

EFEITOS DO GOSSIPOL NA REPRODUÇÃO ANIMAL

[Effects of gossypol on animal reproduction]

Ivana Cristina Nunes Gadelha¹, Adriano Henrique do Nascimento Rangel², Alexandre Rodrigues Silva³, Benito Soto-Blanco³

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN

² Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN

³ Departamento de Ciências Animais, UFERSA, Mossoró, RN

RESUMO - O resíduo da extração do óleo do algodão é um importante alimento para animais, por ser uma fonte de proteína de alta qualidade e de outros componentes importantes, como o cálcio, fósforo, ferro e vitaminas, além do seu valor energético. No entanto, estes subprodutos possuem um fator antinutricional, o gossipol e sua concentração nesses derivados depende do grau de extração do óleo. O gossipol é um pigmento fenólico de coloração amarelada, produzido pelas glândulas de pigmento encontradas nas raízes, talos, folhas e sementes das plantas pertencentes ao gênero *Gossypium*. Os efeitos do gossipol sobre a reprodução animal incluem a redução na qualidade do sêmen, interferência no ciclo estral das fêmeas e interrupção do desenvolvimento embrionário precoce.

Palavras-Chave: Gossipol, toxicidade reprodutiva, caroço de algodão, animais de produção.

ABSTRACT - The residue from the oil extraction of cottonseeds is an important foodstuff for animals, being a source of high quality protein and other important components, such as calcium, phosphorus, iron and vitamins in addition to its energy value. However, these products have an anti-nutritional factor, gossypol, and its concentration in these derivatives depends on the degree of oil extraction. Gossypol is a phenolic yellowish pigment, the pigment produced by the glands found in the roots, stems, leaves and seeds of plants from the genus *Gossypium*. The effects of gossypol on reproduction in animals include reduced semen quality, interference with the estrous cycle of females and interruption of early embryonic development.

Keywords: Gossypol, reproductive toxicology, whole cottonseed, livestock.

INTRODUÇÃO

O algodoeiro (*Gossypium* spp) é cultivado para produção de fibra e óleo. Como subproduto do algodão, o farelo representa mundialmente a segunda mais importante fonte ou suplemento protéico disponível para a alimentação animal, ultrapassada apenas pela soja. Este farelo é o resíduo da obtenção do óleo, que pode ser feita tanto pelo esmagamento mecânico do caroço como através do uso de solventes (IEA, 1994). Ele fornece inúmeros subprodutos, torta e farelo, ricos em proteína de boa qualidade e bastante utilizados no preparo de rações. Resultam da remoção do óleo, que pode ser feita tanto pelo esmagamento mecânico do caroço como através do uso de solventes (Andriquetto et al., 1994; Richetti & Melo Filho, 2001).

A produção brasileira de algodão vem apresentando grandes oscilações ao longo dos anos, ainda que a

produtividade tenha apresentado tendência crescente. Na região produtora de algodão arbóreo, a praga do bicudo teve efeitos mais acentuados, acelerando a substituição desta espécie pelo algodão herbáceo. Os farelos, como fonte protéica, apresentam teores de proteína bruta (PB) de 34,3 a 48,9% e, como fonte de energia, teores de energia digestível (ED) de 3,22 a 3,44 Mcal/kg. O caroço de algodão, além de teores de PB de 22 a 25% e de fibras em detergente neutro (FDN) entre 37 e 44%, possuem de 4,12 a 5,30 Mcal/kg de ED. Uma das fontes de gordura mais utilizadas em propriedades especializadas em produção leiteira é o caroço de algodão, que contém 2,22 Mcal/kg de ELL (Energia líquida de lactação), 23% de proteína bruta, 44% de FDN e 34% de FDA (NRC, 1989). São também importantes fontes de fibra, com teores de fibra bruta (FB) de 17,2 a 28%. Pode haver diferenças entre o caroço de algodão com línter e o sem línter, tanto o deslinterado artificialmente, como o naturalmente sem

línter. Alfonso et al. (1986), o caroço de algodão sem línter tem passagem mais rápida pelo intestino, o que pode resultar em menor digestibilidade. Por outro lado, Coppock et al. (1985) teorizaram que a saída mais rápida do rúmen pode resultar em maior disponibilidade de proteína para digestão intestinal. De acordo com Sullivan (1993), variedades naturalmente deslindadas têm teores maiores de proteína bruta e gordura, o que justificaria as diferenças observadas. A casca do caroço de algodão e os restos de culturas, utilizados como fontes de fibra, apresentam teores de FB de 42,9 a 50,0%. Como fontes de macrominerais, ressaltam-se os teores de fósforo (P), acima de 1% nos farelos, de cálcio (Ca), que chegam a 0,24% nos farelos e caroços e de enxofre (S), atingindo 0,43% no farelo proveniente da extração mecânica do óleo (Rangel & Lima Júnior, 2010).

A disponibilidade do caroço e do farelo de algodão no mercado produtor, seu valor energético, protéico e o baixo preço, têm estimulado pecuaristas a adotarem sua utilização na alimentação animal. De fato, o algodão é uma fonte de proteína de alta qualidade (Alford et al., 1996). No entanto, estes subprodutos possuem um fator antinutricional, o gossipol. O gossipol é um pigmento fenólico de coloração amarelada, produzido pelas glândulas de pigmento encontradas nas raízes, partes aéreas e sementes de algodão (Forman et al., 1991; Cheeke, 1998; Soto-Blanco, 2008). Esta substância foi isolada pela primeira vez em 1899, e seu nome foi concebido pela associação entre o nome científico do gênero do algodão (*Gossypium*) com a terminação "ol" oriunda de fenol. Há pelo menos outros quinze compostos fenólicos produzidos pelas glândulas de pigmento do algodão, mas estes compostos são de pouca importância toxicológica, pois estão presentes em concentrações muito menores do que a encontrada pelo gossipol (Cheeke, 1998; Soto-Blanco, 2008).

A fórmula química geral do gossipol é $C_{30}H_{30}O_8$, com peso molecular de 518,6 daltons e fórmula química estrutural 8,8'-dicarboxaldeído-1,1',6,6',7,7'-hexahidroxi-5, 5'-diisopropil-3,3, -dimetil-2,2'-binaftaleno (Figura 1) (Randel et al., 1992; Santos, 1997; Cheeke, 1998; Soto-Blanco, 2008). Há duas formas isoméricas nas quais o gossipol pode ser encontrado, (+)- e (-)-gossipol. O isômero (-)-gossipol é considerado o mais tóxico. Foi constatado que há variação na proporção entre estas duas formas nos diferentes cultivares, sendo esta variação determinada geneticamente (Cheeke, 1998; Soto-Blanco, 2008). A função do gossipol para a planta que o produz é limitar a predação por insetos, incrementando a sobrevivência do vegetal

(Abdurakhimov et al., 2009; Kong et al., 2010; Evangelista et al., 2011).

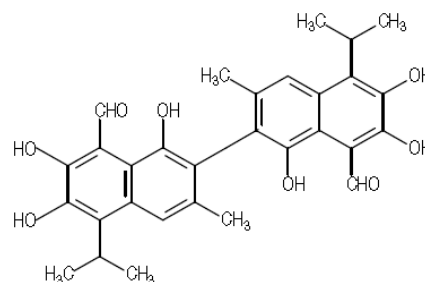


Figura 1. Estrutura molecular do gossipol.

Como o gossipol altera a coloração e a qualidade do óleo de sementes de algodão, os processamentos para obtenção deste óleo procuram manter esta toxina nas sementes. Uma forma de se obter isto é através do processamento térmico, que faz o gossipol se ligar a aminoácidos constituintes de proteínas do algodão, especialmente ao aminoácido lisina. O gossipol conjugado não apresenta importância toxicológica, sendo considerado fisiologicamente inativo. O gossipol livre (não conjugado) é o que apresenta importância toxicológica. O grupamento formil do gossipol se liga aos grupamentos amino epsilon da lisina e da arginina, reação esta conhecida como reação de Maillard ou browning. Também pode haver ligação com o grupamento tiol da cisteína (Kerr, 1989; Cheeke, 1998; Soto-Blanco, 2008).

O conteúdo de gossipol livre nas sementes íntegras de algodão é de cerca de 0,5%. Estes níveis variam de 0,1 a 0,5% quando é feita a extração do óleo por solventes. Já nos processos mecânicos de extração envolvendo pressão e tratamento térmico, esta redução é para cerca de 0,05%. Ainda, a extração por solventes podem produzir farelos com menor concentração de gossipol livre (0,05%) quando se realiza extrusão ou expansão antes da extração (Cheeke, 1998). O farelo de algodão resultante da extração mecânica apresenta menores teores de proteína do que os provenientes da extração química, no entanto tem maior valor energético por conter mais óleo residual (Krishnamoorthy et al., 1983). Vários são os fatores que influenciam a presença do gossipol na planta. Dentre estes fatores estão as condições climáticas, havendo correlação positiva com a pluviosidade e negativa com a temperatura. Outro fator conhecido é a variação entre as espécies de algodão, sendo que *G. barbadense* apresenta maior concentração do que *G. hirsutum*. Por outro lado, o armazenamento do

algodão tem muito pouca influência sobre o conteúdo de gossipol (Danke et al., 1965; Randel et al., 1992; Calhoun et al., 1995; Cheeke, 1998; Staples et al. 1998; Soto-Blanco, 2008).

EFEITOS TÓXICOS DO GOSSIPOL

O gossipol é tóxico para espécies não ruminantes e ruminantes, quando alimentados em concentrações elevadas (Morgan et al., 1988; Risco et al., 1992; Willard et al., 1995; Zhang et al., 2007). A intoxicação natural por este pigmento tipicamente 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; Patton et al., 1985; Kerr, 1989; Cheeke, 1998; Soto-Blanco, 2008).

Os efeitos tóxicos do gossipol é muito maior para os não-ruminantes, ou seja, nos monogástricos, como suínos e aves, que são bastante suscetíveis à toxicidade de gossipol, assim como os pré-ruminantes, podendo reduzir a capacidade carreadora de oxigênio no sangue, resultando em respirações curtas e edemas pulmonares (Morgan et al., 1988; Risco et al., 1992; Randel et al., 1992; Willard et al., 1995; Zhang et al., 2007). Portanto, os sinais de intoxicação aguda pelo gossipol em não ruminantes, pré-ruminantes e ruminantes machos são semelhantes e incluem dificuldade respiração, dispnéia, diminuição da taxa de crescimento, anorexia, fraqueza, apatia e morte depois de vários dias (Rogers et al., 1975; Morgan et al., 1988; Kerr, 1989; Velasquez-Pereira et al., 1999; Fomband & Bryant, 2004; Zhang et al., 2007). Além disto, a ocorrência de morte súbita promovida pelo gossipol foi relatada em bezerros (Holmberg et al., 1988; Hudson et al., 1988). Achados *post-mortem* incluem derrames pleural e abdominal, necrose centrolobular do fígado (Risco et al., 1992), edema generalizado, congestão dos pulmões e do fígado e degeneração das fibras cardíacas (Randel et al., 1992; Alford et al., 1996; Robinson et al., 2001).

Os ruminantes adultos apresentam menor sensibilidade ao gossipol por haver ligação desta substância a proteínas do fluido ruminal (Willard et al., 1995). A ingestão de gossipol em quantidades superiores à capacidade de detoxificação ruminal permite a absorção de gossipol livre. 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). Vacas intoxicadas apresentam taquipnéia e anemia caracterizada por redução na concentração de hemoglobina, aumento na concentração de proteínas plasmáticas totais e na fragilidade eritrocitária; ocasionalmente ocorrem mortes. Os achados patológicos incluem edema pulmonar e abomasal, presença de líquido amarelado nas cavidades torácica e peritoneal, fígado com aspecto denominado noz-moscada e fibras cardíacas degeneradas e hipertróficas. Vacas da raça Jersey, que são as mais sensíveis à intoxicação pelo cobre, apresentam um significativo aumento nesta sensibilidade quando são alimentadas com farelo de algodão, provavelmente por causa da lesão hepática (Kerr, 1989; Cheeke, 1998; Soto-Blanco, 2008).

Alguns sinais de toxicidade gossipol foram relacionadas a uma diminuição das concentrações de antioxidantes e um aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (Fornés et al., 1993; Hervé et al., 1996; Velasquez-Pereira et al., 1999; Kovacic, 2003). Janero e Burghardt (1988) afirmaram que o gossipol pode interagir com membranas biológicas, promovendo a formação de espécies reativas de oxigênio. Lane e Stuart (1990) sugeriram que os antioxidantes desempenham um papel fundamental no metabolismo de gossipol. Em altas doses, o gossipol também reduz a atividade de sistemas enzimáticos de cadeias de transporte de elétrons mitocondrial e desconecta os processos de respiração e fosforilação oxidativa (Meksongsee et al., 1970; Abou-Donia & Dieckert, 1974).

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 neste metal, afetando principalmente a eritropoiese (Herman & Smith, 1973; Skutches et al., 1973; Abou-Donia, 1976; Lindsey et al., 1980; Patton et al., 1985; Kerr, 1989; Akingbemi & Aire, 1994; Cheeke, 1998; Aneja et al., 2003; Soto-Blanco, 2008). O gossipol também promove aumento na fragilidade dos eritrócitos (Lindsey et al., 1980; Mena et al., 2004; Zhang et al., 2007) e depressão significativa de albumina, globulinas, proteína total (Risco et al., 1992).

INTERFERÊNCIA DO GOSSIPOL NA REPRODUÇÃO

Na década de 1950, houve uma drástica redução na taxa de natalidade humana em diversas áreas rurais da China. Naquela ocasião, foi descoberto haver infertilidade masculina relacionada ao uso do óleo de algodão bruto, rico em gossipol, para preparo de seus alimentos (Liu, 1957; Liu et al., 1985; Soto-Blanco, 2008). Experimentalmente, o gossipol já foi proposto como eficaz anticoncepcional masculino (Qian & Wang, 1984; Yu & Chan, 1998; Coutinho, 2002; Dodou et al., 2005; Chang et al., 2011).

Em machos, um grande número de trabalhos comprovou que o gossipol promove redução na concentração, inibição da motilidade e aumento da mortalidade de espermatozoides (Chongthmmakun et al., 1986; Zirkle et al., 1988; Hong et al., 1989; Randel et al., 1992; Fornés et al., 1993; Brocas et al., 1997; Chenoweth et al., 2000; Yuan & Shi, 2000; El-Sharaky et al. 2010). A ação deletéria sobre os espermatozoides é devido ao bloqueio na produção e liberação e utilização do ATP nestas células (Ueno et al., 1988). Além disto, também inibe o influxo de cálcio e as atividades das enzimas Mg-ATPase e Ca-Mg-ATPase nas membranas plasmáticas dos espermatozoides (Breitbart et al., 1984). Ainda, espermatozoides anormais são formados nos animais expostos ao gossipol em decorrência de anormalidades ultra-estruturais na membrana nuclear, no retículo endoplasmático e nas mitocôndrias (Haffer, 1983; Arshami & Ruttle, 1988; Chenoweth et al., 2000; Romualdo & Klinefelter, 2002). Em células de Sertoli obtidas de testículos de suínos, esta toxina foi responsável por inibição do crescimento e da atividade de oxidase celular, além de danos ao DNA (Zhang et al., 2011). Outro efeito é a redução na expressão nuclear de receptores para andrógenos observada nas células de Leydig, de Sertoli e peritubular mióide provenientes de testículos de ratos tratados com farelo de algodão (Timurkaan et al., 2011). Pode haver redução nos níveis de testosterona, hormônio luteinizante e hormônio folículo-estimulante (El-Sharaky et al. 2010), mas a alteração hormonal nem sempre é encontrada (Qian & Wang, 1984). No entanto, os efeitos do gossipol na espermatogênese são lentamente revertidos após o término da ingestão da toxina (Hassan et al., 2004).

Em fêmeas, a exposição ao gossipol tem sido associada a interrupção do ciclo estral, da prenhez e do desenvolvimento embrionário precoce (Randel et al., 1992, 1996; Soto-Blanco, 2008). As fêmeas ruminantes parecem menos sensíveis problemas de reprodução induzidos pelo gossipol (Lin et al., 1985; Brocas et al., 1997; Randel et al., 1992; Gray et al.,

1993). Muitos estudos têm demonstrado que o gossipol afeta *in vitro* e *in vivo* a qualidade e o desenvolvimento do embrião (Lin et al., 1994b; Randel et al., 1996; Brocas et al., 1997; Santos et al., 2003; Velasquez-Pereira et al., 2003; Villaseñor et al., 2008). Portanto, possui propriedades contraceptivas em fêmeas (Lin et al., 1985, 1994a), pois novilhas alimentadas com gossipol possuíam menos blastômeros e o tempo de desenvolvimento destes era mais prolongado. Outros estudos relatam que o gossipol interfere no ciclo estral de fêmeas roedoras (Lin et al., 1985; Adeyemo & Longe, 2007) e em células da granulosa de suínas (Basini et al., 2009).

Dados *in vitro* indicam alguma inibição do desenvolvimento embrionário (Zirkle et al., 1988) e da esteroidogênese ovariana (Gu et al., 1990; Lin et al., 1994). Brocas et al. (1997) observaram um efeito negativo do gossipol sobre gametas e embriões *in vitro*, mas não quando ele foi administrado na dieta de vacas. Como também foi demonstrado *in vitro*, a ação deletéria do gossipol na atividade das células da granulosa de suínos (Basini et al., 2009). Em contrapartida, outros autores relatam efeitos nocivos do gossipol sobre a fertilidade em vacas leiteiras que receberam embriões de novilhas alimentados com gossipol, sugerindo que efeitos negativos no início do desenvolvimento embrionário persiste mais tarde durante a manutenção da gravidez (Galvão et al., 2006; Villaseñor et al., 2008). Villaseñor et al. (2008) mostram que os embriões entram em contato com este pigmento tóxico no útero desses animais, já que foi observado presença de gossipol no fluido uterino. Contudo, embriões em desenvolvimento são sensíveis ao gossipol, pois redução da clivagem embrionária, redução da taxa de gravidez, aumento da perda de gravidez (abortos), embriões de má qualidade e baixo desenvolvimento, enfim, a redução da fertilidade, foi relacionadas com a alta quantidade de gossipol livre na dieta de animais (Zirkle et al., 1988; Brocas et al., 1997; Santos et al., 2003; Hernández-Céron et al., 2005; Santos et al., 2008; Villaseñor et al., 2008).

O provável mecanismo pelo qual gossipol inibe o desenvolvimento embrionário é a citotoxicidade direta no embrião (Li et al., 1989; Randel et al., 1992). Este efeito citotóxico pode ser resultante da geração de radicais livres (Fornés et al., 1993; Morales et al., 1999; Kovacic, 2003), da interrupção da comunicação inter-celular (Hervé et al., 1996), da indução de apoptose (Ergun et al., 2004; Moon et al., 2008; Cui et al., 2004; Wang et al., 2000; Cengiz et al., 2010), da alteração do transporte iônico, pois ele pode levar a um aumento da concentração de íons cálcio intracelular através da liberação do retículo endoplasmático e afluxo de substâncias de fora da

célula (Cheng et al., 2003) e tal efeito pode afetar a sinalização no embrião de uma célula (Nakada & Mizuno, 1998; Tosti et al., 2002).

CONCLUSÕES

O gossypol afeta a gametogênese masculina e feminina, além de promover lesões nos embriões. Apesar das vantagens econômicas e nutricionais dos subprodutos do algodão para alimentação dos ruminantes, as condições de segurança para o uso deste alimento em matrizes ainda não foram estabelecidas no Brasil.

REFERÊNCIAS

- Abdurakhimov R.S., Veshkurova O.N., Uzbekov V.V., Arzanova I.A., Sultanova E.M. & Salikhov S.I. 2009. Effect of cotton-seed biocidal peptides and gossypol on resistance to biotic factors. *Chem. Nat. Comp.* 45:213-216.
- Abou-Donia M. 1976. Physiological effects and metabolism of gossypol. *Residue Rev.* 61:125-160.
- Abou-Donia M.B. & Dieckert J.W. 1974. Gossypol: Uncoupling of respiratory chain and oxidative phosphorylation. *Life Sci.* 14:1955-1963.
- Adeyemo O.G. & Longe D.O. 2007. The reproductive performance of breeder cocks fed cottonseed meal cake-based diets. *J. Poult. Sci.* 2:140-144.
- Akingbemi B.T. & Aire T.A. 1994. Haematological and serum biochemical changes in the rat due to protein malnutrition and gossypol-ethanol interactions. *J. Comp. Pathol.* 111:413-426.
- Alford B.B., Liepa G.U. & Vanbeber A.D. 1996. Cottonseed protein, what does the future hold. *Plant Foods Hum. Nutr.* 49:1-11.
- Alfonso A.A., Ojowl M.D., Trei J.E. & Kutches A.J. 1986. Comparative digestibility of whole, delinted and treated cottonseed. *J. Dairy Sci.* 69(Suppl.1):216.
- Andriguetto J.M., Perly L., Minardi I., Gemael A., Flemming J.S., Souza G.A. & Bona Filho A. 1994. *Nutrição animal, as bases e os fundamentos da nutrição animal: os alimentos.* v.1, 4ª ed. Editora Nobel, São Paulo, 396p.
- Aneja R., Dass S.K. & Chandra R. 2003. Modulatory influence of tin-protoporphyrin on gossypol-induced alterations of heme oxygenase activity in male wistar rats. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin.* 28:237-243.
- Arshami J. & Ruttle J.L. 1988. Effects of diets containing gossypol on spermatogenic tissues of young bulls. *Theriogenology* 30:507-516.
- Basini G., Bussolati S., Baioni L. & Grasselli F. 2009. Gossypol, a polyphenolic aldehyde from cotton plant, interferes with swine granulosa cell function. *Dom. Anim. Endocrinol.* 37, p.30-36.
- Breitbart H., Rubinstein S. & Nass-Arden L. 1984. Effect of gossypol-acetic acid on calcium transport and ATPase activity in plasma membranes from ram and bull spermatozoa. *Int. J. Androl.* 7:439-447.
- Brocas C., Rivera R.M., Paula-Lopes F.F., Mcdowell L.R., Calhoun M.C., Staples C.R., Wilkinson N.S., Boning A.J., Chenoweth P.J., & Hansen P.J. 1997. Deleterious actions of gossypol on bovine spermatozoa, oocytes and embryos. *Biol. Reprod.* 57:901-907.
- Calhoun M.C., Kuhlmann S.W. & Baldwin Jr B.C. 1995. Cotton feed product composition and gossypol availability and toxicity. *Proc. National Invitational Symposium on Alternative Feeds for Dairy and Beef Cattle, St. Louis, MO,* p.125-145.
- Cengiz E., Karaca B., Kucukzeybek Y., Gorumlu G., Gul M.K., Erten C., Atmaca H., Uzunoglu S., Karabulut B., Sanli U.A. & Uslu R. 2010. Overcoming drug resistance in hormone - and drug-refractory prostate cancer cell line, PC-3 by docetaxel and gossypol combination. *Mol Biol Rep.* 37:1269-1277.
- Chang Q., Liu Z., Ma W.Z., Hei C.C., Shen X.S., Qian X.J. & Xu, Z.L. 2011. Drug synergistic antifertility effect of combined administration of low-dose gossypol with steroid hormones in rats. *Chin. Med. J.* 124:1678-1682.
- Cheeke P.R. 1998. *Natural Toxicans in Feeds, Forages, and Poisonous Plants.* 2.ed. Interstate Publishers, Danville. 479p.
- Cheng J.S., Lo Y.K., Yeh J.H., Cheng H.H., Liu C.P., Chen W.C. & Jan C.R. 2003. Effect of gossypol on intracellular Ca²⁺ regulation in human hepatoma cells. *Chin. J. Physiol.* 46:117-122.
- Chenoweth P.J., Chase Jr. C.C., Risco C.A. & Larsen R.E. 2000. Characterization of gossypol-induced sperm abnormalities in bulls. *Theriogenology* 53:1193-1203.
- Chongthmakun S., Ekavipat C., Sanitwongse B. & Pavasuthipaisit K. 1986. Effects of gossypol on human and monkey sperm motility in vitro. *Contraception* 34:323-331.
- Coppock C.E., Moya J.R., West J.W., Nave D.H., Labore J.M. & Gates C.E. 1985. Effect of lint on whole cottonseed passage and digestibility and diet choice on intake of whole cottonseed by Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 68:1198-1206.
- Coutinho E.M. 2002. Gossypol: a contraceptive for men. *Contraception* 65:259-263.
- Danke R.J., Panciera R.J. & Tilimam A.D. 1965. Gossypol toxicity studies with sheep. *J. Anim. Sci.* 24:1199-1201.
- Dodou K., Anderson R.J., Small D.A. & Groundwater P.W. 2005. Investigations on gossypol: past and present developments. *Expert Opin. Investig. Drugs* 14:1419-1435.
- Eagle E. 1950. Effect of repeated doses of gossypol on the dog. *Arch. Biochem.* 26:68-71.
- El-Sharaky A.S., Newairy A.A., Elguindy N.M. & Elwafa A.A. 2010. Spermatotoxicity, biochemical changes and histological alteration induced by gossypol in testicular and hepatic tissues of male rats. *Food Chem. Toxicol.* 48:3354-3361
- Ergun M.A., Konac E., Erbas D. & Ekmekci A. 2004. Apoptosis and nitric oxide release induced by thalidomide, gossypol and dexamethasone in cultured human chronic myelogenous leukemic K-562 cells. *Cell Biol. Int.* 28:237-242.
- Evangelista W.S., Santos R.L., Torres J.B. & Zanuncio J.C. 2011. Effect of gossypol on survival and reproduction of the zoophytophagous stinkbug *Podisus nigrispinus* (Dallas). *Rev. Bras. Entomol.* 55:267-271.
- Fomband R.B. & Bryant M.J. 2004. An evaluation of the use of cottonseed caje in the diet of growing pigs. *Trop. Anim. Health Prod.* 36:295-305.

- Forman L., Mathews S. & King C.C. 1991. New food, feed uses for glandless cottonseed. *Inform.* 2:737-739.
- Fornés M.W., Barbieri A.M. & Burgos M.H. 1993. Sperm motility loss induced by gossypol: relation with OH scavengers, motile stimulators and malondialdehyde production. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 195:1289-1293.
- Galvão K.N., Santos J.E.P., Coscioni A.C., Juchem S.O., Chebel R.C., Sisco W.M. & Villaseñor M. 2006. Embryo survival from gossypol-fed heifers after transfer to lactating cows treated with human chorionic gonadotropin. *J. Dairy Sci.* 89:2056-2064.
- Gray M.L., Greene L.W. & Williams G.L. 1993. Effects of dietary gossypol consumption on metabolic homeostasis and reproductive endocrine function in beef heifers and cows. *J. Anim. Sci.* 71:3052-3059.
- Gu Y., Lin Y.C. & Rikihisa Y. 1990. Inhibitory effect of gossypol on steroidogenic pathways in cultured bovine luteal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 169:455-461.
- Haffer A.P. 1983. Effects of gossypol on the seminiferous epithelium in the rat: a light and electron microscope study. *Biol. Reprod.* 28:1000-1003.
- Hassan M.E., Smith G.W., Ott R.S., Faulknet D.B., Firkins L.D., Ehrhart E.J. & Schaeffer, D.J. 2004. Reversibility of the reproductive toxicity of gossypol in peripubertal bulls. *Theriogenology* 61:1171-1179.
- Herman D.L. & Smith F.H. 1973. Effect of bound gossypol on the absorption of iron by rats. *J. Nutr.* 103:882-889.
- Hernández-Cerón J., Jousan F.D., Soto P. & Hansen P.J. 2005. Timing of inhibitory actions of gossypol on cultured bovine embryos. *J. Dairy Sci.* 88:922-928.
- Hervé J.C., Pluciennik F., Cronier L., Verrecchia F., Malassiné A., Joffre M. & Déléze J. 1996. Contraceptive gossypol blocks cell-to-cell communication in human and rat cells. *Eur. J. Pharmacol.* 313:243-255.
- Holmberg C.A., Weaver L.D., Guterbock W.M., Genes J. & Montgomery P. 1988. Pathological and toxicological studies of calves fed a high concentration cottonseed meal diet. *Vet. Pathol.* 25:147-153.
- Hong C.Y., Huang J.J. & Wu P. 1989. The inhibitory effect of gossypol on human sperm motility: relationship with time, temperature and concentration. *Hum. Toxicol.* 8:49-51.
- Hudson L.M., Kerr L.A. & Maslin W.R. 1988. Gossypol toxicosis in a herd of beef calves. *JAVMA* 192:1303-1305.
- IEA (Instituto de Economia Agrícola). 1994. Mercado de Produtos. *Informações Econômicas* 24(9):43-50.
- Janero D.R. & Burghardt B. 1988. Protection of rat myocardial phospholipid against peroxidative injury through superoxide-(xanthine oxidase)-dependent, iron promoted Fenton chemistry by the male contraceptive gossypol. *Biochem. Pharmacol.* 37:3335-3342.
- Kerr L.A. 1989. Gossypol toxicosis in cattle. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 11:1139-1146.
- Kong G., Daud M.K. & Zhu S. 2010. Effects of pigment glands and gossypol on growth, development and insecticide-resistance of cotton bollworm (*Heliothis armigera* (Hübner)). *Crop Protect.* 29:813-819.
- Kovacic P. 2003. Mechanism of drug and toxic actions of gossypol: Focus on reactive oxygen species and electron transfer. *Curr. Med. Chem.* 10:2711-2718.
- Krishnamoorthy U., Sniffen C.J., Stern M.D. & Van Soest P.J. 1983. Evaluation of a mathematical model of rumen digestion and in vitro simulation of rumen proteolysis to estimate the rumen-undegraded nitrogen content of feedstuffs. *Br. J. Nutr.* 50:555-568.
- Lane A.G. & Stuart R.L. 1990. Gossypol intake may affect vitamin status of dairy cattle. *Feedstuffs* 62(28):13-14.
- Li Y.F., Booth G.M. & Seegmiller R.E. 1989. Evidence for embryotoxicity of gossypol in mice and chicks with no evidence of mutagenic activity in the Ames test. *Reprod. Toxicol.* 3:59-62.
- Lin Y.C., Pathmanayaki R. & Rikihisa Y. 1985. Inhibition of embryo implantation in the unilaterally gossypol-treated uterine horn of pregnant rats. *Biol. Reprod.* 32(suppl. 1):131.
- Lin Y.C., Coskun S. & Sanbuissho A. 1994a. Effects of in vitro bovine oocyte maturation and steroidogenesis in bovine granulosa cells. *Theriogenology* 41:1601-1611.
- Lin Y.C., Sanbuissho A., Coskun S. & Rikihisa Y. 1994b. Inhibition of in vitro fertilization and early embryonic development in hamsters by gossypol. *Life Sci.* 55:1139-1145.
- Lindsey T.O., Hawkins G.E. & Guthrie L.D. 1980. Physiological responses of lactating cows to gossypol from cottonseed meal rations. *J. Dairy Sci.* 43:562-573.
- Liu B.S. 1957. A tentative idea of the use of cooking cottonseed oil for fertility control. *Shangai J. Chin. Med.* 6:43-47.
- Liu G.Z., Lyle C.K. & Cao J. 1985. Trial of gossypol as a male contraceptive, p.9-16. In: Segal S.J. (ed.) *Gossypol: a potential contraceptive for men*. Plenum Press, New York.
- Meksongsee L.A., Clawson A.J. & Smith F.H. 1970. The in vivo effect of gossypol on cytochrome oxidase, succinoxidase, and succinic dehydrogenase in animal tissues. *J. Agr. Food Chem.* 18:917-920.
- Mena H., Santos J.E.P., Huber J.T., Tarazon M. & Calhoun M.C. 2004. The effects of varying gossypol intake from whole cottonseed and cottonseed meal on lactation and blood parameters in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:2506-2518.
- Moon D.O., Kim M.O., Lee J.D. & Kim G.Y. 2008. Gossypol suppresses NF- κ B activity and NF- κ B-related gene expression in human leukemia U937 cells. *Cancer Lett.* 264:192-200.
- Morales H., Tilquin P., Rees J.F., Massip A., Dessy F. & Van Langendonck A. 1999. Pyruvate prevents peroxide-induced injury of in vitro preimplantation bovine embryos. *Mol. Reprod. Dev.* 52:149-157.
- Morgan S.E., Stair E.L., Martin T.M., Edwards W.C. & Morgan G.L. 1988. Clinical, clinicopathologic, pathologic, and toxicology alterations associated with gossypol toxicoses in feeder lambs. *Am. J. Vet. Res.* 49:493-499.
- Nakada K. & Mizuno J. 1998. Intracellular calcium responses in bovine oocytes induced by spermatozoa and by reagents. *Theriogenology* 50:269-282.
- NRC – National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. National Academy Press, Washington, 381p.
- Patton C.S., Legendre A.M., Gompf R.E. & Walker M.A. 1985. Heart failure caused by gossypol poisoning in two dogs. *JAVMA* 187:625-627.
- Qian S.Z. & Wang Z.G. 1984. Gossypol: A potential antifertility agent for males. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 24:329-360.

- Randel R.D., Chase C.C. & Wyse Jr S.J. 1992. Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. *J. Anim. Sci.* 70:1628-1638.
- Randel R.D., Willard S.T., Wyse S.J. & French L.N. 1996. Effects of diets containing free gossypol on follicular development, embryo recovery and corpus luteum function in Brangus heifer treated with bFSH. *Theriogenology* 45:911-922.
- Rangel A.H.N. & Lima Júnior D.M. 2010. Subprodutos agroindustriais na alimentação de vacas de leite, p.37-66. In: Brito A.S., Nobre F.V. & Fonseca J.R.R. (ed.) *Bovinocultura Leiteira, Informações Técnicas e de Gestão*. SEBRAE-RN, Natal.
- Richetti A. & Melo Filho G.A. 2001. Aspectos socioeconômicos do algodoeiro, p.13-34. In: EMBRAPA Agropecuária Oeste. *Algodão: tecnologia de produção*. Embrapa, Dourados.
- Risco C.A., Holmberg C.A. & Kutches A. 1992. Effect of graded concentrations of gossypol on calf performance: toxicological and pathological considerations. *J. Dairy Sci.* 75:2787-2798.
- Robinson P.H., Getachew G., Peters E.J. & Calhoun M.C. 2001. Influence of variety and storage for up to 22 days on nutrient composition and gossypol. Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/els/03778401/2001/00000091/00000003/art00202>.
- Rogers P.A.M., Henaghan T.P. & Wheeler B. 1975. Gossypol poisoning in young calves. *Ir. Vet. J.* 29:9-13.
- Romualdo G.S. & Klinefelter G.R. 2002. Post-weaning exposure to gossypol results in epididymis-specific effects throughout puberty and adulthood in rats. *J. Androl.* 23:220-228.
- Santos J.E., Villaseñor M., Robinson P.H., Depeters E.J. & Holmberg C.A. 2003. Type of cottonseed and level of gossypol in diets of lactating dairy cows: plasma gossypol, health, and reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 86:892-905.
- Santos M.D., Portilho F.K.B.C., Ruas J.R.M., Freitas S.H., Costa D.S. & Simões M.J. 2008. Morfologia testicular e qualidade espermática de touros da raça Nelore, submetidos à dieta contendo gossypol. *R. Bras. Ci. Vet.* 15:134-139.
- Santos R.L. 1997. Efeitos do gossypol sobre a reprodução. *Cad. Técnic. Esc. Vet. UFMG* 21:73-82.
- Skutches C.L., Herman D.L. & Smith F.H. 1973. Effect of intravenous gossypol injection on iron utilization in swine. *J. Nutr.* 103:851-855.
- Soto-Blanco B. 2008. Gossypol e fatores anti-nutricionais da soja, p.531-545. In: Spinosa H.S., Górniak S.L. & Palermo Neto J. (ed.) *Toxicologia Aplicada à Veterinária*. Manole, São Paulo.
- Staples C.R., Burke J.M. & Thatcher W.W. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:856-871.
- Sullivan J.L., Huber J.T. & Harper J.M. 1993. Performance of dairy cows fed short staple, pima, and cracked pima cottonseed and feed characteristics. *J. Dairy Sci.* 76:3555-3561.
- Timurkaan N., Yilmaz F. & Timurkaan S. 2011. Effects of cottonseed flour on immunohistochemical localization of androgen receptors (AR) in rat testes. *Rev. Med. Vet.* 162:13-17.
- Tosti E., Boni R. & Cuomo A. 2002. Fertilization and activation currents in bovine oocytes. *Reproduction* 124:835-846.
- Ueno H., Sahni M.K., Segal S.J. & Koide S.S. 1988. Interaction of gossypol with sperm macromolecules and enzymes. *Contraception* 3:333-341.
- Velasquez-Pereira J., Risco C.A., McDowell L.R., Staples C.R., Prichard D., Chenoweth P.J., Martin F.G., Williams S.N., Rojas L.X., Villaseñor M., Coscioni A.C., Galvão K.N., Juchem S.O., Santos J. E.P. & Puschner B. 2003. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on embryo development and viability in vivo and in vitro. *J. Dairy Sci.* 86(suppl.1):240.
- Villaseñor M., Coscioni A.C., Galvão K.N., Chebel R.C. & Santos J.E.P. 2008. Gossypol disrupts embryo development in heifers. *J. Dairy Sci.* 91:3015-3024.
- Wang X., Wang J., Wong S.C., Chow L.S., Nicholls J.M., Wong Y.C., Liu Y., Kwong D.L., Sham J.S. & Tsa S.W. 2000. Cytotoxic effect of gossypol on colon carcinoma cells. *Life Sci.* 67:2663-2671.
- Willard S.T., Neuendorff D.A., Lewis A.W., Randel R.D. 1995. Effects of free gossypol in the diet of pregnant and postpartum Brahman cows on calf development and cow performance. *J. Anim. Sci.* 73:496-507.
- Yu Z.H. & Chan H.C. 1998. Gossypol as a male antifertility agent – why studies should have been conducted. *Int. J. Androl.* 21:2-7.
- Yuan Y.Y. & Shi Q.X. 2000. Inhibition of hamster sperm acrosomal enzyme by gossypol is closely associated with the decrease in fertilization capacity. *Contraception* 62:203-209.
- Zhang W.J., Xu Z.R., Pan X.L., Yan X.H., Zhang Y.B.W.J., Xu Z.R., Pan X.L., Yan X.H., Wang Y.B. 2007. Advances in gossypol toxicity and processing effects of whole cottonseed in dairy cows feeding. *Livest. Sci.* 111:1-9.
- Zhang M., Yuan H., He Z.P., Yuan L.Y., Yi J.N., Deng S.J., Zhu L., Guo C.Z., Lu Y., Wu J., Wen L.X., Wei Q. & Xue L.Q. 2011. DNA damage and decrease of cellular oxidase activity in piglet sertoli cells exposed to gossypol. *Afr. J. Biotechnol.* 10:2797-2802.
- Zirkle S.M., Lin Y.C., Gwazdauskas F.C. & Canseco R.S. 1988. Effect of gossypol on bovine embryo development during the preimplantation period. *Theriogenology* 30:575-582.