. Além disso, os animais apresentaram testículos com túbulos seminíferos de menor espessura de parede, menor número de camadas de células espermatogênicas, menor espessura do epitélio epididimário e menor número de espermatozoide no interior dos ductos epididimários, em relação aos animais com dieta isenta de gossipol.

Considerando a importância da utilização dos subprodutos do algodão na nutrição de ruminantes, os efeitos do gossipol sobre a reprodução podendo reduzir a fertilidade dos animais, bem como não se tem definido o limite de consumo de caroço e gossipol livre que não altere a morfometria espermática, dos túbulos seminíferos e a fertilidade dos bovinos, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da ingestão de dietas com diferentes concentrações de gossipol livre por dia, sobre a morfometria testicular e qualidade seminal de touros da raça Nelore, bem como, determinar a quantidade máxima de gossipol livre que pode ser ingerido pelos touros, sem acarretar problemas reprodutivos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Agropecuária Limeira, município de Campo Verde, distante 140 km de Cuiabá-MT, durante os meses de agosto a novembro.

O trabalho foi previamente avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cuiabá com o registro nº 060 CEP/UNIC – protocolo nº 2010- 061.

Foram utilizados 30 touros da raça Nelore, média de 30 ± 6 meses de idade e com média de peso vivo de 383 ± 34 kg, identificados com número e distribuídos aleatoriamente em seis tratamentos. Foi preconizado inicialmente as concentrações de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 grama de gossipol livre/touro/dia, contudo em função do consumo de caroço de algodão obtido em cada tratamento, estes valores passaram para: T0, 0 grama de gossipol livre/touro/dia (isenta de caroço de algodão); T1, 1,08 grama de gossipol livre/touro/dia; T2, 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia; T3, 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia; T4, 3,82 gramas de gossipol livre/touro/dia e T5, 5,08 gramas de gossipol livre/touro/dia.

Os animais de cada tratamento foram mantidos confinados em área média de 100 m², dotada de bebedouro e cochos para mistura mineral e para volumoso/concentrado que foi administrado em forma de mistura.

O período experimental teve duração de 85 dias, incluindo 15 dias de adaptação dos animais às dietas. A coleta de sêmen, realizada por meio de eletroejaculação; a avaliação dos aspectos físicos e morfológicos foram realizados conforme Cbra (2013) e do peso vivo dos animais, após o jejum de alimentos sólidos de 12 horas, sendo estas variáveis realizadas no início (D0) e ao final da fase experimental (D85 dias), para avaliar o efeito das dietas sobre a qualidade espermática e ganho de peso dos touros, respectivamente.

Os animais foram submetidos a controle de endoparasitos e ectoparasitos com o uso de ivermectina 1% na dose de 1mL para 50kg de peso vivo.

Duas amostras de caroço de algodão foram encaminhadas a um laboratório especializado, para determinação do teor médio de gossipol livre, realizada por cromatografia líquida de alta eficiência conforme descrito por Romero et al. (2011). A variedade de caroço de algodão utilizada no experimento continha 4,5 g ou 0,45% de gossipol livre por kg de caroço de algodão.

Antes de iniciar o experimento, amostras dos alimentos (silagem de milho, caroço de algodão, milho grão e farelo de soja) foram coletadas e enviadas ao

Laboratório de Bromatologia da Universidade de Cuiabá – UNIC, para determinação da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) conforme Silva; Queiroz (2002). A determinação da fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos foram realizadas de acordo com Van Soest et al. (1991). O nutriente digestível total (NDT) estimado pela equação de regressão $NDT = 83,79 - (0,4171 * FDN)$ de Capelle et al. (2001). As dietas foram formuladas para ganhos estimados de 1200 g/animal/dia (Tabela 1). Os valores nutricionais das dietas utilizadas nos tratamentos (com base na matéria seca) foram: PB 11,0%, NDT 71,1%, EE (3,2 a 5,0%), FDN (35,2 a 37,8%), e as exigências nutricionais foram estabelecidas de acordo com Valadares Filho et al. (2006).

O fornecimento de matéria seca (MS) das rações experimentais foi estimado em 2,3% do peso vivo inicial (PVI). As dietas foram fornecidas ad libitum, sendo estas pesadas e fornecidas três vezes ao dia, às 7h00, 12h00 e 17h00. Antes das 7h00 era realizada a limpeza dos cochos, pesagem das sobras para se obter o consumo real na matéria natural.

Tabela 1 - Composição percentual preconizada para as rações experimentais na matéria seca

Alimentos	Tratamentos					
	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Composição percentual						
Silagem de milho	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Caroço de algodão	0,00	2,22	4,44	6,66	8,88	11,11
Milho grão	40,46	39,06	39,63	36,22	34,80	33,39
Farelo de Soja	8,54	7,72	6,93	6,12	5,32	4,50
Mistura mineral	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Foi adicionado às dietas 2,5g de Rumensin® por animal/dia

® Monensina sódica – Elanco, Greenfield, Estado de Indiana, Estados Unidos.

Após o abate dos animais que foi realizado em frigorífico, fragmentos do parênquima testicular de cada touro foram fixados por imersão em solução de Bouin por um período de 24 horas. Logo após, os fragmentos foram submetidos à desidratação em série crescente de etanol (70 a 100%), seguida da diafanização com xilol, impregnados e incluídos em parafina à temperatura de 59°C. Os cortes de 5µm foram obtidos em micrótomo, submetidos à coloração H.E. (hematoxilina-eosina), para avaliação da morfometria testicular dos touros.

Foram escolhidos aleatoriamente 10 túbulos seminíferos dos testículos de cada animal dos tratamentos, para avaliação da espessura da parede e o número de camadas celulares, sendo mensurado (µm) o diâmetro horizontal de cada túbulo e subtraído do diâmetro do respectivo lúmen, dividindo-se por dois para se obter a medida da espessura da parede do túbulo no sentido horizontal. O mesmo procedimento foi utilizado no sentido vertical conforme descrito por Santos et al. (2013). Foi utilizado sistema computadorizado composto por um microscópio óptico (Leica DM 500), em aumento de 400x, adaptado com câmera de alta resolução (ICC50, Leica Microsystems, São Paulo, SP) para mensuração morfométrica das referidas estruturas.

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado para avaliar o efeito do consumo de diferentes teores de gossipol livre/touro/dia, sobre a qualidade seminal e morfometria testicular dos animais. As variáveis quantitativas foram submetidas aos testes de Normalidade (Lilliefors) e Homocedasticidade (Cochran) e posteriormente a análise de variância realizados no programa Sistema de Análise Estatística e Genética (SAEG, 1997). Caso apresentasse significância, foi realizado o teste de comparação de médias mais apropriado, evitando-se erros estatísticos tipo I e II.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental, dois touros foram retirados dos tratamentos T0 e T4, respectivamente, por lesões decorrentes de brigas nos lotes, resultando em 28 animais.

O consumo de alimento estimado para os tratamentos no início do experimento foi de 9,2 kg de matéria seca/touro/dia que resultavam em 20,4 Kg da dieta/touro/dia na matéria natural, sendo preconizado percentual de caroço de algodão contido nas

dietas dos Tratamentos 0, 1, 2, 3, 4 e 5, (0,0; 2,22; 4,44; 6,66; 8,88; e 11,11%) (Tabela 1) que resultavam em 0,0; 0,22; 0,45; 0,66; 0,89 e 1,11 kg de caroço de algodão/touro/dia na matéria natural, respectivamente. Considerando que não houve alteração na proporção dos alimentos constituintes da dieta e sim da quantidade consumida pelos animais durante o experimento e com base no consumo médio real dos animais (na matéria natural) obtido durante o período experimental, estimou-se a partir do consumo preconizado de 20,4 Kg dieta/touro/dia na matéria natural, o consumo médio real de caroço de algodão pelos animais (Kg/dia). Do mesmo modo, considerando que o teor médio de gossipol contido no caroço de algodão foi de 4,5g gossipol livre/kg de caroço de algodão, estimou o consumo médio de gossipol (g/animal/dia), a partir do real consumo de caroço de algodão (Tabela 2).

Não houve diferença ($P>0,05$) no consumo das dietas pelos animais (média de 21,2 Kg/animal/dia na MN), e o consumo real obtido passou a ser de 0,0; 1,08; 2,07; 3,24; 3,82 e 5,08 g de gossipol livre/animal/dia contido nos tratamentos T0, T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 - Consumo médio da dieta na matéria natural (CMN), de caroço de algodão (CCA) e de gossipol livre (CGL) pelos touros submetidos aos tratamentos contendo diferentes níveis de gossipol, durante 85 dias de período experimental

Discriminação	Tratamentos					
	T0	T1	T2	T3	T4	T5
CMN (kg/animal/dia)	22,0	22,1	20,9	22,4	19,4	20,7
CCA (kg/animal/dia)	-	0,24	0,46	0,72	0,85	1,13
CCA (%/animal/dia)	0	1,08	2,20	3,21	4,38	5,46
CGL (g/animal/dia)	-	1,08	2,07	3,24	3,82	5,08

Não houve diferença ($P>0,05$) pelo Teste de Tukey para a variável consumo de matéria natural (CMN)

No presente estudo o consumo máximo de caroço de algodão foi de 5,46% (1,13 kg de caroço de algodão/animal/dia no T5) (Tabela 2), contendo 5% de gordura na dieta total. Não ocorreu diferença ($P>0,05$) no ganho de peso dos animais (média de 1,97 kg de peso vivo/touro/dia), durante o período experimental. Deste modo a quantidade percentual de caroço de algodão utilizada não interferiu no consumo das dietas.

Já no estudo realizado por Feicorte (2011) utilizando as concentrações de 0, 14, 28 e 34% de caroço de algodão, respectivamente na dieta de bovinos, foi observado que quanto maior a participação do caroço de algodão na dieta total, menor foi o consumo da ração pelos animais confinados, que passaram a apresentar redução no ganho de peso. Menor consumo e menor ganho de peso ($P<0,05$) de touros

também foram observados por Santos et al. (2008) utilizando dieta contendo caroço de algodão e com 8% de gordura na dieta total. Segundo Palmquist (1994) dietas com teor gordura acima de 6% para ruminantes podem interferir na fermentação ruminal, causar redução na digestibilidade e no consumo de matéria seca.

O consumo de até 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia (0,46 kg de CA/touro/dia, média de 3,8 mg de gossipol livre/kg de peso vivo) não interferiu ($P>0,05$) na qualidade espermática dos animais (T0, 1 e 2) (Tabela 3). Já o consumo a partir de 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia (0,72 kg de CA/touro/dia, média de 5,9 mg de gossipol livre/kg de peso vivo) aumentou ($P<0,05$) o percentual de defeitos espermáticos maiores e totais (T3, 4 e 5) (Tabela 3), predominando patologias de cabeça e gota citoplasmática proximal. Santos et al. (2013) também observaram redução na qualidade espermática de touros utilizando dieta contendo caroço de algodão com 3,3 g de gossipol livre por touro dia (média de 7,1 mg de gossipol livre/kg de peso vivo). Hassan et al. (2004) também observaram aumento nas anormalidades espermáticas de touros que ingeriram 8 mg de gossipol livre/kg de peso vivo, em relação ao grupo controle.

Relatos iniciais descritos por Arshami e Rutle (1988) já demonstravam o efeito do gossipol (8,2 g de gossipol livre/touro/dia) sobre a morfometria testicular, reduzindo o número de camadas de células espermatogênicas e a espessura das paredes dos túbulos seminíferos. Também Risco et al. (1993), observaram que a ingestão de 8,2 gramas de gossipol livre por touro/dia, acarretou maior porcentagem de espermatozoides com morfologia anormal e menor motilidade espermática em relação aos animais que não ingeriram gossipol. No presente estudo o consumo de 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia (média de 3,8 mg de gossipol livre/kg de peso vivo) (Tratamento 2) resultou em animais que apresentaram testículos com túbulos seminíferos de menor ($P<0,01$) espessura de parede e menor número de camadas de células espermatogênicas (Tabela 4 e Figura 1), mas não interferiu na qualidade seminal. Demonstrando que quantidades menores de gossipol livre interferem em primeira ordem na morfometria testicular e posteriormente na morfologia espermática (Tabela 3 e 4).

Segundo Santos et al. (2008) o consumo médio de 1,71 kg de caroço de algodão/animal/dia reduziu a motilidade espermática e aumentou o percentual de defeitos maiores e totais, em relação aos animais com dieta sem gossipol. Ressaltaram também que a maior porcentagem de espermatozóides anormais dos

touros submetidos à dieta com gossipol pode reduzir a fertilidade dos animais, que possivelmente poderá se tornar mais grave com o tempo e com o maior consumo de caroço de algodão. Contudo, os autores não descreveram a quantidade de gossipol livre consumida pelos animais.

Tabela 3 - Valores médios da motilidade espermática (MOTIL), concentração espermática (CONC), defeitos espermáticos menores (DEME), defeitos espermáticos maiores (DEMA) e defeitos espermáticos totais (DET), dos touros utilizados nos tratamentos (TRAT), T0, 0 grama de gossipol livre/touro/dia (isenta de caroço de algodão); T1, 1,08 grama de gossipol livre/touro/dia; T2, 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia; T3, 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia; T4, 3,82 gramas de gossipol livre/touro/dia e T5, 5,08 gramas de gossipol livre/touro/dia, no início (D0) e final do experimento (D85).

TRAT	MOTIL INICIAL (%)	MOTIL FINAL (%)	CONC INICIAL x 10 ⁶	CONC FINAL x 10 ⁶	DEME INICIAL (%)	DEME FINAL (%)	DEMA INICIAL (%)	DEMA FINAL (%)	DET INICIAL (%)	DET FINAL (%)
0	66,6 ± 12,5 ^A	68,7 ± 2,5 ^A	500,0±237,1 ^A	336,2±218,7 ^A	4,7± 2,5 ^A	4,4± 1,1 ^A	5,6± 2,9 ^A	6,1± 1,1 ^A	10,4± 4,4 ^A	10,5± 1,9 ^A
1	71,0± 4,2 ^A	71,0± 7,4 ^A	590,0± 222,6 ^A	263,0± 34,0 ^B	3,8± 2,1 ^A	5,6± 3,9 ^A	6,6± 2,2 ^A	6,8± 5,3 ^A	10,4± 3,2 ^A	12,4± 6,4 ^A
2	61,0± 11,4 ^A	67,0± 10,3 ^A	320,0± 114,9 ^A	272,0± 142,5 ^A	3,6± 1,1 ^A	6,0± 3,0 ^A	7,1± 2,9 ^A	5,3± 2,9 ^A	10,7± 1,9 ^A	11,3± 4,6 ^A
3	61,0± 7,4 ^A	69,0± 2,2 ^A	496,0± 160,7 ^A	353,0± 140,7 ^A	5,1± 3,0 ^A	3,9± 2,5 ^A	4,7± 2,3 ^A	12,3± 3,2 ^B	9,8± 3,9 ^A	16,2± 3,7 ^B
4	57,50± 5,0 ^A	52,5± 5,0 ^A	342,5± 88,0 ^A	216,2±100,1 ^A	5,4± 3,1 ^A	7,1± 2,7 ^A	2,9± 2,2 ^A	10,1± 1,8 ^B	8,3± 1,0 ^A	17,2± 4,3 ^B
5	65,0± 5,0 ^A	61,0± 7,4 ^A	412,0±116,2 ^A	388,0±162,1 ^A	3,8± 1,9 ^A	8,5± 1,9 ^B	5,7± 0,8 ^A	10,9± 4,7 ^B	9,5± 1,3 ^A	19,4± 4,8 ^B

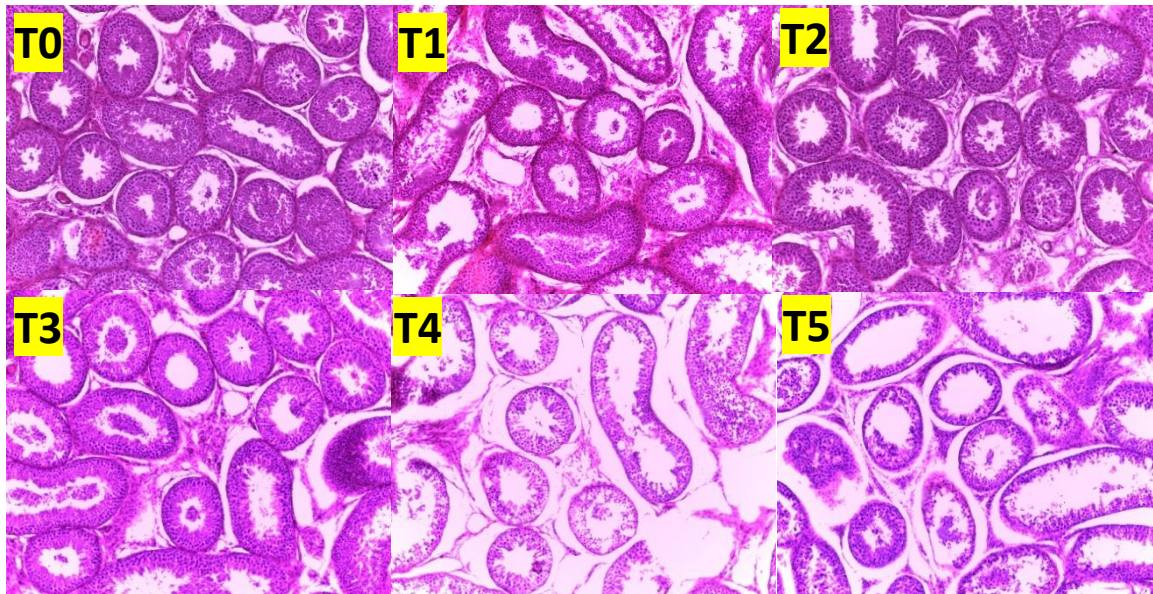
Valores com letras sobrescritas diferentes na mesma linha para cada variável estudada diferem entre si (P<0,05) pelo teste F.

Tabela 4 - Número médio de camadas de células da linhagem espermatogênica e espessura média das paredes dos túbulos seminíferos (μm) dos testículos dos touros submetidos à dieta dos tratamentos T0, isenta de gossipol livre; T1, 1,08 grama de gossipol livre/touro/dia; T2, 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia; T3, 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia; T4, 3,82 gramas de gossipol livre/touro/dia e T5, 5,08 gramas de gossipol livre/touro/dia, após 85 dias de período experimental

Tratamento	Número médio de camadas de células da linhagem espermatogênica	Espessura média das paredes dos túbulos seminíferos (μm)
T0	6,28 \pm 0,66 ^A	35,52 \pm 4,54 ^A
T1	6,24 \pm 0,92 ^A	33,38 \pm 4,81 ^A
T2	5,34 \pm 0,77 ^B	30,48 \pm 4,39 ^B
T3	4,68 \pm 0,63 ^C	27,58 \pm 4,04 ^C
T4	4,55 \pm 0,54 ^C	27,68 \pm 4,29 ^C
T5	4,26 \pm 0,52 ^C	24,52 \pm 4,24 ^D

A, B, C, D, Médias com diferentes letras na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,01$; teste de Tukey).

Figura 1 - Testículos dos touros submetidos às dietas com diferentes teores de gossipol livre/dia. Observa-se redução da espessura da parede dos túbulos seminíferos nos tratamentos T2, T3, T4 e T5, após 85 dias de período experimental. H&E OBJ 10x



Tratamentos T0, isenta de gossipol livre; T1, 1,08 grama de gossipol livre/touro/dia; T2, 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia; T3, 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia; T4, 3,82 gramas de gossipol livre/touro/dia e T5, 5,08 gramas de gossipol livre/touro/dia.

O diferencial do presente estudo em relação às informações disponíveis na literatura, que utilizaram dados pontuais como uma única quantidade de gossipol livre em relação ao grupo controle, alguns quantificaram a quantidade de caroço de algodão e não de gossipol livre, outros utilizaram o gossipol total, enfim informações não padronizadas, e com isso inconclusivas em relação a quantidade mínima de gossipol livre e conseqüentemente de caroço de algodão que poderá ser utilizada e

não acarretar alterações na qualidade espermática e na morfometria testicular de touros. Ficou evidente nessa pesquisa que o consumo acima de 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia (média de 5,9 mg de gossipol livre/kg de peso vivo), ou seja 0,72 kg de caroço de algodão por animal/dia alterou a qualidade espermática e a morfometria testicular de touros.

Observou-se nesse estudo que as alterações histológicas dos testículos (T2) ocorreram antes das alterações morfológicas dos espermatozoides (T3) (Tabela 3 e 4).

Vale ressaltar que não se deve padronizar a quantidade de caroço de algodão a ser fornecida, considerando possível variação do teor de gossipol livre nas diversas variedades de algodão existente no Brasil. Recomenda-se que seja inicialmente determinado o teor de gossipol livre do caroço ou de outros subprodutos do algodão, que segundo este estudo não seja fornecido acima de 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia (média de 5,9 mg de gossipol livre/kg de peso vivo), definindo assim a quantidade máxima dos subprodutos do algodão a serem fornecidos na dieta de bovinos destinados a reprodução.

CONCLUSÕES

Consumo acima de 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia (média de 5,9 mg de gossipol livre/kg de peso vivo) altera a qualidade espermática e a morfometria testicular de touros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A.E.; SILVA, C.A.D.; FREIRE, E.C.; COSTA, J.N.; AMARAL, J.A.B.; MEDEIROS, J.C.; SILVA, K.L.; BARROS, M.A.L.; BELTRÃO, N.E.M.; SUASSUNA, N.D.; FIRMINO, P.T.; FERREIRA, P.F.; ALMEIDA, R.P.; SANTOS, R.F.; FREIRE, R.M.M.; PEREIRA, S.R.P. **Cultura do algodão herbáceo na agricultura familiar**. 2013. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar/autores.htm>>. Acesso em 7 jul. 2014.
- ARSHAMI, J.; RUTTLE, J. L. Effects of diets containing gossypol on spermatogenic tissues of young bulls. **Theriogenology**, v. 30, n. 3, p. 507-16, 1988.
- CAPELLE, E. R.; COELHO SILVA, J. F.; VALADARES FILHO, S. C. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 6, p. 1837-56, 2001.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013, p.104.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento de Safra Brasileira**. 2013. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_10_11_14_19_05_boletim_outubro-2011.pdf. Acesso em: 03 jul. 2015.
- CUNHA, M. G. G. **Aspectos nutricionais, produtivos e reprodutivos em ovinos alimentados com rações contendo níveis crescente de Caroço de Algodão**. 2006. 96 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2006.
- DIAS, J. C.; ANDRADE, V. J.; MARTINS, J. A. M.; EMERICK, L. L.; GONÇALVES, P. E. M.; VALE FILHO, V. R. Classificação andrológica por pontos (CAP) de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) de dois e três anos de idade, criados sob pastejo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1094-99, 2009.
- FEICORTE, 2011. **Uso do caroço de algodão no confinamento de bovinos altera sabor e aroma da carne**. Disponível em: <http://www.feicorte.com.br/index.php?p=noticias_view&id=211>. Acesso em: 24 mai. 2015.
- HAHN, D.W.; RUSTICUS, C; PROBST, A; HOMM, R; JOHNSON, A.N. Antifertility and endocrine activities of gossypol in rodents. **Contraception**, n.24, p.97-105, 1981.
- HASSAN, M. E.; SMITH, G. W.; OTT, R. S.; FAULKNER, D. B.; FIRKINS, L. D.; EHRHART, E. J.; SCHAEFFER, D. J. Reversibility of the reproductive toxicity of gossypol in peripubertal bulls. **Theriogenology**, v. 61, p. 1171-9, 2004.

INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE MATO GROSSO (INDEA-MT). 2013. **Fechamento da Etapa de Vacinação contra Febre Aftosa Etapa Nov/2011**. Disponível em:

<http://www.indea.mt.gov.br/arquivos/A_0ad1cbdfd440b5662bca18530ed2dcafINDEA_novembro_2011.pdf>. Acesso em: 1 mai. 2015.

MACEDO, L. P. M.; CUNHA, U. S.; VENDRAMIM, J. D. **Gossipol**: fator de resistência inseto-praga. 2007. **Campo Digital**, v. 2, n. 1, p. 34-42, jan./jun. 2007. Disponível em:

<<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital/article/view/308/144>>. Acesso em: 1 jun. 2015.

PALMQUIST, D. L. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. **Journal Nutrition**, v. 124, n. 11, p. 1377S-82S, 1994.

RANDEL, R. D.; CHASE, C. C.; WYSE, S. J. Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. **Journal Animal of Science**, v. 70, p. 1628-38, 1992.

RISCO, C. A.; CHENOWETH, P. J.; LARSEN, R. E.; VELEZ, J.; SHAW, N.; TRAN, T.; CHASE JR., C. C. The effect of gossypol in cottonseed meal on performance and on hematological and semen traits in postpubertal brahman bulls. **Theriogenology**, v. 40, n. 3 p. 629-42, 1993.

ROGÉRIO, M. C. P.; BORGES, I.; SANTIAGO, G. S.; TEIXEIRA, D. A. B.; Uso do caroço de algodão na alimentação de ruminantes. **Arquivo de Ciência Veterinária Zootecnia**, UNIPAR, v. 6, p. 75-80, 2003.

ROMERO, A. C.; ULIANA, R.; MARIANO, I.; LOUVANDINI, C. H.; ABDALLA, A. L. Implicações para exatidão na quantificação do gossypol livre: I. Análise da variabilidade intrínseca à matriz. **Revista Educação Continuada Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 3, p. 70-1, 2011.

SANTOS, M. D.; PORTILHO, C. B. K. F.; RUAS, M. R. J.; FREITAS, D. H. S.; COSTA, S. D.; SIMÕES, J. M. Morfologia testicular e qualidade espermática de touros da raça Nelore, submetidos à dieta contendo gossypol. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 134-9, 2008.

SANTOS, M. D.; RODRIGUES, R. S.; FREITAS, S. H.; COSTA, D. S.; RUAS, J. R. M.; MIRANDA, E. J.; SIMÕES, M. J. Qualidade seminal, morfologia dos testículos e epidídimos de touros submetidos à dieta contendo gossypol. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 4, p. 975-80, 2013.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 178 p.

SISTEMA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA E GENÉTICA (SAEG). Viçosa- MG: UFV; Central de processamento de dados, 1997.

SOTO-BLANCO, B. Gossypol e fatores anti-nutricionais da soja. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; PALERMO NETO, J. **Toxicologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Manole, 2008. 942 p. Cap. 19. p. 531-45.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JUNIOR, V. R. et al. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**: CQBAL 2.0. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa; Suprema Gráfica Ltda, 2006. 329 p.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-97, 1991.

VINNE, J. U. V. D. Alimentação de gado. Quanto de semente de algodão é muito? **Revista Batavo**, v. 9, p. 20, 1992.

CONCLUSÕES GERAIS

O consumo acima de 3,24 gramas de gossipol livre/touro/dia (média de 5,9 mg de gossipol livre/kg de peso vivo) alterou a qualidade espermática e a morfometria testicular de touros.

Recomenda-se não fornecer mais que 2,07 gramas de gossipol livre/touro/dia (média de 3,8 mg de gossipol livre/kg de peso vivo) para não acarretar alteração na morfometria testicular de touros.

Para se definir a quantidade adequada de caroço de algodão a ser fornecida para touros sem acarretar alterações na morfometria testicular e morfologia espermática, deve-se realizar previamente a análise do teor de gossipol existente no mesmo.