

## Efeitos da poluição urbana nos parâmetros hematológicos e na capacidade defensiva da truta-arco-íris do Rio Chalhuanca

*Effects of urban pollution on hematological parameters and defensive capacity of rainbow trout from the Chalhuanca River*

**Keyro Alberto Meléndez** (ORCID 0000-0002-5045-6511)

Universidade Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay, Peru. \*Autor para correspondência: kmelendez@unamba.edu.pe

Submissão: 17/04/2024 | Aceite: 16/07/2024

### RESUMO

A truta arco-íris é essencial na dieta andina, especialmente em comunidades onde a qualidade da água é fundamental para a sua saúde e crescimento. Nossa pesquisa se concentra em como as condições ambientais do rio Chalhuanca afetam a saúde física, o estresse crônico e a capacidade imunológica da truta arco-íris, e qual é a relação desses efeitos com a segurança alimentar nas comunidades locais. Foram examinadas trutas juvenis do rio Chalhuanca, coletando 36 amostras em três pontos: antes de Cotaruse, depois de Caraibamba e passando por Chalhuanca. Os peixes foram medidos, pesados e amostras de sangue foram coletadas para avaliar componentes como glóbulos vermelhos, brancos, hemoglobina, hematócrito, glicose e cortisol. Também foi analisada a capacidade dos peixes de combater a bactéria *E. coli* e foram medidos parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água. Os resultados mostraram diferenças significativas na saúde das trutas entre as áreas. As trutas de Chalhuanca apresentaram pior condição corporal e anemia microcítica hipocrômica (hemoglobina: 6.1 g/dL, hematócrito: 29%). Além disso, observou-se uma alta proporção de estresse crônico nesta área. A qualidade da água também mostrou variações, com maiores concentrações de coliformes fecais (1200 UFC/100 mL) e menores níveis de oxigênio dissolvido (4.5 mg/L) em Chalhuanca, indicando um maior grau de contaminação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Antropogênico; salmão; estresse.

### ABSTRACT

Rainbow trout is essential in the Andean diet, especially in communities where water quality is essential for their health and growth. Our research focuses on how the environmental conditions of the Chalhuanca River affect the physical health, chronic stress, and immunological capacity of rainbow trout, and what the relationship of these effects is to food security in local communities. Juvenile trout from the Chalhuanca River were examined, collecting 36 samples at three points: before Cotaruse, after Caraibamba and passing Chalhuanca. The fish were measured, weighed and blood was drawn to evaluate components such as red and white blood cells, hemoglobin, hematocrit, glucose and cortisol. The ability of the fish to combat the *E. coli* bacteria was also analyzed and physicochemical and microbiological parameters of the water were measured. The results showed significant differences in trout health between areas. Chalhuanca trout presented worse body condition and hypochromic microcytic anemia (hemoglobin: 6.1 g/dL, hematocrit: 29%). Furthermore, a high proportion of chronic stress was observed in this area. Water quality also showed variations, with higher concentrations of fecal coliforms (1200 CFU/100 mL) and lower levels of dissolved oxygen (4.5 mg/L) in Chalhuanca, indicating a higher degree of contamination.

**KEYWORDS:** Anthropogenic; salmon; stress.

### INTRODUÇÃO

A truta arco-íris, introduzida no Peru em 1925 da América do Norte, desempenha um papel fundamental na dieta andina, fornecendo uma importante fonte de proteína para as comunidades (VILLA 2021, PUCUHUARANGA 2019). A sobrevivência desta espécie está intimamente relacionada com a qualidade da água, com fatores ambientais críticos como temperatura, oxigênio dissolvido e pH desempenhando papéis fundamentais na sua saúde e crescimento (PUCUHUARANGA 2019). Os

parâmetros hematológicos, incluindo glóbulos vermelhos, glóbulos brancos, hemoglobina e hematócrito, assim como os níveis de cortisol, são essenciais para avaliar a saúde e o bem-estar da truta arco-íris. Esses parâmetros refletem a capacidade dos peixes de se adaptar ao seu ambiente e respondem a mudanças na qualidade da água, como contaminação e flutuações nos fatores físico-químicos, também têm implicações para avaliar a segurança da truta como alimento para as comunidades locais (CORRÊA et al. 2013, ZUTSHI et al. 2010).

A contaminação da água, caracterizada por substâncias tóxicas, níveis inadequados de oxigênio, flutuações de pH e temperaturas extremas, pode causar mudanças significativas nos parâmetros hematológicos dos peixes, refletindo uma resposta de estresse que afeta sua capacidade imunológica e resistência a doenças (ZHELEV et al. 2016, JENTOFT et al. 2005)

A poluição antropogênica impacta gravemente a biodiversidade aquática, como observado no rio Ganges na Índia, onde efluentes domésticos e pesticidas afetam os peixes (KHANNA et al. 2007). No Brasil, encontrou-se uma correlação entre o aumento dos danos à saúde dos peixes nos rios Tramandaí e Mampituba e o crescimento das populações vizinhas, devido ao lançamento de hidrocarbonetos e metais, bem como mudanças no pH e na temperatura da água (DE-ANDRADE et al. 2004). Na lagoa de Mamacocha, em Cajamarca, Peru, foram encontradas substâncias tóxicas que tiveram efeitos negativos na saúde da truta arco-íris, incluindo mudanças na estrutura das brânquias, dano e morte do tecido hepático e acúmulo de líquido no músculo esquelético estriado (HUANCARÉ 2014).

Dada a importância crítica da truta arco-íris na dieta andina e os impactos documentados da poluição em outros ecossistemas aquáticos, nossa pesquisa se concentra em como as condições ambientais do rio Chalhuanca afetam a saúde física, o estresse crônico e a capacidade imunológica da truta arco-íris, e qual é a relação desses efeitos com a segurança alimentar nas comunidades locais.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Estratégia de Amostragem e Determinação do Tamanho da Amostra

Foram examinadas trutas arco-íris selvagens (*Oncorhynchus mykiss*) que habitam no rio Chalhuanca, com comprimentos aproximados de 15 cm, em fase juvenil e com uma condição corporal que varia entre aceitável e ruim. A amostra foi determinada com base na fórmula de proporções para populações infinitas, com uma prevalência de 2%, conforme indicado pela vigilância de doenças de animais aquáticos do Código Sanitário para Animais Aquáticos (OMSA 2022). A fórmula indica que devem ser coletados 31 animais para a amostragem, mas foram utilizados 36 peixes. A informação foi coletada em três pontos do curso do rio: o primeiro antes da cidade de Cotaruse, o segundo depois da cidade de Caraibamba e o terceiro passando pela cidade de Chalhuanca. A fórmula de amostragem de animais:  $n = ((Z^2 * p * q) / d^2)$

### Considerações éticas

Durante o estudo, os peixes foram devolvidos ao rio e utilizados apenas para pesar, medir e coletar sangue, sem sacrificar nenhum deles. Além disso, não foram utilizados agentes anestésicos nos peixes devido aos seus efeitos sobre o hematócrito (HABIB et al. 2023).

### Coleção de dados

#### *Condição corporal e componentes sanguíneos da truta arco-íris do rio Chalhuanca*

A avaliação da condição corporal das trutas foi realizada utilizando uma rede de pesca para capturá-las e transportá-las para um tanque. Para a pesagem, foi utilizada uma balança de precisão colocada em um recipiente com água. Além disso, um ictiômetro foi utilizado para medir cada truta da ponta do focinho até a junção do pedúnculo caudal, seguindo a fórmula:  $K = (100 \times W(g)) / L^3$  (CIFUENTES et al. 2012).

Foram coletados 3 ml de sangue da veia da cauda das trutas arco-íris usando tubos Vacutainer com EDTA para avaliar seus componentes sanguíneos, incluindo glóbulos vermelhos, glóbulos brancos, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média (SUEIRO & PALACIOS 2016). Além disso, foi determinada a concentração de glicose e cortisol a partir do plasma obtido (MARTINEZ et al. 2009).

Foram utilizados métodos padronizados para medir os valores sanguíneos das trutas arco-íris. Um kit comercial para glicose foi utilizado, seguindo as instruções do fabricante, no qual foi preparada uma solução padrão de glicose e a absorvância foi medida a 505 nm com um espectrofotômetro (NABI et al. 2022). O hematócrito foi determinado usando o método de microhematócrito; tubos capilares heparinizados foram preenchidos com sangue, centrifugados a 12.000 rpm por 5 minutos em uma centrífuga de microhematócrito, e o percentual de glóbulos vermelhos em relação ao volume total de sangue foi lido

usando um tubo de leitura de hematócrito (NABI et al. 2022). A hemoglobina foi medida com o equipamento HemoCue® Hb 201; uma amostra de sangue foi diluída em uma solução de hemólise, colocada no dispositivo HemoCue® e a concentração de hemoglobina foi registrada (HARTER et al. 2015). A contagem de glóbulos brancos foi realizada utilizando um hemocitômetro; o sangue foi diluído em uma solução de Turk, que cora os núcleos dos glóbulos brancos, e as células foram contadas sob um microscópio (MESHKINI et al. 2012, NABI et al. 2022). A determinação do cortisol no plasma foi realizada através de um kit ELISA (Neogen Corporation). Foram pipetados 100 µL de plasma em um tubo de vidro, adicionado 1 ml de éter etílico, agitado com um vortex por um minuto e então congelado a -80 °C por uma hora para obter a fase líquida. O éter etílico foi evaporado dentro dos tubos Eppendorf. Posteriormente, foram adicionados 100 µL de buffer de extração (diluído 1:5), e uma segunda diluição (1:100) foi realizada adicionando 10 µL em 990 µL de buffer de extração diluído. Finalmente, a solução foi agitada com um vortex. Na placa de ELISA, foram colocados 50 µL da diluição para a leitura, que foi realizada a 620 nm. Sete amostras padrão foram preparadas para confirmar a qualidade do kit (SAMARAS & PAVLIDIS 2022). As concentrações de cortisol foram quantificadas usando a equação da curva padrão ( $X = e^{[(52.589 - y)/15.13]}$ ).

*Capacidade da truta arco-íris para combater a bactéria E. coli (ATCC 25922)*

Foi preparada uma solução de trabalho com aproximadamente 200 unidades formadoras de colônias (UFC) de *Escherichia coli* (ATCC 25922) em solução salina tamponada com fosfato estéril (PBS). As amostras de plasma foram diluídas 1:10 com PBS estéril. As reações foram realizadas misturando 10 µL da solução bacteriana com 90 µL das amostras de plasma diluídas e incubadas a 18 °C por 4 horas. Como controles, foram misturados 10 µL da solução bacteriana com 90 µL de PBS, semeando amostras antes, durante e após o processo. Todas as reações e controles foram semeados em placas duplicadas com 50 µL de alíquotas em ágar soja tripticado a 4% e incubados a 25 °C durante a noite. Finalmente, o número de colônias bacterianas em cada placa foi contado e o percentual de colônias foi calculado com base no número médio de colônias nos controles (MATSON et al. 2006, SUEIRO & PALACIOS 2016).

*Avaliação da qualidade da água dos rios*

A qualidade da água do rio foi avaliada pelos seus parâmetros físico-químicos (temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade, turbidez, pH, alcalinidade total, dureza total, cálcio e magnésio) in situ com um equipamento multiparamétrico Hanna (Hi 9829). Para os parâmetros microbiológicos (coliformes totais e termotolerantes), foram coletadas amostras de água em frascos de 250 ml e transportadas em cadeia de frio para o laboratório da Direção de Saneamento Ambiental (DESA) de Apurímac, onde foram processadas dentro de 24 horas (PALAMULENI & AKOTH 2015). A metodologia para medir coliformes foi baseada no método do número mais provável (MPN) usando a técnica de tubos múltiplos. As amostras foram incubadas em Caldo Lauril Triptose e Caldo EC a temperaturas específicas, avaliando a formação de gás como indicativo de coliformes. Os resultados foram comparados com os padrões de qualidade da água estabelecidos no DS. No. 002-2008-MINAM.

### **Processamento e análise de dados**

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SPSS versão 26. Para comparar os diferentes locais de amostragem, foi aplicado o teste estatístico de Tukey.

## **RESULTADOS**

### **Condição corporal e componentes sanguíneos da truta arco-íris do rio Chalhuanca**

O estudo se concentrou em trutas arco-íris de diferentes zonas, observando-se que as trutas de Chalhuanca apresentavam uma conformação corporal menos desenvolvida em comparação com as de Caraibamba e Cotaruse.

Os valores de hematócrito em Caraibamba e Chalhuanca não estavam dentro dos intervalos de referência. Os níveis de hemoglobina indicaram anemia em todos os locais amostrados, e foram utilizados o Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) para determinar o tipo de anemia. Em todas as localizações, o VCM foi inferior aos valores normais, indicando microcitose, e a baixa contagem de HCM apontou um estado hipocrômico (Tabela 1).

Observou-se um aumento na porcentagem de trutas arco-íris cronicamente estressadas em direção à foz do rio: 50% em Cotaruse, 75% em Caraibamba e 91,7% em Chalhuanca. Sugere-se que a anemia microcítica e hipocrômica nessas trutas pode estar relacionada ao estresse crônico (Tabela 2).

Tabela 1. Variáveis estudadas para analisar o estado de saúde da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) no rio Chalhuanca.

Parâmetros	Valores de referência	Cotaruse	Caraibamba	Chalhuanca	P
Peso (g)	-	67.8 ± 15.4 <sup>a</sup>	52.5 ± 11.8 <sup>a</sup>	57.3 ± 24.1 <sup>a</sup>	0.117
Tamanho (cm)	-	174.1 ± 13.7 <sup>a</sup>	163.8 ± 10.1 <sup>a</sup>	166.9 ± 20.8 <sup>a</sup>	0.232
Fator K	1.2 – 2.0 (SHARMA & BHAT 2015)	1.27 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.19 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.17 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.048
Hemoglobina (g/dL)	5.6 – 9.4 (CLARK et al. 2008, JALALI et al. 2009)	4.4 ± 0.9 <sup>a</sup>	4.3 ± 0.9 <sup>a</sup>	4.1 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.671
Hematócrito (%)	35 – 44 (JALALI et al. 2009, REINOSO 2017)	36.0 ± 3.8 <sup>a</sup>	33.8 ± 2.9 <sup>a</sup>	29.9 ± 4.3 <sup>b</sup>	0.001
RBC (10 <sup>6</sup> )	1.30 – 1.58 (REINOSO 2017)	1.35 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.35 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.37 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.528
VCM (fl)	275 – 369 (JALALI et al. 2009)	266.3 ± 33.8 <sup>a</sup>	249.5 ± 28.7 <sup>a</sup>	216.9 ± 29.7 <sup>b</sup>	0.002
HCM (pg)	69 – 102 (JALALI et al. 2009)	32.5 ± 6.9 <sup>a</sup>	31.3 ± 6.3 <sup>a</sup>	29.8 ± 4.3 <sup>a</sup>	0.546
CHCM (g/dL)	12 – 22 (JALALI et al. 2009)	12.3 ± 2.3 <sup>a</sup>	12.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	13.9 ± 2.0 <sup>a</sup>	0.278
Glicose (mmol/L)	3.89 – 4.14 (MARTINEZ et al. 2009, ROJAS 2005)	4.5 ± 2.2 <sup>a</sup>	3.9 ± 1.8 <sup>a</sup>	3.6 ± 1.5 <sup>a</sup>	0.532
Cortisol(ng/ml)	6 – 14.5 (MARTINEZ et al. 2009)	6.3 ± 2.8 <sup>a</sup>	6.1 ± 2.2 <sup>a</sup>	3.4 ± 2.1 <sup>b</sup>	0.007

Foi utilizado o valor de P para mostrar as diferenças nos parâmetros entre cidades, e as médias e desvios padrão foram indicados para cada cidade. Médias que não compartilhavam letras eram significativamente diferentes entre cidades (a, b). Os valores de referência foram indicados com sobrescritos para mostrar as fontes de onde foram obtidos (MARTINEZ et al. 2009) (SHARMA & BHAT 2015) (CLARK et al. 2008) (JALALI et al. 2009) (REINOSO 2017) (ROJAS 2005).

Tabela 2. Condição de anemia e estresse em truta arco-íris no rio Chalhuanca.

	Variável	Cotaruse	Caraibamba	Chalhuanca	Promedio (x)
Estresse	Sem estresse	50.0%	25.0%	8.3%	27.8%
	Estresse crônico	50.0%	75.0%	91.7%	72.2%
	Total	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
Estado anêmico	Sem anemia	8.4%	8.3%	0.0%	5.6%
	Anemia hipocrômica	33.3%	16.7%	0.0%	16.7%
	Anemia microcítica hipocrômica	58.3%	75.0%	100.0%	77.8%
	Total	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

### Capacidade da truta arco-íris para combater a bactéria *E. coli* (ATCC 25922)

Foi utilizada a técnica de capacidade bactericida do plasma sanguíneo para avaliar a resposta imunológica da truta arco-íris em três áreas diferentes. Foi encontrada uma variação significativa nas respostas imunológicas dos três grupos, mas não houve diferenças significativas na capacidade bactericida contra *E. coli*. Além disso, observou-se uma relação moderadamente negativa entre as concentrações de cortisol e hematócrito e as concentrações de coliformes fecais na água, sem encontrar diferenças significativas nesse parâmetro entre as três cidades (Tabela 3).

Tabela 3. Capacidade da truta arco-íris para lidar e combater a bactéria *E. coli* (ATCC 25922).

Parâmetro	Controle	Cotaruse	Caraibamba	Chalhuanca	P
Quantidade de <i>E. coli</i> (UFC/placa)	201	142 ± 51	140 ± 30	139 ± 37	0.9
Capacidade bactericida	60 (SUEIRO & PALACIOS 2016)	29.2 ± 25	30.2 ± 14	31.0 ± 18	0.9

Os resultados são apresentados como a média e o desvio padrão ( $\bar{x} \pm s$ ). Um valor de controle foi utilizado para avaliar a atividade bactericida, conforme extraído de Suiro e Palacios (SUEIRO & PALACIOS 2016), e o valor de P indica se há alguma diferença entre as cidades analisadas.

### Parâmetros físicos, químicos e microbiológicos do rio Chalhuanca

A Tabela 4 apresenta os resultados da avaliação da qualidade da água em três localidades em relação a diversos parâmetros.

Tabela 4. Parâmetros físicos, químicos e microbiológicos do rio Chalhuanca.

	Parâmetros	Valores de referência	Cotaruse	Caraibamba	Chalhuanca
Análise físico-química	Temperatura (°C)	10 a 16	11	13	14
	Oxigênio dissolvido	>5	5.4	4.6	4.1
	Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	<2000	241	243	235
	Turbidez (NTU)	<25	5.07	5.8	4.91
	pH	6.5 a 8.5	8.32	8.34	8.31
	Alcalinidade total ( $\text{mg}/\text{l CaCO}_3$ )	20 a 200	113.4	109.2	105
	Cloretos	<200	30	78	88
	Dureza total ( $\text{mg}/\text{L CaCO}_3$ )	5 a 200	121.8	128.1	113.4
	Cálcio ( $\text{mg}/\text{L}$ )	<52	31.08	42.84	41.16
	Magnésio ( $\text{mg}/\text{L}$ )	<150	10.73	5.11	2.56
Coliformes /100ml	Totais (35 °C)	<5000	14000	16530	17000
	Termotolerante (44.5 °C)	<1000	6000	7500	9000

## DISCUSSÃO

A saúde da truta arco-íris foi avaliada por meio do índice de condição K, que fornece informações sobre sua reprodução, nutrição, crescimento e saúde geral. Os resultados indicam que os peixes de Cotaruse têm uma melhor conformação corporal em comparação com os de Caraibamba e Chalhuanca, sendo estes últimos os menos saudáveis. Estudos anteriores mostraram que uma baixa condição corporal é comum em ambientes contaminados (HANANA et al. 2021). Esse fenômeno também foi observado em outras espécies de peixes em diversas partes do mundo, como no lago Llanquihue no Chile (ARISMENDI et al. 2011), no lago Temenggong na Malásia (ABD-HAMID et al. 2015), no lago Wular na Índia (MUSHTAQ et al. 2016), no rio Gomti na Índia e no rio Níger na Nigéria (GUPTA et al. 2011). Esses estudos sugerem que a liberação de poluentes é um fator significativo que afeta negativamente a saúde e a condição corporal dos peixes.

A concentração de hemoglobina nos peixes é crucial para avaliar sua adaptabilidade ao ambiente (NABI et al. 2022). No rio Chalhuanca, as concentrações de hemoglobina são semelhantes entre as diferentes cidades estudadas, mas estão abaixo dos valores de referência. Isso pode ser atribuído à poluição por águas residuais e resíduos industriais, que demonstrou reduzir os níveis de hemoglobina em peixes, como observado no *Labeo rohita* nos lagos de Bangalore (TABREZ et al. 2022, ZUTSHI et al. 2010). Além disso, a hipoxia e a anemia são fatores que afetam a concentração de hemoglobina nos peixes. Isso foi observado em trutas arco-íris mantidas em condições hipóxicas (GARCÍA et al. 2022, SIMONOT & FARRELL 2007). Embora a temperatura também possa influenciar as concentrações de hemoglobina, no caso do rio Chalhuanca, o baixo nível de hemoglobina parece ser devido principalmente à presença de águas residuais e resíduos industriais, e não a variações de temperatura (RAVICHANDRAN et al. 2016).

O nível de hematócrito nos peixes é um indicador crucial de sua capacidade de transportar oxigênio e de seu funcionamento hematopoiético (RUIZ et al. 2024). No rio Chalhuanca, as concentrações de hematócrito na truta arco-íris foram significativamente menores em comparação com outras cidades e encontradas abaixo do valor de referência. Esse achado sugere que a poluição ambiental, particularmente o lançamento de águas residuais e outros resíduos, pode estar afetando negativamente a saúde dos peixes nesta área (GARCÍA et al. 2022, RUIZ et al. 2024). A diminuição do hematócrito pode refletir uma resposta adaptativa do peixe a condições adversas, onde a poluição afeta a capacidade dos peixes de utilizar suas reservas de células sanguíneas e pode até levar ao deterioramento de seus habitats de desova (THOMAS et al. 2019).

Embora a temperatura também possa influenciar os níveis de hematócrito, mudanças dentro da faixa de 5 a 20 °C não costumam causar alterações significativas nesse parâmetro (TABREZ et al. 2022, ZUTSHI et al. 2010). Além disso, estudos anteriores demonstraram que a exposição crônica a poluentes pode reduzir os níveis de hematócrito em diferentes espécies de peixes, reforçando a ideia de que os poluentes são uma causa provável dos baixos níveis observados no rio Chalhuanca (NABI et al. 2022, SHAH 2006, TABREZ et al. 2022).

A contagem de glóbulos vermelhos nos peixes pode ser uma ferramenta útil para avaliar o impacto da poluição, uma vez que substâncias químicas podem induzir uma condição hipóxica que estimula a produção

de células sanguíneas em resposta ao baixo nível de oxigênio (PALA & DEY 2016, RUIZ et al. 2024). No estudo da truta arco-íris no rio Chalhuanca, não foram encontradas diferenças significativas nos valores de glóbulos vermelhos entre as diferentes cidades, e todos os valores se mantiveram dentro do intervalo normal. Isso indica que, neste caso específico, os poluentes presentes no ambiente não parecem estar afetando a produção de glóbulos vermelhos nessas trutas.

Esses resultados são consistentes com estudos anteriores em outras espécies de peixes expostas a poluentes. Por exemplo, foi observado que, em níveis baixos de poluentes, pode haver um aumento na contagem de glóbulos vermelhos devido à hipoxia induzida (GARCÍA et al. 2022, RUIZ et al. 2024). No entanto, em níveis mais altos de poluição, pode ocorrer uma diminuição na contagem de glóbulos vermelhos devido a efeitos adversos mais graves sobre a saúde do peixe (RAVICHANDRAN et al. 2016). No contexto do nosso estudo, a falta de variação na contagem de glóbulos vermelhos sugere que os níveis de poluição no rio Chalhuanca não atingiram um limite suficientemente alto para induzir mudanças significativas nessa medida hematológica.

A análise dos índices eritrocitários, como HCM (Hemoglobina Corpuscular Média), VCM (Volume Corpuscular Médio) e CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média), fornece informações essenciais sobre o estado funcional do coração, a função respiratória e o equilíbrio osmótico nos eritrócitos dos peixes (STOSIK et al. 2020).

Em nosso estudo, observou-se que, embora os valores de HCM e CHCM na truta arco-íris de Chalhuanca, Cotaruse e Carabamba fossem semelhantes, a concentração de VCM apresentou variações significativas entre essas cidades. Além disso, todos os valores de HCM, VCM e CHCM estavam abaixo dos limites de referência, indicando uma condição de microcitose nas trutas estudadas.

Os resultados sugerem que os parâmetros HCM e VCM são sensíveis às mudanças na qualidade da água, que podem ser causadas por fatores físico-químicos como temperatura, condutividade, sólidos dissolvidos totais, oxigênio dissolvido e a presença de agentes químicos contaminantes (CORRÊA et al. 2013, ESPOSITO et al. 2024). Em particular, a microcitose observada pode estar relacionada à exposição a contaminantes no ambiente, como documentado em estudos sobre o efeito de substâncias tóxicas como o paraquat e o malathion em diversas espécies de peixes, onde se registrou uma diminuição nos valores de Hb, HCM, CHCM e VCM (AMAEZE et al. 2020, CHOWDHURY et al. 2013, SALAZAR et al. 2009).

A evidência de outros estudos apoia a relação entre contaminantes ambientais e mudanças nos índices eritrocitários. Por exemplo, observou-se que os resíduos domésticos, metais pesados, resíduos da indústria têxtil e compostos como zinco e chumbo podem provocar valores baixos nesses índices, refletindo efeitos adversos na saúde dos peixes (KATALAY & PARLAK 2004, TABREZ et al. 2022, ZHELEV et al. 2016). A diminuição de HCM, CHCM e VCM pode ser uma resposta adaptativa à poluição, indicando possíveis efeitos negativos na saúde geral das trutas nos três locais de amostragem.

A piscicultura, embora seja uma prática essencial para a produção de alimentos e a economia, pode estar relacionada com diversas doenças nos peixes, incluindo a anemia microcítica normocrômica. Esta condição pode ser provocada por uma série de fatores ambientais estressantes, tais como intoxicação por nitritos, amônio e metais pesados, bem como exposição crônica a inseticidas e parasitas (BAKRIM et al. 2018, NABI et al. 2022).

Cada um desses fatores pode influenciar a saúde dos peixes e levar a diferentes tipos de anemia. Em particular, a anemia microcítica normocrômica, caracterizada pela presença de glóbulos vermelhos menores que o normal e uma hemoglobina adequada, pode ser causada por vários fatores. A exposição a altas concentrações de nitritos e amônio na água pode alterar a função hematopoiética, causando mudanças nos índices eritrocitários (BAKRIM et al. 2018). Metais pesados, como chumbo e zinco, também estão associados à anemia em peixes, pois podem interferir no metabolismo dos glóbulos vermelhos e na síntese de hemoglobina (TASLIMA et al. 2022). Além disso, inseticidas e parasitas podem induzir estresse crônico nos peixes, contribuindo para o aparecimento de anemia microcítica normocrômica (CURRIE et al. 2022).

É crucial distinguir entre a anemia microcítica hipocrômica e outras doenças que podem apresentar sintomas semelhantes. A talassemia e a anemia por doenças crônicas, por exemplo, têm causas e tratamentos diferentes da anemia induzida por fatores ambientais (CURRIE et al. 2022). A talassemia é uma doença genética que afeta a produção de hemoglobina, enquanto a anemia por doenças crônicas está vinculada a processos patológicos prolongados (FAJARDO et al. 2022). Por outro lado, a intoxicação por chumbo pode causar anemia microcítica hipocrômica, distinta da anemia microcítica normocrômica observada em condições ambientais estressantes (BAKRIM et al. 2018, CURRIE et al. 2022).

O estresse nos peixes provoca uma série de respostas fisiológicas que incluem a liberação de catecolaminas e cortisol, hormônios-chave na adaptação a condições adversas. Esses níveis hormonais

podem variar em função de fatores como mudanças na água, temperatura, oxigênio, salinidade, estado nutricional e presença de doenças (FAJARDO et al. 2022). A resposta ao estresse é uma parte natural do sistema de regulação do estresse nos peixes, projetada para manter o equilíbrio homeostático. No entanto, o estresse crônico ou severo pode ter efeitos negativos significativos na saúde e no bem-estar dos peixes.

Durante uma exposição crônica ao estresse, os peixes podem experimentar uma adaptação aos tóxicos presentes em seu ambiente, o que inicialmente pode resultar em uma redução dos níveis de cortisol como mecanismo de compensação (LEMOS et al. 2023). No entanto, se o estresse persiste ou é de alta intensidade, essa adaptação pode se transformar em uma forma de má adaptação, levando a uma diminuição do desempenho geral dos peixes e aumentando sua suscetibilidade a infecções e outras doenças (LEMOS et al. 2023).

A incapacidade dos peixes de regular adequadamente os níveis de cortisol pode agravar sua vulnerabilidade a patógenos e outros fatores estressores. Em mamíferos, observou-se que uma deficiência persistente de cortisol pode contribuir para uma maior suscetibilidade a distúrbios relacionados ao estresse, um conceito que também pode ser aplicado aos peixes (LEMOS et al. 2023). Nesse contexto, tanto concentrações altas quanto baixas de cortisol podem influenciar a resposta imune dos peixes, afetando sua capacidade de enfrentar infecções. Os níveis elevados de cortisol, frequentemente associados a um estresse intenso, podem suprimir a resposta imune e aumentar o risco de doenças, enquanto níveis persistentemente baixos podem ser um indicador de uma resposta adaptativa ineficaz frente ao estresse (HANNIBAL & BISHOP 2014, LEMOS et al. 2023).

O soro sanguíneo dos peixes, incluindo *O. mykiss*, possui uma capacidade antibacteriana não específica que é crucial para a defesa contra o crescimento de microorganismos patógenos. Essa capacidade é um indicador valioso da resposta imunológica em peixes, como detalhado na Tabela 3, e sua avaliação é uma metodologia confiável em estudos imunológicos aquáticos (ALY et al. 2008, FIERRO et al. 2024).

O teste de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) é amplamente utilizado para medir a atividade bactericida sérica e avaliar a eficácia da resposta imune em diversas espécies de peixes, incluindo *Oreochromis niloticus* e *Labeo rohita* (ALY et al. 2008, FIERRO et al. 2024). No entanto, os valores de UFC podem ser afetados por variações nos métodos de teste e nas concentrações bacterianas utilizadas, o que pode influenciar os resultados obtidos.

No presente estudo, foi avaliada a atividade bactericida sérica de *O. mykiss* em três cidades diferentes, encontrando-se que os peixes de Cotaruse, Caraibamba e Chalhuanca mostraram uma atividade bactericida semelhante de 30%. Este resultado é inferior ao valor de referência de 60% necessário para inibir a capacidade de colonização de *E. coli*, indicando uma atividade bactericida menor do que o esperado (BOLEZA et al. 2001, MIZAEVA et al. 2023).

Esses achados são consistentes com pesquisas anteriores que relataram uma diminuição na atividade bactericida em peixes expostos a condições ambientais adversas, como hipoxia, mudanças no pH e contaminantes (DENSMORE et al. 2004, MIZAEVA et al. 2023). Além disso, estudos demonstraram que fatores como a exposição a metais pesados, medicamentos e produtos químicos no ambiente aquático podem reduzir significativamente a capacidade bactericida do soro (RIBAS et al. 2016, WANG et al. 2016). A presença desses contaminantes no habitat aquático de *O. mykiss* pode comprometer a eficácia do sistema imunológico dos peixes, aumentando sua vulnerabilidade a infecções e afetando sua saúde geral (MIZAEVA et al. 2023).

A resposta ao estresse em peixes desencadeia uma série de respostas fisiológicas complexas, sendo a liberação de catecolaminas e cortisol uma das mais destacadas (LEMOS et al. 2023). No presente estudo, os níveis de cortisol em *O. mykiss* foram avaliados em três localidades: Cotaruse, Caraibamba e Chalhuanca.

Os resultados mostraram que, embora os níveis de cortisol em Cotaruse e Caraibamba se mantivessem dentro da faixa normal (6 a 14,5 ng/ml), os níveis em Chalhuanca foram significativamente mais baixos, com um valor de 3,4 ng/ml. Este achado sugere que os fatores ambientais em Chalhuanca poderiam estar afetando a resposta ao estresse de maneira diferente das outras localidades.

Vários fatores físico-químicos e microbiológicos da água, como mudanças na temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, hora do dia, comprimento de onda da luz, cor do fundo dos tanques, estado nutricional dos peixes e a presença de doenças, podem influenciar os níveis de cortisol em peixes (LEMOS et al. 2023, MARTINEZ et al. 2009, SAMARAS & PAVLIDIS 2022). Esses fatores podem desencadear uma resposta de estresse nos peixes, que inicialmente se manifesta por um aumento nos níveis de cortisol. Por exemplo, estudos demonstraram que a exposição a um fator estressor por dez minutos pode elevar os

níveis de cortisol para mais de 60 ng/ml em *O. mykiss* (HABIB et al. 2023) e em *Salmo salar* (MADARO et al. 2023). No entanto, uma exposição crônica a esses fatores pode levar a um estado de adaptação ao tóxico, reduzindo os níveis de cortisol a um nível abaixo do normal (<6 ng/ml) após seis dias de exposição contínua (MADARO et al. 2023, OVERLI 2005).

Em casos de estresse severo ou prolongado, os peixes podem entrar em um estado de má adaptação, resultando em uma diminuição do desempenho, condições patológicas ou até mesmo a morte (MADARO et al. 2023, OVERLI 2005). Esse estado de má adaptação se manifesta com altos níveis de cortisol no plasma, que podem aumentar a suscetibilidade a infecções por fungos, bactérias e parasitas (MIZAEVA et al. 2023). Por outro lado, concentrações baixas de cortisol também podem aumentar a suscetibilidade a infecções, como observado em *O. mykiss* no rio Arlanza (MIZAEVA et al. 2023, VERCAUTEREN et al. 2022).

Em contraste com estudos anteriores que informam concentrações elevadas de cortisol em condições de estresse em *Salmo trutta* em Soria, Quintanar de la Sierra e Acera de la Vega (Espanha) (VAL et al. 2006), nossos resultados em Chalhuanca, onde os níveis de cortisol foram notavelmente baixos, sugerem que os fatores estressores presentes nesta localidade poderiam ser de natureza diferente ou menos agudos do que nas outras localidades amostradas. A evidência sugere que tanto níveis elevados quanto baixos de cortisol podem ter implicações negativas para a saúde dos peixes. Altos níveis de cortisol podem estar relacionados a uma maior vulnerabilidade a infecções e estresse crônico (HANNIBAL & BISHOP 2014). Enquanto que níveis baixos podem refletir uma resposta inadequada ao estresse, potencialmente aumentando a suscetibilidade a distúrbios relacionados ao estresse (VAL et al. 2006, VERCAUTEREN et al. 2022).

## CONCLUSÃO

O estudo revela que a truta arco-íris no rio Chalhuanca apresenta uma menor condição corporal e anomalias hematológicas, indicando efeitos negativos da poluição no seu crescimento e capacidade de transporte de oxigênio. Além disso, foram identificados altos níveis de estresse crônico e anemia hipocrômica microcítica, sugerindo uma relação entre o estresse ambiental, derivado da poluição por águas residuais e resíduos industriais, e a saúde dos peixes.

A atividade bactericida sérica reduzida em comparação com os valores de referência também sugere uma diminuição na capacidade defensiva contra patógenos, o que tem implicações significativas para a segurança alimentar. Os fatores ambientais, físico-químicos e microbiológicos afetam a resposta ao estresse e podem levar a uma má adaptação que aumenta a vulnerabilidade a doenças, sublinhando a necessidade de monitoramento contínuo para assegurar a saúde e o bem-estar das populações de peixes.

## REFERÊNCIAS

- ABD-HAMID M et al. 2015. Length-weight Relationship and Condition Factor of Fish Populations in Temengor Reservoir: Indication of Environmental Health. *Sains Malaysiana*, 44(1), 61–66. <https://doi.org/10.17576/jsm-2015-4401-09>
- ALY S et al. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish & Shellfish Immunology* 25: 128–136.
- AMAEZE N et al. 2020. Comparative assessment of the acute toxicity, haematological and genotoxic effects of ten commonly used pesticides on the African Catfish, *Clarias gariepinus* Burchell 1822. *Heliyon* 6: e04768.
- ARISMENDI I et al. 2011. Body condition indices as a rapid assessment of the abundance of introduced salmonids in oligotrophic lakes of southern Chile. *Lake and Reservoir Management*, 27(1), 61–69. <https://doi.org/10.1080/07438141.2010.536617>
- BAKRIM S et al. 2018. Hemogram profile and interest of pre-donation hemoglobin measurement in blood donors in the northwest region of Morocco. *Transfusion Clinique et Biologique* 25: 35–43.
- BOLEZA K et al. 2001. Hypercapnic hypoxia compromises bactericidal activity of fish anterior kidney cells against opportunistic environmental pathogens. *Fish & Shellfish Immunology* 11: 593–610.
- CHOWDHURY A et al. 2013. Alteration of haematological parameters of 'zeol fish'- *Clarias batrachus* exposed to malathion. *Bangladesh Journal of Zoology* 40: 183–188.
- CIFUENTES R et al. 2012. Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuena del río Valdivia, Chile). *Gayana (Concepción)* 76: 86–100.
- CLARK T et al. 2008. Calibration of a hand-held haemoglobin analyser for use on fish blood. *Journal of Fish Biology* 73: 2587–2595.
- CORRÊA L et al. 2013. Hematological parameters of *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) parasitized by *Monogenea* in lagoons in Pirassununga, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 22: 457–462.
- CURRIE A et al. 2022. Anemia in salmon aquaculture: Scotland as a case study. *Aquaculture* 546: 737313.



- DE-ANDRADE V et al. 2004. Fish as bioindicators to assess the effects of pollution in two southern Brazilian rivers using the Comet assay and micronucleus test. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 44: 459–468.
- DENSMORE C et al. 2004. Immunomodulation and Disease Resistance in Postyearling Rainbow Trout Infected with *Myxobolus cerebralis*, the Causative Agent of Whirling Disease. *Journal of Aquatic Animal Health* 16: 73–82.
- ESPOSITO G et al. 2024. Changes in blood serum parameters in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during a piscine lactococcosis outbreak. *Journal of Fish Diseases* 00: e13994.
- FAJARDO C et al. 2022. Functional and Molecular Immune Response of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Following Challenge with *Yersinia ruckeri*. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 3096.
- FIERRO C et al. 2024. Assessing the effect of  $\beta$ -glucan diets on innate immune response of tilapia macrophages against trichlorfon exposure: an in vitro study. *Fish Physiology and Biochemistry* 50: 527–541.
- GARCÍA I et al. 2022. Rainbow trout integrated response after recovery from short-term acute hypoxia. *Frontiers in Physiology* 13: 14p.
- GUPTA B et al. 2011. Condition factor, length-weight and length-length relationships of an endangered fish *Ompok pabda* (Hamilton 1822) (Siluriformes: Siluridae) from the River Gomti, a tributary of the River Ganga, India. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(3), 962–964. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01625.x>
- HABIB S et al. 2023. Effect of Different Anaesthetics on Hematology and Blood Biochemistry of *Labeo rohita*. *Aquaculture Studies* 24: 6p.
- HANANA H et al. 2021. Toxicity of representative mixture of five rare earth elements in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(22), 28263–28274. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12218-5>
- HANNIBAL K & BISHOP MD. 2014. Chronic Stress, Cortisol Dysfunction, and Pain: A Psychoneuroendocrine Rationale for Stress Management in Pain Rehabilitation. *Physical Therapy* 94: 1816–1825.
- HARTER T et al. 2015. Validation of the i-STAT and HemoCue systems for the analysis of blood parameters in the bar-headed goose, *Anser indicus*. *Conservation Physiology* 3: cov021.
- HUANCARÉ R. 2014. Identificación histopatológica de lesiones inducidas por bioacumulación de metales pesados en branquias, hígado y músculo de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de cultivo en etapa comercial de la laguna de Mamacocha, área de influencia minera, Cajamarca-Perú. Tesis (Médico Veterinario). Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- JALALI M et al. 2009. Growth efficiency, body composition, survival and haematological changes in great sturgeon (*Linnaeus*, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. *Aquaculture Research* 40: 804–809.
- JENTOFT S et al. 2005. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 141: 353–358.
- KATALAY S & PARLAK H. 2004. The Effects of Pollution on Haematological Parameters of Black Goby (*Gobius niger* L., 1758) in Foça and Aliğa Bays. *Su Ürünleri Dergisi* 21: 113–117.
- KHANNA D et al. 2007. Fish scales as bio-indicator of water quality of River Ganga. *Environmental Monitoring and Assessment* 134: 153–160.
- LEMOS L et al. 2023. Cortisol as a Stress Indicator in Fish: Sampling Methods, Analytical Techniques, and Organic Pollutant Exposure Assessments. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 20: 6237.
- MADARO A et al. 2023. Acute stress response on Atlantic salmon: a time-course study of the effects on plasma metabolites, mucus cortisol levels, and head kidney transcriptome profile. *Fish Physiology and Biochemistry* 49: 97–116.
- MARTINEZ M et al. 2009. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 4: 158–178.
- MATSON K et al. 2006. Capture Stress and the Bactericidal Competence of Blood and Plasma in Five Species of Tropical Birds. *Physiological and Biochemical Zoology* 79: 556–564.
- MESHKINI S et al. 2012. Effects of chitosan on hematological parameters and stress resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Research Forum: An International Quarterly Journal* 3: 49–54.
- MIZAEVA T et al. 2023. Antibacterial Activity of Rainbow Trout Plasma: In Vitro Assays and Proteomic Analysis. *Animals* 13: 3565.
- MUSHTAQ S et al. 2016. Estimation of length-weight relationship and condition factor of *Crossocheilus diplochilus* (Heckel, 1838): A freshwater benthopelagic fish from Wular Lake in Kashmir Himalaya. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studie*, 4(6), 522–525.
- NABI N et al. 2022. Hematological and serum biochemical reference intervals of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* cultured in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells. *Saudi Journal of Biological Sciences* 29: 2942–2957.
- OMSA. 2022. Organización Mundial de Sanidad Animal. Código Sanitario para los Animales Acuáticos. Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-acuatico/>
- OVERLI O. 2005. Behavioral and Neuroendocrine Correlates of Selection for Stress Responsiveness in Rainbow Trout-- a Review. *Integrative and Comparative Biology* 45: 463–474.
- PALA E & DEY S. 2016. Microscopy and Microanalysis of Blood in a Snake Head Fish, *Channa gachua* Exposed to

- Environmental Pollution. Microscopy and Microanalysis 22: 39–47.
- PALAMULENI L & AKOTH M. 2015. Physico-Chemical and Microbial Analysis of Selected Borehole Water in Mahikeng, South Africa. International Journal of Environmental Research and Public Health 12: 8619–8630.
- PUCUHUARANGA L. (2019). Estudio de prefactibilidad para la instalación de una piscigranja de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en la provincia de Junín anexo de Huamánripa. Tesis (Ingeniero Agroindustrial). Lima: Universidad Nacional del Centro del Perú.
- RAVICHANDRAN R et al. 2016. Impact of haematological characteristic alteration in tannery effluent treated fish *Channa punctatus*. Int. J. Zool. Appl. Biosci 1: 72–75.
- REINOSO D. 2017. Comparación del conteo diferencial de glóbulos blancos de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), en las etapas juvenil y adulta, en una explotación piscícola, ubicada en el cantón Rumiñahui, Pichincha Ecuador. Trabajo de grado. (Médico Veterinario – Zootecnista). Quito: Universidad Central Del Ecuador.
- RIBAS J et al. 2016. Effects of trophic exposure to diclofenac and dexamethasone on hematological parameters and immune response in freshwater fish. Environmental Toxicology and Chemistry 35: 975–982.
- ROJAS P. 2005. Efecto de la dieta sobre los niveles plasmáticos de insulina y glucagón en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y dorada (*Sparus aurata*) y caracterización del transportador de glucosa de dorada. Tesis (Doctor en Biología). Barcelona: Universidad de Barcelona.
- RUIZ N et al. 2024. Repeated hypoxic episodes allow hematological and physiological habituation in rainbow trout. Frontiers in Physiology 15: 11p.
- SALAZAR R et al. 2009. Paraquat and temperature affect nonspecific immune response of *Colossoma macropomum*. Environmental Toxicology and Pharmacology 27: 321–326.
- SAMARAS A & PAVLIDIS M. 2022. Fish Scales Produce Cortisol upon Stimulation with ACTH. Animals 12: 3510.
- SHAH S. 2006. Hematological parameters in tench *Tinca tinca* after short term exposure to lead. Journal of Applied Toxicology 26: 223–228.
- SHARMA R & BHAT R. 2015. Length-weight relationship, condition factor of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Kashmir waters. Annals of Biological Research 6: 25–29.
- SIMONOT D & FARRELL A. 2007. Cardiac remodelling in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum in response to phenylhydrazine-induced anaemia. Journal of Experimental Biology 210: 2574–2584.
- STOSIK M et al. 2020. Immune Functions of Erythrocytes in Osteichthyes. Frontiers in Immunology 11: article 1914.
- SUEIRO M & PALACIOS G. 2016. Immunological and health-state parameters in the Patagonian rockfish *Sebastes oculatus*. Their relation to chemical stressors and seasonal changes. Fish & Shellfish Immunology 48: 71–78.
- TABREZ S et al. 2022. Water quality index, *Labeo rohita*, and *Eichhornia crassipes*: Suitable bio-indicators of river water pollution. Saudi Journal of Biological Sciences 29: 75–82.
- TASLIMA K et al. 2022. Impacts of heavy metals on early development, growth and reproduction of fish – A review. Toxicology Reports 9: 858–868.
- THOMAS Y et al. 2019. Effects of hypoxia on metabolic functions in marine organisms: Observed patterns and modelling assumptions within the context of Dynamic Energy Budget (DEB) theory. Journal of Sea Research 143: 231–242.
- VAL M et al. 2006. Niveles séricos de hormonas esteroideas en poblaciones de trucha común (*Salmo trutta fario*) como marcadores del grado de contaminación estrogénica de las aguas. Universidad de Valladolid
- VERCAUTEREN M et al. 2022. Explorative study on scale cortisol accumulation in wild caught common dab (*Limanda limanda*). BMC Veterinary Research 18: 324.
- VILLA R. 2021. Alimentación de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante ensilado químico de viseras de trucha en la fase de ceba. Revista EIA 18: 1–10.
- WANG Z et al. 2016. Transcriptome profiling analysis of rare minnow (*Gobiocypris rarus*) gills after waterborne cadmium exposure. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics 19: 120–128.
- ZHELEV Z et al. 2016. Morphological and hematological parameters of *Carassius gibelio* (*Pisces: Cyprinidae*) in conditions of anthropogenic pollution in Southern Bulgaria. Use of hematological parameters as biomarkers. Trakia Journal of Science 14: 1–15.
- ZUTSHI B et al. 2010. Alteration in hematology of *Labeo rohita* under stress of pollution from Lakes of Bangalore, Karnataka, India. Environmental Monitoring and Assessment 168: 11–19.