

POLLYANNA DE MORAES FRANÇA FERREIRA

CÚRCUMA (*Curcuma longa*) NA DIETA DE *Astyanax aff. bimaculatus*:
SEGURANÇA E EFICÁCIA NA PRODUÇÃO E NO ESTRESSE POR
TRANSPORTE

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F383c
2016

Ferreira, Pollyanna de Moraes França, 19-
Cúrcuma (*Curcuma longa*) na dieta de *Astyanax aff.*
bimaculatus : segurança e eficácia na produção e no estresse por
transporte / Pollyanna de Moraes França Ferreira. – Viçosa, MG,
2016.

xiv, 90f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Juliana Silva Rocha.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Astyanax* (Peixe) - Alimentação e rações. 2. Lambari
(Peixe) - Alimentação e rações. 3. Cúrcuma. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa
de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural. II. Título.

CDD 22. ed. 597.48

POLLYANNA DE MORAES FRANÇA FERREIRA

CÚRCUMA (*Curcuma longa*) NA DIETA DE *Astyanax aff. bimaculatus*:
SEGURANÇA E EFICÁCIA NA PRODUÇÃO E NO ESTRESSE POR
TRANSPORTE

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Biologia
Celular e Estrutural, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 17 de fevereiro de 2016.



Edgar de Alencar Teixeira



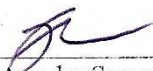
Mariella Bontempo Duca de Freitas



Sirlene Souza Rodrigues Sartori



Clóvis Andrade Neves



Jener Alexandre Sampaio Zuanon
(Presidente da banca)

A Deus!

*Aos meus pais **Noberto e Márcia**;*

*Aos meus irmãos **Beto, Caco e Dida** e a minha sobrinha **Malu**;*

*A minha avó **Ana**, as minhas tias **Alba e Amanda**, ao meu primo **Hito** e a minha
afilhada **Joana**!*

AGRADECIMENTOS

A **Universidade Federal de Viçosa (UFV)** por intermédio do **Departamento de Biologia Geral**, pela oportunidade de realização deste curso;

Ao programa de **Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural** pela oportunidade de cursar o doutorado;

A **Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG)**, pela concessão da bolsa durante a realização deste curso e pelo financiamento do projeto;

Ao Departamento de Biologia Animal e ao Programa de Pós Graduação em Biologia Animal por intermédio dos meus co-orientadores **Jener Alexandre Sampaio Zuanon e Ana Lúcia Salaro** pelo apoio e pela infra-estrutura fornecida para a execução deste trabalho;

A minha orientadora **Juliana Silva Rocha**, pela sua disponibilidade em me orientar, pela confiança, pelos conhecimentos compartilhados e incentivos para a realização não apenas do doutorado, mas em todas as outras atividades em paralelo que sempre executei.

Ao meu coorientador **Prof. Dr. Jener Alexandre Sampaio Zuanon**, penso que esta é a oportunidade ideal para agradecer por tudo aquilo que você fez por mim nesses seis anos de convivência, por tudo o que me ensinou e, também, pelo exemplo de profissional com sua postura séria, honesta e ética, pelo apoio, incentivo e confiança depositados em mim, por toda paciência em muitas vezes ouvir reclamações, lamúrias da minha vida pessoal, mas sempre com um bom conselho. De fato, Jener me faltam palavras pra agradecer e expressar o quanto lhe admiro como profissional e pessoa. Muitíssimo obrigada por tudo.

A minha coorientadora **Profª Drª Ana Lúcia Salaro**, por possibilitar a realização deste trabalho nos Laboratórios do Setor de Piscicultura, pelos conhecimentos compartilhados, pelo profissionalismo e incentivo na execução deste estudo.

Ao professor **Edenio Detmann**, pela disponibilização do Laboratório de Nutrição Animal, do Departamento de Zootecnia para a realização das análises químicas.

Ao professor **Jorge Dergan**, pela disponibilização do Laboratório de Sistemática Molecular Beagle, do Departamento de Biologia Animal para a realização das fotomicrografias.

Ao professor **Mariella Freitas**, pela disponibilização do Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros, do Departamento de Biologia Animal para a realização das análises de estresse oxidativo.

Aos professores **Sirlene Souza Rodrigues Sartori** e **Sergio Luis Pinto da Matta** que apesar de não serem coorientadores sempre me ajudaram a resolver os problemas que surgiram durante a pesquisa e sempre tiraram minhas dúvidas.

Aos membros da banca examinadora: **Edgar de Alencar Teixeira**, **Mariella Bontempo Duca de Freitas**, **Sirlene Souza Rodrigues Sartori**, **Clóvis Andrade Neves** pela presença e pelas valiosas sugestões.

Aos **Professores** que tive durante o doutorado, por todo conhecimento compartilhado;

Aos meus colegas de laboratório e da piscicultura pelos anos de convivência, por toda ajuda e respeito. Em especial a **Débora Werneck**, **Juliana Rodrigues**, **Maria Tatiana Soares**, **Alex Cardoso**, **Jerusa Oliveira**, **Suellen Condessa**, **Isabel Neves**, **Erica Leite**, **Sendy Reis**, **Lidiane Nascimento**, **Marli Cupertino**, **Uyara Vieira**, **Mariana Molica**, **André Ladeira**, **Renato Ferraz**, **José Carlos Oliveira**, **William Chaves**, **Marcio Kanashiro**, **Daniel Campelo** que tornaram a realização desse trabalho possível.

Aos funcionários da piscicultura **João Antônio de Oliveira** e **José Francisco Delfino**, da zootecnia **Faustino Pereira Monteiro**, da morfo-fisiologia **Donizete Aparecido da Silva** e **José Geraldo Alves**, do laboratório de biologia estrutural **Matheus Rangel** por toda ajuda quando precisei.

Aos amigos que fiz em Viçosa **Ademaria Novais, Rayana Motta, Graziela Domingues** pelos bons momentos e apoio nos momentos difíceis.

Enfim, meus sinceros agradecimentos a todos...

BIOGRAFIA

Pollyanna de Moraes França Ferreira nasceu em 19 de junho de 1986 em Recife – PE, Brasil. Filha de Noberto Luis Martins Ferreira e Ana Márcia de Moraes França Filha.

Em agosto 2009 graduou em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Em 1 de março de 2010 ingressou no Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, nível mestrado da Universidade Federal de Viçosa. Defendendo a dissertação em 16 fevereiro de 2012 com o título “Óleo essencial de orégano como promotor de crescimento para lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax aff. bimaculatus*)”

Em dezembro de 2011 foi aprovada no processo seletivo do Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Estrutural, nível doutorado da Universidade Federal de Viçosa, para ingresso em fevereiro de 2012.

Em 17 de fevereiro de 2016 defendeu sua tese de doutorado intitulada: *Cúrcuma (Curcuma longa)* na dieta de *Astyanax aff. bimaculatus*: segurança e eficácia na produção e no estresse por transporte.

SUMÁRIO

| | Página |
|---|--------|
| LISTA DE TABELAS | viii |
| LISTA DE FIGURAS | x |
| RESUMO | xi |
| ABSTRACT | xiii |
| | |
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| REFERÊNCIAS | 7 |
| | |
| CAPÍTULO 1- <i>Curcuma longa</i> as a morphophysiologic modulator of the liver and intestines in <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> (Teleostei, Characidae) | 20 |
| Abstract | 22 |
| Introduction | 23 |
| Material and Methods | 24 |
| Results | 29 |
| Discussion | 30 |
| References | 34 |
| | |
| CAPÍTULO 2 – Altas doses de cúrcuma podem ser tóxicas para peixes? | 49 |
| Resumo | 50 |
| Introdução | 51 |
| Material e Métodos | 52 |
| Resultados | 57 |
| Discussão | 61 |
| Referências | 63 |
| | |
| CAPÍTULO 3 - <i>Curcuma longa</i> em dietas para <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> como preparativo para o transporte | 73 |
| Resumo | 74 |
| Introdução | 75 |
| Material e Métodos | 76 |
| Resultado | 80 |
| Discussão | 83 |
| Conclusão | 84 |
| Referências | 84 |
| | |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 90 |

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|---|--------|
| CAPÍTULO 1 | |
| Table 1. Formulation of the experimental diets | 44 |
| Table 2. <i>Curcuma longa</i> in the intestinal morphology of <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> . | 45 |
| Table 3. <i>Curcuma longa</i> on liver morphometry of <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> . | 46 |
| Table 4. Energy metabolism of <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> fed with <i>Curcuma longa</i> . | 46 |
| Table 5. Carcass composition of <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> fed with <i>Curcuma longa</i> . | 47 |
| Table 6. Antioxidant activity in the liver of <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> fed with <i>Curcuma longa</i> . | 47 |
| Table 7. Productive performance of <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> fed with <i>Curcuma longa</i> . | 48 |
| CAPÍTULO 2 | |
| Tabela I. Formulação das dietas experimentais | 53 |
| Tabela II: Fator de importância patológica e grau da severidade das lesões. | 55 |
| Tabela III: Sistema de classificação dos índices de órgãos calculados através do <i>histological health index</i> (HHI) (Zimmerli et al., 2007, modificado por Van Dyk et al., 2009) | 55 |
| Tabela IV: Frequência das histopatologias (FQ%) encontradas em <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> , alimentados com dietas contendo cúrcuma | 58 |
| Tabela V: Índice de brânquias (IBRA) e HHI das patologias encontradas em <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> , alimentados com dietas contendo cúrcuma | 59 |
| Tabela VI: Atividade antioxidante nas brânquias de <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> alimentados com dietas contendo cúrcuma | 61 |
| CAPÍTULO 3 | |
| Tabela 1. Formulação das dietas experimentais | 77 |

| | |
|--|----|
| Tabela 2: Respostas de estresse de <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> alimentados com dietas contendo cúrcuma, após transporte | 81 |
| Tabela 3: Atividade antioxidante nas brânquias de <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> alimentados com dietas contendo cúrcuma, após transporte | 81 |
| Tabela 4: Atividade antioxidante no fígado de <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> alimentados com dietas contendo cúrcuma, após transporte | 82 |
| Tabela 5: Qualidade da água de transporte de <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> | 83 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|--|--------|
| Fig. 1. Rizoma de <i>Curcuma longa</i> | 5 |
| CAPÍTULO 1 | |
| Fig. 1. Structural organization of the intestine of <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> . | 42 |
| Fig. 2. Structural organization of liver of the <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> . | 43 |
| CAPÍTULO 2 | |
| Fig. 1. Organização estrutural dos filamentos branquiais de <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> | 60 |
| CAPÍTULO 3 | |
| Fig. 1. Efeito da cúrcuma sobre a taxa de sobrevivência de <i>Astyanax aff. bimaculatus</i> após transporte | 80 |

RESUMO

FERREIRA, Pollyanna de Moraes França, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Cúrcuma (*Curcuma longa*) na dieta de *Astyanax aff. bimaculatus*: segurança e eficácia na produção e no estresse por transporte.** Orientadora: Juliana Silva Rocha. Coorientadores: Jener Alexandre Sampaio Zuanon e Ana Lúcia Salaro.

Durante a criação de peixes, diversas práticas culturais podem causar estresse aos animais, como por exemplo, manipulação associada à captura e triagem, densidade de estocagem inadequada, transporte, interações biológicas, qualidade da água e manejo de alimentação. Dentre as alternativas para minimizar os efeitos do estresse em peixes cultivados, o uso de plantas medicinais como aditivos em dietas destaca-se em função destas apresentarem menos efeitos colaterais, menor toxicidade e melhor biodegradabilidade, quando comparados aos antibióticos, o que as tornam potencialmente seguras em termos da saúde animal e para o meio ambiente. Durante a última década, a atenção tem sido cada vez mais focada no uso de plantas medicinais para promover uma aquicultura sustentável, uma vez que esses produtos podem ser utilizados para diversos fins como: anestésicos, promotores de crescimento, imunoestimulantes, na profilaxia e tratamento de doenças e como redutores de estresse. Além de avaliar a eficácia dos extratos vegetais no crescimento e no aumento da resistência ao estresse, é necessário avaliar também a segurança do seu uso, uma vez que as plantas podem apresentar toxicidade tanto para o homem quanto para os animais. Dentre as plantas com potencial para serem usadas como aditivos em dietas, a *Curcuma longa* destaca-se devido a sua grande diversidade de propriedades biológicas como: anti-inflamatória, imunoestimulante, antioxidante, antimicrobiana e anticarcinogênica. Além disso, a cúrcuma apresenta efeitos benéficos na secreção de enzimas digestivas, na desintoxicação do organismo, sobre o desenvolvimento do epitélio intestinal, sobre o metabolismo dos lipídios, sobre a secreção de insulina, sendo hipoglicemiante. Dessa forma, objetivamos avaliar a segurança e eficácia da *Curcuma longa* na dieta de *Astyanax aff. bimaculatus*, na produção e no estresse por transporte. Juvenis de *Astyanax aff. bimaculatus* ($0,83 \pm 0,04\text{g}$) foram mantidos em 24 aquários (80L de água), na densidade de 0,5 peixes.L⁻¹, durante 90 dias. Foram avaliadas seis dietas suplementadas com 0,0; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0 g de cúrcuma.kg⁻¹. Ao final desse período, para a realização do transporte foram utilizados 24 sacos plásticos com 15 peixes cada, contendo 1,5 litros de água, preenchidos com

oxigênio. Os peixes foram mantidos nos sacos plásticos durante 24 horas, no portamalas de um automóvel que alternou períodos em movimento e parado. Os demais peixes foram eutanasiados por excesso de anestésico (400mg de óleo de cravo.L⁻¹ de água) para a coleta das amostras biológicas. Antes do transporte, foi observado efeito linear crescente da cúrcuma na espessura da túnica muscular, e na altura e largura das pregas dos intestinos. No fígado, houve efeito quadrático da cúrcuma sobre a porcentagem de citoplasma dos hepatócitos, sendo o valor estimado para maximizar essa variável de 86,88 g de cúrcuma.kg⁻¹ e efeito linear decrescente sobre o percentual de capilares sinusoides. Foi observado efeito quadrático da cúrcuma sobre os níveis de glicogênio hepático, sendo o valor que maximiza essa variável de 45,00 g de cúrcuma.kg⁻¹. Nas análises histopatológicas, foi observado efeito quadrático da cúrcuma para o índice de brônquias (IBRA), sendo o valor estimado que minimiza esse índice igual a 30,23 g de cúrcuma.kg⁻¹. Após o transporte, pelo modelo descontínuo LRP (*Linear Response Plateau*), que melhor se ajustou aos dados (P<0,01), a menor concentração estimada de cúrcuma que maximiza a taxa de sobrevivência foi igual a 16,67 g.kg⁻¹. Houve efeito quadrático da cúrcuma sobre o lactato sanguíneo, sendo o valor estimado para minimizar essa variável igual a 64,7 g de cúrcuma.kg⁻¹. Foi observado efeito quadrático da cúrcuma sobre a atividade da enzima superóxido dismutase e para a concentração do malondialdeído nas brônquias dos peixes, sendo os valores que minimizam essas variáveis de 42,50 e 83,33 g de cúrcuma.kg⁻¹, respectivamente. Dessa forma, concluímos que a *Curcuma longa* na alimentação de peixes é segura em doses até 30,23 g.kg⁻¹ de dieta, e que a mesma tem efeito trófico no epitélio e túnica muscular do intestino. Doses baixas de cúrcuma causam aumento da deposição de glicogênio hepático, no entanto, doses elevadas causam diminuição dessa variável. Além disso, após o transporte, a cúrcuma minimiza as respostas de estresse e melhora o estado antioxidante.

ABSTRACT

FERREIRA, Pollyanna de Moraes França, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Turmeric (*Curcuma longa*) in diet of *Astyanax aff bimaculatus*: safety and efficacy in the production and transport stress.** Adviser: Juliana Silva Rocha. Co-Advisers: Jener Alexandre Sampaio Zuanon and Ana Lúcia Salaro.

In fish farming, diverse cultural practices can cause stress to animals, such as handling associated with the capture and sorting, the use of inadequate stocking density, transport, biological interactions, water quality and feeding management. Among the alternatives to minimize the effects of stress in farmed fish, the use of medicinal plants as feed additives stands out in function of these have fewer side effects, less toxicity and better biodegradability compared to antibiotics, which make them potentially safe in terms of animal health and for the environment. During the last decade, attention has been increasingly focussed on the use of medicinal plants to promote a sustainable aquaculture, since such products can be used for various purposes such as anesthetics, growth promoters, immunostimulants, for the prophylaxis and treatment of diseases and stress reducers. In addition to evaluating the effectiveness of plant extracts on growth and increased resistance to stress is also necessary to evaluate the safety of their use, since plants may exhibit toxicity both for humans and for animals. Among the plants with potential for use as additives in animal feed, the *Curcuma longa* stands out due to its wide range of biological properties such as anti-inflammatory, immunostimulant, antioxidant, antimicrobial and anticarcinogenic. In addition, the turmeric has beneficial effects on the secretion of digestive enzymes, body detoxification, the development of intestinal epithelium, lipid metabolism, insulin secretion and hypoglycemic. Thus, we aimed to assess the efficacy and safety of the use of *Curcuma longa* in diets for *Astyanax aff bimaculatus* before and after stress by transport. Juvenile *Astyanax aff. bimaculatus* ($0.83 \pm 0.04\text{g}$) were kept in aquariums 24 (80L water), at a density of 0.5 fish.L^{-1} for 90 days. Six diets were evaluated supplemented with 0.0; 20.0; 40.0; 60.0; 80.0 and 100.0 g kg^{-1} of turmeric. After this period, for the realization of transport were used 24 plastic bags with 15 fish each, containing 1.5 liters of water, filled with oxygen. Fish were kept in the plastic bags in the trunk of a car for 24 hours, with alternating periods of movement and non-movement. Other fish were euthanized by an excess of anesthetic (400 mg L^{-1} clove oil in water) for collection of biological samples. Before transport, there was an

increasing linear effect of turmeric on the thickness of the muscular layer, and height and width of the folds of the intestines. In the liver, a quadratic effect was observed of turmeric on the percentage of hepatocyte cytoplasm, and the estimated value to maximize this variable was equal to 86.88 g turmeric.kg⁻¹ and a decreasing linear effect on the percentage of sinusoid capillaries. A quadratic effect of turmeric treatment was also observed of turmeric on the liver glycogen and the value that maximize this variable was equal to 45.00 g turmeric.kg⁻¹. In the histopathological analysis, it was observed a quadratic effect of turmeric to the gills Index (IGILLS), and the estimated value that minimize this index was equal to 30.23 g turmeric.kg⁻¹. After transport, according to the discontinuous model LRP (Linear Response Plateau), which best fit to the data (P <0.01), the estimated lowest concentration of turmeric that maximize the survival rate was 16.67 g.kg⁻¹. A quadratic effects of turmeric to blood lactate was observed, and the estimated value to minimize this variable was equal to 64.7 g turmeric.kg⁻¹. It was observed quadratic effect of turmeric on the enzyme superoxide dismutase activity and the concentration of malondialdehyde in the fish gills, and the values that minimize these variables were of 42.50 and 83.33 g turmeric.kg⁻¹, respectively. Thus, we conclude that *Curcuma longa* in fish feeding is safe at doses up to 30.23 g.kg⁻¹ diet and that it has a trophic effect on epithelial and muscular layers of the intestines. Low doses of turmeric cause increased deposition of liver glycogen, however, high doses lead to a decrease in this variable. In addition, after transport, the turmeric minimizes the stress responses and improves antioxidant status.

INTRODUÇÃO GERAL

O uso de plantas medicinais no tratamento e prevenção de doenças é muito antigo ao longo da história da humanidade (Radomski 2003; Almassy Junior 2004). Esse conhecimento popular tem motivado a realização de pesquisas para avaliar a eficácia das propriedades biológicas das plantas medicinais e seus extratos tanto para humanos como para animais de estimação e de produção.

Durante a última década, a atenção tem sido cada vez mais focada no uso de plantas medicinais para promover uma aquicultura sustentável, uma vez que esses produtos podem ser utilizados para diversos fins como: anestésicos (Inoue et al. 2003; Vidal et al. 2007; Ribas et al. 2007), promotores de crescimento (Shalaby et al., 2006; Nya & Austin 2009a,b; Abdel-Tawwab et al. 2010; Ahmadifar et al. 2011; Ferreira et al. 2014), imunostimulantes (Rao et al. 2006; Sahu et al. 2007; Sahu et al. 2008; Talpur 2014), na profilaxia e tratamento de doenças (Malheiros 2014; Boijink et al. 2015) e como redutores de estresse (Aly & Mohamed 2010; Zeppenfeld et al. 2014).

Durante a criação de peixes, diversas práticas podem causar estresse aos animais, como por exemplo, manipulação associada a captura e triagem, densidade de estocagem inadequada, transporte, interações biológicas, qualidade da água e manejo de alimentação (Urbinati et al. 2004; Lima et al. 2006; Oba et al. 2009).

Dentre as principais práticas causadoras das respostas de estresse agudo, a captura, o transporte e as mudanças na qualidade de água associadas ao transporte merecem destaque por serem utilizadas em diversas etapas da criação de peixes. Durante o transporte, seja pela utilização de sacos plásticos com água e oxigênio (Snow et al. 1978; Vollmann-Schipper 1978) ou pela utilização de caminhões adaptados (*transfish*), ocorre o acúmulo de metabólitos como a amônia, alterações do pH, aumento da concentração de CO₂, e ainda, depleção dos níveis de oxigênio

dissolvido na água (Amend et al. 1982). Essas alterações na qualidade da água representam fatores estressantes para os peixes, podendo causar a mortalidade dos peixes e perdas financeiras aos produtores.

O estresse é um estado fisiológico no qual a homeostase é ameaçada mediante uma mudança ambiental (Squires 2010). As respostas fisiológicas aos fatores estressores permitem que o animal possa lidar com a ameaça ambiental, especialmente durante o estresse agudo. Porém, quando o fator estressor persiste (estresse crônico), as respostas fisiológicas perdem o valor adaptativo e causam mais prejuízos ao bem estar e à homeostase animal (Lima et al. 2006).

As respostas dos peixes ao estresse compreendem uma série de alterações fisiológicas e seus efeitos são divididos em primários, secundários e terciários. Entre os efeitos primários observa-se o aumento dos níveis dos hormônios adrenalina, noradrenalina e cortisol no plasma. Os efeitos secundários são decorrentes da ação desses hormônios e são caracterizados por aumento na glicemia, no ácido láctico plasmático, redução no glicogênio hepático e muscular, alterações no hematócrito, proteínas plasmáticas e no número de linfócitos, além dos efeitos hidrominerais, como alterações na concentração plasmática de cloro, sódio e potássio. Os principais efeitos terciários, decorrentes da exposição crônica a agentes estressores são redução no desempenho produtivo e reprodutivo e a diminuição na capacidade imunológica, com queda na resistência às doenças (Wendelaar Bonga 1997; Lima et al. 2006). Além disso, o estresse ainda pode causar aumento na produção de radicais livres, que levam ao estresse oxidativo (Córdova & Navas 2000; Cruzat et al. 2007; Barbosa et al. 2010) e comprometer a integridade do trato gastrointestinal (Caso et al 2008; Lambert 2008), reduzindo a absorção dos nutrientes e causando um desequilíbrio da microflora intestinal (Suzuki et al. 1983; Jones 1991; Canalli 1992).

Dentre as alternativas para minimizar os efeitos do estresse em peixes cultivados destaca-se o uso de extratos vegetais como aditivos em dietas em função destes apresentarem menos efeitos colaterais, menor toxicidade e melhor biodegradabilidade, o que os tornam potencialmente seguros em termos da saúde animal e para o meio ambiente. Em função dos princípios ativos presentes nos extratos vegetais e suas propriedades biológicas, estes também podem ser utilizados para aumentar a produtividade, tendo em vista que os possíveis mecanismos de ação dos extratos vegetais no organismo dos animais são: 1) controle de patógenos pela atividade antimicrobiana (Juven et al. 1994); 2) controle do processo de oxidação por meio da atividade antioxidante (Pulla Reddy & Lokesh 1992; Ramsewak et al. 2000; Balogun et al. 2003; Braga et al. 2003; Priyadarsini et al. 2003; Gülçin 2008; Ramadan et al. 2011); 3) modulação da atividade do sistema imune (Ndong & Fall 2011); 4) melhora na digestão por meio da estimulação da secreção de enzimas digestivas (Mitsch et al. 2004; Rojtinnakorn et al. 2012) e 5) melhora na capacidade de absorção dos nutrientes devido a efeitos benéficos sobre a altura das vilosidades e profundidade das criptas do epitélio intestinal (Bona et al. 2012).

Além de avaliar a eficácia dos extratos vegetais no crescimento e no aumento da resistência ao estresse, é necessário avaliar também a segurança do seu uso, uma vez que as plantas produzem uma grande variedade de metabólitos com diversas propriedades biológicas. Apesar das plantas possuírem muitos usos terapêuticos, elas podem apresentar toxicidade tanto para o homem quanto para os animais (Martínez et al. 2011; Rodrigues et al. 2010), sendo que essa toxicidade pode ser espécie-específica, dose-dependente e tempo-dependente. De acordo com dados do Sistema Nacional de Informações Toxicológicas (SINITOX), no ano de 2012 no Brasil, foram registrados

113 casos de intoxicação animal por uso de plantas, o que representa 9,42% dos casos de intoxicação animal (SINITOX, 2012).

Dentre os extratos vegetais com potencial para ser utilizado como aditivo em dietas, a *Curcuma longa* destaca-se por apresentar óleos essenciais como α -felandreno, p -cinemo, terpinoleno, 1,8-cineol, curcumeno α -zingibereno, tumerol, sabineno, borneol, e sesquiterpenos (Chattopadhyay et al. 2004) e pigmentos como curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina (Braga et al. 2003; Singh et al. 2011; Sueth-Santiago et al., 2015), que lhe conferem grande diversidade de propriedades biológicas como: anti-inflamatória (Ramadan et al. 2011; Nonose et al. 2014), imunestimulante (Varalakshmi et al. 2008; Srivastava et al. 2011), antioxidante (Braga et al. 2003; Ramadan et al. 2011), antimicrobiana (Singh et al. 2011; Gaikwad et al. 2014) e anticarcinogênica (Anand et al. 2008; Liu et al. 2013). Além disso, a cúrcuma apresenta efeitos estimulantes da secreção de enzimas digestivas (Pransin 2006), na desintoxicação do organismo (Agarwal et al. 2010), sobre o desenvolvimento do epitélio intestinal (Rajput et al. 2013), sobre o metabolismo dos lipídios (Chattopadhyay et al. 2004; Seo et al. 2008), sobre a secreção de insulina (Wickenberg et al. 2010), sendo hipoglicemiante (Chattopadhyay et al. 2004).

A *Curcuma longa* pertencente à família Zingiberaceae, conhecida como cúrcuma, açafrão, açafrão-da-terra, açafrão da Índia, batatinha amarela, gengibre dourado ou mangarataia. É uma planta herbácea e perene, originária do sudeste da Ásia, sendo cultivada em vários estados do Brasil. Atinge em média 120 a 150 centímetros de altura em condições favoráveis de clima e solo. A parte utilizada da planta é o rizoma, que pode ser arredondado ou com ramificações secundárias laterais, compridas, também tuberizadas, e que quando cortado mostra uma superfície de cor vermelha a alaranjada (Hertwig 1986; Cecílio filho et al. 2000) (Fig. 1). O rizoma de

cúrcuma é constituído de 6,3% de proteínas, 5,1% de lipídeos, 3,5% de minerais, 69,4% de carboidratos e 13,1% de água (Chattopadhyay et al. 2004).



Fig. 1. Rizoma de *Curcuma longa*. Fonte: <http://en.mr-ginseng.com/turmeric/>

Para a utilização da cúrcuma como aditivo em rações para peixes ainda são necessários estudos para avaliar sua eficácia em reduzir respostas de estresse, atuar como imunomodulador e como promotor de crescimento. Dentre esses estudos, ainda incipientes, destacam-se os de Mukherjee et al. (2009), Moreira (2013), Nascimento (2013) e Mahmoud et al. (2014). Além disso, ainda são necessários estudos para avaliar a segurança de seu uso em dietas para peixes. Apesar da maioria dos estudos terem demonstrado que a cúrcuma não é tóxica em dietas para animais e seres humanos (Commandeur & Vermeulen 1996; Cheng et al. 2001; Chauhan 2002; Chainani-Wu 2003; Agarwal et al. 2010; Liju et al. 2013), devido à lixiviação de compostos da dieta na água (Potrich et al. 2011), é possível que os componentes da cúrcuma afetem as brânquias dos peixes, uma vez que estas são órgãos muito sensíveis aos tóxicos presentes na água.

Dentre as diversas espécies de peixes nativos, os lambaris despertam o interesse do mercado, por serem comercializados principalmente como iscas vivas

para a pesca esportiva (Silva et al. 2011), com franca expansão do mercado como petisco e ainda apresentam potencial para serem comercializados enlatados (Dutra et al. 2012).

O lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax aff. bimaculatus* (Teleostei, Characidae) distribui-se desde o Nordeste brasileiro até a bacia do Prata (Vilela & Hayashi 2001). É encontrado em uma grande variedade de ambientes, como rios, lagos e riachos. Atinge de 10 a 15 cm de comprimento e até 60 gramas de peso (Porto-Foresti et al. 2010), porém normalmente é comercializado com 8 a 12 cm na forma de isca viva (Sabbag et al. 2011). A atividade reprodutiva se inicia a partir dos 4 meses de idade, apresenta dimorfismo sexual durante o período reprodutivo, sendo as fêmeas maiores, com o corpo arredondado e os machos menores, com o corpo alongado e nadadeira anal com espículas ásperas (Porto-Foresti et al. 2010).

O lambari-do-rabo-amarelo apresenta características positivas para o cultivo como: hábito alimentar onívoro (Adrian et al. 2001) aceitando bem dietas secas, alta taxa reprodutiva e ciclo de produção curto (Porto-Foresti et al. 2010). Além disso, por tratar-se de uma espécie amplamente distribuída, pode ser cultivada em várias regiões do país, sem o risco de introdução de espécie exótica.

Dessa forma, a realização de estudos sobre os efeitos da cúrcuma como modulador morfofisiológico intestinal, hepático e branquial e minimizador das respostas de estresse em lambaris-do-rabo-amarelo pode contribuir para o conhecimento dos mecanismos de ação desta planta no organismo de peixes estressados e não estressados.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-TAWWAB, M.A.; AHMAD, M.H.; SEDEN, M.E.; SAKR, S.F.M. Use of Green Tea, *Camellia sinensis* L., in Practical Diet for Growth and Protection of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* Infection. *Journal of the World Aquaculture Society*. 41(s2): 203-213, 2010.
- ABELE, D.; VAZQUEZ-MEDINA, J.P.; ZENTENO-SAVIN, T. *Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems*. John Wiley & Son, 548 p. 2012.
- ADRIAN, I.F.; SILVA, H.B.R.; PERETTI, D. Dieta de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Characiformes, Characidae), da área de influência do reservatório de Corumbá, Estado de Goiás, Brasil. *Acta Sci.* 23:435-440, 2001.
- AGARWAL, R.; GOEL, S.K.; BEHARI, JR. Detoxification and antioxidant effects of curcumin in rats experimentally exposed to mercury. *J. Appl. Toxicol.* 30(5):457-68, 2010.
- AHMADIFAR, E.; FALAHATKAR, B.; AKRAMI, R. Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Ichthyology*. 1(4):1-4, 2011.
- ALMASSY JUNIOR, A.A. *Análise das características etnobotânicas e etnofarmacológicas de plantas medicinais na comunidade de Lavras Novas, ouro Preto/MG*. [Doutorado]. Universidade Federal de Viçosa, 132p. 2004.
- ALY, S.M. & MOHAMED, M.F. Echinacea purpurea and Allium sativum as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 94:e31–39, 2010.

- AMEND, N.F.; CROV, T.R.; GOVEN, B.A.; JOHNSON, K.A.; MCCARTHY, D.H.
Transportation of fish in closed systems: methods to control ammonia, carbon dioxide, pH and bacterial growth. *Trans. Am. Fish. Soc.* 111:603–611, 1982.
- ANAND, P.; SUNDARAM, C.; JHURANI, S.; KUNNUMAKKARA, A.B.;
AGGARWA, B.B. Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. *Cancer Lett.* 267:133-164, 2008.
- BALOGUN, E.; HOQUE, M.; GONG, P.; KILLEEN, E.; GREEN, C.; FORESTI, R.; MOTTERLINI, R. Curcumin activates the haem oxygenase-1 gene via regulation of Nrf2 and the antioxidant-responsive element. *Biochem. J.* 371:887-895, 2003.
- BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.D.C.G.; DE PAULA, S.O.;
MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. nutr.* 23(4):629-643, 2010.
- BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T.
Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22:25–34, 1999.
- BJÖRNSSON, B. Effects of stocking density on growth rate of halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared in large circular tanks for three years. *Aquaculture Amsterdam*, 123:259-270, 1994.
- BOIJINK, C.L.; DA CUNHA MIRANDA, W.S.; CHAGAS, E.C.; DAIRIKI, J.K.;
INOUE, L.A.K.A. Anthelmintic activity of eugenol in tambaquis with monogenean gill infection. *Aquaculture*, 438:138-140, 2015.
- BONA, T.D.M.M.; PICKLER, L.; MIGLINO, L.B.; KURITZA, L.N.;
VASCONCELOS, S.P.; SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim,

canela e extrato de pimenta no controle de Salmonella, Eimeria e Clostridium em frangos de corte. *Pesq. Vet. Bras.* 32(5):411-418, 2012.

BRAGA, M.E.M.; LEAL, P.F.; CARVALHO, J.O.E.; MEIRELES, M.A.A.

Comparison of Yield, Composition, and Antioxidant Activity of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts Obtained Using Various Techniques. *J. Agric. Food Chem.*, 51:6604-6611, 2003.

CANALLI, L.S. *Alteração da microbiota intestinal de frangos de corte pela utilização de probiótico na alimentação*. [Doutorado]. Universidade Federal do Paraná, 56p. 1992.

CASO, J.R.; LEZA, J.C.; MENCHEN, L. The Effects of Physical and Psychological Stress on the Gastrointestinal Tract: Lessons from Animal Models. *Current Molecular Medicine*, 8(4):299-312, 2008.

CECÍLIO FILHO, A.B.; DE SOUZA, R.J.; BRAZ, L.T.; TAVARES, M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. *Ciência Rural*, 30(1), 2000.

CHAINANI-WU, N. Safety and Anti-Inflammatory Activity of Curcumin: A Component of Tumeric (*Curcuma longa*). *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9(1):161-168, 2003.

CHATTOPADHYAY, I.; BISWAS, K.; BANDYOPADHYAY, U.; BANERJEE, R.K. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr. Sci.*, 87(1):44-53, 2004.

CHAUHAN, D.P. Chemotherapeutic Potential of Curcumin for Colorectal Cancer. *Curr. Pharm. Des.*, 8(19):1695-706, 2002.

CHENG, A. L.; HSU, C.H.; LIN, J.K.; HSU, M.M.; HO, Y.F.; SHEN, T.S.; KO, J.Y.; LIN, J.T.; LIN, B.R.; MING-SHIANG, W.; YU, H.S.; JEE, S.H.; CHEN,

- G.S.; CHEN, T.M.; CHEN, C.A.; LAI, M.K.; PU, Y.S.; PAN, M.H.; WANG, Y.J.; TSAI, C.C.; HSIEH, C.Y. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res.*, 21(4B):2895-900, 2001.
- COMMANDEUR, J.N. & VERMEULEN, N.P. Cytotoxicity and cytoprotective activities of natural compounds. The case of Curcumin. *Xenobiotica*, 26:667-680, 1996.
- CÓRDOVA, A. & NAVAS, F.J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 6(5): 204-208, 2000.
- CRUZAT, V.F.; ROGERO, M.M.; BORGES, M.C.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 13(5), 336-342, 2007.
- DUTRA, F.M.; MACHADO, W.J.; CAETANO, M.S.; GOBBO, D.A. Avaliação sensorial do processamento em conserva, utilizando-se as espécies: tilápia (*Oreochromis niloticus*), lambari (*Astianax spp*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Rev. Bras. Prod. Agroind.*, 14(3):239-244, 2012.
- FERREIRA, P.M.F.; NASCIMENTO, L.S.; DIAS, D.C.; MOREIRA, D.M.V.; SALARO, A.L.; FREITAS, M.B.D.; CARNEIRO, A.P.S.; ZUANON, J.A.S. Essential Oregano Oil as a Growth Promoter for the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society* 45, (1), 2014.
- GAIKWAD, A.; BODHANKAR, M.; ITTADWAR, A.; WAIKAR, S. Antibacterial activity of isoflavone extracted from *Curcuma longa* linn. Zingiberaceae. *ISOI J. Microbiol. Biotech. Food Sci.*, 1(1):06-09, 2014.

- GÜLÇİN, T.A.I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem. Biol. Interact.*, 174:27-37, 2008.
- HASAN, M.M.; FARUK, M.A.R.; ANKA, I.Z.; AZAD, M.A.K. Investigation on fish health and diseases in rural pond aquaculture in three districts of Bangladesh. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 11, 377-384, 2014.
- HERTWIG, I.F. *Plantas aromáticas e medicinais*. São Paulo: Icone, Curcuma: p. 254-65. 1986.
- INOUE, L.A.K.A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Benzocaína sobre respostas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte em sacos plásticos. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 11(3), 2010.
- JONES, F.T. Use of Direct-Fed Microbials not New; Way They Work Still not Clear. *Feedstuffs*. Janeiro, pp. 17-19. 1991.
- JUVEN, B.J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of the thyme essential oil and its active constituents. *J. App. Bact.*, 76:626–631, 1994.
- LAMBERT, G.P. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *Journal of Animal Science*, 87(14_suppl):e101-E108, 2008.
- LIJU, V.B.; JEENA, K.; KUTTAN, R. Acute and subchronic toxicity as well as mutagenic evaluation of essential oil from turmeric (*Curcuma longa* L). *Food and Chemical Toxicology*, 53:52-61, 2013.
- LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R.C.; MELO, D.C. Estresse em peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal.*, 30(3):113-117, 2006.

- LIU, T.Y.; TAN, Z.J.; JIANG, L.; GU, J.F.; WU, X.S.; CAO, Y.; LI, M.L.; WU, K.J.; LIU, Y.B. Curcumin induces apoptosis in gallbladder carcinoma cell line GBC-SD cells. *Cancer Cell Int*, 13(1):64, 2013.
- MAHMOUD, M.M.A.; EL-LAMIE, M.M.M.; DESSOUKI, A.A.; YUSUF, M.S. Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Supplementation on Growth Performance, Feed Utilization, and Resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Pseudomonas fluorescens* Challenge. *Glob. Res. J. Fish. Sci. Aquacul.*, 1(12):026-03, 2014.
- MALHEIROS, D.F. *Óleo essencial de mentha piperita (lamiaceae) no controle de monogenoideas das brânquias de arapaima gigas (arapaimidae)*. [Mestrado]. Universidade Federal do Amapá, 57p. 2014.
- MARTÍNEZ, M.M.; MARTÍNEZ, M.M.; OCAMPO, D.M.; GALVIS, J.H.; VALENCIA, A. Actividad antibacteriana y citotoxicidad in vivo de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(4):313-323, 2011.
- MITSCH, P.; ZITTERL-EGLESEER, K.; KOHLER, B.; GABLER, C.; LOSA, R.; ZIMPERNIK, I. The Effect of Two different Blends of Essential Oil Components on the Proliferation of *Clostridium perfringens* in the Intestines of Broiler Chickens. *Poultry Science*. 83:669–675, 2004.
- MOREIRA, D.M.V. *Cúrcuma (Curcuma longa) como pigmentante, promotor de crescimento e da saúde de acará bandeira (Pterophyllum scalare)*. [Mestrado]. Universidade Federal de Viçosa. 49p. 2013.
- MUKHERJEE, A.; MANDAL, B.; BANERJEE, S. Turmeric as a Carotenoid Source on Pigmentation and Growth of fantail guppy, *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the Zoological Society of London*. 62(2):119–123, 2009.

- NASCIMENTO, L.S. *Cúrcuma (Curcuma longa) em dietas para juvenis de Trichogaster labiosa*. [Mestrado]. Universidade Federal de Viçosa. 59p. 2013.
- NDONG, D. & FALL, J. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*). *Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research*. 3(1):1-9, 2011.
- NONOSE, N.; PEREIRA, J.A.; MACHADO, P.R.M.; RODRIGUES, P.R.; SATO, D.T.; MARTINEZ, C.A.R. Oral administration of curcumin (*Curcuma longa*) can attenuate the neutrophil inflammatory response in zymosan-induced arthritis in rats. *Acta Cir. Bras.*, 29(11):727-734, 2014.
- NYA, E.J. & AUSTIN, B. Use of garlic, *Allium sativum* to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.*, 617(32):963–970, 2009a.
- NYA, E.J. & AUSTIN, B., Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.*, 32:971–977, 2009b.
- OBA, E.T.; MARIANO, W.S.; SANTOS, L.R.B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo sustentável. In: TAVARES-DIAS, M. *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Embrapa Amapá, Macapá. 2009.
- OLIVEIRA, L.S.T.; CUNHA E SILVA, S.L.; TAVARES, D.C.; SANTOS, A.V.S.; OLIVEIRA, G.C.B. Uso de plantas medicinais no tratamento de animais. *Enciclopédia Biosfera*, 5(8), 2009.
- PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F. Hibridação em piscicultura: monitoramento e perspectivas. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Org.). *Espécies nativas para*

- piscicultura no Brasil*. 2 ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, 1:589-601, 2010.
- POTRICH, F.R.; SIGNOR, A.A.; DIETERICH, T.G.; NEU, D.H.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R. Estabilidade e lixiviação de nutrientes com rações de diferentes níveis protéicos. *Revista Cultivando o Saber*, 4:77-87, 2011.
- PRANSIN, M. *Using Turmeric (Curcuma longa) in Goldfish (Carassius auratus) Feed*. [Master of Science]. Kasetsart university. 86p. 2006.
- PRIYADARSINI, K.I.; MAITY, D.K.; NAIK, G.H.; KUMAR, M.S.; UNNIKRISHNAN, M.K.; SATAV, J.G.; MOHAN, H. Role of phenolic o-h and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic. Biol. Med.*, 35(5):475-484, 2003.
- PULLA REDDY A.C. & LOKESH B.R. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Molecular and Cellular Biochemistry* 111(1/2):117-124, 1992.
- RADOMSKI, M.I. *Plantas medicinais-tradição e ciência*. IN: I SEMANA DO ESTUDANTE UNIVERSITÁRIO. FLORESTA E MEIO AMBIENTE, Embrapa, Colombo. 2003.
- RAJPUT, N.; NAEEM, M.; RUI, Y.; ZHONG, X.; WANG, T. Effect of dietary supplementation of curcumin on growth performance, intestinal morphology and nutrients utilization of broiler chicks. *Jpn. Poult. Sci.*, 50:44-52, 2013.
- RAMADAN, G.; AL-KAHTANI, M.A.; EL-SAYED, W.M. Anti-inflammatory and Anti-oxidant Properties of *Curcuma longa* (Turmeric) Versus *Zingiber officinale* (Ginger) Rhizomes in Rat Adjuvant-Induced Arthritis. *Inflammation.*, 34(4):291-301, 2011.

- RAMSEWAK, R.S.; DEWITT, D.L.; NAIR, M.G. Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytom. Medicine.*, 7(4):303-308, 2000.
- RAO, Y.V.; DAS, B.K.; JYOTYRMAYEE, P.; CHAKRABARTI, R. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(3):263-73, 2006.
- RIBAS, L.; FLOS, R.; REIG, L.; MACKENZIE, S.; BARTON, B.A.; TORT, L. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. *Aquaculture*, 269(1):250-258, 2007.
- RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J.M.; PIRES, J.M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte 1. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(6):981-991, 2010.
- ROJTINNAKORN, J.; RITTIPLANG, S.; TONGSIRI, S.; CHAIBU, P. *Turmeric extract inducing growth biomarker in Sand goby (Oxyeleotris marmoratus)*. 2nd International Conference on Chemical, Biological and Environment Sciences (ICCEBS'2012) 1, 2012.
- SABBAG, O.J.; TAKAHASHI, L.S.; SILVEIRA, A.N.; ARANHA, A.S. Custos e viabilidade econômica da produção de lambari-do-rabo-amarelo em Monte Castelo/SP: um estudo de caso. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37(3):307-315, 2011.
- SAHU, B.S.; DAS, B.K.; MISHRA, B.K.; PRADHAN, J.; SARANGI, N. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology*. 23:80–86, 2007.

- SAHU, S.; DAS, B.K.; MISHRA, B.K.; PRADHAN, J.; SAMAL, S.K.; SARANGI, N. Effect of dietary *Curcuma longa* on enzymatic and immunological profiles of rohu, *Labeo rohita* (Ham.), infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture research*, 39:1720-1730, 2008.
- SEGNER, H.; SUNDH, H.; BUCHMANN, K.; DOUXFILS, J.; SUNDELL, K.S.; MATHIEU, C.; RUANE, N.; JUTFELT, F.; TOFTEN, H.; VAUGHAN, L. Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish physiology and biochemistry*, 38:85-105, 2012.
- SEO, K.; CHOI, M.; JUNG, U.J.; KIM, H.; YEO, J.; JEON, S.; LEE, M. Effect of curcumin supplementation on blood glucose, plasma insulin, and glucose homeostasis related enzyme activities in diabetic db/db mice. *Mol. Nutr. Food Res.* 52:995-1004, 2008.
- SHALABY, A.M.; KHATTAB, Y.A.; ABDEL RAHMAN A.M. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 12(2):172-201, 2006.
- SILVA, N.J.R.; LOPES, M.C.; FERNANDES, J.B.K.; HENRIQUES, M.B. Caracterização dos sistemas de criação e da cadeia produtiva do lambari no estado de São Paulo, Brasil. *Informações Econômicas*, 41(9):17-28, 2011.
- SINGH, S.; SANKAR, B.; RAJESH, S.; SAHOO, K.; SUBUDHI, E.; NAYAK, S. Chemical Composition of Turmeric Oil (*Curcuma longa* L. cv. Roma) and its Antimicrobial Activity against Eye Infecting Pathogens. *J. Essent. Oil Res.* 23(6):11-18, 2011.

- SINITOX, *Casos Registrados de Intoxicação Humana, de Intoxicação Animal e de Solicitação de Informação por Agente Tóxico. Brasil, 2012*. Disponível em: <<http://sinitox.icict.fiocruz.br/dados-nacionais>>. Acesso em: 26 jan. 2016.
- SNOW, J.R.; BREWER, D.; WRIGHT, C.F. Plastic bags for shipping sac fry of largemouth bass. *Progressive Fish-Culturist*, 40(1):13-16, 1978.
- SOUZA-FILHO, J.J. & CERQUEIRA, V.R. Influência da densidade de estocagem no cultivo de juvenis de robalo-flecha mantidos em laboratório. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 38:1317-1322, 2003.
- SQUIRES, E.J. *Applied animal endocrinology*. CABI, 252p. 2010.
- SRIVASTAVA, R.M.; SINGH, S.; DUBEY, S.K.; MISRA, K.; KHAR, A. Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. *Int. Immunopharmacology*, 11:331-341, 2011.
- SUETH-SANTIAGO, V.; MENDES-SILVA, G.P.; DECOTÉ-RICARDO, D.; LIMA, M.E.F. Curcumina, o pó dourado do açafrão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. *Química Nova*, 38(4):538-552, 2015.
- SUZUKI, K.; HARASAWA, R.; YOSHITAKE, Y.; MITSUOKA, T. Effects of Crowding and Heat Stress on Intestinal Flora, Body Weight Gain, and Feed Efficiency of Growing Rats and Chicks. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 45(3):331-338, 1983.
- TALPUR, A.D. Mentha piperita (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, Lates calcarifer (Bloch) against Vibrio harveyi infection. *Aquaculture*, 420:71-78, 2014.

- URBINATI, E.C.; ABREU, J.S.; CAMARGO, A.C.S.; LANDINEZ, M.A. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. *Aquaculture*, 229:389–400, 2004.
- VARALAKSHMI, C.H.; ALI, A.M.; PARDHASARADHI, B.V.; SRIVASTAVA, R.M.; SINGH, S.; KHAR, A. Immunomodulatory effects of curcumin: In-vivo. *Int. Immunopharmacology*, 8:688–700, 2008.
- VIDAL, L.V.O.; FURUYA, W.M. M.; GRACIANO, T.S.; SCHAMBER, C.R.; DA SILVA, L.C.R.; DOS SANTOS, L.D.; DE SOUZA, S.R. Eugenol como anestésico para juvenis de matrinxã ("*Brycon cephalus*"). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 8(4), 2007.
- VILELA, C. & HAYASHI, C. Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. *Acta Scientiarum*, 23(2):491-496, 2001.
- VOLLMANN-SCHIPPER, F. *Transport de Peces Vivos*. Editora Acribia, Zaragoza, 90p. 1978.
- WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response of fish. *Physiological Reviews*, 77:591-645, 1997.
- WICKENBERG, J.; INGEMANSSON, S.L.; HLEBOWICZ, J. Effects of *Curcuma longa* (turmeric) on postprandial plasma glucose and insulin in healthy subjects. *Nutr. J.*, 9:43p, 2010.
- ZEPPENFELD, C.C.; TONI, C.; BECKER, A.G.; MIRON, D.S.; PARODI, T.V.; HEINZMANN, B.M.; BARCELLOS, L.J.G.; KOAKOSKI, G.; ROSA, J.G.S.; LORO, V.L.; CUNHA, M.A.; BALDISSEROTTO, B. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in

water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *Aquaculture*, 418–419:101–107, 2014.

ZHENG, Z.I.; TAN, J.Y.W.; LIU, H.Y.; ZHOU, X.H.; XIANG, X.; WANG, K.Y.
Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 292:214-218, 2009.

**CAPÍTULO 1 - *Curcuma longa* as a morphophysiologic modulator of the liver
and intestines in *Astyanax aff. bimaculatus* (Teleostei, Characidae)**

Artigo enviado para a revista *Journal of Experimental Biology*

***Curcuma longa* as a morphophysiologic modulator of the liver and intestines in
Astyanax aff. bimaculatus (Teleostei, Characidae)**

Running title: Turmeric in liver and gut of *A. bimaculatus*

Keywords: curcumin, energy metabolism, histology, growth promoter, oxidative stress, plant extracts.

Summary statement:

Turmeric has a trophic effect on the fish intestines. Additionally, low dosages of turmeric cause increased deposition of liver glycogen and of plasma triglycerides; however, high doses cause a decrease.

ABSTRACT

The use of plant extracts in diet has beneficial effects for the metabolism and growth of animals and to the integrity of tissues and organs. Therefore, we aimed to evaluate turmeric (*Curcuma longa*) as an intestinal and liver morphophysiological modulator in *Astyanax aff. bimaculatus*. Fish (0.83 ± 0.04 g) were fed with six diets containing 0.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0 and 100.0 g turmeric per kg feed. There was an increasing linear effect of turmeric on the thickness of the muscular layer, and height and width of the folds of the intestines. In the liver, a quadratic effect was observed of turmeric on the percentage of hepatocyte cytoplasm and a decreasing linear effect on the percentage of sinusoid capillaries. A quadratic effect was also observed of turmeric on the liver glycogen. There was no effect of turmeric on the antioxidant activity in the liver, carcass composition or productive performance of the fish. Thus, we concluded that *Curcuma longa* has a trophic effect on the epithelium and muscular layer of the intestines of *Astyanax aff. bimaculatus*. Additionally, low dosages of *Curcuma longa* induced increased deposition of liver glycogen and higher doses cause a decrease.

INTRODUCTION

Turmeric (*Curcuma longa*) stands out in disease prevention and health promotion in both humans and animals (Cheng et al., 2001; Anand et al., 2008; Huang et al., 2015) because it is rich in essential oils (tumerona, α - tumerona and β - zingiberene) and pigments (curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin) (Braga et al., 2003; Singh et al., 2011.). It offers a wide range of biologic properties, being considered as an anti-inflammatory (Ramadan et al., 2011; Nonose et al., 2014), immune stimulant (Varalakshmi et al., 2008; Srivastava et al., 2011.), antioxidant (Braga et al., 2003; Ramadan et al., 2011) and antimicrobial (Singh et al., 2011; Gaikwad et al., 2014.). In addition, tumeric has stimulating effects on the secretion of digestive enzymes (Pransin, 2006), body detoxification (Agarwal et al., 2010), the development of intestinal epithelium (Rajput et al., 2013), lipid metabolism (Chattopadhyay et al., 2004; Seo et al., 2008), insulin secretion (Wickenberg et al., 2010) and on anti-diabetic agents (Chattopadhyay et al., 2004).

The use of plant extracts in diet has beneficial effects for the metabolism and growth of animals and to the integrity of tissues and organs. Due to the small number of products approved for use in the cultivation of aquatic organisms, it is essential to search for natural products with fewer side effects, less toxicity and better biodegradability than antibiotics, which would make them safer in terms of human health, animal health and the environment.

Knowledge of gastrointestinal histology and the process of digestion and absorption of nutrients is essential for understanding the relationship between physiology and fish nutrition. Such knowledge may contribute to the development of more adequate diets and thus increase productivity and reduce production costs (Castro et al., 2002; Faccioli et al., 2014). In addition, the nutrients of a diet can directly affect the function and morphology of the liver, important in energy metabolism, lipid emulsification and detoxification of the body (Bombardelli et al., 2009).

Among the various fish species with potential for fish farming, those from the genus *Astyanax* are popular in the consumer market and are widely used as live bait for sport fishing. It is also appreciated as a fried snack and has the potential to be marketed as a canned product (Dutra et al., 2012). The yellow tail tetra (*Astyanax aff. bimaculatus*) shows excellent potential for fish farming due to its rapid growth, omnivorous feeding habits (Adrian et al., 2001), good acceptance of processed diets,

high reproductive rate without hormonal induction and short production cycle (Porto-Foresti et al., 2010).

Thus, the present study aimed to evaluate turmeric (*Curcuma longa*) as a morphophysiological modulator of intestinal and hepatic tissues of *A. aff. bimaculatus* and its role in growth and carcass quality of these animals.

MATERIAL AND METHODS

Animals and experimental conditions

The experiment was approved by the Ethics Committee for Animal Use (CEUA) of the Federal University of Viçosa (Protocol 93/2013). It used a completely randomized design with six treatments and four replications. Treatments consisted of six isonitrogenous and isocaloric diets (Table 1) containing 0.00, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0 and 100.0 g.kg⁻¹ turmeric rhizome.

The *Curcuma longa* powder was premixed with the other ingredients of the diet. The mixture was pelletized, dried in a forced air oven (40 °C for 24 h), broken into small pieces, sieved and stored at -20 °C.

Juveniles of *A. aff. bimaculatus* with an average weight of 0.83 ± 0.04 g were kept in aquariums containing 80 L of water, which were fitted with aeration and biological filters, and temperature controlled by heaters and thermostats (27 °C). The stocking density was 40 fish / aquarium (0.5 fish.L⁻¹ water).

The fish were fed to satiation three times daily for 90 days. At the end of the trial period, the fish were euthanized by excess anesthetic (clove oil 400 mg.L⁻¹) to collect the samples.

The water temperature was checked daily at 08:00 am. Biweekly, dissolved oxygen was measured by oximeter, pH using a pH meter, and ammonia and nitrite by colorimetric kits. The toxic ammonia (NH₃) was calculated using the formula: toxic ammonia = total ammonia / (1 + 10 ((0.0902-pH) + (2730 / (273.2 + temperature)))). After verification of the water quality parameters, the aquaria were siphoned to remove the feces.

Intestinal and hepatic histomorphometry

Histologic analyses were performed at the Laboratory of Cell Biology and Structural Department of General Biology of Federal University of Viçosa. Livers and intestines of two fish from each experimental unit (eight fish / treatment) were used. The intestines (anterior portion) and whole livers were fixed in Karnovsky fixative solution (Karnovsky, 1965) for 24 h at room temperature, transferred to 70% ethanol, dehydrated in an ascending series of ethanol and embedded in glycol methacrylate (Historesin®, Leica, Germany). Semi-serial sections of 3 µm thick were made with an interval of 30 µm obtained by a rotary microtome (Leica, Germany), using glass knives. Sections were fixed on glass slides and processed for staining with hematoxylin and eosin. They were visualized under a light microscope for an initial tissue scan for possible morphologic changes and also for morphometric analysis. The intestines were subjected to histochemistry analysis using periodic acid-Schiff (PAS) staining in conjunction with alcian blue (AB), for detection of acidic and neutral mucopolysaccharides, and the livers were submitted to PAS staining for the detection of liver glycogen. Histologic preparations were mounted with Entellan® (Merck, Frankfurt, Germany), photo documented with the Olympus BX53 light microscope (Tokyo, Japan) with the Olympus DP73 camera attached and analyzed by the image analysis software Image-Pro Plus 4.5® (Media Cybernetics, Rockville, MD, USA).

In the morphometric analysis of the intestines, the height and width of the folds and the thickness of the muscular tunic were measured. The height of the fold (HF) was taken from its base to the apex, in five folds for each image (50 measurements per animal). The width of the fold (WF) was taken in the same five folds in two points, one closer to the apex and the other closer to the base (100 measurements per animal). For the thickness of the muscular tunic (TMT), the inner and outer muscle layers together were measured at two points per image (20 measurements per animal). The absorption surface area (ASA) was calculated according to the formula given by Kisieliński et al. (2002) with the following adaptation:

$$ASA = (\text{fold width} \times \text{fold height}) / (\text{fold width} / 2)^2.$$

For the histochemical detection of intestinal glycoconjugates, goblet cells producing neutral mucin that stained PAS-positive (magenta), acidic mucin that stained AB-positive (blue) and mixed mucins that stained PAS / AB-positive (purple) were counted in five images per animal.

The liver morphometric analysis was performed on 10 fields per animal. The proportion of liver components including the cytoplasm and nucleus of hepatocytes and sinusoidal capillaries was determined using a checkered grid of 289 points (2890 points per animal), with numbered points (intersections of lines) on the nuclei and cytoplasm of hepatocytes and on capillary sinusoids. The diameters of 20 nuclei from each image were also measured, totaling 200 nuclei per animal.

Energy metabolism

Glucose, lactate, triglyceride and cholesterol blood levels were measured by test strips in the digital display devices Accutrend® Plus and Accu-Chek ACTIVE® (Roche, Brazil). Blood was collected by cutting the tail fin peduncle with a scalpel from two fish of each experimental unit (eight fish / treatment).

To determine liver and muscle glycogen concentration, liver samples were pooled (from ten fish / aquarium) to obtain a minimum of 100 mg of sample, and muscle samples were collected from two fish per aquarium. The samples were collected in centrifuge tubes containing 30% KOH. The samples were hydrolyzed in a boiling water bath for one hour, with five drops of saturated Na₂SO₄ withdrawal from the bath. The tubes were then centrifuged at 840 g for 10 minutes. The supernatant was discarded, and the liver and muscle glycogen concentrations were measured by the colorimetric method described by Sjörgren et al. (1938), by spectrophotometry at 620 nm.

Carcass chemical composition

To evaluate the chemical composition of the carcass, a sample was collected from 15 fish from each experimental unit (60 fish / treatment). It was considered carcass, the fish gilled and scales. The crude protein, dry matter, crude lipid and total ash were assessed according to the protocol by Detmann et al. (2012).

Antioxidant activity

To analyze the activity of antioxidant enzymes and the concentration of metabolites resulting from the action of reactive oxygen species in fish, liver samples

were pooled (from ten fish / aquarium) to obtain the minimum amount of sample (100 mg). These samples were homogenized in phosphate buffer (pH 7.4) and the suspension centrifuged (3500 g at 4 °C for 10 min).

The total protein concentration of homogenate was measured in an ELISA reader at 700 nm according to Lowry et al. (1951), using bovine serum albumin as a standard, and the results were expressed in mg of protein per g of tissue. The concentration of total protein was used to express the data of the enzymes CAT and SOD, and the malondialdehyde (MDA) concentration in mg of protein (prt).

The activity of catalase (CAT) were determined by the hydrogen peroxide decay rate (10 mmol.L^{-1}) in a spectrophotometer at 240 nm for 60 s (Aebi, 1984). Catalase activity was expressed in units (U) CAT / mg prt.

The activity of superoxide dismutase (SOD) was determined in an ELISA reader at 570 nm according to Dieterich et al., 2000, with modifications, based on the ability of this enzyme to catalyze the reaction of superoxide (O_2^-) into hydrogen peroxide and thus decrease the ratio of self-oxidation of pyrogallol. The activity of SOD was expressed in U SOD / mg prt.

The activity of glutathione-S-transferase (GST) was measured through the formation of glutathione-2,4-dinitrobenzene which was estimated by the change in absorbance at 340 nm for 60 sec, in a spectrophotometer. The formation of the conjugate occurs spontaneously on the substrate 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) in a non-enzymatic reaction and is accelerated by GST enzyme activity. One unit of GST is the amount of enzyme which forms 1 mol of glutathione-2,4-dinitrobenzene conjugate per minute. The molar extinction coefficient $340 = 9.6 \text{ mM CDNB}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ was used for calculation (Habig et al., 1974). The GST activity was expressed as $\mu\text{mol min}^{-1}.\text{g}^{-1}$.

To determine the metabolites resulting from the action of reactive oxygen species (indicative of lipid peroxidation), the concentration of MDA was measured. To the supernatant was added TBARS solution was added (15% trichloroacetic acid, 0.375% thiobarbituric acid and 0.25 N HCl). It was then placed in a water bath for 15 min, cooled, and centrifuged at 10,000 g for 10 min, and the supernatant measured in a spectrophotometer at 535 nm (Buege and Aust, 1978). Calculations were made using the molar extinction coefficient of $1.56 \times 10^{-5} \text{ M.cm}^{-1}$. The concentration of MDA was expressed in nmol / mg prt.

Productive performance

The fish were counted and weighed for calculation of the following variables of productive performance:

Survival rate (SR) = initial number of fish/final number of fish \times 100;

Weight gain (WG) = average final weight - average initial weight;

Feed intake (FI) = (weight of initial feed – weight of finished feed) / number of fish;

Feed conversion ratio (FCR) = FI/WG;

Protein efficiency ratio (PER) = weight gain/protein intake;

Specific growth rate (SGR), using the equation shown below (Ricker, 1979):

$$SRG = \frac{\ln WF(g) - \ln WI(g)}{time(day)} \times 100;$$

WI = initial weight of fish (g);

WF = final weight of fish (g);

Carcass Yield (CY) = (carcass weight (CW)/final weight (FW)) \times 100;

Viscero-somatic index (VSI) = (weight of viscera/body weight) \times 100;

Hepatosomatic index (HSI) = (liver weight / body weight) \times 100;

Male gonadosomatic index (GSI_m) = (testes weight / body weight) \times 100;

Female gonadosomatic index (GSI_f) = (weight of ovaries / body weight) \times 100.

Statistical analysis

The evaluation of the effect of different dietary turmeric levels on the parameters of intestinal and liver morphometry, energy metabolism, chemical composition of the fish carcass, antioxidant activity and yield performance was performed by analysis of variance and polynomial regression at 5% probability. To check the errors of assumption of normality, the Lilliefors test was applied, and when there was no normality, data were transformed. To check the homogeneity of variances of errors among treatments, the Bartlett test was applied, using the SAEG (2007). In order to choose the most appropriate regression model, we considered the significance of the regression coefficients by Student's t-test, the magnitude of the coefficient of determination and the behavior of the variables under study.

RESULTS

Intestinal and hepatic histomorphometry

Histologic analysis of the intestine of *A. aff. bimaculatus* revealed that the intestinal wall was composed of four coats: the mucosa, submucosa, muscularis and serosa. In the inner lining there were folds formed by projections of the mucosa and submucosa layers. The mucosa of this organ contained simple columnar epithelial tissue with brush border and goblet cells. The muscle layer was formed of two layers of smooth muscle: internal (circular) and external (longitudinal) (Fig. 1). Very vascular pancreatic tissue was found near the intestinal tract, indicating that these animals have a diffuse pancreas.

We observed an increasing linear effect of turmeric on intestinal components such as height of the folds (HF), width of the folds (WF) and thickness of the muscular layer (TML). (Fig. 1) There was no effect of turmeric on the absorption surface area (ASA), the total number of goblet cells (GCt), the number of goblet cells secreting mixed mucins (GCmm), the number of goblet cells secreting neutral mucins (GCnm) or the number of goblet cells secreting acidic mucins (GCam) (Table 2).

Histologic analysis of the livers of *A. aff. bimaculatus* revealed hepatocytes with one or two large and rounded nuclei (predominantly located centrally), prominent nucleoli, cytoplasm with granules and vacuolated appearance. Among the hepatocytes, there were sinusoid capillaries containing nucleated red blood cells (Fig. 2). There was also exocrine pancreatic tissue in the liver parenchyma. The exocrine pancreas was formed by serous acinar cells that were rich in zymogen granules in the apical cytoplasm. These cells were typically basophilic staining next to the base, and eosinophilic closer to the apex of the cell. There were no melanomacrophage centers.

No morphologic abnormalities were observed in the fish livers. There was a quadratic effect of turmeric on the percentage of hepatocyte cytoplasm (CT), and the value that maximized these variable was 86.88 g turmeric.kg⁻¹. A decreasing linear effect was observed for sinusoid capillaries (SC). There were no effects of turmeric on the percentage of hepatocyte nuclei (NU) or the diameter of the nuclei (DN) (Table 3, Fig. 2).

Energy metabolism

There was a quadratic effect of turmeric on liver glycogen and blood triglycerides. The values that maximized these variables were 45.00 and 39.60 g turmeric.kg⁻¹, respectively. However, the result of turmeric on triglycerides was disregarded in view of the low value of R². For muscle glycogen, glucose, lactate and blood cholesterol, there was no significant effect of turmeric levels in the diet (Table 4).

Carcass composition

There was no effect of turmeric on dry matter, crude protein, ether extract or ash in the carcass (Table 5).

Antioxidant activity

There were no effects of turmeric on the enzyme activities of SOD, CAT, GST or the concentration of the product of lipid peroxidation (MDA) in the fish livers (Table 6).

Productive performance

There was no effect of turmeric on WG, CW, SGR, SR, FI, FCR, PER, CY, VSI, HSI, GSI_m or GSI_f (Table 7).

DISCUSSION

The increase in the height and width of the intestinal folds of the animals fed turmeric may be related to the well-known antimicrobial activity of turmeric (Araújo and Leon, 2001; Singh et al., 2011; Gaikwad et al., 2014). Turmeric appears to cause a reduction of unwanted bacteria (Allen et al., 1998) as well as clears parasites (Pérez-Arriaga et al., 2006), reducing damage to the intestinal mucosa (Mahmoud et al., 2014) with consequent enhancement in the development of intestinal mucosa. Furthermore, the increase in the height and width of intestinal folds could result in a greater number

of enterocytes and hence greater amounts of enzyme in the brush border and a larger contact area for nutrient absorption, which could increase fish growth. However, in this study, there were no effects of turmeric on the productive performance of the animals. Mahmoud et al. (2014) did not observe improvement in the growth performance of tilapia fed with 2.5 or 5.0 g.kg⁻¹ turmeric for three months. When these animals were exposed to the bacteria *Pseudomonas fluorescens*, the turmeric helped reducing intestinal and liver damage. However, Rajput et al. (2013) observed that broilers fed with 200 mg.kg⁻¹ of curcumin for 42 days showed an increased absorption area of the small intestinal villi, resulting in improved nutrient absorption and body growth.

The mechanisms of action of turmeric related to the increased thickness of the intestinal muscularis are still unclear. However, this effect may be related to its actions as an insulin agonist and a stimulant of insulin secretion (Wickenberg et al., 2010; Ghorbani et al., 2014), since Horváth et al. (2006) found insulin receptors in the muscular wall of the digestive tract in rats, and Charlton et al. (2000) reported that insulin stimulates protein synthesis in the mucous layer of the human intestines. However, there are conflicting results in the literature as Arshami et al. (2013) reported an increase in the thickness of the muscular layer in hens fed with turmeric, while Maneewan et al. (2012) reported a reduction in the thickness of the muscular layer in the duodenum of pigs fed with turmeric.

The lack of effect of turmeric on GCt, GCmm, GCnm and GCam in *A. aff. bimaculatus* observed in this study was consistent with the results observed by Kumar et al. (2012), who found that there was no effect of turmeric on the number of goblet cells per crypt in albino Wistar rats. In addition, the lack of effect of turmeric on the number of goblet cells may be related to the fact that turmeric does not irritate the intestinal mucosa (Labban, 2014), and thus does not stimulate mucus secretion by goblet cells.

In this study we observed that fish livers in all treatments exhibited normal structure without morphologic abnormalities, indicating that turmeric had no toxic effect on liver, as observed by Commandeur and Vermeulen (1996), Chauhan (2002) and Agarwal et al. (2010) in rats. The percent increase in the cytoplasm of hepatocytes in animals fed turmeric may be related to liver glycogen accumulation. Glycogen accumulation may be related to the action of turmeric in stimulating insulin secretion from pancreatic tissues (Wickenberg et al., 2010; Ghorbani et al., 2014), thus favoring

glycogen synthesis. Moreover, as turmeric is rich in flavonoids (isoflavones) (Gaikwad et al., 2014), and these substances have hypoglycemic activity (Cheng et al., 2004), turmeric may have directly stimulated liver glycogen synthesis in *A. aff. bimaculatus*. Bustanji et al. (2009) observed that in albino Wistar rats that received injections of curcumin, there was an increase in liver glycogen due to inhibition of the enzyme glycogen synthase kinase 3 beta (GSK-3B). The reduction of sinusoid capillaries in the liver, observed in this study, confirmed the observation that curcumin has an antiangiogenic effect on tissues and organs such as adipose tissue (Ejaz et al., 2009), the peritoneal lining (Gururaj et al., 2002), the cornea (Arbiser et al., 1998; Mohan et al., 2000) and tumors (Bhandarkar and Arbiser, 2007). This effect of curcumin is due to a decreased expression of genes associated with angiogenesis, such as vascular endothelial growth factor (VEGF) and gelatinase B (MMP-9) (Hahm et al., 2004). The lower capillarization in the fish livers which received higher doses of turmeric (above 45.00 gkg⁻¹) may explain the lower glycogen deposition, since the liver had less blood flow which decreased the amount of substrate for the synthesis of glycogen.

Turmeric has antioxidant action due to the ability of curcumin to scavenge free radicals, inhibit lipid peroxidation and maintain the activity of the antioxidant enzymes SOD and CAT (Pulla Reddy and Lokesh, 1992; Ramsewak et al., 2000; Priyadarsini et al., 2003; Gülçin, 2008; Manju et al., 2012). However, in this study, there was no significant effect of turmeric on lipid peroxidation or on the activity of enzymes evaluated in the fish livers. This may be related to the fact that the animals were not under adverse conditions (stress) which generates free radicals and reactive oxygen species (ROS), such as occurs by routine management of fish farming (Azambuja et al., 2011; Zeppenfeld et al., 2014), environmental pollution by heavy metals (Ahmad et al., 2000; Farombi et al., 2007; Condessa, 2014) and insecticides (Sayeed et al., 2003; Monteiro et al., 2006).

The absence of an effect of turmeric on the productive performance of *A. aff. bimaculatus* is in accordance with the results observed for Nile tilapia (Mahmoud et al., 2014). However, Nascimento (2013) and Moreira (2013) observed a reduction in the productive performance of *Trichogaster labiosa* and *Pterophyllum scalare*, respectively, when they were fed diets with turmeric, and Mukherjee et al. (2009) observed an improvement in growth rate and feed conversion ratio in guppies (*Poecilia reticulata*) fed diets with turmeric.

In conclusion, this study showed that *Curcuma longa* has trophic effects on the epithelium and the muscular layer of the intestines of *A. aff. bimaculatus*. Additionally, low levels of *Curcuma longa* cause increased deposition of liver glycogen and high levels cause a reduction.

Acknowledgment

The authors thank the Guabi Nutrição Animal, Brazil, for its support in performing these experiments successfully. The authors are also very grateful to Mariella Freitas coordinator of the Cell Culture and Ecophysiology Laboratory of Department of Animal Biology - UFV, for providing the laboratory for the oxidative stress and glycogen analysis, and to Edenio Detmann coordinator of the Nutrition Monogastric Laboratory of Department of Animal Husbandry – UFV, for the analysis of chemical composition of carcass and diets.

Competing interests

The authors declare no competing or financial interests.

Author contributions

P.M.F.F. designed the project, conducted experiments, analysed the data, and wrote the manuscript. M.T.S., D.W.C and J.R.G. conducted experiments. J.M.O. performed and analysed the oxidative stress data and edited the manuscript. A.L.S. and J.S.R. edited the manuscript. J.A.S.Z conceived and designed the experimental approach and wrote the manuscript. All authors contributed to data discussion and to revising the original manuscript.

Funding

The research was supported by Foundation for Research Support of the State of Minas Gerais, Brazil (FAPEMIG), with funding this project and with granting the scholarship for the first author.

References

- Adrian, I. F., Silva, H. B. R. and Peretti, D.** (2001). Dieta de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Characiformes, Characidae), da área de influência do reservatório de Corumbá, Estado de Goiás, Brasil. *Acta Sci.* **23**:435-440.
- Aebi, H.** (1984). Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol.* **105**:121-126.
- Agarwal, R., Goel, S. K. and Behari, JR.** (2010). Detoxification and antioxidant effects of curcumin in rats experimentally exposed to mercury. *J. Appl. Toxicol.* **30**(5):457-68.
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M. and Raisuddin, S.** (2000). Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochim. Biophys. Acta.* **1523**:37-48.
- Allen, P. C., Danforth, H. D. and Augustine, P. C.** (1998). Dietary modulation of avian coccidiosis. *Int. J. Parasitol.* **28**:1131-1140
- Anand, P., Sundaram, C., Jhurani, S., Kunnumakkara, A.B. and Aggarwa, B. B.** (2008). Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. *Cancer Lett.* **267**:133-164.
- Araújo, C. C. A. and Leon, L. L.** (2001). Biological Activities of *Curcuma longa* L. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **96**(5):723-728
- Arbiser, J. L., Klauber, N., Rohan, R., Van Leeuwen, R., Huang, M. T., Fisher, C., Flynn, E. and Byers, H. R.** (1998). Curcumin is an *in vivo* inhibitor of angiogenesis. *Mol. Med.* **4**:376-383.
- Arshami, J., Pilevar, M., Azghadi, M. A. and Raji, A. R.** (2013). Hypolipidemic and antioxidative effects of curcumin on blood parameters, humoral immunity, and jejunum histology in Hy-line hens. *Avicenna J. Phytomed.* **3**(2):178-185.
- Azambuja, C. R., Mattiazzi, J., Riffel, A. P. K., Finamor, I. A., Garcia, L. O., Heldwein, C. G., Heinzmann, B. M., Baldisserotto, B., Pavanato, M. A. and Llesuy, S. F.** (2011). Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. *Aquacult.* **319**:156-161.
- Bhandarkar, S. S. and Arbiser, J. L.** (2007). Curcumin as an inhibitor of angiogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* **595**:185-195.

- Bombardelli, R. A., Hayashi, C., Natali, M. R. M., Sanches, E. A. and Piana, P. A.** (2009). Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. *R. Bras. Zootec.* **38**(8):1391-1399.
- Braga, M. E. M., Leal, P. F., Carvalho, J. O. E. and Meireles, M. A. A.** (2003). Comparison of Yield, Composition, and Antioxidant Activity of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts Obtained Using Various Techniques. *J. Agric. Food Chem.* **51**:6604-6611.
- Buege, J. A. and Aust, S. D.** (1978). Microsomal lipid peroxidation methods. *Enzymol.* **52**:302-310.
- Bustanji, Y., Taha, M. O., Almasri, I. M., Al-Ghussein, M. A., Mohammad, M. K. and Alkhatib, H. S.** (2009). Inhibition of glycogen synthase kinase by curcumin: Investigation by simulated molecular docking and subsequent in vitro/in vivo evaluation. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **24**(3):771-8.
- Campelo, D. A.V., Oliveira, K. R. B., Batiston, W. P., Zuanon, J. A. S., Furuya, W. M., Matsushita, M. and Salaro, A. L.** (2014). Conjugated linoleic acid in diets for lambari (*Astyanax altiparanae*). *Aquacult. Nutr.* **1**:16.
- Castro, E. F., Fonseca, C. C. and Menin, E.** (2002). Identificação de células endócrinas no aparelho digestório de *Prochilodus marginatus* Walbaum, 1792 (Pisces, Teleostei, Characiformes, Prochilodontidae). *Arq. ciênc. vet. zool. UNIPAR* **5**(1):71-78.
- Charlton, M., Ahlman, B. and Nair, K. S.** (2000). The Effect of Insulin on Human Small Intestinal Mucosal Protein Synthesis. *Gastroenterology.* **118**(2):299-306.
- Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U. and Banerjee, R. K.** (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr. Sci.* **87**(1):44-53.
- Chauhan, D. P.** (2002). Chemotherapeutic Potential of Curcumin for Colorectal Cancer. *Curr. Pharm. Des.* **8**(19):1695-706.
- Chaves, W.** (2014). Relação Macho e Fêmeas na Reprodução de Lambaris. Monografia (Graduação em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, MG.
- Cheng, A. L., Hsu, C. H., Lin, J. K., Hsu, M. M., Ho, Y. F., Shen, T. S., Ko, J. Y., Lin, J. T., Lin, B. R., Ming-Shiang, W., Yu, H. S., Jee, S. H., Chen, G. S., Chen, T. M., Chen, C. A., Lai, M. K., Pu, Y. S., Pan, M. H., Wang, Y. J., Tsai, C. C. and Hsieh, C. Y.** (2001). Phase I clinical trial of curcumin, a

- chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res.* **21**(4B):2895-900.
- Cheng, S. Y., Shaw, N. S., Tsai, K. S. and Chen, C. Y.** (2004). The hypoglycemic effects of soy isoflavones on postmenopausal women. *Res. J. Womens Health.* **13**(10):1080-6.
- Commandeur, J. N. and Vermeulen, N. P.** (1996). Cytotoxicity and cytoprotective activities of natural compounds. The case of Curcumin. *Xenobiotica.* **26**:667-680.
- Condessa, S. S.** (2014). Estresse oxidativo causado pelo cromo hexavalente e ação da vitamina C em *Astyanax aff. bimaculatus* (teleostei: characidae) machos adultos e potencial bioativo da casca de coco verde (*Cocos nucifera* L.). Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 203p.
- Cyrino, J. E. P., Portz, L. and Martino, R. C.** (2000). Retenção de proteína e energia em juvenis de "black bass" *Micropterus salmoides*. *Sci. agric.* **57**(4):609-616.
- Detmann, E., Souza, M. A., Valadares, Filho S. C., Queiroz, A. C., Berchielli, T. T., Saliba, E. O. S., Cabral, L. S., Pina, D. S., Pina, D. S., Ladeira, M. M. and Azevedo, J. A. G.** (2012). Métodos para análise de alimentos. Ed. Suprema, Visconde de Rio Branco, MG.
- Dieterich, S., Bieligk, U., Beulich, K., Hasenfuss, G. and Prestle, J.** (2000). Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. *Circulation.* **101**:33-9.
- Dutra, F. M., Machado, W. J., Caetano, M. S. and Gobbo, D. A.** (2012). Avaliação sensorial do processamento em conserva, utilizando-se as espécies: tilápia (*Oreochromis niloticus*), lambari (*Astianax* spp) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Rev. Bras. Prod. Agroind.* **14**(3):239-244.
- Ejaz, A., Wu, D., Kwan, P. and Meydani, M.** (2009). Curcumin Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes and Angiogenesis and Obesity in C57/BL Mice1–3. *J Nutr.* **139**(5):919-25.
- Faccioli, C. K., Chedida, R. A., Amarala, A. C., Vicentini, I. B. F. and Vicentini, C. A.** (2014). Morphology and histochemistry of the digestive tract in carnivorous freshwater *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes: Pimelodidae). *Micron.* **64**:10-19.
- Farombi, E. O., Adelowo, O. A. and Ajimoko, Y. R.** (2007). Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African

- cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. Int. J. Environ. Res. Public. Health. **4**(2):158-65.
- Gaikwad, A., Bodhankar, M., Ittadwar, A. and Waikar, S.** (2014). Antibacterial activity of isoflavone extracted from *Curcuma longa* linn. Zingiberaceae. ISOI J. Microbiol. Biotech. Food Sci. **1**(1):06-09.
- Ghorbani, Z., Hekmatdoost, A. and Mirmiran, P.** (2014). Anti-Hyperglycemic and Insulin sensitizer Effects of Turmeric and Its Principle Constituent Curcumin. Int. J. Endocrinol. Metab. **12**(4): e18081.
- Gülçin, T. A. I.** (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. Chem. Biol. Interact. **174**:27-37.
- Gururaj, B. M. A. E., Venkatesh, D. A., Marmé, D. and Salimath, B. P.** (2002). Molecular mechanisms of anti-angiogenic effect of curcumin. Biochem. Biophys. Res. Commun. **297**(4):934-942.
- Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B.** (1974). Glutathione-S-Transferases: The First Enzymatic Step In Mercapturic Acid Formation. J. Biol. Chem. **249**(22):7130-7139
- Hahm, E. R., Gho, Y. S., Park, S., Park, C., Kim, K. W. and Yang, C. H.** (2004). Synthetic curcumin analogs inhibit activator protein-1 transcription and tumour-induced angiogenesis. Biochem. Biophys. Res. Co. **321**(2):337-344.
- Horváth, V. J., Vittal, H., Lörincz, A., Chen, H., Almeida-Porada, G., Redelman, D. and Ordög, T.** (2006). Reduced Stem Cell Factor Links Smooth Myopathy and Loss of Interstitial Cells of Cajal in Murine Diabetic Gastroparesis. Gastroenterology. **130**(3):759-70.
- Huang, W. C., Chiu, W. C., Chuang, H. L., Tang, D. W., Lee, Z. M., Wei, L., Chen, F. A. and Huang, C. C.** (2015). Effect of curcumin supplementation on physiological fatigue and physical performance in mice. Nutrients. **7**:905-921.
- Karnovsky, M. J.** (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. J. Cell Biol. **27**:137A.
- Kisieliński, K., Willis, S., Prescher, A., Klosterhalfen, B. and Schumpelick, V.** (2002). A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. Clin. Exp. Med. **2**:131-135.
- Kumar, A., Shrivastava, A., Purwar, B. and Arora, N.** (2012). Effects of Curcumin on the intestinal length and morphology: An experimental study in albino rats. Natl. J. Physiol. Pharm. Pharmacol. **2**(1):39-44.

- Labban, L.** (2014). Medicinal and pharmacological properties of Turmeric (*Curcuma longa*): A review. *Int J Pharm Biomed Sci.* **5**(1):17-23.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.** (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**:265-275.
- Mahmoud, M. M. A., El-Lamie, M. M. M., Dessouki, A. A. and Yusuf, M. S.** (2014). Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Supplementation on Growth Performance, Feed Utilization, and Resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Pseudomonas fluorescens* Challenge. *Glob. Res. J. Fish. Sci. Aquacul.* **1**(12):026-033.
- Maneewan, C., Yamauchi, K. E., Mekbungwan, A., Maneewan, B. and Siri, S.** (2012). Effect of turmeric (*Curcuma longa* Linnaeus) on growth performance, nutrient digestibility, hematological values, and intestinal histology in nursery pigs. *J. Swine Health Prod.* **20**(5):231-240.
- Manju, M., Akbarsha, M. A. and Oommen, O. V.** (2012). In vivo protective effect of dietary curcumin in fish *Anabas testudineus* (Bloch). *Fish Physiol. Biochem.* **38**:309-318.
- Miranda, E. C., Pezzato, A. C., Pezzato, L. E. and Furuya, W. M.** (2000). Disponibilidade aparente de fósforo em ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Sci.* **22**(3):669-675.
- Mohan, R., Sivak, J., Ashton, P., Russo, L. A., Pham, B. Q., Kasahara, N., Raizman, M. B. and Fini, M. E.** (2000). Curcuminoids inhibit the angiogenic response stimulated by fibroblast growth factor-2, including expression of matrix metalloproteinase, gelatinase. *B. J. Biol. Chem.* **275**:10405-10412.
- Monteiro, D. A., Almeida, J. A., Rantin, F. T. and Kalinin, A. L.** (2006). Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). *Comp. Biochem. Physiol. C.* **143**:141-149.
- Moreira, D. M. V.** (2013). Cúrcuma (*Curcuma longa*) como pigmentante, promotor de crescimento e da saúde de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*). Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa, MG. 49p.
- Mukherjee, A., Mandal, B. and Banerjee, S.** (2009). Turmeric as a carotenoid source on pigmentation and growth of fantail guppy, *Poecilia reticulata*. *Proc Zool Soc* **62**:119–123.

- Nascimento, L. S.** (2013). *Cúrcuma (Curcuma longa)* em dietas para juvenis de *Trichogaster labiosa*. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa, MG. 59p.
- Nonose, N., Pereira, J. A., Machado, P. R. M., Rodrigues, P. R., Sato, D. T. and Martinez, C. A. R.** (2014). Oral administration of curcumin (*Curcuma longa*) can attenuate the neutrophil inflammatory response in zymosan-induced arthritis in rats. *Acta Cir. Bras.* **29**(11):727-734.
- Pérez-Arriaga, L., Mendoza-Magana, M. L., Cortes-Zarate, R., Corona-Rivera, A., Bobadilla-Morales, L., Troyo-Sanroman, R. and Ramirez-Herrera, M. A.** (2006). Cytotoxic effect of curcumin on *Giardia lamblia* trophozoites. *Acta Trop.* **98**:152-161.
- Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R. B. and Foresti, F.** (2010). Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTO B AND GOMES LC. (Eds), *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*, Santa Maria: Editora UFSM, Santa Maria, RS, p.105-120.
- Pransin, M.** (2006). Using Turmeric (*Curcuma longa*) in Goldfish (*Carassius auratus*) Feed. Master of Science (Aquaculture). Kasetsart university. Thailand. 86p.
- Priyadarsini, K. I., Maity, D. K., Naik, G. H., Kumar, M. S., Unnikrishnan, M. K., Satav, J. G. and Mohan, H.** (2003). Role of phenolic o-h and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic. Biol. Med.* **35**(5):475-484.
- Pulla Reddy, A. C. and Lokesh, B. R.** (1992). Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Mol. Cell. Biochem.* **111**(1/2):117-124.
- Rajput, N, Naeem, M, Rui, Y., Zhong, X. and Wang, T.** (2013). Effect of dietary supplementation of curcumin on growth performance, intestinal morphology and nutrients utilization of broiler chicks. *Jpn. Poult. Sci.* **50**:44-52.
- Ramadan, G., Al-Kahtani, M. A. and El-Sayed, W. M.** (2011). Anti-inflammatory and Anti-oxidant Properties of *Curcuma longa* (Turmeric) Versus *Zingiber officinale* (Ginger) Rhizomes in Rat Adjuvant-Induced Arthritis. *Inflammation.* **34**(4):291-301.

- Ramsewak, R. S., Dewitt, D. L. and Nair, M. G.** (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytom. Medicine.* **7**(4):303-308.
- Rickerm, W.E.** (1979). Growth rates and models In: HOAR WS, RANDALL DJ AND BRETT JR. (Eds.), *Fish Physiology: Bioenergetics and Growth*. Academic Press, v. 8, London, p.677-743.
- Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Donzele, J. L., Gomes, P. C., Oliveira, R. F. M., Lopes, D. C., Ferreira, A. S. and Barreto, S. L. T.** (2005). Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos: tabelas brasileiras para aves e suínos. 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 186p.
- Sayed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. and Raisuddin, S.** (2003). Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* **56**:295-301.
- Seo, K., Choi, M., Jung, U. J., Kim, H., Yeo, J., Jeon, S. and Lee, M.** (2008). Effect of curcumin supplementation on blood glucose, plasma insulin, and glucose homeostasis related enzyme activities in diabetic db/db mice. *Mol. Nutr. Food Res.* **52**:995-1004.
- Singh, S., Sankar, B., Rajesh, S., Sahoo, K., Subudhi, E. and Nayak, S.** (2011). Chemical Composition of Turmeric Oil (*Curcuma longa* L. cv. Roma) and its Antimicrobial Activity against Eye Infecting Pathogens. *J. Essent. Oil Res.* **23**(6):11-18.
- Sjörgren, B., Noerdenskjold, T., Holmgeen, H. and Mollerstrom, J.** (1938). Beitrag zur kenntnis der leber rhythmik (glycogen, phosphor und calcium in der kaninchenleber). *Pflugers Arch., EJP.* **240**:427-432.
- Srivastava, R. M., Singh, S., Dubey, S. K., Misra, K. and Khar, A.** (2011). Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. *Int. Immunopharmaco.* **11**:331-341.
- Varalakshmi, C. H., Ali, A. M., Pardhasaradhi, B. V., Srivastava, R. M., Singh, S. and Khar, A.** (2008). Immunomodulatory effects of curcumin: In-vivo. *Int. Immunopharmaco.* **8**: 688–700.
- Wickenberg, J., Ingemansson, S. L. and Hlebowicz, J.** (2010). Effects of *Curcuma longa* (turmeric) on postprandial plasma glucose and insulin in healthy subjects. *Nutr. J.* **9**:43p.

Zeppenfeld, C. C., Toni, C., Becker, A. G., Miron, D. S., Parodi, T. V., Heinzmann, B. M., Barcellos, L. J. G., Koakoski, G., Rosa, J. G. S., Loro, V. L., Cunha, M. A., Baldisserotto, B. (2014). Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *Aquacult.* **418-419**:101-107.

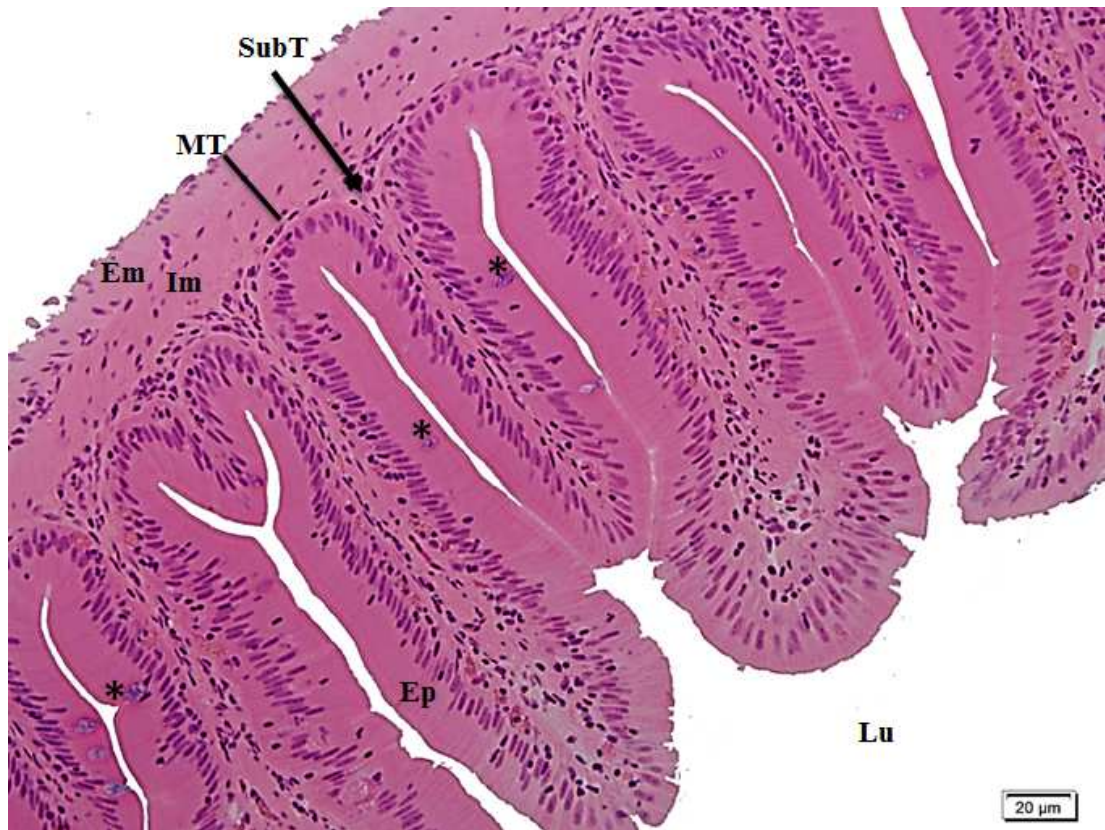


Fig. 1. Structural organization of the intestine of *Astyanax aff. bimaculatus*. Ep = epithelium; MT = muscular tunic; Em = external muscle; Im = internal muscle; SubT = submucosa tunic; Lu = lumen; * = goblet cells. Hematoxylin / eosin staining. Bar: 20 μ m.

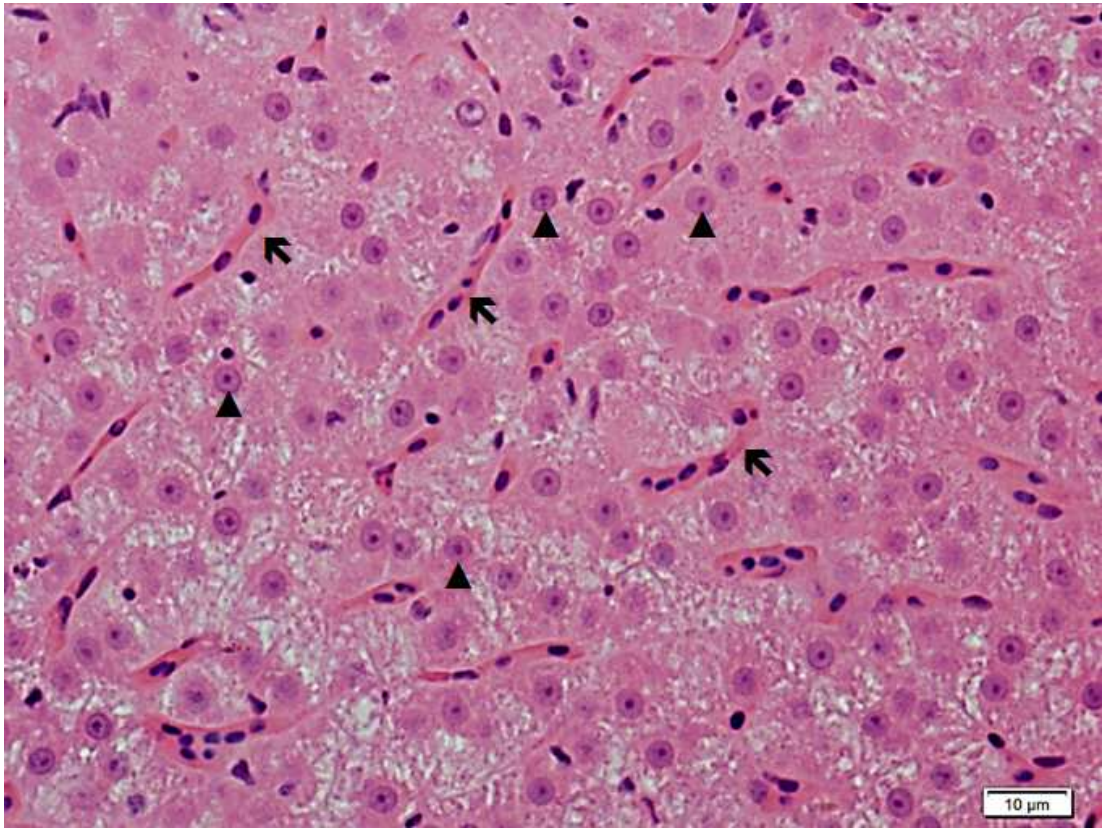


Fig. 2. Structural organization of liver of the *Astyanax aff. bimaculatus*. Arrow = sinusoids capillaries; arrow head = nucleus of the hepatocyte. Hematoxylin / eosin staining. Bar: 10 μ m.

Table 1. Formulation of the experimental diets

| Ingredient | <i>Curcuma longa</i> levels in experimental diets (g.kg ⁻¹) | | | | | |
|---|---|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 0.0 | 20.0 | 40.0 | 60.0 | 80.0 | 100.0 |
| Soybean meal | 707.0 | 710.0 | 713.0 | 715.0 | 715.0 | 714.0 |
| Cornmeal corn | 102.7 | 99.2 | 96.2 | 93.6 | 78.6 | 64.6 |
| <i>Curcuma longa</i> | 0.0 | 20.0 | 40.0 | 60.0 | 80.0 | 100.0 |
| Wheat bran | 100.0 | 80.0 | 60.0 | 40.0 | 35.0 | 30.0 |
| DL - Methionine | 4.6 | 4.6 | 4.6 | 4.7 | 4.7 | 4.7 |
| Soy oil | 40.0 | 40.0 | 40.0 | 40.0 | 40.0 | 40.0 |
| Dicalcium phosphate | 39.0 | 39.5 | 39.5 | 40.0 | 40.0 | 40.0 |
| Salt | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Vitamin and mineral premix ^a | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 |
| BHT ^b | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Chemical composition of the diets (g.kg ⁻¹) | | | | | | |
| Gross energy ^c | 4100.93 | 4099.18 | 4099.41 | 4097.68 | 4097.62 | 4097.39 |
| Crude protein ^c | 330.7 | 330.7 | 330.7 | 330.3 | 330.8 | 331.0 |
| Crude lipid ^c | 77.2 | 77.5 | 77.7 | 78.0 | 78.2 | 78.4 |
| Crude fiber ^c | 52.0 | 52.3 | 52.7 | 53.0 | 53.8 | 54.7 |
| Total calcium ^c | 11.5 | 11.7 | 11.7 | 11.8 | 11.8 | 11.8 |
| Available phosphorus ^d | 7.1 | 7.1 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |

^a Assurance levels per kilogram of product: Vit. A 1.200 UI; Vit. D3, 200,000 UI; Vit. E, 12.000 mg; Vit. K3, 2.400 mg; Vit. B1, 4.800 mg; Vit. B2, 4.800 mg; Vit. B6, 4.000 mg; Vit. B12, 4.800 mg; folic acid, 1.200 mg; Ca pantothenate, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; biotin, 48 mg; choline, 65.000 mg; niacin, 24.000 mg; iron, 10.000 mg; copper, 6.000 mg, manganese, 4.000 mg, zinc, 6.000 mg, iodine, 20 mg, cobalt, 2 mg, selenium, 20 mg.

^b Butyl hydroxy toluene (antioxidant).

^c Values calculated according to the chemical composition of foods (Rostagno et al., 2005).

^d Values calculated for Nile tilapia (Miranda et al., 2000).

Table 2. *Curcuma longa* in the intestinal morphology of *Astyanax aff. bimaculatus*.

| Variables | <i>Curcuma longa</i> levels in experimental diets (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|---|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 0.0 | 20.0 | 40.0 | 60.0 | 80.0 | 100.0 | |
| Height of the folds (µm) (HF) ¹ | 244.50 | 277.86 | 310.85 | 314.07 | 343.81 | 366.54 | 8.70 |
| Width of the folds (µm) (WF) ² | 110.05 | 112.89 | 115.10 | 120.64 | 125.08 | 131.45 | 5.08 |
| Absorption surface area (mm ²) ³ (ASA) ^{ns} | 8.93 | 9.88 | 10.78 | 10.42 | 11.05 | 11.16 | 10.21 |
| Thickness of muscular layer (µm) (TML) ³ | 35.75 | 37.52 | 37.48 | 41.14 | 43.78 | 50.05 | 12.47 |
| Total number of goblet cells (GCt) ^{ns} | 41.90 | 52.50 | 56.35 | 44.30 | 56.65 | 39.15 | 42.62 |
| Goblet cells secretory of mixed mucins (GCmm) ^{ns} | 4.95 | 6.40 | 9.55 | 7.20 | 9.45 | 10.15 | 73.21 |
| Goblet cells secretory of neutral mucins (GCnm) ^{ns} | 26.95 | 28.85 | 28.55 | 22.10 | 28.05 | 15.20 | 50.52 |
| Goblet cells secretory of acidic mucins (GCam) ^{ns} | 10.00 | 17.25 | 18.25 | 15.00 | 19.15 | 13.80 | 63.42 |

¹ HF = 1.1589x + 251.6580, R² = 0.97, (p= 0.01);

² WF = 0.9148x + 110.1420, R² = 0.99, (p= 0.01);

³ TML = 0.1342x + 34.2420, R² = 0.88, (p= 0.01);

^{ns} Not statistically significant (p > 0.05)

Table 3. *Curcuma longa* on liver morphometry of *Astyanax aff. bimaculatus*.

| Variables | <i>Curcuma longa</i> levels in experimental diets (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|---|--|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 0.0 | 20.0 | 40.0 | 60.0 | 80.0 | 100.0 | |
| Nuclei (%) (NU) ^{ns} | 8.98 | 8.57 | 8.09 | 8.27 | 8.53 | 8.33 | 9.10 |
| Cytoplasm (%) (CT) ¹ | 81.44 | 83.03 | 83.79 | 84.16 | 84.63 | 84.72 | 1.82 |
| Sinusoids capillaries (%) (SC) ² | 9.57 | 8.40 | 8.11 | 7.57 | 6.83 | 6.94 | 15.30 |
| Diameter of the nuclei (µm) (DN) ^{ns} | 7.72 | 7.82 | 7.70 | 7.72 | 7.81 | 7.84 | 3.55 |

¹ CT = -0.0004x² + 0.0695x + 81.572, R² = 0.9854, (p=0.01);

² SC = - 0.0263x + 9.2199, R² = 0.9199 (p=0.01);

^{ns} Not statistically significant (p > 0.05)

Table 4. Energy metabolism of *Astyanax aff. bimaculatus* fed with *Curcuma longa*.

| Energy metabolism | <i>Curcuma longa</i> levels in experimental diets (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|--|---|--------|--------|--------|--------|--------|-----------|
| | 0.0 | 20.0 | 40.0 | 60.0 | 80.0 | 100.0 | |
| Liver glycogen (g/100g) (LG) ¹ | 2.904 | 3.605 | 4.526 | 3.608 | 3.863 | 2.561 | 23.56 |
| Muscle glycogen (g/100g) (MG) ^{ns} | 0.015 | 0.016 | 0.013 | 0.013 | 0.010 | 0.009 | 30.75 |
| Glucose (mg/dL) (GL) ^{ns} | 72.25 | 134.63 | 85.63 | 73.75 | 75.38 | 93.25 | 32.04 |
| Lactate (mmol/L) (LC) ^{ns} | 5.35 | 4.48 | 3.55 | 3.40 | 5.35 | 4.15 | 39.48 |
| Triglyceride (mg/dL) (TR) ² | 452.29 | 339.25 | 578.83 | 504.25 | 348.33 | 293.50 | 31.31 |
| Cholesterol (mg/dL) (CO) ^{ns} | 335.79 | 298.88 | 330.50 | 307.50 | 247.29 | 323.00 | 27.19 |

¹ LG = -0.0006x² + 0.0540x + 2.8878, R² = 0.8034, (p= 0.04);

² TR = -0.0688x² + 5.7684x + 393.7174, R² = 0.4932, (p = 0.01);

^{ns} Not statistically significant (p > 0.05)

Table 5. Carcass composition of *Astyanax aff. bimaculatus* fed with *Curcuma longa*.

| Carcass composition | <i>Curcuma longa</i> levels in experimental diets | | | | | | CV (%) |
|--------------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | (g.kg ⁻¹) | | | | | | |
| | 0.0 | 20.0 | 40.0 | 60.0 | 80.0 | 100.0 | |
| Dry matter (%) (DM) ^{ns} | 29.44 | 29.17 | 28.78 | 28.47 | 28.35 | 29.47 | 3.29 |
| Crude protein (%) (CP) ^{ns} | 58.26 | 58.15 | 59.30 | 61.00 | 60.57 | 56.69 | 3.55 |
| Crude lipid (%) (CL) ^{ns} | 31.09 | 29.78 | 30.29 | 28.01 | 27.01 | 26.26 | 9.67 |
| Ash (%) (A) ^{ns} | 12.79 | 14.50 | 15.40 | 14.94 | 15.29 | 14.44 | 8.25 |

^{ns} Not statistically significant ($p > 0.05$)

Table 6. Antioxidant activity in the liver of *Astyanax aff. bimaculatus* fed with *Curcuma longa*.

| Antioxidant activity | <i>Curcuma longa</i> levels in experimental diets | | | | | | CV (%) |
|--|---|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | (g.kg ⁻¹) | | | | | | |
| | 0.0 | 20.0 | 40.0 | 60.0 | 80.0 | 100.0 | |
| Superoxide dismutase (U SOD/MG prt) ^{ns} | 0.97 | 0.84 | 0.66 | 0.97 | 0.98 | 0.83 | 46.75 |
| Catalase (U CAT/mg prt) ^{ns} | 1.70 | 1.79 | 1.08 | 1.79 | 1.66 | 1.41 | 34.52 |
| Glutathione-S-transferase ($\mu\text{mol}/\text{min}^{-1}\text{g}^{-1}$) ^{ns} | 9.19 | 8.72 | 11.80 | 8.49 | 13.18 | 7.88 | 37.14 |
| Malondialdehyde (nmol/mg prt) ^{ns} | 0.010 | 0.014 | 0.005 | 0.013 | 0.007 | 0.010 | 49.00 |

^{ns} Not statistically significant ($p > 0.05$)

Table 7. Productive performance of *Astyanax aff. bimaculatus* fed with *Curcuma longa*.

| Productive performance | <i>Curcuma longa</i> levels in experimental diets | | | | | | CV (%) |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | 0.0 | 20.0 | 40.0 | 60.0 | 80.0 | 100.0 | |
| Survival rate (%) (SR) ^{ns} | 98.03 | 94.95 | 93.72 | 96.95 | 98.14 | 98.78 | 3.60 |
| Weight gain (g) (WG) ^{ns} | 2.71 | 2.29 | 1.97 | 2.10 | 1.80 | 2.38 | 25.82 |
| Feed intake (g) (FI) ^{ns} | 4.15 | 3.77 | 3.58 | 3.38 | 3.55 | 3.85 | 15.69 |
| Feed conversion ratio (FCR) ^{ns} | 1.59 | 1.65 | 1.88 | 1.65 | 2.02 | 1.62 | 15.07 |
| Protein efficiency rate (PER) ^{ns} | 0.53 | 0.55 | 0.62 | 0.55 | 0.67 | 0.53 | 15.07 |
| Specific growth rate (% day ⁻¹) (SGR) ^{ns} | 2.38 | 2.21 | 2.01 | 2.09 | 1.91 | 2.23 | 14.64 |
| Carcass weight (g) (CW) ^{ns} | 2.67 | 2.38 | 2.15 | 2.20 | 2.07 | 2.44 | 17.43 |
| Carcass yield (%) (CY) ^{ns} | 76.00 | 76.49 | 76.86 | 75.71 | 78.59 | 75.98 | 3.18 |
| Viscerossomatic index (%) (VSI) ^{ns} | 13.32 | 13.03 | 13.18 | 12.54 | 12.93 | 13.17 | 10.86 |
| Hepatosomatic index (%) (HSI) ^{ns} | 1.34 | 0.87 | 1.41 | 1.01 | 0.98 | 0.97 | 31.22 |
| Male gonadossomatic index (%) (GSIm) ^{ns} | 3.19 | 2.25 | 2.60 | 2.04 | 1.77 | 2.74 | 39.45 |
| Female gonadossomatic index (%) (GSIf) ^{ns} | 11.29 | 11.06 | 11.08 | 11.99 | 12.07 | 10.69 | 14.24 |

^{ns} Not statistically significant ($p > 0.05$).

CAPÍTULO 2 – Altas doses de cúrcuma podem ser tóxicas para peixes?

Artigo redigido segundo as normas da revista *Journal of Fish Biology*

Altas doses de cúrcuma podem ser tóxicas para peixes?

Running title: Cúrcuma pode ser tóxica para peixes?

Resumo

Com o presente estudo, objetivamos avaliar a segurança do uso da *Curcuma longa* na alimentação de peixes. Juvenis de *Astyanax aff. bimaculatus* ($0,83 \pm 0,04$ g) foram mantidos em 24 aquários (80L de água), na densidade de 0,5 peixes.L⁻¹, durante 90 dias. Foram avaliadas seis dietas suplementadas com 0,0; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0 g de cúrcuma.kg⁻¹. As análises histopatológicas das brânquias demonstraram que houve efeito linear crescente da cúrcuma para o aneurisma lamelar, hipertrofia de células mucosas, edema e necrose. Houve efeito quadrático da suplementação de cúrcuma para a frequência de fusão e desorganização das lamelas secundárias, vacuolização e hipertrofia das células epiteliais, sendo os valores estimados que minimizam essas variáveis de 4,63; 25,93 e 24,46 g de cúrcuma.kg⁻¹, respectivamente. Houve efeito quadrático da cúrcuma para o índice de brânquias (I_{BRA}), sendo o valor estimado que minimiza esse índice igual a 30,23 g de cúrcuma.kg⁻¹. Não foram observados efeitos da cúrcuma sobre a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathione-S-transferase e sobre a concentração do produto da peroxidação lipídica, malondialdeído nas brânquias dos peixes. Dessa forma, concluímos que a *C. longa* na alimentação de peixes é segura em doses até 30,23 g.kg⁻¹ de dieta.

Palavras-chaves: Brânquias, histopatologia, estresse oxidativo, *Astyanax aff. bimaculatus*

INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade na aquicultura, em função da intensificação dos sistemas produtivos, tem possibilitado o uso racional da água com menor impacto ambiental (Björnsson, 1994; Kubtiza, 1999). Entretanto, a utilização de sistemas intensivos de produção tem causado aumento das respostas de estresse nos peixes (Cruzat, et al., 2007; Abele, et al., 2012), diminuição da capacidade imunológica (Segner, et al., 2012) e consequente aumento da ocorrência de doenças (Segner, et al., 2012; Souza-Filho & Cerqueira, 2003; Hasan, et al., 2014). Com o intuito de reduzir esses efeitos, têm-se pesquisado o uso de aditivos em dietas que possam aumentar a capacidade imunológica (Rao, et al., 2006; Sahu, et al., 2008), a resistência ao estresse (Zheng, et al., 2009; Aly & Mohamed, 2010; Zeppenfeld, et al., 2014) e o crescimento (Shalaby, et al., 2006; Nya & Austin, 2009a,b; Abdel-Tawwab, et al., 2010; Ahmadifar, et al., 2011; Ferreira, et al., 2014), bem como diminuir a incidência de patologias (Sahu, et al., 2008) em peixes. Em função do reduzido número de produtos aprovados para uso no cultivo de organismos aquáticos, é essencial a busca por produtos naturais que possam atender tal demanda.

Os extratos vegetais apresentam potencial para uso como aditivos em dietas para peixes em função de suas propriedades profiláticas e terapêuticas, boa disponibilidade e segurança do ponto de vista da saúde dos animais e do meio ambiente. Dentre os extratos vegetais, a cúrcuma (*Curcuma longa*) destaca-se por apresentar óleos essenciais ricos em terpenos voláteis (como turmerona, curlona e curcufenol) e pigmentos (como curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina) (Ahsan et al., 1999; Sueth-Santiago et al., 2015), que lhe conferem as seguintes propriedades biológicas: anti-inflamatória (Ramadan et al., 2011; Nonose et al., 2014); imunoestimulante (Varalakshmi et al., 2008; Srivastava et al., 2011); antioxidante (Braga et al., 2003; Ramadan et al., 2011) e antimicrobiana (Singh et al., 2011; Gaikwad et al., 2014). Além disso, a cúrcuma apresenta efeitos desintoxicantes do organismo (Agarwal et al., 2010), estimulantes na secreção de enzimas digestivas (Pransin, 2006) e do desenvolvimento do epitélio intestinal (Rajput et al., 2013), reguladores do metabolismo dos lipídios (Chattopadhyay et al., 2004; Seo et al., 2008) e da secreção de insulina (Wickenberg et al., 2010).

Para a utilização da cúrcuma como aditivo em dietas para peixes são necessários estudos para avaliar sua eficácia em reduzir respostas de estresse, atuar como imunomodulador e como promotor de crescimento. Dentre esses estudos, ainda

incipientes, destacam-se Mukherjee et al. (2009), Moreira (2013), Nascimento (2013) e Mahmoud et al. (2014). Além disso, são necessários estudos para avaliar a segurança de seu uso em dietas para peixes. Dentre os órgãos de peixes mais afetados por compostos tóxicos destacam-se o fígado e as brânquias. Apesar da maioria dos estudos terem demonstrado que a cúrcuma não é tóxica em dietas para animais e seres humanos (Commandeur & Vermeulen, 1996; Cheng et al., 2001; Chauhan, 2002; Chainani-Wu, 2003; Agarwal et al., 2010; Liju et al., 2013), devido à lixiviação de compostos da dieta na água (Potrich et al., 2011), é possível que os componentes da cúrcuma afetem as brânquias dos peixes, pois estas apresentam grande área de superfície e estão em contato direto e permanente com potenciais agentes tóxicos diluídos na água (Bernet et al., 1999). Dessa forma, as alterações histológicas e metabólicas nas brânquias podem revelar se os componentes químicos de um extrato vegetal apresentam efeitos tóxicos para os peixes.

Os lambaris vêm sendo amplamente utilizados em pesquisas científicas devido ao interesse em seu potencial para produção comercial, em especial às relacionadas à nutrição (Ferreira et al., 2014; Campelo et al., 2014), produção (Hayashi et al., 2004; Meurer et al., 2005; Sabbag et al., 2011), reprodução (Chaves, 2015) e genética (Almeida, 2007). Além disso, recentemente vem sendo considerado como modelo experimental adequado por ser um peixe tropical de água doce, de pequeno porte, facilmente mantido em laboratório, com reprodução ao longo do ano todo. As espécies do gênero *Astyanax* vem sendo utilizadas como bioindicadores em estudos de contaminação aquática (Corredor-Santamaría et al., 2012; Cort & Ghisi, 2014). Portanto, com o presente estudo, objetivamos avaliar a segurança do uso da *Curcuma longa* na alimentação de peixes.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), protocolo nº 93/2013.

ANIMAIS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de seis dietas

isoproteicas e isoenergéticas (Tab. I) contendo 0,00; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0 g de rizoma de cúrcuma em pó.kg⁻¹.

Tabela I. Formulação das dietas experimentais

| Ingrediente | Níveis de cúrcuma nas dietas experimentais (g.kg ⁻¹) | | | | | |
|---|--|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 |
| Farelo de soja | 707,0 | 710,0 | 713,0 | 715,0 | 715,0 | 714,0 |
| Fubá de milho | 102,7 | 99,2 | 96,2 | 93,6 | 78,6 | 64,6 |
| Cúrcuma | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 |
| Farelo de trigo | 100,0 | 80,0 | 60,0 | 40,0 | 35,0 | 30,0 |
| DL - Metionina | 4,6 | 4,6 | 4,6 | 4,7 | 4,7 | 4,7 |
| Óleo de soja | 40,0 | 40,0 | 40,0 | 40,0 | 40,0 | 40,0 |
| Fosfato bicálcico | 39,0 | 39,5 | 39,5 | 40,0 | 40,0 | 40,0 |
| Sal comum | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| Supl. vitam/min ^a | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| BHT ^b | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Composição química das dietas (g.kg ⁻¹) | | | | | | |
| Energia bruta ^c | 4100.93 | 4099.18 | 4099.41 | 4097.68 | 4097.62 | 4097.39 |
| Proteína bruta ^c | 330.7 | 330.7 | 330.7 | 330.3 | 330.8 | 331.0 |
| Extrato etéreo ^c | 77.2 | 77.5 | 77.7 | 78.0 | 78.2 | 78.4 |
| Fibra Bruta ^c | 52.0 | 52.3 | 52.7 | 53.0 | 53.8 | 54.7 |
| Cálcio total ^c | 11.5 | 11.7 | 11.7 | 11.8 | 11.8 | 11.8 |
| Fósforo disponível ^d | 7.1 | 7.1 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |

^a Níveis de garantia por quilograma do produto: Vitamina (Vit.) A, 1.200.000 UI; Vit. D3; 200.000 UI; Vit. E, 12.000 mg; Vit. K3, 2.400 mg; Vit. B1, 4.800 mg; Vit. B2, 4.800 mg; Vit. B6, 4.000 mg; Vit. B12, 4.800 mg; Ac. Fólico, 1.200 mg; Pantotenato Ca, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; Biotina, 48 mg; Colina, 65.000 mg; Niacina, 24.000 mg; Ferro, 10.000 mg; Cobre, 6.000 mg; Manganês, 4.000 mg; Zinco, 6.000 mg; Iodo, 20 mg; Cobalto, 2 mg; Selênio, 20 mg.

^b Butil hidroxi tolueno (antioxidante).

^c Valores calculados de acordo com a composição química dos alimentos (Rostagno et al., 2005).

^d Valores calculados para tilápia do Nilo (Miranda et al., 2000).

As dietas foram peletizadas, secas em estufa de ventilação forçada (40 °C por 24 h), quebradas em pequenos pedaços, peneiradas e estocadas em freezer a -20 °C.

Juvenis de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax aff. bimaculatus*) com peso médio de $0,83 \pm 0,04$ g foram mantidos em aquários contendo 80 L de água, os quais eram dotados de aeração e filtro biológico, sob temperatura controlada por aquecedores e termostatos (27 °C), em densidade de estocagem de 40 peixes / aquário (0,5 peixes.L⁻¹ água).

Os peixes foram alimentados até a saciedade três vezes ao dia, durante 60 dias. Ao final do período experimental, os peixes foram eutanasiados por excesso de anestésico (óleo de cravo 400 mg.L⁻¹) para a coleta das amostras.

HISTOPATOLOGIA BRANQUIAL

Foram utilizadas as brânquias de dois peixes de cada unidade experimental (oito peixes/tratamento). Os tecidos foram fixados por inteiro em solução fixadora Karnovsky (Karnovsky, 1965), durante 24 horas, em temperatura ambiente, transferidos para álcool 70%. Foram utilizados fragmentos da região mediana do segundo arco branquial, que foram desidratados em série crescente de etanol e incluídos em glicol metacrilato (Historesin®, Leica, Alemanha). Foram realizados cortes semisseriados de 3 µm de espessura, com intervalo de 30 µm, obtidos com o auxílio de micrótomo rotativo (Leica, Alemanha), utilizando-se navalhas de vidro. Os cortes foram fixados em lâminas de vidro e processados para a coloração por azul de toluidina borato de sódio 1 %. As preparações histológicas foram montadas com Entellan® (Merck, Frankfurt, Alemanha).

As análises histopatológicas das brânquias foram realizadas sob microscopia de luz (Olympus BX-50) através do *histological health index* (HHI) descrito por Bernet et al. (1999) modificado, o qual é baseado na severidade (*a*), e fator de importância patológica (ω) das lesões.

As alterações histológicas foram identificadas por animal e para cada alteração histológica encontrada foi atribuído um fator de importância patológica (ω) entre 1 e 3, determinado por Bernet et al. (1999), que classificam as lesões desde reversíveis a irreversíveis. Além disso, foi atribuído, para cada alteração, um valor de severidade (*a*) variando de 1 a 6, o qual é baseado nas porcentagens das patologias (Tabela II).

Tabela II: Fator de importância patológica e grau da severidade das lesões (Bernet et al. (1999) modificado)

| Fator de importância patológica (ω) | Classificação | | |
|--|---------------------|----------------------|-------------------|
| | 1 | 2 | 3 |
| | Reversíveis | Moderadas | Irreversíveis |
| Severidade das lesões (a) | Valor de severidade | | |
| | 1 ou 2 | 3 ou 4 | 5 ou 6 |
| | Alterações leves | Alterações moderadas | Alterações graves |

Com base nos valores de severidade das lesões e nos fatores de importância atribuídos a cada patologia/peixe foi calculado um índice de brânquias (I_{BRA}) que determina o nível de alteração histológica das brânquias de cada peixe, através da fórmula:

$$I_{BRA} = \sum (a \times \omega),$$

onde I_{BRA} é o índice de brânquias, a é o valor de severidade da lesão e ω é o fator de importância da lesão, por peixe (Bernet et al., 1999; Corbett et al., 2015). Estes valores foram enquadrados em uma classificação final, proposta por Zimmerli et al. (2007), modificado por Van Dyk et al. (2009) (Tabela III).

Tabela III: Sistema de classificação dos índices de órgãos calculados através do *histological health index* (HHI) (Zimmerli et al., 2007, modificado por Van Dyk et al., 2009)

| HHI | Descrição do tecido |
|---------|--|
| < 10 | Estrutura normal do tecido com alterações histológicas leves |
| 10 – 20 | Estrutura normal do tecido com alterações histológicas moderadas |
| 21 – 30 | Alterações histológicas pronunciadas |
| > 30 | Alterações histológicas severas |

Foi calculada a frequência de alterações patológicas (FQ), por tipo de lesão, por peixe, dividindo o número de vezes em que a lesão foi encontrada pelo número total de animais:

$$FQ \% = \frac{\eta_{\text{lesões}}}{\eta_{\text{Total}}} \times 100$$

onde $\eta_{\text{lesões}}$ é o número de vezes que a lesão foi detectada e η_{total} é o número total de animais.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a análise da atividade das enzimas antioxidantes e concentração dos metabólitos da ação de espécies oxidantes nos peixes, foi realizada a coleta de duas brânquias de 8 peixes/tratamento. Tais amostras foram homogeneizadas em tampão fosfato pH 7,4 e a suspensão centrifugada a 12000 g a 4 °C por 10 minutos.

Para que as atividades das enzimas e concentração de malondialdeído fossem expressas em unidades da enzima por mg de proteína, foi determinada a concentração da proteína total dos homogenatos segundo Lowry et al. (1951), utilizando-se albumina de soro bovino como padrão.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada pela taxa de queda do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (10 mmol.L^{-1}) em espectrofotômetro a 240 nm durante 60 s (Aebi, 1984). A atividade da CAT foi expressa em U CAT.mg prt.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada em leitor de Elisa em 570 nm, baseada na capacidade desta enzima em catalisar a reação do superóxido O_2^- em peróxido de hidrogênio e, assim, diminuir a razão de auto-oxidação do pirogalol (Dieterich et al., 2000, modificado). A atividade da SOD foi expressa em U SOD.mg prt.

A atividade da glutathione-S-transferase (GST) foi mensurada através da formação do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno e estimada pela variação da absorbância em 340 nm por 60 s. A formação do conjugado ocorre espontaneamente no substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) em reação não-enzimática, sendo acelerada pela atividade da enzima GST. Uma unidade (U) de GST equivale à quantidade de enzima que forma 1 mol do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno por minuto. O coeficiente de extinção molar do CDNB 340 = $9,6 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ foi utilizado para os cálculos (Habig et al., 1974). A atividade da GST foi expressa em $\mu\text{mol min}^{-1}.\text{g}^{-1}$.

Para determinação dos metabólitos da ação de espécies oxidantes (indicativo da peroxidação lipídica) foi feita a mensuração da concentração de malondialdeído (MDA). Ao sobrenadante foi adicionado solução TBARS (ácido tricloroacético 15%

e 0,375% de ácido tiobarbitúrico, e HCL 0,25 N) em banho-maria por 15 minutos, resfriado, centrifugado a 10000 g por 10 minutos e o sobrenadante mensurado em espectrofotômetro a 535 nm (Buege & Aust, 1978). Os cálculos foram feitos utilizando-se o coeficiente de extinção molar $1,56 \times 10^{-5} \text{ M.cm}^{-1}$. A concentração do MDA foi expressa em nmol/mg prt.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação do efeito da administração de diferentes níveis de cúrcuma na dieta sobre os parâmetros *histological health index*, frequência das lesões e atividade antioxidante foram realizadas por meio de análise de variância e de regressão polinomial ao nível de 5 % de probabilidade. Para verificar o pressuposto de normalidade dos erros foi aplicado o teste de Lilliefors e quando não houve normalidade, os dados foram transformados. Para verificar a homogeneidade das variâncias dos erros entre os tratamentos, foi aplicado o teste de Bartlett, utilizando-se o software SAEG (2007). Para escolha do modelo de regressão mais adequado, foi considerada a significância dos coeficientes de regressão, pelo teste *t* de Student, a magnitude dos coeficientes de determinação, bem como o comportamento das variáveis em estudo.

RESULTADOS

HISTOPATOLOGIA BRANQUIAL

Foram observadas alterações histopatológicas nas brânquias dos peixes de todos os tratamentos (Fig.1). Houve efeito linear crescente da cúrcuma para o aneurisma lamelar, hipertrofia de células mucosas, edema e necrose. Houve efeito quadrático da suplementação de cúrcuma para a frequência de fusão e desorganização das lamelas secundárias, vacuolização e hipertrofia das células epiteliais, sendo os valores estimados que minimizam essas variáveis de 4,63; 25,93 e 24,46 g de cúrcuma.kg⁻¹, respectivamente. Não foi observado efeito da cúrcuma para dilatação dos vasos lamelares e deformação da lamela primária. Foi observado efeito cúbico da cúrcuma para hipertrofia das células ricas em mitocôndrias, contudo com valor de R² muito baixo (R² = 0,3017) sendo então desconsiderada (Fig.1; Tabela IV).

Houve efeito quadrático da cúrcuma para o índice de brânquias (I_{BRA}), sendo o valor estimado que minimiza esse índice igual a 30,23 g de cúrcuma.kg⁻¹. A partir dos valores do I_{BRA} , constatou-se no sistema de classificação proposto por Zimmerli et al. (2007), modificado por Van Dyk et al. (2009), que as brânquias dos animais tratados com dietas suplementadas com 0.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0 e 100.0 g de cúrcuma.kg⁻¹, apresentaram HHI iguais a 6,67; 5,71; 8,14; 14,0; 24,88 e 25,75, respectivamente. (Tabela V).

Tabela IV: Frequência das histopatologias (FQ%) encontradas em *Astyanax aff. bimaculatus*, alimentados com dietas contendo cúrcuma

| Alterações Patológicas (%) | Níveis de cúrcuma nas rações experimentais (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|--|---|-------|-------|-------|--------|--------|-----------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 | |
| Edema (E) ¹ | 0.00 | 4.29 | 5.71 | 3.33 | 16.25 | 20.00 | 130,01 |
| Aneurisma (A) ² | 46.67 | 52.86 | 60.00 | 68.33 | 65.00 | 78.75 | 18,54 |
| Fusão e desorganização das lamelas secundárias (FDLS) ³ | 13.33 | 15.71 | 20.00 | 25.00 | 36.25 | 50.00 | 62,24 |
| Dilatação dos vasos lamelares (DVL) ^{ns} | 10.00 | 12.86 | 7.14 | 10.00 | 5.00 | 12.50 | 63,74 |
| Deformação da lamela primária (DLP) ^{ns} | 10.00 | 24.29 | 31.43 | 23.33 | 23.75 | 28.75 | 50,73 |
| Necrose (N) ⁴ | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 15.00 | 12.50 | 13.75 | 121,00 |
| Vacuolização (V) ⁵ | 10.00 | 7.14 | 0.00 | 16.67 | 41.25 | 65.00 | 99,99 |
| Hipertrofia das células epiteliais (HE) ⁶ | 13.33 | 30.00 | 11.43 | 25.00 | 56.25 | 75.00 | 66,00 |
| Hipertrofia das células ricas em mitocôndrias (HCRM) ⁷ | 10.00 | 0.00 | 10,00 | 8.33 | 22.50 | 15.00 | 104,34 |
| Hipertrofia das células mucosas (HCM) ⁸ | 23.33 | 44.29 | 58.57 | 93.33 | 100.00 | 100.00 | 36,75 |

¹ $E = 0,2021x - 1,7580$, $R^2 = 0,8047$, ($p = 0,0158$)

² $A = 0,2884x + 47,4277$, $R^2 = 0,9219$, ($p = 0,0001$)

$$^3 \text{FDLS} = 0,0039x^2 - 0,0361x + 14,3770, R^2 = 0,9966, (p = 0,0001)$$

$$^4 \text{N} = 0,18119x - 2,6180, R^2 = 0,7325, (p = 0,0001)$$

$$^5 \text{V} = 0,0117x^2 - 0,6067x + 11,0953, R^2 = 0,9793, (p = 0,0001)$$

$$^6 \text{HE} = 0,0104x^2 - 0,5088x + 23,6107, R^2 = 0,8798, (p = 0,0001)$$

$$^7 \text{HCRM} = -0,0002x^3 + 0,0237x^2 - 0,7967x + 9,3873, R^2 = 0,3017, (p = 0,0061)$$

$$^8 \text{HCM} = 0,7983x + 30,1979, R^2 = 0,9208, (p = 0,0001)$$

^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade.

Tabela V: Índice de brânquias (I_{BRA}) e HHI das patologias encontradas em *Astyanax aff. bimaculatus*, alimentados com dietas contendo cúrcuma

| Alterações Patológicas (%) | Níveis de cúrcuma nas rações experimentais (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|--|---|------|------|-------|-------|-------|-----------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 | |
| Índice de brânquias (I _{BRA}) ¹ | 6.67 | 5.71 | 8.14 | 14.00 | 24.88 | 25.75 | 56,26 |
| HHI | <10 | <10 | <10 | 10-20 | 21-30 | 21-30 | |

$$^1 \text{I}_{\text{BRA}} = 0,0015x^2 + 0,0907x + 4,0806, R^2 = 0,9252, (p = 0,0001)$$

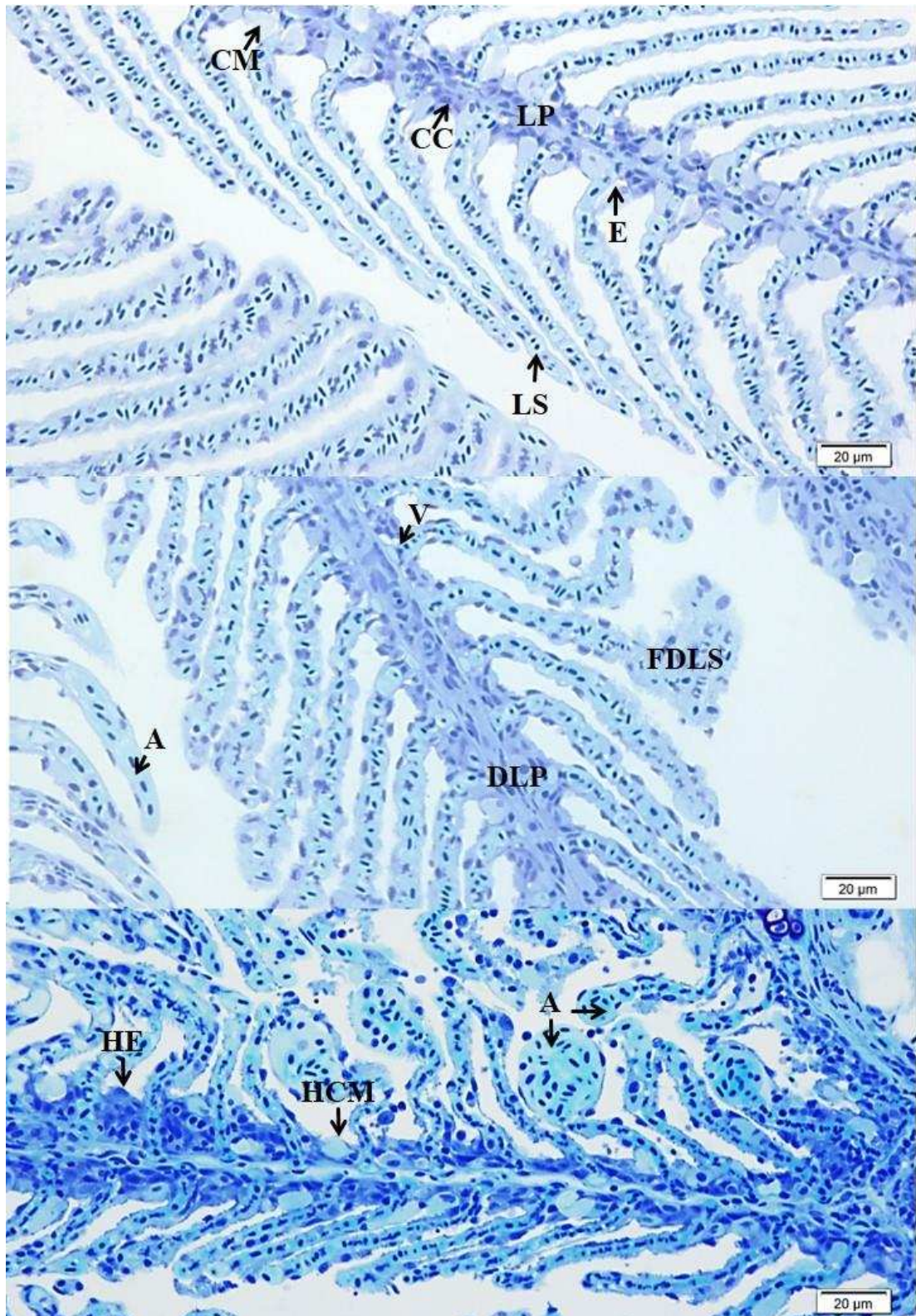


Fig. 1. Organização estrutural dos filamentos branquial de *Astyanax* aff. *bimaculatus*.
 Legenda: Aneurisma (A); Célula de cloreto (CC); Célula mucosa (CM); Deformação da lamela primária (DLP); Edema (E); Fusão e desorganização das lamelas secundárias (FDLS); Hipertrofia das células mucosas (HCM); Hipertrofia do epitélio (HE); Lamela primária (LP); Lamela secundária (LS); Vacuolização (V).

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Não foram observados efeitos dos níveis de cúrcuma para atividade das seguintes enzimas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione-S-transferase (GST) e para a concentração do produto da peroxidação lipídica, malondialdeído (MDA) nas brânquias dos peixes (Tabela VI).

Tabela VI: Atividade antioxidante nas brânquias de *Astyanax aff. bimaculatus* alimentados com dietas contendo cúrcuma

| Atividade antioxidante | Níveis de cúrcuma nas rações experimentais (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 | |
| Superóxido dismutase (U SOD/ mg prt) ^{ns} | 2,43 | 2,98 | 2,55 | 2,71 | 3,05 | 2,23 | 24,39 |
| Catalase (U CAT/ mg prt) ^{ns} | 0,06 | 0,10 | 0,08 | 0,11 | 0,08 | 0,08 | 56,12 |
| Glutathione-S-transferase ($\mu\text{mol}/\text{min}^{-1}\text{g}^{-1}$) ^{ns} | 3,83 | 4,61 | 5,28 | 4,18 | 4,02 | 4,52 | 36,84 |
| Malondialdeído (nmol/mg prt) ^{ns} | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,002 | 0,001 | 91,70 |

^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade

DISCUSSÃO

O aumento da vacuolização nos animais tratados com cúrcuma pode ser resultante de um desequilíbrio entre a taxa de síntese de substâncias na célula e a taxa da liberação destas para o sangue, resultando em acúmulo de substâncias dentro da célula e consequente degeneração celular (Pacheco & Santos, 2002). O aumento da necrose nos animais que receberam cúrcuma pode estar relacionado com a degeneração celular causada pela vacuolização.

O aumento do aneurisma lamelar, do edema, da hipertrofia das células mucosas, da hipertrofia do epitélio e da fusão e desorganização das lamelas secundárias normalmente ocorre em resposta a condições adversas antrópicas (poluição por metais pesados, inseticidas e pesticidas) e/ou naturais (parasitas e

variações abióticas) (Fontainha-Fernandes et al., 2008; Garcia-Santos et al., 2007). Contudo, como neste estudo as condições estavam próximas do ótimo, podemos atribuir tais efeitos à ação irritante da cúrcuma. Apesar da maioria dos estudos que avaliaram a suplementação de cúrcuma na dieta não terem mostrado efeitos tóxicos (Commandeur & Vermeulen, 1996; Cheng et al., 2001; Chauhan, 2002; Chainani-Wu, 2003; Agarwal et al., 2010; Liju et al., 2013), no presente estudo os efeitos adversos da cúrcuma devem ter ocorrido em função da lixiviação de componentes da cúrcuma da ração para a água, como observado por (Potrich et al., 2011) para diversos nutrientes das rações. A observação de filme oleoso na superfície da água dos aquários após o oferecimento das dietas experimentais reforça essa hipótese.

Com base nos valores de HHI observados, os peixes alimentados com 0,0; 20,0 e 40,0 g de cúrcuma.kg⁻¹ apresentaram estrutura normal das brânquias, com alterações histológicas leves. Já os animais que receberam dietas suplementadas com 60,0 g de cúrcuma.kg⁻¹ apresentaram estrutura normal das brânquias, com alterações histológicas moderadas e por fim, nos peixes que receberam 80,0 e 100,0 g de cúrcuma.kg⁻¹ apresentaram brânquias com alterações histológicas pronunciadas. O aumento nos índices IBRA e HHI encontrados nas brânquias dos peixes alimentados com cúrcuma provavelmente ocorreu em função da lixiviação de componentes da cúrcuma da ração para a água. Esses resultados indicam que o epitélio branquial é mais sensível que os demais epitélios, uma vez que a cúrcuma e seus componentes são considerados seguros quanto a sua toxidez (Commandeur & Vermeulen, 1996; Cheng et al., 2001; Chauhan, 2002; Chainani-Wu, 2003; Agarwal et al., 2010; Liju et al., 2013).

Algumas alterações patológicas, como aneurisma lamelar, edema, hipertrofia das células mucosas, hipertrofia do epitélio, fusão e desorganização das lamelas secundárias, a princípio protegem os peixes, uma vez que estas alterações aumentam a distância entre o meio externo e o sangue (Wendelaar Bonga, 1997; Thophon et al., 2003) e diminuem a área de superfície das brânquias (Mallatt, 1985; Karlsson-Norrgren et al., 1985; Hinton & Laurén, 1990; Erkmen & Kolankaya, 2000; Fernandes & Mazon, 2003), o que reduz a entrada de contaminantes. Entretanto, tais efeitos também dificultam as trocas gasosas e os processos relacionados com osmorregulação, ionorregulação, equilíbrio ácido-básico e excreção de amônia. Assim, altas doses de cúrcuma não são seguras para peixes, pois o aumento dessas patologias pode prejudicar a manutenção da homeostase. Com base no valor estimado que minimiza o

índice de brânquias, consideramos segura a utilização de *C. longa* na alimentação de peixes em doses até 30,23 g.kg⁻¹ de dieta, uma vez que nessas concentrações o HHI estimado é menor que 10, o que indica que a estrutura da brânquia é normal, com alterações histológicas leves (Zimmerli et al., 2007, modificado por Van Dyk et al., 2009).

Apesar de diversos estudos terem comprovado a ação antioxidante da cúrcuma, da curcumina e seus derivados (Pulla Reddy & Lokesh 1992; Ramsewak et al., 2000; Priyadarsini et al., 2003; Gülçin 2008; Manju et al., 2012), neste estudo, não foi observado efeito significativo da suplementação de cúrcuma na dieta sobre a peroxidação lipídica nem sobre a atividade das enzimas antioxidantes nas brânquias. A ausência de efeito antioxidante da cúrcuma, no presente estudo, pode estar relacionada ao fato dos animais não estarem expostos a condições adversas que causam estresse oxidativo, como qualidade de água inadequada devido ao excesso de amônia, falta de oxigênio (Azambuja et al., 2011; Zeppenfeld et al., 2014), presença de inseticidas, pesticidas e herbicidas (Sayeed et al., 2003; Monteiro et al., 2006; El-Gawad & Hamid, 2014; Yonar, 2013; Patil & David, 2013) ou metais pesados (Ahmad et al., 2000; Farombi et al., 2007; Zagal & Mazmanci, 2011; Condessa 2014).

Em conclusão, a utilização de *C. longa* na alimentação de peixes é segura em doses de até 30,23 g.kg⁻¹ de dieta.

Referências

- Abele D., Vazquez-Medina J. P. & Zenteno-Savin T. (2012) *Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems*. John Wiley & Son, 548 p.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol* **105**, 121-126.
- Agarwal, R., Goel S. K. & Behari JR. (2010). Detoxification and antioxidant effects of curcumin in rats experimentally exposed to mercury. *Journal of Applied Toxicology* **30**(5), 457-68.
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M. & Raisuddin, S. (2000). Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochimica et Biophysica Acta* **1523**, 37-48.
- Ahmadifar, E., Falahatkar, B. & Akrami, R. (2011). Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue

- composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Ichthyology* **1**(4),1-4.
- Ahsan, H., Parveen, N., Khan, N. U. & Hadi, S. M. (1999). Pro-oxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Chemico-Biological Interactions* **121**(2), 161-75.
- Almeida, R. B. C. (2007). *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação. *Tese* (Doutor em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista, 119p.
- Aly, S. M & Mohamed, M F. (2010). *Echinacea purpurea* and *Allium sativum* as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **94**, 31–39.
- Azambuja, C. R., Mattiazzi, J., Riffel, A. P. K., Finamor, I. A., Garcia, L. O., Heldwein, C. G., Heinzmann, B. M., Baldisserotto, B., Pavanato, M. A. & Llesuy, S. F. (2011). Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. *Aquaculture* **319**, 156–161.
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P. & Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases* **22**, 25–34.
- Björnsson, B. (1994). Effects of stocking density on growth rate of halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared in large circular tanks for three years. *Aquaculture Amsterdam* **123**, 259-270.
- Braga, M. E. M., Leal, P. F., Carvalho, J. O. E. & Meireles, M. A. A. (2003). Comparison of Yield, Composition, and Antioxidant Activity of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts Obtained Using Various Techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 6604-6611.
- Buege, J. A. & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation methods. *Enzymology* **52**, 302-310.
- Campelo, D. A. V., Oliveira, K. R. B., Batiston, W. P., Zuanon, J. A. S., Furuya, W. M., Matsushita, M. & Salaro, A. L. (2014). Conjugated linoleic acid in diets for lambari (*Astyanax altiparanae*). *Aquaculture Nutrition* **1**, 16.

- Chainani-Wu, N. (2003). Safety and Anti-Inflammatory Activity of Curcumin: A Component of Tumeric (*Curcuma longa*). *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* **9**(1), 161-168.
- Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U. & Banerjee, R. K. (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current Science* **87**(1), 10p.
- Chauhan, D. P. (2002). Chemotherapeutic Potential of Curcumin for Colorectal Cancer. *Current Pharmaceutical Design* **8**(19), 1695-706.
- Chaves, W. (2014). Relação Macho e Fêmeas na Reprodução de Lambaris. *Monografia* (Graduação em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, MG.
- Cheng, A. L., Hsu, C. H., Lin, J. K., Hsu, M. M., Ho, Y. F., Shen, T. S., Ko, J. Y., Lin, J. T., Lin, B. R., Ming-Shiang, W., Yu, H. S., Jee, S. H., Chen, G. S., Chen, T. M., Chen, C. A., Lai, M. K., Pu, Y. S., Pan, M. H., Wang, Y. J., Tsai, C. C. & Hsieh, C. Y. (2001). Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Research* **21**(4B), 2895-900.
- Commandeur, J. N. & Vermeulen, N. P. (1996). Cytotoxicity and cytoprotective activities of natural compounds. The case of Curcumin. *Xenobiotica* **26**, 667-680.
- Condessa, S. S. (2014). Estresse oxidativo causado pelo cromo hexavalente e ação da vitamina C em *Astyanax aff. bimaculatus* (Teleostei: Characidae) machos adultos e potencial biossorbitivo da casca de coco verde (*Cocos nucifera* L.). *Tese* (doutorado em Biologia Celular e Estrutural) Viçosa, MG: 203p.
- Corbett, P. A., King, C. K. & Julie A. (2015). Application of a quantitative histological health index for Antarctic rock cod (*Trematomus bernacchii*) from Davis Station, East Antarctica. *Mondon. Marine Environmental Research* **109**, 28-40
- Corredor-Santamaria, W., Mora-Romero, C. C., Escobar-Buitrago, P. S., Cruz-Casallas, P. E. & Velasco-Santamaría, Y. M. (2012). Inducción de micronúcleos y otras anomalías nucleares en *Astyanax gr. bimaculatus* (Pisces: Characidae) expuestas a fenantreno. *Orinoquia [online]* **16**(1), 237-247.
- Cort, C. C. W. D. & Ghisi, N. C. (2014). Uso de alterações morfológicas nucleares em *Astyanax* spp. para avaliação da contaminação aquática. *O Mundo da Saúde, São Paulo* **38**(1), 31-39.

- Cruzat, V. F., Rogero, M. M., Borges, M. C. & Tirapegui, J. (2007). Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* **13**(5), 336-342.
- Dieterich, S., Bieligg, U., Beulich, K., Hasenfuss, G. & Prestle, J. (2000). Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. *Circulation* **101**, 33-9.
- El-Gawad, E.A & Hamid, O. M. A. (2014). Effect of vitamin C dietary supplementation in reducing the alterations induced by fenitrothion in *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry* **40**(3):787-96.
- Erkmen, B. & Kolankaya, D. (2000). Effects of water quality on epithelial morphology in the gill of Capoeta tinca living in two tributaries of Kizilirmak River, Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **64**, 418-425.
- Farombi, E. O., Adelowo O. A., & Ajimoko Y. R. (2007). Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **4**(2), 158-65.
- Fernandes, M. N. & Mazon, A. F. (2003). Environmental pollution and gill morphology. In: Val AL, Kapoor BG (Eds.). *Fish Adaptations, Science Publishers USA* **9**: 203-231.
- Ferreira, P. M. F., Nascimento, L. S., Dias, D. C., Moreira, D. M. V., Salaro, A. L., Freitas, M. B. D., Carneiro, A. P. S. & Zuanon, J. A. S. (2014). Essential Oregano Oil as a Growth Promoter for the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society* **45**, (1).
- Fontainhas-Fernandes, A., Luzio, A., Garcia-Santos, S., Carrola, J. & Monteiro, S. (2008). Gill histopathological alterations in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to treated sewage Water. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **51**(5), 1057-1063.
- Gaikwad, A., Bodhankar, M., Itadwar, A. & Waikar, S. (2014). Antibacterial activity of isoflavone extracted from *Curcuma longa* linn. Zingiberaceae. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* **1**(1), 06-09.
- Garcia-Santos, S., Monteiro, S. M., Carrola, J., Fontainhas-Fernandes, A. (2007). Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **59**, 376–381.

- Gülçin, T. A. I. (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interactions* **174**, 27-37.
- Habig, W. H., Pabst, M. J. & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione-S-Transferases: The First Enzymatic Step In Mercapturic Acid Formation. *The Journal of Biological Chemistry* **249**(22), 7130-7139
- Hasan, M. M., Faruk, M. A. R., Anka, I. Z. & Azad, M. A. K. (2014). Investigation on fish health and diseases in rural pond aquaculture in three districts of Bangladesh. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* **11**, 377-384.
- Hayashi, C., Meurer, F., Boscolo, W. R., Lacerda, C. H. F. & Kavata, L. C. B. (2004). Freqüência de Arraçamento para Alevinos de Lambari do Rabo-Amarelo (*Astyanax bimaculatus*). *Revista Brasileira Zootecnia* **33**(1), 21-26.
- Hinton, D. E. & Laurén, D. J. (1990). Integrative histopathological effects of environmental stressors on fishes. *American Fisheries Society Symposium* **8**, 51-66.
- Karlsson-Norrgren, L., Runn, P. & Haux, C. (1985). Cadmium-induced changes in gill morphology of zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton- Buchanan) and rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* **27**, 81-95.
- Karnovsky, M. J. (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cellular Biology* **27**, 137-138.
- Kubtiza, F. (1999). Tanques-rede, rações e impacto ambiental. *Revista Panorama da Aqüicultura* **9**(51), 44-50.
- Liju, V. B., Jeena, K. & Kuttan, R. (2013). Acute and subchronic toxicity as well as mutagenic evaluation of essential oil from turmeric (*Curcuma longa* L). *Food and Chemical Toxicology* **53**, 52-61.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* **193**, 265-275.
- Mahmoud, M. M. A., El-Lamie, M. M. M., Dessouki, A. A. & Yusuf, M. S. (2014). Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Supplementation on Growth Performance, Feed Utilization, and Resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Pseudomonas fluorescens* Challenge. *Global Research Journal of Fishery Science and Aquaculture* **1**(12), 026-033.

- Mallatt, J. (1985). Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences* **42**, 630–648.
- Manju, M., Akbarsha, M. A. & Oommen, O. V. (2012). In vivo protective effect of dietary curcumin in fish *Anabas testudineus* (Bloch). *Fish Physiology and Biochemistry* **38**, 309-318.
- Meurer, F., Hayashi, C., Boscolo, W. R., Kavata, L. B. & Lacerda C. H. F. (2005). Nível de Arraçamento para Alevinos de Lambari-do-Rabo-Amarelo (*Astyanax bimaculatus*). *Revista Brasileira Zootecnia* **34**(6), 1835-1840.
- Monteiro, D. A., Almeida, J. A., Rantin, F. T. & Kalinin, A. L. (2006). Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C* **143**, 141–149.
- Moreira, D. M. V. (2013). Cúrcuma (*Curcuma longa*) como pigmentante, promotor de crescimento e da saúde de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*). *Dissertação* (Mestrado em Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa, MG. 49p.
- Mukherjee, A., Mandal, B. & Banerjee, S. (2009). Turmeric as a carotenoid source on pigmentation and growth of fantail guppy, *Poecilia reticulata*. *Proceedings of The Zoological Society of London* **62**, 119–123.
- Nascimento, L. S. (2013). Cúrcuma (*Curcuma longa*) em dietas para juvenis de *Trichogaster labiosa*. *Dissertação* (Mestrado em Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa, MG. 59p.
- Nonose, N., Pereira, J. A., Machado, P. R. M., Rodrigues, P. R., Sato, D. T. & Martinez, C. A. R. (2014). Oral administration of curcumin (*Curcuma longa*) can attenuate the neutrophil inflammatory response in zymosan-induced arthritis in rats. *Acta Cirurgica Brasileira* **29**(11), 727-734.
- Nya, E. J. & Austin, B. (2009). Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* **32**, 963-970.
- Pacheco, M. & Santos, M.A. (2002). Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* **53**, 331–47.

- Patil, V. K. & David, M. (2013). Oxidative stress in freshwater fish, *Labeo rohita* as a biomarker of malation exposure. *Environmental Monitoring and Assessment* **185**, 10191-9.
- Pransin, M. (2006). *Using Turmeric (Curcuma longa) in Goldfish (Carassius auratus) Feed*. Master of Science (Aquaculture), Major Aquaculture, Department of Aquaculture, Kasetsart university. 86p.
- Priyadarsini, K. I., Maity, D. K., Naik, G. H., Kumar, M. S., Unnikrishnan, M. K., Satav, J. G. & Mohan, H. (2003). Role of phenolic o-h and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radical Biology and Medicine* **35**(5), 475-484.
- Potrich, F. R., Signor, A. A., Dieterich, T. G., Neu, D. H., Feiden, A., Boscolo, W. R. (2011). Estabilidade e lixiviação de nutrientes com rações de diferentes níveis protéicos. *Revista Cultivando o Saber* **4**, 77-87.
- Pulla Reddy A. C., & Lokesh B. R. (1992). Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Molecular and Cellular Biochemistry* **111**(1/2), 117-124.
- Rajput, N., Naeem, M., Yan, R., Zhong, X. & Wang, T. (2013). Effect of dietary supplementation of curcumin on growth performance, intestinal morphology and nutrients utilization of broiler chicks. *The Journal of Poultry Science* **50**:44-52.
- Ramadan, G., Al-Kahtani, M. A. & El-Sayed, W. M. (2011). Anti-inflammatory and anti-oxidant properties of *Curcuma longa* (Turmeric) versus zingiber officinale (Ginger) rhizomes in rat adjuvant-induced arthritis. *Inflammation*. **34**(4).
- Ramsewak, R. S., Dewitt, D. L. & Nair, M. G. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine* **7**(4), 303-308.
- Rao, Y. V., Das, B. K., Jyotirmayee, P. & Chakrabarti, R. (2006). Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* **20**(3), 263-73.
- Sabbag, O. J., Takahashi, L. S., Silveira, N. A. & Aranha, A. S. (2011). Custos e viabilidade econômica da produção de lambari-do-rabo-amarelo em Monte Castelo/SP: um estudo de caso. *Boletim do Instituto de Pesca* **37**, 307-315.
- Sahu, S., Das, B. K., Mishra, B. K., Pradhan, J., Samal, S. K. & Sarangi, N. (2008). Effect of dietary *Curcuma longa* on enzymatic and immunological profiles of

- rohu, *Labeo rohita* (Ham.), infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture research* **39**, 1720-1730.
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. & Raisuddin, S. (2003). Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicol. Ecotoxicology and Environmental Safety* **56**, 295–301.
- Segner, H., Sundh, H., Buchmann, K., Douxfils, J., Sundell, K. S., Mathieu, C., Ruane, N., Jutfelt, F., Toften, H. & Vaughan, L. (2012). Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish physiology and biochemistry* **38**, 85-105.
- Seo, K., Choi, M., Jung, U. J., Kim, H., Yeo, J., Jeon, S. & Lee, M. (2008). Effect of curcumin supplementation on blood glucose, plasma insulin, and glucose homeostasis related enzyme activities in diabetic db/db mice. *Molecular Nutrition & Food Research* **52**, 995-1004.
- Shalaby, A. M., Khattab, Y. A. & Rahman, A. M. (2006). Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **12**(2):172-201.
- Singh, S., Sankar, B., Rajesh, S., Sahoo, K., Subudhi, E. & Nayak, S. (2011). Chemical composition of turmeric oil (*Curcuma longa* L. cv. Roma) and its antimicrobial activity against eye infecting pathogens. *Journal of Essential Oil Research* **23**(6), 11-18.
- Souza-Filho, J. J. & Cerqueira, V. R. (2003). Influência da densidade de estocagem no cultivo de juvenis de robalo-flecha mantidos em laboratório. *Pesquisa agropecuária brasileira* **38**, 1317-1322.
- Srivastava, R. M., Singh, S., Dubey, S. K., Misra, K. & Khar, A. (2011). Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. *International Immunopharmacology* **11**, 331–341.
- Sueth-Santiago, V., Mendes-Silva, G. P., Decoté-Ricardo, D. & Lima, M. E. F. (2015). Curcumina, o pó dourado do açafreão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. *Química Nova* **38**(4), 538-552.
- Abdel-Tawwab, M. A., Ahmad, M. H., Seden, M. E. & Sakr, S. F. M. (2010). Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of

- Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society* **41**(2): 203-213.
- Thophon, S., Kruatrachue, M., Upatham, E. S., Pokethitiyook, P., Sahaphong, S. & Jaritkhuan, S. (2003). Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution* **121**, 307-320.
- Van Dyk, J. C., Marchand, M. J., Smit, N. J. & Pieterse, G. M. (2009). A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. *African Journal of Aquatic Science* **34**, 273-282.
- Varalakshmi, C. H., Ali, A. M., Pardhasaradhi, B. V., Srivastava, R. M., Singh, S. & Khar, A. (2008). Immunomodulatory effects of curcumin: In-vivo. *International Immunopharmacology*, **8**, 688–700.
- Wendelaar Bonga, S. E. (1997). The stress response of fish. *Physiological Reviews* **77**, 591-645.
- Wickenberg, J., Ingemansson, S. L. & Hlebowicz, J. (2010). Effects of *Curcuma longa* (turmeric) on postprandial plasma glucose and insulin in healthy subjects. *Nutrition Journal* **9**, 43p.
- Yonar, S. M. (2013). Toxic effects of malation in carp, *Cyprinus carpio carpio*: Protective role of lycopene. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **97**:223–229.
- Zagal, A. & Mazmanci, B. L. (2011). Oxidative stress response in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to textile mill effluent. *Toxicology and Industrial Health* **27**, 81–85.
- Zeppenfeld, C. C., Toni, C., Becker, A. G., Miron, D. S., Parodi, T. V., Heinzmann, B. M., Barcellos, L. J. G., Koakoski, G., Rosa, J. G. S., Loro, V. L., Cunha, M. A. & Baldisserotto, B. (2014). Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *Aquaculture* **418–419**, 101–107.
- Zheng, Z. I., Tan, J. Y. W., Liu, H. Y., Zhou, X. H., Xiang, X. & Wang, K. Y. (2009). Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* **292**:214-218.

Zimmerli, S., Bernet, D., Burkhardt-Holm, P., Schmidt-Posthaus, H., Vonlanthen, P., Wahli, T. & Segner, H. (2007). Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline of brown trout catches. *Aquatic Science* **69**, 11-25.

CAPÍTULO 3 - *Curcuma longa* em dietas para *Astyanax aff. bimaculatus* como preparativo para o transporte

Artigo redigido segundo as normas da revista *Aquaculture*.

***Curcuma longa* em dietas para *Astyanax aff. bimaculatus* como preparativo para o transporte**

Resumo: A cúrcuma, *Curcuma longa*, apresenta propriedades antiinflamatória, imunestimulante, antioxidante, antimicrobiana e efeitos sobre o metabolismo energético. Assim, objetivamos avaliar o efeito da cúrcuma nas respostas de estresse e estado antioxidante de juvenis de lambari-do-rabo-amarelo submetidos ao transporte. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com seis tratamentos (0,0; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0 g de cúrcuma em pó kg⁻¹) e quatro repetições. Os peixes (0,83 ± 0,04 g) foram distribuídos em 24 aquários contendo 80 litros de água, na densidade de 0,5 peixes L⁻¹, e alimentados até a saciedade aparente, três vezes ao dia, durante 60 dias. Ao final desse período, para a realização do transporte foram utilizados 24 sacos plásticos com 15 peixes cada, contendo 1,5 litros de água, preenchidos com oxigênio. Os peixes foram mantidos nos sacos plásticos durante 24 horas, no porta-malas de um automóvel. Houve efeito cúbico (p<0,01) da cúrcuma sobre a taxa de sobrevivência dos peixes. Entretanto, pelo modelo descontínuo LRP (*Linear Response Plateau*), que melhor se ajustou aos dados (p<0,01), a menor concentração estimada de cúrcuma que maximiza a taxa de sobrevivência foi igual a 16,67 g.kg⁻¹. Houve efeito quadrático da cúrcuma sobre o lactato sanguíneo, sendo o valor estimado para minimizar essa variável igual a 64,7 g de cúrcuma.kg⁻¹. Foi observado efeito quadrático da cúrcuma sobre a atividade da enzima superóxido dismutase e para a concentração do produto da peroxidação lipídica, malondialdeído nas brânquias dos peixes, sendo os valores que minimizam essas variáveis de 42,50 e 83,33 g de cúrcuma.kg⁻¹, respectivamente. Dessa forma, concluímos que a *Curcuma longa* minimiza as respostas de estresse e melhora o estado antioxidante em juvenis de *Astyanax aff. bimaculatus* submetidos ao transporte.

Palavras-chave: Curcumina, estresse oxidativo, extratos vegetais, lambari-do-rabo-amarelo.

1. Introdução

Entre as espécies de peixes cultivados, o lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax aff. bimaculatus*, se sobressai em função de sua alta taxa reprodutiva (Porto-Foresti et al., 2010), hábito alimentar onívoro (Adrian et al., 2001) e boa aceitação de dietas processadas. Atualmente o lambari é comercializado principalmente como isca viva (Silva et al., 2011), com franca expansão do mercado como petisco. Além disso, apresenta potencial para ser comercializado enlatado (Dutra et al., 2012).

No processo produtivo de lambaris, o transporte é utilizado em várias etapas, como na comercialização de pós larvas, alevinos, juvenis e matrizes (Silva et al., 2011). A garantia de sobrevivência dos peixes até sua chegada ao consumidor depende principalmente das condições fisiológicas dos mesmos e das condições de transporte. Durante o transporte, seja pela utilização de sacos plásticos com água e oxigênio (Snow et al., 1978; Vollmann-Schipper, 1978) ou pela utilização de caminhões adaptados (*transfish*) podem ocorrer o acúmulo de metabólitos como a amônia e o CO₂, alterações do pH e depleção dos níveis de oxigênio dissolvido na água (Amend et al., 1982; Carvalho-Gomes et al., 2003; Luz et al., 2013). Essas alterações na qualidade da água representam fatores que podem causar perda da homeostase e estressar os peixes, podendo levar a prejuízos por mortalidade.

Dentre as alternativas para reduzir as perdas associadas ao transporte, têm sido utilizados aditivos na água como cloreto de sódio (Carvalho-Gomes et al., 2003; Brandão et al., 2008), anestésicos (Inoue et al., 2010; Parodi et al., 2014; Becker et al., 2015; Moreira et al., 2015), bactérias nitrificantes (Dhanasir et al., 2011) e probióticos (Carvalho et al. 2009; Gomes et al., 2008, 2009). Entretanto, o estado fisiológico dos peixes antes do transporte é um importante fator na redução de perdas por mortalidade (Noga, 2000), uma vez que a taxa de sobrevivência dos peixes após o transporte é influenciada pelos procedimentos antes do mesmo (Harmon, 2009). Dentre os procedimentos preparativos para o transporte, o uso de aditivos na dieta ainda tem sido pouco explorado. A utilização desses aditivos na dieta dos peixes pode contribuir para melhorar o seu estado fisiológico, pois elas melhoram a atividade do sistema imune (Rao et al., 2006; Sahu et al., 2008), aumentam a resistência ao estresse (Zheng et al., 2009; Aly e Mohamed, 2010; Zeppenfeld et al., 2014) e diminuem a incidência de patologias (Sahu et al., 2008).

Diferentes classes de aditivos são utilizadas em dietas para animais, onde destacam-se os antibióticos, probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos, enzimas e

extratos vegetais. Dentre as diferentes classes de aditivos que são utilizadas em dietas para animais destacam-se os extratos vegetais por apresentarem menor toxicidade, melhor biodegradabilidade e menores riscos de desenvolvimento de resistência bacteriana quando comparados aos antibióticos. A cúrcuma (*Curcuma longa*), também conhecida como açafrão, apresenta potencial para atuar como aditivo em dietas, em função de ser rica em óleos essenciais (principalmente os alcoóis sesquiterpênicos e cetonas tumerona, α -tumerona e β -zingibereno) e os pigmentos curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina (Valente, 1998; Naghetini, 2006). Tais substâncias lhe conferem grande diversidade de propriedades como: antiinflamatória (Mesa et al., 2000; Araújo e Leon, 2001; Luthra et al., 2001; Chattopadhyay et al., 2004), imunoestimulante (Mesa et al., 2000; Luthra et al., 2001; Hauptli, 2006), antioxidante (Mesa, et al., 2000; Araújo e Leon, 2001; Luthra et al., 2001; Chattopadhyay et al., 2004; Paolinelli et al. 2006), antimicrobiana (Mesa et al., 2000; Araújo e Leon, 2001; Luthra et al., 2001; Chattopadhyay et al., 2004), além de efeitos desintoxicantes do organismo (Valente, 1998) e diminuição dos níveis de glicose no sangue (Chattopadhyay et al., 2004; Wickenberg, et al., 2010).

Assim, com este estudo objetivamos avaliar o efeito da cúrcuma nas respostas de estresse e estado antioxidante de juvenis de lambari-do-rabo-amarelo submetidos ao transporte.

2. Material e Métodos

2.1 Animais e condições experimentais

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), protocolo nº 93/2013. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de seis dietas práticas isoproteicas e isoenergéticas (Tabela 1) contendo 0,00; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0 g de rizoma de cúrcuma em pó.kg⁻¹.

Tabela 1. Formulação das dietas experimentais

| Ingrediente | Níveis de cúrcuma nas dietas experimentais (g.kg ⁻¹) | | | | | |
|---|--|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 |
| Farelo de soja | 707,0 | 710,0 | 713,0 | 715,0 | 715,0 | 714,0 |
| Fubá de milho | 102,7 | 99,2 | 96,2 | 93,6 | 78,6 | 64,6 |
| Cúrcuma | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 |
| Farelo de trigo | 100,0 | 80,0 | 60,0 | 40,0 | 35,0 | 30,0 |
| DL - Metionina | 4,6 | 4,6 | 4,6 | 4,7 | 4,7 | 4,7 |
| Óleo de soja | 40,0 | 40,0 | 40,0 | 40,0 | 40,0 | 40,0 |
| Fosfato bicálcico | 39,0 | 39,5 | 39,5 | 40,0 | 40,0 | 40,0 |
| Sal comum | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| Supl. vitam/min ^a | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| BHT ^b | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Composição química das dietas (g.kg ⁻¹) | | | | | | |
| Energia bruta ^c | 4100.93 | 4099.18 | 4099.41 | 4097.68 | 4097.62 | 4097.39 |
| Proteína bruta ^c | 330.7 | 330.7 | 330.7 | 330.3 | 330.8 | 331.0 |
| Extrato etéreo ^c | 77.2 | 77.5 | 77.7 | 78.0 | 78.2 | 78.4 |
| Fibra Bruta ^c | 52.0 | 52.3 | 52.7 | 53.0 | 53.8 | 54.7 |
| Cálcio total ^c | 11.5 | 11.7 | 11.7 | 11.8 | 11.8 | 11.8 |
| Fósforo disponível ^d | 7.1 | 7.1 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |

^a Níveis de garantia por quilograma do produto: Vitamina (Vit.) A, 1.200.000 UI; Vit. D3; 200.000 UI; Vit. E, 12.000 mg; Vit. K3, 2.400 mg; Vit. B1, 4.800 mg; Vit. B2, 4.800 mg; Vit. B6, 4.000 mg; Vit. B12, 4.800 mg; Ac. Fólico, 1.200 mg; Pantotenato Ca, 12.000 mg; Vit. C, 48.000 mg; Biotina, 48 mg; Colina, 65.000 mg; Niacina, 24.000 mg; Ferro, 10.000 mg; Cobre, 6.000 mg; Manganês, 4.000 mg; Zinco, 6.000 mg; Iodo, 20 mg; Cobalto, 2 mg; Selênio, 20 mg.

^b Butil hidroxi tolueno (antioxidante).

^c Valores calculados de acordo com a composição química dos alimentos (Rostagno et al., 2005).

^d Valores calculados para tilápia do Nilo (Miranda et al., 2000).

A cúrcuma em pó foi previamente misturada aos demais ingredientes da ração. A mistura foi peletizada, seca em estufa de ventilação forçada (40 °C por 48h), quebrada em pequenos pedaços, peneirada e estocada em freezer a -20°C.

Juvenis de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax aff. bimaculatus*) com peso médio de $0,83 \pm 0,04$ g foram mantidos em aquários contendo 80L de água, em sistema estático com renovação parcial da água (30% do volume semanalmente), dotados de aeração, filtro biológico, temperatura controlada por aquecedores e termostatos (27 °C), em densidade de estocagem de 0,5 peixes L⁻¹ de água. Os animais foram alimentados com as dietas experimentais durante 60 dias.

Após o período de tratamento com as dietas, os peixes foram mantidos em jejum por 48h e então alojados em 24 sacos plásticos de 35,5 x 25 cm, contendo 1,5 L de água (15 peixes/saco) e cerca de dois litros de oxigênio introduzido por mangueira acoplada a um cilindro de oxigênio. Cada saco plástico foi considerado uma unidade experimental.

Os peixes permaneceram nos sacos plásticos durante 24 horas, seguindo metodologia descrita por Teo et al. (1989), os quais foram mantidos no porta-malas de um automóvel, que alternou períodos em movimento e parado.

2.2 Qualidade de água

Após a simulação do transporte, os sacos plásticos foram abertos, e foi quantificada a mortalidade dos animais. Amostras de água foram tomadas para as seguintes análises: temperatura e oxigênio dissolvido, aferidos por meio de oxímetro digital, pH por meio de potenciômetro portátil, amônia total, por meio de *kits* colorimétricos. A amônia tóxica (NH₃) foi calculada com base na fórmula:

$$\text{Amônia tóxica} = \frac{\text{Amônia total}}{1 + 10^{\{(0,0902 - \text{pH}) + [2730 / (273,2 + ^\circ\text{C})]\}}}$$

2.3 Respostas de estresse

Para mensurar a glicose e o lactato sanguíneos, dois peixes/aquário (oito peixes/tratamento) foram eutanasiados por excesso de anestésico (400mg de óleo de cravo L⁻¹ de água), tiveram o pedúnculo caudal cortado com bisturi e o sangue foi depositado diretamente nas tiras reagentes do aparelho monitor digital (Accutrend® Plus Roche).

2.4 Atividade Antioxidante

Para a análise da atividade das enzimas antioxidantes e concentração dos metabólitos da ação de espécies oxidantes nos peixes, foi realizado um pool de fígados (dez peixes) e coletadas duas brânquias, por repetição, para a obtenção da quantidade mínima de 100 mg de amostra. As amostras foram homogeneizadas em tampão fosfato pH 7,4 e centrifugadas a 12000 g a 4 °C por 10 minutos.

Para que as atividades das enzimas e concentração de malondialdeído fossem expressas em unidades da enzima por mg de proteína, foi determinada a concentração da proteína total dos homogenatos segundo Lowry et al. (1951), utilizando-se albumina de soro bovino como padrão.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada pela taxa de queda do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (10 mmol.L^{-1}) em espectrofotômetro a 240 nm durante 60 s (Aebi, 1984). A atividade da CAT foi expressa em U CAT.mg prt.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada em leitor de Elisa em 570 nm, baseado na capacidade desta enzima em catalisar a reação do superóxido O_2^- em peróxido de hidrogênio e, assim, diminuir a razão de auto-oxidação do pirogalol (Dieterich et al., 2000 modificado). A atividade da SOD foi expressa em U SOD.mg prt.

A atividade da glutathione-S-transferase (GST) foi mensurada através da formação do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno e estimada pela variação da absorbância em 340 nm por 60 s. A formação do conjugado ocorre espontaneamente no substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) em reação não-enzimática, sendo acelerada pela atividade da enzima GST. Uma unidade (U) de GST equivale à quantidade de enzima que forma 1 mol do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno por minuto. O coeficiente de extinção molar do CDNB $340 = 9,6 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ foi utilizado para os cálculos (Habig et al., 1974). A atividade da GST foi expressa em $\mu\text{mol min}^{-1}.\text{g}^{-1}$.

Para determinação dos metabólitos da ação de espécies oxidantes (indicativo da peroxidação lipídica) foi feita a mensuração da concentração de malondialdeído (MDA). Ao sobrenadante foi adicionado solução TBARS (ácido tricloroacético 15% e 0,375% de ácido tiobarbitúrico, e HCL 0,25 N) em banho-maria por 15 minutos, resfriado, centrifugado a 10000 g por 10 minutos e o sobrenadante mensurado em espectrofotômetro a 535 nm (Buege e Aust, 1978). Os cálculos foram feitos utilizando-

se o coeficiente de extinção molar $1,56 \times 10^{-5} \text{ M.cm}^{-1}$. A concentração do MDA foi expressa em nmol.mg prt.

A avaliação do efeito dos níveis de cúrcuma na dieta sobre as variáveis de qualidade de água, taxa de sobrevivência, respostas de estresse e atividade antioxidante foram realizadas por meio de análise de variância e de regressão polinomial e/ou LRP (*Linear Response Plateau*) ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software SAEG (2007). Para verificar o pressuposto de normalidade dos erros foi aplicado o teste de Lilliefors. Para verificar a homogeneidade das variâncias dos erros entre os tratamentos, foi aplicado o teste de Bartlett. Para escolha do modelo de regressão, foi considerado a significância dos coeficientes de regressão, o comportamento das variáveis em estudo e a magnitude dos coeficientes de determinação, calculados em função da soma quadrados da regressão/soma quadrados de tratamentos.

3. Resultados

Houve efeito cúbico ($p < 0,01$) da cúrcuma sobre a taxa de sobrevivência dos peixes. Entretanto, pelo modelo descontínuo LRP (*Linear Response Plateau*), que melhor se ajustou aos dados ($p < 0,01$), a menor concentração estimada de cúrcuma que maximiza a taxa de sobrevivência foi igual a $16,67 \text{ g.kg}^{-1}$ (Fig. 1). Houve efeito quadrático da cúrcuma sobre o lactato sanguíneo, sendo o valor estimado para minimizar essa variável igual a $64,7 \text{ g}$ de cúrcuma. kg^{-1} . Houve efeito linear decrescente da cúrcuma sobre a glicose sanguínea, contudo com valor de R^2 muito baixo ($R^2 = 55,86\%$) sendo então desconsiderada (Tabela 2).

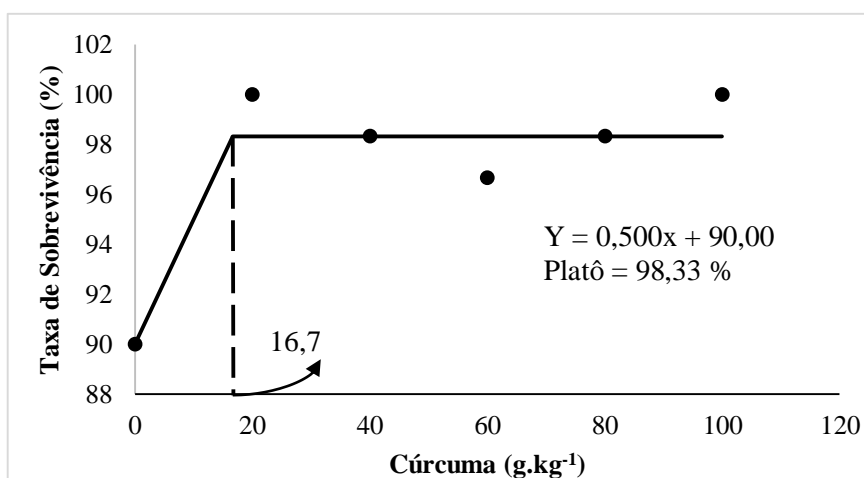


Fig. 1. Efeito da cúrcuma na dieta sobre a taxa de sobrevivência de *Astyanax aff. bimaculatus* após transporte.

Tabela 2: Respostas de estresse de *Astyanax aff. bimaculatus* alimentados com dietas contendo cúrcuma, após transporte

| Respostas de estresse | Níveis de cúrcuma nas rações experimentais (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|--|---|--------|--------|-------|-------|--------|-----------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 | |
| Taxa de sobrevivência (TS) (%) ¹ | 90,00 | 100,00 | 98,33 | 96,67 | 98,33 | 100,00 | 4,92 |
| Glicose (G) (mg/dl) ² | 107,75 | 82,63 | 102,00 | 70,13 | 75,75 | 74,38 | 25,47 |
| Lactato (L) (mmol/l) ³ | 2,58 | 2,05 | 1,60 | 1,20 | 1,27 | 1,57 | 36,49 |

¹ TS = 0,500x + 90,000 (p= 0.0001)

² G = - 0,3134x + 101,1071, R² = 55,86%, (p= 0.0123)

³ L = 0,0003x² - 0,0388x + 2,6348, R² = 97,82%, (p= 0.001)

^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade

Foi observado efeito quadrático da cúrcuma sobre a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e para a concentração do produto da peroxidação lipídica, malondialdeído (MDA) nas brânquias dos peixes, sendo os valores que minimizam essas variáveis de 42,50 e 83,33 g de cúrcuma.kg⁻¹, respectivamente. Não foi observado efeito da cúrcuma para a atividade das enzimas catalase (CAT) e glutational-S-transferase (GST) nas brânquias (Tabela 3).

Tabela 3: Atividade antioxidante nas brânquias de *Astyanax aff. bimaculatus* alimentados com dietas contendo cúrcuma, submetidos aos estresse pelo transporte

| Atividade antioxidante | Níveis de cúrcuma nas rações experimentais (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|--|---|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 | |
| Superóxido dismutase (U SOD.mg prt) ¹ | 0,422 | 0,377 | 0,342 | 0,303 | 0,431 | 0,523 | 19,98 |
| Catalase (U CAT.mg prt) ^{ns} | 0,014 | 0,015 | 0,15 | 0,13 | 0,14 | 0,17 | 29,64 |
| Glutational-S- transferase (μmol.min ⁻¹ g ⁻¹) ^{ns} | 1,140 | 1,890 | 1,640 | 1,590 | 1,758 | 1,453 | 35,07 |

| | | | | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Malondialdeído (nmol.mg prt) ² | 0,003 | 0,002 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 38,67 |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|

$$^1 \text{SOD} = 6\text{E-}05x^2 - 0,0051x + 0,4342, R^2 = 90,17\% (p = 0,0016)$$

$$^2 \text{MDA} = 3\text{E-}07x^2 - 5\text{E-}05x + 0,0027, R^2 = 94,10\% (p = 0,0001)$$

^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade

Foi observado efeito cúbico da cúrcuma sobre a atividade da enzima catalase (CAT) e para malondialdeído (MDA) no fígado dos peixes, contudo com valor de R² muito baixo (R² = 48,78 e 46,45%, respectivamente), sendo então desconsideradas. Não foi observado efeito da cúrcuma para a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutaciona-S-transferase (GST) no fígado (Tabela 4).

Tabela 4: Atividade antioxidante no fígado de *Astyanax aff. bimaculatus* alimentados com dietas contendo cúrcuma, submetidos aos estresse pelo transporte

| Atividade antioxidante | Níveis de cúrcuma nas rações experimentais | | | | | | CV (%) |
|---|--|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 | |
| Superóxido dismutase (U SOD.mg prt) ^{ns} | 0,588 | 1,148 | 0,960 | 0,623 | 0,675 | 0,883 | 40,40 |
| Catalase (U CAT.mg prt) ¹ | 0,790 | 1,638 | 0,860 | 1,218 | 0,673 | 0,860 | 33,61 |
| Glutaciona-S-transferase ($\mu\text{mol.min}^{-1}\text{g}^{-1}$) ^{ns} | 4,473 | 3,158 | 6,223 | 5,063 | 5,655 | 4,275 | 43,53 |
| Malondialdeído (nmol.mg prt) ² | 0,008 | 0,007 | 0,005 | 0,020 | 0,007 | 0,003 | 58,85 |

$$^1 \text{CAT} = 7\text{E-}06x^3 - 0,0011x^2 + 0,0434x + 0,8638, R^2 = 48,78\% (p = 0,0077)$$

$$^2 \text{MDA} = -9\text{E-}08x^3 + 1\text{E-}05x^2 - 0,0002x + 0,0076, R^2 = 46,45\% (p = 0,0020)$$

^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade

Com relação à qualidade da água de transporte, não houve efeito significativo da cúrcuma sobre as variáveis analisadas (Tabela 5).

Tabela 5: Qualidade da água de transporte de *Astyanax aff. bimaculatus* alimentados com cúrcuma

| Qualidade da água | Níveis de cúrcuma nas rações experimentais (g.kg ⁻¹) | | | | | | CV (%) |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 0,0 | 20,0 | 40,0 | 60,0 | 80,0 | 100,0 | |
| Amônia tóxica (ppm) ^{ns} | 0,012 | 0,009 | 0,012 | 0,011 | 0,009 | 0,009 | 27,85 |
| pH ^{ns} | 6,55 | 6,45 | 6,55 | 6,50 | 6,40 | 6,45 | 2,02 |
| Oxigênio dissolvido (mg/L) ^{ns} | 14,68 | 13,98 | 16,27 | 14,06 | 15,02 | 13,91 | 15,37 |

4. Discussão

O aumento do lactato plasmático é causado por diversos fatores associados ao estresse agudo como hipóxia, mudanças bruscas de temperatura, captura, manejo e transporte (Oba et al., 2009). Assim, os menores níveis de lactato sanguíneo nos peixes alimentados com cúrcuma representam menores respostas de estresse causadas pelo transporte. O efeito da cúrcuma na redução das respostas de estresse pode estar relacionado à diminuição dos níveis de cortisol e de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) no plasma, uma vez que a produção de lactato está associada à estimulação adrenérgica (Garcia-Alvarez et al., 2014). Zafir e Banu (2007) observaram redução da atividade da enzima lactato desidrogenase em ratos alimentados com cúrcuma quando submetidos a estresse por contenção. Em camundongos expostos ao estresse pelo teste de natação forçada, o extrato etanólico de cúrcuma reverteu o aumento nos níveis de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e cortisol, bem como reduziu as concentrações de serotonina, adrenalina e dopamina no cérebro dos animais (Xia et al., 2007).

A redução na concentração do produto da peroxidação lipídica, o malondialdeído, com a suplementação de cúrcuma, e o aumento na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em níveis acima de 42,50 g de cúrcuma.kg⁻¹ mostrou que a cúrcuma atuou como antioxidante nas brânquias de *Astyanax aff. bimaculatus*. Este efeito pode ser devido à capacidade da curcumina de neutralizar os radicais livres, inibindo assim a peroxidação lipídica, além de manter a atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT (Pulla Reddy e Lokesh, 1992; Ramsewak et al.,

2000; Balogun et al., 2003; Braga et al., 2003; Priyadarsini et al., 2003; Gülçin, 2008; Ramadan et al., 2011).

Esses resultados demonstram que a suplementação de cúrcuma na dieta, como preparativo para o transporte, melhorou a sobrevivência e reduziu o estresse decorrente do transporte em *Astyanax aff. bimaculatus*. A maior sobrevivência dos peixes alimentados com cúrcuma pode representar maior rentabilidade para os produtores. Além disso, a redução nas respostas de estresse, decorrente do transporte, pode melhorar a capacidade adaptativa dos peixes ao novo ambiente, e conseqüentemente melhorar a capacidade de suportar novos fatores estressores.

5. Conclusão

Concluimos que a *Curcuma longa* minimiza as respostas de estresse e melhora o estado antioxidante em juvenis de *Astyanax aff. bimaculatus* submetidos ao transporte.

Referências

- Adrian, I.F., Silva, H.B.R., Peretti, D. 2001. Dieta de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Characiformes, Characidae), da área de influência do reservatório de Corumbá, Estado de Goiás, Brasil. *Acta Sci.* 23:435-440.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105, 121-126.
- Aly, S.M., Mohamed, MF. 2010. Echinacea purpurea and Allium sativum as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94, 31–39.
- Amend, N.F., Crov, T.R., Goven. B.A., Johnson, K.A., McCarthy, D.H. 1982. Transportation of fish in closed systems: methods to control ammonia, carbon dioxide, pH and bacterial growth. *Trans. Am. Fish. Soc.* 111, 603–611.
- Araújo, C.A.C., Leon, L.L. 2001. Biological Activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 96(5), 723-728.
- Balogun, E., Hoque, M., Gong, P., Killeen, E., Green, C., Foresti, R., Motterlini, R. 2003. Curcumin activates the haem oxygenase-1 gene via regulation of Nrf2 and the antioxidant-responsive element. *Biochem. J.* 371, 887-895.
- Becker, A.G., Parodi, T.V., Zeppenfeld, C.C., Salbego, J., Cunha, M.A., Heldwein, C.G., Loro, V.L., Heinzmann, B.M. Baldisserotto, B. 2015. Pre-sedation and

- transport of *Rhamdia quelen* in water containing essential oil of *Lippia alba*: metabolic and physiological responses. *Fish Physiol Biochem*, 1-9.
- Braga, M.E.M., Leal, P.F., Carvalho, J.O.E., Meireles, M.A.A. 2003. Comparison of Yield, Composition, and Antioxidant Activity of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts Obtained Using Various Techniques. *J. Agric. Food Chem.* 51:6604-6611.
- Brandão, F.R., Gomes, L.D.C., Crescêncio, R., Carvalho, E.D.S. 2008. Uso de sal durante o transporte de juvenis (1kg) de pirarucu (*Arapaima gigas*). *Acta Amaz*, 38, 767-772.
- Buege, J.A., Aust, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation methods. *Enzymology* 52, 302-310.
- Carvalho, E.S., Gomes, L.C., Brandão, F.R., Crescêncio, R., Chagas, E.C., Anselmo, A.A.S. 2009. Uso do probiótico Efinol® L durante o transporte de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Arq. Bras. Med*, 61(6), 1322-1327.
- Carvalho-Gomes, L., Araujo-Lima, C.A.R.M., Roubach, R., Urbinati, E.C. 2003. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. *Pesq. agropec. bras.*, 38(2), 283-290.
- Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., Banerjee, R.K. 2004. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current Science*, 87(1), 10.
- Dhanasiri, A.K.S., Kiron, V., Fernandes, J.M.O., Bergh, O., Powell, M.D. 2011. Novel application of nitrifying bacterial consortia to ease ammonia toxicity in ornamental fish transport units: trials with zebrafish. *J Appl Microbiol* 111:278–292.
- Dieterich, S., Bieligk, U., Beulich, K., Hasenfuss, G., Prestle, J. 2000. Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. *Circulation* 101, 33-9.
- Dutra, F.M., Machado, W.J., Caetano, M.S., Gobbo, D.A. 2012. Avaliação sensorial do processamento em conserva, utilizando-se as espécies: tilápia (*Oreochromis niloticus*), lambari (*Astianax* spp) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Rev. Bras. Prod. Agroind.* 14(3):239-244.
- Garcia-Alvarez M., Marik, P., Bellomo, R. 2014. Stress hyperlactataemia: present understanding and controversy . *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2(4), 339-347.

- Gomes, L.C., Brinn, R.P., Marcon, J.L., Dantas, L.A., Brandão, F.R., Abreu, J.S., McComb, D.M., Baldisserotto, B. 2008. Using Efinol® L during transportation of marbled hatchetfish, *Carnegiella strigata* (Günther). *Aquacult Res*, 39(12), 1292-1298.
- Gomes, L.C., Brinn, R.P., Marcon, J.L., Dantas, L.A., Brandão, F.R., Abreu, J.S., Lemos, P.E.M., McComb, D.M., Baldisserotto, B. 2009. Benefits of using the probiotic Efinol® L during transportation of cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi* (Schultz), in the Amazon. *Aquaculture Research*, 40(2), 157-165.
- Gülçin, T.A.I. 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interactions* 174, 27-37.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. 1974. Glutathione-S-Transferases: The First Enzymatic Step In Mercapturic Acid Formation. *The Journal of Biological Chemistry* 249(22), 7130-7139
- Harmon, T.S. 2009. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Reviews in Aquaculture*, 1:58–66.
- Hauptli, L. 2006. Extratos vegetais para porcas e leitões na creche. [Dissertação de mestrado] Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 66p.
- Inoue, L.A.K.A., Hackbarth, A., Moraes, G. 2010. Benzocaína sobre respostas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte em sacos plásticos. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 11(3).
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
- Luthra, P.M., Singh, R., Chandra, R. (2001). Therapeutic uses of *Curcuma longa* (turmeric). *Indian Journal of Clinical Biochemist.* 16(2), 153-160.
- Luz, R.K., Costa, L.S., Ribeiro, P.A.P., Silva, R.F., Rosa, P.V. 2013. Influência do tempo de transporte para juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). *Arq. bras. med. vet. zootec*, 65(6), 1895-1898.
- Mesa, M.D., Ramírez-tortosa, M.C., Aguilera, C.M., Ramírez-Boscá, A.Y., Gil, A. 2000. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars Pharmaceutica.* 41(3), 307-321.
- Moreira, A.G., Coelho, A.A., Albuquerque, L.F., Moreira, R.T., Farias, W.R. 2015. Efeito do eugenol como agente mitigador do estresse no transporte de juvenis de tilápia do Nilo. *Pesq. Vet. Bras.*, 35(11), 893-898.

- Naghetini, C.C. 2006. Caracterização físico-química e atividade antifúngica dos óleos essenciais da cúrcuma. [Dissertação de Mestrado] Universidade Federal de Minas Gerais, MG. 61p.
- Noga, E.J. 2000. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. Iowa State University Press, Ames.
- Oba, E.T., Mariano, W.S., Santos, L.R.B. 2009. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo sustentável. In: Tavares-Dias, M. *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Embrapa Amapá, Macapá.
- Paolinelli, S.T., Reen, R., Santos, T.M. 2006. *Curcuma longa* ingestion protects *in vitro* hepatocyte membrane peroxidation. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 42(3).
- Parodi, T.V., Cunha, M.A., Becker, A.G., Zeppenfeld, C.C., Martins, D.I., Koakoski, G., Barcellos, L.G., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B. 2014. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Fish Physiol Biochem*, 40(2), 323-334.
- Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R.B., Foresti, F. 2010. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: Baldisserotto B., Gomes L.C. (Eds), *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*, Santa Maria: Editora UFSM, Santa Maria, RS, p.105-120.
- Priyadarsini, K.I., Maity, D.K., Naik, G.H., Kumar, M.S., Unnikrishnan, M.K., Satav, J.G., Mohan, H. 2003. Role of phenolic o-h and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radical Biology and Medicine* 35(5), 475-484.
- Pulla Reddy A.C., Lokesh B.R. 1992. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Molecular and Cellular Biochemistry* 111(1/2), 117-124.
- Ramadan, G., Al-Kahtani, M.A., El-Sayed, W.M. 2011. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Curcuma longa* (Turmeric) versus *zingiber officinale* (Ginger) rhizomes in rat adjuvant-induced arthritis. *Inflammation*. 34(4).
- Ramsewak, R.S., Dewitt, D.L., Nair, M.G. 2000. Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine* 7(4), 303-308.

- Rao, Y.V., Das, B.K., Jyotirmayee, P., Chakrabarti, R. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* 20(3), 263-73.
- Sahu, S., Das, B.K., Mishra, B.K., Pradhan, J., Samal, S.K., Sarangi, N. 2008. Effect of dietary *Curcuma longa* on enzymatic and immunological profiles of rohu, *Labeo rohita* (Ham.), infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture research* 39, 1720-1730.
- Silva, N.J.R., Lopes, M.C., Fernandes, J.B.K., Henriques, M.B. 2011. Caracterização dos sistemas de criação e da cadeia produtiva do lambari no estado de são paulo, brasil. *Informações Econômicas, SP*, 41(9), 17-28.
- Snow, J.R., Brewer, D., Wright, C.F. 1978. Plastic bags for shipping sac fry of largemouth bass. *Progressive Fish-Culturist, Bethesda*, 40(1), 13-16.
- Teo L.H., Chen T.W., Lee B.H. 1989. Packaging of the guppy, *Poecilia reticulata*, for air transport in a closed system. *Aquaculture* 78, 321-332.
- Valente, S.T.X. 1998. Efeito de corantes naturais nos níveis de colesterol e triacilgliceróis séricos em ratos hiperglicêmicos. [Dissertação de Mestrado] Universidade Federal de Viçosa, MG. 126p.
- Vollmann-Schipper, F. 1978. *Transport de Peces Vivos*. Editora Acribia, Zaragoza, 90p.
- Wickenberg, J., Ingemansson, S.L., Hlebowicz, J. 2010. Effects of *Curcuma longa* (turmeric) on postprandial plasma glucose and insulin in healthy subjects. *Nutrition Journal*. v.9, 43p.
- Xia, X., Cheng, G., Pan, Y., Xia, Z.H., Kong, L.D. 2007. Behavior, neurochemical and neuroendocrine effects of the ethanolic extract from *Curcuma longa L* in the mouse forced swimming test. *Journal of Ethanopharmacol* 110, 356-363.
- Zafir, A., Banu, N. 2007. Antioxidant potential of fluoxetine in comparison to *Curcuma longa* in restraint-stressed rats. *European Journal of Pharmacology*, 572(1), 23-31.
- Zeppenfeld, C.C., Toni, C., Becker, A.G., Miron, D.S., Parodi, T.V., Heinzmann, B.M., Barcellos, L.J.G., Koakoski, G., Rosa, J.G.S., Loro, V.L., Cunha, M.A., Baldisserotto, B. 2014. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *Aquaculture* 418–419, 101–107.

Zheng, Z.I., Tan, J.Y.W., Liu, H.Y., Zhou, X.H., Xiang, X., Wang, K.Y. 2009. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 292:214-218.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os nossos estudos demonstraram que a cúrcuma na alimentação de peixes foi eficiente na modulação do desenvolvimento da parede intestinal e das reservas energéticas. O aumento das pregas intestinais implica em maior número de enterócitos e, conseqüentemente, maior quantidade de enzimas na borda em escova e maior superfície de contato para absorção dos nutrientes, o que pode resultar em melhorias na eficiência de utilização dos nutrientes da dieta e no crescimento dos peixes. Já o aumento do glicogênio hepático representa um aumento das reservas de glicose e, conseqüentemente, maior tolerância ao jejum. Entretanto, como os efeitos da cúrcuma em doses baixas sobre as reservas energéticas, foram opostos quando em doses altas, são necessários novos estudos para elucidar os mecanismos envolvidos. Além disso, a cúrcuma foi eficaz em reduzir as respostas de estresse e melhorar o estado antioxidante dos peixes após o estresse por transporte.

A ausência de danos hepáticos nos peixes indica que o uso da cúrcuma em dietas é seguro, porém, as alterações patológicas observadas nas brânquias indicam que esta é segura em doses até 30,23 g de cúrcuma.kg⁻¹ de dieta. Dessa forma, apesar da cúrcuma, em doses mais altas, apresentar efeitos benéficos à saúde dos peixes, como melhorar o estado antioxidante, recomendamos a suplementação de cúrcuma em valores até 30 g de cúrcuma.kg⁻¹ de dieta para que não haja o comprometimento da atividade branquial.