



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**ANÁLISE DE MICRONÚCLEOS EM AVES COMO FERRAMENTA DE
BIOMONITORAMENTO DO EFEITO DA POLUIÇÃO EM AMBIENTES
FLORESTAIS E URBANOS**

Aluna: Camilla Queiroz Baesse

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Morelli

Co-Orientadora: Profa. Dra. Celine de Melo

**UBERLÂNDIA - MG
2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA**

**ANÁLISE DE MICRONÚCLEOS EM AVES COMO FERRAMENTA DE
BIOMONITORAMENTO DO EFEITO DA POLUIÇÃO EM AMBIENTES
FLORESTAIS E URBANOS**

Aluna: Camilla Queiroz Baesse

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Morelli

Co-Orientadora: Profa. Dra. Celine de Melo

**Tese apresentada à Universidade
Federal de Uberlândia como
parte dos requisitos para
obtenção do Título de Doutor em
Genética e Bioquímica (Área
Genética)**

**UBERLÂNDIA - MG
2019**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

B142 Baesse, Camilla Queiroz, 1990-
2019 Análise de micronúcleos em aves como ferramenta de
biomonitoramento do efeito da poluição em ambientes florestais e
urbanos [recurso eletrônico] / Camilla Queiroz Baesse. - 2019.

Orientadora: Sandra Morelli.
Coorientadora: Celine de Melo.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-
graduação em Genética e Bioquímica.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2450>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Genética. I. Morelli, Sandra, 1953-, (Orient.). II. Melo, Celine
de, 1971-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia.
Pós-graduação em Genética e Bioquímica. IV. Título.

CDU: 575

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

Palavras-chave: eritrócitos, genotoxicidade, urbanização, biomonitores, avifauna



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**ANÁLISE DE MICRONÚCLEOS EM AVES COMO FERRAMENTA DE
BIOMONITORAMENTO DO EFEITO DA POLUIÇÃO EM AMBIENTES
FLORESTAIS E URBANOS**

ALUNA: Camilla Queiroz Baesse

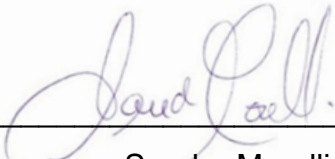
COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Profa. Dra. Sandra Morelli (Orientadora)

Examinadores: Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto
Profa. Dra. Aline Sueli de Lima Rodrigues
Prof. Dr. Mário Antônio Spanó
Prof. Dr. Boscolli Barbosa Pereira

Data da Defesa: 25/11/2019

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGGB para o formato da Tese foram contempladas



Sandra Morelli

DEDICATÓRIA

*Dedico esta tese aos meus pais, à minha irmã,
ao meu marido Vitor e à nossa filha Luiza.*

AGRADECIMENTOS

Tenho muito a agradecer com a finalização desta tese. Este novo título foi conquistado com muito esforço e superação. Primeiramente agradeço a Deus que esteve ao meu lado em todos os momentos me iluminando e me fazendo chegar até aqui.

Agradeço à Universidade Federal de Uberlândia, ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, aos professores e funcionários do Instituto de Biotecnologia por fazerem parte do meu processo de crescimento durante estes quatro anos. À minha orientadora Profa. Dra. Sandra Morelli, agradeço por ter aceitado meu pedido de orientação, por ter acreditado e confiado em mim e no meu projeto. Muito obrigada pela oportunidade, pelo voto de confiança e por toda ajuda no decorrer destes 4 anos. À minha co-orientadora Profa. Dra. Celine de Melo, agradeço pelos 9 anos de ensinamento, dedicação, paciência, amizade e tudo mais que vivemos e nos tornamos durante todo esse tempo. Dedico a você todo meu desenvolvimento científico.

Quero agradecer à banca examinadora, Prof. Dr. Guilherme Malafaia, Profa. Dra. Aline Rodrigues, Prof. Dr. Mário Spanó, Prof. Dr. Boscolli Pereira por aceitarem o convite e pelas sugestões e considerações que, sem dúvidas, serão fundamentais para o trabalho.

Agradeço aos meus pais, José Ricardo e Tânia, por toda dedicação e amor que me tornaram a pessoa que sou. Muito obrigada por estarem ao meu lado em todos os momentos, me ajudando de todas as formas possíveis e impossíveis. Agradeço também à minha irmã Isadora, minha companheira para todas as horas e que me ajudou ativamente neste trabalho.

Ao meu marido Vitor, agradeço por tudo, esteve ao meu lado me ajudando intensamente desde o primeiro dia de doutorado até o último. Meu bem, sem você eu não teria chegado até aqui. E te agradeço, pelo nosso maior presente, que chegou de surpresa no final deste doutorado pra completar nossas vidas e nossa família. Luiza, minha filha, você é o maior presente que a mamãe ganhou neste mundo. Junto ao meu título de doutora, você me permitiu ganhar o título de mamãe e sou imensamente grata por isso. Você me permitiu sentir o amor mais puro e a entrega incondicional que eu poderia vivenciar neste mundo. Te amo infinitamente. Agradeço também aos meus sogros, Adélio e Aparecida, aos meus cunhados e concunhadas por toda torcida e incentivo.

Agradeço aos colegas de laboratório pela convivência e principalmente a equipe de anilhamento que faz nosso trabalho ficar mais leve e divertido. Agradeço ao caseiro Wilson de Oliveira que me auxiliou cuidando dos canários na fazenda. Agradeço também à Vanessa Gonçalves que cuidou dos canários em Uberlândia.

À CAPES pela bolsa de doutorado concedida (Código de Financiamento 001). À FAPEMIG (APQ-01654-12) e ao CNPq (PELD – 441225/2016) pelo auxílio financeiro para desenvolvimento dos projetos vinculados ao laboratório. E à CEMIG por disponibilizar infraestrutura e pela autorização para coleta de dados na RPPN Galheiro.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJETIVO GERAL	6
2.1. Objetivos específicos	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1. Capturas	8
3.1.1. Áreas de estudo	8
3.1.2. Metodologia	11
3.2. Parte Experimental	12
3.2.1. Áreas de estudo	12
3.2.2. Metodologia	14
3.3. Confeção das lâminas	14
3.4. Análises estatísticas	15
4. RESULTADOS	17
5. DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÕES	42
7. REFERÊNCIAS	43
8. ANEXOS	57

RESUMO

Baesse, Camilla Queiroz. 2019. Análise de micronúcleos em aves como ferramenta de biomonitoramento do efeito da poluição em ambientes florestais e urbanos. Tese de Doutorado em Genética e Bioquímica. Universidade Federal de Uberlândia. 57p.

Atividades humanas impactam o ambiente natural de várias maneiras, muitas vezes com consequências negativas para o ecossistema. A poluição ambiental é um dos maiores problemas gerados por essas atividades, pois apresenta características genotóxicas que desencadeiam anomalias, como micronúcleos. As aves apresentam sensibilidade às mudanças ambientais e podem ser úteis como biomonitores, sendo interessante unir a técnica de micronúcleos às aves. Os objetivos foram verificar se existe diferença na frequência de micronúcleos das aves capturadas em áreas florestais com diferentes proximidades aos centros urbanos e entre as estações seca e chuvosa. Determinar a frequência de micronúcleos nas espécies de aves capturadas. Avaliar se os fatores, fase de vida, biomassa, condição corporal, sexo, guilda alimentar e presença de ectoparasitas interferem na frequência de micronúcleos. Analisar se as populações de aves apresentam diferenças na frequência de micronúcleos entre as áreas. Comparar a frequência de micronúcleo de canários-belga mantidos na área urbana e rural e verificar se esta frequência está relacionada ao tempo de exposição em ambiente poluído. O estudo foi realizado em seis áreas de florestas estacionais semidecíduais de Minas Gerais, agrupados em: áreas distantes de centros urbanos e rodovias (Água Fria e Galheiro), áreas próximas a centros urbanos e rodovias (Glória e São José) e áreas inseridas em centros urbanos e próximas a rodovias (Sabiá e Siquierolli). Foram realizadas seis campanhas de captura por área de 2014 a 2018, utilizando redes de neblina. Após capturadas, as aves foram retiradas das redes, identificadas em nível de espécie, anilhadas, pesadas, tiveram os tarsos medidos e foi verificado idade, sexo e presença de ectoparasitas. A condição corporal foi avaliada através do Índice de Massa Relativa (IMR) e as espécies foram classificadas em relação às guildas alimentares. Indivíduos de canários-belga foram mantidos por 120 dias na cidade Uberlândia e em área controle (rural). Foi feita a coleta de sangue para confecção de duas extensões sanguíneas por indivíduo e foram analisados 10000 eritrócitos por ave. Foram capturadas 1308 aves de 87 espécies com um total de 1403 micronúcleos. A frequência de micronúcleos nas aves variou entre as áreas de estudo, com menores valores nas distantes de cidades e maiores nas inseridas em cidades. Na estação seca a frequência de micronúcleos nas aves foi significativamente maior que na chuva. A frequência de micronúcleos variou entre as espécies de aves, entre as guildas alimentares, biomassa e IMR e não variou entre idade, sexo e presença de ectoparasitas. Foram selecionadas cinco espécies para serem utilizadas como biomonitoras, uma vez que apresentaram maior frequência de micronúcleos nas áreas mais poluídas. Houve diferença significativa na frequência de micronúcleos entre os canários-belga mantidos na cidade e na área controle e quanto maior o tempo de exposição maior a frequência de micronúcleos nos canários expostos na cidade. Com isso, concluímos que a técnica de micronúcleo aliada às aves se torna uma excelente ferramenta para biomonitoramento de áreas poluídas.

Palavras-chave: eritrócitos, genotoxicidade, urbanização, biomonitores, avifauna.

ABSTRACT

Human activities impact the natural environment in many ways, often with negative consequences for the ecosystem. Environmental pollution is one of the biggest problems generated by these activities, as it has genotoxic characteristics that trigger anomalies, such as micronuclei. Birds are sensitive to environmental changes and may be useful as biomonitors, and it is interesting to unite the micronucleus technique with birds. The objectives were to verify if there is a difference in the micronucleus frequency of the birds captured in forest areas with different proximity to urban centers and between the dry and rainy seasons. Determine the frequency of micronuclei in captured bird species. To evaluate whether factors, life stage, biomass, body condition, sex, food guild and presence of ectoparasites interfere with the frequency of micronuclei. To analyze if bird populations present differences in micronucleus frequency between areas. To compare the micronucleus frequency of Belgian canaries kept in urban and rural areas and to verify if this frequency is related to the exposure time in a polluted environment. The study was carried out in six areas of semideciduous seasonal forests of Minas Gerais, grouped into: areas far from urban centers and highways (Água Fria and Galheiro), areas near urban centers and highways (Glória and São José) and areas inserted in centers urban and close to highways (Sabiá and Siquierolli). There were six capture campaigns per area from 2014 to 2018, using fog nets. After capture, the birds were removed from the nets, identified at species level, ringed, weighed and the tarsos have been measured. And it was verified age, sex and presence of ectoparasites. Body condition was assessed by Index Mass Relative (IMR) and species were classified in relation to food guilds. Belgian canary individuals were kept for 120 days in the city of Uberlândia and in a control area (rural). Blood was collected for two blood extensions per individual and 10000 erythrocytes per bird were analyzed. 1308 birds of 87 species with a total of 1403 micronuclei were captured. The frequency of micronuclei in birds varied among study areas, with lower values in distant cities and higher in cities. In the dry season the frequency of micronuclei in birds was significantly higher than in rain. The frequency of micronuclei varied among bird species, between food guilds, biomass and IMR and did not vary between age, sex and presence of ectoparasites. Five species were selected to be used as biomonitors, since they presented higher frequency of micronuclei in the most polluted areas. There was a significant difference in the frequency of micronuclei between Belgian canaries exposed in the city and the control area and the longer the exposure time the greater the frequency of micronuclei in the kept canaries in the city. Thus, we conclude that the micronucleus technique combined with birds becomes an excellent tool for biomonitoring of areas with pollution.

Keywords: erythrocytes, genotoxicity, urbanization, biomonitors, birdlife.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da população humana está correlacionado com atividades antrópicas que impactam o meio ambiente de várias maneiras, muitas vezes com consequências negativas para a biota local (Miller, Hobbs, 2002, Alimba, Bakare, 2016), deixando os organismos expostos a uma série de estressores que impõem restrições importantes à sua biologia (Ditchkoff *et al.*, 2006). O principal impacto gerado por esse crescimento populacional é o aumento de poluentes na atmosfera trazendo consequências negativas para o ecossistema (Alimba, Bakare, 2016). Mesmo com a existência de normas voltadas para o controle da poluição ambiental, ela continua sendo um risco e ameaça à saúde humana e animal (Briggs, 2003). Alguns trabalhos ainda sugerem que devido à sazonalidade observada entre as estações do ano, durante o inverno pode haver maior acúmulo e concentração de poluentes atmosféricos (Soares *et al.*, 2003).

A poluição ambiental de ordem antrópica pode apresentar características genotóxicas que influenciam a genética e o sistema imunológico das pessoas e de todo ecossistema (Ballarian *et al.*, 1992). As substâncias genotóxicas podem ter efeitos deletérios relevantes sobre a dinâmica populacional, tornando-se uma questão preocupante na biologia da conservação (Santos *et al.*, 2017).

Alguns dos problemas de saúde associados à exposição a esses poluentes incluem imunossupressão; aumento na incidência de doenças, redução da expectativa de vida, perda reprodutiva e cânceres (Filippini *et al.*, 2015). Os cânceres associados à poluição ambiental têm sido atribuídos aos danos no DNA devido aos efeitos genotóxicos dos poluentes, que comprometem a integridade da constituição genética do indivíduo (Claxton, 2015). Portanto a genotoxicidade, serve como um importante biomarcador da poluição ambiental e uma medida de carcinogênese. Com isso, avaliar a genotoxicidade é uma estratégia valiosa na avaliação do risco à vida e requer a escolha de marcadores adequados e sensíveis (Baos *et al.*, 2006) à poluição ambiental.

Métodos de bioindicação são usados como forma de detectar o dano antropogênico na biota. Eles são baseados em pesquisas sobre o impacto dos fatores ambientais variáveis em diferentes características dos sistemas biológicos (Grygus *et al.*, 2018). O teste de micronúcleos é um dos marcadores mais sensíveis para detectar danos no DNA e tem sido usado para investigar a

genotoxicidade, clastogenicidade e aneugenia de uma variedade de poluentes (Morita *et al.*, 2011). O teste de micronúcleos *in vivo* tem sido amplamente utilizado para avaliar o dano citogenético induzido por agentes químicos e físicos, devido à sua simplicidade e sensibilidade a xenobióticos capazes de induzir efeitos genotóxicos no DNA (Krishna, Hayashi, 2000, Hayashi, 2016). O micronúcleo normalmente se forma quando um indivíduo é exposto a um xenóbiotico gerando um efeito genotóxico que interfere na estrutura ou função do aparelho mitótico, produzindo uma falha na incorporação de cromossomos ou fragmentos cromossômicos no núcleo principal (Thomas *et al.*, 2009). Esse teste é aplicável a vários grupos devido à sua alta reprodutibilidade, custo relativamente baixo, rapidez nos resultados e eficácia tanto em estudos de laboratório quanto em estudos de campo (Morita *et al.*, 1997, Baesse *et al.*, 2015, Alimba, Bakare, 2016, Baesse *et al.*, 2019).

Embora a seleção de técnicas e abordagens apropriadas seja um fator considerável no monitoramento da genotoxicidade no ambiente, um aspecto igualmente importante é a seleção de organismos representativos como biomonitores (Baos *et al.*, 2006). Os biomonitores são organismos mais sensíveis às mudanças ambientais e com seu comportamento é possível comparar diferentes áreas (Grygus *et al.*, 2018). Um biomonitor ideal para avaliação de risco tem uma resposta bioquímica e fisiológica a substâncias tóxicas que é análoga, porém mais rápida, que a observada em humanos (González-Acevedo *et al.*, 2016).

As aves têm um lugar distinto no ecossistema e constituem um dos diversos grupos evolutivos (Mitra *et al.*, 2011). Além de apresentarem alto valor e importância ecológica, algumas delas encontram-se em constante ameaça de extinção (Sánchez-Virosta *et al.*, 2015, IUCN, 2019). Elas também apresentam sensibilidade às mudanças ambientais, podendo ser úteis como biomonitores da qualidade ambiental. A abundância das aves e grande diversidade de ecossistemas que elas habitam permite acesso relativamente simples para obter amostras (Stolen, 2006, Almeida *et al.*, 2017). Além disso, a diversidade de aves aumenta a probabilidade de identificar espécies modelo apropriadas para avaliar o impacto de agentes genotóxicos e a degradação em consequência de atividades humanas (Quero *et al.*, 2016).

É importante notar que as aves têm um elevado metabolismo e uma alta taxa de inalação. O sistema respiratório das aves é caracterizado por fluxo de ar unidirecional e troca gasosa de corrente cruzada, características que melhoram a eficiência da respiração (Jubril *et al.*, 2017). As aves respiram mais eficientemente do que qualquer outro tipo de vertebrado terrestre. Além disso, para o voo elas acumulam grandes volumes de ar (Saldiva, Böhm, 1998). Portanto, as aves estão mais suscetíveis aos gases e partículas presentes no ar do que outros grupos, e assim podem servir como indicadores úteis para a detecção precoce do efeito da poluição do ar na saúde pública devido à sua coabitação com seres humanos (Jubril *et al.*, 2017).

Atualmente, as aves estão direta ou indiretamente expostas à poluição ambiental, um dos fatores responsáveis pelo declínio populacional deste grupo em todo o mundo (Hussain *et al.*, 2015). Além disso, elas são conhecidas pelo seu papel de bioacumuladores de substâncias dentro da cadeia alimentar, o que pode resultar em um acúmulo de poluentes no seu organismo (Kursa, Bezrukov, 2008, Skarphedinsdottir *et al.*, 2010, Braham *et al.*, 2017). Sendo assim, as aves podem ser indicadoras de alerta para problemas e ameaças ambientais uma vez que populações aviárias saudáveis são representantes de um ecossistema equilibrado (Şekercioğlu *et al.*, 2004).

Além da influência da poluição no desenvolvimento de micronúcleos nas aves, existem fatores intrínsecos das espécies que também podem interferir no surgimento de micronúcleos (Shepherd, Somers, 2012). O sistema reticuloendotelial que está envolvido na remoção de eritrócitos envelhecidos e danificados do sangue, amadurece com a idade (Zúñiga-González *et al.*, 2000). Assim, indivíduos mais jovens poderiam apresentar maiores taxas de danos no DNA. Aves com maior biomassa apresentam maior superfície corpórea, o que amplia a área de contato para absorção de poluentes, podendo resultar no aumento de anomalias (Souto *et al.*, 2018). Além disso, aves com melhor condição corporal apresentam maiores taxas metabólicas e conseqüentemente maior atividade, o que permite maior aproximação com fontes de poluição que podem induzir anomalias (Blums *et al.*, 2005). Nagae *et al.* (1991) sugerem que a formação de micronúcleo é inibida pelo hormônio estrógeno, que é encontrado em maiores concentrações no sexo feminino, logo indivíduos fêmeas apresentariam

menor frequência de micronúcleos em relação aos machos. Outro fator que pode influenciar na diferença de micronúcleos entre espécies de aves é a dieta alimentar. Aves classificadas como onívoras são generalistas em relação à alimentação, com isso podem entrar em contato com mais poluentes que se alocam nos recursos alimentares gerando aumento de micronúcleos (Hussain *et al.*, 2015). Além disso, aves parasitadas apresentam elevado nível de estresse e esse fato pode influenciar no aumento das frequências de anomalias eritrocitárias (Kursa, Bezrukov, 2008).

As aves apresentam eritrócitos ovóides nucleados, com núcleo único localizado na região central da célula e um reduzido volume sanguíneo, em comparação a outros animais (Campbell, Ellis, 2007, Clark *et al.*, 2009). A quantidade de sangue que pode ser obtida depende do peso corporal e do estado de saúde do animal (Clark *et al.*, 2009). Com isso, o teste de micronúcleo se mostra aplicável para as aves, já que é possível observar a presença do micronúcleo através de uma pequena amostra de sangue sem ser necessário sacrificar os indivíduos (Zúñiga-González *et al.*, 2001, Baesse *et al.*, 2015, Baesse *et al.*, 2019).

2. OBJETIVO GERAL

Determinar se as aves têm potencial para serem utilizadas como biomonitoras da poluição ambiental em áreas florestais e urbanas, considerando a frequência de micronúcleos como biomarcador.

2.1. Objetivos específicos

- Verificar se existe diferença na frequência de micronúcleos das aves capturadas em áreas florestais com diferentes proximidades aos centros urbanos. Testar a hipótese de que quanto menor a distância da área aos centros urbanos, maior é a frequência de micronúcleos nas aves devido, principalmente, a maior exposição à poluição atmosférica.
- Verificar se existe diferença na frequência de micronúcleos das aves entre as estações seca e chuvosa. Testar a hipótese de que na estação seca as aves

apresentam maior frequência de micronúcleos, pois nesta estação há maior acúmulo e concentração de poluentes ambientais.

- Determinar a frequência de micronúcleos nas diferentes espécies de aves analisadas.

- Avaliar se o fator fase de vida (jovem x adulto) interfere na frequência de micronúcleos nas aves. Testar a hipótese de que aves jovens apresentam maior frequência de micronúcleos que aves adultas, devido à menor eficiência do sistema retículo-endotelial.

- Avaliar se o fator biomassa interfere na frequência de micronúcleos nas aves. Testar a hipótese de que aves com maior biomassa apresentam maior frequência de micronúcleos, pelo fato de apresentarem maior área de contato da superfície corpórea.

- Avaliar se o fator condição corporal [Índice de Massa Relativa (IMR)] das aves interfere na frequência de micronúcleos. Testar a hipótese que aves com melhor condição corporal apresentam maior frequência de micronúcleos, por apresentarem maior atividade.

- Avaliar se o fator sexo (macho x fêmea) interfere na frequência de micronúcleos nas aves. Testar a hipótese de que aves do sexo masculino apresentam maior frequência de micronúcleos em relação às fêmeas, uma vez que o hormônio estrógeno, encontrado em maior quantidade nas fêmeas, diminui este tipo de anomalia.

- Avaliar se o fator guilda alimentar/dieta interfere na frequência de micronúcleos. Testar a hipótese de que aves mais generalistas apresentam maior frequência de micronúcleos.

- Avaliar se o fator presença de ectoparasitas (ácaros/carrapatos) nas aves interfere na frequência de micronúcleos. Testar a hipótese de que aves mais parasitadas apresentam maior frequência de micronúcleos.

- Verificar se as populações de aves apresentam diferenças na frequência de micronúcleos entre as áreas.

- Comparar a frequência de micronúcleo de canários-belga mantidos na área urbana e rural. Testar a hipótese de que os canários-belga da área urbana apresentam maior frequência de micronúcleos devido a maior exposição à poluição do ar, uma vez que outros fatores como água e alimento foram isolados.

-Verificar se a frequência de micronúcleos está relacionada ao tempo de exposição em ambiente poluído. Testar a hipótese de que quanto mais longo o tempo de exposição à poluição maior a frequência de micronúcleos devido à acumulação da anomalia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Capturas

3.1.1. Áreas de estudo

O estudo foi realizado em seis áreas de florestas estacionais semidecíduais do estado de Minas Gerais, Brasil. A região está sob o domínio do Cerrado, porém altamente impactada, com mais de 70% da área ocupada pela agricultura e pecuária (Brito, Prudente, 2005).

O clima na região é do tipo Aw segundo a classificação climática de Köppen (1948) com sazonalidade marcada por verões chuvosos (de outubro a março) e invernos secos (de abril a setembro). A pluviosidade anual gira em torno de 1.500 mm e a temperatura média é de 22 °C (Rosa *et al.*, 1991, Alves, Rosa, 2008).

A Mata da Fazenda Água Fria (18°29'47"S, 48°22'44"O) está localizada no município de Araguari, MG, com 200 hectares. É considerado um fragmento em excelente estado de conservação, com características de formações primárias (Lopes, 2010). É um fragmento isolado de centros urbanos, por no mínimo 20 km de distância destes (Figura 1A).

A Mata da Reserva Particular do Patrimônio Natural Galheiro (19°12'39"S, 47°08'19"O) é localizada no município de Perdizes, MG possui uma área aproximada de 260 hectares e apresenta formações vegetacionais florestais e savânicas em diferentes estágios de conservação (Castro, 1995). O fragmento se encontra no mínimo a 20 km de áreas urbanas (Figura 1B).

A mata da Fazenda Experimental do Glória – UFU (18°57'05"S, 48°12'20"O) está localizada no Município de Uberlândia, MG e possui uma área de 30 hectares. A área é composta por formações de mata de galeria e mata estacional semidecidual (Lopes, 2010). É margeada pela rodovia BR 050 e próxima à área urbana de Uberlândia (Figura 1C).

A mata da Fazenda São José (18°51'39"S, 48°13'51"O) localiza-se na zona rural do município de Uberlândia – MG, possui uma área de 20 hectares, com um gradiente entre floresta estacional semidecidual e mata de galeria (Lopes, 2010). O fragmento fica próximo à área urbana de Uberlândia e ao Anel Viário Norte (Figura 1D).

A mata do Parque do Sabiá (18°54'33"S, 48°13'48"O) está localizada no Parque do Sabiá em Uberlândia, MG e possui uma área de 30 hectares. A área é composta por formações de mata de galeria e mata estacional semidecidual (Rosa, Schiavini, 2006). É um fragmento inserido dentro da cidade de Uberlândia e margeado pela rodovia BR 050 (Figura 1E).

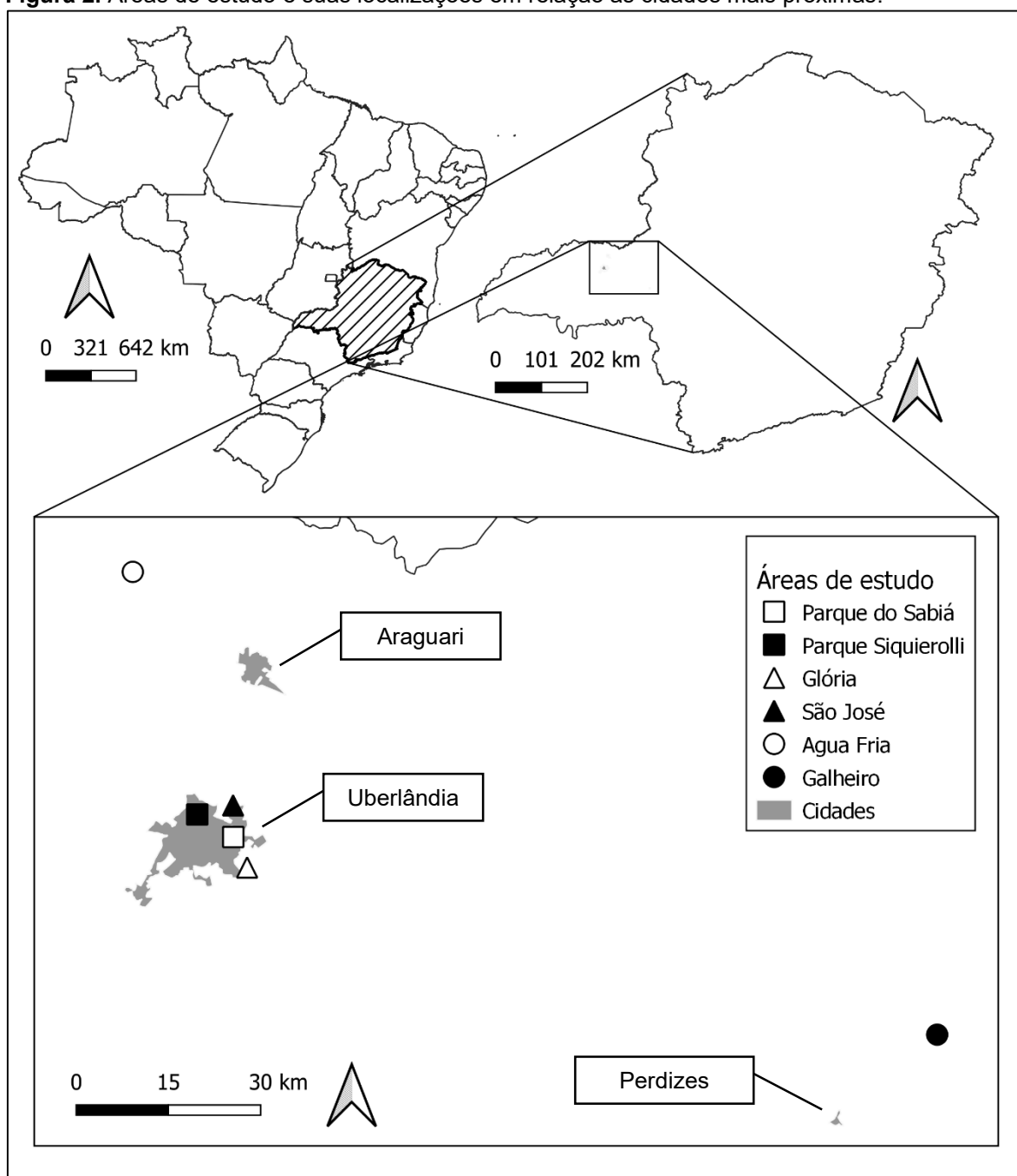
A mata do Parque Municipal Victório Siquierolli (18°52'24"S, 48°17'07"O) está localizada no Parque Municipal Victório Siquierolli no setor norte de Uberlândia, MG e possui uma área de 23,7 hectares. A área possui formações de mata de galeria e mata estacional semidecidual. O Parque é limitado por quatro bairros da cidade de Uberlândia e próximo ao Distrito Industrial (Valadão *et al.*, 2006) (Figura 1F).

As seis áreas de estudo foram agrupadas de acordo com sua localização e distância em relação a centros urbanos (Figura 2). As áreas Água Fria e Galheiro, por estarem localizadas em áreas rurais, distantes de cidade e rodovias, foram classificadas como **distantes** de cidades. Glória e São José estão localizadas em áreas rurais, porém muito próximas de rodovias e da cidade de Uberlândia, portanto, foram classificadas como **próximas** de cidades. E as áreas Siquierolli e Sabiá, fazem parte de Parques localizados dentro da cidade de Uberlândia, cercadas por área urbana, foram classificadas como **inseridas** em cidades.

Figura 1. Imagens de satélite das seis áreas de estudo onde foram realizadas as capturas de aves. A) Água Fria, B) Galheiro, C) Glória, D) São José, E) Sabiá e F) Siquierolli Fonte: Google Earth, 2019.



Figura 2. Áreas de estudo e suas localizações em relação às cidades mais próximas.



3.1.2. Metodologia

Em cada uma das áreas foram realizadas seis campanhas de campo entre os anos 2014 a 2018, sendo três campanhas na estação seca e outras três na estação chuvosa, com duração de quatro dias, cada. Não foram realizadas campanhas durante os meses de transição entre as estações (abril/maio, setembro/outubro). As capturas foram feitas com a utilização de 25 redes de neblina, expostas em trilhas no interior dos fragmentos entre 06:30h e 17:00h. O

esforço de campo foi padronizado entre as áreas, contabilizado a partir do produto entre o número de redes e o número de horas de exposição das redes (Roos *et al.*, 2006). As redes foram checadas em intervalos de aproximadamente 30 minutos. Após capturadas, as aves foram retiradas das redes e acomodadas em sacos de tecido para posterior triagem.

Os indivíduos capturados foram identificados em nível de espécie com auxílio de guias de campo (Sigrist, 2009, Gwynne *et al.*, 2010), anilhados com anilhas metálicas cedidas pelo CEMAVE/ICMBio, pesados (biomassa) com dinamômetro de mão e tiveram os tarsos medidos com paquímetro digital. A condição corporal foi avaliada através do IMR (Índice de Massa Relativa) que foi calculado por uma regressão linear simples entre os valores logaritmizados na base dez da biomassa e comprimento do tarso direito (Schulte-Hostedde *et al.*, 2005). O logaritmo foi utilizado para desconsiderar as unidades de medida, pois os parâmetros são medidos em unidades diferentes (Schulte-Hostedde *et al.*, 2005). O tarso foi utilizado por ser considerado uma estrutura rígida, logo está menos sujeito a variações. Os valores residuais da regressão foram utilizados como IMR (Schulte-Hostedde *et al.*, 2005).

Foi verificada a fase de vida (jovem, adulto) dos indivíduos, através da análise da presença de comissura labial e da ossificação craniana. Quando a espécie apresentava dimorfismo sexual, o sexo foi definido em macho ou fêmea. Também foi avaliado se os indivíduos apresentavam ectoparasitos, através da avaliação visual das penas e do corpo da ave (carrapato, ácaro). As espécies foram classificadas em relação à dieta (guildas alimentares) em insetívoros, frugívoros, onívoros e granívoros (Motta-Júnior, 1990, Sick, 1997, Soares e Anjos 1999, Piratelli e Pereira 2002, Durães e Marini 2003).

Para a realização desses procedimentos mencionados acima, foram obtidas autorizações anuais pelo SISBIO (Autorização SISBIO: 44901-3) e CEMAVE/ICMBio (CEMAVE/ICMBio – Autorização: 3730 – Registro: 359076).

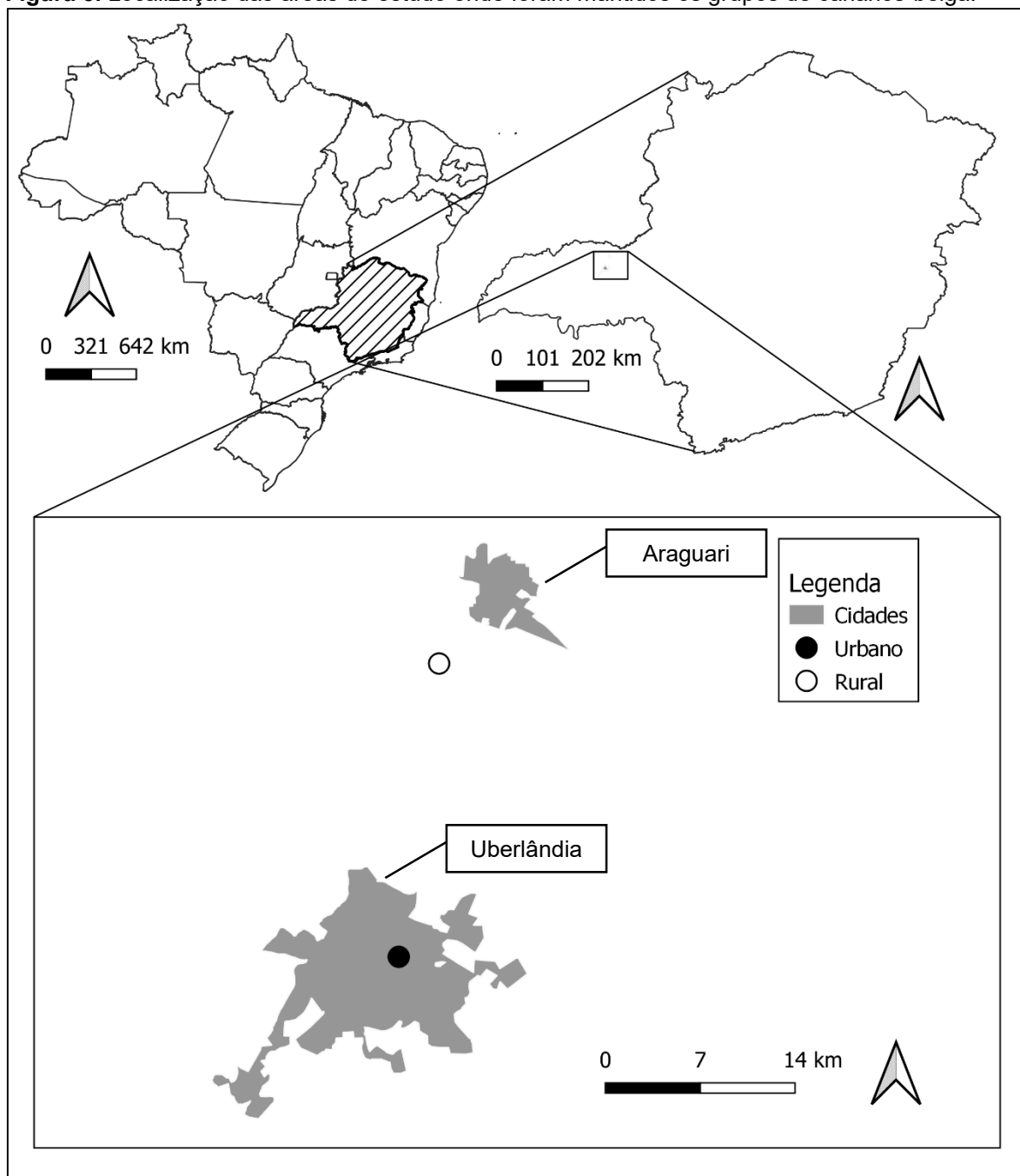
3.2. Parte Experimental

3.2.1. Áreas de estudo

Os indivíduos de canário-belga (*Serinus canarius*) foram divididos em dois grupos: um grupo Urbano onde os canários-belga foram mantidos na sacada de

um prédio localizado em uma região com trânsito intenso de veículos na cidade de Uberlândia (Avenida Afonso Pena 2316, apartamento 201 Bloco A - Coordenadas: 18°54'16.11"S - 48°16'2.68"O) e um grupo Rural (Grupo controle), onde os canários-belga foram mantidos na Fazenda Fundão, localizada na zona rural do Município de Araguari - MG, a aproximadamente 10 km de distância da área urbana (Coordenadas: 18°41'56.45"S - 48°14'20.81"O) (Figura 3).

Figura 3. Localização das áreas de estudo onde foram mantidos os grupos de canários-belga.



3.2.2. Metodologia

Quarenta indivíduos jovens de canário-belga (*Serinus canarius*) com idade e porte semelhantes foram obtidos de um criadouro regulamentado e posteriormente anilhados para identificação e individualização. Tiveram tarsos, asas, bico e comprimento total medidos com paquímetro digital. Os canários-belga também foram pesados com dinamômetro de mão e a presença de ectoparasitas (ácaro e carrapato) foi verificada, onde nenhum indivíduo apresentou ectoparasitas. Os canários-belga ficaram em quarentena, isolados de fontes de poluição e após este período foram divididos em dois grupos com 20 indivíduos cada: Grupo Urbano (10 fêmeas e 10 machos) mantido na cidade e Grupo Rural, considerado grupo controle (10 fêmeas e 10 machos), mantido em área rural.

Ambos os grupos foram mantidos em gaiolas por um período contínuo de 120 dias, durante os meses de maio a setembro de 2018. Em cada gaiola foram colocados 10 indivíduos e as gaiolas possuíam proteção contra outros animais, chuva e sol. Ambos os grupos tinham suas gaiolas cobertas ao anoitecer e descobertas ao nascer do sol.

Os animais foram observados diariamente e alimentados com alpiste comercial proveniente do mesmo fornecedor e água ad libitum. Amostras de sangue foram coletadas após 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias de exposição e foram confeccionadas extensões sanguíneas para análise da presença de micronúcleos.

O protocolo de pesquisa foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (Registro: 120/15).

3.3. Confeção das lâminas

Para confecção das lâminas para análise de micronúcleos o sangue foi coletado de todos os indivíduos com o auxílio de seringa com agulha 8mm x 0,3mm descartável. A coleta foi feita na veia metatarsiana medial que cruza a junção tarso-metatarsica e apresenta como vantagem estar envolta por estruturas musculares que minimizam o hematoma (Campbell, 1994). As aves são mais susceptíveis à formação de hematomas por terem pouco tecido conjuntivo. Assim,

seguiu-se a recomendação de aplicar pressão no local da punção durante um mínimo de 30 segundos após a retirada da agulha (Vila, 2013).

O sangue foi gotejado diretamente sobre a porção do primeiro terço da lâmina de microscopia, sendo feita uma extensão sanguínea com o auxílio de uma segunda lâmina e seca em temperatura e ar ambiente (Clark *et al.*, 2009). O objetivo é conseguir uma extensão de sangue formada por uma camada uniforme de células (Vila, 2013). As lâminas foram fixadas em metanol absoluto; coradas com solução a 5% de Giemsa e tampão fosfato pH 5,8; após isso, foram enxaguadas em água corrente, secas em temperatura ambiente e marcadas com o número da anilha do indivíduo (Schmid, 1976).

A análise das lâminas foi feita em microscópio óptico (Nikon Eclipse E200) seguindo o modelo zig-zag para evitar o cruzamento da mesma área mais de uma vez. Vários campos foram observados ao acaso com lente de aumento de 100 vezes e com o uso de óleo de imersão (Schmid, 1976). Para cada indivíduo foram confeccionadas duas extensões sanguíneas. Em cada lâmina foram contados 5000 eritrócitos, totalizando 10000 eritrócitos por indivíduo, realizando a contagem dos micronúcleos presentes. Os critérios de identificação dos micronúcleos foram: apresentar diâmetro de 1/6 a 1/3 do núcleo celular, formato redondo ou oval, e mesma ou maior intensidade de coloração do núcleo celular. Além de, não ser refratário e não estar ligado nem sobrepor o núcleo celular (Luzhna *et al.*, 2013).

3.4. Análises estatísticas

Para comparar a diferença na frequência de micronúcleos nas aves entre os diferentes tipos de áreas de estudo foi realizado um Modelo Linear Misto (ANOVA em Blocos), no qual a frequência de micronúcleos por indivíduo foi considerada a variável resposta, o tipo de área de estudo (distante, inserido e próximo de cidades) como fator fixo e a área de estudo (Água Fria, Galheiro, Glória, São José, Parque do Sabiá e Parque Siquierolli) como o fator aleatório. O mesmo teste (Modelo Linear Misto) foi utilizado para verificar se a frequência de micronúcleos varia entre as estações. A frequência de micronúcleos foi considerada a variável resposta, a estação do ano (seca e chuva) o fator fixo e a espécie de ave foi considerada o fator aleatório, controlando o fato de que algumas espécies podem ter sido capturadas apenas em uma estação.

Para comparar se existe diferença na frequência de micronúcleos entre as espécies de aves analisadas foi realizado um Modelo Linear Misto (ANOVA em Blocos), no qual a frequência de micronúcleos por indivíduo foi considerada a variável resposta, a espécie de ave como fator fixo e a área de estudo como o fator aleatório.

Para verificar se a frequência de micronúcleos varia conforme a fase de vida, sexo, guilda e presença de ectoparasitas foram feitos Modelos Lineares Mistos para cada parâmetro. A frequência de micronúcleos foi considerada a variável resposta. Para o parâmetro fase de vida, foram desconsiderados os indivíduos com idade indeterminada e os indivíduos jovens e subadultos foram considerados como indivíduos jovens. Portanto, a análise levou em consideração a variável idade, formada por dois grupos, adultos e jovens, como fator fixo. Para o parâmetro sexo, os indivíduos com sexo indeterminado foram excluídos das análises, restando indivíduos machos e fêmeas, como fator fixo da análise. Para os demais parâmetros, a presença de ectoparasitas e a guilda alimentar (frugívoros, granívoros, nectarívoros, insetívoros e onívoros) foram considerados os fatores fixos. A área de estudo foi considerada o fator aleatório para todos estes testes.

Para verificar se a biomassa e o Índice de Massa Relativa (IMR) dos indivíduos estão relacionados aos valores de micronúcleos foram realizadas Análises de Covariância (ANCOVA) independentes para os dois fatores. Para excluir o efeito do parâmetro espécie de ave nas análises esta foi considerada nos dois casos como a covariável preditora categórica.

Para a realização das análises em nível populacional, foram selecionadas as espécies que apresentaram tamanho amostral maior ou igual a cinco indivíduos nos três tipos de áreas de estudo. Para verificar se a frequência de micronúcleos variou entre os tipos de áreas para cada espécie de aves que atendeu ao critério de tamanho amostral, foram feitos Modelos Lineares Mistos independentes para cada parâmetro. A frequência de micronúcleos foi considerada a variável resposta, o tipo de área de estudo o fator fixo e a área de estudo foi considerada o fator aleatório.

Para verificar a existência de diferença na frequência de micronúcleos entre os indivíduos de canário-belga mantidos na cidade e indivíduos mantidos na

área rural (população controle) foi realizado um Teste t. Nos indivíduos de canário-belga mantidos na cidade foi realizada uma Regressão Linear para verificar se a frequência de micronúcleos varia com o tempo de exposição à poluição.

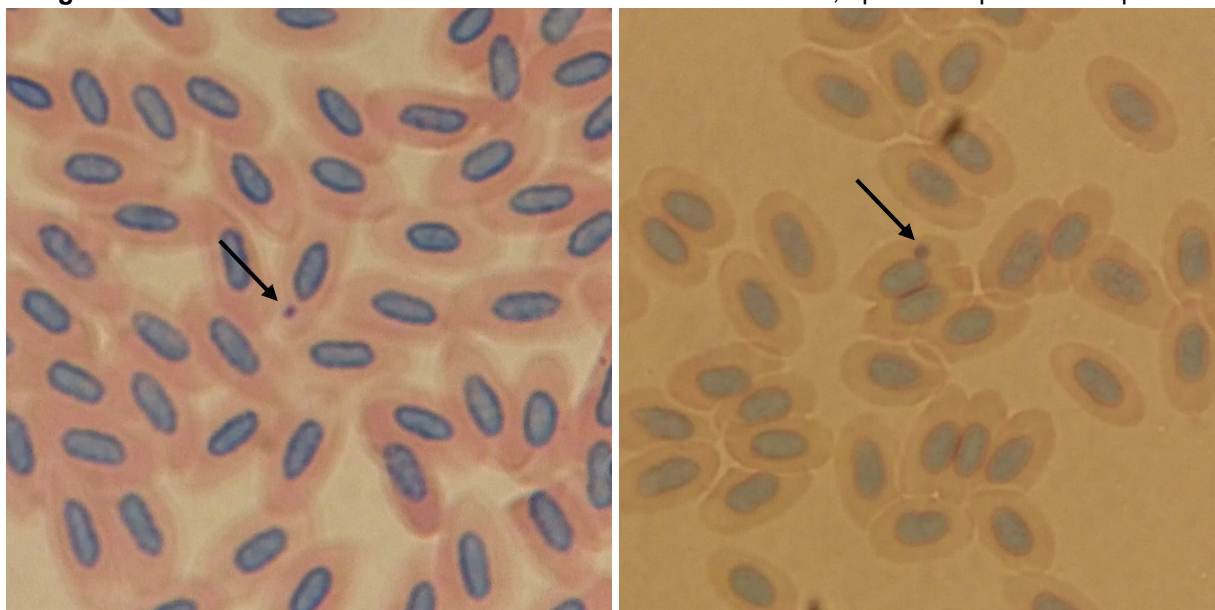
As significâncias dos Modelos Lineares Mistos foram verificadas por testes de razão de verossimilhança no qual foram comparados os modelos completos com os modelos nulos, em que as variáveis fixas não estão incluídas como variáveis preditoras.

Os testes foram feitos através do programa R v3.4.1 (R Core Team 2018), precedidos por testes de normalidade dos dados e conduzidos em nível de significância $\alpha = 0,5\%$.

4. RESULTADOS

Durante o período do estudo foram feitas 1308 capturas. Foram analisadas 2616 lâminas de 87 espécies de aves e encontrados um total de 1403 micronúcleos (Figura 4), com média de $1,07 \pm 1,24$ micronúcleos por indivíduo analisado (Tabela 1).

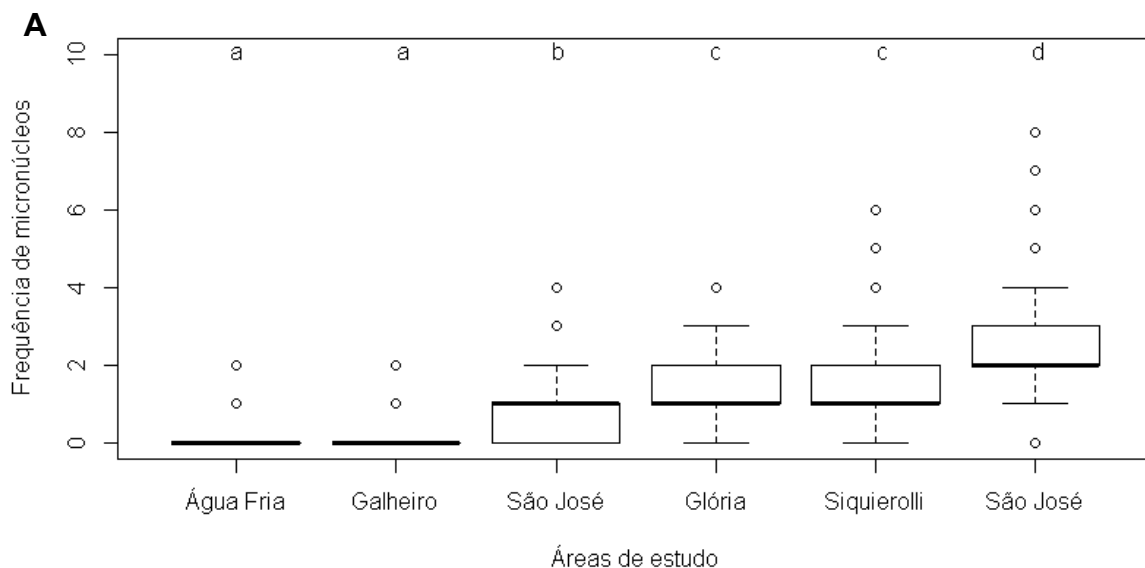
Figura 4. Detalhe de micronúcleos em aves encontrados no estudo, apontados pelas setas pretas.



A frequência de micronúcleos nos indivíduos variou entre as áreas de estudo ($\chi^2=163,2$; $p<0,001$), sendo o Parque do Sabiá a área com maior frequência média de micronúcleos nas aves, $2,427\pm1,355$ (0-8 micronúcleos/indivíduo) e Água Fria a que apresentou a menor média, $0,086\pm0,300$ (0-2 micronúcleos/indivíduo) (Figura 5A). A frequência de micronúcleos nas aves também variou entre os três tipos de áreas de estudo ($\chi^2=11,509$; $p=0,003$). As aves de áreas distantes de cidades apresentaram menores valores ($0,121\pm0,368$) e as de áreas inseridas dentro das cidades a maior frequência ($1,988\pm1,348$), enquanto as de áreas próximas de cidades apresentaram média intermediária ($1,246\pm0,942$) (Figura 5B).

A frequência de micronúcleo das aves variou entre as estações do ano ($\chi^2=8,395$; $p=0,004$ – Figura 5C), sendo que na estação seca as aves analisadas apresentaram maior frequência de micronúcleos ($1,210\pm1,288$) do que na estação chuvosa ($0,930\pm1,161$).

Figura 5. Frequência de micronúcleos em aves: A) nas seis áreas de estudo, B) nos tipos de áreas de estudo e C) entre as estações. Letras diferentes indicam diferença significativa.



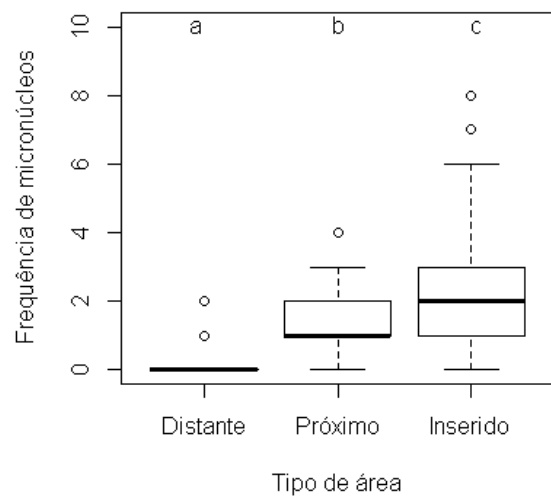
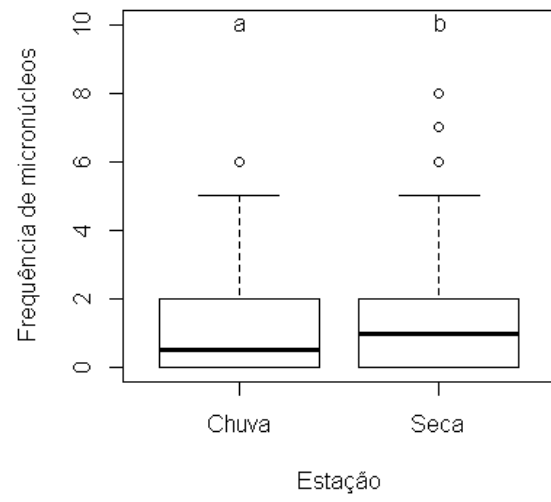
B**C**

Tabela 1. Lista das espécies capturadas, suas características e média \pm desvio-padrão da quantidade de micronúcleos.

Táxon	Nome-popular	Nº de indivíduos	Hab.	Status	Sensi.	Migr.	Gui.	Micronúcleo
Columbiformes Latham, 1790								
Columbidae Leach, 1820								
<i>Columbina talpacoti</i> (Temminck, 1810)	rolinha	5	C2	Ci	B		GRA	2,20 \pm 1,64
<i>Columbina squammata</i> (Lesson, 1831)	fogo-apagou	2	C2	Ci	B		GRA	0,00 \pm 0,00
<i>Claravis pretiosa</i> (Ferrari-Perez, 1886)	pararu-azul	1	F2	Ci	B		FRU	1,00 \pm 0,00
Coraciiformes Forbes, 1844								
Momotidae Gray, 1840								
<i>Momotus momota</i> (Linnaeus, 1766)	udu	2	F2		M		FRU	0,00 \pm 0,00
Galbuliformes Fürbringer, 1888								
Galbulidae Vigors, 1825								
<i>Galbula ruficauda</i> Cuvier, 1816	ariramba	22	F2		B		INS	1,41 \pm 1,40
Bucconidae Horsfield, 1821								
<i>Nonnula rubecula</i> (Spix, 1824)	macuru	10	F1		A		INS	0,30 \pm 0,67
Piciformes Meyer & Wolf, 1810								
Picidae Leach, 1820								
<i>Picumnus albosquamatus</i> d'Orbigny, 1840	picapauzinho-escamoso	13	F2		B		INS	2,15 \pm 1,14
<i>Veniliornis passerinus</i> (Linnaeus, 1766)	pica-pau-pequeno	4	F2		B		INS	1,75 \pm 1,5
Passeriformes Linnaeus, 1758								
Thamnophilidae Swainson, 1824								
<i>Dysithamnus mentalis</i> (Temminck, 1823)	choquinha-lisa	10	F1		M		INS	0,00 \pm 0,00
<i>Herpsilochmus atricapillus</i> Pelzeln, 1868	chorozinho-de-chapéu-preto	2	F2		M		INS	1,50 \pm 0,71
<i>Herpsilochmus longirostris</i> Pelzeln, 1868	chorozinho-de-bico-comprido	19	F1	Ce	B		INS	1,58 \pm 1,30

Táxon	Nome-popular	Nº de indivíduos	Hab.	Status	Sensi.	Migr.	Gui.	Micronúcleo
<i>Thamnophilus doliatus</i> (Linnaeus, 1764)	choca-barrada	16	C2		B		INS	1,25 ± 1,00
<i>Thamnophilus pelzelni</i> Hellmayr, 1924	choca-do-planalto	12	F2		M		INS	0,58 ± 0,79
<i>Thamnophilus caerulescens</i> Vieillot, 1816	choca-da-mata	6	F1		B		INS	0,50 ± 0,55
<i>Taraba major</i> (Vieillot, 1816)	choró-boi	8	F2		B		INS	1,63 ± 1,51
<i>Pyriglena leucoptera</i> (Vieillot, 1818)	papa-taoca-do-sul	4	F1	Ma	M		INS	0,25 ± 0,50
Conopophagidae Sclater & Salvin, 1873								
<i>Conopophaga lineata</i> (Wied, 1831)	chupa-dente	14	F1	Ma	M		INS	0,36 ± 0,63
Dendrocolaptidae Gray, 1840								
<i>Sittasomus griseicapillus</i> (Vieillot, 1818)	arapaçu-verde	1	F2		M		INS	0,00 ± 0,00
<i>Lepidocolaptes angustirostris</i> (Vieillot, 1818)	arapaçu-de-cerrado	2	C2		M		INS	1,50 ± 2,12
<i>Lepidocolaptes squamatus</i> (Lichtenstein, 1822)	arapaçu-escamoso	1	F1	Ma	A		INS	0,00 ± 0,00
<i>Dendrocolaptes platyrostris</i> Spix, 1825	arapaçu-grande	2	F1		M		INS	0,50 ± 0,71
Xenopidae Bonaparte, 1854								
<i>Xenops rutilans</i> Temminck, 1821	bico-virado-carijó	1	F2		M		INS	0,00 ± 0,00
Furnariidae Gray, 1840								
<i>Lochmias nematura</i> (Lichtenstein, 1823)	joão-porca	1	F2		M		INS	0,00 ± 0,00
<i>Clibanornis rectirostris</i> (Wied, 1831)	cisqueiro-do-rio	20	F2	Ce	A		INS	1,50 ± 1,24
<i>Automolus leucophthalmus</i> (Wied, 1821)	barranqueiro-de-olho-branco	4	F1	Ma	M		INS	0,00 ± 0,00
<i>Syndactyla dimidiata</i> (Pelzeln, 1859)	limpa-folha-do-brejo	1	F2	Ce;Em	A		INS	2,00 ± 0,00
<i>Synallaxis frontalis</i> Pelzeln, 1859	petrim	6	F2		B		INS	1,00 ± 0,89
<i>Synallaxis scutata</i> Sclater, 1859	estrelinha-preta	21	F2		M		INS	0,05 ± 0,22
Pipridae Rafinesque, 1815								

Táxon	Nome-popular	Nº de indivíduos	Hab.	Status	Sensi.	Migr.	Gui.	Micronúcleo
<i>Neopelma pallescens</i> (Lafresnaye, 1853)	fruxu-do-cerradão	15	F2		M		FRU	0,27 ± 0,59
<i>Pipra fasciicauda</i> Hellmayr, 1906	uirapuru-laranja	27	F1		M		FRU	0,04 ± 0,19
<i>Antilophia galeata</i> (Lichtenstein, 1823)	soldadinho	179	F2	Ce	M		FRU	1,17 ± 1,10
Onychorhynchidae Tello, Moyle, Marchese & Cracraft, 2009								
<i>Myiobius atricaudus</i> Lawrence, 1863	assanhadinho-de-cauda-preta	1	F1		A		INS	0,00 ± 0,00
Tityridae Gray, 1840								
<i>Schiffornis virescens</i> (Lafresnaye, 1838)	flautim	22	F1	Ma	M		ONI	0,14 ± 0,35
Platyrinchidae Bonaparte, 1854								
<i>Platyrinchus mystaceus</i> Vieillot, 1818	patinho	15	F1		M		INS	0,73 ± 0,88
Rhynchocyclidae Berlepsch, 1907								
<i>Mionectes rufiventris</i> Cabanis, 1846	abre-asa-de-cabeça-cinza	9	F1	Ma	M		FRU	0,22 ± 0,44
<i>Leptopogon amaurocephalus</i> Tschudi, 1846	cabeçudo	75	F1		M		INS	0,69 ± 1,01
<i>Corythopsis delalandi</i> (Lesson, 1830)	estalador	28	F1		M		INS	0,36 ± 0,73
<i>Tolmomyias sulphureus</i> (Spix, 1825)	bico-chato-de-orelha-preta	68	F2		M		INS	1,34 ± 1,09
<i>Todirostrum cinereum</i> (Linnaeus, 1766)	ferreirinho-relógio	1	F2		B		INS	0,00 ± 0,00
<i>Hemitriccus margaritaceiventer</i> (d'Orbigny & Lafresnaye, 1837)	sebinho-de-olho-de-ouro	1	F2		M		INS	0,00 ± 0,00
Tyrannidae Vigors, 1825								
<i>Elaenia flavogaster</i> (Thunberg, 1822)	guaracava-de-barriga-amarela	1	F2		B		FRU	2,00 ± 0,00
<i>Elaenia parvirostris</i> Pelzelin, 1868	tuque-pium	19	F2		B	INTRA	FRU	0,05 ± 0,23
<i>Elaenia mesoleuca</i> (Deppe, 1830)	tuque	9	F2	Ma	B	INTRA	FRU	0,00 ± 0,00
<i>Myiopagis gaimardii</i> (d'Orbigny, 1839)	maria-pechim	1	F2		M		ONI	0,00 ± 0,00

Táxon	Nome-popular	Nº de indivíduos	Hab.	Status	Sensi.	Migr.	Gui.	Micronúcleo
<i>Myiopagis caniceps</i> (Swainson, 1835)	guaracava-cinzena	1	F2		M	INTRA	ONI	1,00 ± 0,00
<i>Myiopagis viridicata</i> (Vieillot, 1817)	guaracava-de-crista-alaranjada	3	F2		M	INTRA	ONI	0,67 ± 1,15
<i>Phyllomyias fasciatus</i> (Thunberg, 1822)	piolhinho	1	F2		M		INS	0,00 ± 0,00
<i>Legatus leucophaeus</i> (Vieillot, 1818)	bem-te-vi-pirata	1	F2		B		INS	0,00 ± 0,00
<i>Myiarchus swainsoni</i> Cabanis & Heine, 1859	irré	4	F2		B	INTRA	INS	0,50 ± 0,58
<i>Myiarchus ferox</i> (Gmelin, 1789)	maria-cavaleira	10	F2		B		INS	1,20 ± 0,92
<i>Myiarchus tyrannulus</i> (Statius Muller, 1776)	maria-cavaleira-de-rabo-enferrujado	8	C2		B		INS	1,00 ± 1,31
<i>Sirystes sibilator</i> (Vieillot, 1818)	gritador	2	F2		M		INS	0,00 ± 0,00
<i>Casiornis rufus</i> (Vieillot, 1816)	maria-ferrugem	9	F2		M		INS	0,22 ± 0,44
<i>Pitangus sulphuratus</i> (Linnaeus, 1766)	bem-te-vi	26	F2		B		ONI	2,65 ± 1,47
<i>Myiodynastes maculatus</i> (Statius Muller, 1776)	bem-te-vi-rajado	2	F2		B	INTRA	ONI	1,50 ± 2,12
<i>Megarynchus pitangua</i> (Linnaeus, 1766)	neinei	4	F2		B		ONI	2,25 ± 0,96
<i>Fluvicola nengeta</i> (Linnaeus, 1766)	lavadeira-mascarada	1	A		B		INS	0,00 ± 0,00
<i>Cnemotriccus fuscatus</i> (Wied, 1831)	guaracavuçu	19	F2		B		INS	1,21 ± 1,36
<i>Lathrotriccus euleri</i> (Cabanis, 1868)	enferrujado	29	F1		M		INS	0,48 ± 0,78
Vireonidae Swainson, 1837								
<i>Cyclarhis gujanensis</i> (Gmelin, 1789)	pitiguari	10	F2		B		ONI	1,60 ± 1,17
Corvidae Leach, 1820								
<i>Cyanocorax cyanopogon</i> (Wied, 1821)	gralha-cancã	2	F2		M		ONI	0,00 ± 0,00
Troglodytidae Swainson, 1831								
<i>Pheugopedius genibarbis</i> (Swainson, 1838)	garrinchão-pai-avô	5	F2		B		INS	2,40 ± 1,67
<i>Cantorchilus leucotis</i> (Lafresnaye, 1845)	garrinchão-de-barriga-vermelha	14	F2		B		INS	1,50 ± 1,16

Táxon	Nome-popular	Nº de indivíduos	Hab.	Status	Sensi.	Migr.	Gui.	Micronúcleo
Turdidae Rafinesque, 1815								
<i>Catharus fuscescens</i> (Stephens, 1817)	sabiá-norte-americano	1	F1		B	INTER	INS	0,00 ± 0,00
<i>Turdus leucomelas</i> Vieillot, 1818	sabiá-branco	61	F2	Co	B		ONI	1,87 ± 1,45
<i>Turdus rufiventris</i> Vieillot, 1818	sabiá-laranjeira	25	F2	Co	B		ONI	2,28 ± 1,31
<i>Turdus amaurochalinus</i> Cabanis, 1850	sabiá-poca	13	F2	Co	B	INTRA	ONI	3,08 ± 2,18
<i>Turdus subalaris</i> (Seeböhm, 1887)	sabiá-ferreiro	5	F2	Co	B		ONI	2,20 ± 1,64
Passerellidae Cabanis & Heine, 1850								
<i>Arremon flavirostris</i> Swainson, 1838	tico-tico-de-bico-amarelo	13	F2	Co	M		ONI	0,85 ± 1,07
Parulidae Wetmore, Friedmann, Lincoln, Miller, Peters, van Rossem, Van Tyne & Zimmer 1947								
<i>Basileuterus culicivorus</i> (Deppe, 1830)	pula-pula	69	F2		M		INS	0,78 ± 0,95
<i>Myiothlypis flaveola</i> Baird, 1865	canário-do-mato	88	F2		M		INS	0,63 ± 0,88
<i>Myiothlypis leucophrys</i> (Pelzeln, 1868)	pula-pula-de-sobrancelha	18	F2	Ce	M		INS	1,44 ± 0,98
Icteridae Vigors, 1825								
<i>Molothrus bonariensis</i> (Gmelin, 1789)	chupim	3	C2		B		ONI	2,33 ± 1,15
Thraupidae Cabanis, 1847								
<i>Tangara sayaca</i> (Linnaeus, 1766)	sanhaço-cinzento	1	C2		B		FRU	3,00 ± 0,00
<i>Tangara palmarum</i> (Wied, 1821)	sanhaço-do-coqueiro	8	C2		B		FRU	2,25 ± 1,16
<i>Tangara cayana</i> (Linnaeus, 1766)	saíra-amarela	21	F2		M		FRU	1,76 ± 1,37
<i>Eucometis penicillata</i> (Spix, 1825)	pipira-da-taoca	55	F2		M		ONI	1,11 ± 1,16
<i>Trichothraupis melanops</i> (Vieillot, 1818)	tiê-de-topete	3	F1		M		ONI	0,33 ± 0,58
<i>Tachyphonus coronatus</i> (Vieillot, 1822)	tiê-preto	7	F2	Ma	B		ONI	0,00 ± 0,00
<i>Tersina viridis</i> (Illiger, 1811)	saí-andorinha	1	F2		M	INTRA	ONI	1,00 ± 0,00

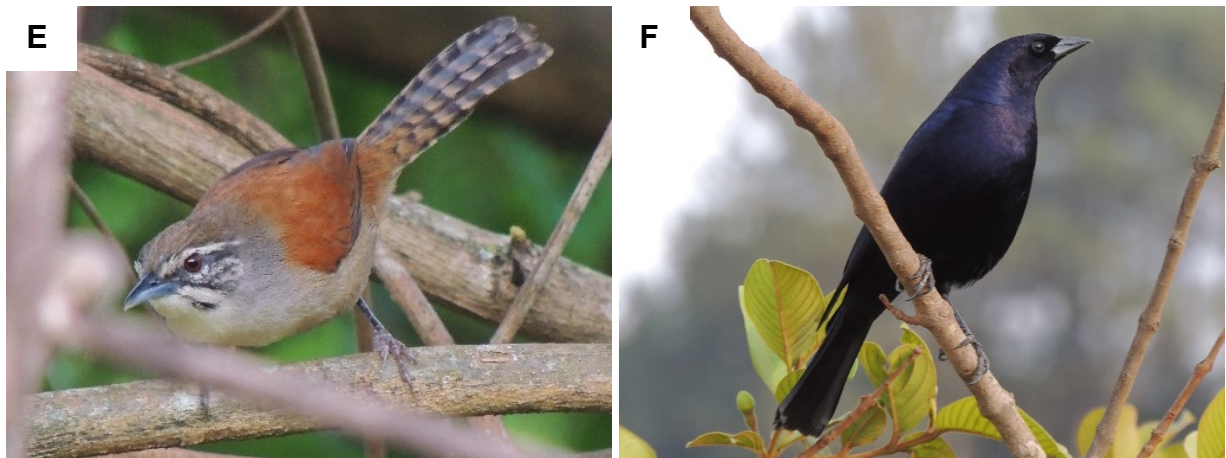
Táxon	Nome-popular	Nº de indivíduos	Hab.	Status	Sensi.	Migr.	Gui.	Micronúcleo
<i>Cyanerpes cyaneus</i> (Linnaeus, 1766)	saíra-beija-flor	1	F2		B		ONI	3,00 ± 0,00
<i>Dacnis cayana</i> (Linnaeus, 1766)	saí-azul	4	F2		B		FRU	1,75 ± 1,71
<i>Coereba flaveola</i> (Linnaeus, 1758)	cambacica	31	F2		B		NEC	1,10 ± 1,14
<i>Sporophila nigricollis</i> (Vieillot, 1823)	baiano	5	C2	Co	B		GRA	1,80 ± 1,30
<i>Saltator maximus</i> (Statius Muller, 1776)	tempera-viola	22	F2	Co	B		ONI	1,59 ± 1,59
<i>Saltator similis</i> d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	trinca-ferro	18	F2	Co	B		ONI	1,56 ± 0,92
Passeridae Rafinesque, 1815								
<i>Passer domesticus</i> (Linnaeus, 1758)	pardal	3	ST	Ex	B		ONI	1,33 ± 1,53

Legenda: Tipo de habitat ocupado pela espécie (Hab.): A = espécies aquáticas, C2 = espécies essencialmente campestres, F1 = espécies exclusivamente florestais, F2 = espécies essencialmente florestais e ST = espécie sinantrópica. Status de conservação das espécies (Status): a nível estadual (COPAM 2010) – Em = em perigo de extinção, Ce = espécie endêmica do Cerrado e Ma = espécie endêmica ou quase-endêmica da Mata Atlântica; Co = espécie alvo de comércio ilegal, Ci = espécie alvo de caça e Ex = espécie exótica; Sensibilidade aos distúrbios antrópicos (Sensi.): A = alto, M = médio, B = baixo. Hábito migratório (Migr.): INTRA = migrante intracontinental e INTER = migrante intercontinental. Guilda alimentar (Gui.): INS = insetívoro; ONI = onívoro; FRU = frugívoro; GRA = granívoro; NEC = nectarívoro.

A frequência de micronúcleos encontrada variou entre as espécies de aves capturadas ($\chi^2=124,58$; $gl=86$; $p=0,004$). As espécies que apresentaram os maiores valores de micronúcleos por indivíduo analisado foram o sabiá-poca (*Turdus amaurochalinus*) com média de $3,08 \pm 2,18$ micronúcleos por indivíduo, a saíra-beija-flor (*Cyanerpes cyaneus*) e o sanhaçu-cinza (*Tangara sayaca*) com média de $3,00 \pm 0$ micronúcleos, o bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*) com $2,65 \pm 1,47$, o garrincho-pai-avô (*Pheugopedius genibarbis*) com valor médio de $2,40 \pm 1,67$ micronúcleos e o chupim (*Molothrus bonariensis*) com média de $2,33 \pm 1,15$ micronúcleos (Figura 6). Vinte espécies (22,99%) não apresentaram micronúcleos em nenhum dos indivíduos analisados (Tabela 1).

Figura 6. Espécies de aves que apresentaram os maiores valores de micronúcleos: A) *Turdus amaurochalinus*; B) *Cyanerpes cyaneus*; C) *Tangara sayaca*; D) *Pitangus sulphuratus*, E) *Pheugopedius genibarbis* e F) *Molothrus bonariensis*. Fotos: Vitor Tolentino.

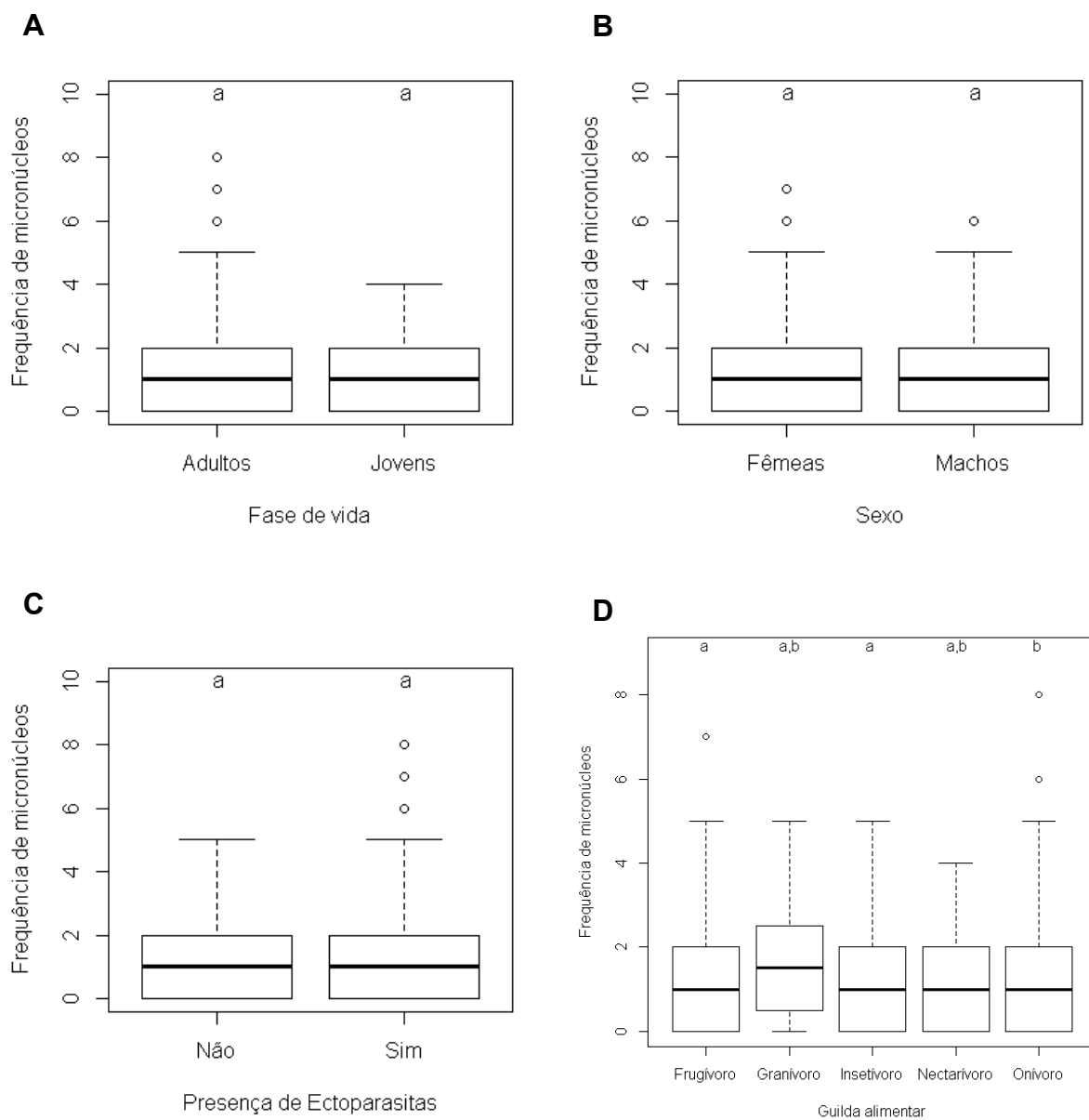


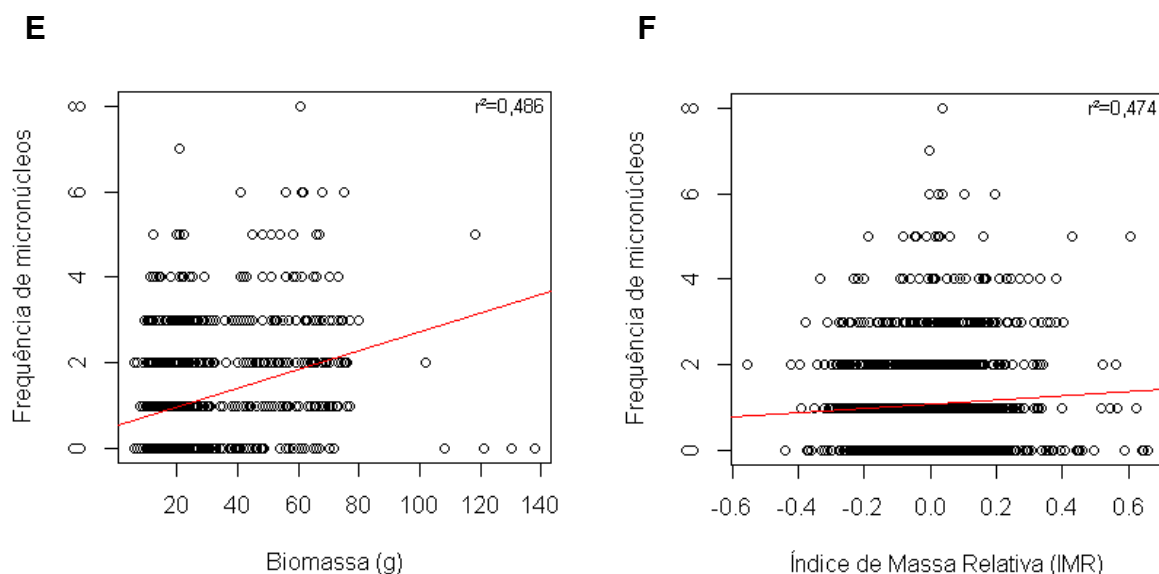


A frequência de micronúcleos nas aves capturadas não variou entre indivíduos jovens (inclui jovens e subadultos) e adultos ($\chi^2=0,022$; $p=0,883$ – Figura 7A) e entre indivíduos machos e fêmeas ($\chi^2=0,063$; $p=0,801$ – Figura 7B). Houve variação na frequência de micronúcleo entre as guildas alimentares das aves ($\chi^2=30,35$; $p<0,001$ – Figura 7C), sendo que as guildas dos granívoros e dos onívoros foram as que apresentaram maiores médias de micronúcleo (1,67 e 1,62, respectivamente). As guildas nectarívoros, frugívoros e insetívoros apresentaram as menores médias (1,096, 0,961 e 0,879, respectivamente). Não foi observada relação entre a frequência de micronúcleos e a presença de ectoparasitas (carrapatos e ácaros) ($\chi^2=0,209$; $p=0,648$ – Figura 7D).

Foi observada relação significativa positiva entre a frequência de micronúcleos e a biomassa das aves ($F_{11,1296}=113,4$; $p<0,001$ – Figura 7E) e o IMR ($F_{11,1296}=108,1$; $p<0,001$ – Figura 7F), ou seja, indivíduos mais pesados e com maior IMR apresentaram maior frequência de micronúcleos.

Figura 7. Frequência de micronúcleos em aves: A) adultas e jovens; B) machos e fêmeas; C) com e sem ectoparasitas; D) em cada guilda alimentar; E) em relação com a biomassa e F) em relação com o Índice de Massa Relativa (IMR). Letras diferentes indicam diferença significativa.





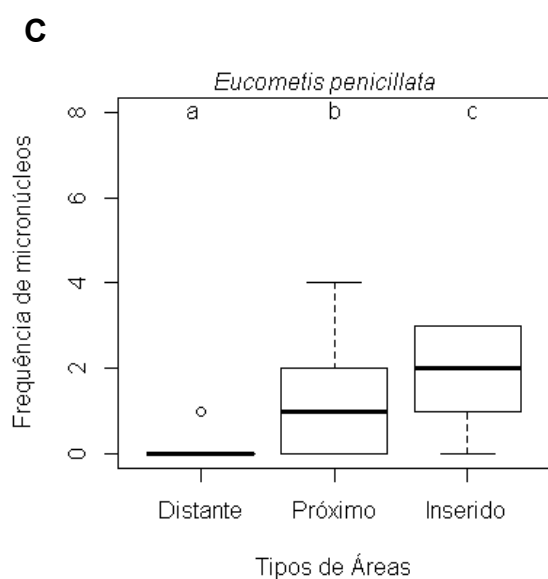
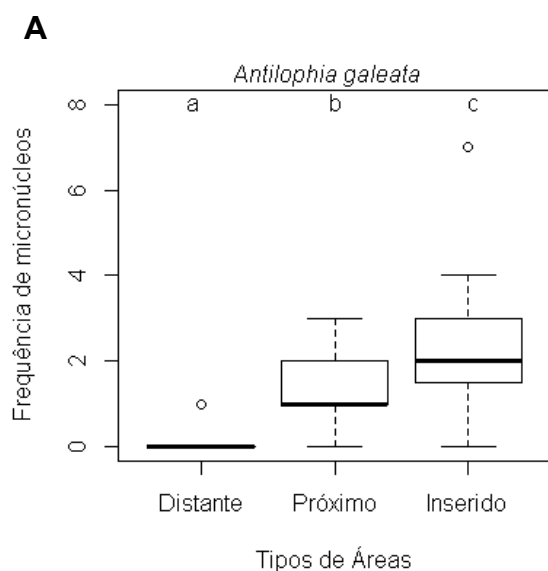
Foram selecionadas cinco espécies que apresentaram número amostral suficiente ($n \geq 05$ indivíduos) para análises estatísticas em todos os três tipos de áreas de estudo (Tabela 2). Todas as cinco espécies apresentaram diferença na frequência de micronúcleo entre os tipos de áreas ($p < 0,05$), com maiores valores em áreas inseridas nas cidades e menores valores em áreas distantes de cidades (Figura 8). Dentre elas, o sabiá-branco (*Turdus leucomelas*) foi o que apresentou maior valor médio de frequência de micronúcleos ($1,869 \pm 1,455$) e o canário-domato (*Myiothlypis flaveola*) foi o que apresentou a menor frequência média de micronúcleos ($0,625 \pm 0,875$).

Tabela 2. Média \pm desvio padrão (amplitude dos valores) de micronúcleos das espécies capturadas nos três tipos de áreas de estudo na análise populacional e significância dos testes estatístico. n= número de indivíduos.

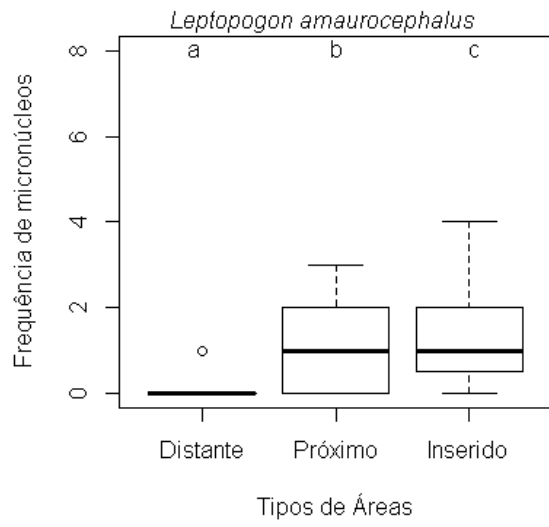
Espécie	Frequência de micronúcleos			Significância
	Áreas distantes	Áreas próximas	Áreas inseridas	
<i>Antilophia galeata</i>	$0,053 \pm 0,226$ (0-1) n=38	$1,336 \pm 0,859$ (0-3) n=122	$2,368 \pm 1,571$ (0-7) n=19	$\chi^2=6,059$; $p=0,048$
<i>Eucometis penicillata</i>	$0,067 \pm 0,258$ (0-1) n=15	$1,25 \pm 1,113$ (0-4) n=24	$1,875 \pm 1,088$ (0-3) n=16	$\chi^2=6,715$; $p=0,035$
<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	$0,083 \pm 0,280$ (0-1) n=36	$1 \pm 0,966$ (0-3) n=16	$1,435 \pm 1,199$ (0-4) n=23	$\chi^2=5,929$; $p=0,050$

Espécie	Frequência de micronúcleos			Significância
	Áreas distantes	Áreas próximas	Áreas inseridas	
<i>Myiothlypis flaveola</i>	0,182 ± 0,475 (0-2) n=55	1,143 ± 0,910 (0-3) n=21	1,75 ± 0,754 (1-3) n=12	$\chi^2=11,817$; p=0,003
<i>Turdus leucomelas</i>	0 ± 0 (0-0) n=5	1,652 ± 1,301 (0-4) n=23	2,303 ± 1,425 (0-6) n=33	$\chi^2=7,712$; p=0,002

Figura 8. Frequência de micronúcleos por indivíduo nas cinco espécies que apresentaram número amostral suficiente nos três tipos de áreas de estudo. Letras diferentes indicam diferença significativa. Fotos: Vitor Tolentino.



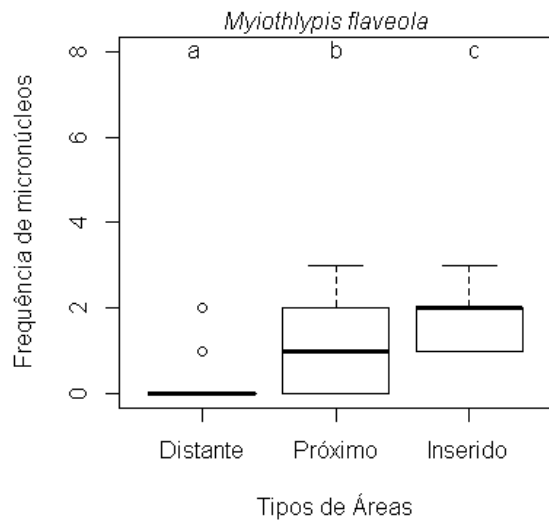
E



F

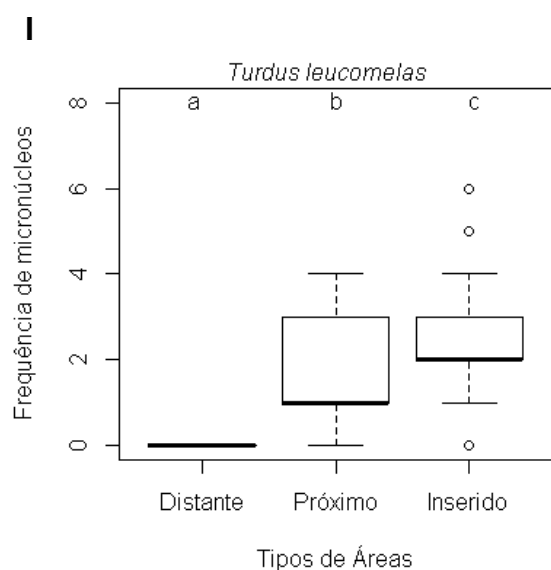


G



H

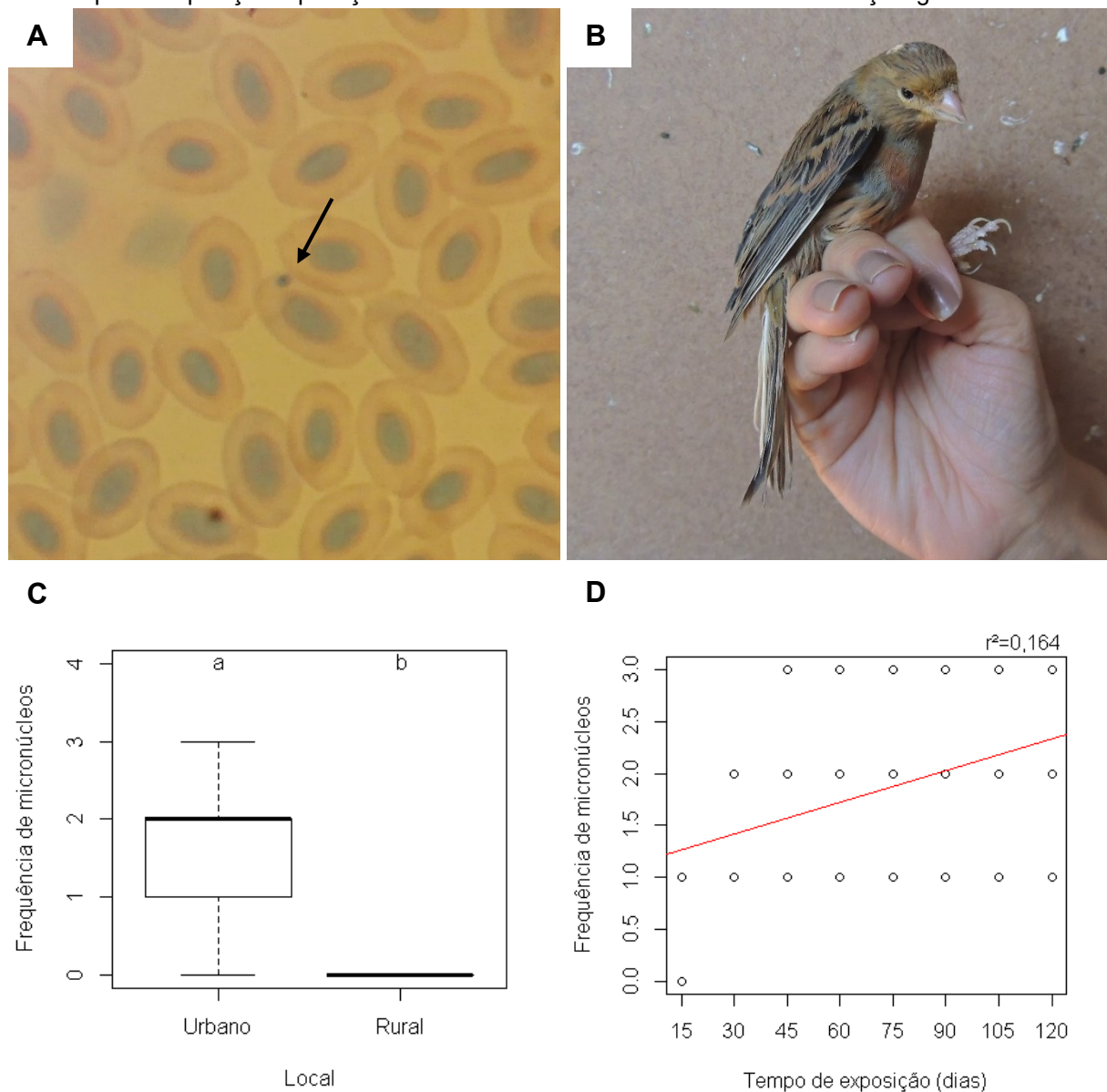




Houve diferença significativa na frequência de micronúcleos (Figura 9A) entre os indivíduos de canário-belga (Figura 9B) mantidos na cidade e em área rural ($t=26,703$, $gl=159$; $p<0,001$). Os indivíduos de canário-belga mantidos na área rural não apresentaram micronúcleos em nenhuma das coletas de sangue, já os mantidos na cidade tiveram média de $1,80 \pm 0,85$ micronúcleos por indivíduo analisado (Figura 9C).

A análise de micronúcleos dos indivíduos mantidos na cidade mostrou que existe uma relação significativa positiva entre a frequência de micronúcleos e o tempo de exposição dos indivíduos à poluição da cidade ($F_{1,158}=32,07$; $p<0,001$) (Figura 9D).

Figura 9. A) Detalhe do micronúcleo, apontado pela seta preta, B) indivíduo de canário-belga, C) frequência de micronúcleos entre as localidades e D) relação entre a frequência de micronúcleos e o tempo de exposição à poluição da cidade. Letras diferentes indicam diferença significativa.



5. DISCUSSÃO

No nosso estudo capturamos 1308 aves de 87 espécies e encontramos uma frequência média de 1,07 micronúcleos. Em estudo realizado na Argentina foram capturadas 73 aves pertencentes a 17 espécies e encontraram uma média de micronúcleo de 3,8 (Quero et al., 2016). Outro estudo desenvolvido nas proximidades da cidade de Monte Alegre, Minas Gerais, Brasil capturou 82 aves distribuídas em 21 espécies e a frequência média foi de 3,0 micronúcleos (Souto

et al., 2018). Já em aves de diferentes espécies mantidas em um zoológico de Guadalajara, a contagem média foi de 1,19 micronúcleos (Zúñiga-González et al., 2000). Estudo feito com indivíduos da espécie *Ara ararauna* obtidos de um criadouro do Rio Grande do Sul, apresentou frequência média de 1,9 micronúcleos (Pinhatti et al., 2006). Clark (2015) avaliou lâminas de 70 aves adultas e encontrou micronúcleos em 13 dessas aves com frequência média de 10,04.

Avaliamos aves *in vivo* e conseguimos observar que elas estão sendo afetadas pelos poluentes urbanos, indicado pelo aumento na frequência de micronúcleos, e que, quanto mais inseridas neste ambiente, mais sofrem consequências pelas altas concentrações desses poluentes. Estudos recentes indicam que aves selvagens de áreas perturbadas com a presença de contaminantes, tendem a um aumento na frequência de micronúcleos em eritrócitos (Baesse et al., 2015, Baesse et al., 2019). Martínez-Haro et al. (2017) realizaram estudo com coruja-buraqueira, em três municípios do México, onde a frequência de micronúcleos nas aves foi maior no município que apresentava mais transformações de origem antrópica, colocando em risco a qualidade do habitat. Em 10000 eritrócitos analisados, a frequência média de micronúcleos variou de 0 a 10. Sendo assim, existem estudos que corroboram os resultados encontrados nesse trabalho, demonstrando que a influência urbana leva ao aumento de anomalias eritrocitárias em indivíduos.

As áreas do estudo apresentam diferentes proximidades com centros urbanos e rodovias, sendo essa distância um influenciador no desenvolvimento de micronúcleos nas aves, pela maior e menor proximidade com estressores ambientais. A distância é indicada como fator limitante na concentração de poluentes, porque áreas mais próximas das estradas com emissões veiculares apresentam níveis mais elevados desses poluentes (Nascimbene et al., 2014). Além disso, poluentes são influenciados pela direção do vento que transporta emissões de partículas da agricultura, tráfego, aterros e indústrias próximas à cidade e a outros locais (García-Bustamante et al., 2013, Almeida et al., 2017). A direção dos ventos em Uberlândia é principalmente nordeste (NE) e leste (E), o que explica as aves das áreas próximas à cidade também terem apresentado altas taxas de micronúcleos, pois estas áreas estão localizadas a leste da cidade,

o que indica maior chegada de poluentes através dos ventos (fonte: Laboratório de Climatologia e Recursos Hídricos, Universidade Federal Uberlândia). Com isso, as aves são expostas a uma mistura de poluentes atmosféricos, que pode ser agravada pelo processo de bioacumulação que os indivíduos apresentam. Estudo realizado com *Columba livia* no México observou esse processo de bioacumulação com ingestão de metais na dieta (González-Acevedo *et al.*, 2016).

A interação entre as condições climáticas e o ecossistema não é linear no tempo, pois depende da intensidade e duração das mudanças, das condições de qualidade do ar e do metabolismo dos indivíduos (Gomes *et al.*, 2019). Esses fatores mudam constantemente com locais e populações (Sette, Ribeiro, 2011). O impacto complexo e diversificado da variabilidade das condições climáticas em todo um ecossistema pode ser verificado diretamente ou retardado no tempo (Gomes *et al.*, 2019). O inverno apresenta menor umidade e chuvas, aumentando a concentração de poluentes no ar (Sette, Ribeiro, 2011). Essas condições podem explicar a maior frequência de micronúcleos encontrada nas aves capturadas na estação seca neste estudo, uma vez que a estação coincide com o inverno na região. Corroborando com nosso estudo, Leite *et al.* (2011) em análise da qualidade do ar da cidade de Uberlândia, encontraram que no inverno a cidade apresentou piores condições de qualidade do ar. Em outro estudo também realizado em Uberlândia com *Tradescantia*, observou que a frequência de micronúcleos foi mais alta durante o inverno de 2007, 2008, 2010 (Pereira *et al.*, 2013). Gomes *et al.* (2019) observaram que os poluentes atmosféricos, dióxido de nitrogênio, dióxido de enxofre, monóxido de carbono e material particulado apresentaram maiores médias no inverno em São Paulo, Brasil, demonstrando os efeitos sazonais na poluição do ar.

Encontramos diferença na frequência de micronúcleos entre as espécies analisadas. As diferentes características de cada espécie de ave como, dieta, estrato de forrageamento e habitat, podem influenciar o surgimento de micronúcleos (Zúñiga-González *et al.*, 2000, Pinhatti *et al.*, 2006). Além disso, taxas metabólicas inerentes ao indivíduo ou espécie podem resultar em uma expressão diferente de micronúcleos e o conjunto bioquímico do sistema de reparo do DNA pode ser decisivo nesse processo (Meier *et al.*, 1999). Em algumas espécies, o baço ou retículo endotelial filtra o sangue, eliminando

eritrócitos envelhecidos ou contendo micronúcleos (Ramírez-Munóz *et al.*, 1999). A variação na eficiência desta eliminação também pode influenciar nos diferentes números de eritrócitos micronucleados observados em amostras de sangue entre as espécies. Os organismos com valores de micronúcleos próximos de zero têm um sistema muito eficiente para retirá-los da circulação (Zúñiga *et al.*, 1996, Ramírez-Munóz *et al.*, 1999). Também deve ser considerado que as aves são capazes de renovar seus eritrócitos de 25 a 45 dias (Vila, 2013); portanto os micronúcleos podem ser removidos junto aos glóbulos vermelhos neste tempo. Estes aspectos podem explicar a variabilidade interespecífica na frequência de micronúcleos (Adam *et al.*, 2013).

Poucos estudos têm focado em aves Passeriformes, provavelmente devido à suposição de que essas espécies estão em uma posição mais baixa na cadeia alimentar e são relativamente de vida curta (Burger *et al.*, 2004). No entanto, aves passeriformes têm sido usadas com sucesso para monitorar a poluição ambiental por metais (Belskii *et al.*, 2005, Berglund *et al.*, 2012, Dauwe *et al.*, 2002, Mora, 2008, Rainio *et al.*, 2013). No nosso estudo foram avaliadas 79 espécies da Ordem Passeriformes. Esta Ordem apresenta grande diversidade de espécies e abundância de indivíduos, sendo importante avaliar quais características das aves podem influenciar no surgimento de micronúcleos.

No nosso estudo, não encontramos diferença significativa na frequência de micronúcleos entre jovens e adultos. Estudo realizado no México com coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*), também não encontrou diferença na frequência de micronúcleos entre jovens ($7,8 \pm 5,6$) e adultos ($6,6 \pm 7,0$) (Martínez-Haro *et al.*, 2017). Outro estudo realizado com 21 indivíduos de *Parus major*, capturados em uma área natural na Ucrânia, não encontrou diferença significativa na frequência de micronúcleos entre aves jovens e adultas (Drahulian *et al.*, 2018). As espécies *Ficedula albicollis* e *Ficedula hypoleuca* foram capturadas na cidade Kharkiv, Ucrânia e também não apresentaram diferença em relação à frequência de micronúcleos entre espécies e idade (Drahulian *et al.*, 2018).

Shepherd e Somers (2012) testaram em seu estudo a relação entre frequência de micronúcleo com a idade e o sexo das aves, porém não encontraram diferença significativa. Pinhatti *et al.* (2006) também não encontraram diferença na frequência de micronúcleos entre fêmeas e machos da

espécie *Ara ararauna* obtidos de um criadouro do Rio Grande do Sul. No presente estudo também não foi observado diferença entre a frequência de micronúcleos e o sexo das aves. A maioria dos estudos é feito com aves adultas e a maior partes das aves não apresentam dimorfismo sexual, sendo difícil comprovar se existe alguma relação entre esses fatores (Quero *et al.*, 2016).

Souto *et al.* (2018) mostraram em seu estudo que o tamanho da ave é o principal fator que influencia o aumento da frequência de micronúcleo. Corroborando com nosso estudo que encontrou que aves com maior biomassa apresentaram maior frequência de micronúcleos. Aves maiores com maior biomassa apresentam maior superfície corporal, maiores sacos aéreos e pulmões, maior ingestão de alimentos e taxas metabólicas mais elevadas podendo influenciar no surgimento de micronúcleos (Sick, 1997, Zúñiga-González *et al.*, 2000). As aves com melhor condição corporal, avaliadas pelo IMR apresentaram maior frequência de micronúcleos, uma vez que existe relação positiva entre a biomassa e a condição corporal. Muitos estudos têm relacionado a condição corporal das aves com a sua sobrevivência (Blums *et al.*, 2005), reprodução (Blums *et al.*, 2005) e comportamento (Dufour, Weatherhead, 1991, Bachman, Widemo, 1999). Quanto melhor a condição corporal, mais o indivíduo se locomove e fica exposto agentes estressores que podem aumentar as frequências de micronúcleos.

As guildas que apresentaram maior frequência de micronúcleos foram granívora e onívora. Nas aves granívoras, esse fato pode ser explicado pelas altas taxas de pesticidas que são utilizados nas plantações, o que faz as aves ingerir essas substâncias tóxicas que agravam o desenvolvimento de micronúcleos (Hussain *et al.*, 2012, Hussain *et al.*, 2015, Souto *et al.*, 2018). Já as onívoras são consideradas generalistas em relação à alimentação (Cavalcanti, 1992, Silva *et al.*, 2014), com isso elas podem se contaminar com inúmeros poluentes que se alocam nos alimentos. Em estudo realizado com peixes, a alimentação dos indivíduos considerados onívoros pode ter interferido no aumento de micronúcleo nos indivíduos (Silva *et al.*, 2016).

A relação ácaro de pena e ave é considerada como simbiôntica, pois acreditam que os ácaros apenas se alimentam das secreções oleaginosas das penas (Blanco, Frías, 2001, Dowling *et al.*, 2001, Storni *et al.*, 2005). Além disso,

algumas espécies de carrapatos são consideradas parasitos ocasionais, pois utilizam as aves somente como hospedeiros de transporte (Storni *et al.*, 2005, Tolesano-Pascoli *et al.*, 2010), fatos esses que podem ter influenciado no resultado encontrado, no qual não foi encontrada diferença entre ectoparasitas e micronúcleo.

De quase 10.000 espécies de aves conhecidas em todo o mundo, apenas algumas foram estudadas para caracterizar as respostas das aves à poluição do ar, e os animais utilizados em experimentos de laboratório podem não ser representantes das espécies de aves selvagens mais expostas à poluição do ar (Sanderfoot, Holloway, 2017). Como foi visto no nosso estudo, as populações de aves (*Antilophia galeata*, *Eucometis penicillata*, *Leptopogon amaurocephalus*, *Myiothlypis flaveola*, *Turdus leucomelas*) mostraram diferença entre as áreas do estudo, apresentando maior frequência de micronúcleos nas áreas inseridas na cidade, em seguida nas áreas próximas a área urbana e por último com média próxima à zero nas áreas distantes de centros urbanos. O que reflete que as áreas apresentam diferença em relação à poluição, sendo as áreas urbanas afetadas por uma mistura de poluentes. Com esse resultado é possível confirmar que a avifauna é um grupo que pode ser utilizado como biomonitor, já que expressou diferença em relação a locais mais e menos poluídos.

Nossos resultados indicam que os canários mantidos na área urbana apresentaram aumento do nível de dano genotóxico, confirmado pelo teste de micronúcleo. Na literatura existem estudos expondo camundongos ou plantas superiores ao ar poluído do centro de São Paulo, Brasil que relatam um efeito promotor da poluição do ar no câncer (Saldiva *et al.*, 1992, Saldiva, Boëm, 1998, Cury *et al.*, 2000). Essas descobertas apoiam o conceito de que baixos níveis de poluição do ar são capazes de favorecer o desenvolvimento de tumores (Soares *et al.*, 2003). Além disso, Majer *et al.* (2005) concluíram que, qualquer que seja a origem dos micronúcleos, o dano celular será invariavelmente encontrado em indivíduos expostos, independentemente do período de exposição, seja um curto período de tempo ou durante anos. No nosso estudo, observamos que 15 dias de exposição à poluição aérea já foram suficientes para gerar micronúcleos nos canários expostos na cidade de Uberlândia.

Em Monterrey, capital do México, foi realizado um estudo utilizando pombos da espécie *Columba livia* encontrados em praças e parques e pombos colocados isolados da poluição. Encontraram um aumento significativo de micronúcleos nos pombos da cidade quando comparados aos pombos que foram isolados da poluição (González-Acevedo *et al.*, 2016). Soares *et al.* (2003) expuseram camundongos a poluição aérea de São Paulo e em uma área na zona rural de Atibaia. Avaliaram 3000 eritrócitos e encontraram uma variação na frequência de micronúcleo de 1,61 a 8. Encontraram uma maior frequência de micronúcleos nos camundongos expostos em São Paulo e consideraram esse resultado como um produto do efeito da poluição do ar. Esses trabalhos corroboram com nosso resultado para aves, uma vez que os canários expostos na cidade desenvolveram mais micronúcleos. Faria *et al.* (2018) realizaram no estado de Goiás, Brasil um estudo com indivíduos da espécie *Coturnix japonica* que foram expostos ao pesticida abamectina e não apresentaram micronúcleo, evidenciando que o surgimento de micronúcleos pode realmente ser mais influenciado pela poluição do ar como mostrado nesse trabalho.

Os poluentes emitidos por veículos automotores são os principais responsáveis pela degradação da qualidade do ar nos centros urbanos (Feam, 2017). O fator de emissão veicular é o indicativo básico de emissão e prevê a quantidade de poluente emitido por distância percorrida ou quantidade de combustível utilizado (Feam, 2017). Os fatores médios de emissão em Uberlândia são: 8,943 g/km para monóxido de carbono (CO), 1,609 g/km para hidrocarbonetos (HC), 14,198 g/km para óxidos de nitrogênio (NOx), 0,323 g/km para óxidos de enxofre (SOx) e 0,601 g/km para material particulado (PM) (Feam, 2017). Estudos mostraram que, de todas as emissões existentes, o transporte é responsável por 54% de CO, 47% de HC, 30% de NOx, 14% de SOx e 25% de PM (Sokhi, 2011, Karagulian *et al.*, 2015). Os parâmetros brasileiros para a qualidade do ar são os mesmos desde 1990, quando o Conselho Nacional do Meio Ambiente estabeleceu padrões que envolveram apenas partículas inaláveis (PM10), não podendo exceder uma média de 50 µg/m³. Vários estudos no Brasil e em outros países mostraram uma relação significativa entre PM e efeitos negativos na saúde, corroborando os resultados obtidos com o biomonitoramento do ambiente urbano, apoiando a hipótese de que o ar em áreas de alto nível de

tráfego de veículos produz efeitos toxicológicos (Mariani, 2009), mesmo em situações com concentração diária de PM10 inferior a 50 µg/m³ (Isidori *et al.*, 2003, Pereira *et al.*, 2014).

Pereira *et al.* (2017), fizeram uma análise de 2008 a 2013 da cidade de Uberlândia, Brasil, observaram que a frota de veículos aumentou 71% neste período e como resultado, a cidade teve uma das maiores frotas automotivas do país, com 412.912 veículos. Como consequência foi observado aumento nos valores de PM10 no ar e da frequência de micronúcleos em *Tradescantia pallida*. Atualmente, a cidade conta com mais de 450.000 veículos (Denatran, 2018), o que agrava ainda mais a qualidade do ar gerando efeitos negativos em todo ecossistema. Leite *et al.* (2011) também mostraram que o aumento do fluxo de veículos na cidade Uberlândia, reduziu a probabilidade de se obter boa qualidade do ar. Além disso, encontraram que as concentrações de PM10 estavam excedendo o permitido pela legislação.

Estudo feito em Rivne, Ucrânia, avaliou células de mucosa oral de crianças de 12 locais com diferentes cargas antropogênicas. A maior frequência de micronúcleos foi encontrada nas crianças que vivem onde o tráfego de veículos é intenso e consequentemente essas áreas apresentavam taxas de CO no ar excedendo o permitido. A frequência de micronúcleos variou de 0.017 a 0.037 em 5.500 células analisadas (Grygus *et al.*, 2018). Outro estudo realizado com morcegos em Palmas, Brasil, encontrou alta frequência de micronúcleos nos indivíduos da espécie *Nyctinomops laticaudatus*. Uma possível explicação é que esses morcegos foram capturados na ponte Fernando Henrique Cardoso. Portanto esses micronúcleos podem ter sido formados devido à exposição à poluição causada pelo tráfego de veículos, uma vez que morcegos capturados distantes do tráfego apresentaram menor frequência de micronúcleos (0,29 e 1,30 respectivamente em 500 células analisadas) (Benvindo-Souza *et al.*, 2019). Pereira *et al.* (2013) encontraram que as frequências de micronúcleo em *Tradescantia* são proporcionais ao número de veículos em Uberlândia, Brasil, ou seja, quanto mais veículos, mais micronúcleos na planta. O nosso estudo tem em comum com os citados acima, o intenso tráfego de veículos, no caso, na cidade de Uberlândia e nas rodovias que circundam as áreas de estudo, com exceção das áreas distantes de centros urbanos.

No nosso estudo encontramos frequência média de 1,8 micronúcleos nos canários expostos na cidade e os canários da área controle não apresentaram micronúcleos. Sterner (1993a, 1993b) discute que a restrição de aves a gaiolas pode resultar em mudanças comportamentais. Porém, para minimizar o que foi referenciado acima, nosso trabalho foi realizado com a espécie *Serinus canarius*, conhecido popularmente como canário belga. Esta espécie pertence à Ordem Passeriformes e a Família Fringillidae. O canário belga não é uma espécie nativa do Brasil, na legislação brasileira esses canários são considerados animais domésticos. Por isso, essa ave é encontrada apenas em cativeiro, sendo adaptada à vida em gaiolas e ao ambiente no entorno (Fob, 2019).

Rombout *et al.* (1991) apontam que resultados de estudos de laboratório devem ser interpretados com cautela, pois esses estudos frequentemente usam técnicas de câmara de inalação, que exigem que as aves permaneçam estacionárias durante a exposição e normalmente a exposição é apenas com um poluente. Llacuna *et al.* (1993) afirmam que os resultados de estudos de laboratório que examinam respostas à exposição a um único poluente são importantes, embora não suficientes, para caracterizar os impactos da poluição do ar sobre a avifauna em ambientes naturais, onde eles são expostos a uma combinação de contaminantes atmosféricos de concentrações variadas. Quando expostos a poluição real, as aves apresentam taxas metabólicas mais altas, o que pode aumentar os efeitos negativos da poluição do ar no sistema respiratório (Rombout *et al.*, 1991, Gorriz *et al.*, 1994). Por isso nosso estudo é importante, já que utilizou canários no seu habitat de costume, expostos nas casas como animais domésticos, o que os expõe diariamente à mistura de poluentes do ar das cidades. Com isso a resposta desses animais demonstra que a principal influência da formação de micronúcleos é a poluição do ar, uma vez que outros fatores como, comida e água foram isolados.

Nosso estudo mostrou sob condições reais, o potencial da poluição atmosférica em causar micronúcleos em aves. Contudo, a quantificação e identificação dos poluentes é complicada pelo fato do ar ser formado por uma mistura de componentes com composições variáveis, potencial de transporte de longo alcance, toxicidade e carcinogenicidade (Carreras *et al.*, 2013). A partir disso, a técnica de micronúcleo é eficaz, pois é considerada simples para

detecção de danos no DNA gerados por agentes genóxicos e permite executar medidas repetidas dentro do mesmo animal (Soares *et al.*, 2003). Assim, mostramos a viabilidade do teste de micronúcleo em aves para melhor caracterizar a genotoxicidade da poluição urbano. O aumento da frequência de micronúcleos considerado nas aves é um resultado importante do papel desses animais no ecossistema e de seu potencial para o biomonitoramento da qualidade ambiental. Assim, se compreendido os efeitos dos contaminantes ambientais inalados por uma variedade de espécies de aves, as mesmas podem servir como biomonitores altamente eficazes e sensíveis da qualidade principalmente do ar (Furness, 1993, Furness, Greenwood, 2013, Baesse *et al.*, 2019).

6. CONCLUSÕES

Este trabalho confirmou a hipótese inicial de que áreas mais próximas de cidades e rodovias são afetadas diretamente por poluentes de origem antrópico. Uma vez que as aves analisadas apresentaram diferentes frequências de micronúcleos e estes são gerados pela exposição a poluentes com propriedades aneugênicas e clastogênicas. Essa confirmação se deu, pois as aves que habitam áreas inseridas em cidades apresentaram maior frequência de micronúcleos comparado as que habitam áreas distantes de cidades, demonstrando que a poluição encontrada nos centros urbanos afeta as aves e consequentemente todo ecossistema.

Outro fator importante que conseguimos demonstrar é que as estações do ano interferem na frequência de micronúcleos em aves, uma vez que há uma maior concentração de poluentes na atmosfera no inverno, que coincide com a estação seca na região do estudo. Isso foi comprovado, uma vez que as aves apresentaram maior frequência de micronúcleos na estação seca, influenciado pela maior concentração de poluentes no ar.

Oitenta e sete espécies de aves analisadas apresentaram diferença na frequência de micronúcleos e essa diferença se deu principalmente por fatores como, biomassa, condição corporal e guilda alimentar. Aves com maior biomassa e condição corporal apresentam maior área de contato e taxa metabólica mais elevada e aves granívoras e onívoras estão mais expostas a alimentos

contaminados, principalmente grãos. Sendo assim, as diferenças encontradas em espécies de aves influenciam na formação de micronúcleos e o estudo delas é de total importância para a escolha de espécies biomonitoras. A partir disso, 10 espécies de aves demonstraram potencial biomonitor, indicando áreas mais e menos poluídas a partir da técnica de micronúcleos.

A parte experimental feita com os canários foi de total importância para confirmar que a poluição que mais afeta as aves é provindo do ar, já que outras possíveis fontes de poluição encontradas na comida, água e solo foram isoladas uma vez que os canários estavam em gaiolas.

Sendo assim, conseguimos observar que as aves são uma excelente escolha para o biomonitoramento do ar, uma vez que elas possuem eficiente respiração e acumulam ar para o voo, absorvendo gases e partículas presentes no ar. As aves são, portanto, mais sensíveis aos poluentes do ar e podem servir como indicadores úteis para a detecção precoce de problemas no ar que refletem danos para a saúde pública devido à sua coabitação com seres humanos.

7. REFERÊNCIAS

- Adam, M. L., Torres, R. A., Kiska, M., Oliveira, F. F., Lacerda, O., Sponchiado, G., Ribas, C. M. O., dos Santos Correia, M. T. (2013). Assessment of Genome Damage in Bird and Mammal Species as a Tool for Improvements in ex-situ Conservation at Zoos. *Natureza & Conservação*, 11(1), 1-6. <https://doi.org/10.4322/natcon.2013.010>
- Alimba, C. G., Bakare, A. A. (2016). In vivo micronucleus test in the assessment of cytogenotoxicity of landfill leachates in three animal models from various ecological habitats. *Ecotoxicology*, 25(2), 310-319. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1589-3>
- Almeida, C. C. S., Barreto, T. N. A., de Souza Lira, E. B., Lorena, E. M. G., Santos, I. G. S., Bezerra, A. P. X. G. (2017). Bioindicators of air quality species. *Revista Geama*, 3(2), 94-102.
- Alves, K. A., Rosa, R. (2008). Espacialização de dados climáticos do cerrado mineiro. *Horizonte Científico*, 8, 1-28.

- Bachman, G., Widemo, F. (1999). Relationships between body composition, body size and alternative reproductive tactics in a lekking sandpiper, the Ruff (*Philomachus pugnax*). *Functional Ecology*, 13(3), 411-416. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.1999.00323.x>
- Baesse, C. Q., de Magalhães Tolentino, V. C., da Silva, A. M., de Andrade Silva, A., Ferreira, G. Â., Paniago, L. P. M., Nepomuceno, J. C., de Melo, C. (2015). Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115, 223-228. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.024>
- Baesse, C. Q., de Magalhães Tolentino, V. C., Morelli, S., Melo, C. (2019). Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 631-637. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.026>
- Ballarin, C., Sarto, F., Giacomelli, L., Bartolucci, G. B., Clonfero, E. (1992). Micronucleated cells in nasal mucosa of formaldehyde-exposed workers. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 280(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(92\)90012-O](https://doi.org/10.1016/0165-1218(92)90012-O)
- Baos, R., Blas, J., Bortolotti, G. R., Marchant, T. A., Hiraldo, F. (2006). Adrenocortical response to stress and thyroid hormone status in free-living nestling white storks (*Ciconia ciconia*) exposed to heavy metal and arsenic contamination. *Environmental Health Perspectives*, 114(10), 1497-1501. <https://doi.org/10.1289/ehp.9099>
- Belskii, E. A., Lugas' Kova, N. V., Karfidova, A. A. (2005). Reproductive parameters of adult birds and morphophysiological characteristics of chicks in the pied flycatcher (*Ficedula hypoleuca* Pall.) in technogenically polluted habitats. *Russian Journal of Ecology*, 36(5), 329-335. <https://doi.org/10.1007/s11184-005-0080-4>
- Benvindo-Souza, M., Borges, R. E., Pacheco, S. M., de Souza Santos, L. R. (2019). Genotoxicological analyses of insectivorous bats (Mammalia: Chiroptera) in central Brazil: The oral epithelium as an indicator of environmental quality. *Environmental Pollution*, 245, 504-509. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.015>

- Berglund, L., Brunzell, J. D., Goldberg, A. C., Goldberg, I. J., Sacks, F., Murad, M. H., Stalenhoef, A. F. (2012). Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(9), 2969-2989. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3213>
- Blanco, G., Frías, O. (2001). Symbiotic feather mites synchronize dispersal and population growth with host sociality and migratory disposition. *Ecography*, 24(2), 113-120. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0587.2001.240201.x>
- Blums, P., Nichols, J. D., Hines, J. E., Lindberg, M. S., Mednis, A. (2005). Individual quality, survival variation and patterns of phenotypic selection on body condition and timing of nesting in birds. *Oecologia*, 143(3), 365-376. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1794-x>
- Braham, R. P., Blazer, V. S., Shaw, C. H., Mazik, P. M. (2017). Micronuclei and other erythrocyte nuclear abnormalities in fishes from the Great Lakes Basin, USA. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 58(8), 570-581. <https://doi.org/10.1002/em.22123>
- Briggs, D. (2003). Environmental pollution and the global burden of disease. *British Medical Bulletin*, 68(1), 1-24. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg019>
- Brito, J. L. S., Prudente, T. D. (2005). Análise temporal do uso do solo e cobertura vegetal do município de Uberlândia-MG, utilizando imagens ETM+/Landsat 7. *Sociedade & Natureza*, 17(32), 37-46.
- Burger, J., Bowman, R., Woolfenden, G. E., Gochfeld, M. (2004). Metal and metalloid concentrations in the eggs of threatened Florida scrub-jays in suburban habitat from south-central Florida. *Science of the Total Environment*, 328(1-3), 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.01.030>
- Campbell, T. W. (1994). Hematology In: Ritchie, B. W., Harrison, G. J., Harrison L. R. *Avian medicine: principles and application*. Lake Worth: Wingers Publishing, 176-198.
- Campbell, T. W., Ellis, C. K. (2007). Hematology of birds. *Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology*, 3-50.
- Carreras, H. A., Calderón-Segura, M. E., Gómez-Arroyo, S., Murillo-Tovar, M. A., Amador-Muñoz, O. (2013). Composition and mutagenicity of PAHs associated with urban airborne particles in Córdoba, Argentina. *Environmental Pollution*, 178, 403-410. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.03.016>

- Castro, N. M. F. (1995). Projeto Executivo: Unidade de Conservação Galheiro - estudo de fauna e flora. (Relatório final - Estudos ambientais). Belo Horizonte, 2.
- Cavalcanti, R. B. (1992). The importance of forest edges in the ecology of open country cerrado birds. Pp. 513-518. In: Furley, P. A., Proctor, J. & Ratter, A. (eds.). Nature and Dynamics of Forest-Savanna Boundaries. Chapman and Hall, London.
- Clark, P., Boardman, W., Raidal, S. (2009). Atlas of Clinical Avian Hematology. Oxford: Blackwell Publishing, 184p.
- Clark, P. (2015). Assessment of avian erythrocytes that exhibit variant nuclear morphology. *Comparative Clinical Pathology*, 24(3), 485-490. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-1926-6>
- Claxton, L. D. (2015). The history, genotoxicity, and carcinogenicity of carbon-based fuels and their emissions. Part 3: diesel and gasoline. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 763, 30-85. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2014.09.002>
- COPAM (Conselho Estadual de Política Ambiental). Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção da Fauna do Estado de Minas Gerais. Deliberação Normativa COPAM nº 147, de 30 de abril de 2010. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=13192>. Acesso em: 10 Nov. 2019.
- Cury, P. M., Lichtenfels, A. J. F., Reymão, M. S. F., Conceição, G. M., Capelozzi, V. L., Saldiva, P. H. (2000). Urban levels of air pollution modifies the progression of urethane-induced lung tumours in mice. *Pathology-Research and Practice*, 196(9), 627-633. [https://doi.org/10.1016/S0344-0338\(00\)80006-0](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(00)80006-0)
- Dauwe, S., Mittelstädt, L., Metz, A., Hezel, R. (2002). Experimental evidence of parasitic shunting in silicon nitride rear surface passivated solar cells. *Progress in Photovoltaics: Research and Applications*, 10(4), 271-278. <https://doi.org/10.1002/pip.420>
- Denatran, 2018. Departamento Nacional de Trânsito. Frota veicular—Estatística de 2018. Disponível em: <http://www.denatran.gov.br/frota>. Acesso: Junho 2019.
- Ditchkoff, S. S., Saalfeld, S. T., Gibson, C. J. (2006). Animal behavior in urban ecosystems: modifications due to human-induced stress. *Urban Ecosystems*, 9(1), 5-12. <https://doi.org/10.1007/s11252-006-3262-3>

- Dowling, D. K., Richardson, D. S., Komdeur, J. (2001). No effects of a feather mite on body condition, survivorship, or grooming behavior in the *Seychelles warbler*, *Acrocephalus sechellensis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 50(3), 257-262. <https://doi.org/10.1007/s002650100360>
- Drahulian, M., Chaplygina, A., Savynska, N., Kostenko, S., Buchek, P. (2018). Clinical blood analysis of the great tit *Parus major*. *ScienceRise*, 3, 11-14. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2018.127387>
- Drahulian, M., Chaplygina, A., Savynska, N., Kostenko, S., Ostrovskyi, P., Gusar, K. (2018). The physiological and genetic differences between flycatchers (*Ficedula albicollis* vs. *Ficedula hypoleuca*). *Folia Oecologica*, 45(2), 111-119. <https://doi.org/10.2478/foecol-2018-0012>
- Dufour, K. W., Weatherhead, P. J. (1991). A test of the condition-bias hypothesis using Brown-headed Cowbirds trapped during the breeding season. *Canadian Journal of Zoology*, 69(10), 2686-2692. <https://doi.org/10.1139/z91-377>
- Durães, R., Marini, M. Â. (2003). An evaluation of the use of tartar emetic in the study of bird diets in the Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Journal of Field Ornithology*, 74(3), 270-281. <https://doi.org/10.1648/0273-8570-74.3.270>
- Faria, D. B. G., Montalvão, M. F., de Souza, J. M., de Oliveira Mendes, B., Malafaia, G., de Lima Rodrigues, A. S. (2018). Analysis of various effects of abamectin on erythrocyte morphology in Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(3), 2450-2456. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0677-8>
- Feam. (2017). Fundação estadual do meio ambiente. 2015. Disponível em: <http://www.feam.br>. Acesso: Junho 2019.
- Filippini, T., Heck, J. E., Malagoli, C., Giovane, C. D., Vinceti, M. (2015). A review and meta-analysis of outdoor air pollution and risk of childhood leukemia. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 33(1), 36-66. <https://doi.org/10.1080/10590501.2015.1002999>
- Fob. (2019). Federação Ornitológica Brasileira. Disponível em: www.fob.org.br. Acesso: Junho de 2019.
- Furness, R. W. (1993). Birds as monitors of pollutants. In *Birds as monitors of environmental change* (pp. 86-143). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-015-1322-7_3

- Furness, R. W., Greenwood, J. J. (Eds.). (2013). Birds as monitors of environmental change. Springer Science & Business Media.
- García-Bustamante, E., González-Rouco, J. F., Navarro, J., Xoplaki, E., Luterbacher, J., Jiménez, P. A., Montávez, J. P., Hidalgo, A. Lucio-Eceiza, E. E. (2013). Relationship between wind power production and North Atlantic atmospheric circulation over the northeastern Iberian Peninsula. *Climate Dynamics*, 40(3-4), 935-949. <https://doi.org/10.1007/s00382-012-1451-8>
- Gomes, A. C. S., Spyrides, M. H. C., Lúcio, P. S., Lara, I. A. R. (2019). The association between air pollution and the mortality of elderly people due acute myocardial infarction in São Paulo, SP, Brazil. *Revista Brasileira de Climatologia*, 24, 39-48. <https://doi.org/10.5380/abclima.v24i0.50255>
- González-Acevedo, A., García-Salas, J. A., Gosálvez, J., Fernández, J. L., Dávila-Rodríguez, M. I., Cerda-Flores, R. M., López, L. F. M., Cortés-Gutiérrez, E. I. (2016). Evaluation of environmental genotoxicity by comet assay in *Columba livia*. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 26(1), 61-66. <https://doi.org/10.3109/15376516.2015.1114059>
- Gorriz, A., Llacuna, S., Durfort, M., Nadal, J. (1994). A study of the ciliar tracheal epithelium on passerine birds and small mammals subjected to air pollution: ultrastructural study. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27(1), 137-142. <https://doi.org/10.1007/BF00203900>
- Grygus, I., Kaskyv, M., Zukow, W. (2018). Evaluation of ecological and genetic condition of Rivne city for Micronucleus Test. *Ecological Questions*, 29(1), 119-127.
- Gwynne, J. A., Ridgely, R. S., Argel, M., Tudor, G. (2010). Guia Aves do Brasil: Pantanal e Cerrado. In *Guia Aves do Brasil: Pantanal e Cerrado*. <https://doi.org/10.12775/EQ.2018.010>
- Hayashi, M. (2016). The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test—. *Genes and Environment*, 38(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s41021-016-0044-x>
- Hussain, R., Mahmood, F., Khan, A., Javed, M. T., Rehan, S., Mehdi, T. (2012). Cellular and biochemical effects induced by atrazine on blood of male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(1), 38-42. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.03.001>

Hussain, R., Mahmood, F., Khan, A. (2015). Genotoxic and pathological effects of malathion in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 52(4).

ICMBIO - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume III - Aves. In: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (Org.). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Brasília: ICMBio. 2018. 709p.

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A. (2003). Toxicity identification evaluation of leachates from municipal solid waste landfills: a multispecies approach. Chemosphere, 52(1), 85-94. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00298-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00298-4)

IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019/2. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 09 Dez. 2019.

Jubril, A. J., Omadevuaye, T. O., Adekola, A. A. (2017). In vivo micronucleus test as a biomarker of genotoxicity in free-range goats from suspected contaminated environment. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, 4(3), 281-287. <https://doi.org/10.5455/javar.2017.d225>

Karagulian, F., Belis, C. A., Dora, C. F. C., Prüss-Ustün, A. M., Bonjour, S., Adair-Rohani, H., Amann, M. (2015). Contributions to cities' ambient particulate matter (PM): A systematic review of local source contributions at global level. Atmospheric Environment, 120, 475-483. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.08.087>

Köppen, W. (1948). Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra. Fondo de Cultura Económica. México, 479p.

Krishna, G., Hayashi, M. (2000). In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 455(1-2), 155-166. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(00\)00117-2](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(00)00117-2)

Kursa, M., Bezrukov, V. (2008). Health status in an Antarctic top predator: micronuclei frequency and white blood cell differentials in the South Polar Skua. Polarforschung, 77(1), 1-5.

Leite, R. C. M., Guimarães, E. C., LIMA, E., Barrozo, M., Tavares, M. (2011). Utilização de regressão logística simples na verificação da qualidade do ar

atmosférico de Uberlândia. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 16(1), 175-180. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522011000200011>

Llacuna, S., Gorriz, A., Durfort, M., Nadal, J. (1993). Effects of air pollution on passerine birds and small mammals. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 24(1), 59-66. <https://doi.org/10.1007/BF01061089>

Lopes, S. D. F., Schiavini, I., Oliveira, A. P., Vale, V. S. (2012). An ecological comparison of floristic composition in seasonal semideciduous forest in Southeast Brazil: implications for conservation. *International Journal of Forestry Research*. <https://doi.org/10.1155/2012/537269>

Luzhna, L., Kathiria, P., Kovalchuk, O. (2013). Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond. *Frontiers in Genetics*, 4, 131. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00131>

Majer, V., Kram, P., Shanley, J. B. (2005). Rapid regional recovery from sulfate and nitrate pollution in streams of the western Czech Republic—comparison to other recovering areas. *Environmental Pollution*, 135(1), 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.10.009>

Mariani, R. L., Jorge, M. P. M., Pereira, S. S., Melione, L. P., Carvalho-Oliveira, R., Saldiva, P. H. N. (2009). Association between micronuclei frequency in pollen mother cells of *Tradescantia* and mortality due to cancer and cardiovascular diseases: A preliminary study in Sao Jose dos Campos, Brazil. *Environmental Pollution*, 157(6), 1767-1770. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.02.023>

Martínez-Haro, M., Balderas-Plata, M. A., Pereda-Solís, M. E., Arellano-Aguilar, O., Hernández-Millán, C. L., Mundo-Hernández, V., Torres-Bugarín, O. (2017). Anthropogenic influence on blood biomarkers of stress and genotoxicity of the burrowing owl (*Athene cunicularia*). *Journal Biodiversity Endangered Species*, 5(3), 196-199. <https://doi.org/10.4172/2332-2543.1000196>

Meier, J. R., Wernsing, P., Torsella, J. (1999). Feasibility of micronucleus methods for monitoring genetic damage in two feral species of small mammals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 33(3), 219-225. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2280\(1999\)33:3<219::AID-EM6>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2280(1999)33:3<219::AID-EM6>3.0.CO;2-X)

Miller, J. R., Hobbs, R. J. (2002). Conservation where people live and work. *Conservation Biology*, 16(2), 330-337. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2002.00420.x>

- Mitra, A., Chatterjee, C., Mandal, F. B. (2011). Synthetic chemical pesticides and their effects on birds. *Research Journal Environmental Toxicology*, 5(2), 81-96. <https://doi.org/10.3923/rjet.2011.81.96>
- Mora, M. A. (2008). Organochlorine pollutants and stable isotopes in resident and migrant passerine birds from northwest Michoacan, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 55(3), 488-495. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9124-z>
- Morita, H., Taguchi, J. I., Kurihara, H., Kitaoka, M., Kaneda, H., Kurihara, Y., Maemura, K., Minamino, T., Ohno, M., Yamaoki, K., Ogasawara, K., Aizawa, T., Suzuki, S., Yazaki, Y. (1997). Genetic polymorphism of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation*, 95(8), 2032-2036. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.95.8.2032>
- Morita, R., Schmitt, N., Bentebibel, S. E., Ranganathan, R., Bourdery, L., Zurawski, G., Fouca, E., Dullaers, M., Oh, S., Sabzghabaei, N., Lavecchio, E. M., Punaro, M., Pascual, V., Banchereau, J. (2011). Human blood CXCR5+ CD4+ T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion. *Immunity*, 34(1), 108-121. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.12.012>
- Motta-Júnior, J. C. (1990). Estrutura trófica e composição das avifaunas de três habitats terrestres na região central do estado de São Paulo. *Ararajuba*, 1, 65-71.
- Nagae, Y., Miyamoto, H., Suzuki, Y., Shimizu, H. (1991). Effect of estrogen on induction of micronuclei by mutagens in male mice. *Mutation Research Letters*, 263(1), 21-26. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(91\)90029-4](https://doi.org/10.1016/0165-7992(91)90029-4)
- Nascimbene, J., Tretiach, M., Corana, F., Schiavo, F. L., Kodnik, D., Dainese, M., Mannucci, B. (2014). Patterns of traffic polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in mountain areas can be revealed by lichen biomonitoring: A case study in the Dolomites (Eastern Italian Alps). *Science of the Total Environment*, 475, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.090>
- Pereira, B. B., de Campos Júnior, E. O., Morelli, S. (2013). In situ biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil, using a *Tradescantia* micronucleus assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 87, 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.10.003>

Pereira, B. B., de Campos, E. O., de Lima, E. A. P., Barrozo, M. A. S., Morelli, S. (2014). Biomonitoring air quality during and after a public transportation strike in the center of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil by *Tradescantia* micronucleus bioassay. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(5), 3680-3685. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2335-0>

Pereira, B. B., Da Cunha, P. B., Silva, G. G., de Campos Júnior, E. O., Morelli, S., Vieira Filho, C. A., Lima, E. A. P., Barrozo, M. A. S. (2017). Integrated monitoring for environmental health impact assessment related to the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(3), 2572-2577. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8039-5>

Pinhatti, V. R., da Costa Allgayer, M., Breyer, A. S., Pereira, R. A., da Silva, J. (2006). Determination of basal damages in the DNA of araras canindé (*Ararauna*) through the Micronucleus Test: tool in the evaluation of the animal health and its use in the monitors of the ambient pollution. *Acta Scientiae Veterinariae*, 34(3), 313-317. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.15552>

Piratelli, A., Pereira, M. R. (2002). Dieta de aves na região leste de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Ararajuba*, 10(2), 131-139.

Quero, A. A., Ferré, D. M., Zarco, A., Cuervo, P. F., Gorla, N. B. (2016). Erythrocyte micronucleus cytome assay of 17 wild bird species from the central Monte desert, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24), 25224-25231. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7638-5>

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. 2018. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.Rproject.org>. Acesso em: 10 Out. 2019.

Rainio, M. J., Kanerva, M., Salminen, J. P., Nikinmaa, M., Eeva, T. (2013). Oxidative status in nestlings of three small passerine species exposed to metal pollution. *Science of the Total Environment*, 454, 466-473. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.033>

Ramírez-Muñoz, M. P., Zúñiga, G., Torres-Bugarín, O., Portilla, E., García-Martínez, D., Ramos, A., Cantú, J. M., Sánchez-Corona, J. (1999). Evaluation of the micronucleus test in peripheral blood erythrocytes by use of the splenectomized model. *Comparative Medicine*, 49(4), 418-420.

- Rombout, P. J. A., Dormans, J. A. M. A., Van Bree, L., Marra, M. (1991). Structural and biochemical effects in lungs of Japanese quail following a 1-week exposure to ozone. *Environmental Research*, 54(1), 39-51. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(05\)80193-8](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(05)80193-8)
- Roos, A. L., Nunes, M. F. C., Sousa, E. A., Sousa, A. E. B. A., Nascimento, J. L. X., Lacerda, R. C. A. (2006). Avifauna da região do Lago de Sobradinho: composição, riqueza e biologia. *Ornithologia*, 1(2), 135-160.
- Rosa, R., Lima, S. C., Assunção, W. L. (1991). Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *Sociedade & Natureza*, 91-108.
- Rosa, A. G., Schiavini, I. (2006). Estrutura da comunidade arbórea em um remanescente florestal urbano (Parque do Sabiá, Uberlândia, MG). *Bioscience Journal*, 22(1), 151-162.
- Saldiva, P. H., King, M., Delmonte, V. L. C., Macchione, M., Parada, M. A. C., Daliberto, M. L., Sakae, R. S., Criado, M. P., Parada, P. L. P., Zin, W. A., Böhm, G. M. (1992). Respiratory alterations due to urban air pollution: an experimental study in rats. *Environmental Research*, 57(1), 19-33. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(05\)80016-7](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(05)80016-7)
- Saldiva, P. H. N., Böhm, G. M. (1998). Animal indicators of adverse effects associated with air pollution. *Ecosystem Health*, 4(4), 230-235. <https://doi.org/10.1046/j.1526-0992.1998.98098.x>
- Sánchez-Virosta, P., Espín, S., García-Fernández, A. J., Eeva, T. (2015). A review on exposure and effects of arsenic in passerine birds. *Science of the Total Environment*, 512, 506-525. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.069>
- Sanderfoot, O. V., Holloway, T. (2017). Air pollution impacts on avian species via inhalation exposure and associated outcomes. *Environmental Research Letters*, 12(8), 083002. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa8051>
- Santos, C. S., Brandão, R., Monteiro, M. S., Bastos, A. C., Soares, A. M., Loureiro, S. (2017). Assessment of DNA damage in *Ardea cinerea* and *Ciconia ciconia*: A 5-year study in Portuguese birds retrieved for rehabilitation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 136, 104-110. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.039>

- Schmid, W. (1976). The micronucleus test for cytogenetic analysis. In *Chemical Mutagens* (pp. 31-53). Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-0892-8_2
- Schulte-Hostedde, A. I., Zinner, B., Millar, J. S., Hickling, G. J. (2005). Restitution of mass–size residuals: validating body condition indices. *Ecology*, 86(1), 155-163. <https://doi.org/10.1890/04-0232>
- Şekercioğlu, Ç. H., Daily, G. C., Ehrlich, P. R. (2004). Ecosystem consequences of bird declines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(52), 18042-18047. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408049101>
- Sette, D. M., Ribeiro, H. (2011). Interações entre o clima, o tempo e a saúde humana. *InterfacEHS-Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade*, 6(2).
- Shepherd, G. L., Somers, C. M. (2012). Adapting the buccal micronucleus cytome assay for use in wild birds: age and sex affect background frequency in pigeons. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 53(2), 136-144. <https://doi.org/10.1002/em.21673>
- Sick, H. (1997). *Ornitologia Brasileira* Editora Nova Fronteira. Rio de Janeiro.
- Sigrist, T. (2009). *Guia de campo avis brasiliis avifauna brasileira: Descrição das espécies*. Avis Brasiliis Editora.
- Silva, F. C., Silva, G. G., Chagas, M. O., Jung, D. M. H. (2014). Bird community composition in an urban area in southern Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*, 9(2), 78-90. <https://doi.org/10.4013/nbc.2014.92.02>
- Silva, S. V., S., Dias, A. H. C., Dutra, E. S., Pavanin, A. L., Morelli, S., Pereira, B. B. (2016). The impact of water pollution on fish species in southeast region of Goiás, Brazil. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 79(1), 8-16. <https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1099484>
- Skarphedinsdottir, H., Gunnarsson, K., Gudmundsson, G. A., Nfon, E. (2010). Bioaccumulation and biomagnification of organochlorines in a marine food web at a pristine site in Iceland. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58(3), 800-809. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9376-x>
- Soares, E. S., Anjos, L. dos. (1999). Efeito da fragmentação florestal sobre aves escaladoras de tronco e galho na região de Londrina, norte do estado do Paraná, Brasil. *Ornitologia. Neotropical*, 10, 61-68.

Soares, S. R. C., Bueno-Guimaraes, H. M., Ferreira, C. M., Rivero, D. H. R. F., De Castro, I., Garcia, M. L. B., Saldiva, P. H. N. (2003). Urban air pollution induces micronuclei in peripheral erythrocytes of mice in vivo. *Environmental Research*, 92(3), 191-196. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(02\)00061-0](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(02)00061-0)

Sokhi, R. S. (2011). *World Atlas of Atmospheric Pollution*, 1st ed. Anthen Press, Nova York.

Souto, H. N., de Campos Júnior, E. O., Campos, C. F., Rodrigues, T. S., Pereira, B. B., Morelli, S. (2018). Biomonitoring birds: the use of a micronuclei test as a tool to assess environmental pollutants on coffee farms in southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(24), 24084-24092. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2466-4>

Sterner, R. T. (1993) a. Whole body exposures to a phosphoric acids aerosol: I. Spontaneous activity effects in wild rodent and avian species. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 39(2), 287-308. <https://doi.org/10.1080/15287399309531752>

Sterner, R. T. (1993) b. Whole-body exposures to a phosphoric acids aerosol: II. Food/water/weight effects in wild rodent and avian species. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 39(4), 497-515. <https://doi.org/10.1080/15287399309531767>

Stolen, E. D. (2006). *Habitat selection and foraging success of wading birds in impounded wetlands in Florida*. University of Florida.

Storni, A., Alves, M. A., Valim, M. P. (2005). Ácaros de penas e carrapatos (Acari) associados a *Turdus albicollis* Vieillot (Aves, Muscicapidae) em uma área de Mata Atlântica da Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22(2), 419-423. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752005000200017>

Tolesano-Pascoli, G. V., Torga, K., Franchin, A. G., Ogrzewalska, M., Gerardi, M., Olegário, M. M. M., Labruna, M. B., Szabó, M. P. J. Marçal Júnior, O. (2010). Ticks on birds in a forest fragment of Brazilian cerrado (savanna) in the municipality of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19(4), 244-248. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612010000400010>

- Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmuelle, S., Fenech, M. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 4(6), 825. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.53>
- Valadão, R. M., Junior, O. M., Franchin, A. G. (2006). A avifauna no parque municipal Santa Luzia, zona urbana de Uberlândia, Minas Gerais. *Bioscience Journal*, 22(2).
- Vila, L. G. (2013). Hematologia em aves: revisão de literatura. Seminários Aplicados. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal De Goiás. Nível Mestrado. 42p.
- Zúñiga, G., Torres-Bungarín, O., Ramírez-Muñoz, M. P., Ramos, A., Fanti-Rodríguez, E., Portilla, E., D. García-Martínez, J.M. Cantú, M.P. Gallegos-Arreola, M. P., Sánchez-Corona, J. (1996). Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 369(1-2), 123-127. [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(96\)90056-7](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(96)90056-7)
- Zúñiga-González, G., Torres-Bugarín, O., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A., Zamora-Perez, A., Gómez-Meda, B. C., Ventura-Aguilar, A. J., Ramos-Ibarra, M. L., Ramos-Mora, A., Ortiz, G. G., Gallegos-Arreola, M. P. (2000). Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): Part two. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 467(1), 99-103. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(00\)00021-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(00)00021-8)
- Zúñiga-González, G., Torres-Bugarín, O., Zamora-Perez, A., Gómez-Meda, B. C., Ibarra, M. R., Martinez-González, S., Ventura-Aguilar, A. J., Ramos-Ibarra, M. L., Ramos-Mora, A., Ortiz, G. G., Gallegos-Arreola, M. P. (2001). Differences in the number of micronucleated erythrocytes among young and adult animals including humans: Spontaneous micronuclei in 43 species. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 494(1-2), 161-167. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(01\)00180-2](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(01)00180-2)

8. ANEXOS

Artigo publicado referente à qualificação.

Ecotoxicology and Environmental Safety 171 (2019) 631–637



Contents lists available at ScienceDirect

Ecotoxicology and Environmental Safety

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ecoenv



Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments



Camilla Queiroz Baesse^{a,b,c,*}, Vitor Carneiro de Magalhães Tolentino^{a,d}, Sandra Morelli^b, Celine Melo^a

^a Federal University of Uberlândia, Institute of Biology, Laboratory of Ornithology and Bioacoustics, Umuarama Campus, Rua Ceará, s/n, 38400-902 Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

^b Federal University of Uberlândia, Institute of Genetics and Biochemistry, Cytogenetic and Mutagenesis Laboratory, Umuarama Campus, Avenida Pará 1720, 38400-902 Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

^c Postgraduate Program in Genetics and Biochemistry, Federal University of Uberlândia, Brazil

^d Postgraduate Program in Ecology and Conservation of Natural Resources, Federal University of Uberlândia, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Clastogenic
Aneugenic
Erythrocytes
Mutations
Vehicle traffic, air pollution

ABSTRACT

The urbanization contributes to environment contamination, mainly by the increased vehicle traffic. This intense traffic releases in the air chemical compounds with mutagenic properties that can affect the entire ecosystem. The birds for the flight accumulate air, absorbing gases or particles. The absorption of this polluted air may be causative agent responsible for micronucleus (MN) induction in bird erythrocytes. The quantitative analysis of MN in birds can assist in the monitoring environmental quality of various places. The study aimed to quantify the MN frequency in birds and compare their variation: I) among forest fragments distant from and near to urbanization, II) among species and populations of birds and III) to find if there is a relation between vehicle traffic and MN induction. The capture of the birds took place in four forest fragments in central Brazil (two distant and two near the city) using mist nets. Blood smears were prepared with blood collected from the tarso-metatarsal vein. A total of 354 individuals were analyzed and MN were found in 52% of the individuals analyzed. All sampled birds were identified and resulted to belong to 50 different species, only 4 of which were captured in all the 4 forest fragments. The average MN frequency, regardless of bird species and sampling area, was 1.04/10,000 erythrocytes. From an overall analysis carried out on all birds, the MN frequencies were found to vary among forest fragments distant from and near to urbanization ($\chi^2 = 15.513$; $p < 0.001$) and demonstrated positive correlation between vehicle traffic intensity and the MN frequency ($r = 0.988$; $df = 2$; $p = 0.011$). The species of birds presented variation in the amount of MN ($\chi^2 = 84.64$; $df = 49$; $p = 0.001$). Therefore, a restricted analysis carried out on the 4 species of birds present in all the forest fragments showed that the populations of *Antilophia galeata* ($\chi^2 = 6.029$; $p = 0.014$), *Basileuterus culicivorus* ($\chi^2 = 9.53$; $p = 0.002$), *Eucometis penicillata* ($\chi^2 = 8.067$; $p = 0.005$) and *Myiothlypis flaveola* ($\chi^2 = 4.771$; $p = 0.029$) showed difference in the MN frequency, when compared between forest fragments distant from and near to cities. The analysis demonstrated that birds living in forest areas near to the city presented higher MN frequency, probably because pollutants generated by urbanization affect birds and that the larger the vehicle traffic the greater the induced MN in the birds.

1. Introduction

Industrial activities and vehicle traffic are sources of severe air pollution (Vallero, 2014) and the gases emitted by cars are a major contributor to air contamination (Harrop et al., 1990; Carreras et al., 2013; May et al., 2014; Pérez-Martínez et al., 2014). Consequently,

persistent chemical products reach higher levels in the air in many urban areas (Tombesi et al., 2014).

Chemical compounds in urban air show mutagenic properties, implying a strong correlation between air pollution and cancer (Crebelli, 1989; Lewtas, 1993; Sato et al., 1995; State of The Art-Committee of The Environmental and Occupational Health Assembly of The American

* Corresponding author at: Federal University of Uberlândia, Institute of Biology, Laboratory of Ornithology and Bioacoustics, Umuarama Campus, Rua Ceará, s/n, 38400-902 Uberlândia, Minas Gerais, Brazil.

E-mail address: camillabaesse@gmail.com (C.Q. Baesse).

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.026>

Received 16 September 2018; Received in revised form 6 January 2019; Accepted 7 January 2019
0147-6513/ © 2019 Elsevier Inc. All rights reserved.