



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA,**  
**CONSERVAÇÃO E BIODIVERSIDADE**



**HEMOPARASITISMO E RAZÃO HETERÓFILO/LINFÓCITO NO**  
**BIOMONITORAMENTO DE AVES DO CERRADO**

**Paulo Vitor Alves Ribeiro**

**Uberlândia – MG**

**Julho – 2022**

Paulo Vitor Alves Ribeiro

**HEMOPARASITISMO E RAZÃO HETERÓFILO/LINFÓCITO NO  
BIOMONITORAMENTO DE AVES DO CERRADO**

Tese apresentada à Universidade Federal  
de Uberlândia, como parte das exigências  
para obtenção do título de Doutor em  
Ecologia, Conservação e Biodiversidade.

Orientadora

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Celine de Melo

UBERLÂNDIA – MG

JULHO – 2022

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

R484  
2022 Ribeiro, Paulo Vitor Alves, 1994-  
Hemoparasitismo e razão heterófilo/linfócito no  
biomonitoramento de aves do Cerrado [recurso eletrônico]  
/ Paulo Vitor Alves Ribeiro. - 2022.

Orientadora: Celine de Melo.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.260>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Ecologia. I. Melo, Celine de, 1971-, (Orient.). II.  
Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em  
Ecologia, Conservação e Biodiversidade. III. Título.

CDU: 574

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



## UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade

Av. Pará, 1720, Bloco 2D, Sala 26 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-320  
Telefone: (34) 3225-8641 - www.ppgeco.ib.ufu.br - ecologia@umuarama.ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ecologia, Conservação e Biodiversidade				
Defesa de:	Tese, número 77, PPGECEB				
Data:	oito de julho de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:25
Matrícula do Discente:	11813ECR006				
Nome do Discente:	Paulo Vitor Alves Ribeiro				
Título do Trabalho:	Hemoparasitismo e razão heterófilo/linfócito no biomonitoramento de aves do Cerrado				
Área de concentração:	Ecologia				
Linha de pesquisa:	Ecologia de comunidades e ecossistemas				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Uso de aves como biomonitores da qualidade ambiental em ambientes florestais no Cerrado				

Reuniu-se no Anfiteatro do Bloco 4K, Campus Umuarama, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade, assim composta pelas doutoras: Natália Oliveira Leiner - INBIO/UFU; Márcia Cristina Cury - Icbim/UFU; Juliane Silberschmidt Freitas - UEMG; Natália de Melo Nasser Fava - USP; Celine de Melo - INBIO/UFU, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Celine de Melo, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Celine de Melo, Presidente**, em 08/07/2022, às 17:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Natalia Oliveira Leiner, Membro de Comissão**, em 08/07/2022, às 17:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcia Cristina Cury, Membro de Comissão**, em 08/07/2022, às 17:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Natália de Melo Nasser Fava, Usuário Externo**, em 08/07/2022, às 17:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliane Silberschmidt Freitas, Usuário Externo**, em 14/07/2022, às 17:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3706499** e o código CRC **2FAEE74A**.

Paulo Vitor Alves Ribeiro

**HEMOPARASITISMO E RAZÃO HETERÓFILO/LINFÓCITO NO  
BIOMONITORAMENTO DE AVES DO CERRADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia, Conservação e Biodiversidade.

Aprovado em 08 de julho de 2022.

Banca examinadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Natália Oliveira Leiner – UFU

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Márcia Cristina Cury – UFU

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliane Silberschmidt Freitas – UEMG

Dr.<sup>a</sup> Natália de Melo Nasser Fava – USP

Dr.<sup>a</sup> Juliana Silva Miranda – UFU (suplente)

Dr.<sup>a</sup> Vanessa da Silva Ribeiro – UFU (suplente)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Celine de Melo – UFU

(Orientadora)

## AGRADECIMENTOS

Com este trabalho encerro um longo ciclo de muito aprendizado, crescimento pessoal e profissional. Foram nove anos ininterruptos de muito estudo, pesquisa e trabalho desde à iniciação científica até o fim do doutorado. Comemoro uma grande conquista, a qual não seria possível se não fosse o apoio tantas pessoas maravilhosas, as quais sou eternamente grato.

A toda minha família, em especial, meus pais (Odete e João Devair) e a minha irmã (Cristina) por todo o amor, apoio, incentivo, por sempre estarem do meu lado, e acreditarem no meu potencial. A minha sobrinha Amanda, por trazer tanta alegria e leveza nos meus dias.

Ao meu namorado (Marco Miguel), a quem tenho muito apreço, amor, admiração e gratidão, pois estive ao meu lado desde a graduação, sempre me incentivando e me dando apoio tanto em momentos difíceis quanto felizes.

A todos meus amigos, em especial, Nicole, Bárbara, Janaína, Hellen, Carol, Luísa e Paulo Cuevas, pela amizade e companheirismo e por sempre torcerem por mim.

A professora Celine, por me orientar, por toda a paciência, compreensão e por ser uma excelente profissional a qual me espelho e admiro muito.

A professora Márcia, a quem tenho muita gratidão, por todos os seus ensinamentos e por ter me acolhido na iniciação científica, onde minha carreira acadêmica começou.

A Universidade Federal de Uberlândia, instituição que tenho enorme gratidão e respeito. Foram 10 anos de muitas oportunidades e vivências como estudante, e agora que sou funcionário (Técnico), espero contribuir e continuar por muitos mais anos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade, e seus professores por proporcionarem conhecimentos e vivências importantes para minha

formação. A secretária (Juliana) e coordenador (Paulo Eugênio) da Pós-Graduação por sempre estarem disponíveis em auxiliar a sanar dúvidas.

Ao pessoal do GEECA (Grupo de Estudos em Ecologia e Conservação de Aves) por todo o esforço e trabalho de campo, que foram essenciais para a realização dessa tese. A Camilla, Vitor e Vanessa, muito obrigado por cuidarem dos canários durante a realização do experimento. Ao Luís Paulo, muito obrigado pelas dicas em estatística. Ao Vitor Tolentino, muito obrigado pela confecção dos mapas para a tese.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPQ – PELD 403733/2012–0) pelo fomento que auxiliou na realização dessa tese. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – Código de Financiamento 001) pelos 34 meses de bolsa de doutorado.

Aos Membros da banca, doutoras Natália Oliveira Leiner, Márcia Cristina Cury, Juliane Silberschmidt Freitas, Natália de Melo Nasser Fava, Juliana Silva Miranda e Vanessa da Silva Ribeiro, muito obrigado por aceitarem o meu convite e pelas contribuições ao meu trabalho.

Por fim, gostaria de agradecer à Ciência e a todos os cientistas, que foram imprescindíveis para superarmos um momento tão crítico da humanidade. Metade do meu doutorado foi conduzido durante a pandemia de COVID-19, em isolamento social. Obrigado à minha orientadora, por permitir a análise de lâminas em casa, num momento que era inviável se expor. Foram momentos difíceis, de falta de perspectivas, mas graças a vacina, isso mudou. Por isso, viva a Ciência e a vacina!



## PREFÁCIO

A presente tese aborda os efeitos da urbanização, poluição e condições ambientais sobre indicadores de estresse crônico (razão heterófilo/linfócito – H/L), prevalência e parasitemia de hemoparasitos em aves silvestres capturadas em fragmentos florestais de Cerrado e em canários-belga expostos experimentalmente em ambientes urbano e rural. O objetivo geral da tese foi verificar se a razão H/L e o hemoparasitismo são ferramentas eficazes no biomonitoramento de aves do Cerrado. Para isso, ambos os parâmetros foram comparados entre áreas com diferentes níveis de urbanização, poluição e condições ambientais, tanto em aves silvestres nativas quanto em canários-belga de forma experimental.

A tese foi estruturada em três capítulos, no formato de artigos científicos, visando publicações em periódicos. O primeiro capítulo é intitulado “**Efeitos da urbanização e poluição na razão heterófilo/linfócito em aves de fragmentos florestais do Cerrado**”, no qual o objetivo foi comparar a razão H/L de aves capturadas em fragmentos florestais com diferentes níveis de urbanização e estressores antropogênicos (poluentes atmosféricos e sonoros). A hipótese testada foi que aves capturadas em áreas de maior impacto antrópico (urbanização e poluição) apresentam maiores valores da razão H/L. Este capítulo encontra-se publicado em um periódico científico internacional indexado (**Environmental Science and Pollution Research** – Qualis A2, Fator de impacto JCR: 4,306):

- ✓ RIBEIRO, P. V. A. *et al.* Effects of urbanisation and pollution on the heterophil/lymphocyte ratio in birds from Brazilian Cerrado. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 40204–40212, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19037-w>

O segundo capítulo é intitulado “**Efeitos da urbanização e de recursos hídricos nas infecções por hemsporídeos em aves de fragmentos florestais do Cerrado**”, no qual os objetivos foram analisar a prevalência e parasitemia de hemsporídeos entre áreas com diferentes localizações (rurais, periurbanas e urbanas) e condições ambientais (quantidade de recursos hídricos); associar a parasitemia com a razão H/L. As hipóteses testadas foram: a parasitemia é maior nas áreas com maiores reservas de água, considerando que tais ambientes podem proporcionar mais recursos para os vetores dos parasitos se desenvolverem; a parasitemia correlaciona-se com a razão H/L, indicando que aves parasitadas apresentam maior estresse.

O terceiro capítulo é intitulado “**Efeitos da urbanização e poluição nas infecções por *Plasmodium* e na razão heterófilo/linfócito de canários-belga (*Serinus canaria*)**”, no qual os objetivos foram comparar a razão H/L e infecções por *Plasmodium* ao longo de 120 dias em dois grupos de canário-belga mantidos em gaiolas; um no centro urbano de Uberlândia, e outro em uma área rural e distante da urbanização. As hipóteses testadas foram: canários urbanos apresentam maior razão H/L, sugerindo maior estresse devido à poluição da cidade, enquanto para os canários rurais é esperada maior prevalência e parasitemia de *Plasmodium*, considerando que habitats rurais podem proporcionar melhores condições para reprodução dos vetores.

**SUMÁRIO**

RESUMO	1
ABSTRACT	2

**CAPÍTULO 1: EFEITOS DA URBANIZAÇÃO E POLUIÇÃO NA RAZÃO  
HETERÓFILO/LINFÓCITO EM AVES DE FRAGMENTOS FLORESTAIS DO  
CERRADO**

RESUMO	3
RESUMO	4
ABSTRACT	5
INTRODUÇÃO	6
MATERIAIS E MÉTODOS	9
RESULTADOS	13
DISCUSSÃO	17
CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	20
TABELA SUPLEMENTAR 1	26
ANEXO 1	28

**CAPÍTULO 2: EFEITOS DA URBANIZAÇÃO E DE RECURSOS HÍDRICOS  
NAS INFECÇÕES POR HEMOSPORÍDEOS EM AVES DE FRAGMENTOS  
FLORESTAIS DO CERRADO**

RESUMO	29
RESUMO	30
ABSTRACT	31
INTRODUÇÃO	32
MATERIAIS E MÉTODOS	35
RESULTADOS	38
DISCUSSÃO	48
CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

<b>CAPÍTULO 3: EFEITOS DA URBANIZAÇÃO E POLUIÇÃO NAS INFECÇÕES POR <i>PLASMODIUM</i> E NA RAZÃO HETERÓFILO/LINFÓCITO DE CANÁRIOS-BELGA (<i>Serinus canaria</i>)</b>	62
RESUMO	63
ABSTRACT	64
INTRODUÇÃO	65
MATERIAIS E MÉTODOS	68
RESULTADOS	71
DISCUSSÃO	74
CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS	78
ANEXO 1	84
CONSIDERAÇÕES FINAIS	85

## RESUMO

Ribeiro, Paulo Vitor Alves. Hemoparasitismo e razão heterófilo/linfócito no biomonitoramento de aves do Cerrado. Tese de Doutorado em Ecologia, Conservação e Biodiversidade. UFU. Uberlândia, MG. 98f. 2022.

Organismos que vivenciam fatores estressores e sofrem alterações morfofisiológicas e comportamentais são denominados biomonitores. As aves são organismos modelos para estudos de biomonitoramento por serem sensíveis às alterações ambientais. Neste estudo, foram utilizadas a razão heterófilo/linfócito (H/L - indicativo de estresse crônico), prevalência e parasitemia de hemoparasitos como ferramentas de biomonitoramento em aves do Cerrado. O objetivo foi comparar a razão H/L e o hemoparasitismo de aves entre áreas com diferentes níveis de urbanização e condições ambientais. Foram capturadas 1288 aves (41 espécies) em seis fragmentos florestais de Cerrado, entre 2013-2019, para confecção e análise de extensões sanguíneas. Os fragmentos florestais foram classificados em: rurais, periurbanos, e urbanos, e em cada fragmento foi mensurado os níveis de poluentes sonoros (ruídos antrópicos) e atmosféricos (monóxido de carbono), e foi calculada a área ocupada por recursos hídricos em um raio de 1 km<sup>2</sup>. Verificou-se maior razão H/L em aves capturadas em áreas urbanas e periurbanas e com níveis elevados de poluentes sonoros e atmosféricos, e menor razão H/L nos indivíduos de áreas rurais e com baixos níveis de poluentes. Ao todo, 519 (40,2%) indivíduos apresentaram-se infectados por hemosporídeos, sendo 516 (40%) por *Plasmodium* spp. e 13 (1,0%) por *Haemoproteus* spp. A parasitemia não se associou ao nível de urbanização, porém diferiu entre os seis fragmentos florestais, sendo maior naqueles onde há maior quantidade de recursos hídricos. Também foram realizados testes experimentais com canários-belga (*Serinus canaria*). Os canários foram divididos em dois grupos; um mantido em um centro urbano (n=20), e outro em uma área rural e distante da urbanização (n=20). Em ambas as localidades foram mensurados os níveis de poluentes atmosféricos; monóxido de carbono e material particulado. O experimento durou 120 dias e a cada 15 dias foram feitas coletas e extensões sanguíneas. A razão H/L foi maior nos canários da área urbana e mais poluída, e aumentou com tempo de experimento. As infecções por hemosporídeos (*Plasmodium* spp.) foram maiores nos canários do ambiente rural, com prevalência média de 57,1% nos canários rurais e 1,11% nos urbanos. A parasitemia correlacionou negativamente com a razão H/L tanto nas aves nativas quanto nos canários, sugerindo que os indivíduos podem estar imunologicamente ativos. O estudo mostrou que as aves que vivem em áreas urbanizadas e poluídas apresentam maiores indicativos de estresse (razão H/L), e que os parasitos hemosporídeos são favorecidos em áreas que podem oferecer mais recursos para a reprodução e desenvolvimento dos vetores. Esses resultados sugerem que a razão H/L e os parasitos hemosporídeos podem ser utilizados como ferramentas de biomonitoramento ambiental e como parâmetros para avaliar as condições das aves de ambientes degradados.

**Palavras-chave:** Urbanização, poluição, estresse, leucócitos, malária aviária.

## ABSTRACT

Ribeiro, Paulo Vitor Alves. Hemoparasitism and heterophil/lymphocyte ratio as biomonitoring tools in birds from Brazilian Cerrado. PhD. Thesis. UFU. Uberlândia, MG. 98p. 2018.

Organisms that experience stressors and undergo morphophysiological and behavioral changes are called biomonitors. Birds are model organisms for biomonitoring studies because they are sensitive to environmental changes. In this study, the heterophil/lymphocyte ratio (H/L - indicative of chronic stress), prevalence and parasitaemia of hemoparasites were used as biomonitoring tools in Cerrado birds. The objective of this study was to compare the H/L ratio and hemoparasitism of birds between areas with different levels of urbanization and environmental conditions. A total of 1288 birds (41 species) were captured in six Cerrado forest fragments, between 2013-2019, for the production and analysis of blood smears. The forest fragments were classified into rural, peri-urban, and urban, and in each one the levels of noise (anthropic noise) and atmospheric (carbon monoxide) pollutants were measured, and the size of the area occupied by water resources was also calculated in a radius of 1 km<sup>2</sup>. There was a higher H/L ratio in birds captured in urban and peri-urban areas and with high levels of noise and air pollutants, and a lower H/L ratio in individuals from rural areas and with low levels of pollutants. Altogether, 519 (40.2%) individuals were infected with haemosporidian parasites, 516 (40%) with *Plasmodium* spp. and 13 (1.0%) by *Haemoproteus* spp. Parasitaemia was not associated with the level of urbanization, but it differed among the six forest fragments, being higher in those where there is a greater amount of water resources. Experimental tests were also carried out with domestic canaries (*Serinus canaria*). The canaries were divided into two groups; one kept in an urban center (n=20), and another in a rural area far from urbanization (n=20). In both locations, the levels of atmospheric pollutants were measured, carbon monoxide and particulate matter. The experiment lasted 120 days and every 15 days blood collections were made. The H/L ratio was higher in canaries from the urban and more polluted area and increased with time of experiment. Infections by haemosporidian parasites (*Plasmodium* spp.) were higher in rural canaries, with an average prevalence of 57.1% in rural and 1.11% in urban canaries. Parasitemia was negatively correlated with the H/L ratio in both native birds and canaries, suggesting that individuals may be immunologically active. This study showed that birds that live in urbanized and polluted areas have higher stress indicators (H/L ratio) and that haemosporidian parasites are favored in areas that can offer more resources for vector reproduction and development. These results suggest that the H/L ratio and hemospomid parasites can be used as tools for environmental biomonitoring and as parameters to assess the conditions of birds in degraded environments.

**Keywords:** Urbanization, pollution, stress, leukocytes, avian malaria.

## CAPÍTULO 1

### Efeitos da urbanização e poluição na razão heterófilo/linfócito em aves de fragmentos florestais do Cerrado<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Este capítulo encontra-se publicado no formato de artigo científico em um período internacional indexado (Qualis A2, Fator de impacto JCR: 4,306):

RIBEIRO, P. V. A. *et al.* Effects of urbanisation and pollution on the heterophil/lymphocyte ratio in birds from Brazilian Cerrado. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 40204–40212, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19037-w> (Anexo 01).

## RESUMO

Agentes estressores podem causar alterações morfofisiológicas e comportamentais em diversos animais, incluindo as aves, que são bons modelos de estudo para biomonitoramento ambiental. A razão heterófilo/linfócito (H/L) é um indicador eficiente de estresses crônicos em aves. O objetivo do estudo foi comparar a razão H/L de aves entre áreas com diferentes níveis de urbanização, ruídos antrópicos e taxas de emissão de monóxido de carbono (CO). Foram capturadas 1288 aves em seis fragmentos florestais de Cerrado, entre 2013-2019, para realização e análise de extensões sanguíneas. Em cada fragmento foi mensurado o nível de ruídos com um medidor de nível de pressão sonora. As taxas de CO foram obtidas no banco de dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). Verificou-se maior razão H/L em indivíduos capturados em áreas urbanas ou próximas a urbanização e com níveis elevados de ruídos antrópicos e CO, e menor razão H/L nos indivíduos de áreas preservadas, distantes de ambientes urbanos e com baixos níveis de ruídos e CO. Seis espécies (*Antilophia galeata*, *Leoptopogon amaurocephalus*, *Cnemotriccus fuscatus*, *Lathrotriccus euleri*, *Turdus leucomelas*, *Eucometis penicillata*) apresentaram diferença significativa entre as áreas e seguiram o padrão exibido pelos indivíduos. O presente estudo mostrou que as aves que vivem em áreas urbanas e periurbanas apresentam valores mais elevados da razão H/L do que as aves de áreas rurais. Esses resultados sugerem que a razão H/L pode ser utilizada como uma ferramenta de biomonitoramento ambiental e como um parâmetro eficiente para avaliar o estresse crônico em aves de ambientes degradados.

**Palavras-chave:** biomonitoramento, leucócitos, células sanguíneas, estresse, ruídos antrópicos, monóxido de carbono.



## ABSTRACT

Stressing agents can cause morphophysiological and behavioural changes in several animals, including birds, which are good study models for environmental biomonitoring. The heterophile/lymphocyte ratio (H/L) is an efficient indicator of chronic stresses in birds. In this study, we aimed to compare the H/L ratio of birds between areas with different levels of urbanisation, anthropogenic noise and carbon monoxide (CO) emission rates. A total of 1,288 birds were captured in six Cerrado forest fragments between 2013-2019, from which we took blood samples to produce blood smears. In each of these fragments, the noise level was measured with a sound pressure level meter. The CO rates were obtained from the National Institute for Space Research database (INPE-Brazil). There was a higher H/L ratio in individuals captured in urban areas or close to urbanisation with high anthropogenic noise levels and high CO rates, and a lower H/L ratio in individuals from preserved areas, far from urban environments with low noise levels and low CO rates. Six species (*Antilophia galeata*, *Leoptopogon amaurocephalus*, *Cnemotriccus fuscatus*, *Lathrotriccus euleri*, *Turdus leucomelas*, *Eucometis penicillata*) showed a significant difference between the areas and followed the pattern shown by the individuals. The present study showed that birds living in the urban and peri-urban sites have higher values of H/L ratio than birds from rural sites. These results suggest that the H/L ratio can be used as an environmental biomonitoring tool and an efficient parameter to assess chronic stress in birds in degraded environments.

**Keywords:** biomonitoring, leukocytes, white blood cells, stress, anthropogenic noises, carbon monoxide.

## INTRODUÇÃO

Estresses abióticos e bióticos exercem influências naturais nos organismos, nas populações e nos ecossistemas (MARKERT et al., 2003). Alterações antrópicas como a fragmentação de hábitat e a urbanização podem potencializar estes estresses e introduzirem agentes estressores não naturais, como poluentes (BAUEROVA et al., 2017; MEISSNER et al., 2020). Os organismos que respondem a estes estresses por meio de modificações morfológicas, fisiológicas ou comportamentais são denominados biomonitores (FRÄNZLE, 2003; MARKERT et al., 2003). As aves são consideradas organismos modelos para estudos de biomonitoramento ambiental devido a várias características biológicas e ecológicas. Por exemplo, durante o voo, as aves entram em contato com gases ou partículas em suspensão (BROWN et al., 1997; BAESSE et al. 2015, 2019), e seu sistema respiratório pode ser via de entrada para xenobióticos (BODZIACH et al., 2021). Além disso, espécies de aves pertencentes aos mais altos níveis tróficos podem ser consideradas organismos bioacumuladores (KELLER et al., 2014; RUUS et al., 2015), pois podem acumular níveis elevados de poluentes em seus tecidos que podem induzir alterações fisiológicas (CID et al., 2018). Além disso, muitas espécies de aves são altamente sensíveis a ruídos antropogênicos, que podem afetar comunidades de aves em locais próximos a populações humanas (TOLENTINO et al., 2018). No entanto, as aves que permanecem nas cidades podem adaptar seu comportamento a essas condições específicas (ISAKSSON, 2018).

Dentre os parâmetros indicadores de estresse em aves, destaca-se a análise do perfil leucocitário, que consiste na identificação e quantificação das células sanguíneas do sistema imunológico, os leucócitos (GROSS; SIEGEL, 1983; DAVIS et al., 2008; RIBEIRO et al., 2020) As aves apresentam cinco principais tipos de leucócitos: linfócitos, heterófilos, eosinófilos, basófilos e monócitos. As células predominantes são os heterófilos e linfócitos, pois juntos compõem mais de 80% dos leucócitos das aves (DAVIS et al., 2008). Os heterófilos desempenham funções relacionadas à imunidade inata (a primeira linha de defesa imune), por

meio de fagocitoses durante respostas inflamatórias. Os linfócitos atuam principalmente na imunidade adaptativa (adquirida), produzem anticorpos e respostas específicas a patógenos (MINIAS, 2019). A presença e quantidade destas células no sangue são diretamente influenciadas pelos níveis circulantes dos hormônios do estresse (glicocorticoides). Em resposta aos hormônios, os linfócitos circulantes aderem às células endoteliais e migram para tecidos e órgãos, e em contrapartida, os hormônios estimulam maior liberação de heterófilos da medula óssea para a circulação sanguínea (DAVIS et al., 2008). Este cenário gera um aumento de heterófilos (heterofilia) em relação aos linfócitos (linfopenia), resultando no aumento da razão entre ambos, denominada de razão H/L. Desta forma, valores elevados da razão H/L indicam maior estresse. Este ajuste no perfil leucocitário pode ser considerado uma estratégia adaptativa de história de vida, pois o aumento de células fagocíticas (heterófilos) ajuda o organismo a combater infecções de lesões imediatas (ataque de predadores, por exemplo), enquanto a diminuição dos linfócitos circulantes evita o uso desnecessário de recursos relacionados à imunidade adaptativa, que é mais elaborada e específica (GOESSLING et al., 2015).

A razão H/L pode ser considerada mais vantajosa para biomonitoramento do que a quantificação dos níveis plasmáticos de corticosterona (principal hormônio do estresse em aves). A captura e coleta de sangue são considerados fatores estressores e elevam os níveis hormonais dentro de poucos minutos, enquanto as razões H/L permanecem baixas por 30-60 minutos ou até mais, após contato com agente estressor (DAVIS; MANEY, 2018). Outra vantagem é que a análise dos leucócitos requer pouco volume de sangue (5,0 $\mu$ l), o que permite o exame de espécies de aves pequenas (DAVIS et al., 2008). Além disso, a resposta dos leucócitos aos estressores de longo prazo persiste por períodos relativamente longos, enquanto a resposta da corticosterona tende a diminuir com o tempo, sendo um padrão verificado em várias espécies (GOESSLING et al., 2015; DAVIS; MANEY, 2018). Desta forma, a corticosterona é indicada para mensurar estresses agudos e a razão H/L para estresses crônicos.

Estressores de origem antropogênica têm sido associados à razão H/L em diferentes espécies aviárias. Tal fato confirma que a ação humana causa estresses crônicos nestes organismos. Vários estudos têm demonstrado que a razão H/L aumenta em aves expostas à mineração (DEIKUMAH et al., 2015), urbanização, poluição química por metais pesados (BAUEROVÁ et al., 2017, 2020; CID et al., 2018; MEISSNER et al., 2020) e poluição sonora por ruídos antrópicos (CAMPO et al., 2005; BEDANOVA et al., 2010). Assim, a razão H/L pode ser usada como um parâmetro de estimativa da qualidade ambiental, e possivelmente aplicada em estudos de conservação da biodiversidade.

Embora o uso da razão H/L seja amplamente difundido, poucos estudos aplicaram tal ferramenta para avaliar o efeito de estressores antropogênicos em aves neotropicais (CARBORAMIREZ; ZURIA, 2017; CAVALLI et al., 2018). A urbanização e a fragmentação de habitat têm sido crescentes na região neotropical, o que torna fundamental o estudo de indicadores de estresses crônicos, uma vez que a exposição prolongada a estressores pode causar danos nos organismos, como a inibição do crescimento e das funções imunes e reprodutivas (WINGFIELD; SAPOLSKY, 2003). Desta forma, o objetivo do presente estudo é: comparar a razão H/L de aves capturadas em fragmentos florestais com diferentes níveis de urbanização e estressores antropogênicos (poluentes atmosféricos e sonoros). Além disso, a hipótese a ser testada é que aves capturadas em áreas de maior impacto antrópico (urbanização e poluição) apresentam maiores valores da razão H/L.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Áreas de estudo

O estudo foi realizado em seis fragmentos florestais em três municípios do estado de Minas Gerais, Brasil (Fig. 1). Os fragmentos estão inseridos no bioma Cerrado e apresentam floresta estacional semidecidual e mata de galeria como fitofisionomias predominantes. O clima é do tipo Aw segundo a classificação climática de Köppen, com estação seca (abril-setembro) e chuvosa (outubro-março). A pluviosidade anual é de aproximadamente 1.500 mm e a temperatura média é de 22°C (PETRUCCI; OLIVEIRA, 2019). Todos os fragmentos florestais estudados diferem em localização, tamanho, distância da borda da cidade mais próxima e níveis de perturbação antrópica (Tabela 1). Os fragmentos florestais Água Fria e Galheiro estão localizados nas zonas rurais dos municípios de Araguari e Perdizes, respectivamente. Os demais fragmentos estão localizados no município de Uberlândia, sendo dois em zonas periurbanas (Glória e São José), e os outros dois em parques urbanos (Parque do Sabiá e Parque Siquierolli).

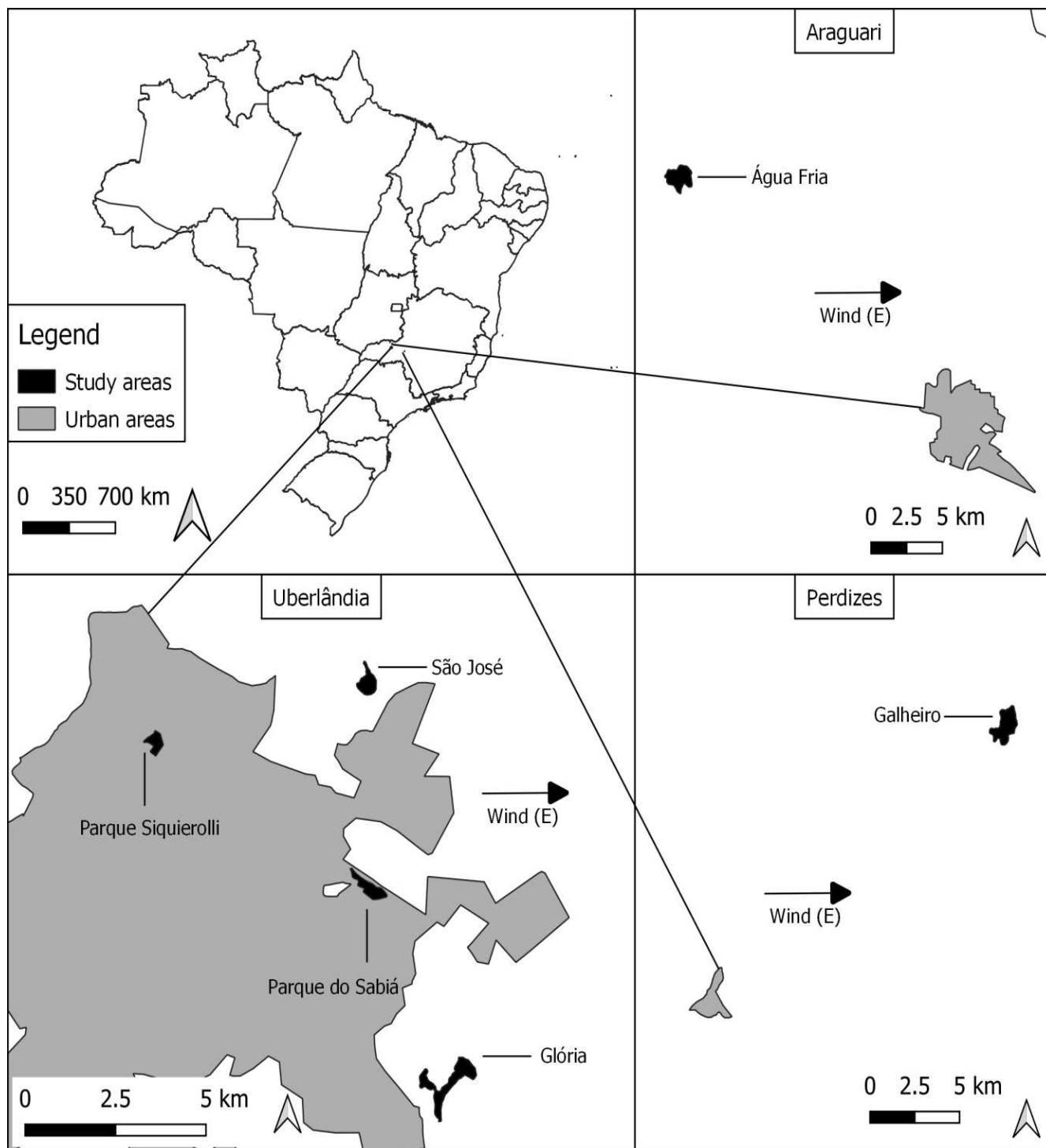
Para estimar a perturbação antrópica exercida nas áreas de estudo foram avaliados o nível de ruídos antrópicos e a qualidade do ar. Os dados de ruídos foram obtidos no estudo de Tolentino (2019), sendo os ruídos mensurados em todas as áreas no mesmo período de captura das aves, e se obteve as médias em decibéis (dB) (Tabela 1). Utilizou-se um medidor de Nível de Pressão Sonora (NPS) calibrado (modelo Instrutherm DEC-490) e configurado com amplitude medida em dBA e resposta rápida (uma medida por segundo) com variação de ruído entre 30 e 80 dB. Para aferir os ruídos, o medidor de NPS foi posicionado a 1,5 m do chão e apontado para cima durante 1 minuto a cada hora (06:00-11:00h) percorrendo transectos de aproximadamente 1 km em cada área (TOLENTINO, 2019).

A qualidade do ar foi estimada a partir das taxas de emissão do poluente atmosférico monóxido de carbono (CO) nas áreas de estudo. As taxas foram medidas em partes por bilhão (ppb) e obtidas no banco de dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) por

meio do sistema de monitoramento CATT-BRAMS *online* 3D (INPE, 2020). Os fragmentos foram classificados de acordo com Gonçalves et al. (2020) em uma escala de 1 a 3, sendo 1 equivalente a boa qualidade do ar (0 a 250 ppb); 2 como moderada (250 a 500 ppb); e 3 como ruim (500 a 750 ppb) (Tabela 1). Esses dados foram coletados em 2020, porém podem ser usados como parâmetro das condições da qualidade do ar durante o período de capturas das aves, pois o entorno das áreas não sofreu alterações drásticas nos últimos anos (GONÇALVES et al., 2020; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2020).

**Tabela 1.** Características e localização das áreas de estudo. O tamanho foi medido em hectares (ha), distância em quilômetros (km), níveis de ruído antrópico em decibéis (dB) e a qualidade do ar em partes por bilhão (ppb) de emissões de monóxido de carbono (CO).

Áreas de estudo	Zona de localização das áreas	Coordenadas geográficas	Tamanho das áreas	Distância da cidade mais próxima	Níveis de ruídos antrópicos	Qualidade do ar (INPE)
Água Fria	Rural	18°29' S; 48°23' O	200 ha	26,3 km	37,66 dB	1 (0 – 250 ppb)
Galheiro	Rural	19°14' S; 47°08' O	260 ha	19,75 km	35,66 dB	1 (0 – 250 ppb)
Glória	Periurbana	18°57' S; 48°12' O	30 ha	0,92 km	42,08 dB	2 (250 – 500 ppb)
São José	Periurbana	18°51' S; 48°13' O	20 ha	0,73 km	42,61 dB	2 (250 – 500 ppb)
Parque do Sabiá	Urbana	18°55' S; 48°17' O	30 ha	0 km	49,89 dB	3 (500 – 750 ppb)
Parque Siquierolli	Urbana	18°52' S; 48°17' O	23 ha	0 km	49,51dB	3 (500 – 750 ppb)



**Figura 1.** Mapa indicando a localização das áreas de estudo (preto), em relação às áreas urbanas (cinza). O município de Uberlândia possui quatro áreas de estudo, duas urbanas (Parque do Sabiá e Parque Siquierolli) e duas periurbanas (Glória e São José). Os municípios de Araguari e Perdizes possuem as duas áreas rurais (Água Fria e Galheiro) (Fonte: RIBEIRO et al., 2022).

## Coleta de dados

No período de 2013 a 2019 foram realizadas 48 campanhas de campo, oito em cada área, sendo quatro em estações secas (Abril-Setembro) e quatro em estações chuvosas (Outubro-Março), com duração de cinco dias cada. Para capturar as aves foram utilizadas 20 redes de neblina (12m x 3m de altura), expostas em trilhas entre 06h30min e 17h00min. As redes foram conferidas em intervalos de aproximadamente 30 minutos. Quando havia aves capturadas, essas eram retiradas e acomodadas em sacos de tecido para serem encaminhadas imediatamente para identificação, marcação e coleta de sangue. Todos os indivíduos foram identificados em nível de espécie de acordo com Sigrist (2009) e Gwynne et al. (2010) e marcados com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisa para a Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE/ICMBio - Autorização: 3730 - Registro: 359076). A nomenclatura e ordem taxonômica das espécies seguiram as normas propostas pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (PIACENTINI et al., 2015).

Foram coletadas amostras de sangue (5,0 $\mu$ l) com auxílio de agulhas descartáveis (8mm x 0,3mm) por meio de uma punção na veia tarsal das aves (SISBIO/ICMBio - Autorização: 44901; CEUA/UFU – Autorização: 038/18). O sangue foi diretamente gotejado sobre uma lâmina de microscopia. Com o auxílio de uma segunda lâmina em inclinação de aproximadamente 45° foi feita a extensão sanguínea (duas por indivíduo). As extensões foram fixadas com metanol absoluto e coradas com solução de Giemsa (5%) e tampão fosfato (BAESSE et al., 2019). As análises foram realizadas em microscópio óptico, com objetiva de 100x, utilizando óleo de imersão e com a observação de 200 campos microscópicos por indivíduo. Os leucócitos foram identificados e quantificados de acordo com as descrições de Clark et al. (2009) e Campbell (2015) fornecidas nos respectivos atlas de hematologia aviária. A razão H/L foi calculada a partir da divisão entre o número de heterófilos por linfócitos.



## **Análises estatísticas**

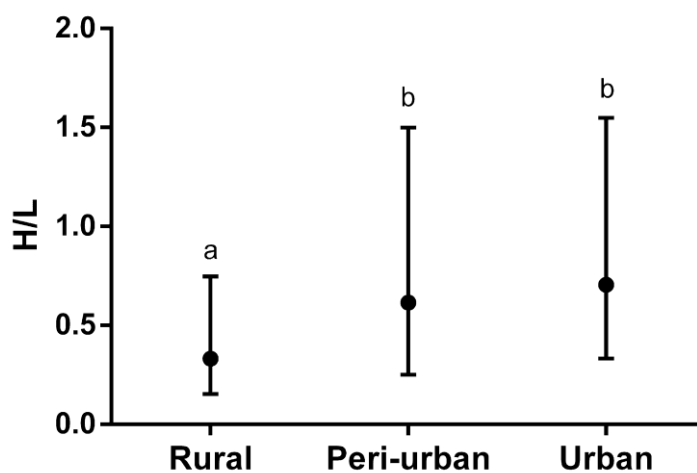
Para verificar se houve diferença na razão H/L dos indivíduos e das espécies entre os tipos de áreas (rural, periurbana e urbana), foram realizados testes não paramétricos de Kruskal-Wallis, seguidos de testes de comparações múltiplas de Dunn. Também foram feitas correlações de Pearson entre as médias da razão H/L de cada fragmento florestal com o nível de ruído antrópico e com as taxas de monóxido de carbono. Apenas as espécies que estiveram presentes simultaneamente nos três tipos de áreas com número amostral (n) igual ou superior a cinco indivíduos foram analisadas estatisticamente. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism 6.0 e conduzidas a um nível de significância de  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

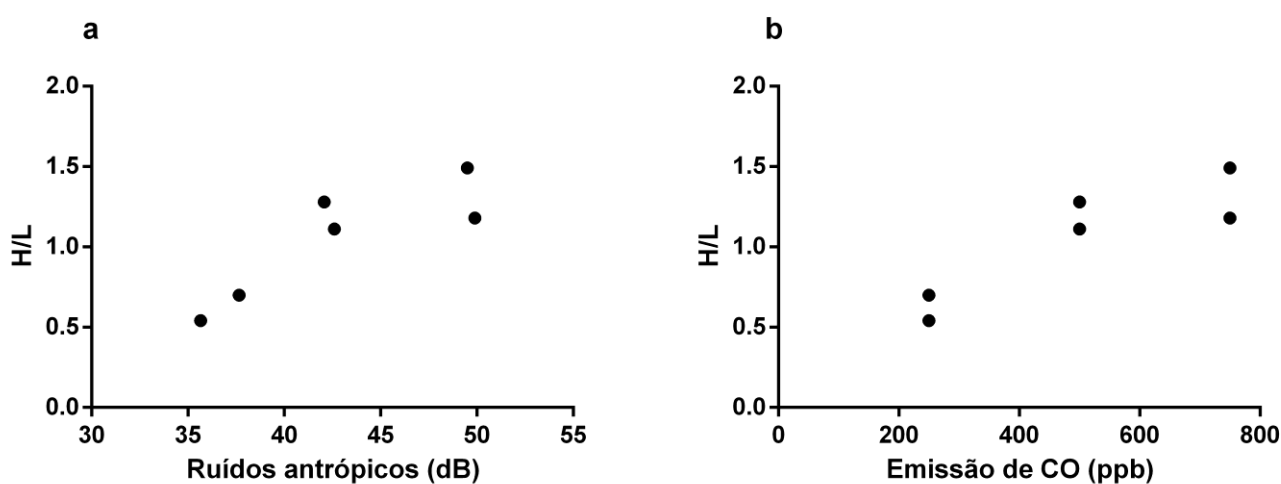
Foram examinados 1.288 indivíduos (41 espécies) e analisadas 2.576 extensões sanguíneas. Houve diferença significativa nas razões H/L dos indivíduos entre os tipos de áreas (Kruskal-Wallis:  $H = 87,47$ ;  $p < 0,0001$ ; Fig. 2), sendo que as áreas rurais apresentaram os menores valores da razão H/L, enquanto as áreas periurbanas e urbanas apresentaram os maiores valores. Além disso, as médias das razões H/L correlacionaram-se positivamente com os níveis de ruído antropogênico (correlação de Pearson:  $r = 0,861$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,027$ , Fig. 3a) e com as taxas de emissão de CO (correlação de Pearson:  $r = 0,887$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,018$ , Fig. 3b) em fragmentos florestais.

Um total de 41 espécies de aves (16 famílias) foram examinadas (ver Tabela Suplementar 1), mas apenas nove estavam presentes simultaneamente nos três tipos de área e com número de amostras suficiente para teste. Seis espécies (*Antilophia galeata*, *Leoptopogon amaurocephalus*, *Cnemotriccus fuscatus*, *Lathrotriccus euleri*, *Turdus leucomelas* e *Eucometis penicillata*) apresentaram diferenças significativas na razão H/L entre as áreas, todas com os

menores valores da razão nas áreas rurais e com os valores mais elevados nas áreas urbanas ou periurbanas (Tabela 2, Fig. 4)



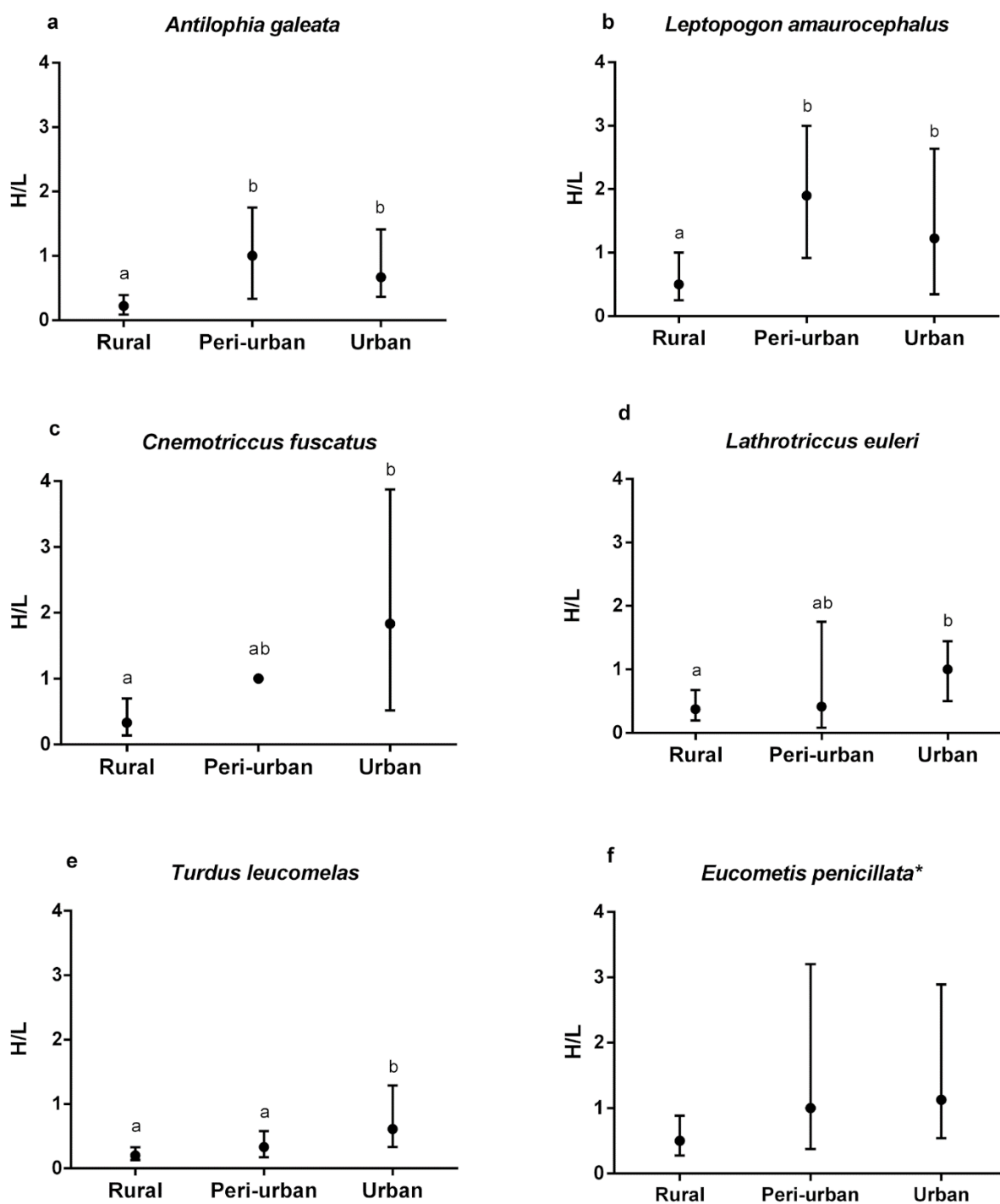
**Figura 2.** Diferenças gerais na razão H/L de todos os indivíduos examinados entre as áreas de estudo. Os círculos pretos representam as medianas e as barras representam os intervalos interquartis. As letras minúsculas acima das barras representam as diferenças estatísticas entre as áreas.



**Figura 3.** Correlações das médias das razões H/L com agentes estressores de origem antropogênica: níveis de ruídos antrópicos, medidos em decibéis (dB) (a) e taxas de emissão de monóxido de carbono (CO), medidas em partes por bilhão (ppb) (b).

**Tabela 2.** Médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) das razões H/L das espécies que estiveram presentes simultaneamente nos três tipos de áreas (rural, periurbana e urbana) com número amostral (n) igual ou acima de cinco indivíduos. As razões H/L foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis (H) seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn, ambos com probabilidade de significância ( $p$ ) < 0,05 (valores significativos estão destacados em negrito). Comparações múltiplas: R-P (Rural comparada com Periurbana), R-U (Rural comparada com Urbana), P-U (Periurbana comparada com Urbana). \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$ , ns = não significativo.

Espécies	Rural $\bar{X} \pm DP$ (n)	Periurbana $\bar{X} \pm DP$ (n)	Urbana $\bar{X} \pm DP$ (n)	Teste de Kruskal-Wallis		Teste de Comparações Múltiplas de Dunn		
				H	$p$	R-P	R-U	P-U
<i>Antilophia galeata</i>	0,48 ± 0,90 (49)	1,47 ± 1,90 (127)	0,90 ± 0,71 (21)	31,22	<b>&lt; 0,0001</b>	***	**	ns
<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	0,54 ± 0,35 (30)	2,15 ± 1,90 (15)	1,60 ± 1,52 (20)	14,31	<b>0,0008</b>	**	*	ns
<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	0,60 ± 0,73 (8)	1,22 ± 0,80 (7)	2,19 ± 1,71 (8)	7,18	<b>0,0275</b>	ns	*	ns
<i>Lathrotriccus euleri</i>	0,48 ± 0,39 (21)	0,90 ± 1,07 (8)	1,27 ± 0,91 (7)	6,55	<b>0,0378</b>	ns	*	ns
<i>Turdus leucomelas</i>	0,26 ± 0,15 (7)	0,51 ± 0,58 (27)	0,92 ± 0,87 (29)	9,77	<b>0,0075</b>	ns	*	*
<i>Basileuterus culicivorus</i>	0,61 ± 0,91 (44)	0,96 ± 0,96 (38)	0,95 ± 1,19 (5)	3,36	0,186	ns	ns	ns
<i>Myiothlypis flaveola</i>	0,52 ± 0,69 (48)	0,87 ± 1,15 (30)	0,93 ± 1,10 (17)	4,3	0,1164	ns	ns	ns
<i>Myiothlypis leucophrys</i>	0,75 ± 0,82 (12)	1,24 ± 1,17 (15)	0,38 ± 0,20 (6)	3,13	0,2085	ns	ns	ns
<i>Eucometis penicillata</i>	0,63 ± 0,48 (24)	1,76 ± 1,75 (31)	1,65 ± 1,40 (12)	6,45	<b>0,0396</b>	ns	ns	ns
Todos os indivíduos	0,61 ± 0,86 (496)	1,23 ± 1,62 (451)	1,31 ± 2,11 (354)	87,47	<b>&lt; 0,0001</b>	***	***	ns



**Figura 4.** Espécies em que a razão H/L diferiu entre os tipos de áreas (rural, periurbana e urbana). Círculos pretos representam as medianas e as barras representam os intervalos interquartis. As letras minúsculas acima das barras representam as diferenças estatísticas obtidas pelo teste de comparações múltiplas de Dunn. \*A espécie *Eucometis penicillata* (f) apresentou diferença estatística entre as áreas apenas pelo teste de Kruskal-Wallis.

## DISCUSSÃO

Foi verificado que aves capturadas em áreas com maior influência antrópica apresentam maiores valores da razão H/L, o que sugere que tais organismos estão sofrendo estresses de longa duração. Associações entre poluição e estresses crônicos foram relatadas anteriormente em diversos estudos, porém, a maioria relaciona razão H/L com poluição por metais pesados (BAUEROVÁ et al., 2017, 2020; CID et al. 2018; MEISSNER et al., 2020). Estima-se que o presente estudo seja o primeiro a associar razão H/L com poluição atmosférica por monóxido de carbono (CO), poluente que tende a se concentrar próximo de áreas urbanas devido aos gases liberados por veículos automotores e indústrias (GONÇALVES et al., 2020; SCHILDERMAN et al. 1997). Quanto à poluição sonora, poucos estudos relacionaram a razão H/L com ruídos antrópicos, e dentre estes, a maioria foi conduzida de forma experimental, evidenciando a necessidade de avaliar tais fatores em ambientes naturais (ZOLLINGER et al., 2019; WALTHERS; BARBER, 2020).

Houve diferença na razão H/L dos indivíduos entre os tipos de áreas. Os fragmentos florestais rurais apresentaram, significativamente, os menores valores da razão H/L. Ambos os fragmentos têm a qualidade do ar classificada como boa (0 – 250 ppb), e registraram os menores níveis de ruídos antrópicos (35.66 – 37.66 dB). São fragmentos florestais com pouca influência antrópica, pois estão distantes de cidades e rodovias, apresentam área relativamente grande (200 – 260 ha), sendo um deles (Galheiro), uma unidade de conservação ambiental (VALADÃO et al., 2013; BAESSE et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020). As áreas urbanas e periurbanas juntamente apresentaram os maiores valores da razão H/L. Os fragmentos florestais urbanos têm a qualidade do ar ruim (500 – 750 ppb), os maiores níveis de ruídos antrópicos (49.51 – 49.89 dB) e estão localizados em parques urbanos, os quais são circundados por bairros residenciais e rodovias, sendo que um deles (Parque Siquierolli) está relativamente próximo (1 km) ao distrito industrial de Uberlândia. Ambas as áreas urbanas apresentam fluxo constante

de pessoas caminhando pelas trilhas dos fragmentos, o que pode ser mais um fator de perturbação ambiental (REZENDE et al., 2012). As áreas periurbanas têm a qualidade do ar moderada (250 – 500 ppb), níveis de ruídos antrópicos medianos (42,08 – 42,61 dB) e estão próximas à urbanização, pois estão localizadas a cerca de 1 km de rodovias e da borda da cidade mais próxima (TOLENTINO, 2019). As diferenças observadas entre as áreas também podem ser explicadas pelas correlações encontradas entre as médias das razões H/L com os níveis de ruído antrópico e as taxas de emissão de CO. Verificou-se que a razão H/L dos indivíduos tende a aumentar à medida que as taxas de ruído e CO aumentam nos fragmentos florestais. Esses resultados sugerem que a urbanização e a poluição (sonora e atmosférica) sejam fatores estressores que levam a uma resposta fisiológica de longa duração (estresse crônico) nas aves.

No entanto, não houve diferença na razão H/L entre áreas urbanas e periurbanas. Isso indica que a proximidade do ambiente urbano pode expor as aves a determinados agentes estressores. Sabe-se que a direção do vento é considerada um fator importante na dispersão de poluentes (GONÇALVES et al., 2020). Os ventos em Uberlândia ocorrem principalmente nas direções nordeste (NE) e leste (E) (NICODEMOS et al., 2010). Este fator pode explicar o motivo das razões H/L dos indivíduos terem sido elevadas também nas áreas periurbanas, pois estas áreas estão localizadas ao leste da cidade, o que pode indicar uma chegada frequente de poluentes por meio dos ventos (BAESSE et al., 2019). Além disso, tanto as áreas urbanas quanto periurbanas são constituídas por fragmentos florestais pequenos (20 – 30 ha) o que pode potencializar o efeito de borda (SILVA et al., 2017; COSTA et al., 2019).

Diferenças significativas foram observadas na razão H/L em populações de seis espécies de aves (*Antilophia galeata*, *Leptopogon amaurocephalus*, *Cnemotriccus fuscatus*, *Lathrotriccus euleri*, *Turdus leucomelas* e *Eucometis penicillata*). Essas espécies seguiram o padrão apresentado pelos indivíduos, pois todas apresentaram os menores valores de razão H/L em áreas rurais, com boa qualidade do ar e com os menores níveis de ruído, indicando menor

estresse nessas áreas quando comparadas às áreas urbanas ou próximas à urbanização. As seis espécies compartilham várias semelhanças: são todas Passeriformes, alimentam-se principalmente de frutas e insetos, vivem nos estratos médios das florestas (CAPLLONCH; ZELAYA, 2006; LOPES et al., 2007; VOGEL et al., 2011; GAIOTTI; PINHO, 2013; GRILLI et al., 2016; PIRES; MELO, 2019), e são residentes (PIACENTINI et al., 2015; BAESSE, 2019), pois todas possuem certo grau de dependência florestal para sobreviver, sendo a maioria incapaz de se locomover em áreas abertas (SILVA, 1995). Portanto, essas espécies estão restritas aos fragmentos florestais de origem (SICK, 1997; BAESSE et al., 2019), o que as torna boas candidatas para biomonitoramento ambiental (BAESSE, 2019). No entanto, a razão H/L de três espécies (*Basileuterus culicivorus*, *Myiothlypis flaveola* e *Myiothlypis leucophrys*) não diferiu entre os tipos de áreas. Estas espécies são da mesma família (Parulidae). São espécies essencialmente insetívoras que vivem nos estratos inferiores das florestas e forrageiam no solo (MARINI; CAVALCANTI, 1993; SICK, 1997; LIMA; MANHÃES, 2009; BAESSE et al., 2015; GODOY; GABRIEL, 2019). Como resultado, essas espécies exploram microhabitats semelhantes e podem estar sujeitas às mesmas condições de estresse. Espécies que ocupam os estratos mais altos dos fragmentos florestais (e.g., *Antilophia galeata* pode forragear no dossel, ver Pires e Melo 2020) podem estar mais expostas a poluentes transportados pelo vento (GONÇALVES et al., 2020), enquanto espécies mais próximas ao solo podem ser menos impactadas, o que poderia explicar a semelhança na razão H/L das três espécies de Parulidae entre os tipos de áreas.

Estudos prévios conduzidos nas mesmas comunidades de aves também demonstraram respostas eficientes a estressores antropogênicos. Tolentino et al. (2018) verificaram que espécies amostradas em fragmentos florestais próximos a áreas urbanas apresentam vocalizações mais altas, possivelmente devido aos níveis elevados de ruídos antrópicos. Baesse et al. (2019) encontraram maior frequência de micronúcleos em aves capturadas em áreas com

maior influência humana. Gonçalves et al. (2020) registraram maior número de eritroplástídeos em populações de *A. galeata* de áreas associadas a urbanização. Micronúcleos e eritroplástídeos são anomalias eritrocitárias e ambas foram atribuídas possivelmente à poluição por monóxido de carbono (BAESSE et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020). A razão H/L seguiu o padrão destes estudos, pois tende a ser maior em áreas urbanizadas, com maior nível de ruídos antrópicos e de monóxido de carbono. Assim, o presente estudo contribuiu com mais uma ferramenta eficiente e útil para estimar a qualidade ambiental de fragmentos florestais e a influência da urbanização sobre a saúde das aves. Estudos futuros que associem a razão H/L com diferentes respostas a estressores, como as anomalias eritrocitárias serão importantes, pois poderão proporcionar uma visão mais abrangente das condições fisiológicas das aves.

## CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que a razão H/L é maior em aves capturadas em áreas urbanas ou próximas a urbanização e com níveis elevados de ruídos antrópicos e de monóxido de carbono, portanto, sugere-se que a razão H/L pode ser aplicada como uma ferramenta eficiente de biomonitoramento ambiental e como um parâmetro útil para avaliar o estresse crônico em aves de ambientes degradados.

## REFERÊNCIAS<sup>2</sup>

Baesse CQ, Tolentino VCM, Silva AM, Silva AA, Ferreira GÂ, Paniago LPM, Melo C (2015) Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. *Ecotoxicol Environ Saf* 115:223–228. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.024>

Baesse CQ, Tolentino VCM, Morelli S, Melo C (2019) Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments. *Ecotoxicol Environ Saf* 171:631–637. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.026>

---

<sup>2</sup> Referências formatadas de acordo com as normas do periódico científico “**Environmental Science and Pollution Research**”



Baesse CQ (2019) Análise de micronúcleos em aves como ferramenta de biomonitoramento do efeito da poluição em ambientes florestais e urbanos. PhD Thesis, Universidade Federal de Uberlândia. <https://doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2450>

Bauerová P, Vinklerová J, Hraníček J, Čorba V, Vojtek L, Svobodová J, Vinkler M (2017) Associations of urban environmental pollution with health-related physiological traits in a free-living bird species. *Sci Total Environ* 601:1556–1565. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.276>

Bauerová P, Krajzingrová T, Těšický M, Velová H, Hraníček JM, S, Albrecht T, Vinkler M, (2020) Longitudinally monitored lifetime changes in blood heavy metal concentrations and their health effects in urban birds. *Sci Total Environ* 723:138002. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138002>

Bedanova I, Chloupek J, Chloupek P, Knotkova Z, Voslarova E, Pistekova V, Vecerek V (2010) Responses of peripheral blood leukocytes to chronic intermittent noise exposure in broilers. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 123(5):186–191. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20496823/>. Accessed 20 Jan 2022

Bodziach K, Staniszewska M, Falkowska L, Nehring I, Ożarowska A, Zaniewicz G, Meissner W (2021) Gastrointestinal and respiratory exposure of water birds to endocrine disrupting phenolic compounds. *Sci Total Environ* 754:142435. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142435>

Brown RE, Brain JD, Wang N (1997) The avian respiratory system: a unique model for studies of respiratory toxicosis and for monitoring air quality. *Environ Health Perspect* 105(2):188–200. <https://doi.org/10.1289/ehp.97105188>

Campbell T (2015) Exotic animal hematology and cytology. John Wiley & Sons, New Jersey. <https://doi.org/10.1002/9781118993705>

Campo JL, Gil MG, Davila SG (2005) Effects of specific noise and music stimuli on stress and fear levels of laying hens of several breeds. *Appl Anim Behav Sci* 91(1):75–84. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.08.028>

Capllonch P, Zelaya P (2006) Sobre la distribución y migración de la Mosqueta parda (*Lathrotriccus euleri argentinus*) en Sudamérica. *Ornitología Neotropical* 17:501–513. <https://www.researchgate.net/publication/267413805>. Accessed 20 Jan 2022

Carbó-Ramírez P, Zuria I (2017) Leukocyte profile and body condition of the house finch (*Haemorrhous mexicanus*) in two sites with different levels of urbanization in Central Mexico. *Ornitología Neotropical* 28:1–10. <https://journals.sfu.ca/ornneo/index.php/ornneo/article/view/218>. Accessed 20 Jan 2022

Cavalli M, Baladrón AV, Isacch JP, D'Amico V, Bó MS (2018) Leukocyte profiles and body condition of free-living burrowing owls (*Athene cunicularia*) from rural and urban areas in the Argentinean Pampas. *Ornithol Res* 26:45–51. <https://doi.org/10.1007/BF03544414>

Cid FD, Fernández NC, Pérez-Chaca MV, Pardo R, Caviedes-Vidal E, Chediack JG (2018) House sparrow biomarkers as lead pollution bioindicators. Evaluation of dose and exposition length on hematological and oxidative stress parameters. *Ecotoxicol Environ Saf* 154:154–161. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.040>

Clark P, Boardman W, Raidal S (2009) *Atlas of clinical avian hematology*. John Wiley & Sons, New Jersey

Costa A, Galvão A, Gonçalves da Silva L (2019) Mata Atlântica brasileira: análise do efeito de borda em fragmentos florestais remanescentes de um hotspot para conservação da biodiversidade. *Revista de Geografia, Meio Ambiente e Ensino* 10(1):112–123. <http://rpem.unespar.edu.br/index.php/geomae/article/view/415/0>. Accessed 20 Jan 2022

Davis AK, Maney DL (2018) The use of glucocorticoid hormones or leucocyte profiles to measure stress in vertebrates: what's the difference? *Methods Ecol Evol* 9(6):1556–1568. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13020>

Davis AK, Maney DL, Maerz JC (2008) The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Funct Ecol* 22(5):760–772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

Deikumah JP, McAlpine CA, Maron M (2015) Matrix intensification affects body and physiological condition of tropical forest-dependent passerines. *PLoS ONE* 10(6):e0128521. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128521>

Fränze O (2003) Bioindicators and environmental stress assessment. In: Markert BA, Breure AM, Zeehmeister, HG (ed) *Trace metals and other contaminants in the environment*. Vol. 6. Elsevier Science, Oxford, pp 41–84. [https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80132-7](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80132-7)

Gaiotti MG, Pinho JB (2013) Diet of the fuscous flycatcher *Cnemotriccus fuscatus* (Wied, 1831)–Aves, Tyrannidae–in three habitats of the northern Pantanal, Mato Grosso, Brazil. *Braz J Biol* 73:841–845. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842013000400021>

Godoy FI, Gabriel V (2019) Provável híbrido entre *Myiothlypis flaveola* (Baird, 1865) e *M. leucophrys* (Pelzeln, 1868) (Passeriformes: Parulidae). *Boletim Do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais* 14(1):111–117. <https://boletimcn.museu-goeldi.br/bcnaturais/article/view/145>. Accessed 20 Jan 2022

Goessling JM, Kennedy H, Mendonça MT, Wilson AE (2015) A meta-analysis of plasma corticosterone and heterophil: lymphocyte ratios—is there conservation of physiological stress responses over time? *Funct Ecol* 29(9):1189–1196. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12442>

Gonçalves VF, Ribeiro PVA, Souza OCF, Pires LP, Baesse CQ, Paniago LPM, Toletino VCG, Melo C (2020) Effects of urban proximity and the occurrence of erythroplastids in *Antilophia galeata*. *Environ Sci Pollut Res* 27:44650–44655. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10057-y>

Grilli PG, Jensen RF, Navajas, SCE (2016) La expansión de la Mosqueta de Corona Parda *Leptopogon amaurocephalus* sobre el corredor del Río Uruguay. *Nuestras Aves* 61:30–32. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/115027>. Accessed 20 Jan 2022

- Gross WB, Siegel HS (1983) Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Dis* 27(4):972–979. <https://doi.org/10.2307/1590198>
- Gwynne JA, Ridgely RS, Argel M, Tudor G (2010) *Guia Aves do Brasil: Pantanal e Cerrado*. Horizonte Geográfico, São Paulo
- INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (2020) <http://meioambiente.cptec.inpe.br/index.php?lang=pt>. Accessed 26 May 2020
- Isaksson C (2018) Impact of urbanization on birds. In: Tietze D (ed) *Bird species. Fascinating Life Sciences*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-91689-7\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-91689-7_13)
- Keller RH, Xie L, Buchwalter DB, Franzreb KE, Simons TR (2014) Mercury bioaccumulation in Southern Appalachian birds, assessed through feather concentrations. *Ecotoxicology* 23(2):304–316. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1174-6>
- Lopes FM, Carvalho ST, Santos MPD (2007) Extensão de distribuição da pipira-da-taoca (*Eucometis penicillata*) para o estado do Piauí e leste do Maranhão, Brasil. *Atualidades Ornitológicas* 137:40–41. <https://www.researchgate.net/publication/290020641>. Accessed 20 Jan 2022
- Marini MA, Cavalcanti RB (1993) Habitat and foraging substrate use of three *Basileuterus* warblers from central Brazil. *Ornitologia Neotropical* 4(2):69–76. <https://sora.unm.edu/sites/default/files/journals/on/v004n02/p0069-p0076.pdf>. Accessed 20 Jan 2022
- Markert BA, Breure AM, Zechmeister HG (2003) Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. Markert BA, Breure AM, Zechmeister, HG (ed) *Trace Metals and other Contaminants in the Environment*. Vol. 6. Elsevier Science, Oxford, pp 3–39. [https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80131-5](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80131-5)
- Meissner W, Binkowski ŁJ, Barker J, Hahn A, Trzeciak M (2020) Relationship between blood lead levels and physiological stress in mute swans (*Cygnus olor*) in municipal beaches of the southern Baltic. *Sci Total Environ* 710:136292. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136292>
- Minias P (2019) Evolution of heterophil/lymphocyte ratios in response to ecological and life-history traits: a comparative analysis across the avian tree of life. *J Anim Ecol* 88(4):554–565. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12941>
- MMA - Ministério do Meio Ambiente (2020) [https://antigo.mma.gov.br/images/arquivo/80060/Diagnostico\\_Neade\\_de\\_Monitoramento\\_da\\_Qualidade\\_do\\_Ar.pdf](https://antigo.mma.gov.br/images/arquivo/80060/Diagnostico_Neade_de_Monitoramento_da_Qualidade_do_Ar.pdf) Accessed 23 March 2021
- Nicodemos RM, Assis AJ, Barrozo SMA (2010) Estudo sobre qualidade do ar na cidade de Uberlândia: análise da influência de variáveis. *Horizonte Científico* 4:1–25. <http://www.seer.ufu.br/index.php/horizontecientifico/article/view/4367>. Accessed 20 Jan 2022

Petrucci E, Oliveira LA (2019) Relações entre intensidade, duração e frequência das precipitações máximas de 24 horas e equação de chuvas intensas para a cidade de Uberlândia-MG. *Rev Bras Climatol* 25:337–354. <https://doi.org/10.5380/abclima.v25i0.57767>

Piacentini VQ et al (2015) Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee/Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Ornithol Res* 23(2):91–298. <https://doi.org/10.1007/BF03544294>

Pires LP, Melo C (2020) Individual–resource networks reveal distinct fruit preferences of selective individuals from a generalist population of the Helmeted Manakin. *Ibis* 162(3):713–722. <https://doi.org/10.1111/ibi.12794>

Rezende PS, Souza JDR, Silva GO, Ramos RR, Santos DG (2012) Qualidade ambiental em parques urbanos: levantamento e análises de aspectos positivos e negativos do Parque Municipal Victório Siquierolli-Uberlândia-MG. *Observatorium: Revista Eletrônica de Geografia* 4(10):53–73. <http://www.seer.ufu.br/index.php/Observatorium/article/view/45452>. Accessed 20 Jan 2022

Ribeiro PVA, Baesse CQ, Cury MC, Melo C (2020) Leukocyte profile of the helmeted manakin, *Antilophia galeata* (Passeriformes: Pipridae) in a Cerrado forest fragment. *Zoologia* 37:1–9. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e46441>

Ruus A, Øverjordet IB, Braaten HFV, Evenset A, Christensen G, Heimstad ES, Gabrielsen GW, Borgå K (2015) Methylmercury biomagnification in an Arctic pelagic food web. *Environ Toxicol Chem* 34(11):2636–2643. <https://doi.org/10.1002/etc.3143>

Schilderman PA, Hoogewerff JA, Van Schooten FJ, Maas LM, Moonen EJ, Van Os BJ, Van Wijnen JH, Kleinjans JC (1997) Possible relevance of pigeons as an indicator species for monitoring air pollution. *Environ Health Perspect* 105(3):322–330. <https://doi.org/10.1289/ehp.97105322>

Sick H (1997) *Ornitologia Brasileira*. Nova Fronteira, Rio de Janeiro

Sigrist T (2009) *Guia de campo Avis Brasilis - Avifauna Brasileira: Pranchas e mapas*. Avis Brasilis, São Paulo

Silva DP, Barbieri LR, Ferreira IJ, Ferreira JHD, Couto EVD (2017) Efeitos da fragmentação florestal no município de Japurá–Paraná. *Revista de Geografia, Meio Ambiente e Ensino* 8(3):186–195. <http://www.fecilcam.br/revista/index.php/geomae/article/view/1757>. Accessed 20 Jan 2022

Silva JMC (1995) Birds of the cerrado region, South America. *Steenstrupia* 21:69–92. <https://www.researchgate.net/publication/260591911>. Accessed 20 Jan 2022

Tolentino VCM, Baesse CQ, Melo C (2018) Dominant frequency of songs in tropical bird species is higher in sites with high noise pollution. *Environ Pollut* 235:983–992. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.045>

Tolentino VCM (2019) Bioacústica como ferramenta para estudo da influência do ruído antrópico nas aves. PhD Thesis, Universidade Federal de Uberlândia.  
<https://doi.org/10.14393/ufu.te.2019.1232>

Valadão RM, Franchin AG, Silva GBM, Pioli D, Júnior OM (2013) Riqueza e distribuição de Acciptriformes e Falconiformes em uma unidade de conservação no Triângulo Mineiro, MG, Brasil. *Ornithologia* 6:70–77.  
<http://ornithologia.cemave.gov.br/index.php/ornithologia/article/view/155>. Accessed 20 Jan 2022

Vogel HF, Zawadzki CH, Metri R (2011) Coexistência entre *Turdus leucomelas* Vieillot, 1818 e *Turdus rufiventris* Vieillot, 1818 (Aves: Passeriformes) em um fragmento urbano de floresta com araucárias, Sul do Brasil. *Biota Neotrop* 11:35–45.  
<https://doi.org/10.1590/S1676-06032011000300002>

Walthers AR, Barber CA (2020) Traffic noise as a potential stressor to offspring of an urban bird, the European Starling. *J Ornithol* 161:459–467. <https://doi.org/10.1007/s10336-019-01733-z>

Wingfield JC, Sapolsky RM (2003) Reproduction and resistance to stress: when and how. *J Neuroendocrinol* 15(8):711–724. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.01033.x>

Zollinger SA, Dorado-Correa A, Goymann W, Forstmeier W, Knief U, BastidasUrrutia AM, Brumm H (2019) Traffic noise exposure depresses plasma corticosterone and delays offspring growth in breeding zebra finches. *Conserv Physiol* 7:coz056.  
<https://doi.org/10.1093/conphys/coz056>

**TABELA SUPLEMENTAR 1.** Lista de todas as espécies de aves examinadas de acordo com as médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) das razões H/L, e o número de indivíduos amostrados (n) nos três tipos de áreas (rural, periurbana e urbana).

<b>Famílias</b> <i>Espécies</i>	<b>Rural</b> $\bar{X} \pm \text{DP}$ (n)	<b>Periurbana</b> $\bar{X} \pm \text{DP}$ (n)	<b>Urbana</b> $\bar{X} \pm \text{DP}$ (n)	<b>Total</b> $\bar{X} \pm \text{DP}$ (n)
<b>Galbulidae</b>				
<i>Galbula ruficauda</i>	4,5 (1)	0,77 $\pm$ 0,17 (2)	0,90 $\pm$ 0,83 (12)	1,12 $\pm$ 1,19 (15)
<b>Bucconidae</b>				
<i>Nonnula rubecula</i>	0,36 $\pm$ 0,42 (13)	0	0	0,36 $\pm$ 0,42 (13)
<b>Thamnophilidae</b>				
<i>Dysithamnus mentalis</i>	0,31 $\pm$ 0,43 (12)	0	0	0,31 $\pm$ 0,43 (12)
<i>Herpsilochmus longirostris</i>	0	0,35 $\pm$ 0,21 (8)	2,73 $\pm$ 3,24 (6)	1,49 $\pm$ 2,14 (17)
<i>Thamnophilus doliatus</i>	0	1,50 $\pm$ 1,70 (12)	1,28 $\pm$ 0,73 (2)	1,47 $\pm$ 1,57 (14)
<i>Thamnophilus pelzelni</i>	0,30 $\pm$ 0,36 (7)	1,70 $\pm$ 2,46 (7)	0	0,98 $\pm$ 1,82 (14)
<b>Conopophagidae</b>				
<i>Conopophaga lineata</i>	0,35 $\pm$ 0,32 (15)	0,33 (1)	0	0,35 $\pm$ 0,31 (16)
<b>Furnariidae</b>				
<i>Clibanornis rectirostris</i>	0	1,01 $\pm$ 1,52 (8)	2,11 $\pm$ 1,00 (9)	1,59 $\pm$ 1,35 (17)
<i>Synallaxis scutata</i>	0,60 $\pm$ 0,31 (7)	0	0	0,60 $\pm$ 0,31 (7)
<b>Pipridae</b>				
<i>Neopelma pallescens</i>	0,65 $\pm$ 0,56 (18)	0	0	0,65 $\pm$ 0,56 (18)
<i>Pipra fasciicauda</i>	0,68 $\pm$ 0,71 (52)	0	0	0,68 $\pm$ 0,71 (52)
<i>Antilophia galeata</i>	0,48 $\pm$ 0,90 (49)	1,47 $\pm$ 1,90 (127)	0,90 $\pm$ 0,71 (21)	1,16 $\pm$ 1,66 (197)
<b>Tityridae</b>				
<i>Schiffornis virescens</i>	0,64 $\pm$ 0,43 (14)	0	0	0,64 $\pm$ 0,43 (14)
<b>Platyrinchidae</b>				
<i>Platyrinchus mystaceus</i>	0,40 $\pm$ 0,33 (7)	0,57 $\pm$ 0,76 (9)	0	0,53 $\pm$ 0,61 (16)
<b>Rhynchocyclidae</b>				
<i>Mionectes rufiventris</i>	0,87 $\pm$ 0,94 (12)	0	0	0,87 $\pm$ 0,94 (12)
<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	0,54 $\pm$ 0,35 (30)	2,15 $\pm$ 1,90 (15)	1,60 $\pm$ 1,52 (20)	1,29 $\pm$ 1,47 (66)
<i>Corythopsis delalandi</i>	0,54 $\pm$ 0,64 (34)	2,51 $\pm$ 3,97 (7)	0	0,88 $\pm$ 1,81 (41)
<i>Tolmomyias sulphurescens</i>	0	0,82 $\pm$ 1,21 (30)	1,57 $\pm$ 1,60 (31)	1,20 $\pm$ 1,44 (61)
<b>Tyrannidae</b>				
<i>Elaenia parvirostris</i>	0,37 $\pm$ 0,37 (18)	0	0	0,37 $\pm$ 0,37 (18)
<i>Casiornis rufus</i>	0,65 $\pm$ 0,53 (11)	0	0	0,65 $\pm$ 0,53 (11)
<i>Pitangus sulphuratus</i>	0	0	2,64 $\pm$ 2,90 (30)	2,64 $\pm$ 2,90 (30)
<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	0,60 $\pm$ 0,73 (8)	1,22 $\pm$ 0,80 (7)	2,19 $\pm$ 1,71 (8)	1,34 $\pm$ 1,32 (23)
<i>Lathrotriccus euleri</i>	0,48 $\pm$ 0,39 (21)	0,90 $\pm$ 1,07 (8)	1,27 $\pm$ 0,91 (7)	0,72 $\pm$ 0,75 (36)

<b>Famílias</b>	<b>Rural</b>	<b>Periurbana</b>	<b>Urbana</b>	<b>Total</b>
<i>Espécies</i>	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)
<b>Vireonidae</b>				
<i>Cyclarhis gujanensis</i>	0	1,66 ± 2,12 (5)	1,61 ± 1,19 (3)	1,64 ± 1,73 (8)
<b>Troglodytidae</b>				
<i>Cantorchilus leucotis</i>	0	0,71 ± 0,42 (5)	0,86 ± 1,34 (6)	0,72 ± 0,96 (12)
<b>Turdidae</b>				
<i>Turdus leucomelas</i>	0,26 ± 0,15 (7)	0,51 ± 0,58 (27)	0,92 ± 0,87 (29)	0,67 ± 0,74 (63)
<i>Turdus rufiventris</i>	0,32 ± 1,62 (2)	0,39 (1)	0,70 ± 0,42 (21)	0,66 ± 0,42 (24)
<i>Turdus amaurochalinus</i>	0,49 ± 0,28 (13)	0	0	0,49 ± 0,28 (13)
<i>Turdus subalaris</i>	0	0,27 ± 0,28 (2)	0,63 ± 0,24 (4)	0,51 ± 0,29 (6)
<b>Passerellidae</b>				
<i>Arremon flavirostris</i>	1,26 ± 1,54 (12)	1,03 ± 1,56 (18)	0	1,12 ± 1,53 (30)
<b>Parulidae</b>				
<i>Basileuterus culicivorus</i>	0,61 ± 0,91 (44)	0,96 ± 0,96 (38)	0,95 ± 1,19 (5)	0,78 ± 0,95 (87)
<i>Myiothlypis flaveola</i>	0,52 ± 0,69 (48)	0,87 ± 1,15 (30)	0,93 ± 1,10 (17)	0,70 ± 0,93 (95)
<i>Myiothlypis leucophrys</i>	0,75 ± 0,82 (12)	1,24 ± 1,17 (15)	0,38 ± 0,20 (6)	0,91 ± 0,97 (33)
<b>Thraupidae</b>				
<i>Tangara palmarum</i>	0,55 ± 0,36 (10)	0	0	0,55 ± 0,36 (10)
<i>Tangara cayana</i>	0	1,05 ± 1,32 (6)	0,50 ± 0,64 (7)	0,63 ± 0,83 (25)
<i>Eucometis penicillata</i>	0,63 ± 0,48 (24)	1,76 ± 1,75 (31)	1,65 ± 1,40 (12)	1,34 ± 1,44 (67)
<i>Tachyphonus coronatus</i>	0,14 ± 0,12 (7)	0	0	0,14 ± 0,12 (7)
<i>Daenis cayana</i>	0	7 (2)	0,60 ± 0,70 (4)	2,37 ± 3,19 (7)
<i>Coereba flaveola</i>	0,24 ± 1,68 (3)	0,35 ± 0,30 (3)	0,64 ± 0,73 (19)	0,56 ± 0,66 (25)
<i>Saltator maximus</i>	0	0,88 ± 1,33 (16)	1,53 ± 1,41 (14)	1,18 ± 1,39 (30)
<i>Saltator similis</i>	0	1,23 ± 1,56 (19)	0,51 ± 0,54 (7)	1,04 ± 1,39 (26)
<b>Total</b>	0,60 ± 0,73 (492)	1,23 ± 1,62 (451)	1,31 ± 2,11 (354)	1,01 ± 1,57 (1288)

## ANEXO 1 – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO

Environmental Science and Pollution Research  
<https://doi.org/10.1007/s11356-022-19037-w>

## RESEARCH ARTICLE



## Effects of urbanisation and pollution on the heterophil/lymphocyte ratio in birds from Brazilian Cerrado

Paulo Vitor Alves Ribeiro<sup>1,2</sup> · Vanessa Fonseca Gonçalves<sup>1,2</sup> · Vitor Carneiro de Magalhães Tolentino<sup>1,2</sup> · Camilla Queiroz Baesse<sup>1</sup> · Luís Paulo Pires<sup>1,2</sup> · Luís Pedro Mendes Paniago<sup>1,2</sup> · Celine de Melo<sup>1</sup>

Received: 19 May 2021 / Accepted: 30 January 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2022

### Abstract

Stressing agents can cause morphophysiological and behavioural changes in several animals, including birds, which are good study models for environmental biomonitoring. The heterophil/lymphocyte ratio (H/L) is an efficient indicator of chronic stresses in birds. In this study, we aimed to compare the H/L ratio of birds between the areas with different levels of urbanisation, anthropogenic noise and carbon monoxide (CO) emission rates. A total of 1288 birds were captured in six Cerrado forest fragments between 2013 and 2019, from which we took blood samples to produce blood smears. In each of these fragments, the noise level was measured with a sound pressure level metre. The CO rates were obtained from the National Institute for Space Research database (INPE-Brazil). There was a higher H/L ratio in individuals captured in urban areas or close to urbanisation with high anthropogenic noise levels and high CO rates, and a lower H/L ratio in individuals from preserved areas, far from urban environments with low noise levels and low CO rates. Six species (*Antilophia galeata*, *Leptopogon amaurocephalus*, *Cnemotriccus fuscatus*, *Lathrotriccus euleri*, *Turdus leucomelas* and *Eucometis penicillata*) showed a significant difference between the areas and followed the pattern shown by the individuals. The present study showed that birds living in the urban and peri-urban sites have higher values of H/L ratio than birds from rural sites. These results suggest that the H/L ratio can be used as an environmental biomonitoring tool and an efficient parameter to assess chronic stress in birds in degraded environments.

**Keywords** Biomonitoring · Leukocytes · White blood cells · Stress · Anthropogenic noises · Carbon monoxide

### Introduction

Abiotic and biotic stresses influence organisms, populations and ecosystems (Markert et al. 2003). Anthropogenic changes, such as habitat fragmentation and urbanisation, may enhance these stresses and introduce unnatural stressors, such as pollutants (Bauerová et al. 2017; Meissner et al. 2020). The organisms that respond to these stresses through

morphological, physiological or behavioural changes may be used to assess environmental quality, in which case they are called biomonitors (Fränzle 2003; Markert et al. 2003). Among these, birds are widely recognised as biomonitors for their unique biology. For instance, during flight, birds enter in contact with gases or particles in suspension (Brown et al. 1997; Baesse et al. 2015, 2019), and their respiratory system may be a route of entry of xenobiotics (Bodziach et al. 2021). Also, species in the higher trophic levels may be considered bioaccumulating organisms (Keller et al. 2014; Ruus et al. 2015), as they can accumulate high levels of pollutants in their tissues that may induce physiological alterations (Cid et al. 2018). In addition, many bird species are highly sensitive to anthropogenic noises, which may affect avian communities in places near human settlements (Tolentino et al. 2018). However, birds which remain in cities can adapt their behaviour to these specific conditions (Isaksson 2018).

The leukocyte profile, i.e. the identification and quantification of blood immune cells, stands out among the stress

Responsible Editor: Philippe Garrigues

✉ Paulo Vitor Alves Ribeiro  
[paulovitorbio@gmail.com](mailto:paulovitorbio@gmail.com)

<sup>1</sup> Laboratory of Ornithology and Bioacoustic, Federal University of Uberlândia, Institute of Biology, Umuarama Campus, Rua Ceará, s/n, Uberlândia, Minas Gerais 38400-902, Brazil

<sup>2</sup> Postgraduate Program in Ecology, Conservation and Biodiversity, Federal University of de Uberlândia, Uberlândia, Brazil



## **CAPÍTULO 2**

**Efeitos da urbanização e de recursos hídricos nas infecções por  
hemosporídeos em aves de fragmentos florestais do Cerrado**

## RESUMO

Os parasitos hemosporídeos (*Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp.) são protozoários transmitidos por vetores dípteros, causam a malária aviária e podem impactar negativamente a sobrevivência e o fitness de diversas espécies de aves. Estes parasitos têm ganhado destaque em estudos ecológicos e conservacionistas, pois as infecções podem estar associadas às condições do ambiente, incluindo alterações antrópicas. Os objetivos do estudo foram; comparar a parasitemia de hemosporídeos entre áreas com diferentes localizações (rurais, periurbanas e urbanas) e condições ambientais (quantidade de recursos hídricos); associar a parasitemia com a razão heterófilo/linfócito (H/L) (indicativo de estresse crônico). Foram capturadas 1288 aves em seis fragmentos florestais de Cerrado, entre 2013-2019, para confecção e análise de extensões sanguíneas. Em cada fragmento foi mensurado o tamanho da área ocupada por recursos hídricos em um raio de 1 km<sup>2</sup>. Ao todo, 519 (40,2%) indivíduos apresentaram-se infectados por hemosporídeos, sendo 516 (40%) por *Plasmodium* spp. e 13 (1,0%) por *Haemoproteus* spp. Dentre as 41 espécies de aves examinadas, foi observada infecção por *Haemoproteus* spp. em cinco e por *Plasmodium* spp. em todas. A parasitemia não se associou ao nível de urbanização, porém diferiu entre os seis fragmentos florestais, sendo maior naqueles onde há maior quantidade de recursos hídricos. Esses resultados indicam que os parasitos hemosporídeos são favorecidos em áreas que oferecem mais recursos para a reprodução e desenvolvimento dos vetores, independente da urbanização. Isso sugere que tais áreas são capazes de manter o ciclo de transmissão dos hemosporídeos. A razão H/L e a parasitemia correlacionaram-se negativamente, indicando que as infecções foram brandas para as aves e possivelmente controladas. Os resultados obtidos podem ser utilizados como uma resposta eficiente dos efeitos dos parasitos hemosporídeos em comunidades de aves sob diferentes condições ambientais. Assim, esses parasitos podem ser considerados úteis para estudos de biomonitoramento ambiental.

**Palavras-chave:** Biomonitoramento; malária aviária; água; estresse; razão H/L.

## ABSTRACT

Haemosporidian parasites (*Haemoproteus* spp. and *Plasmodium* spp.) are protozoa transmitted by dipteran vectors, which cause avian malaria and can negatively impact the survival and fitness of several bird species. These parasites are relevant for ecological and conservation studies, as infections may be associated with environmental conditions, including anthropic changes. The study objectives were to compare haemosporidian parasitaemia between areas with different locations (rural, peri-urban and urban) and environmental conditions (quantity of water resources); to associate parasitaemia with the heterophile/lymphocyte (H/L) ratio (indicative of chronic stress). A total of 1288 birds were captured in six Cerrado forest fragments, between 2013-2019, for the production and analysis of blood smears. In each forest fragment, the size of the area occupied by water resources within a radius of 1 km<sup>2</sup> was measured. Altogether, 519 (40.2%) individuals were infected with haemosporidian parasites, 516 (40%) with *Plasmodium* spp., and 13 (1.0%) by *Haemoproteus* spp. Forty-one bird species were examined, and infection by *Haemoproteus* spp. in five and by *Plasmodium* spp. in all species. Parasitaemia was not associated with the level of urbanization, but it differed among the six forest fragments, being higher in those where there is a greater amount of water resources. These results indicate that haemosporidian parasites are favored in areas that offer more resources for vector reproduction and development, regardless of urbanization. This suggests that such areas can maintain the haemosporidian parasites transmission cycle. The H/L ratio and parasitaemia were negatively correlated, indicating that the infections were mild for the birds and possibly controlled. The results obtained can be used as an efficient response to the effects of haemosporidian parasites in bird communities under different environmental conditions. Thus, these parasites can be considered useful for environmental biomonitoring studies.

**Keywords:** Biomonitoring; avian malaria; water; stress; H/L ratio.

## INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro é um *hotspot* em biodiversidade, sendo a savana mais diversa do mundo (MYERS et al., 2000; STRASSBURG et al., 2017). No entanto, é um bioma altamente impactado por ações antrópicas, tendo suas áreas naturais desmatadas e fragmentadas para o uso agropecuário e urbano (NÓBREGA et al., 2017; FREITAS et al., 2020; SANTOS et al., 2021), o que tem tornado o Cerrado mais quente nos últimos anos (HOFMANN et al. 2021). O desmatamento, fragmentação, urbanização e aumento de temperaturas têm sido associados a doenças parasitárias. Estudos mostraram que a antropização afeta as relações parasito-hospedeiro, podendo levar ao surgimento e a propagação de doenças em populações naturais (PATZ et al. 2000; STEPHENS et al., 2016; FERREIRA-JUNIOR et al., 2018; FERRAGUTI et al. 2020; JIMÉNEZ-PENUELA et al., 2021; FECCHIO et al., 2021b).

Os parasitos hemosporídeos (*Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp.) são protozoários transmitidos por vetores dípteros e causam a malária aviária (VALKIUNAS; ATKINSON, 2020). São considerados organismos importantes para estudos de ecologia, conservação e epidemiologia, pois são amplamente estudados (SANTIAGO-ALARCON; MARZAL, 2020), apresentam distribuição cosmopolita (CLARK et al., 2014), parasitam diversas espécies de aves (RIBEIRO et al., 2020a), atuam como indicadores de distúrbios ambientais (ELIKWO et al., 2020), e são modelos de estudo para a malária humana (GARAMSZEGI, 2011). Os hemosporídeos podem impactar negativamente as populações de aves, pois estão relacionados com estresse (LUDTKE et al. 2013; DHOND; DOBSON, 2017), baixa condição corporal (DE LA TORRE et al., 2020), redução da sobrevivência e óbito (VANSTREELS et al., 2014; DINHOPL et al., 2015), além de diminuir o sucesso reprodutivo ao afetar a vocalização, caracteres e comportamentos relacionados à seleção sexual (BOSHOLN et al. 2016; ELLIS et al., 2020). Esses impactos tendem a ser piores em populações não adaptadas aos parasitos e podem levar espécies nativas a extinção (SAMUEL et al., 2015, 2020; LIAO et al., 2017). No

entanto, algumas espécies podem apresentar infecções crônicas sem manifestações clínicas aparentes (RIBEIRO, 2018; SANTIAGO-ALARCON et al., 2020; RIBEIRO et al., 2020a), devido à uma provável relação coevolutiva entre parasito-hospedeiro, o que poderia reduzir a virulência dos parasitos (LAURANCE et al., 2013; SCHMID-HEMPEL, 2021).

As ações antrópicas causam desequilíbrios nos ciclos de transmissão dos hemosporídeos aviários. Nas últimas décadas a prevalência média de *Plasmodium* em aves triplicou devido ao aumento de 1°C na temperatura global (GARAMSZEGI, 2011). O desenvolvimento dos vetores e dos parasitos (*Plasmodium* spp.) é favorecido pelo calor (LAPOINTE et al. 2010; FERRAGUTI et al., 2020; RODRIGUES et al., 2021). O desmatamento e a fragmentação causam alterações no microclima e no micro-habitat, devido à perda de cobertura vegetal, levando maior incidência de radiação solar para dentro das florestas, contribuindo com o aumento da temperatura (FECCHIO et al., 2021a). Desta forma, vários estudos têm relatado maior prevalência de hemosporídeos em aves de ambientes degradados e associados à antropização (HERNÁNDEZ-LARA et al. 2017; FERREIRA-JUNIOR et al., 2017; FECCHIO et al., 2021b, MURIEL et al. 2021). No entanto, há estudos que relatam o contrário, maior prevalência em áreas bem preservadas, as quais podem oferecer mais locais para a reprodução e desenvolvimento de vetores, como plantas epífitas (e.g. Bromeliaceae) e recursos hídricos (LAURANCE et al., 2013; SANTIAGO-ALARCON et al., 2020; TCHOUMBOU et al. 2020; FECCHIO et al., 2021a). Há ainda estudos que não encontraram diferença na prevalência entre ambientes degradados e preservados (FERRAGUTI et al., 2018; JIMENEZ-PENUELA et al., 2019). Portanto, sugere-se que não há um padrão quanto aos efeitos antrópicos sobre os hemosporídeos aviários, pois as respostas à perturbação do habitat dependem do sistema parasito-hospedeiro específico e das condições locais (FERRAGUTI et al., 2020). Além disso, a maioria destes estudos utiliza a prevalência como ferramenta de comparação entre áreas. Pode

ser que ao utilizar medidas de intensidade de infecção (e.g. parasitemia), obtenham-se respostas diferentes.

Os parasitos hemospórideos são considerados fatores estressores para as aves, pois cargas parasitárias ou parasitemias altas podem estar associadas com aumentos na razão heterófilo/linfócito (H/L) (DAVIS; MANEY, 2018). Essa razão é uma ferramenta amplamente utilizada para indicar estresse crônico em aves. A elevação dos níveis plasmáticos de glicocorticoides (hormônios do estresse) desencadeia o aumento de heterófilos e a redução de linfócitos no sangue circulante, por fim aumentando os valores da razão H/L (DAVIS et al., 2008). Estudos relataram que os hemospórideos elevam as razões H/L (FOKIDIS et al., 2008; SHUTLER; MARCOGLIESE, 2011; WOJCZULANIS-JAKUBAS et al., 2012), enquanto outros não encontraram tal evidência (RIBEIRO, 2018; DIMITROV et al., 2019; SANTIAGO-ALARCON et al., 2020). A razão H/L também é uma ferramenta indicadora de distúrbios ambientais, pois a razão H/L aumenta em aves expostas à urbanização e poluição (BAUEROVÁ et al., 2017, 2020; CID et al., 2018; MEISSNER et al., 2020; RIBEIRO et al. 2020b). Assim, ao analisar os hemospórideos aviários em associação com a razão H/L é provável que se tenha uma visão mais abrangente da saúde das aves frente às alterações antrópicas.

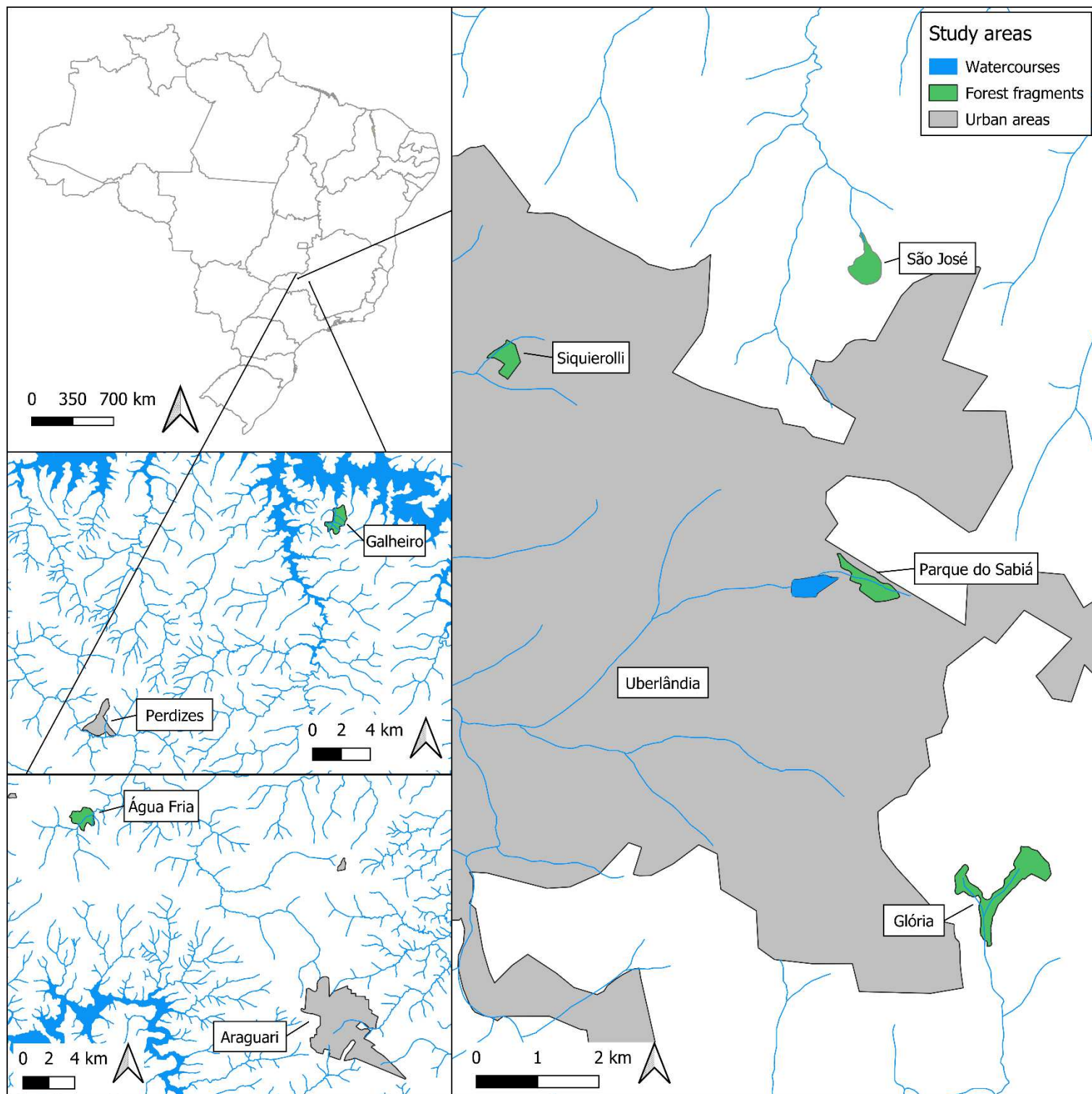
Este estudo objetivou analisar e determinar a prevalência, a parasitemia de hemospórideos e a razão H/L em aves de fragmentos florestais de Cerrado sob diferentes condições ambientais (tais como, localização em relação à urbanização, tamanho do fragmento florestal e quantidade de recursos hídricos). Espera-se que a parasitemia seja maior nos fragmentos com maiores reservas de água, considerando que tais ambientes podem proporcionar mais recursos para os vetores dos parasitos se desenvolverem. Também se espera que a parasitemia correlacione com a razão H/L, indicando que aves parasitadas apresentam maior estresse.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Áreas de estudo

O estudo foi realizado em seis fragmentos florestais em três municípios do estado de Minas Gerais, Brasil (Fig. 1). Os fragmentos estão inseridos no bioma Cerrado e apresentam floresta estacional semidecidual e mata de galeria como fitofisionomias predominantes. As condições climáticas dos fragmentos são semelhantes, pois todos estão dentro do subdomínio climático tropical semiseco, que consiste em 6-7 meses secos, com precipitação pluviométrica anual de 1350-1650 mm, e temperatura média do mês mais frio de 18°C-21,5°C (NOVAIS et al., 2018). Os fragmentos florestais foram classificados em três grupos de acordo com a zona de localização: rural, periurbana e urbana, sendo dois de cada grupo. As áreas rurais estão situadas a aproximadamente 20 km da cidade mais próxima, as periurbanas apresentam limites com o perímetro urbano da cidade de Uberlândia e as urbanas constituem-se de parques localizados dentro da cidade (BAESSE, 2019).

Todos os fragmentos florestais apresentam recursos hídricos (lagoas artificiais ou córregos) no interior ou nas margens. A área dos recursos hídricos foi estimada em um raio de 1 km<sup>2</sup> a partir do local de captura das aves em cada fragmento florestal. As mensurações foram realizadas no software Google Earth Pro com auxílio da base de dados do Sistema Nacional de Informações sobre Recursos Hídricos (SNIRH, <https://www.snirh.gov.br/>) da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA, 2021). As características dos fragmentos florestais estão detalhadas na tabela 1.



**Figura 1.** Mapa indicando a localização dos fragmentos florestais (verde), em relação às áreas urbanas (cinza) e aos recursos hídricos (azul).



**Tabela 1.** Características e localização das áreas de estudo. O tamanho da área dos fragmentos florestais e da área ocupada por recursos hídricos foi medido em hectares (ha). A distância das cidades foi medida em quilômetros (km).

Áreas de estudo (fragmentos florestais)	Município da área	Zona de localização	Coordenadas geográficas	Distância da cidade mais próxima	Tamanho da área	Recursos hídricos em um raio de 1 km <sup>2</sup>
Água Fria (AF)	Araguari	Rural	18°29' S; 48°23' O	26,3 km	200 ha	0,90 ha
Galheiro (GA)	Perdizes	Rural	19°14' S; 47°08' O	19,75 km	260 ha	5,20 ha
Glória (GL)	Uberlândia	Periurbana	18°57' S; 48°12' O	0,92 km	30 ha	2,26 ha
São José (SJ)	Uberlândia	Periurbana	18°51' S; 48°13' O	0,73 km	20 ha	0,30 ha
Parque do Sabiá (SB)	Uberlândia	Urbana	18°55' S; 48°17' O	0 km	30 ha	4,84 ha
Parque Siquierolli (SI)	Uberlândia	Urbana	18°52' S; 48°17' O	0 km	23 ha	0,29 ha

### Coleta de dados

Em cada fragmento florestal foram realizadas oito campanhas de campo com duração de cinco dias cada, entre junho de 2013 a junho de 2019. Para a captura das aves foram utilizadas 20 redes de neblina (12m x 3m de altura), expostas em trilhas entre 06h30min e 17h00min. A cada 30 minutos, as redes eram conferidas e as aves capturadas eram retiradas e acomodadas em sacos de tecido para transporte e pesagem e na sequência serem encaminhadas para identificação, marcação e coleta de sangue. Todas as aves foram identificadas em nível de espécie de acordo com Sigrist (2009) e Gwynne et al. (2010) e marcadas com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisa para a Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE/ICMBio - Autorização: 3730 - Registro: 359076). A nomenclatura e ordem taxonômica das espécies seguiram as normas propostas pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (PIACENTINI et al., 2015).

O sangue das aves (aproximadamente 5,0µl) foi coletado com agulhas descartáveis (8mm x 0,3mm) a partir de uma pequena punção na veia tarsal (SISBIO/ICMBio - Autorização: 44901; CEUA/UFU – Autorização: 038/18). Em seguida, o sangue foi diretamente gotejado sobre uma lâmina de microscopia, e com auxílio de uma lâmina extensora inclinada em 45° foi feita a extensão sanguínea (duas por indivíduo). As extensões foram fixadas com metanol

absoluto e coradas com solução de Giemsa (5%) e tampão fosfato (BAESSE et al., 2019). As análises foram realizadas em microscópio óptico, com objetiva de 100x, utilizando óleo de imersão. Os hemosporídeos foram identificados quanto aos gêneros (*Haemoproteus* e/ou *Plasmodium*) conforme as descrições de Valkiunas (2005) e quantificados a partir da observação de 200 campos microscópicos por indivíduo (GODFREY et al., 1987). Os leucócitos foram identificados e quantificados de acordo com Clark et al. (2009) e Campbell (2015). A razão H/L foi calculada a partir da divisão entre o número de heterófilos por linfócitos (RIBEIRO et al., 2022).

### **Análises estatísticas**

Para verificar se houve diferença na parasitemia dos indivíduos entre os fragmentos florestais e entre as zonas de localização destes, foram realizados testes de Kruskal-Wallis seguidos de testes de comparações múltiplas de Dunn. Foram feitas correlações de Spearman entre a razão H/L e a parasitemia dos indivíduos. Também foram realizadas correlações de Spearman entre as médias das parasitemias em relação ao tamanho da área de recursos hídricos de cada fragmento florestal. Para verificar se houve diferença na parasitemia das espécies entre as áreas foram realizados testes de Kruskal-Wallis e testes de Mann-Whitney. Espécies que apresentaram número amostral (n) suficiente (igual ou acima de cinco indivíduos) em três ou mais áreas foram analisadas por Kruskal-Wallis seguidos do teste de comparações múltiplas de Dunn. Espécies com n suficiente em apenas duas áreas foram analisadas por Mann-Whitney. Também foram realizadas correlações de Spearman entre a razão H/L e a parasitemia de todas as espécies. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism 6.0 e conduzidas no nível de significância menor ou igual a 0,05.

## RESULTADOS

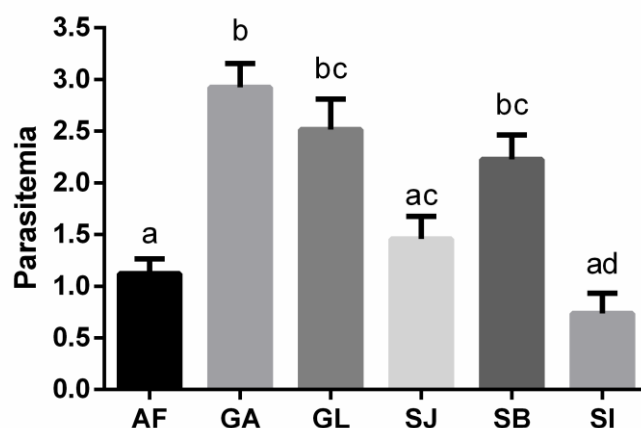
Foram capturados 1288 indivíduos e analisadas 2576 extensões sanguíneas. Ao todo, 519 (40,2%) indivíduos apresentaram-se infectados por hemosporídeos, sendo 516 (40%) por *Plasmodium* spp. e 13 (1,0%) por *Haemoproteus* spp. Houve coinfeção entre ambos os gêneros de parasitos em 10 indivíduos. Em todas as áreas houve indivíduos infectados, com prevalências entre 16,4% (Parque do Siquierolli) a 51,1% (Galheiro) (Tabela 2). Houve diferença significativa na parasitemia dos indivíduos entre as áreas ( $H = 50,29$ ,  $p < 0,0001$ ; Tabela 3), sendo o fragmento florestal Galheiro a área com a maior média ( $2,92 \pm 3,18$ ), e Parque Siquierolli com a menor ( $0,73 \pm 2,39$ ; Fig. 2). Não houve diferença na parasitemia dos indivíduos em relação às zonas de localização (rural, periurbana e urbana) ( $H = 5,550$ ,  $p = 0,0623$ ). As médias das parasitemias correlacionaram-se positivamente com o tamanho das áreas dos recursos hídricos dos fragmentos florestais ( $r_s = 0,8857$ ;  $p = 0,0333$ , Fig. 3). A razão H/L e a parasitemia dos indivíduos correlacionaram-se negativamente ( $r_s = -0,08637$ ;  $p = 0,0019$ , Fig. 4).

Foram examinadas 41 espécies (16 famílias) de aves. Foi observada infecção por *Plasmodium* spp. em todas as espécies. No entanto, apenas cinco espécies (*Neopelma pallescens*, *Antilophia galeata*, *Corythopsis delalandi*, *Turdus rufiventris* e *Basileuterus culicivorus*) apresentaram indivíduos infectados por *Haemoproteus* spp. (Tabela 4). Em sete espécies (*Dysithamnus mentalis*, *Thamnophilus pelzelni*, *Tolmomyias sulphurescens*, *Turdus rufiventris*, *Turdus amaurochalinus*, *Dacnis cayana*, *Saltator maximus*) foram encontradas correlações negativas e significativas entre razão H/L e parasitemia (Tabela 4). Quanto às diferenças na parasitemia das espécies entre as áreas de estudo, foram analisadas somente 24 espécies, devido ao número amostral (mínimo de cinco indivíduos por área). Seis espécies (*Nonnulla rubecula*, *Conopophaga lineata*, *Antilophia galeata*, *Pitangus sulphuratus*, *Turdus*

*leucomelas*, *Coereba flaveola*) apresentaram diferenças significativas na parasitemia entre as áreas de estudo (Tabela 5, Fig. 5).

**Tabela 2.** Prevalência (%) de aves infectadas por hemosporídeos de acordo com as áreas de estudo. (\*) Áreas em que houve indivíduos coinfectados com ambos os gêneros de parasitos.

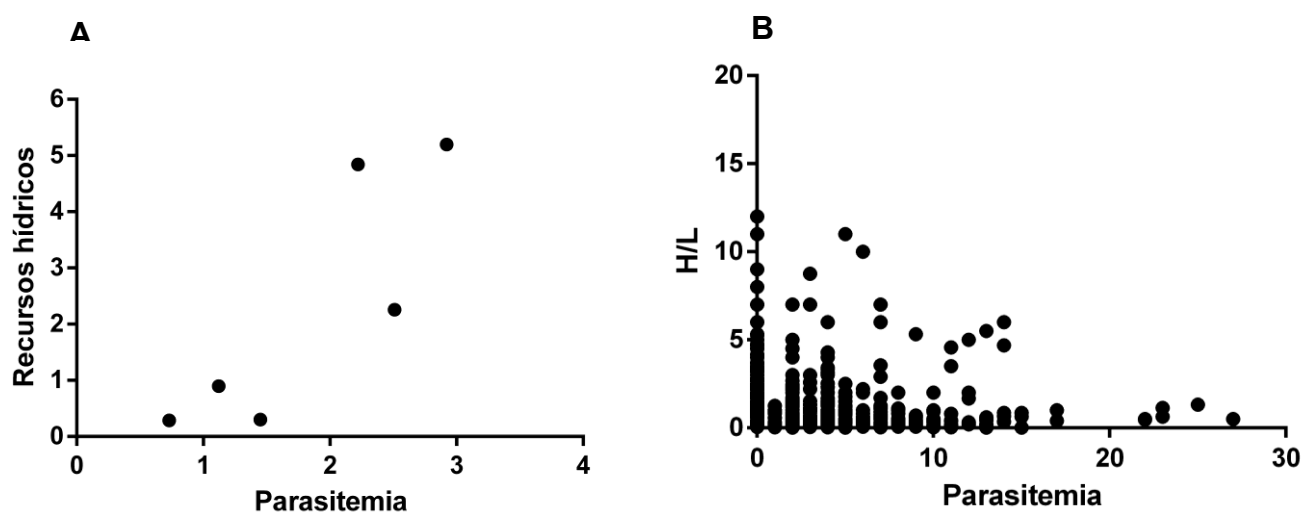
Áreas	Indivíduos examinados	Indivíduos infectados (%)		
		<i>Plasmodium</i> spp.	<i>Haemoproteus</i> spp.	Total
Água Fria	216	72 (33,3%)	0	72 (33,3%)
Galheiro	276	141 (51,1%)	8 (2,89%)	143 (51,8%)*
Glória	309	137 (44,3%)	3 (0,97%)	137 (44,3%)*
São José	142	50 (35,2%)	0	50 (35,2%)
Parque do Sabiá	193	91 (47,1%)	1 (0,51%)	91 (47,1%)*
Parque Siquierolli	152	25 (16,4%)	1 (0,65%)	26 (17,1%)
Total	1288	516 (40,06%)	13 (1%)	519 (40,2%)*



**Figura 2.** Diferenças gerais na parasitemia de todos os indivíduos examinados entre as áreas de estudo. As barras representam as médias e os traços, os erros-padrão. As letras minúsculas acima das caixas representam as diferenças estatísticas entre as áreas obtidas pelo teste de comparações múltiplas de Dunn (AF: Água Fria, GA: Galheiro, GL: Glória, SJ: São José, SB: Sabiá, SI: Siquierolli).

**Tabela 3.** Resultados do teste de comparações múltiplas de Dunn entre as áreas de estudo. vs. = comparações entre áreas. \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$ , ns = não significativo.

Comparações múltiplas de Dunn	Probabilidade de significância (p)
Água Fria vs. Galheiro	***
Água Fria vs. Glória	*
Água Fria vs. São José	ns
Água Fria vs. Sabiá	**
Água Fria vs. Siquierolli	ns
Galheiro vs. Glória	ns
Galheiro vs. São José	***
Galheiro vs. Sabiá	ns
Galheiro vs. Siquierolli	***
Glória vs. São José	ns
Glória vs. Sabiá	ns
Glória vs. Siquierolli	***
São José vs. Sabiá	ns
São José vs. Siquierolli	*
Sabiá vs. Siquierolli	***



**Figura 3.** Correlação positiva e significativa encontrada entre as parasitemias médias das aves com o tamanho da área dos recursos hídricos (em hectares) das áreas estudadas (A). Correlação negativa e significativa encontrada entre a razão H/L e a parasitemia de todos os indivíduos examinados (B).

**Tabela 4.** Espécies de aves de acordo com o número de indivíduos examinados e infectados por hemospóridios. Os valores das parasitemias e razões H/L das espécies estão representados em média ( $\bar{X}$ ) e desvio-padrão (DP). Correlações de Spearman (rs) com probabilidade de significância (p) menor ou igual à 0,05 estão destacadas em **negrito**.

Famílias <i>Espécies</i>	Indivíduos examinados	Indivíduos infectados (%)			Parasitemia ( $\bar{X} \pm DP$ )	Razão HL ( $\bar{X} \pm DP$ )	Correlação	
		<i>Plasmodium</i> spp.	<i>Haemoproteus</i> spp.	Total			rs	p
<b>Galbulidae</b>								
<i>Galbula ruficauda</i>	15	5 (33,3%)	0	5 (33,3%)	0,86 ± 1,35	1,12 ± 1,19	0,3011	0,2744
<b>Bucconidae</b>								
<i>Nonmula rubecula</i>	13	7 (53,8%)	0	7 (53,8%)	2,15 ± 2,44	0,36 ± 0,42	-0,2609	0,2897
<b>Thamnophilidae</b>								
<i>Dysithamnus mentalis</i>	12	3 (25%)	0	3 (25%)	0,91 ± 1,67	0,31 ± 0,43	<b>-0,4143</b>	<b>0,0121</b>
<i>Herpsilochmus longirostris</i>	17	5 (29,4%)	0	5 (29,4%)	0,82 ± 1,38	1,49 ± 2,14	-0,2471	0,0611
<i>Thamnophilus doliatus</i>	14	6 (42,8%)	0	6 (42,8%)	2,14 ± 3,0	1,47 ± 1,57	-0,368	0,0896
<i>Thamnophilus pelzelni</i>	14	6 (42,8%)	0	6 (42,8%)	1,50 ± 1,91	0,98 ± 1,82	<b>-0,432</b>	<b>0,05</b>
<b>Conopophagidae</b>								
<i>Conopophaga lineata</i>	16	7 (43,8%)	0	7 (43,8%)	2,68 ± 4,57	0,35 ± 0,31	-0,0439	0,5972
<b>Furnariidae</b>								
<i>Clibanornis rectirostris</i>	17	6 (35,2%)	0	6 (35,2%)	1,47 ± 3,39	1,59 ± 1,35	-0,1903	0,1608
<i>Synallaxis scutata</i>	7	2 (28,5%)	0	2 (28,5%)	1,0 ± 1,91	0,60 ± 0,31	-0,2247	0,381
<b>Pipridae</b>								
<i>Neopelma pallescens</i>	18	12 (66,6%)	2 (11,1%)	12 (66,6%)	4,0 ± 3,66	0,65 ± 0,56	0,131	0,6045
<i>Pipra fasciicauda</i>	52	16 (30,7%)		16 (30,7%)	0,86 ± 1,49	0,68 ± 0,71	-0,08495	0,5493
<i>Antilophia galeata</i>	197	94 (47,7%)	4 (2,03%)	94 (47,7%)	3,35 ± 6,43	1,16 ± 1,66	-0,007459	0,9171
<b>Tityridae</b>								
<i>Schiffornis virescens</i>	14	10 (71,4%)	0	10 (71,4%)	3,14 ± 3,46	0,64 ± 0,43	0,02492	0,933

Famílias <i>Espécies</i>	Indivíduos examinados	Indivíduos infectados (%)			Parasitemia ( $\bar{X} \pm DP$ )	Razão HL ( $\bar{X} \pm DP$ )	Correlação	
		<i>Plasmodium</i> spp.	<i>Haemoproteus</i> spp.	Total			rs	p
<b>Platyrrinchidae</b>								
<i>Platyrrinchus mystaceus</i>	16	11 (64,7%)	0	11 (64,7%)	3,64 ± 4,13	0,53 ± 0,61	0,02896	0,9118
<b>Rhynchocyclidae</b>								
<i>Mionectes rufiventris</i>	12	6 (50%)	1 (8,33%)	6 (50%)	2,41 ± 2,74	0,87 ± 0,94	-0,4467	0,0893
<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	66	18 (27,2%)	0	18 (27,2%)	1,05 ± 2,21	1,49 ± 1,79	-0,03314	0,7869
<i>Corythopsis delalandi</i>	41	15 (17,8%)	1 (2,43%)	15 (17,8%)	1,97 ± 3,40	0,88 ± 1,81	0,006573	0,9675
<i>Tolmomyias sulphurescens</i>	61	24 (39,3%)	0	24 (39,3%)	1,73 ± 2,85	1,20 ± 1,44	<b>-0,262</b>	<b>0,0414</b>
<b>Tyrannidae</b>								
<i>Elaenia parvirostris</i>	18	10 (55,5%)	0	10 (55,5%)	2,44 ± 2,54	0,37 ± 0,37	-0,1543	0,541
<i>Casiornis rufus</i>	11	6 (54,5%)	0	6 (54,5%)	2,36 ± 2,50	0,65 ± 0,53	0,01926	0,9204
<i>Pitangus sulphuratus</i>	30	17 (56,6%)	0	17 (56,6%)	2,80 ± 3,35	2,64 ± 2,90	-0,02714	0,8868
<b>Tyrannidae</b>								
<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	23	7 (30,4%)	0	7 (30,4%)	1,30 ± 2,58	1,34 ± 1,32	-0,3087	0,1517
<i>Lathrotriccus euleri</i>	26	13 (36,1%)	0	13 (36,1%)	2,0 ± 4,54	0,72 ± 0,75	-0,1139	0,5084
<b>Vireonidae</b>								
<i>Cyclarhis gujanensis</i>	8	3 (37,5%)	0	3 (37,5%)	1,25 ± 1,75	1,64 ± 1,73	-0,3437	0,2143
<b>Troglodytidae</b>								
<i>Cantorchilus leucotis</i>	12	5 (41,66%)	0	5 (41,66%)	1,83 ± 3,27	0,72 ± 0,96	0,05471	0,8585
<b>Turdidae</b>								
<i>Turdus leucomelas</i>	63	24 (38,0%)	0	24 (38,0%)	1,66 ± 2,67	0,67 ± 0,74	-0,09623	0,4531
<i>Turdus rufiventris</i>	24	10 (41,6%)	2 (8,33%)	11 (45,8%)	3,08 ± 5,29	0,66 ± 0,42	-0,5889	0,0025
<i>Turdus amaurochalinus</i>	13	3 (23,07%)	0	3 (23,07%)	0,61 ± 1,19	0,49 ± 0,28	<b>-0,3021</b>	<b>0,021</b>
<i>Turdus subalaris</i>	6	3 (50%)	0	3 (50%)	1,50 ± 1,97	0,51 ± 0,29	-0,2469	0,5

Famílias <i>Espécies</i>	Indivíduos examinados	Indivíduos infectados (%)			Parasitemia ( $\bar{X} \pm DP$ )	Razão HL ( $\bar{X} \pm DP$ )	Correlação	
		<i>Plasmodium</i> spp.	<i>Haemoproteus</i> spp.	Total			rs	p
<b>Passerellidae</b>								
<i>Arremon flavirostris</i>	30	8 (26,6%)	0	8 (26,6%)	1,36 ± 3,05	1,12 ± 1,53	0,07836	0,6807
<b>Parulidae</b>								
<i>Basileuterus culicivorus</i>	87	33 (37,9%)	3 (3,44%)	35 (40,22%)	1,81 ± 2,82	0,78 ± 0,95	-0,008786	0,9356
<i>Myiothlypis flaveola</i>	95	29 (30,5%)	0	29 (30,5%)	1,40 ± 2,90	0,70 ± 0,93	-0,1475	0,1537
<i>Myiothlypis leucophrys</i>	33	14 (42,4%)	0	14 (42,4%)	1,45 ± 2,19	0,91 ± 0,97	-0,2401	0,1783
<b>Thraupidae</b>								
<i>Tangara palmarum</i>	10	1 (10%)	0	1 (10%)	0,30 ± 0,94	0,55 ± 0,36	0,5222	0,2
<i>Tangara cayana</i>	25	5 (20%)	0	5 (20%)	0,76 ± 1,64	0,63 ± 0,83	0,06935	0,7419
<i>Eucometis penicillata</i>	67	31 (46,2%)	0	31 (46,2%)	1,91 ± 2,54	1,35 ± 1,44	-0,1919	0,117
<i>Tachyphonus coronatus</i>	7	4 (57,1%)	0	4 (57,1%)	3,85 ± 4,18	0,14 ± 0,12	-0,5614	0,1524
<i>Dacnis cayana</i>	7	1 (14,2%)	0	1 (14,2%)	0,42 ± 1,13	2,37 ± 3,19	<b>-0,4119</b>	<b>&lt; 0,0001</b>
<i>Coereba flaveola</i>	25	9 (36%)	0	9 (36%)	2,28 ± 3,64	0,56 ± 0,66	-0,2926	0,1558
<i>Saltator maximus</i>	30	13 (43,3%)	0	13 (43,3%)	1,33 ± 1,74	1,18 ± 1,39	<b>-0,3509</b>	<b>0,05</b>
<i>Saltator similis</i>	26	14 (53,8%)	0	14 (53,8%)	2,80 ± 3,42	1,04 ± 1,39	0,2025	0,3212
<b>Total</b>	1288	516 (40%)	13 (1%)	519 (40,2%)	1,99 ± 3,73	1,01 ± 1,58	<b>-0,08637</b>	<b>0,0019</b>

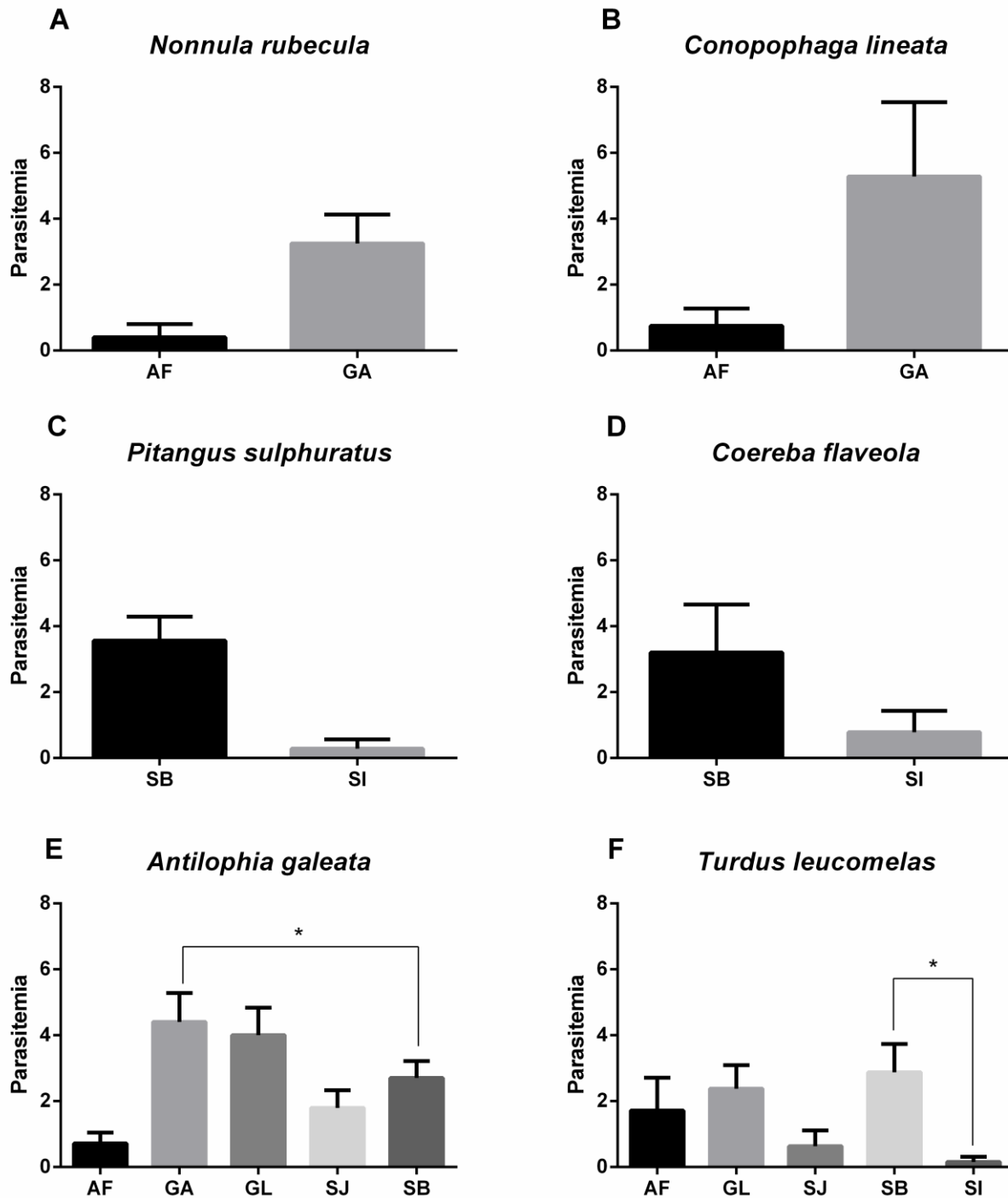


**Tabela 5.** Médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) das parasitemias das espécies de acordo com o número de indivíduos examinados (n) nas diferentes áreas de estudo. Diferenças estatísticas estão destacadas em **negrito** (H = teste de Kruskal-Wallis, U = teste de Mann-Whitney, p = probabilidade de significância).

<b>Famílias</b>	<b>Água Fria</b>	<b>Galheiro</b>	<b>Glória</b>	<b>São José</b>	<b>Sabiá</b>	<b>Siquierolli</b>	<b>Total</b>	<b>Estatísticas</b>
<i>Espécies</i>	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)	$\bar{X} \pm DP$ (n)	
<b>Galbulidae</b>								
<i>Galbula ruficauda</i>	(1)	(0)	(0)	2,50 ± 0,70 (2)	2,0 ± 2,82 (2)	0,40 ± 0,84 (10)	0,86 ± 1,35 (15)	
<b>Bucconidae</b>								
<i>Nonnula rubecula</i>	0,40 ± 0,89 (5)	3,25 ± 2,49 (8)	(0)	(0)	(0)	(0)	2,15 ± 2,44 (13)	<b>U = 6,500, p = 0,0497</b>
<b>Thamnophilidae</b>								
<i>Dysithamnus mentalis</i>	0,87 ± 1,64 (8)	1,0 ± 1,73 (4)	(0)	(0)	(0)	(0)	0,91 ± 1,67 (12)	
<i>Herpsilochmus longirostris</i>	(0)	(0)	1,50 ± 1,76 (6)	0,60 ± 1,34 (5)	(0)	0,33 ± 0,81 (6)	0,82 ± 1,38 (17)	H = 2,131, p = 0,379
<i>Thamnophilus doliatus</i>	(0)	(0)	(1)	(1)	(1)	2,18 ± 3,06 (11)	2,14 ± 3,00 (14)	
<i>Thamnophilus pelzelni</i>	2,50 ± 3,53 (2)	2,40 ± 1,51 (5)	0,57 ± 1,51 (7)	(0)	(0)	(0)	1,50 ± 1,91 (14)	U = 7,500, p = 0,0720
<b>Conopophagidae</b>								
<i>Conopophaga lineata</i>	0,75 ± 1,48 (8)	5,28 ± 5,96 (7)	(0)	0,33 (1)	(0)	(0)	2,68 ± 4,57 (16)	<b>U = 12,0, p = 0,050</b>
<b>Furnariidae</b>								
<i>Clibanornis rectirostris</i>	(0)	(0)	2,85 ± 5,01 (7)	(1)	(1)	0,25 ± 0,70 (8)	1,47 ± 3,39 (17)	U = 15,0, p = 0,100
<i>Synallaxis scutata</i>	1,0 ± 1,91 (7)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	1,0 ± 1,91 (7)	
<b>Pipridae</b>								
<i>Neopelma pallescens</i>	(1)	4,11 ± 3,73 (17)	(0)	(0)	(0)	(0)	4,0 ± 3,66 (18)	
<i>Pipra fasciicauda</i>	0,86 ± 1,49 (52)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	0,86 ± 1,49 (52)	
<i>Antilophia galeata</i>	0,71 ± 1,26 (14)	4,0 ± 8,25 (35)	4,0 ± 8,25 (97)	1,80 ± 2,21 (30)	0,71 ± 1,26 (20)	(1)	3,35 ± 6,43 (197)	<b>H = 15,65, p = 0,0335</b>
<b>Tityridae</b>								
<i>Schiffornis virescens</i>	(0)	3,14 ± 3,46 (14)	(0)	(0)	(0)	(0)	3,14 ± 3,46 (14)	

<b>Famílias</b>	<b>Água Fria</b>	<b>Galheiro</b>	<b>Glória</b>	<b>São José</b>	<b>Sabiá</b>	<b>Siquierolli</b>	<b>Total</b>	<b>Estatísticas</b>
<i>Espécies</i>	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	
<b>Platyrrinchidae</b>								
<i>Platyrrinchus mystaceus</i>	(1)	4,83 ± 5,45 (6)	3,22 ± 3,56 (8)	(0)	(0)	(1)	3,64 ± 4,13 (16)	U = 24, p = 0,745
<b>Rhynchocyclidae</b>								
<i>Mionectes rufiventris</i>		2,41 ± 2,74 (12)	(0)	(0)	(0)	(0)	2,41 ± 2,74 (12)	
<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	1,08 ± 2,48 (21)	0,40 ± 0,84 (10)	1,28 ± 1,60 (7)	0,75 ± 1,48 (8)	2,16 ± 3,37 (12)	0,25 ± 0,70 (8)	1,05 ± 2,21 (66)	H = 3,192, p = 0,670
<i>Corythopsis delalandi</i>	0,50 ± 1,06 (8)	2,84 ± 3,96 (26)	0,42 ± 1,13 (7)	(0)	(0)	(0)	1,97 ± 3,40 (41)	H = 4,22, p = 0,120
<i>Tolmomyias sulphurescens</i>	(0)	(0)	1,64 ± 1,86 (14)	3,18 ± 4,47 (16)	1,61 ± 2,03 (18)	0,23 ± 0,83 (13)	1,73 ± 2,85 (61)	H = 7,178, p = 0,066
<b>Tyrannidae</b>								
<i>Elaenia parvirostris</i>	(0)	2,44 ± 2,54 (18)	(0)	(0)	(0)	(0)	2,44 ± 2,54 (18)	
<b>Tyrannidae</b>								
<i>Casiornis rufus</i>	(0)	2,36 ± 2,50 (11)	(0)	(0)	(0)	(0)	2,36 ± 2,50 (11)	
<i>Pitangus sulphuratus</i>	(0)	(0)	(0)	(0)	3,56 ± 3,47 (23)	0,28 ± 0,75 (7)	2,80 ± 3,35 (30)	<b>U = 29, p = 0,007</b>
<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	(1)	2,85 ± 3,97 (7)	0 ± 0 (5)	0,50 ± 0,70 (2)	(0)	0,87 ± 1,80 (8)	1,30 ± 2,58 (23)	U = 21,00, p = 0,3473
<i>Lathrotriccus eulerei</i>	1,66 ± 1,52 (3)	1,55 ± 2,81 (18)	2,75 ± 2,21 (4)	0,75 ± 0,95 (4)	(1)	0 ± 0 (6)	2,0 ± 4,54 (36)	U = 39,00, p = 0,2801
<b>Vireonidae</b>								
<i>Cyclarhis gujanensis</i>	(0)	(0)	0 ± 0 (2)	3,33 ± 0,57 (3)	(0)	0 ± 0 (3)	1,25 ± 1,75 (8)	
<b>Troglodytidae</b>								
<i>Cantorchilus leucotis</i>	(0)	(1)	0,60 ± 0,89 (5)	(0)	4,25 ± 5,05 (4)	0 ± 0 (2)	1,83 ± 3,27 (12)	
<b>Turdidae</b>								
<i>Turdus leucomelas</i>	1,71 ± 2,62 (7)		2,37 ± 2,28 (16)	0,63 ± 1,56 (11)	2,87 ± 3,44 (16)	0,15 ± 0,55 (13)	1,66 ± 2,67 (63)	<b>H = 11,76, p = 0,019</b>
<i>Turdus rufiventris</i>	(1)	(1)	(1)	(0)	2,42 ± 2,57 (7)	3,0 ± 6,16 (14)	3,08 ± 5,29 (24)	U = 41,50, p = 0,560
<i>Turdus amaurochalinus</i>	(0)	(0)	(0)	(0)	0,50 ± 1,08 (10)	1,00 ± 1,73 (3)	0,61 ± 1,19 (13)	
<i>Turdus subalaris</i>	(0)	(0)	1,00 ± 1,41 (2)	(0)	1,75 ± 2,36 (4)	(0)	1,50 ± 1,97 (6)	

<b>Famílias</b>	<b>Água Fria</b>	<b>Galheiro</b>	<b>Glória</b>	<b>São José</b>	<b>Sabiá</b>	<b>Siquierolli</b>	<b>Total</b>	<b>Estatísticas</b>
<i>Espécies</i>	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	$\bar{x} \pm DP$ (n)	
<b>Passerellidae</b>								
<i>Arremon flavirostris</i>	0 ± 0 (2)	1,80 ± 3,15 (10)	1,27 ± 3,21 (18)	(0)	(0)	(0)	1,36 ± 3,05 (30)	H = 76,5, p = 0,4551
<b>Parulidae</b>								
<i>Basileuterus culicivorus</i>	2,08 ± 3,86 (23)	2,19 ± 2,67 (21)	1,88 ± 2,39 (27)	0,81 ± 1,83 (11)	0,80 ± 1,78 (5)	(0)	1,81 ± 2,82 (87)	H = 3,87, p = 0,423
<i>Myiothlypis flaveola</i>	0,50 ± 1,0 (20)	2,25 ± 4,04 (28)	1,0 ± 1,76 (10)	1,15 ± 2,39 (20)	2,50 ± 3,86 (10)	0,28 ± 0,75 (7)	1,40 ± 2,90 (95)	H = 4,640, p = 0,461
<i>Myiothlypis leucophrys</i>	1,25 ± 1,86 (12)	(0)	0,92 ± 1,77 (14)	(1)	3,33 ± 3,07 (6)	(0)	1,45 ± 2,19 (33)	H = 5,118, p = 0,077
<b>Thraupidae</b>								
<i>Tangara palmarum</i>	(0)	(0)	(0)	(0)	0,30 ± 0,94 (10)	(0)	0,30 ± 0,94 (10)	
<i>Tangara cayana</i>	(0)	(2)	1,66 ± 1,86 (6)		0,64 ± 1,73 (14)	0 ± 0 (3)	0,76 ± 1,64 (25)	U = 28,00, 0,2487
<i>Eucometis penicillata</i>	1,85 ± 2,34 (19)	3,0 ± 1,87 (5)	3,12 ± 3,20 (16)	1,20 ± 1,93 (15)	1,42 ± 2,99 (7)	0 ± 0 (5)	1,91 ± 2,54 (67)	H = 10,07, p = 0,0733
<i>Tachyphonus coronatus</i>	(0)	3,85 ± 4,18 (7)	(0)	(0)	(0)	(0)	3,85 ± 4,18 (7)	
<i>Dacnis cayana</i>	(0)	(0)	(0)	0,75 ± 1,50 (2)	0,75 ± 1,50 (4)	0,28 (1)	0,42 ± 1,13 (7)	
<i>Coereba flaveola</i>	(0)	7,0 ± 4,58 (3)	3,0 ± 5,19 (3)	(0)	3,20 ± 3,27 (5)	0,78 ± 2,42 (14)	2,28 ± 3,64 (25)	<b>U = 19,0, p = 0,050</b>
<i>Saltator maximus</i>	(0)	(0)	1,77 ± 1,71 (9)	1,71 ± 2,21 (7)	1,0 ± 1,67 (6)	0,75 ± 1,48 (8)	1,33 ± 1,74 (30)	H = 2,400, p = 0,493
<i>Saltator similis</i>	(0)	(0)	3,05 ± 3,84 (17)	2,50 ± 3,53 (2)	2,28 ± 2,26 (7)	(0)	2,80 ± 3,42 (26)	U = 56,0, p = 0,839
<b>Total</b>	1,12 ± 2,10 (216)	2,92 ± 3,18 (276)	2,51 ± 5,22 (309)	1,45 ± 2,58 (142)	2,22 ± 3,27 (193)	0,73 ± 2,39 (152)	1,99 ± 3,73 (1288)	<b>H = 50,29, &lt; 0,0001</b>



**Figura 5 (A-H):** Espécies em que a parasitemia diferiu estatisticamente entre as áreas de estudo. As barras representam as médias e os traços, os erros-padrão. **A-D):** diferenças obtidas pelo teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ). **E-F):** diferenças obtidas pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ). \* = representa as diferenças obtidas pelo teste de comparações múltiplas de Dunn ( $p < 0,05$ ). (Áreas de estudo: AF: Água Fria, GA: Galheiro, GL: Glória, SJ: São José, SB: Parque do Sabiá, SI: Parque Siquierolli).

## DISCUSSÃO

Verificou-se que parasitos hemospórideos ocorrem em todas as áreas do estudo sob uma prevalência média geral de 40,1%. Estudos anteriores conduzidos no mesmo bioma encontraram prevalências inferiores: 19,1% (FERREIRA-JUNIOR et al., 2018) e 19,89% (RIBEIRO et al., 2020a), enquanto outros encontraram prevalências superiores: 49% (BELO et al., 2011) e 54,8% (LACORTE et al., 2013). Portanto, a prevalência de hemospórideos varia conforme a localização do estudo, pois a transmissão de tais parasitos é influenciada por diversas variáveis abióticas e bióticas, como temperatura, umidade, vegetação, biologia e comportamento dos hospedeiros (FECCHIO et al., 2019; ELLIS et al., 2020; CHAPA-VARGAS et al., 2020; RODRIGUES et al., 2021). Todas as espécies examinadas no presente estudo apresentaram indivíduos infectados por *Plasmodium* spp., enquanto apenas cinco espécies foram positivas para *Haemoproteus* spp. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que os parasitos do gênero *Haemoproteus* são restritos aos órgãos internos dos hospedeiros em certos períodos do ano, sendo difícil de detectá-los no sangue periférico (MENDES et al., 2013; PÉREZ-RODRIGUÉZ et al., 2015; FERREIRA-JUNIOR et al., 2017). Além disso, o desenvolvimento dos parasitos do gênero *Plasmodium* é favorecido pelo calor (LAPOINTE et al. 2010; RODRIGUES et al., 2021) o que poderia explicar a ocorrência em todas as espécies examinadas, considerando que o Cerrado brasileiro é um bioma tropical que está cada vez mais quente (HOFMANN et al., 2021).

A parasitemia dos indivíduos diferiu entre as áreas de estudo, sendo a maior média encontrada no fragmento florestal Galheiro. Essa é uma área relativamente grande (260 ha), com pouca influência antrópica, pois está dentro de uma unidade de conservação ambiental localizada aproximadamente a 20 km da cidade mais próxima (BAESSE et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020). É margeada por um grande reservatório de uma usina

hidrelétrica (reservatório de Nova Ponte, MG) e apresenta vários cursos de água bem distribuídos espacialmente, incluindo cinco nascentes (CEMIG, 2014). Estas características podem favorecer o desenvolvimento dos vetores e podem explicar a maior prevalência e parasitemia. Estudos anteriores encontraram maiores prevalências em áreas preservadas, e sugerem que tais resultados se devem ao fato destas áreas serem abundantes em água e cobertura florestal, fatores propícios para a biologia dos vetores (LAURANCE et al., 2013; ELIKWO et al. 2020; SANTIAGO-ALARCON et al., 2020; TCHOUMBOU et al. 2020; FECCHIO et al., 2021a). Em contrapartida, a área mais antropizada e degradada do presente estudo (Parque Siquierolli) apresentou a menor prevalência e parasitemia. Esta área possui fragmento florestal pequeno (23 ha), localizado em um parque urbano margeado por quatro bairros e uma rodovia. Apresenta trilhas com solos compactados devido à movimentação constante de pessoas, conta com dois córregos poluídos por efluentes nas bordas superior e lateral do parque, e tem a mata descontinuada em algumas partes, onde existem pastagens com gramíneas invasoras, sem vegetação arbórea significativa (REZENDE et al., 2012). Esses fatores podem explicar a baixa parasitemia, pois a abundância de recursos hídricos e o acúmulo de água são fundamentais para a proliferação de vetores e conseqüentemente para a transmissão dos parasitos (KRAMA et al., 2015; CHAPA-VARGAS et al., 2020). A compactação do solo gera maior escoamento de água (ZEMKE et al., 2019), podendo impedir a formação de poças. A baixa cobertura florestal proporciona dessecação no interior das matas, o que pode influenciar as comunidades de vetores, reduzindo seus habitats de reprodução (BRIANT et al., 2010; LAURANCE et al., 2013). Além disso, a poluição pode afetar negativamente a sobrevivência dos vetores de hemossporídeos aviários e diminuir as taxas de infecção nos hospedeiros (VALKIUNAS, 2005; CHAPA-VARGAS et al., 2020).

Não foi encontrada diferença na parasitemia ao comparar as áreas por grupos (rural, periurbano e urbano). Aparentemente, a urbanização não interfere na parasitemia, mas sim as características específicas de cada área. Por exemplo, o fragmento florestal de Água Fria apresentou parasitemia inferior ao de Galheiro e ambos são áreas rurais grandes e distantes (20 km) do ambiente urbano (BAESSE et al., 2019). Entretanto, o fragmento de Galheiro situa-se em uma reserva ambiental e tem mais recursos hídricos (cerca de 5,20 ha em um raio de 1 km<sup>2</sup>), enquanto o de Água Fria tem apenas um ribeirão (0,90 ha) e está dentro de uma fazenda privada de uso agropecuário, com plantações de soja, tomate e pastagens (LOPES, 2010). É provável que a maior disponibilidade de água em Galheiro favoreça os vetores e aumente as infecções, mas também é provável que o possível uso de agrotóxicos nas plantações no entorno do fragmento florestal de Água Fria afete a comunidade local de vetores, diminuindo a transmissão dos parasitos (VALKIUNAS, 2005; CHAPA-VARGAS et al., 2020). Um estudo feito no Ribeirão de Água Fria encontrou baixa diversidade de macroinvertebrados bentônicos, incluindo Diptera, o que foi atribuído aos distúrbios antrópicos causados pelas áreas de pastagem e plantio nos arredores do fragmento florestal (PEREIRA, 2018). Outro exemplo, é que o fragmento florestal de São José apresentou parasitemia inferior ao do Glória e ambos são áreas periurbanas com aproximadamente 0,5 km de distância da cidade (BAESSE et al., 2019), porém o Glória tem duas nascentes, uma lagoa e um córrego (somados representam uma área de aproximadamente 2,26 ha) dentro do fragmento florestal (PRIETO; COLESANTI, 2012), e no entorno há vários reservatórios artificiais para piscicultura e ranicultura (DOURADO et al., 2016), enquanto o São José tem apenas um córrego (0,30 ha) em uma das extremidades do fragmento. Por último, seguindo o mesmo padrão, o Parque Siquierolli apresentou parasitemia inferior ao Parque do Sabiá, e ambos estão localizados dentro da cidade de Uberlândia, porém o Parque do Sabiá possui um conjunto

hidrográfico que perpassa por toda a área (cerca de 4,84 ha em um raio de 1 km<sup>2</sup>), sendo constituído por três nascentes e um córrego que abastecem uma lagoa maior e sete outras menores, também há uma estação de piscicultura com diversos tanques, enquanto o Parque Siquierolli tem apenas dois córregos pequenos (0,30 ha) e poluídos nas extremidades (MOREIRA et al., 2011). O Parque do Sabiá foi inaugurado em 1982 e o Parque Siquierolli em 2002, isso reflete na estrutura da vegetação arbórea de ambos, sendo que o mais antigo está em estágio de sucessão mais avançado, com maior cobertura florestal (MOREIRA et al., 2011; REZENDE et al., 2012), fatores que podem oferecer melhores condições para os habitats de reprodução dos vetores (YASOUKI, 2007; TCHOUMBOU et al., 2020). Por fim, sugere-se que as características das áreas, sobretudo a abundância de recursos hídricos seja um dos fatores que influenciam na maior parasitemia. Tal constatação pode ser confirmada pela correlação positiva e significativa encontrada entre o tamanho da área de recursos hídricos em um raio de 1 km<sup>2</sup> em cada fragmento florestal com as parasitemias médias das aves (Fig. 3).

Houve diferença significativa na parasitemia em seis espécies (*Nonnula rubecula*, *Conopophaga lineata*, *Antilophia galeata*, *Pitangus sulphuratus*, *Turdus leucomelas*, *Coereba flaveola*) entre os fragmentos florestais estudados. O padrão exibido pelos indivíduos repete nessas espécies, pois foi observado que Galheiro, Glória e Parque do Sabiá também são as áreas com maior parasitemia (Figura 5). Essas espécies apresentam determinado grau de dependência de áreas florestais para sobreviverem, principalmente matas de galeria, (exceto *P. sulphuratus*), sendo que *N. rubecula*, *C. lineata*, *A. galeata* são dependentes florestais, e *T. leucomelas* e *C. flaveola* semi-dependentes florestais (SILVA, 1995). São espécies que vivem próximas a corpos de água (PASCOTTO et al., 2016; MARÇAL; LOPES, 2019; GARUTI et al., 2020), o que poderia explicar a maior parasitemia nas áreas com maior abundância de recursos hídricos. Entretanto, *P.*



*sulphuratus* é independente florestal, pois consegue sobreviver em ambientes de vegetação aberta (SILVA, 1995), porém, é uma espécie que forma bandos (OLIVERA et al., 2014). O comportamento gregário é associado a maior susceptibilidade ao parasitismo, pois os vetores dípteros localizam os hospedeiros pela emissão de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), e um bando pode emitir mais CO<sub>2</sub> do que indivíduos solitários (FECCHIO et al., 2011; RIBEIRO et al., 2020a). Esses fatores podem explicar a maior parasitemia de *P. sulphuratus* no Parque do Sabiá, ao considerar que esta área apresenta melhores condições ambientais para criadouros de vetores, quando comparado ao Parque Siquierolli. Embora essas espécies tenham diferenças quanto à dependência florestal, todas são residentes e não apresentam comportamento migratório (PIACENTINI et al., 2015; BAESSE, 2019), sendo possivelmente restritas a tais áreas. Portanto, os resultados obtidos nesses organismos podem ser utilizados como uma resposta eficiente dos efeitos dos parasitos hemossporídeos em populações de aves sob diferentes condições ambientais e de perturbação antrópica (urbanização).

Era esperado que as parasitemias correlacionassem positivamente com as razões H/L, indicando que quanto maior a infecção, maior o estresse. Entretanto, foram encontradas correlações negativas, tanto para os indivíduos em geral, quanto para sete espécies (*D. mentalis*, *T. pelzelni*, *T. sulphurescens*, *T. rufiventris*, *T. amaurochalinus*, *D. cayana*, *S. maximus*). Essas correlações indicam que baixas parasitemias estão associadas a valores elevados da razão H/L. Tais resultados podem ser interpretados como possível controle das infecções pelas aves. A razão H/L é uma ferramenta indicadora de estresses crônicos, pois a resposta não é imediata ao agente estressor, e as alterações na disponibilidade e proporção de leucócitos tendem a permanecer por períodos prolongados (DAVIS et al., 2008; DAVIS; MANEY, 2018). É possível que as aves consigam diminuir as parasitemias, mas as razões H/L permaneçam elevadas como resposta ao estresse

gerado pelos parasitos, considerando que tais respostas podem ocorrer em tempos distintos. Durante uma infecção, os parasitos hemosporídeos geram compostos citotóxicos ao digerir a hemoglobina, enquanto as células do sistema imunológico inato liberam moléculas reativas para atacar os parasitos, porém, tais moléculas têm como alvo todas as células vivas, e são capazes de gerar muitos danos às células e tecidos circundantes do hospedeiro (VIDEVALL et al., 2015). Este cenário pode prolongar os valores elevados da razão H/L, como resposta aos estresses sofridos anteriormente pelo organismo. Portanto, a razão H/L elevada pode não corresponder a uma resposta imune atual às infecções por hemosporídeos (BIARD et al., 2015). Estudos prévios confirmam tais interpretações, como Biard et al. (2015) que não encontraram relação entre razão H/L e parasitismo quando o nível de infecção era alto, mas quando as cargas parasitárias estavam baixas, a razão H/L foi preditiva. Um estudo feito com *A. galeata* encontrou correlação negativa entre razão H/L e outro tipo de agente estressor (micronúcleos) e também foi sugerido que a resposta ao estresse pode ocorrer em tempos diferentes (RIBEIRO et al., 2020b).

## CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo indicam que os parasitos hemosporídeos são favorecidos em áreas com maiores recursos para a reprodução e desenvolvimento dos vetores, independentemente da localização (rural, peri-urbana e urbana), pois áreas com maior abundância de recursos hídricos apresentaram maiores parasitemias. Isso sugere que áreas com melhores recursos são capazes de manter o ciclo de transmissão dos hemosporídeos. Portanto, tais parasitos podem ser úteis em estudos de biomonitoramento ambiental. Os resultados também mostraram que a avifauna estudada pode estar imunologicamente ativa e possivelmente desempenha controle das

infecções, pois parasitemias baixas correlacionaram com a razão H/L. No entanto, ressalta-se que todas as espécies apresentaram infecções por *Plasmodium* spp., parasito que é favorecido por aumentos de temperatura. Essa relação merece atenção e monitoramento constante em pesquisas futuras, considerando os possíveis efeitos das mudanças climáticas sobre o Cerrado brasileiro.

### REFERÊNCIAS<sup>3</sup>

ATKINSON, C. T.; LA POINTE, D. A. Introduced avian diseases, climate change, and the future of Hawaiian honeycreepers. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 23, n. 1, p. 53-63, 2009. <https://doi.org/10.1647/2008-059.1>

BAESSE, C. Q. **Análise de micronúcleos em aves como ferramenta de biomonitoramento do efeito da poluição em ambientes florestais e urbanos**. 2019. 57 f. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2450>

BAESSE, C. Q. *et al.* Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 171, p. 631-637, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.026>

BAUEROVÁ, P. *et al.* Associations of urban environmental pollution with health-related physiological traits in a free-living bird species. **Science of the Total Environment**, v. 601, p. 1556-1565, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.276>

BAUEROVÁ, P. *et al.* Longitudinally monitored lifetime changes in blood heavy metal concentrations and their health effects in urban birds. **Science of The Total Environment**, p. 138002, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138002>

BELO, N. O. *et al.* Prevalence and lineage diversity of avian haemosporidians from three distinct cerrado habitats in Brazil. **PLoS One**, v. 6, n. 3, p. e17654, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017654>

BIARD, C. *et al.* Interpreting immunological indices: The importance of taking parasite community into account. An example in blackbirds *Turdus merula*. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 8, p. 960-972, 2015. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12371>

BOSHOLN, M., A. *et al.* Effects of avian malaria on male behaviour and female visitation in lekking Blue-crowned Manakins. **Journal of Avian Biology**, v. 47, n. 1, p. 457-465, 2016. <https://doi.org/10.1111/jav.00864>

---

<sup>3</sup> Referências formatadas de acordo com a NBR 6023 (ABNT, 2018).

BRIANT, G. *et al.*. Habitat fragmentation and the desiccation of forest canopies: a case study from eastern Amazonia. **Biological conservation**, v. 143, p. 11, p. 2763-2769, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.07.024>

CAMPBELL, T. **Exotic animal hematology and cytology**. New Jersey: John Wiley & Sons, 402p. 2015. <https://doi.org/10.1002/9781118993705>

CEMIG GERAÇÃO E TRANSMISSÃO S.A. **Revisão do plano de manejo da Reserva Particular do Patrimônio Natural RPPN Galheiro**. Belo Horizonte: Brandt Meio Ambiente Ltda. 2014. 115p. Disponível em: [https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/plano\\_de\\_manejo\\_8247534\\_rppn\\_galheiro.pdf](https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/plano_de_manejo_8247534_rppn_galheiro.pdf) Acesso em 12 dez. 2021.

CHAPA-VARGAS, L. *et al.* Effects of Ecological Gradients on Tropical Avian Hemoparasites. In: SANTIAGO-ALARCON, D., MARZAL, A. (org.) **Avian Malaria and Related Parasites in the Tropics**. Springer, Cham, p. 349-377, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8_10)

CID, F. D. *et al.* House sparrow biomarkers as lead pollution bioindicators. Evaluation of dose and exposition length on hematological and oxidative stress parameters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 154, p. 154-161, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.040>

CLARK, N. J. *et al.* A review of global diversity in avian haemosporidians (*Plasmodium* and *Haemoproteus*: Haemosporida): new insights from molecular data. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 5, p. 329-338, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.01.004>

CLARK, P. *et al.* **Atlas of clinical avian hematology**. New Jersey: John Wiley & Sons, 184p. 2009.

DAVIS, A. K. *et al.* The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. **Functional Ecology**, v. 22, n. 5, p. 760-772, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

DAVIS, A. K.; MANEY, D. L. The use of glucocorticoid hormones or leucocyte profiles to measure stress in vertebrates: What's the difference?. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 6, p. 1556-1568, 2018. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13020>

DE LA TORRE, G. M. *et al.* Hemoparasites and their relation to body condition and plumage coloration of the White-necked thrush (*Turdus albicollis*). **Ethology Ecology & Evolution**, v. 32, n. 6, p. 509-526, 2020. <https://doi.org/10.1080/03949370.2020.1769739>

DHONDT, A. A.; DOBSON, A. P. Stress hormones bring birds, pathogens and mosquitoes together. **Trends in Parasitology**. v. 33, n. 1, p. 339-341, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.01.001>

DINHOPL, N. *et al.* In situ hybridization and sequence analysis reveal an association of Plasmodium spp. with mortalities in wild passerine birds in Austria. **Parasitology Research**, v. 114, n. 4, p. 1455-62, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4328-z>

DOURADO, J. M. *et al.* Caracterização e avaliação da qualidade da água na produção de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) no setor de ranicultura da Universidade Federal de Uberlândia. **Investigação**, v. 15, n. 5, p. 44-48. 2016. <https://doi.org/10.26843/investigacao.v15i5.1444>

ELIKWO, M. N. F. *et al.* Effects of Deforestation on Avian Parasitic Co-infections in Recaptured Birds from an African Tropical Rainforest. **Nanotechnology & Applications**, v. 2, n.1, p.1-13, 2020. Disponível em: <http://scivisionpub.com/pdfs/effects-of-deforestation-on-avian-parasitic-coinfections-in-recaptured-birds-from-an-african-tropical-rainforest-1082.pdf>. Acesso em 12 dez. 2021.

ELLIS, V. A. *et al.* Haemosporidian parasites of Neotropical birds: Causes and consequences of infection. **The Auk**, v. 137, n. 4, p. 1-16, 2020. <https://doi.org/10.1093/auk/ukaa055>

FECCHIO, A. *et al.* High prevalence of blood parasites in social birds from a neotropical savanna in Brazil. **Emu**, v. 111, n. 2, p. 132-138, 2011. <https://doi.org/10.1071/MU10063>

FECCHIO, A. *et al.* Climate variation influences host specificity in avian malaria parasites. **Ecology Letters**, v. 22, n. 3, p. 547-557, 2019. <https://doi.org/10.1111/ele.13215>

FECCHIO, A. *et al.* Higher infection probability of haemosporidian parasites in Blue-black Grassquits (*Volatinia jacarina*) inhabiting native vegetation across Brazil. **Parasitology International**, v. 80, p.102204, 2021a. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102204>

FECCHIO, A. *et al.* Loss of forest cover and host functional diversity increases prevalence of avian malaria parasites in the Atlantic Forest. **International Journal for Parasitology**. v. 51, n. 9, p. 719-728, 2021b. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.01.001>

FERRAGUTI, M. *et al.* Ecological determinants of avian malaria infections: an integrative analysis at landscape, mosquito and vertebrate community levels. **Journal of Animal Ecology**. v. 87, p. 727-740, 2018. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12805>.

FERRAGUTI, M. *et al.* Anthropogenic Effects on Avian Haemosporidians and Their Vectors. In: SANTIAGO-ALARCON, D.; MARZAL, A. (org.) **Avian Malaria and Related Parasites in the Tropics**. Springer, Cham. p. 451-485, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8_14)

FERREIRA JUNIOR, F. C. *et al.* Habitat modification and seasonality influence avian haemosporidian parasite distributions in southeastern Brazil. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0178791, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178791>

- FERREIRA-JUNIOR, F. C. *et al.* A new pathogen spillover from domestic to wild animals: *Plasmodium juxtannucleare* infects free-living passerines in Brazil. **Parasitology**, v. 145, n. 14, p.1949-1958, 2018. <https://doi.org/10.1017/S003118201800077X>
- FOKIDIS, H. B. *et al.* Interspecific variation in avian blood parasites and haematology associated with urbanization in a desert habitat. **Journal of Avian Biology**, v. 39, n. 1, p. 300-310, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.0908-8857.2008.04248.x>
- FREITAS, É. V. D. *et al.* Urbanization alters the composition, but not the diversity and structure, of Neotropical savanna woody plant communities. **Folia Geobotanica**, v. 55, n. 1, p. 95-108, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12224-020-09366-4>
- GARAMSZEGI, L. Z. Climate change increases the risk of malaria in birds. **Global Change Biology**, v. 17, n. 5, p. 1751-1759, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02346.x>
- GARUTI, M. T. *et al.* Avifauna associada ao Rio Guaxinduba, Caraguatatuba, São Paulo, Brasil. **Environmental Smoke**, v. 3, n. 1, p. 1-27, 2020. <https://doi.org/10.32435/envsmoke.202031001-027>
- GODFREY, R. D. *et al.* Quantification of hematozoan in blood smears. **Journal of Wildlife Disease**, v. 23, n. 4, p.558-565, 1987. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-23.4.558>
- GONÇALVES, V. F. *et al.* Effects of urban proximity and the occurrence of erythroplastids in *Antilophia galeata*. **Environmental Science and Pollution Research** v. 27, n. 1, p. 44650-44655, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10057-y>
- HERNÁNDEZ-LARA, C. *et al.* Spatial and seasonal variation of avian malaria infections in five different land use types within a Neotropical montane forest matrix. **Landscape and Urban Planning**, v. 157, n. 1, p.151-160, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2016.05.025>
- JIMENEZ-PENUELA, J. *et al.* Urbanization and blood parasite infections affect the body condition of wild birds. **Science of The Total Environment**, v. 651, n. 2, p. 3015-3022, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.203>.
- JIMÉNEZ-PENUELA, J. *et al.* Urbanization effects on temporal variations of avian haemosporidian infections. **Environmental Research**, v. 199, p. 111234, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111234>
- KRAMA, T. *et al.* Intensity of haemosporidian infection of parids positively correlates with proximity to water bodies, but negatively with host survival. **Journal of Ornithology**, v. 156, n. 4, p.1075-1084, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10336-015-1206-5>
- LACORTE, G. A. *et al.* Exploring the diversity and distribution of neotropical avian malaria parasites—a molecular survey from Southeast Brazil. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e57770, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057770>

LAPOINTE D. A. *et al.* Thermal constraints to the sporogonic development and altitudinal distribution of avian malaria *Plasmodium relictum* in Hawaii. **The Journal of Parasitology**, v. 96, n. 2, p. 318-324, 2010. <https://doi.org/10.1645/GE-2290.1>

LAURANCE, S. G. *et al.* Habitat fragmentation and ecological traits influence the prevalence of avian blood parasites in a tropical rainforest landscape. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e76227, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076227>

LIAO, W. *et al.* Mitigating future avian malaria threats to Hawaiian forest birds from climate change. **PloS one**, v. 12, n. 1, p. e0168880, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168880>

LOPES, S. F. **Padrões florísticos e estruturais das Florestas Estacionais Semidecíduais do Triângulo Mineiro, MG.** 2010. 201 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010. <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/13258>

LUEDTKE, B. *et al.* Associations of forest type, parasitism and body condition of two European passerines, *Fringilla coelebs* and *Sylvia atricapilla*. **PloS One**, v. 8, n. 12, p. e81395, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081395>

MARÇAL, B. F.; LOPES, L. E. Breeding biology of the Helmeted Manakin *Antilophia galeata* in an ecotone between the Atlantic Forest and the Cerrado. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 27, n. 1, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.1007/BF03544440>

MARZAL, A. *et al.* Malaria infection and feather growth rate predict reproductive success in house martins. **Oecologia**, v. 171, n. 4, p. 853-861, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2444-3>

MEISSNER, W. *et al.* Relationship between blood lead levels and physiological stress in mute swans (*Cygnus olor*) in municipal beaches of the southern Baltic. **Science of the Total Environment**, v. 710, n. 1, p. 136292, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136292>

MENDES, L. *et al.* Hidden haemosporidian infections in Ruffs (*Philomachus pugnax*) staging in Northwest Europe en route from Africa to Arctic Europe. **Parasitology Research**, v. 112, p. 2037-2043, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3362-y>

MOREIRA, V. B. *et al.* Os parques urbanos de Uberlândia - MG: levantamento e caracterização destes espaços a partir da visão de seus usuários. **Observatorium: Revista Eletrônica De Geografia**, v. 3, n. 8, p. 2-26, 2011. <http://www.seer.ufu.br/index.php/Observatorium/article/view/45243>

MURIEL, J. *et al.* Prevalence and diversity of avian haemosporidians may vary with anthropogenic disturbance in tropical habitats in myanmar. **Diversity**, v. 13, n. 3, p. 1-19, 2021. <https://doi.org/10.3390/d13030111>

MYERS, N. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000. <https://doi.org/10.1038/35002501>

NOBREGA, R. L. B. *et al.* Effects of conversion of native Cerrado vegetation to pasture on soil hydro-physical properties, evapotranspiration and streamflow on the Amazonian agricultural frontier. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. 1-22, 2017.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179414>

NOVAES, G. T. *et al.* Unidades climáticas do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 23, n. 1, p. 223-243, 2018.

<https://doi.org/10.5380/abclima.v23i0.58520>

OLIVEIRA, A. P. D. *et al.* *Matayba guianensis* (Sapindaceae): Frugivoria por aves em remanescente de cerrado do Centro-Oeste brasileiro. **Sitientibus (série Ciências Biológicas)**, v. 13, n. 1, p. 13-20, 2013. <https://doi.org/10.13102/scb319>

PASCOTTO, M. C. *et al.* Novos registros do macuru *Nonnula rubecula* para o leste de Mato Grosso, Brasil. **Ornithologia**, v. 9, n. 1, p. 30-31, 2016.

<https://www.researchgate.net/publication/296486355>

PATZ, J. A. *et al.* Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1395-1405, 2000.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.01.001>

PEREIRA, L. D. **Diversidade de comunidades de macroinvertebrados bentônicos em córregos de áreas preservadas do Triângulo Mineiro (MG) e Meia Ponte (GO)**. 2018. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/21888>

PEREZ-RODRIGUEZ, A. *et al.* Evolution of seasonal transmission patterns in avian blood-borne parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 45, n. 1, p. 605-611, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.03.008>

<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.03.008>

PETRUCCI, E.; OLIVEIRA, L. A. Relações entre intensidade, duração e frequência das precipitações máximas de 24 horas e equação de chuvas intensas para a cidade de Uberlândia-MG. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 25, p. 337-354, 2019.

<http://dx.doi.org/10.5380/abclima.v25i0.57767>

PIACENTINI, V. Q. *et al.* Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee/Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 23, n. 2, p. 91-298, 2015. <https://doi.org/10.1007/BF03544294>

PRIETO, É. C.; COLESANTI, M. T. M. Câmpus Glória: os impactos socioambientais da expansão da Universidade Federal de Uberlândia. **Sociedade & Natureza**, v. 24, p. 461-475, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1982-45132012000300007>

<https://doi.org/10.1590/S1982-45132012000300007>

REZENDE, P. S. *et al.* Qualidade ambiental em parques urbanos: levantamento e análises de aspectos positivos e negativos do Parque Municipal Victório Siquierolli-Uberlândia-MG. **Observatorium: Revista Eletrônica de Geografia**, v. 4, n. 10, p. 53-73, 2012. <http://www.seer.ufu.br/index.php/Observatorium/article/view/45452>

<http://www.seer.ufu.br/index.php/Observatorium/article/view/45452>



- RIBEIRO, P. V. A. **Perfil leucocitário e hemoparasitos de *Antilophia galeata* (Passeriformes: Pipridae) em um fragmento florestal de Cerrado**. 2018. 91f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018. <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.226>
- RIBEIRO, P. V. A. *et al.* Haemosporidian parasites prevalence associated with physical conditioning of avian species from the Brazilian Cerrado. **Ciência e Natura**, v. 42, n. 1, p. e50, 2020a. <https://doi.org/10.5902/2179460X40002>
- RIBEIRO, P.V.A. *et al.* Leukocyte profile of the helmeted manakin, *Antilophia galeata* (Passeriformes: Pipridae) in a Cerrado forest fragment. **Zoologia**, v. 37, n. 1, p.1-9, 2020b. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e46441>
- RIBEIRO, P. V. A. *et al.* Effects of urbanisation and pollution on the heterophil/lymphocyte ratio in birds from Brazilian Cerrado. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 40204–40212, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19037-w>
- RODRIGUES, R. A. *et al.* Host migration and environmental temperature influence avian haemosporidians prevalence: a molecular survey in a Brazilian Atlantic rainforest. **PeerJ**, v. 9, n. 1, p. e11555, 2021. <https://doi.org/DOI10.7717/peerj.11555>
- SAMUEL, M. D. *et al.* Facilitated adaptation for conservation—Can gene editing save Hawaii's endangered birds from climate driven avian malaria?. **Biological Conservation**, v. 241, n. 1, p. 108390, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108390>
- SAMUEL, M. D. *et al.* Avian malaria in Hawaiian forest birds: infection and population impacts across species and elevations. **Ecosphere**, v. 6, n. 6, p. 1-21, 2015. <https://doi.org/10.1890/ES14-00393.1>
- SANTIAGO-ALARCON, D.; MARZAL, A. Research on Avian Haemosporidian Parasites in the Tropics Before the Year 2000. In: SANTIAGO-ALARCON, D.; MARZAL, A. (org.) **Avian Malaria and Related Parasites in the Tropics**. Cham: Springer, 2020, p. 1-44. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8_1)
- SANTIAGO-ALARCON, D. *et al.* The prevalence of avian haemosporidian parasites in an invasive bird is lower in urban than in non-urban environments. **Ibis**, v. 162, n.1, p. 201-214, 2020. <https://doi.org/10.1111/ibi.12699>
- SCHMID-HEMPEL, P. **Evolutionary parasitology the integrated study of infections, immunology, ecology, and genetics**. Oxford: Oxford University Press, 2020. 543 p. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198832140.001.0001>
- SHUTLER, D.; MARCOGLIESE, D. J. Leukocyte profiles of northern leopard frogs, *Lithobates pipiens*, exposed to pesticides and hematozoa in agricultural wetlands. **Copeia**, v. 2011, n. 2, p. 301-307, 2011. <https://doi.org/10.1643/CP-10-065>

SILVA, J. M. C. Birds of the cerrado region, South America. **Steenstrupia**, v. 21, n. 1, p. 69-92, 1995. <https://www.researchgate.net/publication/260591911>

STEPHENS, P. R. *et al.* The macroecology of infectious diseases: a new perspective on global-scale drivers of pathogen distributions and impacts. **Ecology Letters**, v. 19, n. 1, p. 1159-1171, 2016. <https://doi.org/10.1111/ele.12644>

STRASSBURG, B. B. N. *et al.* Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology and Evolution**, v. 1, n. 4, p. 13-15, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0099>

TCHOUMBOU, M. A. *et al.* Effect of deforestation on prevalence of avian haemosporidian parasites and mosquito abundance in a tropical rainforest of Cameroon. **International Journal for Parasitology**, v. 50, n. 1, p. 63-73, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.10.006>

VALKIŪNAS, G.; ATKINSON, C. T. Introduction to Life Cycles, Taxonomy, Distribution, and Basic Research Techniques. In: SANTIAGO-ALARCON, D.; MARZAL, A. (org.) **Avian Malaria and Related Parasites in the Tropics**. Cham: Springer, 2020. p. 45-80. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8_2)

VALKIUNAS, G. **Avian malaria parasites and other haemosporidians**. Boca Raton: CRC Press, 932p. 2005. <https://doi.org/10.1201/9780203643792>

VANSTREELS, R. E. T. *et al.* Outbreak of avian malaria associated to multiple species of *Plasmodium* in magellanic penguins undergoing rehabilitation in southern Brazil. **Plos One**, v. 9, n. 4, p. e94994, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094994>

VIDEVALL, E. The avian transcriptome response to malaria infection. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 1255-1267, 2015. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv016>

WOJCZULANIS-JAKUBAS, K. *et al.* Blood parasite infestation and the leukocyte profiles in adult and immature reed warblers (*Acrocephalus scirpaceus*) and sedge warblers (*Acrocephalus schoenobaenus*) during autumn migration. **Annales Zoologici Fennici**, v. 49, n. 1, p. 341-349, 2012. <https://doi.org/10.5735/086.049.0507>

YASUOKA, J.; LEVINS, R. Impact of deforestation and agricultural development on anopheline ecology and malaria epidemiology. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, n. 3, p. 450-460. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2007.76.450>

ZEMKE, J. J. *et al.* The influence of soil compaction on runoff formation. A case study focusing on skid trails at forested andosol sites. **Geosciences**, v. 9, n. 5, p. 1-14, 2019. <https://doi.org/10.3390/geosciences9050204>

### **CAPÍTULO 3**

**Efeitos da urbanização e poluição nas infecções por *Plasmodium* e na razão heterófilo/linfócito de canários-belga (*Serinus canaria*)**

## RESUMO

A urbanização e impactos antrópicos geram fatores de estresse para populações naturais, como poluição e desequilíbrio das interações parasito-hospedeiro. As aves são consideradas organismos modelos para estudos de biomonitoramento devido às sensibilidades às alterações ambientais. Os objetivos do presente estudo foram comparar a razão H/L (indicativo de estresse crônico) e infecções por *Plasmodium* (malária aviária) ao longo de 120 dias em dois grupos de canário-belga (*Serinus canaria*) mantidos em gaiolas; um mantido em uma residência de um centro urbano, e outro em uma propriedade rural e distante da urbanização. Em ambas as localidades foram mensurados os níveis de poluentes atmosféricos; monóxido de carbono (CO) e material particulado (PM). Foram mantidos 20 canários em cada grupo, e coletou-se amostras de sangue a cada 15 dias para confecção de extensões sanguíneas e posterior análise em microscópio óptico. A poluição do ar (CO e PM) e os indicadores de estresse crônico (razão H/L) foram significativamente maiores no ambiente urbano, sendo que a razão H/L dos canários urbanos aumentou com tempo de exposição. Esses poluentes são considerados nocivos, portanto, os efeitos encontrados nos canários podem servir como um alerta para a saúde ambiental e humana. As infecções por *Plasmodium* foram maiores no ambiente rural, com prevalência média de 57,1% nos canários rurais e 1,11% nos urbanos. É provável que a urbanização afete a transmissão dos parasitos devido a fatores que controlem a sobrevivência dos vetores, enquanto no ambiente rural existem condições ambientais propícias para a reprodução dos vetores. A parasitemia correlacionou negativamente com a razão H/L nos canários rurais, sugerindo que as infecções são brandas e que os indivíduos podem estar imunologicamente ativos. Os resultados indicam que os canários rurais vivenciam estresses, como parasitismo, no entanto, esse estresse não é significativamente maior do que o estresse enfrentado pelos canários urbanos, como poluição atmosférica e urbanização.

**Palavras-chave:** Biomonitoramento, estresse, malária aviária, monóxido de carbono, material particulado.

## ABSTRACT

Urbanization and human impacts generate stress factors for natural populations, such as pollution and imbalance in parasite-host interactions. Birds are considered model organisms for biomonitoring studies due to their sensitivities to environmental changes. The objectives of the study were to compare the H/L ratio (indicative of chronic stress) and *Plasmodium* infections (avian malaria) over 120 days in two groups of domestic canary (*Serinus canaria*); one kept in an urban center, and the other in a rural area far from urbanization. In both locations, the levels of atmospheric pollutants were measured; carbon monoxide (CO) and particulate matter (PM). Twenty canaries were kept in each group, and blood samples were collected every 15 days to produce blood smears and subsequent analysis under an optical microscope. Air pollution (CO and PM) and chronic stress indicators (H/L ratio) were significantly higher in the urban environment, and the H/L ratio of urban canaries increased with exposure time. These pollutants are considered harmful, so the effects found in canaries can serve as an alert for environmental and human health. *Plasmodium* infections were higher in the rural environment, with an average prevalence of 57.1% in rural canaries and 1.11% in urban ones. It is likely that urbanization affects the transmission of the parasites due to factors that control the survival of vectors, while in the rural environment there are favorable environmental conditions for the reproduction of vectors. Parasitaemia was negatively correlated with the H/L ratio in rural canaries, suggesting that infections are mild and that individuals may be immunologically active. The results indicate that rural canaries experience stresses such as parasitism, however this stress is not significantly greater than the stress faced by urban canaries such as air pollution and urbanization.

**Keywords:** Biomonitoring, stress, avian malaria, carbon monoxide, particulate matter.

## INTRODUÇÃO

A urbanização é uma das maiores causas de perda de biodiversidade em todo o mundo. O avanço das cidades contribui para a fragmentação, perda de hábitat e desequilíbrio das interações de espécies (LIU et al., 2016; SANTIAGO-ALARCOM; DELGADO-V, 2017; SCHNEIBERG et al., 2020). As atividades humanas no ambiente urbano geram vários fatores de estresse ambiental para as populações animais, incluindo poluição química, sonora e luminosa (ISAKSSON, 2018). Os principais poluentes químicos e sonoros nas áreas urbanas são gerados pelo tráfego, como a combustão de combustíveis fósseis que gera altos níveis de óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>), monóxido de carbono (CO) e materiais particulados (PM) (ISAKSSON, 2018; DEHGHANI et al., 2018; YANG et al., 2020), além dos ruídos produzidos pelos veículos automotores (IGLESIAS-MERCHAN et al., 2021) enquanto que a principal fonte de poluição luminosa nas cidades são as luzes artificiais durante a noite (ISAKSSON, 2018). Existem outros estressores, como a própria presença humana, que podem ser percebidos como uma ameaça, e também a introdução de espécies exóticas, as quais podem atuar como predadores ou transmissores de novos patógenos (SANTIAGO-ALARCOM; DELGADO-V, 2017; ISAKSSON, 2018; FERREIRA-JUNIOR et al., 2018).

Os organismos que vivenciam esses estresses e são capazes de gerar alterações morfológicas, fisiológicas ou comportamentais são denominados biomonitores (FRÄNZLE, 2003; MARKERT et al., 2003). As aves são consideradas excelentes organismos biomonitores devido às sensibilidades às alterações ambientais e a capacidade de se adaptarem a tais modificações (KALISIŃSKA, 2019; BAESSE, 2019). Dentre as ferramentas de biomonitoramento em aves, destacam-se as análises hematológicas, como a identificação e quantificação de células e parasitos sanguíneos, pois são métodos pouco invasivos e que podem trazer indicativos da qualidade do meio ambiente (BAESSE et al., 2015, 2019; GONÇALVES et al., 2020, ELIKWO et al., 2020).

A razão entre os principais leucócitos aviários (heterófilo/linfócito), conhecida como razão H/L é um exemplo disso, pois é uma ferramenta amplamente utilizada como indicativo de estresses crônicos (DAVIS; MANEY, 2018). Valores elevados desta razão foram observados em diversos estudos em aves expostas à urbanização, poluição atmosférica, química e sonora indicando que tais perturbações antrópicas causam estresses nas aves (BEDANOVA et al., 2010; POWELL et al. 2013; BAUEROVÁ et al., 2017, 2020; CID et al., 2018; MEISSNER et al., 2020; RIBEIRO et al., 2022).

Outra ferramenta que pode ser aplicada no biomonitoramento são os parasitos da malária aviária (*Plasmodium*), protozoários sanguíneos transmitidos por mosquitos vetores (Diptera: Culicidae) (VALKIUNAS, 2005). A urbanização pode atuar como um fator disruptivo nos ciclos de determinados parasitos transmitidos por vetores. Em várias cidades tropicais é comum a pulverização das ruas com inseticidas como malation e piriproxifeno no controle de vetores de arboviroses (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019; CAMPOS et al., 2020). Além disso, nas cidades também pode haver a presença de poluentes derivados de atividades humanas como antibióticos e produtos de higiene pessoal em águas onde os mosquitos se reproduzem, o que pode afetar o desenvolvimento dos mosquitos e a sobrevivência dos parasitos (HEGDE et al., 2015; MARTÍNEZ-DE LA PUENTE et al. 2021; FERRAGUTI et al., 2021). Assim, vários estudos encontraram maior prevalência de malária aviária em áreas rurais ou conservadas, provavelmente devido à presença de melhores condições para criadouros dos vetores, tais como recursos hídricos e estrutura de vegetação densa, mostrando que a presença de *Plasmodium* em aves pode ser um indicativo de qualidade ambiental (LAURANCE et al., 2013; SANTIAGO-ALARCON et al., 2020; TCHOUMBOU et al. 2020; ELIKWO et al., 2020; FECCHIO et al., 2021a).

Uma espécie de ave amplamente utilizada em estudos experimentais é o canário-belga (*Serinus canaria*). Os canários são Passeriformes da família Fringillidae originários das Ilhas Canárias, os quais foram introduzidos no mundo todo a partir do século XV e desde então são criados como animais de estimação (PARSONS, 1987; TAMURA et al., 2021). Historicamente foram usados como sentinelas da saúde ambiental e humana, pois costumavam ser levados às minas para indicar concentrações tóxicas de metano (KALISIŃSKA, 2019). Além disso, são considerados organismos modelo para infecções experimentais com *Plasmodium*, pois suas respostas ajudam a compreender melhor a relação parasito-hospedeiro, podendo ser aplicadas para outras espécies de aves (KAZLAUSKIENE et al. 2013; PALINAUSKAS et al., 2015; LUTZ et al., 2016; CARLSON et al, 2018).

O presente estudo se propõe a comparar a razão H/L e a parasitemia de *Plasmodium* ao longo de 120 dias em dois grupos de canário-belga, um mantido no centro de uma cidade de mais de 700 mil habitantes, e outro mantido em uma área rural e distante da urbanização. Não houve infecções experimentais ou exposições experimentais a poluentes, pois objetivamos ter uma estimativa das condições reais nas quais as aves estão expostas nos dois tipos de habitats. Espera-se que os canários urbanos apresentem maior razão H/L, sugerindo maior estresse devido à poluição gerada pelo tráfego da cidade, enquanto para os canários rurais é esperada maior prevalência e parasitemia de *Plasmodium*, considerando que habitats rurais podem proporcionar melhores condições para reprodução dos vetores. Também se espera que a razão H/L e parasitemia estejam correlacionadas, indicando que aves parasitadas apresentam estresses crônicos.



## MATERIAIS E MÉTODOS

### Área de estudo

O estudo foi realizado em duas localidades (Fig. 1); em uma fazenda na zona rural do município de Araguari (18°41'56.45"S; 48°14'20.81"O) e na região central da zona urbana do município de Uberlândia (18°54'16.11"S; 48°16'2.68"O). Ambos os municípios estão localizados no estado de Minas Gerais, Brasil, sob o domínio do bioma Cerrado e apresentam as mesmas características climáticas, pois estão no subdomínio climático tropical semiseco, com 6-7 meses secos, precipitação pluviométrica anual de 1350-1650 mm, e temperatura média do mês mais frio de 18-21,5°C (NOVAIS et al., 2018).

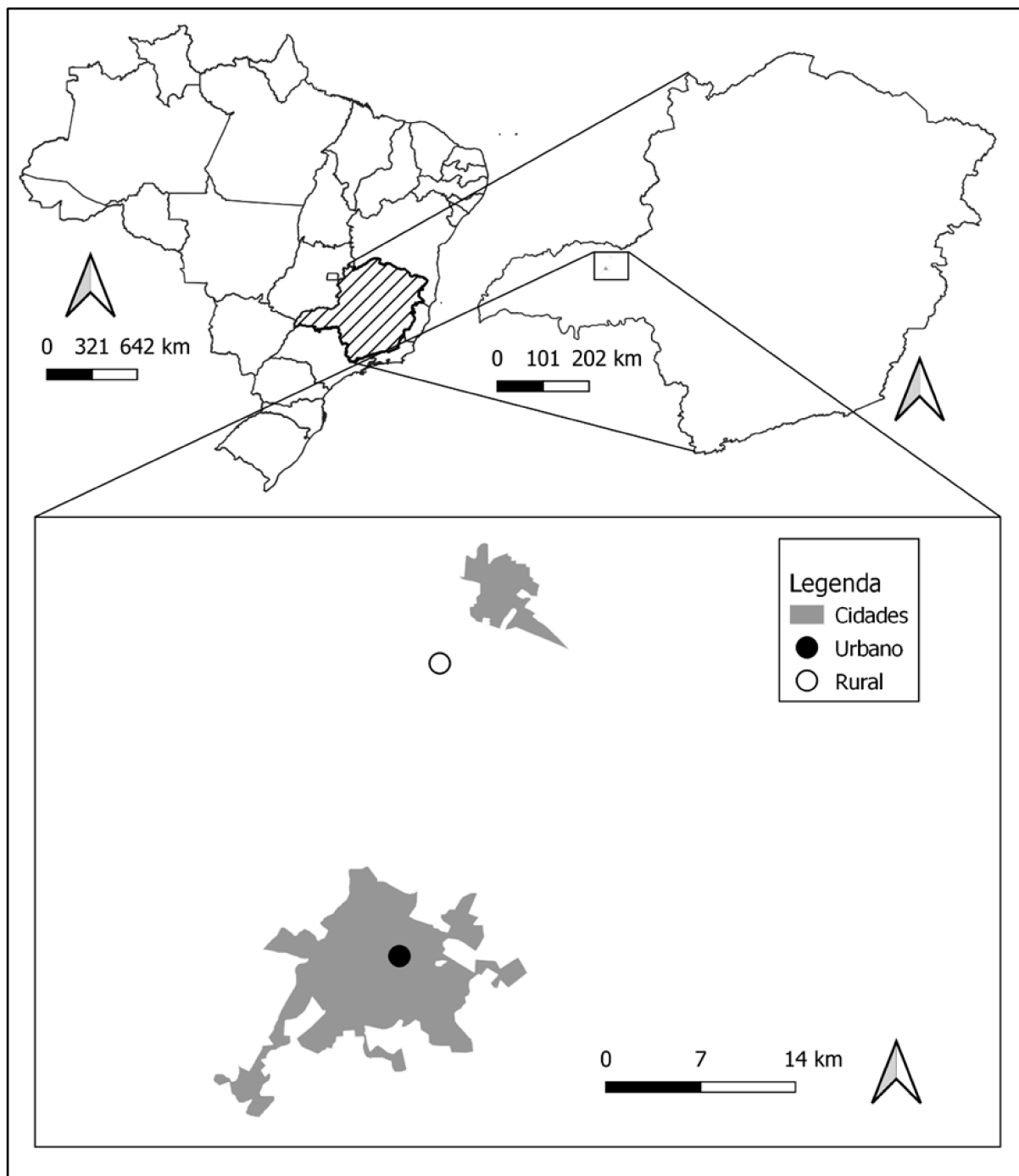
### Experimento

Foram adquiridos 40 indivíduos jovens de canário-belga (*Serinus canaria*) em um criadouro regulamentado. Os canários foram selecionados para possuírem o mesmo porte, pois foi aferido o peso, com dinamômetro de mão, e mediu-se com paquímetro digital o comprimento total, tarsos, asas e bico. Também foram selecionados apenas indivíduos com ausência de ectoparasitos (ácaros e carrapatos). Todos os canários foram anilhados (para individualização e identificação) e passaram por um período de quarentena, onde ficaram isolados de fatores possivelmente estressores, como poluição e barulho. A quarentena ocorreu na Fazenda Fundão no Município de Araguari, localizada aproximadamente 10 km de distância da área urbana (Fig. 1). Em seguida, os canários foram separados em dois grupos. O primeiro grupo, denominado de Grupo Rural (n=20, 10 fêmeas/10 machos) foi mantido na respectiva fazenda. O segundo grupo, denominado de Grupo Urbano (n=20, 10 fêmeas/10 machos) foi mantido na sacada de um prédio (segundo andar) localizado em uma avenida na região central de Uberlândia, onde há

intenso trânsito de veículos (Avenida Afonso Pena, 2316). Em ambas as localidades foram mensuradas as taxas de poluentes atmosféricos; monóxido de carbono (CO) e material particulado (PM) com um medidor de poluentes manual (AK898).

Os canários foram mantidos em gaiolas (170cm de comprimento x 50cm de largura) de arame galvanizado (10 indivíduos por gaiola) e alimentados diariamente com alpiste comercial e água *ad libitum*. As gaiolas eram tapadas com tecido ao anoitecer e destapadas ao amanhecer e apresentavam proteção contra chuva e sol e possíveis predadores. O experimento em ambos os grupos durou 120 dias e a cada 15 dias foram coletadas amostras de sangue para confecção de extensões sanguíneas. Houve coletas nos dias 0 (após quarentena), 15, 45, 30, 60, 75, 90, 105 e 120 de experimento. O sangue de todos os indivíduos foi coletado a partir de uma pequena punção na veia metatarsiana medial com o auxílio de agulhas descartáveis (8mm x 0,3mm). O sangue foi diretamente gotejado sobre uma lâmina de microscopia, e com uma segunda lâmina em inclinação de aproximadamente 45°, foram feitas as extensões sanguíneas (duas por indivíduo). Logo após o sangue ter secado, as lâminas foram fixadas com metanol absoluto e posteriormente coradas com solução de Giemsa e tampão fosfato (BAESSE et al., 2019). As lâminas foram analisadas sob microscopia óptica com objetiva de 100x, utilizando óleo de imersão, sendo contados 200 campos microscópicos por indivíduo (100 por lâmina) (RIBEIRO et al., 2020). Os leucócitos foram quantificados e identificados de acordo com os atlas de hematologia aviária de Clark et al. (2009) e Campbell (2015), e calculou-se a razão H/L a partir da divisão entre o número de heterófilos por linfócitos (RIBEIRO et al., 2022). Os parasitos sanguíneos do gênero *Plasmodium* foram identificados e quantificados conforme as descrições de Valkiunas (2005). Todos os procedimentos realizados com os canários foram previamente submetidos em um protocolo de pesquisa à Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da

Universidade Federal de Uberlândia, o qual foi autorizado sob o número de registro: 038/18 (Anexo 01). Após o fim do experimento, os canários foram doados.



**Figura 1.** Áreas de estudo onde os grupos de canários-belga foram mantidos e as localizações em relação às cidades (Fonte: BAESSE, 2019).

### **Análises estatísticas**

Para verificar se houve diferença na razão H/L e na parasitemia e nas taxas de poluentes entre os dois grupos de canários (rural e urbano), foram realizados testes *t* de Student. Para verificar se a razão H/L e a parasitemia aumentam com o tempo de experimento foram feitas regressões lineares simples. Também foram realizadas correlações de Pearson entre a razão H/L e as parasitemias dos canários, para determinar se as infecções estão relacionadas ao estresse. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism 6.0 e conduzidas no nível de significância de probabilidade (*p*) menor que 0,05.

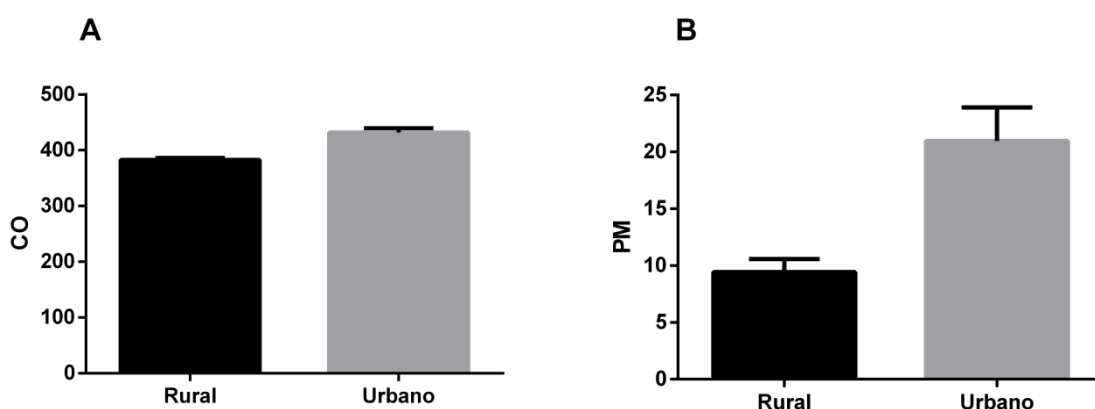
### **RESULTADOS**

As taxas de poluentes atmosféricos, monóxido de carbono (CO) e material particulado (PM) diferiram estatisticamente (CO:  $t = 31,80$ ,  $df = 60$ ,  $p < 0,0001$ ; PM:  $t = 3,672$ ,  $df = 60$ ,  $p = 0,0005$ ) sendo ambas menores no Grupo Rural (CO:  $382 \pm 3,63$ ; PM:  $9,41 \pm 6,36$ ) e maiores no Grupo Urbano (CO:  $432 \pm 7,81$ ; PM:  $20,9 \pm 16,3$ ) (Fig. 2A-B). Foram examinados 40 canários (20 em cada grupo) em nove dias de coleta, totalizando 360 extensões sanguíneas analisadas. A média total da razão H/L no Grupo Rural foi  $0,45 \pm 0,22$ , sendo que ao longo dos dias analisados variou de  $0,30 \pm 0,28$  a  $0,74 \pm 0,79$ . No Grupo Urbano a média total da razão H/L foi  $0,51 \pm 0,24$  com variação de  $0,32 \pm 0,21$  a  $0,88 \pm 0,45$  (Tabela 1). Houve diferença estatística na razão H/L entre os grupos, sendo maior no Grupo Urbano ( $t = 2,870$ ,  $p = 0,0044$ ; Fig. 3A). Verificou-se que a média da razão H/L aumentou com o tempo de experimento no Grupo Urbano ( $F_{1,7} = 6,055$ ,  $p = 0,0434$ , Fig. 4A) porém no Grupo Rural não houve alteração ( $F_{1,7} = 1,779$ ,  $p = 0,2240$ ).

No decorrer do experimento, todos os indivíduos do Grupo Rural apresentaram-se infectados por *Plasmodium* spp. pelo menos em uma amostragem. A prevalência no

Grupo Rural variou de 20% a 90% ao longo dos dias analisados, sendo que a prevalência média total foi 57%. O grupo urbano teve apenas dois indivíduos infectados por *Plasmodium* spp. no primeiro dia de coleta, após isso não foi registrada nenhuma infecção. A prevalência do Grupo Urbano variou de zero a 10%, com média de 1,11% (Tabela 1). Em ambos os grupos não foram observados outros táxons de parasitos sanguíneos, além de *Plasmodium* spp.

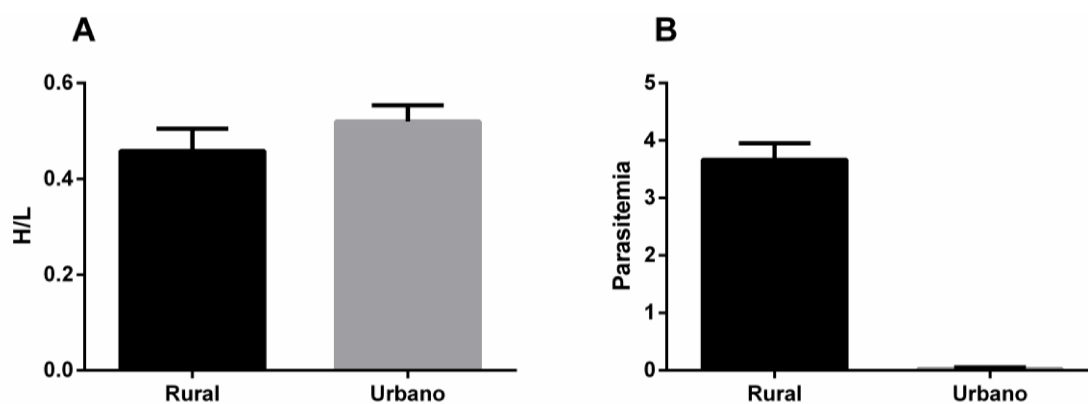
A parasitemia média total do Grupo Rural foi de  $3,66 \pm 1,27$ , com variação de  $0,45 \pm 0,99$  a  $9,85 \pm 8,10$  ao longo do experimento. O Grupo Urbano apresentou parasitemia média total de  $0,03 \pm 0,10$  e variou de zero a  $0,25 \pm 0,91$  (Tabela 1). Houve diferença estatística na média de parasitemia entre os grupos ( $t = 12,73$ ,  $gl = 38$ ,  $p < 0,0001$ , Fig. 3B). As médias de parasitemia de ambos os grupos não se relacionaram com o tempo de experimento (Rural:  $F_{1,7} = 2,487$ ,  $p = 0,1588$ ; Urbano:  $F_{1,7} = 2,978$ ,  $p = 0,1281$ ). Por fim, as médias da razão H/L correlacionaram-se negativamente com as médias de parasitemia no Grupo Rural ( $r = -0,5268$ ,  $gl = 18$ ,  $p = 0,0170$ , Fig. 4B), mas não houve correlação significativa no Grupo Urbano ( $r = -0,1413$ ,  $gl = 18$ ,  $p = 0,5523$ ).



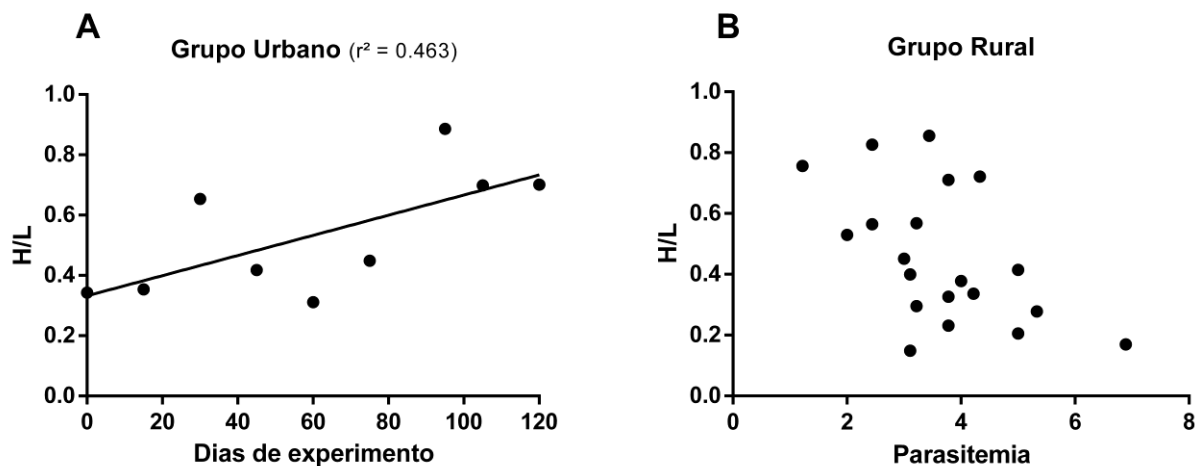
**Figura 2.** Taxas de monóxido de carbono (CO) (A) e de material particulado (PM) (B): principais poluentes atmosféricos encontrados nos locais onde os indivíduos de canário-belga foram expostos. As barras representam as médias e os traços, os erros-padrão.

**Tabela 1.** Valores das médias ( $\bar{x}$ ) e desvios padrão (DP) da razão H/L (heterófilo/linfócito) e da parasitemia, e prevalência (%) de infecção por *Plasmodium* spp. em indivíduos de canário-belga (*Serinus canaria*) nos grupos rural e urbano (n=20 em cada) de acordo com os dias de experimento.

Dias de experimento	Razão H/L ( $\bar{x} \pm DP$ )		Parasitemia ( $\bar{x} \pm DP$ )		Prevalência (%)	
	Rural	Urbano	Rural	Urbano	Rural	Urbano
0	0,36 $\pm$ 0,40	0,32 $\pm$ 0,21	2,85 $\pm$ 2,03	0,25 $\pm$ 0,91	80	10
15	0,74 $\pm$ 1,23	0,35 $\pm$ 0,32	0,95 $\pm$ 1,31	0	40	0
30	0,74 $\pm$ 0,79	0,62 $\pm$ 0,61	0,45 $\pm$ 0,99	0	20	0
45	0,30 $\pm$ 0,28	0,37 $\pm$ 0,54	2,70 $\pm$ 3,43	0	55	0
60	0,30 $\pm$ 0,33	0,31 $\pm$ 0,14	1,90 $\pm$ 2,48	0	45	0
75	0,71 $\pm$ 0,73	0,40 $\pm$ 0,37	3,60 $\pm$ 4,09	0	70	0
90	0,39 $\pm$ 0,29	0,88 $\pm$ 0,45	9,65 $\pm$ 7,57	0	90	0
105	0,36 $\pm$ 0,24	0,70 $\pm$ 0,42	9,85 $\pm$ 8,10	0	70	0
120	0,19 $\pm$ 0,14	0,70 $\pm$ 0,43	1,05 $\pm$ 1,53	0	40	0
<b>Total</b>	0,45 $\pm$ 0,22	0,51 $\pm$ 0,24	3,66 $\pm$ 1,27	0,03 $\pm$ 0,10	56,6	1,11



**Figura 3.** Razão H/L (A) e parasitemia de *Plasmodium* spp. (B) em indivíduos de canário-belga mantidos em ambiente rural e urbano durante 120 dias de exposição. As barras representam as médias e os traços, os erros-padrão.



**Figura 4.** Regressão linear positiva e significativa entre a razão H/L e o tempo de experimento em indivíduos de canário-belga do Grupo Urbano (A). Correlação negativa e significativa entre a razão H/L e a parasitemia em indivíduos de canário-belga do Grupo Rural (B).

## DISCUSSÃO

Indivíduos de canário-belga expostos à urbanização estão sujeitos a vivenciar estresses crônicos, pois foi observado que os canários urbanos apresentaram maior razão H/L quando comparados com os rurais, e que essa razão tende a aumentar com o tempo de exposição na cidade. Estudos anteriores em várias partes do mundo também observaram indicativos de estresse por meio da razão H/L em diferentes espécies de aves expostas à urbanização (RUIZ et al., 2002; EEVA et al., 2005; POWELL et al., 2013; MEISSNER et al., 2020; BAUEROVÁ et al., 2020; RIBEIRO et al., 2022). Existem diversos fatores de origem antrópica nos ambientes urbanos que causam estresses nas aves, como a poluição atmosférica, luminosa e sonora (ISAKSSON, 2018). No presente estudo, os canários urbanos foram mantidos na sacada de um prédio em uma avenida altamente trafegada por veículos automotores. É provável que a iluminação artificial noturna da avenida e os ruídos antrópicos causados pelo tráfego contribuíram para o estresse dos canários urbanos. No entanto, sugere-se que a poluição do ar ocasionada pelos gases dos veículos pode ser um dos principais fatores de estresse, pois foi constatado

que a área urbana apresentou significativamente maiores taxas de poluentes atmosféricos, como monóxido de carbono (CO) e material particulado (PM). Estudos prévios também associaram a razão H/L com poluentes químicos em ambientes urbanos, sugerindo que aves expostas à poluição apresentam maior estresse (EEVA et al., 2005; BAUEROVÁ et al., 2017; CID et al., 2018; MEISSNER et al., 2020; RIBEIRO et al. 2022). Os poluentes registrados no presente estudo são gerados, principalmente, por veículos automotores e são considerados prejudiciais para os seres humanos, estando relacionados a doenças cardiovasculares, autoimunes e câncer (JUNG et al., 2019; DASTOORPOOR et al., 2020; DOMINSKI et al., 2021). O tráfego veicular tem crescido significativamente nos últimos anos em países em desenvolvimento como o Brasil (IBGE, 2020), portanto os efeitos encontrados nos canários podem servir como um alerta para a saúde ambiental e humana.

A urbanização também parece afetar a relação parasito-hospedeiro quanto à malária aviária, pois foi observada maior prevalência e parasitemia nos canários do Grupo Rural, enquanto no Grupo Urbano apenas dois indivíduos apresentaram-se infectados por *Plasmodium* spp. no início da exposição e após isso não foi observada nenhuma infecção. Em contrapartida, no Grupo Rural houve registro de infecções durante todo o período de exposição. É provável que a presença e abundância de vetores possam explicar tais resultados. Sabe-se que os mosquitos necessitam de corpos d'água para reproduzirem, ou de condições ambientais ou vegetações que permitam o acúmulo de água (IBÁÑEZ-BERNAL et al., 2020; CHAPA-VARGAS et al., 2020; FERRAGUTI et al., 2020). No entanto, na localidade onde os canários urbanos foram expostos não há nenhum recurso hídrico ou área verde em um raio de 1 km<sup>2</sup>. O acúmulo de água por influências antrópicas também parece pouco relevante neste caso, pois é uma área totalmente contemplada por serviços de saneamento básico, como rede coletora e fossa séptica de esgotamento sanitário, tratamento de água e esgoto e possui coleta diária de lixo (ARANTES;



PEREIRA, 2017). Além disso, nesta cidade também é comum o uso frequente de larvicidas e inseticidas nas vias públicas e residências para o controle de vetores por meio de políticas públicas de saúde (ARANTES; PEREIRA, 2017; SANTOS et al., 2020). Assim, sugere-se que esses fatores podem contribuir para a interrupção dos ciclos de transmissão de malária aviária em áreas urbanas. Entretanto, na fazenda onde os canários do Grupo Rural foram expostos existem elementos que podem contribuir para uma maior abundância de vetores. É uma fazenda de criação de gado, onde há diversos bebedouros de água para os animais, além de um lago, o que pode propiciar acúmulo de água e servir como criadouro de vetores (IBÁÑEZ-BERNAL et al., 2020; CHAPA-VARGAS et al., 2020; FERRAGUTI et al., 2020). No entorno da propriedade rural também há vários fragmentos florestais, alguns com córregos, o que pode ser um fator relevante, pois é possível que exista uma conexão, por meio dos vetores, dos canários com as aves hospedeiras nativas que vivem nestas florestas, dando continuidade no ciclo de transmissão dos parasitos. Esta hipótese pode ser embasada em um estudo prévio realizado no Cerrado com *Plasmodium juxtannucleare*, onde se encontrou conexão entre aves domésticas e silvestres (FERREIRA-JUNIOR et al., 2018).

A razão H/L é uma ferramenta eficaz em indicar estresses crônicos em aves, sendo o parasitismo considerado um fator estressor (DAVIS et al., 2008; DAVIS; MANEY, 2018). Portanto, era esperado que a razão H/L correlacionasse positivamente com a parasitemia, indicando que aves infectadas apresentassem maior estresse, pois estudos prévios registraram aumentos nas razões H/L em aves parasitadas (FOKIDIS et al., 2008; SHUTLER; MARCOGLIESE, 2011; WOJCZULANIS-JAKUBAS et al., 2012; LUDTKE et al., 2013). No entanto, foi encontrada uma correlação negativa nos canários rurais. Esse resultado pode ser um indicativo de controle das infecções pelos canários. É possível que os indivíduos consigam diminuir as parasitemias, mas as razões H/L

permaneçam elevadas em resposta ao estresse prévio gerado pelos parasitos, pois a resposta da razão H/L não é imediata e tende a permanecer por períodos prolongados (DAVIS et al., 2008; DAVIS; MANEY, 2018). Além disso, nenhum dos canários apresentou sinais clínicos perceptíveis ou mudanças de comportamento, e todos permaneceram visualmente saudáveis durante o período de exposição. Estudos prévios podem corroborar essa interpretação de controle das infecções, como o de Biard et al. (2015) que não encontraram relação entre razão H/L e parasitismo quando o nível de infecção era alto, mas quando as cargas parasitárias estavam baixas, a razão H/L foi preditiva. Outro estudo realizado com aves silvestres no Cerrado também verificou que a razão H/L correlacionou negativamente com a parasitemia de hemosporídeos, sugerindo que tais aves podem estar imunologicamente ativas (RIBEIRO, 2022, ver capítulo 2). Por fim, sugere-se que os canários do Grupo Rural vivenciam estresses, como parasitismo, no entanto, esse estresse não é significativamente maior do que o estresse enfrentado pelos canários do Grupo Urbano, como poluição atmosférica e urbanização.

## CONCLUSÃO

Canários expostos à urbanização apresentam maiores indicativos de estresses crônicos (razão H/L) provavelmente devido aos altos níveis de poluentes atmosféricos gerados pelo tráfego veicular (monóxido de carbono – CO e materiais particulados – PM) no ambiente urbano. Ambos os poluentes são prejudiciais à saúde humana, portanto os resultados encontrados sugerem que as aves podem ser utilizadas como organismos modelos para estudos ecotoxicológicos. Os resultados encontrados também sugerem que a urbanização pode afetar os ciclos de transmissão da malária aviária, pois os canários rurais apresentaram significativamente maiores infecções por *Plasmodium*, possivelmente devido às condições ambientais propícias para o desenvolvimento dos vetores no

ambiente rural. Tais infecções correlacionaram com a razão H/L, sugerindo que o parasitismo também está relacionado a estresses crônicos. Por fim, conclui-se que tanto a razão H/L quanto as infecções por *Plasmodium* podem ser consideradas ferramentas úteis para o biomonitoramento, pois ambas trouxeram informações a respeito da qualidade ambiental dos habitats estudados, e as informações encontradas podem ser importantes para estudos futuros relacionados à saúde ambiental, animal e humana.

## REFERÊNCIAS<sup>4</sup>

- ARANTES, K. M.; PEREIRA B. B. Análise da efetividade das ações de controle da dengue no município de Uberlândia, MG a partir da matriz FPPEEA. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 5, n. 4, p.326-336, 2017. <http://dx.doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v5i4.1331.p326-336.2017>
- BAESSE, C.Q. *et al.* Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 115, 223–228, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.024>
- BAESSE, C. Q.; TOLENTINO V. C. M.; MORELLI S.; MELO C. Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 171, p. 631-637, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.026>
- BAESSE, C. Q. **Análise de micronúcleos em aves como ferramenta de biomonitoramento do efeito da poluição em ambientes florestais e urbanos**. 2019. 57 f. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2450>
- BAUEROVÁ, P. *et al.* Associations of urban environmental pollution with health-related physiological traits in a free-living bird species. **Science of the Total Environment**, v. 601, p. 1556-1565, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.276>
- BAUEROVÁ, P. *et al.* Longitudinally monitored lifetime changes in blood heavy metal concentrations and their health effects in urban birds. **Science of The Total Environment**, v. 723, p. 138002, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138002>
- BEDANOVA, I. *et al.* Responses of peripheral blood leukocytes to chronic intermittent noise exposure in broilers. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 123, n. 5/6, p. 186-191, 2010. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20496823/>

---

<sup>4</sup> Referências formatadas de acordo com a NBR 6023 (ABNT, 2018).

- Biard, C. *et al.* Interpreting immunological indices: The importance of taking parasite community into account. An example in blackbirds *Turdus merula*. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 8, p. 960-972, 2015. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12371>
- CAMPBELL, T. **Exotic animal hematology and cytology**. New Jersey: John Wiley & Sons, 402p. 2015. <https://doi.org/10.1002/9781118993705>
- CAMPOS, K. B. *et al.* Assessment of the susceptibility status of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations to pyriproxyfen and malathion in a nation-wide monitoring of insecticide resistance performed in Brazil from 2017 to 2018. **Parasites Vectors**, v. 13, n. 531, p. 1-18, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04406-6>
- CARLSON, J.S. *et al.* Avian malaria co-infections confound infectivity and vector competence assays of Plasmodium homopolaris. **Parasitology Research**, v. 117, n. 1, p. 2385-2394, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5924-5>
- CHAPA-VARGAS, L. *et al.* Effects of Ecological Gradients on Tropical Avian Hemoparasites. In: SANTIAGO-ALARCON, D.; MARZAL, A. (org.) **Avian Malaria and Related Parasites in the Tropics**. Cham: Springer, 2020. p. 349-377. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8_10)
- CID, F. D. *et al.* House sparrow biomarkers as lead pollution bioindicators. Evaluation of dose and exposition length on hematological and oxidative stress parameters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 154, n. 1, p. 154-161, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.040>
- CLARK, P. *et al.* **Atlas of clinical avian hematology**. New Jersey: John Wiley & Sons, 184p. 2009.
- DASTOORPOOR, M. *et al.* Exposure to particulate matter and carbon monoxide and cause-specific Cardiovascular-Respiratory disease mortality in Ahvaz. **Toxin Reviews**, v. 40, n. 4, 1-11, 2020. <https://doi.org/10.1080/15569543.2020.1716256>
- DAVIS, A. K. *et al.* The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. **Functional Ecology**, v. 22, n. 5, p. 760-772, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>
- DAVIS, A. K.; MANEY, D. L. The use of glucocorticoid hormones or leucocyte profiles to measure stress in vertebrates: What's the difference?. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 6, p. 1556-1568, 2018. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13020>
- DEGHANI, M. H. *et al.* The data on the dispersion modeling of traffic-related PM10 and CO emissions using CALINE3; A case study in Tehran, Iran. **Data in Brief**, v. 19, n. 1, p. 2284-2290, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.07.019>
- DOMINSKI, F. H. *et al.* Effects of air pollution on health: A mapping review of systematic reviews and meta-analyses. **Environmental Research**, v. 201, p. 111487, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111487>

EEVA, T. *et al.* Pollution related effects on immune function and stress in a free-living population of pied flycatcher *Ficedula hypoleuca*. **Journal of Avian Biology**, v. 36, n. 1, p. 405-412, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.0908-8857.2005.03449.x>

ELIKWO, M. N. F. *et al.* Effects of Deforestation on Avian Parasitic Co-infections in Recaptured Birds from an African Tropical Rainforest. **Nanotechnology & Applications**, v. 2, n.1, p.1-13, 2020. Disponível em: <http://scivisionpub.com/pdfs/effects-of-deforestation-on-avian-parasitic-coinfections-in-recaptured-birds-from-an-african-tropical-rainforest-1082.pdf>. Acesso em 12 dez. 2021.

FECCHIO, A. *et al.* Higher infection probability of haemosporidian parasites in Blue-black Grassquits (*Volatinia jacarina*) inhabiting native vegetation across Brazil. **Parasitology International**, v. 80, p.102204, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102204>

FERRAGUTI, M. *et al.* Anthropogenic Effects on Avian Haemosporidians and Their Vectors. In: SANTIAGO-ALARCON, D.; MARZAL, A. (org.) **Avian Malaria and Related Parasites in the Tropics**. Cham: Springer, p. 451-485, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8_14)

FERRAGUTI, M. *et al.* Ecological Effects on the Dynamics of West Nile Virus and Avian *Plasmodium*: The Importance of Mosquito Communities and Landscape. **Viruses**, v. 13, n. 7, p. 1208, 2021. <https://doi.org/10.3390/v13071208>

FERREIRA-JUNIOR, F. C. *et al.* A new pathogen spillover from domestic to wild animals: *Plasmodium juxtannucleare* infects free-living passerines in Brazil. **Parasitology**, v. 145, n. 14, p.1949-1958, 2018. <https://doi.org/10.1017/S003118201800077X>

FOKIDIS, H. B. *et al.* Interspecific variation in avian blood parasites and haematology associated with urbanization in a desert habitat. **Journal of Avian Biology**, v. 39, n. 1, p. 300-310, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.0908-8857.2008.04248.x>

FRÄNZLE, O. Bioindicators and environmental stress assessment. In: MARKERT, B. *et al.* (org.). **Bioindicators and Biomonitoring**. Oxford: Elsevier Science Ltd, p. 42-83, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80132-7](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80132-7)

GONÇALVES, V. F. *et al.* Effects of urban proximity and the occurrence of erythroplastids in *Antilophia galeata*. **Environmental Science and Pollution Research** v. 27, n. 1, p. 44650-44655, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10057-y>

HEGDE, S. *et al.* The microbiome modulates arbovirus transmission in mosquitoes. **Current Opinion in Virology**, v. 15, n. 1, p. 97-102, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.08.011>

IBÁÑEZ-BERNAL, S. Introduction to the Taxonomy and General Biology of Diptera (Insecta) Involved in the Transmission of Avian Haemosporida. In: SANTIAGO-ALARCON, D., MARZAL, A. (org.) **Avian Malaria and Related Parasites in the Tropics**. Cham: Springer, p. 137-184, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51633-8_5)

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Frota de veículos do Brasil**. 2020. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/22/28120?tipo=grafico>. Acesso em 25 nov. 2021.

IGLESIAS-MERCHAN, C. *et al.* Spatio-temporal changes of road traffic noise pollution at ecoregional scale. **Environmental Pollution**, v. 286, p. 117291, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117291>

ISAKSSON C. Impact of Urbanization on Birds. In: TIETZE, D. (org.) **Bird Species**. Fascinating Life Sciences. Cham: Springer, p. 235-257, 2018. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-91689-7\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-91689-7_13)

JUNG, C. R. *et al.* Long-term exposure to traffic-related air pollution and systemic lupus erythematosus in Taiwan: A cohort study. **Science of the Total Environment**, v. 668, n. 1, p. 342-349, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.018>

KALISIŃSKA, E. Endothermic Animals as Biomonitors of Terrestrial Environments. In: KALISIŃSKA E. (org.) **Mammals and Birds as Bioindicators of Trace Element Contaminations in Terrestrial Environments**. Cham: Springer, p. 21-53, 2019. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-00121-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-00121-6_2)

KAZLAUSKIENĖ, R. *et al.* *Plasmodium relictum* (lineages pSGS1 and pGRW11): complete synchronous sporogony in mosquitoes *Culex pipiens pipiens*. **Experimental Parasitology**, v. 133, n. 4, p. 454-461, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.01.008>

LAURANCE, S. G. *et al.* Habitat fragmentation and ecological traits influence the prevalence of avian blood parasites in a tropical rainforest landscape. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e76227, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076227>

LIU, Z. *et al.* The relationship between habitat loss and fragmentation during urbanization: an empirical evaluation from 16 world cities. **PLoS One**, 11(4), e0154613.IU, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154613>

LUDTKE, B. *et al.* Associations of forest type, parasitism and body condition of two European passerines, *Fringilla coelebs* and *Sylvia atricapilla*. **PloS One**, v. 8, n. 12, p. e81395, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081395>

LUTZ, H. L. *et al.* Laser capture microdissection microscopy and genome sequencing of the avian malaria parasite, *Plasmodium relictum*. **Parasitology Research**, v. 115, n. 12, p. 4503-4510, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5237-5>

- MARKERT, B. A. *et al.* Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. In: MARKERT, B. A. *et al.* (org.). **Bioindicators and Biomonitoring**. Oxford: Elsevier Science Ltd, p. 3-39, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80131-5](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80131-5)
- MARTÍNEZ-DE LA PUENTE, J. *et al.* Effects of mosquito microbiota on the survival cost and development success of avian *Plasmodium*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 3406, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562220>
- MEISSNER, W. *et al.* Relationship between blood lead levels and physiological stress in mute swans (*Cygnus olor*) in municipal beaches of the southern Baltic. **Science of the Total Environment**, v. 710, p. 136292, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136292>
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual sobre Medidas de Proteção à Saúde dos Agentes de Combate às Endemias**. Volume 1: Arboviroses Transmitidas pelo *Aedes aegypti*. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_protecao\\_agentes\\_endemias.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_protecao_agentes_endemias.pdf)  
Acesso em: 15 dez. 2021.
- NOVAES, G. T. *et al.* Unidades climáticas do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 23, n. 1, p. 223-243, 2018. <https://doi.org/10.5380/abclima.v23i0.58520>
- PALINAUSKAS, V. *et al.* Description of the first cryptic avian malaria parasite, *Plasmodium homocircumflexum* n. sp., with experimental data on its virulence and development in avian hosts and mosquitoes. **International Journal for Parasitology**, v. 45, n. 1, p. 51-62, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.08.012>
- PARSONS, J. J. The origin and dispersal of the domesticated canary. **Journal of Cultural Geography**, v. 7, n. 2, p. 19-33, 1987. <https://doi.org/10.1080/08873638709478505>
- POWELL, C. *et al.* Body condition and chronic stress in urban and rural Noisy Miners. **The Open Ornithology Journal**, v. 6, n. 1, p. 25-31, 2013. <https://doi.org/10.2174/1874453201306010025>
- RIBEIRO, P.V.A. *et al.* Leukocyte profile of the helmeted manakin, *Antilophia galeata* (Passeriformes: Pipridae) in a Cerrado forest fragment. **Zoologia**, v. 37, n. 1, p.1-9, 2020. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e46441>
- RIBEIRO, P. V. A. *et al.* Effects of urbanisation and pollution on the heterophil/lymphocyte ratio in birds from Brazilian Cerrado. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 40204–40212, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19037-w>
- RUIZ, G. *et al.* Hematological parameters and stress index in rufous-collared sparrows dwelling in urban environments. **The Condor**, v. 104, n. 1, p. 162-166, 2002. <https://doi.org/10.1093/condor/104.1.162>

SANTIAGO-ALARCON D.; DELGADO-V. C. A. Warning! Urban Threats for Birds in Latin America. In: MACGREGOR-FORS, I., ESCOBAR-IBÁÑEZ, J. (org.) **Avian Ecology in Latin American Cityscapes**. Cham: Springer, p. 125-142, 2017. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-63475-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-63475-3_7)

SANTIAGO-ALARCON, D. *et al.* (2020). The prevalence of avian haemosporidian parasites in an invasive bird is lower in urban than in non-urban environments. **Ibis**, v. 162, n. 1, p. 201-214. <https://doi.org/10.1111/ibi.12699>

SANTOS, V. S. V. *et al.* Association of low concentrations of pyriproxyfen and spinosad as an environment-friendly strategy to rationalize *Aedes aegypti* control programs. **Chemosphere**, v. 247, p. 125795, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125795>

SCHNEIBERG, I. *et al.* Urbanization homogenizes the interactions of plant-frugivore bird networks. **Urban Ecosystems**, v. 23, n. 3, p. 457-470, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11252-020-00927-1>

SHUTLER, D.; MARCOGLIESE, D. J. Leukocyte profiles of northern leopard frogs, *Lithobates pipiens*, exposed to pesticides and hematozoa in agricultural wetlands. **Copeia**, v. 2011, n. 1, p. 301-307, 2011. <https://doi.org/10.1643/CP-10-065>

TAMURA, E. K. *et al.* Evaluation of seasonal breeding of the domestic canary (*Serinus canaria*) in an artificial environment. **Ciência Rural**, v. 51, n. 11, p. e20201064, 2021. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20201064>

TCHOUMBOU, M. A. *et al.* Effect of deforestation on prevalence of avian haemosporidian parasites and mosquito abundance in a tropical rainforest of Cameroon. **International Journal for Parasitology**, v. 50, n. 1, p. 63-73, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.10.006>

VALKIUNAS, G. **Avian malaria parasites and other haemosporidians**. Boca Raton: CRC Press, 932p. 2005. <https://doi.org/10.1201/9780203643792>

VIDEVALL, E. *et al.* The avian transcriptome response to malaria infection. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 1255-1267, 2015. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv016>

WOJCZULANIS-JAKUBAS, K. *et al.* Blood parasite infestation and the leukocyte profiles in adult and immature reed warblers (*Acrocephalus scirpaceus*) and sedge warblers (*Acrocephalus schoenobaenus*) during autumn migration. **Annales Zoologici Fennici**, v. 49, n.1, p. 341-349, 2012. <https://doi.org/10.5735/086.049.0507>

YANG, Q. *et al.* Analysis of particulate matter and carbon monoxide emission rates from vehicles in a Shanghai tunnel. **Sustainable Cities and Society**, v. 56, p. 102104, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scs.2020.102104>



## ANEXO 1 – REGISTRO CEUA/UFU



Universidade Federal de Uberlândia  
**Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação**  
**- Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) -**  
Rua Ceará, S/N - Bloco 2D, sala 02 – CEP 38405-315  
Campus Umarama – Uberlândia/MG – Ramal (VoIP) 3423  
e-mail: ceua@propp.ufu.br; www.comissoes.propp.ufu.br



ANÁLISE FINAL Nº 128/18 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 038/18

**Projeto Pesquisa:** “Anomalias nucleares eritrocitárias e perfil leucocitário como ferramentas de biomonitoramento em aves do cerrado”.

**Pesquisador Responsável:** Celine de Melo

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

Situação: PROTOCOLO DE PESQUISA **APROVADO**.

OBS: A CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 22 de agosto de 2018

**Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão**  
Coordenador da CEUA/UFU

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo evidenciou que a utilização da razão heterófilo/linfócito (H/L) como indicativo de estresse crônico e parâmetros parasitológicos (parasitemia e prevalência de parasitos hemosporídeos) são ferramentas eficientes no biomonitoramento de aves de ambientes florestais do Cerrado brasileiro. Foi verificado que a razão H/L é maior em aves de áreas urbanizadas e poluídas, indicando maior estresse em organismos expostos a urbanização e poluição. Observou-se maior parasitemia e prevalência em aves de áreas com maiores reservas de recursos hídricos, sugerindo que os parasitos são favorecidos em locais com recursos para reprodução e desenvolvimento de vetores.

Os testes experimentais realizados com canários-belga (*Serinus canaria*) confirmam os resultados encontrados nas aves silvestres nativas. Canários expostos à urbanização e poluição apresentaram maior razão H/L e tal parâmetro aumentou com o tempo de exposição. A parasitemia e prevalência foram maiores nos canários expostos em ambiente rural, distante da urbanização e com pouca poluição. Isso indica que a urbanização e poluição podem atuar como fatores disruptivos nos ciclos de transmissão dos parasitos hemosporídeos aviários. A parasitemia correlacionou-se negativamente com a razão H/L tanto nas aves silvestres nativas quanto nos canários-belga, sugerindo que os indivíduos estão imunologicamente ativos e podem estar controlando as infecções. Portanto, os testes experimentais reforçam a eficácia do uso da razão H/L e hemoparasitismo no biomonitoramento.

Os resultados encontrados nesta tese evidenciam a sensibilidade das aves e de seus parasitos às alterações e condições ambientais. As aves são organismos que coabitam com seres humanos, portanto, essas informações são relevantes para estudos futuros relacionados à saúde ambiental, animal e humana.