



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**PERFIL LEUCOCITÁRIO E ANOMALIAS NUCLEARES
ERITROCITÁRIAS EM *Antilophia galeata* (PASSERIFORMES:
PIPRIDAE) NO BIOMONITORAMENTO AMBIENTAL DE
FRAGMENTOS FLORESTAIS DO CERRADO**

Henrique Tsubota Manrique

Uberlândia – MG

Abril – 2025

Henrique Tsubota Manrique

**PERFIL LEUCOCITÁRIO E ANOMALIAS NUCLEARES
ERITROCITÁRIAS EM *Antilophia galeata* (PASSERIFORMES:
PIPRIDAE) NO BIOMONITORAMENTO AMBIENTAL DE
FRAGMENTOS FLORESTAIS DO CERRADO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal
de Uberlândia, como parte das
exigências para obtenção do título
de Licenciado em Ciências
Biológicas

Orientadora:
Profa. Dra. Celine de Melo
Coorientador:
Dr. Paulo Vitor Alves Ribeiro

Uberlândia – MG

Abril – 2025

SUMÁRIO

| | |
|---------------------|----|
| RESUMO | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| INTRODUÇÃO | 3 |
| MATERIAIS E MÉTODOS | 5 |
| RESULTADOS | 8 |
| DISCUSSÃO | 12 |
| CONCLUSÃO | 14 |
| REFERÊNCIAS | 14 |

RESUMO

As aves são organismos modelo para estudos de biomonitoramento ambiental devido à sensibilidade às alterações antrópicas, como a poluição. Análises hematológicas, como anomalias nucleares eritrocitárias e perfil leucocitário, são frequentemente utilizadas no biomonitoramento. As anomalias se formam quando o organismo é exposto a agentes xenobióticos gerando efeitos genotóxicos, interferindo na estrutura ou função do aparelho mitótico. O perfil leucocitário consiste na quantificação dos leucócitos, diferentes tipos celulares que oferecem proteção contra agentes patogênicos e estressores. As quantidades e proporções dos leucócitos podem sofrer alterações de acordo com as concentrações dos hormônios do estresse, os corticosteroides. Quando presentes em altos níveis, estes hormônios elevam o número de heterófilos e diminuem o de linfócitos, resultando em aumento nos valores da razão heterófilo/linfócito (H/L), o que caracteriza o perfil leucocitário de estresse. O objetivo foi verificar se há correlação entre as anomalias e o perfil leucocitário de *Antilophia galeata* (espécie endêmica do Cerrado), de acordo com o nível de urbanização. Foram capturados 74 indivíduos em quatro áreas florestais, sendo duas rurais e duas periurbanas. Coletou-se o sangue das aves para confecção de extensões sanguíneas para posterior análise em microscópio óptico. Foram identificados e quantificados os leucócitos (heterófilos, linfócitos, eosinófilos, monócitos e basófilos) e cinco tipos de anomalias (eritroplastídeos, constrição assimétrica, constrição simétrica, núcleo entalhado e célula binucleada). Observou-se uma quantidade média de $1,58 \pm 1,93$ de anomalias totais, $59,3 \pm 50,8$ de leucócitos totais e $0,42 \pm 0,82$ da razão H/L nas aves das áreas rurais e $1,91 \pm 1,88$, $45,8 \pm 53,1$ e $0,88 \pm 1,14$ nas aves periurbanas, respectivamente. Foram encontradas correlações positivas entre eritroplastídeos e o total de leucócitos e entre constrição assimétrica e razão H/L nas aves das áreas periurbanas. Nas áreas rurais houve correlação negativa entre núcleo entalhado e o total de leucócitos. As correlações encontradas indicam que as aves estão expostas a estresses ambientais nas áreas estudadas. Este estudo demonstrou a sensibilidade de *Antilophia galeata* às alterações e condições ambientais, e os resultados encontrados podem ser úteis para estudos futuros relacionados à saúde ambiental, animal e humana.

Palavras-chave: urbanização; leucócitos; eritrócitos; aves silvestres.

ABSTRACT

Birds are model organisms for environmental biomonitoring studies due to their sensitivity to anthropogenic changes, such as pollution. Hematological analyses, including erythrocyte nuclear abnormalities and leukocyte profile, are frequently used in biomonitoring. Nuclear abnormalities form when organisms are exposed to xenobiotics, leading to genotoxic effects that interfere with the structure or function of the mitotic apparatus. The leukocyte profile consists of quantifying leukocytes, which include different cell types that provide protection against pathogens and environmental stressors. The amount and proportion of leukocytes can change by stress hormone concentrations, the corticosteroids. When present at high levels, these hormones increase the number of heterophils and decrease the number of lymphocytes, resulting in higher heterophil lymphocyte (H/L) ratio, which characterize the leukocyte stress profile. This study aimed to verify whether there is a correlation between nuclear abnormalities and the leukocyte profile in *Antilophia galeata* (Cerrado's endemic species) according to urbanization levels. 74 individuals were captured in four forested areas, two rural and two peri-urban. Blood samples were collected to prepare blood smears, which were later analyzed under an optical microscope. The leukocytes (heterophils, lymphocytes, eosinophils, monocytes and basophils) were identified and quantified. Five types of nuclear abnormalities were quantified: erythroplastid, asymmetric constriction, symmetric constriction, slotted nucleus, and binucleate cell. The mean number of total abnormalities, total leukocytes, and H/L ratio in birds from rural areas were 1.58 ± 1.93 , 59.3 ± 50.8 , and 0.42 ± 0.82 , respectively, while in peri-urban areas, these values were 1.91 ± 1.88 , 45.8 ± 53.1 , and 0.88 ± 1.14 , respectively. Positive correlations were found between erythroplastid and total leukocytes, as well as between asymmetric constriction and H/L ratio in birds from peri-urban areas. In rural areas, a negative correlation was observed between slotted nucleus and total leukocytes. The observed correlations indicate that birds may be responding to environmental stressors in the studied areas. Finally, this study demonstrated the sensitivity of *Antilophia galeata* to environmental changes and conditions, and the results may be valuable for future studies related to environmental, animal, and human health.

Keywords: urbanization; leukocytes; erythrocytes; wild birds

INTRODUÇÃO

As populações e ecossistemas são influenciados por diversas condições de estresse bióticos e abióticos (MARKERT et al., 2003). Atividades antrópicas que afetam o meio ambiente, como a fragmentação e a urbanização podem potencializar e gerar novos fatores estressantes (BAUEROVÁ et al., 2017; ROBINSON et al., 2022), como por exemplo, o aumento do calor, da poluição sonora, da poluição luminosa e de substâncias tóxicas (SKARPHEDINSDOTTIR et al., 2010; BAESSE et al., 2019). Os organismos susceptíveis a estes estresses por meio de mudanças fisiológicas, morfológicas (anatômicas, celulares e histológicas) ou comportamentais, são definidos como bioindicadores ou biomonitoras (FRÄNZLE, 2003; GONZÁLEZ-ACEVEDO et al., 2016). Nesse contexto, as aves podem ser utilizadas para fornecer informações sobre a qualidade do meio ambiente (ANJOS, 2010; GRÚZ et al., 2019), por serem encontradas em diferentes ambientes (BAESSE et al., 2015; GONÇALVES et al., 2020) e devido a eficiência em responder a alterações ambientais.

Dentre os indicadores de estresse nas aves estão as alterações no perfil leucocitário, que se baseia em identificar e quantificar os leucócitos, que são células sanguíneas do sistema imunológico (RIBEIRO et al., 2020, 2022; SANTOS, 2024). As aves apresentam cinco principais tipos de leucócitos: basófilos, eosinófilos, monócitos, heterófilos e linfócitos. Dentre eles, predominam os heterófilos e linfócitos, que constituem juntos 80% dos leucócitos das aves (DAVIS et al., 2008). No entanto, heterófilos e linfócitos têm papéis diferentes nas funções imunes. Os heterófilos estão relacionados à imunidade inata (a primeira linha de defesa imune), enquanto os linfócitos atuam principalmente na imunidade adaptativa (adquirida), produzindo imunoglobulinas específicas que reconhecem抗ígenos derivados de patógenos (MINIAS, 2019). Hormônios do estresse (glicocorticoides) estão correlacionados com a razão H/L nas aves. Estes hormônios induzem um influxo de heterófilos provenientes da medula óssea para a circulação sanguínea (DHABHAR et al., 1995; DAVIS et al., 2008). Essa reação gera um aumento de heterófilos comparados com os de linfócitos, resultando no aumento da razão H/L. Dessa forma, um valor elevado de H/L indica um maior nível de estresse (GOESSLING et al., 2015).

As anomalias nucleares eritrocitárias (ANES's) são exemplos de biomarcadores usados para estimar o efeito genotóxico em aves (GONÇALVES et al., 2020, GONÇALVES, 2022). As ANES's são alterações genéticas (MAS et al., 2015)

acarretadas por substâncias tóxicas, que ocorrem em indivíduos que permanecem em ambientes susceptíveis aos efeitos genotóxicos (capacidade de algumas substâncias de induzirem alterações no material genético do organismo) (SOUZA et al., 2017). O núcleo dos eritrócitos auxilia no metabolismo e na produção de energia, além disso, a presença de anomalias pode estar relacionada com doenças hematológicas, como anemia e hemoparasitismo, bem como com a presença de compostos tóxicos no sangue (CLARK et al., 2013). Existem sete tipos de ANES's identificadas em aves e dentre elas temos: célula binucleada, eritroplastídeo, núcleo deslocado, núcleo entalhado, constrição assimétrica, constrição simétrica e núcleo lobado (QUERO et al., 2016; SOUZA et al., 2017; GONÇALVES, 2022).

A avifauna brasileira é uma das mais ricas do mundo, com aproximadamente 2.000 espécies (PIACENTINI et al., 2015). Poucos estudos investigaram a associação entre fatores estressores e o perfil leucocitário em aves brasileiras (MACHADO-FILHO et al., 2010; LOBATO et al., 2011; RIBEIRO et al., 2020a, 2022) e estudos realizados com ANE's em aves são recentes (GHAFFAR et al., 2018; GONÇALVES et al., 2020, SILVEIRA et al., 2021; NASCIMENTO et al., 2025), sendo pouco conhecida a relação entre as ANE's e o perfil leucocitário.

Este trabalho propôs examinar uma população de *Antilophia galeata* (soldadinho); espécie de ave passeriforme endêmica do bioma Cerrado (SIGRIST, 2009; SILVA; MELO, 2011). Esta espécie habita a camada inferior da floresta ciliar e pode ser encontrada tanto em áreas conservadas, como unidades de conservação, quanto em áreas perturbadas, incluindo ambientes urbanos como parques (FRANCHIN; MARÇAL-JÚNIOR, 2004; SILVA; MELO, 2011). O soldadinho é uma espécie territorial e principalmente frugívora, embora também inclua alguns invertebrados em sua dieta (SILVA; MELO, 2011). Os machos adultos possuem plumagem preta com penas vermelhas no topo da cabeça, enquanto as fêmeas adultas e os juvenis de ambos os sexos possuem uma plumagem esverdeada discreta em todo o corpo (SICK, 1997).

Vários estudos anteriores realizados no Cerrado do Triângulo Mineiro evidenciaram que *Antilophia galeata* é uma espécie que pode ser considerada biomonitora de qualidade ambiental, por ser territorial, abundante, dependente de ambientes florestais e que demonstra sensibilidade fisiológica e comportamental às alterações do ambiente (SILVA; MELO 2011; GONÇALVES, 2012, 2022; BAESSE et al., 2015, 2019; GONÇALVES et al., 2020; PIRES; MELO, 2020; RIBEIRO et al., 2020a, 2022). Dessa forma, o presente estudo propõe correlacionar as ANE's e o perfil

leucocitário de indivíduos de *Antilophia galeata* capturados em fragmentos florestais com diferentes níveis de urbanização. Além disso, a hipótese testada é que as anomalias se correlacionam com o perfil leucocitário, indicando que indivíduos com mais anomalias apresentam maior estresse.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado a partir da análise de dados coletados em campo no período de 2013 a 2019 em áreas de Cerrado na região do Triângulo Mineiro. Essas coletas foram realizadas a partir de projetos financiados pelo CNPq (PELD: 403733/2012-0) e FAPEMIG (CRA-APQ: 01654-12), sendo executados pela equipe do Laboratório de Ornitologia e Bioacústica da Universidade Federal de Uberlândia (BAESSE, 2015, 2019; RIBEIRO, 2018, 2022; GONÇALVES, 2022).

Áreas de estudo

O estudo abrangeu quatro áreas de florestas estacionais semideciduais inseridos no Cerrado brasileiro: Mata da Fazenda Água Fria, Mata da Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro, Mata da Fazenda Experimental do Glória – UFU, Mata da Fazenda São José. Todas as áreas diferem em tamanho, distância da borda do fragmento florestal até a cidade mais próxima, e localização. Os fragmentos florestais de Água Fria e Galheiro estão localizados nas zonas rurais dos municípios de Araguari e Perdizes, respectivamente, enquanto que os do Glória e São José estão localizados na zona periurbana no município de Uberlândia (Figura 1, Tabela 1).

Tabela 1 – Localização das áreas de estudo e suas características: tamanho (ha: hectares), distância da cidade mais próxima (km: quilômetros). Adaptado de Ribeiro et al. (2022).

| Áreas de estudo | Zona de localização das áreas | Coordenadas geográficas | Tamanho das áreas | Distância da cidade mais próxima |
|-----------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Água Fria | Rural | 18°29'S; 48°23'O | 200 ha | 26,3 km |
| Galheiro | Rural | 19°14'S; 47°09'O | 200 ha | 19,75 km |
| Glória | Periurbana | 18°57'S; 48°12'O | 30 ha | 0,92 km |
| São José | Periurbana | 18°51'S; 48°13'O | 20 ha | 0,73 km |

Captura das aves

Entre 2013 e 2019, foram conduzidas 32 campanhas de campo, distribuídas equitativamente entre as áreas estudadas, com oito campanhas em cada uma. Para a captura das aves, foram utilizadas redes de neblina (12 m de comprimento por 3 m de altura), instaladas ao longo de trilhas e mantidas abertas entre 06h30min e 17h00min. As redes foram inspecionadas a cada 30 minutos, aproximadamente, e as aves capturadas foram cuidadosamente retiradas e acondicionadas em sacos de tecido para posterior identificação, marcação e coleta de sangue. Salientando que a captura não influência no aumento da razão H/L, pois, se trata de um estresse crônico e não agudo (DAVIS; MANEY, 2018). A identificação das espécies seguiu as diretrizes de Sigrist (2009) e Gwynne et al. (2010), enquanto a marcação foi realizada por meio de anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisa para a Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE/ICMBio - Autorização: 3730 - Registro: 359076; SISBIO/ICMBio - Autorização: 44901). A nomenclatura e a organização taxonômica adotada seguiram as recomendações do Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (PIACENTINI et al., 2015).

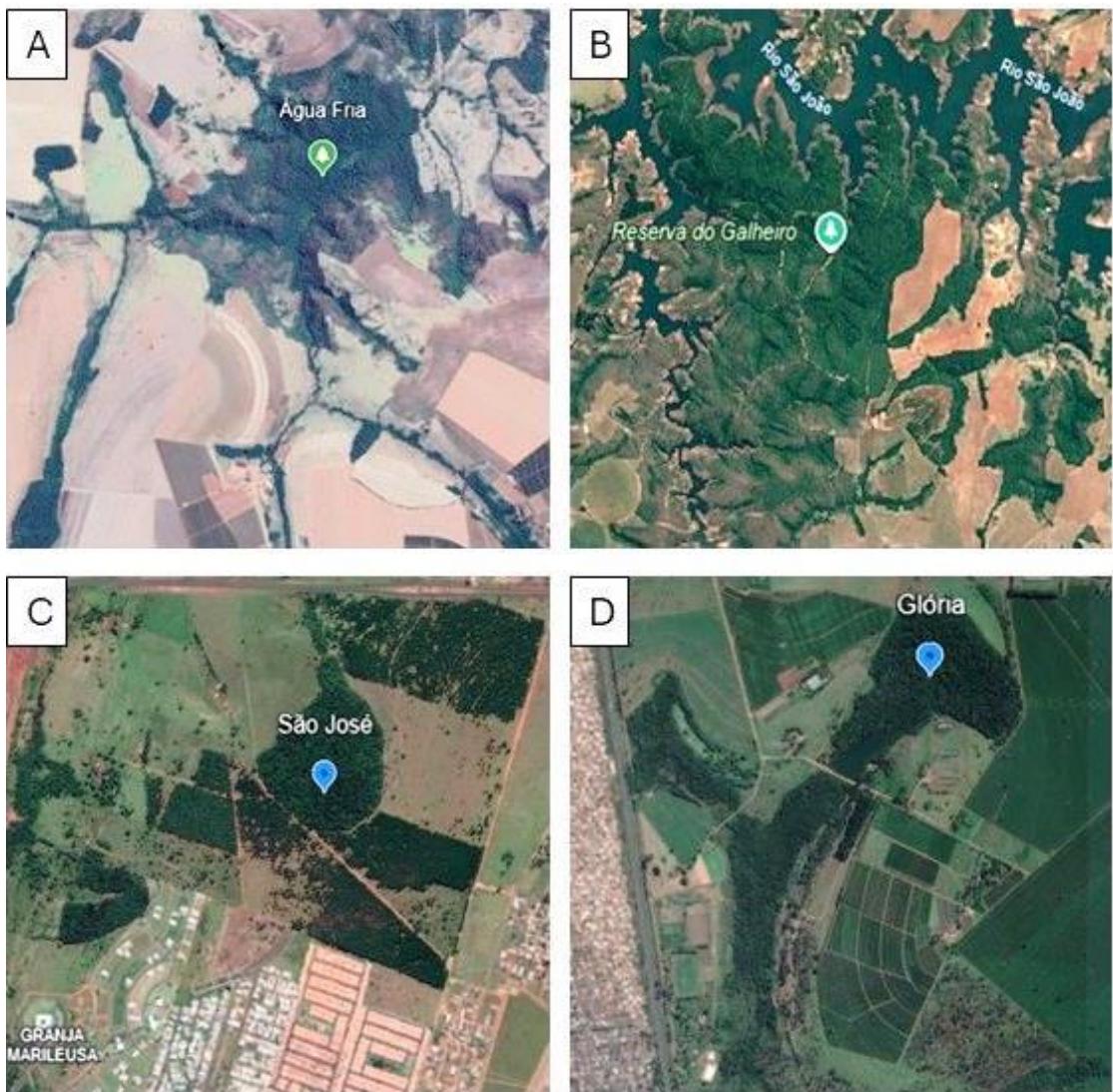


Figura 1 – Imagens via satélite das regiões de estudo no ano de 2020, referentes às áreas rurais (A e B): (A) Água Fria (Araguari – MG) e (B) Galheiro (Perdizes – MG) e as áreas periurbanas (C e D): (C) São José e (D) Glória (Uberlândia - MG). Imagens via Google Earth (2025).

Confecção e análise das extensões sanguíneas

Para a confecção das lâminas foram coletadas amostras de sangue ($0,5\mu\text{l}$) com o auxílio de agulhas descartáveis ($0,8 \times 0,3\text{mm}$) por meio de uma punção na veia metatársica das aves (CEUA/UFU – Autorização: 038/18), o sangue foi gotejado diretamente na lâmina e utilizou-se a técnica de esfregaço sanguíneo. As extensões foram fixadas com metanol e coradas com Giemsa 5% e tampão fostato (BAESSE et al., 2015, 2019). Para as análises das lâminas foi utilizado microscópio óptico, com objetiva de 100x (BAESSE et al., 2019) e para a quantificação e identificação dos

leucócitos e ANE's, foram observados 200 campos microscópicos por indivíduo. Foram quantificados cinco tipos de leucócitos (heterofilos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos) e ANE's (eritroplastídeo, núcleo entalhado, célula binucleada, constrição simétrica e constrição assimétrica). A razão H/L foi obtida a partir da divisão do número de heterófilos por linfócitos (RIBEIRO et al., 2022).

Análises estatísticas

Foram calculadas as médias e desvios padrões para: total de leucócitos, razão H/L, total de anomalias, eritroplastídeo, núcleo entalhado, célula binucleada, constrição simétrica e constrição assimétrica para cada área de estudo. Para verificar se houve correlação entre as anomalias nucleares eritrocitárias *versus* a quantidade total de leucócitos e *versus* a razão H/L foram realizados os testes estatísticos de correlação de Spearman. As análises foram precedidas de testes de normalidade e realizadas no software GraphPad Prism 9.0 e conduzidas a um nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram capturados 74 indivíduos da espécie *Antilophia galeata* e analisadas 148 extensões sanguíneas, sendo 29 indivíduos de áreas rurais e 45 de áreas periurbanas. Nas áreas rurais, os indivíduos apresentaram em média $59,3 \pm 50,8$ de leucócitos totais e $0,42 \pm 0,82$ da razão H/L enquanto nas áreas periurbanas, a média de leucócitos totais foi $45,8 \pm 53,1$ e a razão H/L foi $0,88 \pm 1,14$. Ao todo 51 (68,9%) indivíduos apresentaram algum tipo de ANE's, sendo 18 (62,06%) nas áreas rurais e 32 (71,11%) nas áreas periurbanas. Observou-se uma quantidade média de $1,58 \pm 1,93$ de ANE's totais nas aves das áreas rurais e $1,91 \pm 1,88$ nas periurbanas. Foram encontrados cinco tipos de ANE's: eritroplastídeos, constrição assimétrica, constrição simétrica, núcleo entalhado e célula binucleada. A anomalia mais frequente foi eritroplastídeo, ocorrendo em 12 indivíduos (41,3%) nas áreas rurais, e em 22 indivíduos (48,8%) nas áreas periurbanas (Tabela 2).

Não houve correlação significativa entre as razões H/L e a quantidade total de ANE's nas áreas rurais (Tabela 3) e áreas periurbanas (Tabela 4). No entanto, quando considerado cada tipo de anomalia, nas áreas rurais, houve correlação negativa entre o total de leucócitos e a anomalia núcleo entalhado (Tabela 3), enquanto, nas áreas periurbanas, o total de leucócitos foi correlacionado positivamente com eritroplastídeo (Tabela 4). A razão H/L foi positivamente correlacionada com a anomalia constrição assimétrica nas áreas periurbanas (Tabela 4).

Tabela 2. Médias (\bar{X}) e desvios-padrão (DP) do total de leucócitos, razão H/L, total de ANE's e a ocorrência (%) dos os tipos de ANE's: eritroplastídeo, núcleo entalhado, célula binucleada, constrição simétrica e constrição assimétrica em indivíduos de *Antilophia galeata* de acordo com o tipo de área (rural e periurbana).

| Áreas | n | Total leucócitos | Razão H/L | Total ANE's | Eritroplastídeo | Núcleo entalhado | Célula binucleada | Constrição simétrica | Constrição assimétrica |
|------------|----|---------------------|------------------|------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | | $\bar{X} \pm DP$ | $\bar{X} \pm DP$ | $\bar{X} \pm DP$ | $\bar{X} \pm DP$ (%) |
| Rural | 29 | 59,3±50,8 | 0,42±0,82 | 1,58±1,93 | 0,72±1,25 (41,3%) | 0,17±0,46 (13,7%) | 0,27±0,59 (20,6%) | 0,27±0,95 (13,7%) | 0,17±0,38 (17,2%) |
| Periurbana | 45 | 45,8±53,1 | 0,88±1,14 | 1,91±1,88 | 1,13±1,54 (48,8%) | 0,02±0,14 (2,22%) | 0,24±0,60 (17,7%) | 0,26±0,49 (24,4%) | 0,24±0,60 (15,5%) |
| Total | 74 | 51,0±51,9 | 0,70±1,04 | 1,78±1,88 | 1,12±1,57 (45,9%) | 0,08±0,31 (6,75%) | 0,25±0,59 (18,9%) | 0,27±0,70 (20,2%) | 0,21±0,52 (16,2%) |

Tabela 3. Correlação por meio do teste de Spearman (rs) com valor de significância (p) <0,05 (valores destacados estão em negrito) entre os cinco tipos de ANE's (eritroplastídeo, núcleo entalhado, célula binucleada, constrição simétrica e constrição assimétrica) com a razão H/L e o total de leucócitos em indivíduos de *Antilophia galeata* capturados nas áreas rurais

| ANE's | Correlação com razão H/L | | Correlação com total de leucócitos | |
|------------------------|--------------------------|--------|------------------------------------|---------------|
| | rs | p | rs | p |
| Eritroplastídeo | -0,1294 | 0,5036 | 0,3331 | 0,0775 |
| Núcleo entalhado | 0,0707 | 0,7153 | -0,3967 | 0,0331 |
| Célula binucleada | 0,0523 | 0,7875 | 0,0261 | 0,8928 |
| Constrição simétrica | -0,1481 | 0,4433 | -0,1531 | 0,4278 |
| Constrição assimétrica | -0,0491 | 0,8003 | -0,1692 | 0,3802 |

Tabela 4. Correlação por meio do teste de Spearman (rs) com valor de significância (p) <0,05 (valores destacados estão em negrito) entre os cinco tipos de ANE's (eritroplastídeo, núcleo entalhado, célula binucleada, constrição simétrica e constrição assimétrica) com a razão H/L e o total de leucócitos em indivíduos de *Antilophia galeata* capturados nas áreas periurbanas.

| ANE's | Correlação com razão H/L | | Correlação com total de leucócitos | |
|------------------------|--------------------------|---------------|------------------------------------|---------------|
| | rs | p | rs | p |
| Eritroplastídeo | -0,079 | 0,6059 | 0,3435 | 0,0209 |
| Núcleo entalhado | -0,0232 | 0,8797 | 0,2323 | 0,1246 |
| Célula binucleada | 0,1059 | 0,4889 | -0,0812 | 0,5956 |
| Constrição simétrica | -0,0097 | 0,9496 | 0,0150 | 0,9218 |
| Constrição assimétrica | 0,3848 | 0,0091 | -0,1117 | 0,4652 |

DISCUSSÃO

Antilophia galeata é uma espécie territorial e dependente de ambientes florestais e que pode ser encontrada tanto em ambientes conservados, quanto em ambientes antropizados (SILVA; MELO, 2011; MARÇAL; LOPES, 2019). Vários estudos comprovam o potencial da espécie no biomonitoramento ambiental (BAESSE et al., 2015, 2019; GONÇALVES et al., 2020; RIBEIRO et al., 2022). As transformações ambientais nas áreas urbanas dificultam a sobrevivência dos animais. Como consequência, espera-se que as espécies que se mantêm nessas áreas enfrentem impactos resultantes dessas mudanças (ALBERTI, 2015; JOHNSON; MUNSHI-SOUTH, 2017). Encontrar uma resposta variada do perfil leucocitário e os tipos de ANE's em regiões com intensidades de urbanização distintas pode indicar uma possível adaptação das espécies que vivem em ambientes urbanizados (JOHNSON; MUNSHI-SOUTH, 2017; SANTOS et al., 2024).

No presente estudo houve correlações positivas entre a razão H/L e a anomalia constrição assimétrica, e entre a quantidade total de leucócitos e a anomalia eritroplastídeo nas áreas periurbanas, assim como também foi encontrada correlação negativa entre o total de leucócitos e a anomalia núcleo entalhado nas áreas rurais, demonstrando que as anomalias podem estar associadas ao estresse crônico em aves, mas possivelmente existem outros fatores bióticos e abióticos que implicam no aumento da razão H/L.

Nascimento et al. (2025), demonstrou em estudos com filhotes de arará-canindé (*Ara Ararauna*) em áreas urbanas, que cada anomalia correspondeu de forma diferente para cada variável ambiental, como presença de áreas verdes e fluxo de veículos. Outros fatores como, umidade relativa, temperatura e nível de ruído antrópico, não foram relevantes para a presença das anomalias. Entretanto, alguns fatores já foram comprovados por levar a um perfil leucocitário de estresse, como parasitismo e poluição sonora (RIBEIRO, 2022).

Gonçalves (2022) associou as ANE's com a poluição por monóxido de carbono (CO), em aves, em áreas com diferentes níveis de urbanização e demonstrou um maior número de anomalias nas áreas próximas as regiões urbanas, tendo em vista que são os locais com maior índice de poluição devido a emissão deste gás por veículos e indústrias. Da mesma forma Ribeiro et al. (2022), associou o perfil leucocitário com a poluição por monóxido de carbono em áreas com diferentes níveis de urbanização em aves e relatou uma maior razão H/L nas regiões urbanas. Santos et al. (2024), relatou

que a razão H/L se associou positivamente com a intensidade da urbanização e negativamente com a condição corporal das aves e que não houve relação com a intensidade da urbanização e a condição corporal.

Das análises feitas neste estudo, foi encontrada correlação positiva com o total de leucócitos e a anomalia eritroplastídeo nas áreas periurbanas. A lesão é descrita como a ausência de núcleo nos eritrócitos (CLARK et al., 2013; GONÇALVES et al., 2020). A causa da formação do eritroplastídeos não é bem elucidada, mas pode estar relacionada à presença de hemoparasitos (VALKIUNAS, 2005; CLARK et al., 2013). Estudos prévios encontram ocorrência de hemoparasitos dos gêneros *Haemoproteus* e *Plasmodium* nas populações de *Antilophia galeata* das mesmas áreas do presente estudo (RIBEIRO et al., 2020b; 2023). A quantidade de eritroplastídeos também está relacionada à urbanização, sendo maior em áreas localizadas próximas de zonas urbanas e menor em áreas mais preservadas e afastadas do ambiente urbano (GONÇALVES et al., 2020).

A anomalia constrição assimétrica se correlacionou positivamente com a razão H/L nas áreas periurbanas. A lesão é caracterizada pela presença de um núcleo em forma de ampulheta, com constrições de tamanhos desiguais (CARROLA et al., 2014). Em codornas japonesas (*Coturnix japonica*) expostas ao pesticida abamectina, a anomalia mais frequentemente observada foi constrição assimétrica (FARIA et al., 2018), evidenciando a potencial resposta desse tipo de anomalia frente a um xenobiótico. Os poluentes atmosféricos também são um tipo de xenobiótico muito associados à presença de ANE's em aves (BAESSE et al., 2019, GONÇALVES et al., 2020; GONÇALVES, 2022). Em um estudo feito em uma área periurbana de Cerrado, Ribeiro et al. (2020a) encontraram correlações entre o perfil leucocitário com a quantidade de micronúcleos (um tipo de ANE) em *Antilophia galeata*, e os autores atribuíram tal correlação a um estresse em comum, provavelmente poluentes atmosféricos. Nesse sentido, as correlações encontradas no presente estudo indicam que os indivíduos estão respondendo aos estresses ambientais, tanto por meio das ANE's quanto por meio do perfil leucocitário.

A anomalia núcleo entalhado se relacionou negativamente ao total de leucócitos nas áreas rurais. A identificação desse tipo de alteração foi descrita por Carrasco et al. (1990) e é dada como sendo uma fenda bem definida que adentra em quantidade considerável em um núcleo. Esta anomalia esteve presente em grande quantidade em aves de ambientes desérticos da Argentina (QUERO et al., 2016). Considerando que em

tais ambientes há poucos poluentes atmosféricos, os resultados do presente estudo vão de encontro, pois Água Fria e Galheiro são áreas rurais distantes (20km) do ambiente urbano e com boa qualidade do ar (BAESSE et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020; RIBEIRO et al., 2022). Dessa forma sugere-se que a anomalia núcleo entalhado, pode estar relacionada a outros fatores estressores não associados à urbanização e antropização.

Estudos prévios evidenciaram que *Antilophia galeata* apresenta sensibilidade a diferentes tipos de ferramentas utilizadas no biomonitoramento ambiental, tais como: micronúcleos, eritroplastídeos, perfil leucocitário, razão H/L e parasitos sanguíneos (BAESSE et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020; RIBEIRO et al., 2020, 2022, 2023). É uma espécie fiel aos territórios que habita, sendo capaz de permanecer nos diferentes ambientes submetidos às pressões antrópicas, contribuindo para o estudo de biomonitoramento no Cerrado brasileiro (BAESSE et al., 2020). O presente estudo contribui com mais uma informação sobre a espécie, ao encontrar correlações entre anomalias nucleares eritrocitárias com o perfil leucocitário, proporcionando uma visão mais abrangente das condições fisiológicas dos indivíduos de *Antilophia galeata* expostos a áreas com diferentes níveis de urbanização.

CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que três tipos de anomalias se associaram com o perfil leucocitário em indivíduos de *Antilophia galeata* expostos a diferentes níveis de urbanização: eritroplastídeo e constrição assimétrica nas áreas periurbanas e núcleo entalhado nas áreas rurais. As correlações encontradas indicam que as aves estão respondendo aos estresses ambientais gerados nas áreas periurbanas e rurais. Por fim, esse estudo demonstrou a sensibilidade da ave *Antilophia galeata* às alterações e condições ambientais, e os resultados encontrados podem ser úteis para estudos futuros relacionados à saúde ambiental, animal e humana.

REFERÊNCIAS¹

- ALBERTI, M. Eco-evolutionary dynamics in an urbanizing planet. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 30, p. 114–126, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.11.007>

¹ Referências formatadas de acordo com a NBR 6023 (ABNT, 2018).

ANJOS, L.; HOLT, R.; ROBINSON, S. Position in the distributional range and sensitivity to forest fragmentation in birds: a case history from the Atlantic Forest, Brazil. **Bird Conservation International**, v. 20, n. 4, p. 392-399, 2010. <https://doi.org/10.1017/S0959270909990256>

BAESSE, C. Q. *et al.* Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 115, p. 223-228, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.024>

BAESSE, C. Q. **Aves como biomonitoras da qualidade ambiental em fragmentos florestais do cerrado**. 2015. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015. DOI <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2015.218>

BAESSE, C. Q. *et al.* Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 171, p. 631-637, 2019.

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. DOI <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2450>

BAESSE, C. *et al.* **Diversidade e biomonitoramento de aves**. In: VASCONCELOS, H. L (Org). Ecologia e conservação dos cerrados, campos e florestas do Triângulo Mineiro e Sudeste de Goiás. Regência e Arte, p. 101-116, 2020.

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, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.026>

CARRASCO, K. R.; TILBURY, K. L.; MYERS, M. S. Assessment of the Piscine Micronucleus Test as an in situ Biological indicator of Chemical Contaminant Effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, n. 11, p. 2123–2136, 1990. <https://doi.org/10.1139/f90-237>

CARROLA, J. *et al.* Frequency of micronuclei and of other nuclear abnormalities in erythrocytes of the grey mullet from the Mondego, Douro and Ave estuaries—Portugal. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 9, p. 6057–6068, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2537-0>

CLARK, P. *et al.* Erythroplastidcytosis in a Major Mitchell's cockatoo (*Lophochroa leadbeateri*). **Comparative Clinical Pathology**, v. 22, n. 3, p. 539-542, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00580-013-1711-y>

DHABHAR, F. S. *et al.* Effects of stress on immune cell distribution – dynamics and hormonal mechanisms. **Journal of Immunology**, v. 154, n. 10, p. 5511-5527, 1995. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.154.10.5511>

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/10.1111/2041-210X.13020>

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>

FARIA, D. B. G. *et al.* Analysis of various effects of abamectin on erythrocyte morphology in Japanese quails (*Coturnix japonica*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 3, p. 2450–2456, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0677-8>

FRANCHIN, A. G.; MARÇAL JÚNIOR, O. A riqueza da avifauna no Parque do Sabiá. **Biotemas**, v. 17, n. 1, p. 179-202, 2004. <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2003.11>

FRÄNZLE, O. Bioindicators and environmental stress assessment. In: MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZEEHMEISTER, H. G. (Eds.). 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)

GHAFFAR, A. *et al.* Sodium arsenite and/or urea differently affect clinical attributes, hemato-biochemistry and DNA damage in intoxicated commercial layer birds. **Toxin Reviews**, v. 37, n. 3, p. 206-215, 2018. <https://doi.org/10.1080/15569543.2017.1342096>

GOESSLING, J. M. *et al.* A meta-analysis of plasma corticosterone and heterophil: lymphocyte ratios – is there conservation of physiological stress responses over time? **Functional Ecology**, v. 29, n. 9, p. 1189-1196, 2015. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12442>

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. 35, p. 44650-44655, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10057-y>

GONÇALVES, V. F. **Anomalias nucleares eritrocitárias como ferramentas de biomonitoramento por aves no Cerrado**. 2022. 84f. Tese (Doutorado em Ecologia, Conservação e Biodiversidade) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022. DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.5306>

GONZÁLEZ-ACEVEDO, A.; GARCÍA SALAS, J.A.; GOSÁLVEZ, J. *et al.* Avaliação da genotoxicidade ambiental por ensaio cometa em *Columba livia*. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 26, n. (1), p.61–66, 2016. <http://doi.org/10.3109/15376516.2015.1114059>

GRÚZ, A.; MACKLE, O.; BARTHA, A. *et al.* Biomonitoring of toxic metals in feathers of predatory birds from eastern regions of Hungary. **Environmental Science and Pollution Research**, v.26, p.26324–26331, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05723-9>

GWYNNE, J. A.; RIDGELY, R. S.; TUDOR, G.; ARGEL, M. Aves do Brasil: Pantanal e Cerrado. Belo Horizonte: Editora Horizonte, 2010.

JOHNSON, M.T.J. & MUNSHI-SOUTH, J. Evolution of life in urban environments. **Science**, v. 358, n. 6363, p. eaam8327, 2017. <https://doi.org/10.1126/science.aam8327>

LOBATO, D. N. *et al.* Hematological and parasitological health conditions of the pale-breasted thrush (*Turdus leucomelas*) (Passeriformes: Turdidae) in southeastern Brazil. **Zoologia**, v. 28, n. 6, p. 771-776, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702011000600010>

MACHADO-FILHO, R. A. *et al.* Seasonal differences in immune profiles and body conditions of migratory and permanent resident neotropical flycatchers. **The Condor**, v. 112, n. 3, p. 579-590, 2010. <https://doi.org/10.1525/cond.2010.090146>

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, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.1007/BF03544440>

MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. In: MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. (Eds.). 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)

MAS, E. *et al.* Erythrocytic abnormalities in three Antarctic penguin species along the Antarctic Peninsula: biomonitoring of genomic damage. **Polar Biology**, v. 38, n. 7, p. 1067-1074, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07408-9>

MINIAS, P. Evolution of heterophil/lymphocyte ratios in response to ecological and life-history traits: A comparative analysis across the avian tree of life. **Journal of Animal Ecology**, v. 88, n. 4, p. 554-565, 2019. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12941>

NASCIMENTO, M. E. M.; TINOCO, L.; GUEDES, N. M. R. *et al.* Genotoxic analysis of Blue-and-Yellow Macaw (*Ara ararauna*) nestlings in an urban environment in the Central-West region of Brazil. **Urban Ecosystems**, v. 28, n. 8, 2025. <https://doi.org/10.1007/s11252-024-01654-7>

PIACENTINI, V. Q. *et al.* Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee. **Brazilian Journal of Ornithology**, v. 3, n. 2, p. 90-298, 2015. <https://doi.org/10.1007/BF03544294>

PIRES, L. P.; DE MELO, C. Individual–resource networks reveal distinct fruit preferences of selective individuals from a generalist population of the Helmeted Manakin. **Ibis**, v. 162, n. 3, p. 713-722, 2020. <https://doi.org/10.1111/ibi.12794>

QUERO, A. A. M. *et al.* Erythrocyte micronucleus cytome assay of 17 wild bird species from the central Monte desert, Argentina. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 24, p. 25224-25231, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7638-5>

ROBINSON, J.M.; MAVOA, S.; ROBINSON, K. *et al.* Urban centre green metrics in Great Britain: A geospatial and socioecological study. **Plos One**, v.17, n. 11, p.e0276962, 2022. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0276962>

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. DOI <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.226>

RIBEIRO, P. V. A. *et al.* Leukocyte profile of the helmeted manakin, *Antilophia galeata* (Passeriformes: Pipridae) in a Cerrado forest fragment. **Zoologia**, v. 37, p. 1-9, 2020. <https://doi.org/10.3897/zootaxa.37.e46441>

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, p. e50-e50, 2020. <https://doi.org/10.5902/2179460X40002>

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, n. 26, p. 40204-40212, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19037-w>

RIBEIRO, P. V. A. **Hemoparasitismo e razão heterófilo/linfócito no biomonitoramento de aves do Cerrado**. 2022. 98 f. Tese (Doutorado em Ecologia, Conservação e Biodiversidade). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022. DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.260>

RIBEIRO, P. V. A. *et al.* Haemosporidian parasites in *Antilophia galeata* (Aves: Pipridae) in a Cerrado forest fragment. **Bioscience Journal**, v. 39, 2023. <https://doi.org/10.14393/BJ-v39n0a2023-53589>

RUUS, A. *et al.* Methylmercury biomagnification in an Arctic pelagic food web. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 11, p. 2636-2643, 2015. <https://doi.org/10.1002/etc.3143>

SANTOS, E. G. *et al.* Urbanisation-induced changes in the morphology of birds from a tropical city. **Emu - Austral Ornithology**, v. 123, n. 4, p. 291-302, 2023. <https://doi.org/10.1080/01584197.2023.2253836>

SICK, H. **Ornitologia brasileira: uma introdução**. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 1997.

SIGRIST, T. **Guia de campo Avis do Brasilis – Avifauna Brasileira: Pranchas e mapas**. São Paulo: Avis Brasilis, 2009. 491 p

SILVA, A. M.; MELO, C. Frugivory and seed dispersal by the helmeted manakin (*Antilophia galeata*) in forests of Brazilian Cerrado. **Ornitología Neotropical**, v. 22, n. 1, p. 69-77, 2011.

SILVEIRA, E. D. R. *et al.* Micronucleus and different nuclear abnormalities in wild birds in the Cerrado, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 0123456789, 4 out. 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16845-4>

SOUZA, J. M. *et al.* A pioneering study on cytotoxicity in Australian parakeets (*Melopsittacus undulates*) exposed to tannery effluent. **Chemosphere**, v. 175, p. 521-533, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.087>

SKARPHEDINSDOTTIR, H. *et al.* Genotoxicity in herring gulls (*Larus argentatus*) in Sweden and Iceland. **Mutation Research**, v.702, n. 1, p. 24-31, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.07.002>