

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
CONSERVAÇÃO**

**AVALIAÇÃO GENOTÓXICA EM AVES SILVESTRES DO  
CERRADO**

Mestranda: Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira  
Orientadora: Dra. Lia Raquel de Souza Santos  
Coorientadoras: Dra. Celine de Melo e  
Dra. Maria Andreia Corrêa Mendonça

RIO VERDE – GO  
Dezembro de 2020

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
CONSERVAÇÃO**

**AVALIAÇÃO GENOTÓXICA EM AVES SILVESTRES DO  
CERRADO**

Mestranda: Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira  
Orientadora: Dra. Lia Raquel de Souza Santos  
Coorientadoras: Dra. Celine de Melo e  
Dra. Maria Andreia Corrêa Mendonça

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de Concentração: Conservação dos Recursos Naturais.

RIO VERDE – GO  
Dezembro de 2020

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
CONSERVAÇÃO**

**AVALIAÇÃO GENOTÓXICA EM AVES SILVESTRES DO  
CERRADO**

Mestranda: Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira  
Orientadora: Profa. Dra. Lia Raquel de Souza Santos

*TITULAÇÃO:* Mestre em Biodiversidade e Conservação –  
Área de Concentração Conservação dos Recursos Naturais

RIO VERDE – GO  
Dezembro de 2020

## FICHA CATALOGRÁFICA

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

SSI587  
a Silveira, Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira  
AVALIAÇÃO GENOTÓXICA EM AVES SILVESTRES DO CERRADO  
/ Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira  
Silveira; orientadora Lia Raquel de Souza Santos; co-  
orientadora Celine de Melo. -- Rio Verde, 2020.  
62 p.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-Graduação  
em Biodiversidade e Conservação) -- Instituto Federal  
Goiano, Campus Rio Verde, 2020.

1. Guilda trófica. 2. Micronúcleo. 3. Onívoros. 4.  
Granívoros. 5. Genotoxicidade. I. de Souza Santos,  
Lia Raquel, orient. II. de Melo, Celine, co-orient.  
III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 n°2376



Repositório Institucional do IF

Goiano - RIIF Goiano

Sistema Integrado de Bibliotecas

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR  
PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO  
IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

**Identificação da Produção Técnico-Científica**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese  | <input type="checkbox"/> Artigo Científico              |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação                      | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização                 | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação                             | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ |   |

Nome Completo do Autor: Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira

Matrícula: 2018202310840034

Título do Trabalho: AVALIAÇÃO GENOTÓXICA EM AVES SILVESTRES DO CERRADO

**Restrições de Acesso ao Documento**

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique: \_\_\_\_\_

Informe data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 15/12/2020.

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

**DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA**

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, 07/12/2020.  
Local Data

*Elaine D.R.S. Oliveira*

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

*Sia Borges*

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
 SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
 INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 29/2020 - GGRAD-RV/DE-RV/CMPRV/IFGOIANO

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO**

**ATA Nº/48**

**BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**

Aos vinte e seis dias do mês de outubro do ano de dois mil e vinte, às 08h00min (oito horas), reuniram-se os componentes da banca examinadora em sessão pública realizada por videoconferência, para procederem a avaliação da defesa de Dissertação, em nível de mestrado, de autoria de **Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira**, discente do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pela presidente da Banca Examinadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lia Raquel de Souza Santos Borges, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida a autora para, em 30 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu a examinada, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação Biodiversidade e Conservação, e procedidas às correções recomendadas, a Dissertação foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRA EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO**, na área de concentração em Conservação dos Recursos Naturais, pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGBio da versão definitiva da Dissertação, com as devidas correções. Assim sendo, a defesa perderá a validade se não cumprida essa condição, em até **60 (sessenta) dias** da sua ocorrência. A Banca Examinadora recomendou a publicação dos artigos científicos oriundos dessa dissertação em periódicos após procedida as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Dissertação de Mestrado, e para constar, foi lavrada a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada eletronicamente pelos membros da Banca Examinadora.

Membros da Banca Examinadora

<b>Nome</b>	<b>Instituição</b>	<b>Situação no Programa</b>
Prof <sup>a</sup> . Dr <sup>a</sup> . Lia Raquel de Souza Santos Borges	IF Goiano - Rio Verde	Presidente
Prof <sup>a</sup> . Dr <sup>a</sup> . Daniela Melo e Silva	UFG	Membro externo

Prof. Dr. Rinneu Elias Borges	UniRV	Membro externo
-------------------------------	-------	----------------

Documento assinado eletronicamente por:

- Rinneu Elias Borges, Rinneu Elias Borges - 2344 - PROFESSORES DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE DO ENSINO SUPERIOR - Universidade de Rio Verde (01815216000178), em 26/10/2020 10:46:59.
- Daniela de Melo e Silva, Daniela de Melo e Silva - Professor Avaliador de Banca - Universidade Federal de Goiás (01567601000143), em 26/10/2020 10:20:19.
- Lia Raquel de Souza Santos Borges, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 26/10/2020 10:18:35.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 02/10/2020. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 194599  
Código de Autenticação: bbdfa33cef



INSTITUTO FEDERAL GOIANO  
Campus Rio Verde  
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970  
(64) 3620-5600

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
CONSERVAÇÃO**

**AVALIAÇÃO GENOTÓXICA EM AVES SILVESTRES DO  
CERRADO**

Mestranda: Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira  
Orientadora: Dra. Lia Raquel de Souza Santos

*TITULAÇÃO*: Mestre em Biodiversidade e Conservação –  
Área de Concentração Conservação dos Recursos Naturais

APROVADA em 26 de outubro de 2020.

Prof. Dr. Rinneu Elias Borges  
*Avaliador externo*  
UNIRV / Rio Verde

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Daniela de Melo e Silva  
*Avaliadora externa*  
UFG / Goiânia

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Lia Raquel de Souza Santos Borges  
Presidente da Banca  
IF / Rio Verde



*Dedicatória*

Aos meus filhos, marido e minha mãe por serem a minha base e sustentação em todos os momentos, sem os quais nenhum sentido teria a minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Meu primeiro agradecimento é a Deus que me permitiu saúde e a possibilidade de chegar até aqui, após um tratamento de Câncer de mama onde as expectativas não eram muito favoráveis.

Aos meus filhos, Miguel e Davi Silveira Rodrigues, ao meu esposo Luciano Rodrigues de Oliveira e a minha mãe Dolícia da Silveira Prego pelo apoio incondicional, segurando a barra e abrindo mão da minha presença por tantos momentos, sem o qual não seria possível que eu chegasse tão longe.

Ao meu médico, amigo e incentivador Dr. Ruffo de Freitas Júnior pelo apoio e por cuidar tão bem da minha saúde.

À minha orientadora, professora Dra. Lia Raquel de Souza Santos, por toda amizade, conselhos e inspirações para que eu retornasse após tanto tempo a carreira acadêmica, por ter me mostrado o caminho e me ensinado com toda a paciência e dedicação, pela amizade, pelo exemplo de profissionalismo e, principalmente, pela confiança e pelo incentivo para seguir em frente.

À minha coorientadora Dra. Celine de Melo que aceitou o desafio de me coorientar e sempre me deu apoio e atenção. Ao professor Dr. Rinneu Elias Borges, um exemplo de professor e pesquisador e incentivador, pela amizade, ajuda nas coletas, pelas ideias e sugestões sempre muito bem-vindas e por não medir esforços para ajudar sempre que precisei.

Aos professores que me inspiraram nesse momento de estudo, professor Dr. Alessandro Ribeiro de Moraes e professora Dra. Maria Andreia Corrêa Mendonça, pelos ensinamentos.

Aos amigos, pesquisadores e doutorandos Me. Rhayane Alves Assis e Me. Marcelino Benvindo-Souza, pela enorme contribuição em todas as etapas deste estudo, sem a qual, certamente, tudo seria muito mais difícil e pela paciência para me ajudar nos procedimentos metodológicos.

Aos amigos pesquisadores Me. Nathan Pereira Lima Amorim e Cirley Gomes Araújo dos Santos e Me. Marco Antônio por terem contribuído muito para a realização deste trabalho, acordando de madrugada e participando das coletas, agradeço imensamente.

Aos demais amigos do Laboratório de Biologia Animal (LABAN), em especial, Leissa, Itamar, Nayara, Bruno, Tainã, Seixas e Antonio pela amizade, companheirismo e por toda a ajuda nos momentos difíceis.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde por ter me concedido a oportunidade de cursar o mestrado e por ter fornecido os recursos necessários para a realização deste estudo.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

## **BIOGRAFIA DA AUTORA**

Elaine Divina Rodrigues Silveira Oliveira, natural de Rio Verde, Goiás, nascida em 1977, filha de Dolícia da Silveira Prego e Denisard Rodrigues Pacheco. Concluiu o ensino médio no Colégio Estadual Martins Borges em Rio Verde no ano de 1995 e iniciou sua formação acadêmica no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na FESURV hoje UniRV a cidade de Rio Verde, Goiás, no ano de 1996. Finalizou a graduação no ano de 2000 e desde então vem exercendo a carreira docente na rede estadual de ensino do município de Rio Verde; durante muito tempo ficou longe do meio acadêmico, dedicando-se ao trabalho de professora. Em 2007 fez uma especialização pela UNB e foi mãe pela primeira vez. Após um período difícil em 2018 ingressou como aluna especial no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação no IFGoiano campus Rio Verde e no semestre seguinte no mestrado o qual será concluído no ano de 2020.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiv
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIACÕES .....	xvi
RESUMO GERAL .....	1
GENERAL ABSTRACT.....	2
1. INTRODUÇÃO .....	3
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	5
3. CAPÍTULO I .....	9
<b>RESUMO</b> .....	10
<b>3.1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>3.2 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	13
<b>3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	14
<b>3.5 CONCLUSÃO</b> .....	23
<b>3.6 REFERÊNCIAS</b> .....	23
4. CAPÍTULO II .....	28
<b>RESUMO</b> .....	29
<b>4.1 INTRODUÇÃO</b> .....	31
<b>4.2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	32

<b>4.3 RESULTADOS</b> .....	34
<b>4.4 DISCUSSÃO</b> .....	38
<b>4.5 CONCLUSÃO</b> .....	42
<b>4.6 REFERÊNCIAS</b> .....	42
<b>5. CONCLUSÃO GERAL</b> .....	47

## ÍNDICE DE TABELAS

### CAPÍTULO II – FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E ANORMALIDADES ERITROCITÁRIAS NUCLEARES EM AVES SELVAGENS NO CERRADO CENTRAL, BRASIL

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1:</b> Espécies de aves coletadas em ambos os ambientes de estudo. ....	35
<b>Tabela 2:</b> Frequência média de MN e total de AENs por espécie dentro de cada ambiente. .....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPÍTULO I – FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E OUTRAS ANORMALIDADES NUCLEARES ERITROCITÁRIAS EM AVES: UMA REVISÃO

#### Página

- Figura 1:** Variação temporal no número de artigos publicados entre 1992 a agosto de 2020 com o teste de micronúcleo em aves. .... 15
- Figura 2:** Produção científica para o Teste de Micronúcleo e demais AEN's em aves, considerando os últimos 28 anos. .... 15
- Figura 3:** Natureza da aplicação do teste de micronúcleo em espécies de aves. .... 17
- Figura 4:** Esquema das alterações eritrocitárias nucleares (AEN's) baseado nos tipos mais frequentes encontrados em aves. .... 22

### CAPÍTULO II – FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E ANORMALIDADES ERITROCITÁRIAS NUCLEARES EM AVES SELVAGENS NO CERRADO CENTRAL, BRASIL

#### Página

- Figura 1:** Áreas utilizadas para amostragem de aves no estado de Goiás, Brasil..... 33



**Figura 2:** Fotomicrografia de células sanguíneas de aves. É possível identificar um micronúcleo e as demais anormalidades nucleares em eritrócitos de aves. Aumento: objetiva de 100x..... 37

**Figura 3:** Frequência média de MN no onívoro *G. chopi* de área conservada em relação à mesma espécie de área agrícola. .... 38

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIACÕES

MN: Micronúcleo

AEN's: Anormalidades Eritrocitárias Nucleares

DNA: Ácido desoxirribonucleico

PNE: Parque Nacional das Emas

Km: Quilômetro

ICMBio: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

IFGoiano: Instituto Federal Goiano

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente

h: Horas

BN: Célula Binucleada

BR: Célula com Broto

AN: Célula Anucleada

LB: Célula com núcleo Lobado

EN: Célula com núcleo Entalhado

RE: Célula com núcleo Reniforme

SEG: Célula com núcleo Segmentado

## RESUMO GERAL

SILVEIRA, E.D.R.O. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – Dezembro de 2020. **Avaliação genotóxica em aves silvestres do Cerrado.** Orientadora: Lia Raquel de Souza Santos. Coorientadoras: Celine de Melo Maria Andreia Corrêa Mendonça.

As aves têm sido utilizadas como importantes indicadoras de qualidade ambiental. Dentre os diferentes biomarcadores utilizados para a avaliação da saúde das aves, o teste de micronúcleo (MN) é considerado um dos mais simples, rápido, menos invasivo e preciso para a detecção de genotoxicidade causada por contaminantes. Assim, neste estudo, apresentamos no primeiro capítulo uma revisão global da utilização desse ensaio em aves. No geral, os resultados indicaram que apenas 48 estudos foram publicados com essa temática nos últimos 28 anos. Dentre os países que mais publicam sobre esse tema, Paquistão lidera as pesquisas (n=11), seguido por Brasil com dez estudos. Detectando a escassez de estudos para a avifauna envolvendo a temática de genotoxicidade, no segundo capítulo, o teste do MN foi utilizado em aves no cerrado brasileiro de modo a iniciar o preenchimento das lacunas de conhecimento do uso desse biomarcador para aves no Brasil. Foram realizadas a comparação entre duas comunidades de animais de áreas agrícola *versus* conservada. Na área conservada houve maior abundância, e riqueza de aves quando comparada a área agrícola. Outro dado relevante foi guildas encontradas nas áreas de estudo, no ambiente agrícola encontramos as guildas onívora e granívora e no ambiente conservado as guildas dos insetívoros, granívoros e onívoros. Espécies granívoras de área agrícola apresentaram uma maior frequência de células com micronúcleo, além de uma série de anormalidades nucleares eritrocitárias. Finalmente, esses resultados trazem novas informações sobre a genotoxicidade em aves dos ambientes agrícola e não agrícola no Brasil.

**PALAVRAS-CHAVE:** Guilda trófica, Onívoros, Granívoros, Micronúcleo, Genotoxicidade

## GENERAL ABSTRACT

SILVEIRA, E.D.R.O. Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde - December 2020.  
**Genotoxic evaluation in wild birds of the Cerrado.** Advisor: Lia Raquel de Souza Santos. Co-supervisors: Celine de Melo and Maria Andreia Corrêa Mendonça.

Birds have been used as important indicators of environmental quality. Among the different biomarkers used to assess the health of birds, the micronucleus (MN) test is considered one of the simplest, fastest, least invasive and accurate for detecting genotoxicity caused by contaminants. Thus, in this study, we present in the first chapter a global review of the use of this test in birds. Overall, the results indicated that only 48 studies have been published on this topic in the past 28 years. Among the countries that most publish on this topic, Pakistan leads the research (n = 11), followed by Brazil with ten studies. Detecting the scarcity of studies for avifauna involving the theme of genotoxicity, in the second chapter, the MN test was used in birds in the Brazilian savannah in order to start filling the knowledge gaps in the use of this biomarker for birds in Brazil. A comparison was made between two communities of animals from agricultural versus conserved areas. In the conserved area, there was greater abundance and richness of birds when compared to the agricultural area. Another relevant fact was guilds found in the study areas, in the agricultural environment we find the omnivorous and granivorous guilds and in the conserved environment the guilds of insectivores, granivores and omnivores. Granivorous species from the agricultural area showed a higher frequency of cells with micronucleus, in addition to a series of erythrocyte nuclear abnormalities. Finally, these results provide new information on genotoxicity in birds from agricultural and non-agricultural environments in Brazil.

**KEYWORDS:** Trophic guild, Omnivores, Granivores, Micronucleus, Genotoxicity

## 1. INTRODUÇÃO

O agronegócio tem se tornado o principal modelo econômico mundial e como consequência surgiram novas metodologias de produção agrícola, tornando-se comuns as transformações no meio ambiente, em especial as causadas pelo uso de agrotóxicos (Brum et al., 2020). O Bioma Cerrado no centro do Brasil possui um elevado potencial agrícola devido à riqueza de água e relevo, e além disso percebe-se a ocupação humana cada vez mais evidente (Klink et al., 1993). Muitas áreas naturais de mata são convertidas em campos agrícolas ou utilizadas para pastagens e outras atividades (Primack et al., 1993), e toda essa transformação gerou consequências para as aves (Oliveira et al., 2004), como a diminuição de espécies mais especializadas e consequente aumento na quantidade de aves com hábitos generalistas (Primack e Rodrigues, 2001; Stotz et al., 1996).

A exposição de organismos não-alvos a compostos químicos é bastante comum e pode ser constatada por inúmeros casos de intoxicação em amostras significativas da população silvestre, incluindo aves (Parker e Gosdtein, 2000). As aves são consideradas importantes bioindicadoras uma vez que apresentam sensibilidade (Grue e Shipley, 1984; Parker e Goldstein, 2000) e suscetibilidade à contaminação ambiental devido a algumas características, tais como a capacidade de deslocamento e a diversificação de itens alimentares ao final da cadeia alimentar (Valdes et al., 2010).

Uma maneira de se avaliar a exposição a diferentes contaminantes é pela avaliação da genotoxicidade e citotoxicidade, que é capaz de auxiliar no entendimento dos efeitos de atividades antrópicas sobre a saúde das aves. A frequência de células micronucleadas é amplamente utilizada para detecção de efeitos genotóxicos de produtos químicos (Quirós et al., 2008). Células micronucleadas são originadas durante a divisão mitótica da cromatina, que por diferentes razões possa ter sofrido com atraso na anáfase. Na

telófase, esse cromossomo excluído dos núcleos das células filhas é encontrado no citoplasma como um micronúcleo (MN) (Schmid, 1976, Fenech et al., 1999).

A partir da análise de células micronucleadas, foram também observadas a presença de outras anormalidades eritrocitárias nucleares (AEN's), como célula com broto nuclear, ponte nucleoplasmática, célula binucleada, núcleo segmentado, núcleo entalhado, bolha nuclear, núcleo reniforme, cauda nuclear, núcleo lobado e cromatina condensada e células anucleadas, sugerindo que elas devam ser consideradas como alterações nucleares e que estariam relacionadas à amplificação do DNA (Shimizu et al., 1998; Souza et al., 2017; Faria et al., 2017). Dessa forma, o teste de MN e a avaliação das anormalidades eritrocitárias nucleares são considerados biomarcadores eficientes para demonstrar os danos citogenéticos induzidos por agentes químicos e físicos devido não apenas à simplicidade para a realização, como também pela sensibilidade aos xenobióticos que são capazes de induzir alterações no DNA (Faria et al., 2018). As consequências das alterações eritrocitárias nas aves, podem incluir, por exemplo, o impacto direto na sobrevivência dos indivíduos (Souza et al., 2017). Assim, é possível considerar a presença de MN na célula como um biomarcador de danos ao DNA (Souto et al., 2018).

Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a genotoxicidade em aves silvestres do Cerrado através da análise de anormalidades eritrocitárias nucleares. Para essa avaliação, o estudo foi conduzido de modo a *i*) investigar sobre a produção científica global produzida quanto ao do teste do MN em aves selvagens por meio de uma revisão bibliográfica; e *ii*) avaliar os efeitos das substâncias genotóxicas em aves silvestres no Cerrado Brasileiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adam, M.L., Torres, R.A., Kiska, M., Oliveira, F.F, Lacerda, O., Sponchiado, G., Ribas, C.M.O., Correia, M.T.S. 2013. Assessment of Genome Damage in Bird and Mammal Species as a Tool for Improvements in ex-situ Conservation at Zoos. *Natureza & Conservação* 11:59-64.
- AJ García-Fernández, JA Sánchez-García, P. Jimenez-Montalban, A. Luna Chumbo e cádmio em aves selvagens no sudeste da Espanha. *Environ Toxicol Chem.*, 14 (1995), pp. 2049 - 2058
- Baesse, C.Q., Tolentino, V.C.D., da Silva, A.M., Silva, A.D., Ferreira, G.A., Paniago L. P. M., Nepomuceno, J. C. de Melo, C. 2015. Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115:223-228.
- Barata C., Fabregat MC., Cotin J., Huertas D., Solé H., Quirós G., Sanpera C., Jover G., Ruiz X., Grimalt J.O., Pina B. 2010. Blood biomarkers and contaminant levels in feathers and eggs to assess environmental hazards in heron nestlings from impacted sites in Ebro basin (NE Spain). *Environ Pollut.* 158:704-10.
- Bichsel, D., De Marco, P., Bispo, A.A., Ilg, C., Dias-Silva, K., Vieira, T.B., Correa, C.C., Oertli, B. 2016. Water quality of rural ponds in the extensive agricultural landscape of the Cerrado (Brazil). *Limnology*, 17:239-246.
- Bouam, I; Bachir, ASI; Katayama, N. 2017 Variation in bird assemblages along an agricultural intensification gradient: a case study of olive orchards in north-eastern Algeria. *Ornithological Science*, 16: 147-157
- Bhunya S.P., Jena G.B. 1992. Genotoxic potential of the organochlorine insecticide lindane gamma-BHC: an in vivo study in chicks. *Mutat Res.* 272:175-81.
- Bhunya SP., Jena GB. 1993. Studies on the genotoxicity of monocrotophos, an organophosphate insecticide, in the chick in vivo test system. *Mutat Res.* 292(3):231-9.
- Brown, R.E., Brain, J.D., Wang, N. 1997. The avian respiratory system: a unique model for studies of respiratory toxicosis and for monitoring air quality. *Environ. Health Perspect.*, 105 (1997), p. 2
- Brum, Bruno Ramos et al. Análise temporal do uso de aves como sentinelas ambientais no monitoramento da contaminação por agrotóxicos. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, Itabira, v. 9, n. 7, p. e752974807
- CP Gerba; ML Brusseau, IL Pimenta, CP Gerba (Eds.), *Avaliação de risco da Ambiental e Ciência Poluição* (terceira ed.), Academic Press, Amsterdã (2019), pp. 541 – 563
- Faria, D.B.G., Montalvao, M.F., de Souza, J.M., Mendes, B.D., Malafaia, G., Rodrigues, A.S.D. 2017. Analysis of various effects of abamectin on erythrocyte morphology in Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Environmental Science and Pollution Research*, 25:2450-2456.
- Farag, M.R & Alagawany, M. 2018. Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 279:73-83.
- Fenech M., N. Holland, WP Chang, E. Zeiger, S. Bonassi (1999) O projeto do micronúcleo humano - um estudo colaborativo internacional sobre o uso da técnica do

- micronúcleo para medir danos ao DNA em humanos. *Mutation Res.*, 428, pp. 271 - 283
- Fenech M. 2000. The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res* 455:81–95
- Ferreira, M.E., Ferreira, L.G., Miziara, F., Soares-Filho, B.S. 2012. Modeling landscape dynamics in the central Brazilian savanna biome: future scenarios and perspectives for conservation. *J. Land Use Sci.*, 1–19.
- França, H., M.B. Ramos-Neto, A. Setzer. 2007. O fogo no Parque Nacional das Emas. Instituto do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama). 140p.
- Fernandes F. M & Rego J. O. 2014. Dimorph and rawilsonianii Rizzini (Fabaceae): distribution, habitat and conservation status. *Acta Botanica Brasilica*. 28(3): 434-444.
- Ghaffar, A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, R.Z., Asad, M. 2015a. Clinico- hematological and mutagenic changes induced by arsenic and coppersulphate in adult poultry males. *Journal of animal and plant sciences*, 25:1555-1561.
- Ghaffar, A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, R.Z., Aslam, S., Mehreen, M., Rani, K. 2015b. Hemato-Biochemical and testicular changes induced by sub- chronic doses of triazophos in male japanese quail. *Pakistan Journal of Agricultural sciences*, 52: 801-807.
- Ghaffar, A., Hussain, R., Abbas, G., Ali, M.H., Saleem, M., Khan, T., Malik, R., Ahmad, H. 2017a. Cumulative Effects of Sodium Arsenate and Diammonium Phosphate on Growth Performance, Hemato-Biochemistry and Protoplasm in Commercial Layer. *Pakistan Veterinary Journal*, 37:257-262.
- Ghaffar, A., Hussain, R., Abbas, G., Ahmad, M.N., Abbas, A., Rahim, Y., Younus, M., Shahid, M., Mohiuddin, M. (2017b) Sodium arsenate and/or urea differently affect clinical attributes, hemato-biochemistry and DNA damage in intoxicated commercial layer birds, *Toxin Reviews*.
- Gomes, MP; Cruz, FVD; Bicalho, EM; Borges, FV; Fonseca, MB; Juneau, P; Garcia, QS. 2017. Effects of glyphosate acid and the glyphosate-commercial formulation (Roundup) on Dimorph and rawilsonianii seed germination: Interference of seed respiratory metabolism. *Environmental Pollution*, 220: 452-459 Parte: A.
- Grecchi, R.C., Gwyn, Q.H.J., Bénié, G.B., Formaggio, A.R. & Fahl, F.C. (2014). Land use and land cover changes in the Brazilian Cerrado: A multidisciplinary approach to assess the impacts of agricultural expansion. *Appl. Geogr.* 55, 300-312
- Hussain, R., Ghaffar, A., Ali, H.M., Abbas, R.Z., Khan, A., Khan, I.A., Ahmad, I., & Iqbal, Z. (2017) Análise de diferentes impactos tóxicos do fipronil no crescimento, hemato-bioquímica, protoplasma e reprodução em galos adultos, *Revisões do Toxin*.
- IMB 2018. Instituto Mauro Borges de estatística e estudos socioeconômicos. Disponível em [http://www.imb.go.gov.br/viewrele.asp?cd\\_assunto=5&cd\\_anomes=20140000](http://www.imb.go.gov.br/viewrele.asp?cd_assunto=5&cd_anomes=20140000). Acesso em 14 de julho de 2018.
- Jena GB, Bhunya SP. 1992. Thirtyday genotoxicity study of an organophosphate insecticide, monocrotophos, in a chick in vivo test system. *In Vivo*, 6(5):527-30.
- Klink, C. A., Moreira, A. G. & Solbrig, O. T. Ecological impacts of agricultural development in the Brazilian Cerrados. *The World's savannas: Economic driving forces, ecological constraints and policy options for sustainable land in the Biosphere* 12, (eds Young, M. D. & Solbrig O. T.) 259–283 (Parthenon Publishing, London. 1993).
- Moreno, C., Ferro, V.G. 2016. Arctiinae moths (Lepidoptera, Erebidae) of the Emas National Park, Goiás, Brazil. *Biota Neotropica*. 162: e20150037.
- Oliveira, N. P.; Moi, G. P.; Atanaka-Santos, M.; Silva, A. M. C.; Pignati, W. A. (2014). Malformações congênitas em municípios de grande utilização de agrotóxicos em Mato



- Grosso, Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, 19, 4123 – 4130.
- Pascoal, J.O., Amorim, M.P., Martins, M.M., Melo, C., Silva Júnior, E.L., Ogrzewalska, M., Labruna, M.B., Szabó, M.P.J. 2013. Ticks on birds in a savanna (Cerrado) reserve on the outskirts of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 22:46-52.
- Palhares D, Grisolia CK 2002 Comparison between the micronuclei frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. *Gen Mol Biol* 253:281–284.
- Piacentini, V.Q.; Aleixo, A.; Agne, C.E.; Maurício, G.N.; Pacheco, J.F.; Bravo, G.A.; Brito, G.R.R.; Naka, L.N.; Olmos, F.; Posso, S.; Silveira, L.F.; Betini, G.S.; Carrano, E.; Franz, I.; Lees, A.C.; Lima, L.M.; Pioli, D.; Schunck, F.; Amaral, F.R.; Bencke, A.; Cohn-Haft, M.; Figueiredo, L.F.A.; Straube, F.C.; Cesari, E. 2015. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 23(2):91-298.
- Pignati, A.W., Lima, F.A.N.S., Lara, S.S., Correa, M.L.M., Barbosa, J.R., Leão, L.H.C., Pignatti, M.G. 2017. Spatial distribution of pesticide use in Brazil: a strategy for Health Surveillance. *Ciência & Saúde Coletiva*, 22:10.
- Primack R.B. (1993) *Fundamentos da Biologia da Conservação* Sinauer Press, Massachusetts, p. 564
- Primack e Rodrigues, 200. RB Primack, E. Rodrigues *Biologia da conservação Londrina, Vida* (2001), p. 328
- Quero, AAM; Ferre, DM; Zarco, A; Cuervo, PF; Gorla, NBM. 2016. Erythrocyte micronucleus cytome assay of 17 wild bird species from the central Monte desert, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24): 25224-25231.
- Sharaf S, Khan A, Khan MZ, Aslam F, Saleemi MK, Mahmood F (2010) Clinico-hematological and micronuclear changes induced by cypermethrin in broiler chicks: their attenuation with vitamin E and selenium. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62:333-341.
- Santos, C.S.A.; Brandão, R.; Monteiro, M.S.; Bastos, A.C.; Soares, A.M.V.M.; Loureiro, S. 2017. Assesment of DNA damage in *Ardea cinerea* and *Ciconia*: A 5-year study in Portuguese birds retrieved for rehabilitation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 136: 104-110.
- Silva, F.C.; Silva, G.G.; Chagas, M.O.; Jung, D.M.H. 2014. Composição da comunidade de aves em área urbana no sul do Brasil. *Neotropical Biology and Conservation*, 9(2):78-90.
- Souto, H.N., Campos Júnior, E.O., Campos, C.F., Rodrigues, T.S., Pereira, B.B., Morelli, S. 2018. Biomonitoring birds: the use of a micronuclei test as a tool to assess environmental pollutants on coffee farms in southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Souza, J.M., Montalvão, M.F. Silva, A.R.; Rodrigues, A.S.L. Malafaia, G. 2017. A pioneering study on cytotoxicity in Australian parakeets (*Melopsittacus undulates*) exposed to tannery effluent. *Chemosphere*, 175: 521-533.
- Shepherd, G.L., Somers, C.M., 2012. Adapting the Buccal Micronucleus Cytome Assay for Use in Wild Birds: Age and Sex Affect Background Frequency in Pigeons. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 53:136-144.
- Stotz, DF JW Fitzpatrick, TA Parker, DK Moskovits. *Ecologia e Conservação de Aves Neotropicais*. The University of Chicago Press, Chicago (1996), p. 479
- Vitorino, B.D., Rodrigues, M.B., Frota, A.V.B., Avelar, D.M., Rodrigues, W.L., Castrillon, S.K.I., Nunes, J.R.S. 2018. Birds of rural landscape in the Midwest region of the state of Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Biology and Conservation* 131:62-73.

## 2. OBJETIVOS

### **Geral:**

Avaliar a genotoxicidade em aves silvestres a partir de uma revisão global e um estudo *in situ* desses organismos amostrados na região do Cerrado, Brasil.

Especificamente, objetivou-se realizar a:

- **Capítulo I:** Revisar o uso do teste de micronúcleo em aves e avaliar as tendências e lacunas de conhecimento para o ensaio.

- **Capítulo II:** Avaliar a resposta de dano genotóxico pelo uso do teste do MN e outras AEN's em aves de ambiente agrícola e de unidade de conservação na região do Cerrado Central, Brasil. Além disso, buscou associar a toxicidade ao hábito alimentar da avifauna.

### **3. CAPÍTULO I**

## **FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEO E OUTRAS ANORMALIDADES NUCLEARES ERITOCITÁRIAS EM AVES: UMA REVISÃO**

## **FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOSE OUTRAS ANORMALIDADES NUCLEARES ERITROCITÁRIAS EM AVES: UMA REVISÃO**

### **RESUMO**

As aves são bioindicadoras de qualidade ambiental, uma vez que são sensíveis a agentes tóxicos oriundos de ações antropogênicas, e o teste de micronúcleo (MN) é um ensaio eficaz para detecção de dano genotóxico causado pela ação de agentes xenobióticos. De acordo com a literatura, este é o primeiro estudo a rastrear o uso deste ensaio em aves nos últimos 28 anos. Os resultados evidenciaram um aumento no número de artigos com essa temática em uma escala temporal, todavia, mais estudos ainda são necessários para garantir um maior espectro de conhecimento dos fatores genotóxicos. Além da detecção de micronúcleos, outras alterações eritrocitárias nucleares (AEN's) têm sido investigadas. Dentre as principais estão, célula com broto nuclear, ponte nucleoplasmática, célula binucleada, núcleo segmentado, núcleo entalhado, bolha nuclear, núcleo reniforme, cauda nuclear, núcleo lobado e cromatina condensada. Foi observado que o teste do micronúcleo também pode ser aplicado em células de mucosa bucal de aves silvestres. Com relação aos fatores xenobióticos, os agrotóxicos têm sido o principal alvo da aplicação do ensaio. Finalmente, os dados refletem que o teste de MN é uma ferramenta útil para detectar dano genotóxico em aves e, conseqüentemente, alerta-se sobre os danos aos quais esses organismos estão sujeitos.

**Palavras-chave:** biomarcadores, micronúcleo, genotoxicidade, conservação, aves

## **MICRONUCLEUS FREQUENCY AND OTHER NUCLEAR ERYTHROCYTES ABNORMALITIES IN BIRDS: A REVIEW**

### **ABSTRACT**

Birds are bioindicators of environmental quality, since they are sensitive to toxic agents from anthropogenic actions, and the micronucleus (MN) test is effective for detecting genotoxic damage due to the action of xenobiotic agents. According to the literature, this is the first study to track the use of MN in birds in the past 28 years. The results showed an increase in the number of papers on this theme on a time scale, however, further studies are needed to increase the knowledge of genotoxic factors. In addition to the detection of micronuclei, other nuclear erythrocyte abnormalities (NEAs) have been investigated. The main NEAs are nuclear stem cell, nucleoplasmic bridge, binucleated cell, segmented nucleus, notched nucleus, nuclear bubble, reniform nucleus, nuclear tail, lobed nucleus and condensed chromatin. It was observed that MN can also be applied to cells of the oral mucosa of wild birds. Regarding xenobiotic factors, pesticides have been the main target of the application of the test. Finally, the data reflect that the MN test is a useful tool to detect genotoxic damage in birds and, consequently, it warns about the damage that these organisms are exposed.

**Keywords:** biomarkers, micronucleus, genotoxicity, conservation, birds.

### 3.1 INTRODUÇÃO

As aves são organismos que fornecem informações sobre a qualidade dos ecossistemas (Quero et al., 2016). Contudo, até agora, receberam pouca atenção em estudos de mutagênese ambiental (Skarphedinsdottir et al., 2010). Apresentam importância funcional nos ambientes que vivem, pois são responsáveis pela dispersão de sementes, polinização e recolonização de ecossistemas (Suliman et al., 2020). Como possuem hábito de forrageio em áreas agrícolas, se tornam alvos fáceis e com maior risco de contaminação por meio de pesticidas (Suliman et al., 2020, Baesse et al., 2015) o que pode ocorrer por meio de água, alimento e até nas próprias penas. Portanto, determinar os efeitos de contaminantes em espécies de aves pode fornecer informações sobre como xenobióticos podem afetar o genoma desse grupo de vertebrados (Theodorakis, 2001).

O estudo dos efeitos de contaminantes antropogênicos na estrutura e função do DNA deve ser um componente essencial da ecotoxicologia, biomonitoramento e avaliação de riscos ecológicos (Theodorakis, 2001). Dentre os biomarcadores utilizados no rastreamento de danos ao DNA, a análise de micronúcleo tornou-se padrão e utilizado em todo o mundo. Micronúcleos (MN) são pequenos núcleos satélites encontrados no citoplasma celular separados do núcleo principal (Hussain et al., 2012), os quais são resultantes de fragmentos cromossômicos ou de cromossomos inteiros que não foram incorporados ao núcleo de um tecido em divisão (Bosch et al. 2011). Associado à identificação de micronúcleos, outras anormalidades eritrocitárias nucleares (AEN's) cujo princípio de formação é atribuído a agentes genotóxicos, foram também consideradas e descritas (Shepherd e Somers 2012; Hussain et al., 2012; Ghaffar et al., 2017a,b).

Em aves, a análise MN e outras anormalidades nucleares têm sido mais voltados para eritrócitos e demonstrado que uma gama de agentes genotóxicos induza formação de MN nesses vertebrados, levando à instabilidade genômica ou até mesmo morte celular (Souza et al., 2017). Entretanto, embora o tecido sanguíneo tenha sido eficiente para demonstrar os efeitos de xenobióticos na expressão de dano genotóxico, MN também foram encontrados em células da medula óssea (Hussain et al., 2017) e células esfoliadas de mucosa bucal de aves (Shepherd e Somers, 2012).

Aves desenvolvem essenciais serviços ecossistêmicos como a predação de insetos e reflorestamento por meio da dispersão de sementes e polinização. Além da importância ecológica, há também a importância econômica dos grupos criados para alimentação

humana, uma vez que a carne de frango é a segunda carne mais consumida no mundo, sendo produzidas aproximadamente 106 milhões de toneladas por ano (Pinto et al., 2015). Portanto, se estes animais estão suscetíveis à contaminação por agentes tóxicos, podem também prejudicar a população humana por meio da alimentação em se tratando de animais de granja (Ghaffar et al., 2017a), bem como, colocar em risco a conservação das populações selvagens. Considerando, portanto, a importância dos testes citogenéticos (teste de micronúcleo) para avaliar danos induzidos por estressores químicos e físicos, o objetivo desse estudo foi rastrear o uso desse biomarcador em aves. Acrescenta-se ainda que esse é o primeiro estudo a analisar a variação temporal da aplicação do teste de micronúcleo e outras AEN's em aves, levando em consideração eritrócitos, células da medula óssea e células esfoliadas de mucosa bucal.

### 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse estudo foram rastreados artigos sobre o teste de micronúcleo em aves em quatro bases de dados, a *ISI Web of Science* ([www.isiknowledge.com](http://www.isiknowledge.com)), Scopus ([www.scopus.com](http://www.scopus.com)), Scielo (<http://www.scielo.org>) e PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) com as seguintes palavras-chave: “*miconucleis*” OR “*miconucleus test*” AND “*birds*”. Combinações subsequentes, *genotoxicity* OR *cytotoxicity* AND *birds* foram utilizadas no intuito de ampliar o número de artigos publicados sobre o teste de micronúcleo em aves. Os dados foram compilados do período mais remoto em cada base, até agosto de 2020, baseados no estudo recente de Benvindo-Souza et al. (2020). Para cada artigo encontrado foram examinados, (a) ano de publicação, (b) aspecto geográfico das pesquisas (países), (c) tipo de anormalidades nucleares avaliadas, (d) espécies investigadas, e (e) origem das amostras de estudo (classificado nas categorias: laboratório ou pesquisa/campo). Os dados foram apresentados por meio de frequência absoluta e relativa. O software livre QGIS foi utilizado para apresentar os estudos no aspecto geográfico.

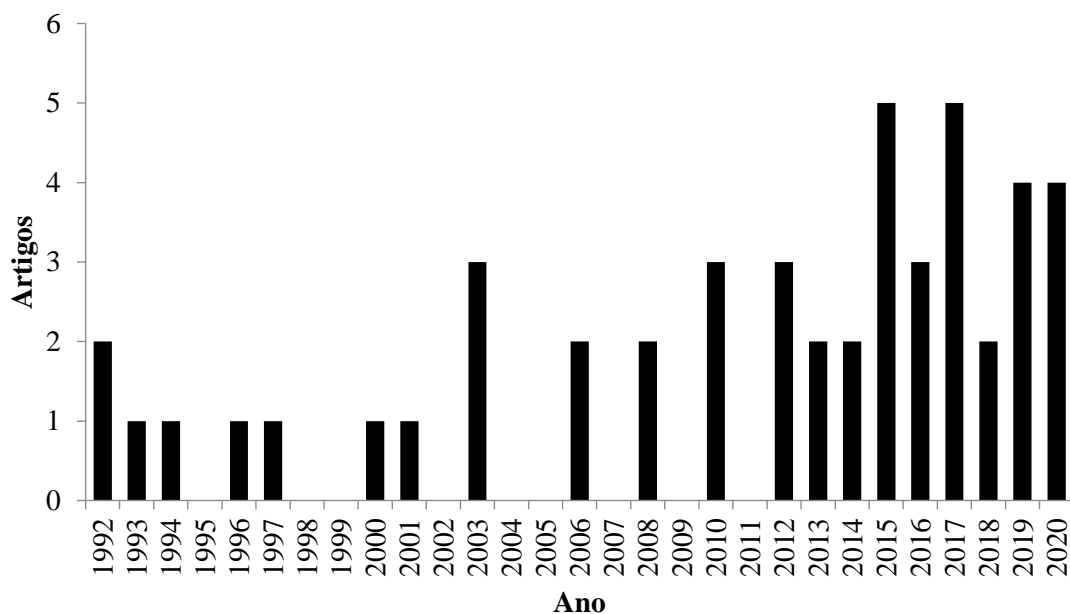
### 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### *Aspecto temporal e geográfico*

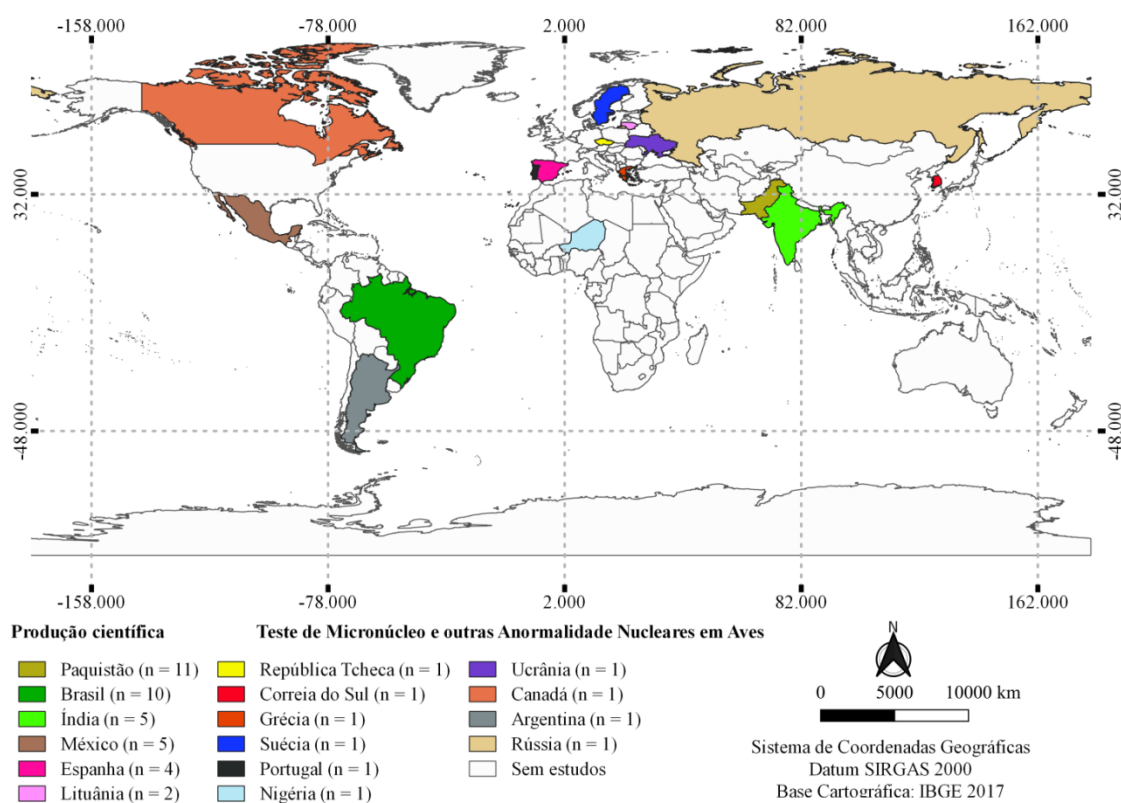
Um total de cento e seis (106) artigos foram encontrados nas bases de dados, destes, apenas quarenta e oito (48) atenderam a aplicação do teste de MN, e um avaliou somente AEN's (células eritrocitárias anucleadas, Gonçalves et al., 2020) sendo publicados entre 1992 a Agosto de 2020. O maior volume de publicações ocorreu para a última década (Figura 1), o que indica uma maior difusão dessa temática no meio científico. Considerando as aves como sentinelas de ambientes perturbados e pela sua diversidade faunística, dados como estes ainda podem ser considerados escassos. Tais estudos envolveram 17 países (Figura 2), dos quais o Paquistão e Brasil lideram em número de trabalhos. No Paquistão, o maior número de trabalhos esteve relacionado a estudos experimentais com aves de interesse alimentar (*Gallus gallus domesticus*), o que pode estar ligado ao alto consumo de carne de frango naquele país (Gaffar et al., 2017; Hussain et al., 2017). Ao se considerar que o Paquistão desempenha um papel importante no mercado de produção de proteína animal em curto tempo para nutrição das pessoas (Shahzad et al., 2012; Rasool et al., 2013) torna-se importante a compreensão dos efeitos de xenobióticos para a segurança alimentar, fazendo desse país o maior impulsionador dessas investigações e segurança alimentar (Gaffar et al., 2017).

A participação expressiva do Brasil com o teste de MN e outras AEN's esteve voltada tanto para animais selvagens, encontrados facilmente na fauna brasileira (com n = 6 trabalhos o que corresponde a 60%) (Pinhatti et al., 2006; Adam et al., 2015; Baesse et al., 2015; Souto et al., 2018; Baesse et al., 2019; Gonçalves et al., 2020) como espécies exóticas (não naturais da fauna brasileira totalizando n = 4 ou 40%) (de Souza et al., 2017; de Faria et al., 2018; Sampaio et al., 2019; Vieira et al., 2019). No Brasil, devido as suas grandes extensões territoriais e de áreas agrícolas, o país leva o posto de um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo (Vieira, 2017), o que consequentemente gera preocupações para a saúde das aves expostas a pesticidas.





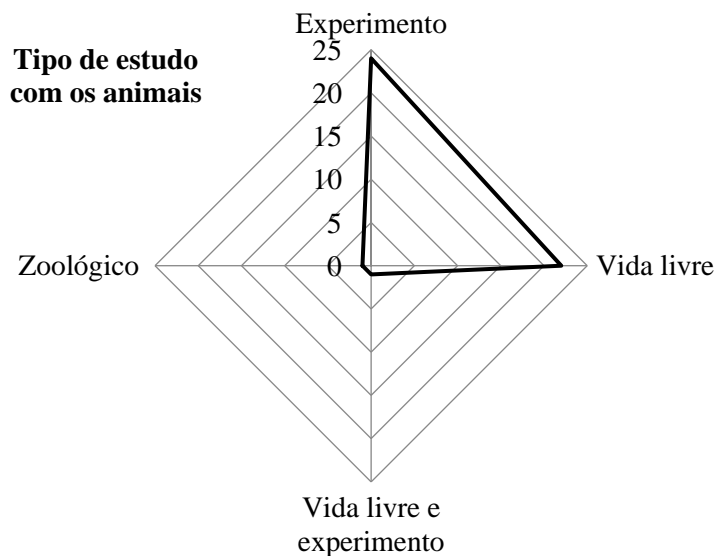
**Figura 1:** Variação temporal no número de artigos publicados entre 1992 a agosto de 2020 com o teste de micronúcleo em aves.



**Figura 2.** Produção científica para o Teste de Micronúcleo e demais AEN's em aves, considerando os últimos 28 anos.

O levantamento dos dados permitiu constatar que ainda é escassa a produção científica para o grupo das aves utilizando como biomarcador a análise de MN e demais AEN's. Entre os 106 artigos encontrados nas bases de dados, um total de 48 foram analisados na presente revisão, 50% (n = 24 estudos) foram trabalhos experimentais e 45,8% (n = 22) ocorreram *in situ*. Já o estudo de Stoncius e Lazutka (2003) envolveu análises de amostras em laboratório e *in situ* (2,08%, n = 1). Cita-se também o estudo de Adam et al. (2013) os quais realizaram uma avaliação *ex-situ* em zoológico (2,1%; n = 1; Figura 3). Nesse contexto, 45,8% das pesquisas envolveram o interesse quanto ao biomonitoramento de aves selvagens, e 54,2% estiveram voltados à avaliação de aves de interesse econômico como *Coturnix japonica* e *Gallus gallus domesticus*. De modo complementar, dos 48 trabalhos investigados, 39 avaliaram somente eritrócitos, 7 avaliaram medula óssea e/ou eritrócitos e apenas 1 avaliou mucosa bucal. Os animais estudados estiveram distribuídos em 132 espécies de oito guildas tróficas, tais como, onívoros, insetívoros, carnívoros, frugívoros, granívoros, herbívoros, piscívoros e nectarívoros.

Nenhuma correlação foi aplicada para a investigação entre o hábito alimentar e a frequência de MN e AEN's. No geral a relação entre a frequência de micronúcleos e a guilda trófica na fauna selvagem ainda tem sido escassa. Embora a dieta tenha sido uma variável potencial para o uso do teste de MN, abordada principalmente em humanos (Thomas et al., 2009). Em trabalhos com mamíferos, como os morcegos, guildas como insetívoros e frugívoros são mais sensíveis aos xenobióticos (Benvindo-Souza et al., 2019a,b). Nesse sentido, em assembleias de aves, a riqueza de insetívoros e granívoros tenderam a diminuir com a intensificação agricultura (Bouam et al., 2017). Tendo em vista aos fortes impactos gerados pelos pesticidas na biodiversidade animal (Peluso et al., 2020; Suliman et al., 2020), a correlação entre a frequência de MN e guildas tróficas em paisagens perturbadas é altamente encorajada.



**Figura 3:** Tipos de estudos com espécies de aves que utilizaram como biomarcador o teste de micronúcleo.

#### *Síntese dos principais fatores de potencial genotóxico em aves*

As substâncias genotóxicas podem ter efeitos deletérios sobre a dinâmica populacional, tornando-se uma questão preocupante na biologia da conservação (Santos et al., 2017). A malformação eritrocitária reflete a exposição a fatores que geram danos genômicos durante a formação de eritrócitos (De Mas et al., 2015). Nesse estudo, uma gama de agentes xenobióticos foi avaliada para dano genotóxico em aves, como aqueles usados em atividades agrícolas, tais como inseticidas, fungicidas e herbicidas.

Os primeiros estudos surgiram na década dos anos noventa, como os experimentos com o inseticida Lindano. Observando um aumento significativo da frequência de micronúcleos nas células da medula óssea de aves que foi induzido por todas as doses (100, 75 e 50 mg / kg) administradas por via intraperitoneal ou oral, enquanto nos eritrócitos periféricos apenas as duas doses intraperitoneais maiores geraram aumentos significativos de células micronucleadas (Bhunya e Jena 1992). Posteriormente, estudos com o pesticida organofosforado (monocrotofos), demonstraram a indução de micronúcleos na medula óssea e eritrócitos do sangue periférico foi observada após 24 h de exposição com a dose mais alta (5 mg / kg) sobre os tratamentos (Bhunya e Jena, 1993). O triazofós também promoveu alterações bioquímicas e histo-arquitetônicas em células sanguíneas com núcleo picnótico e extensa vacuolização em hepatócitos de codornas, além de formação de MN, eritrócitos com núcleos lobados, bolha nuclear,

núcleos entalhados e eritrócitos em forma de pera com aumento significativo em aves tratadas com triazofa (Ghaffar et al., 2015b).

Estudos com inseticidas, tais como malatião em experimentos com aves revelaram potencial toxicológico elevado, considerado um perigo para a saúde e para o meio ambiente, com seu uso principalmente atribuído à agricultura intensiva (Jira et al., 2012). A administração dessa substância em diferentes doses na cadeia alimentar levou à indução de mutações e efeitos tóxicos nas gônadas em aves (Hussain et al., 2015). Em outro estudo, Hussain et al. (2017), demonstraram que o Fipronil promoveu aumento na frequência de MN's em células sanguíneas e medula óssea. A cipermetrina pode ser considerada como um pesticida seguro devido a sua rápida capacidade inseticida e ainda apresentar uma menor toxicidade e ser biodegradável, entretanto levou a alterações clínico-hematológicas e um significativo aumento na frequência de MN em aves (Sharaf et al., 2010).

Para estudos com fungicidas, foi identificado que o arsênio e o sulfato de cobre sozinhos em níveis mais elevados ou/em combinação, ou mesmo em níveis mais baixos aumentaram a frequência de eritrócitos com MN, bolha nuclear, núcleo lobado e entalhado, indicando efeitos clínico-hematológicos e mutagênicos severos para aves (Ghaffar et al., 2015a). Aliado a isso, o potencial genotóxico do sulfato de cobre em aves já tinha sido descrito inicialmente por Bhunya e Jena (1996). Outros trabalhos, como o de Ghaffar et al. (2017a), concluíram que mesmo em baixos níveis, a combinação de arsênico e ureia afetam atributos clínicos, parâmetros hemato-bioquímicos e morfologia dos eritrócitos em aves.

Resultados de Hussain et al. (2012), mostraram que o herbicida Atrazina com doses mais elevadas (500 mg/kg de peso corporal) promove alterações bioquímicas e mudanças no núcleo de eritrócitos. Em um trabalho experimental, o Butaclor (herbicida de cloroacetanilida) administrado na alimentação de *Coturnix japonica* demonstrou um número significativamente maior de eritrócitos com MN, núcleos lobados e entalhados (Hussain et al., 2014). Filhotes de Garça-roxa *Ardea purpurea* e da Garça-branca *Egretta garzetta* apresentaram alta frequência de MN no sangue tendo associação com intensas atividades agrícolas (Barata et al., 2010).

Além desses, citam-se trabalhos em áreas urbanas, que em razão da biodisponibilidade desses agentes genotóxicos e carcinogênicos, geram preocupações sobre os potenciais efeitos crônicos à saúde das populações (González-Acevedo et al., 2016). Em áreas urbanas, a alta frequência de MN foi observada em gaivotas *Larus*

*argentatus* (Skarphedinsdottir et al., 2010) e em pombos *Columba livia* (González-Acevedo et al., 2016). Em um trabalho com 73 (setenta e três) aves selvagens distribuídas em 17 (dezesete) espécies das ordens Passeriformes e Columbiformes de unidade de conservação, Quero et al. (2016), constataram alta proporção de indivíduos, com eritrócitos micronucleados e brotos nucleares, representando 90,4% e 80,9%, dos indivíduos, respectivamente. Essa investigação demonstrou a eficácia deste teste para biomonitoramento da fauna selvagem, mesmo em áreas relativamente menos impactadas por poluentes.

Para metais pesados, De Mas et al. (2015), objetivaram fornecer dados básicos a serem utilizados em informações sobre a evolução do dano genômico de pinguins (*Pygoscelis adeliae*, *Pygoscelis antarctica* e *Pygoscelis papua*) ao longo da Península Antártica. Ainda com respeito a avaliação de metais pesados, trabalhos de Barbosa et al. (2013) afirmam que a frequência de AEN's pode ser em razão das pressões de atividades humanas. Não obstante, resíduos de efluentes da indústria de curtumes, apontados como fontes potenciais de poluição ambiental (Zapata et al., 2016), e lixiviados de chorume, induziram a frequência de MN e AEN's de aves (Alimba e Bakare, 2016; Santos et al., 2017). Outros xenobióticos, como os resíduos lixiviados de aterros sanitários, possuem potencial citotóxico e genotóxico em codornas (Alimba e Bakare 2016).

#### *Micronúcleo e anormalidades nucleares em aves*

Os MN's são formados durante a divisão celular pela condensação de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros que não são incluídos no núcleo principal após a anáfase (Thomas et al., 2009; Fenech et al., 2011). As características básicas dos MN's consistem em (i) pequeno núcleo separado do núcleo principal, (ii) apresentar mesma coloração e refringência do núcleo, e (iii) apresentar entre 1/3 e 1/6 de diâmetro do núcleo principal. Adicionado à pontuação de MN, diferentes anormalidades eritrocitárias nucleares (AEN's, Figura 4) têm sido analisadas, pois malformações eritrocitárias refletem a exposição a fatores que geram danos genômicos durante a formação de eritrócitos (De Mas et al., 2015). No estudo de Santos et al. (2017) avaliando aves em reabilitação, é sugerido que a avaliação das AEN's, em vez das frequências MN isoladas, pode ser uma ferramenta complementar útil para o estudo do dano ao DNA induzido em aves, pois responde de forma sensível a diferentes características da história de vida das aves.

No presente estudo observamos que AEN's começaram a ser estudadas recentemente (Hussain et al., 2012, 2014; Ghaffar et al., 2015a,b; Gonçalves et al., 2020), portanto, ainda são escassas para aves selvagens (De Mas et al., 2015). Reforça-se ainda que as aves são capazes de trocar todos os seus eritrócitos em período relativamente curto, na faixa de 28-45 dias (Jones 2015), no entanto, de acordo com Quero et al. (2016) a capacidade de remover glóbulos vermelhos alterados é questionável. Nesse sentido, demonstra-se claramente a necessidade de mais estudos, especialmente os de natureza ecotoxicológica para o grupo das aves selvagens.

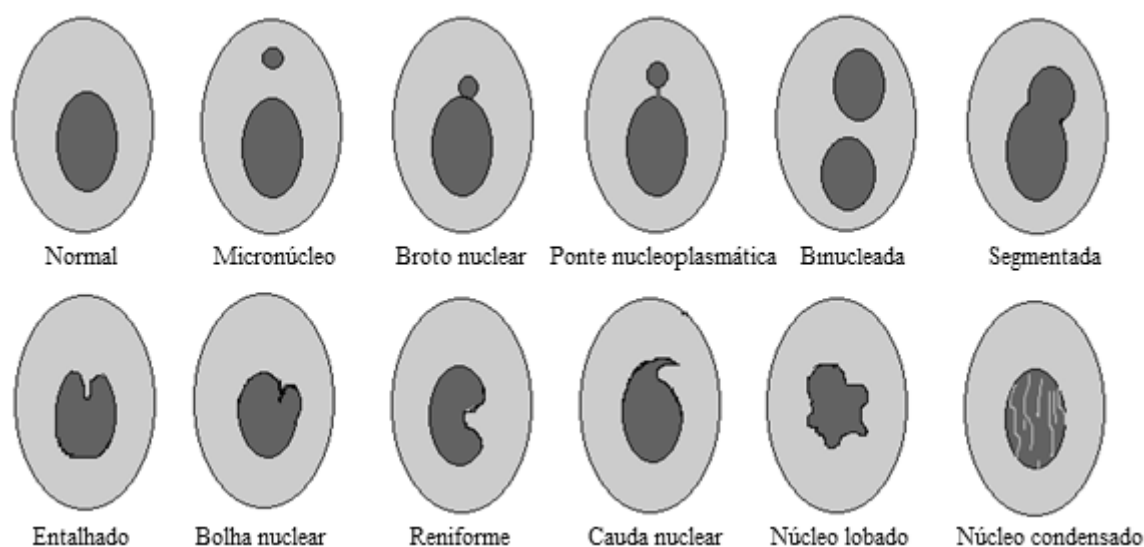
Entre as principais AEN's está o *broto nuclear* que possui corpo nuclear conectado ao núcleo principal por uma fita nucleoplasmática ou ponte nucleoplasmática estreita ou larga (Balognese et al., 2013). Essa anormalidade nuclear é tão expressiva quanto os MN's na caracterização de dano genotóxico (Gómez-Meda et al., 2006; Fenech et al., 2011). Esses corpos originam-se de fragmentos acêntricos intersticiais ou terminais durante a divisão nuclear ou na fase S como um estágio na extrusão de DNA extra e possivelmente dá origem a MN (Lindberg et al., 2007). Semelhante a este dano, as *pontes nucleoplasmáticas* são indicativas de erros de reparo de DNA, rearranjos cromossômicos ou fusões teloméricas (Fenech et al., 2011). Em aves essa anormalidade nuclear foi registrada no estudo de Quero et al. (2016). As *células binucleadas* possuem dois núcleos com a mesma morfologia, textura e intensidade de coloração e foco (Bolognese et al., 2013). O mecanismo mais provável para a formação de células binucleadas é a falha da citocinese, seja devido a defeitos na formação do anel de microfilamento ou à parada do ciclo celular, cujos núcleos podem estar separados ou se tocarem (Bolognese et al., 2013).

Os *núcleos entalhados* como característica, possuem profundidade marginal apreciável no núcleo (Jindal e Verma 2015). No estudo de Quero et al. (2016), foi encontrada alta proporção de indivíduos que apresentam essa anormalidade nuclear em várias espécies de aves, assim, foi sugerido que os núcleos entalhados possam ser tão informativos quanto os MN's e os brotos nucleares como biomarcadores em comunidades de aves. As causas e mecanismos de formação de núcleos entalhados ainda são desconhecidos (Quero et al., 2016). Quanto às bolhas nucleares, estas apresentam uma evaginação relativamente pequena da membrana nuclear, que contém eucromatina (Alimba e Bakare 2016). A formação de *bolhas nucleares* pode ser devida à geração excessiva de DNase ativada por caspase, que é responsável pela clivagem das

proteínas nucleares (gelsolina, fodrina e vimentina) do citoesqueleto (Lim et al., 2009; Hussain et al., 2015).

Em relação ao *núcleo em forma de rim*, como o próprio nome sugere este apresenta um perfil em forma de rim (Carrola et al., 2014), podendo representar diferentes precursores de MN's ou fenômenos de binucleação (Harabawy e Mosleh 2014). Já os *núcleos lobados*, possuem evaginações na membrana nuclear, e podem ter vários lóbulos (Jindal e Verma 2015). Para Bouilly et al. (2003), uma possível especulação de origem dos núcleos lobados, é a de que este se dá devido à aneuploidia, que é um processo no qual anormalidades cromossômicas ocorrem aumentando, diminuindo o número de cromossomos ou alterando a estrutura dos cromossomos. Em células com cauda nuclear, o núcleo sofre um estreitamento e alongamento progressivos levando ao surgimento de anormalidade semelhante a uma cauda (Kursa e Bezrukov 2007). Sua origem embora pouco conhecida pode ter mesmo mecanismo de surgimento daquele das pontes nucleoplasmáticas (Anbumani e Mohankumar 2015), ou devidos à aneuploidia (Hussain et al., 2015). O *núcleo segmentado* apresenta o núcleo separado por uma constrição em partes, não sendo necessariamente do mesmo tamanho, sendo núcleos em forma de ampulheta, geralmente assimétricos (Carrola et al., 2014).

As células com *cromatinas condensadas* são caracterizadas por um núcleo em padrão estriado devido a áreas paralelas de cromatina condensada que são intensamente coradas (Balognese et al., 2013). Esse tipo de estrutura tem sido associado ao processo de apoptose (Oberhammer et al., 1994; Balognese et al., 2013). Nesse estudo, núcleo condensado foi encontrado apenas no trabalho de Ghaffar et al., (2015a) com uso de eritrócitos, contudo, esse tipo de anormalidade é mais comumente estudado em células esfoliadas de mucosa bucal humana (Thomas et al., 2009; Balognese et al., 2013).



**Figura 4:** Esquema das alterações eritrocitárias nucleares (AEN's) baseado nos tipos mais frequentes encontrados em aves.

Enfatizamos ainda nesta revisão que o teste de MN também tem sido aplicado em células esfoliadas de mucosa bucal de aves, encontrando micronúcleos, células com broto nuclear, células binucleadas, cariólise, células com cromatina condensada, cariorréxis e picnose (Shepherd e Somers 2012), o qual foi adaptado com base no ensaio em células esfoliadas de mucosa bucal humana (Thomas et al., 2009). As células basais, de acordo com Thomas et al. (2009) e Balognese et al. (2013) são as menores encontradas no extrato da camada basal, e possuem núcleo maior em relação ao citoplasma. *Célula carioréxsi* apresenta como característica, fragmentação nuclear avançada, sendo indicativo de desintegração nuclear resultante de apoptose (Thomas et al., 2009; Balognesi et al., 2013). *Células picnóticas* possuem um pequeno núcleo encolhido e intensamente corado (Thomas et al., 2009; Balognesi et al., 2013). O significado biológico das células picnóticas e o mecanismo que leva à formação nas células bucais não são totalmente compreendidos (Balognesi et al., 2013), no entanto parece estar relacionando à morte celular. Para *cariólise*, é observada uma desintegração completa do núcleo, resultante dos últimos estágios de necrose e apoptose (Majno e Joris 1995; Balognese et al., 2013).

Diante do exposto, foi observado que 45% dos autores avaliaram exclusivamente MN, enquanto 55% avaliaram, além de MN, AEN's. Apesar dos numerosos estudos sobre as AEN's, os mecanismos envolvidos em sua formação ainda precisam ser mais bem revelados e sua identificação padronizada, a fim de evitar viés na interpretação de danos mais complexos, tais como, células com núcleos reniforme, núcleos segmentados,



núcleos entalhados e com bolhas nucleares para não tendenciar os dados. Assim, uma padronização dos tipos de anormalidades nucleares resultará maior informação da integridade dos eritrócitos, células de medula óssea e células esfoliadas de mucosa bucal, além disso, favorecerá maior espectro de conhecimento sobre a origem genética de tais danos, como já ocorrem com em células esfoliadas de mucosa bucal humana. Finalmente, variáveis como, espécies, sexo, idade, dieta e agentes xenobióticos podem influenciar na frequência de micronúcleo, e assim são encorajadas a investigação e sua correlação.

### 3.5 CONCLUSÃO

Constatamos que o teste de MN em aves mostrou estar em um processo de crescimento, deixando claro um vasto campo para novas investigações. Foi evidenciado que não existe um padrão de prioridade quanto aos tipos de AEN's. Tais alterações devem vir adicionadas ao fato de os micronúcleos demonstrarem mais informações quanto ao dano ao DNA do animal, diante dos agentes xenobióticos. Outra questão relevante, diz respeito à origem genética das AEN's, uma vez que, muitas continuam obscuras e realçamos a luz para investigações futuras. Relação entre guilda trófica, sexo, índice de massa corporal com a frequência de micronúcleos e anormalidades nucleares são fortemente recomendados para demonstrar maior espectro desse biomarcador.

### 3.6 REFERÊNCIAS

- Adam M.L, Torres, R.A., Kiska, M., Oliveira, F.F, Lacerda, O., Sponchiado, G., Ribas, C.M.O., Correia, M.T.S. (2013) Assessment of Genome Damage in Bird and Mammal Species as a Tool for Improvements in ex-situ Conservation at Zoos. *Natureza & Conservação* 11(1):59-64.
- Agarwal S. and Sohal, R.S. (1994). DNA oxidative damage and life expectancy in houseflies. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91, 12332–5.
- Alimba CG., Bakare AA (2016) In vivo micronucleus test in the assessment of cytogenotoxicity of landfill leachates in three animal models from various ecological habitats. *Ecotoxicology*. (2):310-9.
- Barata C., Fabregat MC., Cotin J., Huertas D., Solé H., Quirós G., Sanpera C., Jover G., Ruiz X., Grimalt JO., Pina B. 2010. Blood biomarkers and contaminant levels in feathers and eggs to assess environmental hazards in heron nestlings from impacted sites in Ebro basin (NE Spain). *Environ Pollut.* 158(3):704-10.
- Baesse CQ, Tolentino VC, da Silva AM, Silva Ade A, Ferreira GÂ, Paniago LP, Nepomuceno JC, de Melo C (2015) Micronucleus as biomarker of genotoxicity

- in birds from Brazilian Cerrado. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 115, 223-8.
- Baesse CQ, Tolentino VCD, Morelli S, Melo C (2019) Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171:631-637.
- Benvindo-Souza, M.; Assis, R.A.; Oliveira, E.A.S.; Borges, R.E.; Santos, L.R.S. The micronucleus test for the oral mucosa: global trends and new questions. *Environmental Science and Pollution Research*, 36: 27724-27730, 2017.
- Benvindo-Souza M, Borges RE, Pacheco SM, Santos LRS (2019a) Micronucleus and other nuclear abnormalities in exfoliated cells of buccal mucosa of bats at different trophic levels. *Ecotoxicol Environ Saf* 172:120-127
- Benvindo-Souza M, Borges RE, Pacheco SM, Santos LRD (2019b) Genotoxicological analyses of insectivorous bats (Mammalia: Chiroptera) in central Brazil: The oral epithelium as an indicator of environmental quality. *EnvironPollut* 245:504-509
- Benvindo-Souza, M., Oliveira, E.A.S., Assis, R.A., Santos, C.G.A., Borges, R.E., Silva, D.M., Santos, L.R.S. 2020. Micronucleus test in tadpole erythrocytes: Trends in studies and new paths. *Chemosphere*, 240: 124910.
- Benvindo-Souza M, Oliveira EAS, Assis RA, Santos CGA, Borges RE, Silva DDE, Santos LRDS (2020) Micronucleus test in tadpole erythrocytes: Trends in studies and new paths. *Chemosphere*, 240:124910.
- Bolognesi C, Knasmueller S, Nersesyanyan A, Thomas P, Fenech M (2013) The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – An update and expanded photogallery. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 753:100-113.
- Bosch B.; Mañas, F.; Nora, G.; Aiassa, D. Micronucleus test in post metamorphic *Odontophrynus cordobae* and *Rhinella arenarum* (Amphibia: Anura) for environmental monitoring. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 3: 155-163, 2011.
- Bouam I, Bachir, ASI, Katayama, N. 2017. Variation in bird assemblages along an agricultural intensification gradient: a case study of olive orchards in north-eastern Algeria. *Ornithological Science*, 16:147-157.
- Bhunya SP., Jena GB. 1992. Genotoxic potential of the organochlorine insecticide lindane (gamma-BHC): an in vivo study in chicks. *Mutat Res.* 272(2):175-81.
- Bhunya SP., Jena GB. 1993. Studies on the genotoxicity of monocrotophos, an organophosphate insecticide, in the chick in vivo test system. *Mutat Res.* 292(3):231-9.
- Bhunya SP., Jena GB. 1996. Clastogenic effects of copper sulphate in chick in vivo test system. *Mutat Res.* 367(2):57-63.
- Carrola J., Santos, N., Rocha, M.J., Fontainhas-Fernandes, A., Pardal, M.A., Monteiro, R.A.F., Rocha, E. 2014. Frequência de micronúcleos e de outras anomalias nucleares nos eritrócitos da tainha cinzenta dos estuários do Mondego, Douro e Ave – Portugal. 21:6057–6068.
- De Mas E, Benzal J, Merino S, Valera F, Palacios MJ, Cuervo JJ, Barbosa A, et al. (2015) Erythrocytic abnormalities in three Antarctic penguin species along the Antarctic peninsula: biomonitoring of genomic damage. *Polar Biol*.
- De Faria DBG, Montalvao MF, de Souza JM, Mendes BD, Malafaia G, Rodrigues ASD (2018) Analysis of various effects of abamectin on erythrocyte morphology in

- Japanese quails (*Coturnix japonica*). Environmental Science and Pollution Research, 25:2450-2456.
- De Souza JM, Montalvao MF, da Silva AR, Rodrigues ASD, Malafaia G (2017) A pioneering study on cytotoxicity in Australian parakeets (*Melopsittacus undulates*) exposed to tannery effluent. 175:521-533.
- Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan AT, Surralles J, Crott JW, Parry J, Norppa H, Eastmond D A, Tucker JD, Thomas P (2011) Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. Mutagenesis 26(1):125–132
- Gómez-Meda BC, Zamora-Perez AL, Luna-Aguirre J, González-Rodríguez A, Ramos-Ibarra ML, Torres-Bugarín O, Batista-González CM, Zúñiga-González GM (2006) Nuclear abnormalities in erythrocytes of parrots (*Aratinga canicularis*) related to genotoxic damage. Avian Pathology 35:206–210.
- Goncalves VF, Ribeiro PVA, Oliveira CFD, Pires LP, Baesse CQ, Paniago LPM, Toletino VCG, de Melo, C (2020) Effects of urban proximity and the occurrence of erythroplastids in *Antilophia galeata*. Environmental Science and Pollution Research.
- González-Acevedo A, García-Salas JA, Gosálvez J, Fernández JL, Dávila-Rodríguez MI, Cerda-Flores RM, Méndez-López LF, Cortés-Gutiérrez EI. 2016. Evaluation of environmental genotoxicity by comet assay in *Columba livia*. Toxicol Mech Methods, 26(1):61-6.
- Ghaffar A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, RZ., Asad, M. 2015a. Clinico-hematological and mutagenic changes induced by arsenic and copper sulphate in adult poultry males. Journal of animal and plant sciences, 25:1555-1561.
- Ghaffar A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, RZ., Aslam, S., Mehreen, M., Rani, K. 2015b. Hemato-Biochemical and testicular changes induced by sub-chronic doses of triazophos in male Japanese quail. Pakistan Journal of Agricultural sciences, 52: 801-807.
- Ghaffar A., Hussain, R., Abbas, G., Ali, MH., Saleem, M., Khan, T., Malik, R., Ahmad, H. 2017a. Cumulative Effects of Sodium Arsenate and Diammonium Phosphate on Growth Performance, Hemato-Biochemistry and Protoplasm in Commercial Layer. Pakistan Veterinary Journal, 37:257-262.
- Ghaffar A., Hussain, R., Abbas, G., Ahmad, M.N., Abbas, A., Rahim, Y., Younus, M., Shahid, M., Mohiuddin, M. (2017b) Sodium arsenate and/or urea differently affect clinical attributes, hemato-biochemistry and DNA damage in intoxicated commercial layer birds, Toxin Reviews.
- Hatch EM, Fischer AH, Deerinck TJ, Hetzer MW (2013) Catastrophic nuclear envelope collapse in cancer cell micronuclei. Cell 154:47–60.
- Harabawy A.S., Mosleh, Y.L. 2014. The role of vitamins A, C, E and selenium as antioxidants against genotoxicity and cytotoxicity of cadmium, copper, lead and zinc on erythrocytes of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 104:28-35.
- Hussain R., Mahmood, F., Khan, A. (2015) Genotoxic and pathological effects of malathion in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). Pak. J. Agri. Sci., Vol. 52(4), 1149-1156
- Hussain R., Mahmood, F., Khan, A., Aved, M. T., Rehan, S., Mehdi, T. 2012. Cellular and biochemical effects induced by atrazine on blood of male Japanese quail (*Coturnix japonica*). Pesticide Biochemistry and Physiology, 103:38–42

- Hussain R, Khan A, Mahmood F, et al., 2014. Clinico-hematological and tissue changes induced by butachlor in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Pest Biochem Physiol* 109:58-63.
- Hussain R., Ghaffar, A., Ali, H.M., Abbas, R.Z., Khan, A., Khan, I.A., Ahmad, I., & Iqbal, Z. (2017) Análise de diferentes impactos tóxicos do fipronil no crescimento, hemato-bioquímica, protoplasma e reprodução em galos adultos, *Revisões do Toxin*,
- Jindal R, Verma S (2015) In vivo genotoxicity and cytotoxicity assessment of cadmium chloride in peripheral erythrocytes of *Labeorohita* (Hamilton). *Ecotoxicol Environ Saf* 118:1–10.
- Jira D., Janousek S., Pikula J., Vitula F., Kejlova K. 2012. Toxicity hazard of organophosphate insecticide malathion identified by in vitro methods. *Neuro Endocrinol Lett.* 33:3:53-9.
- Kirkwood T.B.L. (1989). DNA, mutations and aging. *Mutat. Res.* 219, 1–8.
- Kurelec B. 1993. The genetic disease syndrome, *Mar. Environ. Res.* 35:341-348.
- Kursa M, Bezrukov V (2007) Health status in an antarctic top predator: micronuclei frequency and whiteblood cell differential in the south polar skua (*Catharact amaccormicki*). *Polarforschung* 77(1):1–5
- Lindberg H.K., Wang, X., Jarventaus, H., M. Falck, G.C., Norppa, H., Fenech, M. (2007) Origin of nuclear buds and micronuclei in normal and folate-deprived human lymphocytes. *Mutat. Res.*, 617 (2007), pp. 33-45
- Majno G., Joris, I. 1995. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death, *Am. J. Path.* 146:3–15.
- Nabout JC, Parreira MR, Teresa FB, Carneiro FM, Cunha HF, Ondei LS, Caramori SS, Soares TN (2014) Publish (in a group) or perish (alone): the trend from single- to multi-authorship in biological papers. *Scientometrics* 102:357-364
- Nabout JC, Crvalho P, Prado MU, Borges PP, Machado KB, Haddad KB, Michelin TS, Cunha HF and Soares, TN. (2012). Trends and Biases in Global Climate Change Literature. *Natureza & Conservação* 10:45-51
- Oberhammer F.A., Hohegger, K., Froschl, G., Tiefenbacher, R., Pavelka, M. 1994. Chromatin condensation during apoptosis is accompanied by degradation of lamin A +B without enhanced activation of cdc2 kinase, *J. Cell Biol.* 126:827–837.
- Peluso J; Aronzon, CM; Acquaroni, M; Cool, CSP (2020) Biomarkers of genotoxicity and health status of *Rhinella fernandezae* populations from the lower Parana River Basin, Argentina. *Ecological indicators*.
- Pinhatti VR, Allgayer MC, Breyer AS, Pereira RA, Silva J (2006) Determinação de danos basais no DNA de araras canindé (*Ara ararauna*) através do teste de micronúcleos: uma ferramenta na avaliação da saúde animal e seu uso no biomonitoramento da poluição ambiental. *Acta Scientiae Veterinariae.* 34(3): 313-317.
- Pinto L.A.M.; Pinto, M.M.; Bovo, J.; Mateus, G.A.P.; Tavres, F.O.; Baptista, A.T.A.; Hirata, A.K. Aspectos ambientais do abate de aves: uma revisão. *Revista Uningá Review*, 22: 44-50; 2015.
- Quero AAM, Ferre DM, Zarco A, Cuervo PF, Gorla NBM (2016) Erythrocyte micronucleus cytomeassay of 17 wild Bird species from the central Monte desert, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*, 23:25224-25231.
- Rasool A, Javed MT, Akhtar M, et al., 2013. Effects of urea and copper sulphate on some biochemical and meat parameters in broiler chicken. *Pak Vet J* 33:27-31.
- Santos C.S.A.; Brandão, R.; Monteiro, M.S.; Bastos, A.C.; Soares, A.M.V.M.; Loureiro, S. Assesment of DNA damage in *Ardea cinerea* and *Ciconia ciconia*: A 5-year study in Portuguese birds retrieved for rehabilitation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 136: 104-110; 2017.

- Sampaio DMD, Estrela FN, Mendes BD, Estrela DD, Montalvao MF, Mesak C, Silva FG, Araujo APD, de Freitas CS, Gontijo BV, Rodrigues ASD, Malafaia G (2019) Ingestion of tannery effluent as a risk factor to the health of birds: A toxicological study using *Coturnix coturnix japonica* as a model system. *Science of The Total Environment*, 681: 275-291.
- Souza J.M.; Montalvão, M.F. Silva, A.R.; Rodrigues, A.S.L.; Malafaia, G. A pioneering study on cytotoxicity in Australian parakeets (*Melopsittacus undulates*) exposed to tannery effluent. *Chemosphere*, 175: 521-533, 2017.
- Souto HN, Campos Júnior EO, Campos CF, Rodrigues TS, Pereira BB, Morelli S. 2018. Biomonitoring birds: the use of a micronuclei test as a tool to assess environmental pollutants on coffee farms in southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25:24084–24092.
- Shepherd G.L.; Somers, C.M.; Adapting the buccal micronucleus cytome assay for use in wild birds: age and sex affect background frequency in pigeons. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 53: 136-144, 2012.
- Sharaf S, Khan A, Khan MZ, Aslam F, Saleemi MK, Mahmood F (2010) Clinico-hematological and micronuclear changes induced by cypermethrin in broiler chicks: their attenuation with vitamin E and selenium. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62:333-341.
- Shahzad MN, Javed MT, Shabir S, et al., 2012. Effects of feeding urea and copper sulphate in different combinations on live body weight, carcass weight, percent weight to body weight of different organs and histopathological tissue changes in broilers. *Exp Toxicol Pathol* 64:141-7
- Skarphedinsdottir H., Hallgrímsson, G.T., Hansson, T., Hagerroth, P.A., Liewenborg, B., Tjarnlund, U., Akerman, G., Barsiene, J., Balk, L. Genotoxicity in herring gulls (*Larus argentatus*) in Sweden and Iceland. *Mutation Research* 702 (2010) 24–31
- Theodorakis C.W. (2001) Integration of genotoxic and population genetic endpoints in biomonitoring and risk assessment, *Ecotoxicology* 10:245-256.
- Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S, Fenech M (2009) Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*,4:825–837.
- Vieira C.E.D.; Costa, P.G.; Cabrera, L.C.; Primel, E.G.; Filmman, G.; Bianchani, A.; Martinez, B.R. A comparative approach using biomarkers in feral and caged Neotropical fish: Implications for biomonitoring fresh water ecosystems in agricultural areas. *Science of The Total Environment*, 586: 598-609, 2017.
- Vieira JED, Ferreira RD, Sampaio DMD, Araujo APD, Malafaia G (2019) An insight on the mutagenicity and cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles in *Gallus gallus domesticus* (Phasianidae). *Chemosphere*, 231: 10-19.

## **4. CAPÍTULO II**

### **FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E ANORMALIDADES ERITROCITÁRIAS NUCLEARES EM AVES SELVAGENS NO CERRADO CENTRAL, BRASIL**

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E ANORMALIDADES  
ERITROCITÁRIAS NUCLEARES EM AVES SELVAGENS NO CERRADO  
CENTRAL, BRASIL**

**RESUMO**

As aves de vida livre desempenham um papel importante como bioindicadoras em ambientes naturais. Neste estudo, utilizamos o teste de Micronúcleo e outras Anormalidades Eritrocitárias Nucleares para investigar a diferença na frequência de dano genotóxico entre animais de áreas agrícolas em relação à área conservada. Também discutimos sobre o hábito alimentar da avifauna como variável importante em análises ecotoxicológicas. Nossos resultados apontam uma diferença entre as guildas insetívora, granívora e onívora. O onívoro *Gnorimopsar chopi* foi à espécie mais sensível na área protegida. Já na área agrícola, os animais não diferiram na frequência de dano genotóxico. Na comparação entre espécies comuns em ambos os ambientes, *G. chopi* de área agrícola apresentou frequência de micronúcleo quase três vezes maior em relação a espécimes coletados na área conservada. Com base nestes resultados, este estudo soma aos esforços da utilização do teste de micronúcleo como ferramenta simples e acessível para o biomonitoramento da fauna selvagem. Concluimos, que o passeriforme, *G. chopi* mostrou ter a integridade do DNA afetada e, portanto, pode ser um forte candidato para indicar a saúde ambiental.

**Palavras-chave:** Avifauna, ambiente agrícola, guilda trófica, genotoxicidade, ecotoxicologia

## MICRONUCLEUS AND NUCLEAR ERYTHROCYTE ABNORMALITIES IN WILD BIRDS IN THE CENTRAL CERRADO, BRAZIL

### ABSTRACT

Free-living birds play an important role as bioindicators in natural environments. In this study, we evaluated the Micronucleus test and other Nuclear Erythrocyte Abnormalities to investigate the difference in the frequency of genotoxic damage between animals in the agricultural area in relation to the conserved area. We also discussed bird eating habits as an important variable in ecotoxicological analyzes. Our results point to a difference between the insectivorous, granivorous and omnivorous guilds. The omnivore *Gnorimopsar chopi* was the most sensitive species in the protected area. In the agricultural area, the animals did not differ in the frequency of genotoxic damage. In the comparison between common species in both environments, *G. chopi* of agricultural area presented a micronucleus frequency almost three times higher in relation to the same species in the conserved area. Based on these results, this study demonstrated that the micronucleus test is a simple and accessible tool for the biomonitoring of wild fauna. We concluded that *G. chopi* had the DNA integrity affected and, therefore, can be an important species to demonstrate (or evaluate) environmental health.

**Keywords:** Avifauna, agricultural environment, trophic guild, genotoxicity, ecotoxicology



## 4.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países com maior riqueza na diversidade de aves do mundo (Vitorino et al., 2018), isso representa 1814 espécies conhecidas no território nacional (BLI, 2020). Dessas espécies, mais da metade é encontrada no Cerrado (BLI, 2020), das quais 29 são endêmicas (Silva, 2014). O Cerrado brasileiro é considerado uma das savanas mais ricas do mundo (Ferreira et al., 2012) e nas últimas décadas vem sofrendo constantes mudanças pelas atividades humanas (Bichsel et al., 2016), em especial pela prática agrícola, a qual tem sido a principal atividade antrópica responsável pela transformação da paisagem natural (Grecchi et al., 2014). Embora essas atividades agrícolas sejam importantes para a economia do país e abastecimento do mercado interno, também impacta drasticamente o ecossistema natural. Dessa forma, a utilização de organismos biomonitores como as aves, é importante para a avaliação da perturbação ambiental. Estes organismos possuem o hábito alimentar diversificado, usam vários extratos da vegetação, inclusive habitam ambientes contaminados (Baesse et al., 2015), com isso podem ser utilizados para o fornecimento de informações sobre a qualidade dos ecossistemas nos quais estão inseridos (Quero et al., 2016).

O teste do micronúcleo (MN) é um biomarcador frequentemente utilizado para previsão do potencial efeito de xenobióticos em espécies da vida selvagem como, peixes (Kontas e Bostanci 2020), anfíbios (Borges et al., 2019; Benvindo-Souza et al., 2020), répteis (Simonyan et al., 2018; de Oliveira et al., 2020), aves (Baesse et al., 2019; Gonçalves et al., 2020) e mamíferos (Benvindo-Souza et al., 2019a, b). Os micronúcleos são pequenos corpos nucleares encontrados próximos ao núcleo principal das células e que se formam durante a mitose (Shepherd et al., 2012), seja por atraso na divisão cromossômica (efeito aneugênico) ou fragmentação dos cromossomos (efeito clastogênico), demonstrando, portanto, um dano ao material genético (Bosch et al., 2011). Além dos micronúcleos, outras anormalidades eritrocitárias nucleares (AEN's), tais como brotos nucleares, núcleos reniformes, núcleos lobados, caudas nucleares, núcleo entalhados (Quero et al., 2016) também são indicativas de dano ou, no mínimo, de instabilidade genômica.

Reconhecendo que algumas espécies de aves podem ser utilizadas como bioindicadoras de ambientes transformados, sobretudo com o impacto da poluição (Quiros et al., 2008; Baesse et al., 2019; Gonçalves et al., 2020), esse estudo teve como objetivo avaliar o dano genotóxico com a utilização do teste do MN e outras AEN's em

aves de ambiente agrícola e de unidades de conservação no Cerrado, Brasil. Além disso, objetivou-se associar a genotoxicidade ao hábito alimentar da avifauna. Reportamos ainda que a pontuação de células como broto nuclear, células com núcleo reniforme e células binucleadas é demonstrada pela primeira vez em aves de vida livre no Brasil.

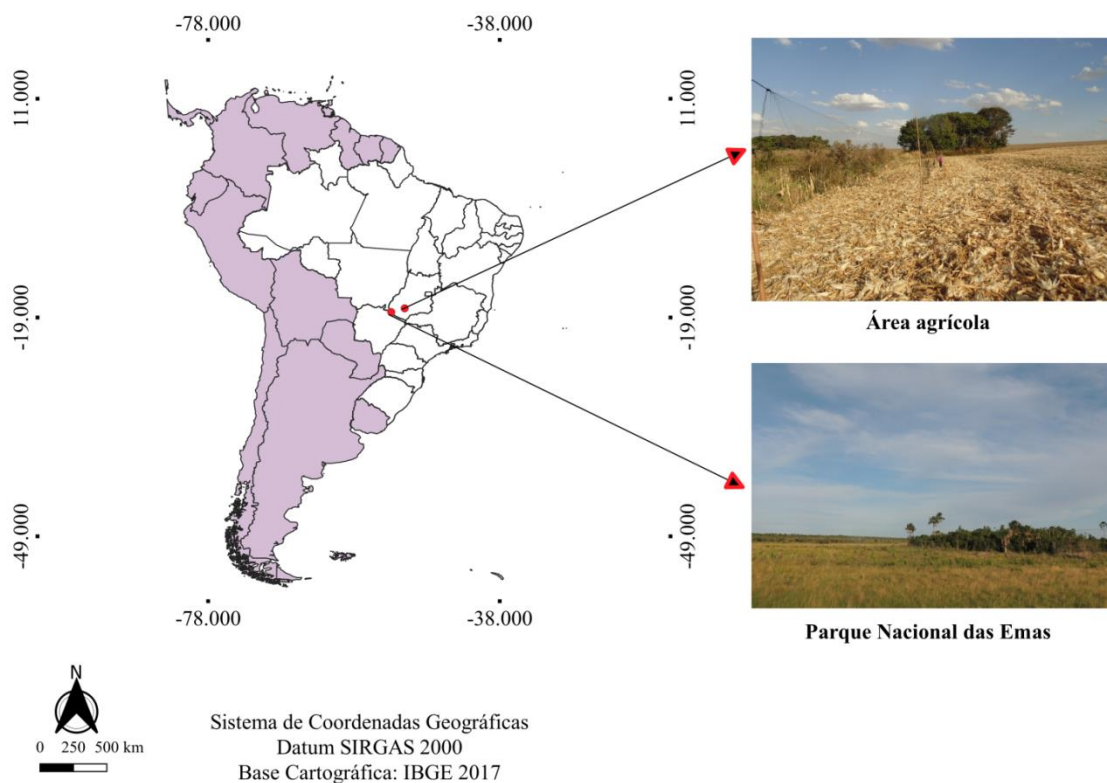
## **4.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### *Declaração de ética*

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Federal Goiano (n. 2295300119) e pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (n. 67504-1).

### *Área de estudo*

A coleta das aves ocorreu em duas diferentes paisagens (Figura 1). A primeira delas é formada por áreas agrícolas de cultivo de soja, no município de Rio Verde, estado de Goiás, Brasil. Este município é considerado o principal produtor de soja do estado de Goiás (IMB, 2018) e é citado entre os dez municípios brasileiros com maior consumo de pesticidas no país (Pignati et al., 2017). Nessa região, os animais foram investigados em bordas de áreas de cultivo de soja e milho, próximos de fragmentos florestais. A outra área escolhida para o estudo, foi o Parque Nacional das Emas (PNE), uma Unidade de Conservação Federal localizada no Centro-oeste do Brasil, que protege 131.800 ha do bioma Cerrado (ICMBio, 2019). As coletas neste ambiente ocorreram com o propósito de estabelecer um comparativo entre um ambiente antropizado e predominantemente agrícola e um ambiente minimamente protegido. No PNE, as coletas ocorreram nos meses de fevereiro e setembro de 2019, já no ambiente agrícola, ocorreram nos meses de fevereiro e julho de 2019.



**Figura 1:** Áreas utilizadas para amostragem de aves no estado de Goiás, Brasil.

### *Comunidade de aves*

As aves (Tabela 1) foram capturadas com auxílio de 10 redes-de-neblina de 12,0 x 2,5 m, as quais permaneceram abertas nas primeiras 4 horas do amanhecer (Pascoal et al., 2013). Em cada ambiente (Conservado e Agrícola), o esforço amostral de 6,000m<sup>2</sup>/h (cinco dias) foi padronizado, somando 12,000 m<sup>2</sup>/h nas duas áreas. Para a aplicação do teste do MN, contabilizamos aquelas espécies que detiveram maior abundância. Nesse caso, o critério foi considerado um mínimo de 5 e um máximo de 10 animais por espécie para determinação do dano genotóxico, incluindo a análise de outras alterações eritrocitárias nucleares (AEN's).

### *Teste de Micronúcleo e outras Alterações Eritrocitárias Nucleares*

Amostras de sangue foram coletadas pela perfuração da veia metatarsal com auxílio de uma agulha de insulina 26G de 1ml/U100, e uma gota de sangue foi colocada diretamente sobre as lâminas (Souto et al., 2018). O esfregaço sanguíneo foi feito em duas lâminas para cada indivíduo, em seguida, os animais foram soltos no mesmo local de captura. As lâminas foram fixadas com metanol absoluto por 10 min e coradas em Giemsa (5%) por 10 min (Souto et al., 2018). Um total de 1000 eritrócitos foi avaliado por animal com auxílio de um microscópio óptico (modelo Lab 1001 TB) com câmera digital (3,0Mp) acoplada. Para a identificação de MN (Fenech, 2000), foram considerados aqueles que apresentaram *i*) estruturas semelhantes ao núcleo principal, tendo entre 1/3 e 1/16 de tamanho; *ii*) ausência de conexão com o núcleo principal; *iii*) mesma forma, textura e intensidade de coloração do núcleo principal. Além das células micronucleadas, outras AEN's também foram avaliadas, tais como: células com broto nuclear, células com núcleo reniforme, células binucleadas e células anucleadas (Ghaffar et al., 2017; Santos et al., 2017).

### *Análise estatística*

Os dados de MN e outras AEN's são apresentados como a frequência média ( $\pm$  erro padrão). As variáveis quantitativas foram submetidas aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e de homogeneidade das variâncias (Levene). O teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*, seguido do teste *post-hoc* de *Dunn* foi realizado na comparação da frequência de MN entre as espécies dentro de cada ambiente. Para as AEN's, os dados seguiram distribuição normal e uma análise de variância (ANOVA) seguida do teste *post-hoc* de *Tukey*. Para as espécies comuns em ambos os ambientes, o teste *T de Student* (para *G. chopi*), e o teste U de Mann-Whitney (em *V. jacarina*) foram executados. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## **4.3 RESULTADOS**

No presente estudo, 114 aves de vida livre, pertencentes a treze espécies foram capturadas (Tabela 1). Na área conservada houve maior riqueza de espécies ( $S = 12$ ) e

abundância ( $n = 82$ ) em comparação com a área agrícola ( $S = 7$ ,  $n = 32$ ). O índice de diversidade de Shannon ( $H'$ ) indicou maior diversidade de espécies na área conservada ( $H' = 1,95$ ) e menor na área de lavoura ( $H' = 1,59$ ). O índice de dominância ( $D$ ) para o ambiente conservado foi de  $D = 0,19$  e ambiente agrícola  $D = 0,24$ , demonstrando que espécies generalistas dominam o ambiente agrícola sobre o ambiente conservado. As espécies da área agrícola estavam distribuídas em 3 ordens, das quais, a passeriforme foi a mais abundante.

**Tabela 1:** Espécies de aves coletadas em ambos os ambientes de estudo.

Ordem/Família/Espécie	Nome popular	Conservado	Agrícola	Guilda trófica	Total
Passeriformes					
Dendrocolaptidae					
<i>Lepidocolaptes angustirostris</i> (Vieillot, 1818)	Arapaçu-do-campo	3	4	Insetívora	7
Tyrannidae					
<i>Pitangus sulphuratus</i> (Linnaeus, 1766)	Bem-te-vi	2	1	Insetívora	3
<i>Elaenia chiriquensis</i> (Lawrence, 1865)	Chibum	0	1	Insetívora	1
Thraupidae					
<i>Coereba flaveola</i> (Linnaeus, 1758)	Sebino	1	0	Nectarívora	1
<i>Sicalis flaveola</i> (Linnaeus, 1766)	Canário-da-terra	1	0	Granívora	1
<i>Sporophila caerulea</i> (Vieillot, 1823)	Coleirinho	10	0	Granívora	10
<i>Volatinia jacarina</i> (Linnaeus, 1766)	Tiziu	23	12	Granívora	35
Furnariidae					
<i>Furnarius rufus</i> (Gmelin, 1788)	João-de-barro	2	1	Onívora	3
Icteridae					
<i>Gnorimopsar chopi</i> (Vieillot, 1819)	Pássaro-preto	23	6	Onívora	29
Turdidae					
<i>Turdus rufiventris</i> (Vieillot, 1818)	Sabiá-laranjeira	2	0	Insetívora	2
Passerellidae					
<i>Ammodramus humeralis</i> (Bosc, 1792)	Tico-tico-do-campo	2	7	Granívora	9
Cuculiformes					
Cuculidae					
<i>Crotophaga ani</i> (Linnaeus, 1758)	Anu-preto	4	0	Carnívora	4
Columbiformes					
Columbidae					

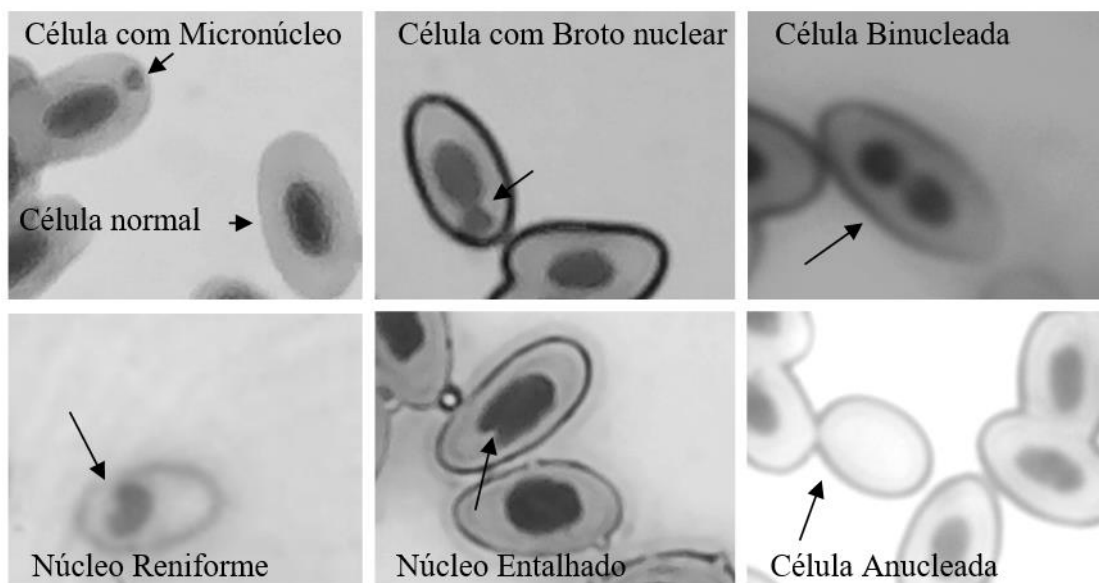
<i>Columbina talpacoti</i> (Temminck, 1811)	Rolinha-vermelha	9	0	Granívora	9
<b>Abundância por ambiente (n)</b>		82	32		114
<b>Riqueza de espécies (S)</b>		12	7		13

Para o teste de MN, somente as espécies mais abundantes foram consideradas para as análises eritrocitárias (Tabela 2; Figura 2). No ambiente conservado (Tabela 2) os animais pertenciam a três guildas tróficas, onde uma diferença na frequência de MN ( $H = 6,8571$ ;  $p = 0,03$ ) foi observada entre as espécies insetívora (*E. chiriquensis*), granívora (*V. jacarina*) e onívora (*G. chopi*). Neste caso, *G. chopi* foi a única espécie sensível na frequência de MN's. Já no ambiente agrícola, cinco espécies foram mais abundantes, e embora *G. chopi* detivesse maior frequência de dano em relação às demais espécies, não houve diferença entre as populações ( $H = 5,2252$ ;  $p = 0,26$ ). Em seguida, avaliando o total de AEN's dentro dos ambientes, não foram observadas diferenças para a área conservada ( $F_{(2, 22)} = 0,3504$ ;  $p = 0,71$ ) e agrícola ( $F_{(4, 37)} = 1,9895$ ;  $p = 0,11$ ).

**Tabela 2:** Frequência média de MN e total de AENs por espécie dentro de cada ambiente.

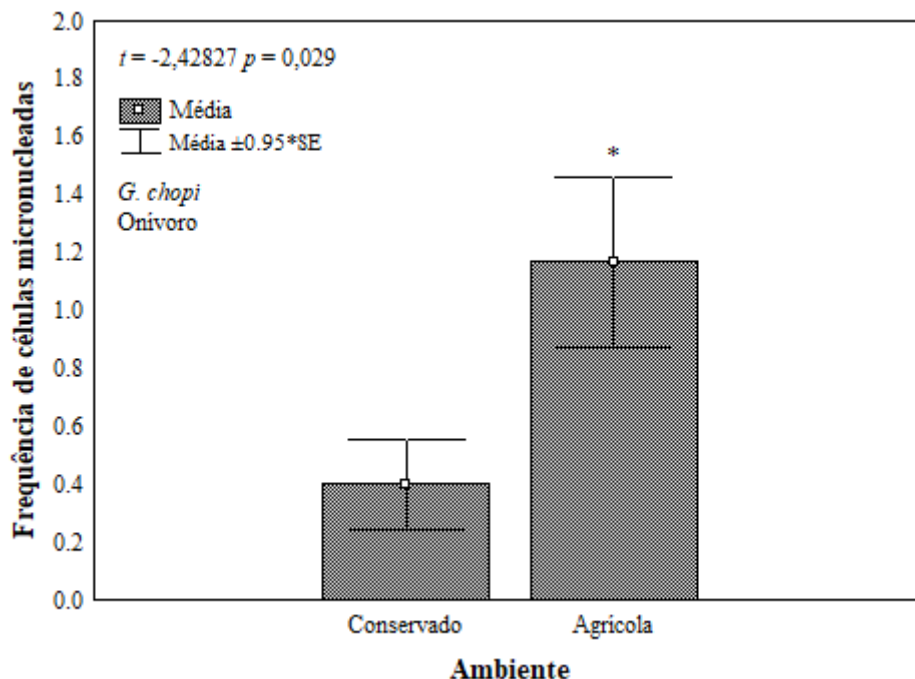
Ambiente/Espécie	Guilda	Média ± erro padrão	
		MN	Total AENs
<b>Conservado</b>			
<i>E. chiriquensis</i> (n = 5)	Insetívora	0,00±0,00 a	1,40±0,42 a
<i>V. jacarina</i> (n = 10)	Granívora	0,00±0,00 a	2,10±0,44 a
<i>G. chopi</i> (n = 10)	Onívora	0,40±0,23 b	1,50±0,46 a
<b>Agrícola</b>			
<i>V. jacarina</i> (n = 10)	Granívora	0,03±0,26 a	2,50±0,40 a
<i>S. caerulescens</i> (n = 10)	Granívora	0,60±0,37 a	1,50±0,41 a
<i>A. humeralis</i> (n = 7)	Granívora	0,71±0,37 a	1,00±0,38 a
<i>C. talpacoti</i> (n = 09)	Granívora	0,78±0,51 a	2,33±0,52 a
<i>G. chopi</i> (n = 06)	Onívora	1,17±0,35 a	0,50±0,37 a

Semelhanças estatísticas são indicadas por letras iguais. Enquanto letras diferentes são representações de diferenças significativas. Teste *Kruskal-Wallis* realizado dentro de cada ambiente para MN, seguido do teste *post-hoc* de *Dunn*. Análise de variância (ANOVA) seguida do teste *post-hoc* de *Tukey* realizado para AEN's. Em ambos os testes considerou um  $p < 0,05$ .



**Figura 2:** Fotomicrografia de células sanguíneas de aves. É possível identificar um micronúcleo e as demais anormalidades nucleares em eritrócitos de aves. Aumento: objetiva de 100x.

Após a avaliação dentro de cada ambiente, foram selecionadas as espécies comuns em ambas as áreas (*G. chopi* e *V. jacarina*) para verificação da influência dos distintos ambientes nos parâmetros genotóxicos. Foi observado que a espécie onívora *G. chopi* apresentou uma média de quase três vezes mais MN no ambiente agrícola em comparação com a mesma espécie de área conservada (Figura 3). Por outro lado, a granívora *V. jacarina* não apresentou diferença na frequência de MN entre as áreas ( $U = 40$ ;  $p = 0,44$ ). Para a soma total das ANE's de ambas as espécies não foram observadas diferença entre os animais (*V. jacarina*,  $t = 0,5098$ ;  $p = 0,61$  e *G. chopi*,  $t = 1,0923$ ;  $p = 0,29$ ) nos diferentes ambientes.



**Figura 3:** Frequência média de MN em *G. chopi* na área conservada em versus na área agrícola.

#### 4.4 DISCUSSÃO

Há quase 30 anos o teste de MN vem demonstrado a sensibilidade de aves aos estressores ambientais. Comparadas a outros vertebrados, muitas aves possuem capacidade de voo e podem acumular ar nos sacos aéreos, o que favorece a absorção de gases ou partículas (Baesse et al., 2019). Desse modo, a absorção de ar poluído pode ser um agente responsável pela indução de MN's (Baesse et al., 2019). Isso favorece maior predisposição de dano genotóxico em diferentes ambientes, como em áreas de poluição urbana (Baesse et al., 2019; Gonçalves et al., 2020), ou ambientes agrícolas onde ocorrem pulverizações mecanizadas, como no presente estudo. Além disso, as aves estão susceptíveis a contato com alimentos contaminados.

Observamos a sensibilidade de aves selvagens em dois distintos ambientes no cerrado brasileiro. No ambiente conservado foram registrados animais pertencentes a três guildas tróficas (insetívora, granívora e onívora), e a espécie onívora (*G. chopi*) apresentou significativa frequência de MN. Vale considerar que o período de renovação de eritrócitos das aves pode ser em torno de 28-45 dias (Jones, 2015), o que nos leva a duas hipóteses. A primeira é que, possivelmente, essa espécie tenha visitado áreas de lavoura fora da UC em período recente, embora a área de captura tenha acontecido no



interior da área protegida, por volta de 8 a 15 km da área de lavoura. Alguns latifúndios produtores de soja que fazem divisa com a Unidade de Conservação, utilizam de pulverizações aéreas, o que possibilita maior dispersão de partículas de agrotóxicos. A segunda hipótese reporta a micronucleação espontânea. Outros estudos com aves têm enfatizado essa abordagem (Stončius e Sinkevičius 2003; Stončius e Lazutka 2003; Quero et al., 2016). Quero et al. (2016), por exemplo, encontraram frequência de MN em aves de área protegida. Eles concluíram que este biomarcador pode ser efetivamente aplicado para avaliar a instabilidade genômica espontânea ou induzida em aves selvagens. *G. chopi* é uma espécie que evita densas florestas intactas, sendo encontrada em grandes clareiras, bosques abertos e savanas (Fraga, 2008) como áreas campestres no cerrado. Desse modo, considerando as condições ambientais das fitofisionomias do PNE e o hábito de vida de *G. chopi*, a primeira hipótese é mais provável ter acontecido. Sobretudo, na época seca que ocorreram as amostragens, cujas espécies precisam se deslocar em distâncias maiores em busca de alimentos.

O estudo de Lima (2013) relatou que o PNE foi criado em 1961 como parte de uma grande fazenda com maioria de formações de campos limpo e sujo (~ 90%). A parte externa ao PNE é composta por agricultura à oeste e, pecuária ao leste. Para Lima (2013) o cerrado é, em sua grande maioria, formado por áreas abertas, dentro da UC, cerca de 90% é formada por campos abertos e apenas 2,5% são áreas florestais. Sendo assim pequenas aves como a *G. chopi*, terão que, ocasionalmente, atravessar áreas abertas ou tê-las como parte de suas áreas de vida.

De acordo com Corey et al. (2012) pode-se perceber que o número de espécies de aves de vida selvagem está intimamente relacionado à perturbação e perda de habitats em decorrência de ações como desmatamento e agricultura. Em estudo recente, Salek et al. (2020) observaram um declínio nas populações de aves em áreas agrícolas, com substancial redução para espécies insetívoras e granívoras, no entanto, as espécies generalistas têm mantido populações mais estáveis. Ainda no estudo de Salek et al. (2020) observaram que aumento no uso de agrotóxicos afetou negativamente os suprimentos alimentares e o hábitat das aves, o que foi percebido também em nosso estudo, pois a diversidade ( $H'$ ) e riqueza ( $S$ ) de aves na área agrícola de Rio Verde é reduzida em comparação com as de área conservada. Além disso, detectamos que na área agrícola a abundância de indivíduos foi menor com maior dominância de espécies generalistas. Desse modo esses achados justificam a importância dos estudos ecotoxicológicos no sentido de gerar alertas sobre a saúde dos ecossistemas.

No ambiente agrícola não foi detectada diferença na comparação múltipla entre os animais, embora *G. chopi* apresentasse considerável frequência de MN em comparação com as demais espécies. É importante evidenciar que, mesmo não observada a diferença entre o conjunto de espécies analisadas, a frequência de MN na área agrícola foi bastante expressiva em relação às espécies do ambiente conservado, o que sugere que no ambiente agrícola, os animais estão susceptíveis à instabilidade genômica. Em seguida, uma análise entre as espécies comuns nos dois ambientes (*G. chopi* e *V. jacarina*), demonstrou que *G. chopi* apresentou uma frequência de danos eritrocitários quase três vezes maior em ambiente agrícola em relação ao conservado. Esses dados demonstram que essa espécie é suscetível ao efeito da antropização ambiental. Por outro lado, a espécie granívora *V. jacarina* não apresentou diferenças na frequência de MN nos dois ambientes. Em contraste, em estudo recente, *V. jacarina* foi indicada como importante sentinela de poluentes agrícolas em áreas de cultivo de café no Sudoeste do Brasil (Souto et al., 2018). Nosso estudo também está apoiado a outros estudos com anfíbios e mamíferos realizados na região agrícola de Rio Verde (Borges et al., 2019; Benvindo-Souza et al., 2019a,b) e em outras partes do Cerrado goiano (Gonçalves et al., 2015) cujos animais selvagens têm aumentado a frequência de danos genotóxicos em relação a áreas mais conservadas.

Em se tratando de animais granívoros, tanto na área conservada quanto na área agrícola não se observaram danos significativos. Chamamos a atenção para a posição trófica desses animais, já que granívoros se alimentam diretamente dos grãos e a aplicação de alguns pesticidas se dão antes da formação dos mesmos. e sua formação. Assim os animais que se alimentam de insetos ou aqueles onívoros possivelmente serão mais afetados pela ação do xenobiótico do que animais especialistas em grãos, devido ao processo de biomagnificação ao longo da cadeia trófica. Desse modo, novos estudos serão importantes enfatizando esse aspecto. Para isso, os esforços de captura focados em tais guildas são fortemente encorajados.

Em nosso estudo, a soma de AEN's não indicou diferenças significativas em nenhum dos ambientes, contudo, não significa que esses animais não sofreram com estressores ambientais. A análise das ANE's empregada neste estudo buscou preencher a lacuna em avaliações *in situ* no Brasil e podem ser analisadas junto a análise de MNs de modo a elucidar maior informação sobre a saúde das aves. Em diversos grupos taxonômicos utilizando o teste de MN, autores também tem avaliado ANEs, em mamíferos (Benvindo-Souza et al., 2019b), anfíbios (Araújo et al., 2019, Borges et al., 2019a,b), répteis (Mesak et al., 2019; de Oliveira et al., 2020), peixes (Osman et al., 2019)

e aves (Faria et al., 2018). Para o Brasil, em estudos de aves de vida livre, somente o trabalho recente de Gonçalves et al. (2020) avaliou ANE's com a avaliação de células anucleadas em *Antilophia galeata*. Assim, com o presente estudo acrescentamos à literatura a pontuação de outros tipos celulares, tais como células como broto nuclear, células com núcleo reniforme e células binucleadas, as quais são demonstradas pela primeira vez em aves de vida livre no Brasil.

Reforçamos que estudos com aves silvestres no Brasil avaliando MN ainda são incipientes, havendo apenas seis trabalhos (Pinhatti et al., 2006; Baesse et al., 2015; Adam et al., 2015; Souto et al., 2018; Baesse et al., 2019; Gonçalves et al., 2020). Dessa forma, com a adição da presente investigação, os estudos compreenderão 2,87% (n = 52 espécies) da fauna aviária brasileira investigada para o teste de MN e 5,03% (n = 47) para espécies de aves no cerrado. Também destacamos que com exceção da *V. jacarina* estudada por Souto et al. (2018), as demais espécies são investigadas pela primeira vez com o uso deste biomarcador no país. As práticas agrícolas têm sido consideradas o principal fator que ameaça os esforços de conservação das espécies no cerrado brasileiro (Gomes et al., 2017). Em outro estudo recente foi projetada a vulnerabilidade de 50 espécies de aves endêmicas do Cerrado frente às mudanças climáticas e uso da terra (Borges et al., 2019), tal aspecto preocupa sobre a segurança e saúde ambiental desses animais nos ecossistemas antropizados.

Relatamos ainda que a baixa abundância de indivíduos para algumas espécies encontrada neste trabalho, principalmente na área agrícola, pode estar intimamente associada às condições dos locais de coleta. A presença de aves em um ambiente é influenciada por diversos fatores, como por exemplo, disponibilidade de insetos, frutos, vegetação e até mesmo a ação antrópica (Tubelis e Cavalcanti, 2001). Além disso, essas variáveis estão diretamente ligadas à sazonalidade climática do bioma cerrado (Eiten, 1993), haja visto que apresenta duas estações climáticas bem definidas. A estação chuvosa vai de Outubro a Março e a estação da seca de Abril a Setembro. Em uma pesquisa anterior, em região de cerrado no estado de Goiás, Rocha et al. (2015) observaram que as guildas mais representativas em suas coletas foram onívoras e insetívoras. A alta riqueza de aves insetívoras costuma ser padrão para toda a região tropical, no entanto, chamamos a atenção para o número reduzido de aves capturadas pertencentes a este hábito alimentar neste trabalho, o que pode indicar uma descaracterização natural da área e, possivelmente, o uso de inseticidas na região, o que corrobora com a nossa ideia inicial, que essa guilda estaria sofrendo mais danos genéticos,

o que foi percebido pela pouca quantidade de aves pertencente a essa guilda em nossa coleta. Nesse sentido, a paisagem parece ter forte relação com o hábito alimentar das aves. Bouam et al. (2017) por exemplo, demonstraram que aves insetívoras tendem a diminuir sua população com o aumento da intensificação da agricultura quando comparadas às frugívoras. Todavia, essas observações requerem levar em conta o tipo de cultivo agrícola. Finalmente, para novos estudos com este biomarcador são importantes para aves brasileiras, sobretudo neste bioma fortemente impactado pelo uso da terra.

#### 4.5 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou por meio da análise de biomarcadores (MN e AEN's) que no ambiente conservado, a espécie *G. chopi* é sensível quanto à frequência de MN's. Essa espécie, quando comparada a área agrícola de soja e milho com um ambiente preservado, apresentou maior frequência de danos nos animais do ambiente de lavoura. Diante destes achados, *G. chopi* parece ser importante para a implementação em programas de biomonitoramento da vida selvagem. Mas novos estudos ainda serão necessários. Para a análise de AEN's, não foi observada diferença entre as espécies-guilda em ambos os ambientes. Considerando a diversidade de aves no Brasil e os riscos que elas vêm enfrentando, nosso trabalho reforça o uso deste biomarcador no país.

#### 4.6 REFERÊNCIAS

- Adam M.L, Torres, R.A., Kiska, M., Oliveira, F.F, Lacerda, O., Sponchiado, G., Ribas, C.M.O., Correia, M.T.S. 2013. Assessment of Genome Damage in Bird and Mammal Species as a Tool for Improvements in ex-situ Conservation at Zoos. *Natureza & Conservação* 11(1):59-64.
- Barata C., Fabregat MC., Cotin J., Huertas D., Solé H., Quirós G., Sanpera C., Jover G., Ruiz X., Grimalt J.O., Pina B. 2010. hazards in heron nestlings from impacted sites in Ebro basin (NE Spain). *EnvironPollut.* 1583:704-10.
- Baesse C.Q., Tolentino, V.C.D., da Silva, A.M., Silva, A.D., Ferreira, G.A., Paniago, L.P.M., Nepomuceno, J.C., de Melo, C. 2015. Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115:223-228.
- Baesse CQ, Tolentino VCD, Morelli S, Melo C (2019) Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171:631-637.

- Benvindo-Souza M, Borges RE, Pacheco SM, Santos LRD (2019a) Genotoxicological analyses of insectivorous bats (Mammalia: Chiroptera) in central Brazil: The oral epithelium as an indicator of environmental quality. *Environmental Pollution* 245:504-509
- Benvindo-Souza M, Borges RE, Pacheco SM, Santos LRS (2019a) Micronucleus and other nuclear abnormalities in exfoliated cells of buccal mucosa of bats at different trophic levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172:120-127
- Benvindo-Souza, M., Oliveira, E.A.S., Assis, R.A., Santos, C.G.A., Borges, R.E., Silva, D.M., Santos, L.R.S. 2020. Micronucleus test in tadpole erythrocytes: Trends in studies and new paths. *Chemosphere*, 240: 124910.
- Bichsel, D., De Marco, P., Bispo, A.A., Ilg, C., Dias-Silva, K., Vieira, T.B., Correa, C.C., Oertli, B. 2016. Water quality of rural ponds in the extensive agricultural landscape of the Cerrado (Brazil). *Limnology*, 17:239-246.
- Bouam, I; Bachir, ASI; Katayama, N. 2017 Variation in bird assemblages along an agricultural intensification gradient: a case study of olive orchards in north-eastern Algeria. *Ornithological Science*, 16: 147-157.
- Bhunya S.P., Jena G.B. 1992. Genotoxic potential of the organochlorine insecticide lindane gamma-BHC: an in vivo study in chicks. *Mutat Res.* 2722:175-81.
- BLI (2020) BirdLifeInternational. Disponível em: <<http://www.birdlife.org/>> Acesso em 03 de Agosto de 2020.
- Bhunya SP., Jena GB. 1993. Studies on the genotoxicity of monocrotophos, an organophosphate insecticide, in the chick in vivo test system. *Mutat Res.* 292(3):231-9.
- Brown, R.E., Brain, J.D., Wang, N. 1997. The avian respiratory system: a unique model for studies of respiratory toxicosis and for monitoring air quality. *Environ. Health Perspect.*, 105 (1997), p. 2
- Corey S. Shake, Christopher E. Moorman, Jason D. Riddle, Michael R. Burchell, II, Influence of Patch Size and Shape on Occupancy by Shrubland Birds, *The Condor*, Volume 114, Issue 2, 1 de maio de 2012, Pages 268– 278.
- CP Gerba; ML Brusseau, IL pimenta, CP Gerba (Eds.), Avaliação de risco da; Ambiental e Ciência Poluição (terceira ed.), Academic Press, Amesterdã (2019), pp. 541 – 563
- De Lima, Marcelo Gonçalves, and M. G. de Lima. Ecologia da paisagem e cenários para a conservação da aviifauna na região do Parque Nacional das Emas. GO. Diss. Tese de doutorado, Programa de Pós Graduação em Ecologia, Departamento de Ecologia, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, 2003.
- De Oliveira JSP,; Vieira LG ; Carvalho WF, de Souza MB, de Lima Rodrigues, AS, Simões K, de Melo e Silva D, dos Santos Mendonça J, Hirano, LQL, Santos ALQ, Malafaia, G (2020) Mutagenic, genotoxic and morpho toxic potential of different pesticides in the erythrocytes of Podocnemis expansa neonates. *Science of The Total Environment* 737,:140304 Eiten, G. 1993. Vegetação do cerrado. Pp. 17–73 in Pinto, M. N. (ed.). Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas. Ed. Univ. Brasília, Brasília.
- Faria, D.B.G., Montalvão, M.F., de Souza, J.M., Mendes, B.D., Malafaia, G., Rodrigues, A.S.D. 2017. Analysis of various effects of abamectin on erythrocyte morphology in Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Environmental Science and Pollution Research*, 25:2450-2456.
- Farag M.R & Alagawany, M. 2018. Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 279:73-83.

- Fenech M. 2000. The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res* 455:81–95
- Ferreira, M.E., Ferreira, L.G., Miziara, F., Soares-Filho, B.S. 2012. Modeling landscape dynamics in the central Brazilian savanna biome: future scenarios and perspectives for conservation. *J. Land Use Sci.*, 1–19.
- Fernandes F. M & Rego J. O. 2014. Dimorph and rawilsonii Rizzini (Fabaceae): distribution, habitat /and conservation status. *Acta Botanica Brasilica*. 28(3): 434-444.
- Fraga RM (2008) Notes on the nesting of Chopi Blackbirds (*Gnorimopsar chopi*) in Argentina and Paraguay, with data on cooperative breeding and brood parasitism by Screaming Cowbirds (*Molothru rufoaxillaris*). *Ornitologia Neotropical*, 19:299-303.
- França H., M.B. Ramos-Neto, A. Setzer. 2007. O fogo no Parque Nacional das Emas. Instituto do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama). 140p
- Ghaffar A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, RZ., Asad, M. 2015a. Clinico - hematological and mutagenic changes induced by arsenic and coppersulphate in adult poultry males. *Journal of animal and plant sciences*, 25:1555-1561.
- Ghaffar A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, RZ., Aslam, S., Mehreen, M., Rani, K. 2015b. Hemato-Biochemical and testicular changes induced by sub- chronic doses of triazophos in male japanese quail. *Pakistan Journal of Agricultural sciences*, 52: 801-807.
- Ghaffar A., Hussain, R., Abbas, G., Ali, MH., Saleem, M., Khan, T., Malik, R., Ahmad, H. 2017a. Cumulative Effects of Sodium Arsenate and Diammonium Phosphate on Growth Performance, Hemato-Biochemistry and Protoplasm in Commercial Layer. *Pakistan Veterinary Journal*, 37:257-262.
- Ghaffar A., Hussain, R., Abbas, G., Ahmad, M.N., Abbas, A., Rahim, Y., Younus, M., Shahid, M., Mohiuddin, M. (2017b) Sodium arsenate and/or urea differently affect clinical attributes, hemato-biochemistry and DNA damage in intoxicated commercial layer birds, *Toxin Reviews*.
- Gomes, MP; Cruz, FVD; Bicalho, EM; Borges, FV; Fonseca, MB; Juneau, P; Garcia, QS. 2017. Effects of glyphosate acid and the glyphosate-commercial formulation (Roundup) on Dimorph and rawilsonii seed germination: Interference of seed respiratory metabolism. *Environmental Pollution*, 220: 452-459 Parte: A.
- Gonçalves M.W., Vieira, T.B., Maciel, N.M., Carvalho, W.F., Lima, L.S.F., Gambale, P.G., Cruz, A.D., Nomura, F., Bastos, R.P., Silva, D.M., 2015. Detecting genomic damages in the frog *Dendropsophus minutus*: preserved versus perturbed areas. *Environmental Science and Pollution Research*. 22, 3947-3954.
- Goncalves VF, Ribeiro PVA, Oliveira CFD, Pires LP, Baesse CQ, Paniago LPM, Toletino VCG, de Melo, C (2020) Effects of urban proximity and the occurrence of erythroplastids in Antilophiagaleata. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Grecchi R.C., Gwyn, Q.H.J., Bénié, G.B., Formaggio, A.R. & Fahl, F.C. (2014). Land use and land cover changes in the Brazilian Cerrado: A multidisciplinary approach to assess the impacts of agricultural expansion. *Appl. Geogr.* 55, 300-312
- Hussain R., Ghaffar, A., Ali, H.M., Abbas, R.Z., Khan, A., Khan, I.A., Ahmad, I., & Iqbal, Z. (2017) Análise de diferentes impactos tóxicos do fipronil no crescimento, hemato-bioquímica, protoplasma e reprodução em galos adultos, *Revisões do Toxin*,
- IMB 2018. Instituto Mauro Borges de estatística e estudos socioeconômicos. Disponível em [http://www.imb.gov.br/viewrele.asp?cd\\_assunto=5&cd\\_anomes=20140000](http://www.imb.gov.br/viewrele.asp?cd_assunto=5&cd_anomes=20140000)>. Acesso em 14 de julho de 2018.
- Jena GB, Bhunya SP. 1992. Thirtyday genotoxicity study of an organophosphate insecticide, monocrotophos, in a chick in vivo test system. *In Vivo*, 6(5):527-30.

- Kontas S, Bostanci D (2020) Genotoxic Effects of Environmental Pollutant Heavy Metals on *Alburnus chalcoides* (Pisces: Cyprinidae) Inhabiting Lower Melet River (Ordu, Turkey). 104: 763-769.
- Moreno, C., Ferro, V.G. 2016. Arctiinae moths (Lepidoptera, Erebidae) of the Emas National Park, Goiás, Brazil. *Biota Neotropica*. 162: e20150037.
- Palhares D, Grisolia CK 2002 Comparison between the micronuclei frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. *Gen Mol Biol* 253:281–284.
- Pascoal J.O., Amorim, M.P., Martins, M.M., Melo, C., Silva Júnior, E.L., Ogrzewalska, M., Labruna, M.B., Szabó, M.P.J. 2013. Ticks on birds in a savanna (Cerrado) reserve on the outskirts of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 22:46-52.
- Piacentini V.Q.; Aleixo, A.; Agne, C.E.; Maurício, G.N.; Pacheco, J.F.; Bravo, G.A.; Brito, G.R.R.; Naka, L.N.; Olmos, F.; Posso, S.; Silveira, L.F.; Betini, G.S.; Carrano, E.; Franz, I.; Lees, A.C.; Lima, L.M.; Pioli, D.; Schunck, F.; Amaral, F.R.; Bencke, G.A.; Cohn-Haft, M.; Figueiredo, L.F.A.; Straube, F.C.; Cesari, E. 2015. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 23(2):91-298.
- Pignati A.W., Lima, F.A.N.S., Lara, S.S., Correa, M.L.M., Barbosa, J.R., Leão, L.H.C., Pignatti, M.G. 2017. Spatial distribution of pesticide use in Brazil: a strategy for Health Surveillance. *Ciência & Saúde Coletiva*, 22:10.
- Rocha C, R Matias, LM Aguiar, CM Silva, 2015 Characterization of avifauna in areas of Cerrado, Central Brazil... - *Acta Biológica ...*, 2015 - 186.237.248.25
- Quero, AAM; Ferre, DM; Zarco, A; Cuervo, PF; Gorla, NBM. 2016. Erythrocyte micronucleus cytome assay of 17 wild bird species from the central Monte desert, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24): 25224-25231.
- Quiros L, Ruiz X, Sanpera C, Jover L, Pina B (2008) Analysis of micronucleated erythrocytes in heron nestlings from reference and impacted sites in the Ebro basin (NE Spain). *Environmental Pollution*, 155:81-87.
- Salek, M; Brlik, V; Kadava L; Praus, L; Studecky, J; Vrana, J; Gamero, A. Year-round relevance of manure heaps and its conservation potential for declining farmland birds in agricultural landscape. *Agriculture Ecosystems & Environment*. Volume: 301.
- Santos C.S.A.; Brandão, R.; Monteiro, M.S.; Bastos, A.C.; Soares, A.M.V.M.; Loureiro, S. 2017. Assesment of DNA damage in *Ardea cinerea* and *Ciconiaciconia*: A 5-year study in Portuguese birds retrieved for rehabilitation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 136: 104-110.
- Sharaf S, Khan A, Khan MZ, Aslam F, Saleemi MK, Mahmood F (2010) Clinico-hematological and micronuclear changes induced by cypermethrin in broiler chicks: their attenuation with vitamin E and selenium. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62:333-341.
- Shepherd G.L., Somers, C.M., 2012. Adapting the Buccal Micronucleus Cytome Assay for Use in Wild Birds: Age and Sex Affect Background Frequency in Pigeons. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 53:136-144.
- Silva F.C.; Silva, G.G.; Chagas, M.O.; Jung, D.M.H. 2014. Composição da comunidade de aves em área urbana no sul do Brasil. *Neotropical Biology and Conservation*, 9(2):78-90.
- Simberloff D. E T. Dayan (1991) The guild concept and the structure of ecological communities. *Annual Rev. Ecol. Syst.* 22:115-153
- Vitorino, B.D., Rodrigues, M.B., Frota, A.V.B., Avelar, D.M., Rodrigues, W.L., Castrillon, S.K.I., Nunes, J.R.S. 2018.

- Birds of rural landscape in the Midwest region of the state of Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Biology and Conservation* 131:62-73.
- Simonyan A., Hovhannisyan, G., Sargsyan, A., Arakelyan, M., Minasyan, S., Aroutiounian, R. 2018. DNA damage and micronuclei in parthenogenetic and bisexual *Darevskia* rock lizards from the areas with different levels of soil pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 154:13-18.
- Skarphedinsdottir H., Hallgrímsson, G.T., Hansson, T., Hagerroth, P.A., Liewenborg, B., Tjarnlund, U., Akerman, G., Barsiene, J., Balk, L. Genotoxicity in herring gulls (*Larus argentatus*) in Sweden and Iceland. *Mutation Research* 702 (2012) 24–31
- Souto H.N., Campos Júnior, E.O., Campos, C.F., Rodrigues, T.S., Pereira, B.B., Morelli, S. 2018. Biomonitoring birds: the use of a micronuclei test as a tool to assess environmental pollutants on coffee farms in southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Souza J.M.; Montalvão, M.F. Silva, A.R.; Rodrigues, A.S.L.; Malafaia, G. 2017. A pioneering study on cytotoxicity in Australian parakeets (*Melopsittacus undulates*) exposed to tannery effluent. *Chemosphere*, 175: 521-533.
- Stončius D, Sinkevičius S (2003) Spontaneous Micronuclei in the Black-Headed Gull (*Larus Ridibundus* L.) Embryos in Relation to Parameters Determining Nestling Survival. *Acta Zoologica Lituanica*, 13:3, 294-298.
- Stončius D, Lazutka, JR (2003) Spontaneous and benzo [a]pyreneinduced micronuclei in the embryos of the black-headed gull (*Larus ridibundus* L.). *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 538:31-39.
- Tubelis D.P.; Cavalcanti, R.B. Community Similarity and Abundance of Birds Species in Open Habitats of a Central Brazilian Cerrado. *Ornitologia Neotropical* 12: 57–73, 2001.



## 5. CONCLUSÃO GERAL

Nesse estudo mostramos a incipiência do teste de micronúcleo em aves. Os dados refletem a necessidade de maior utilização desse biomarcador em aves de vida livre, no sentido de reportar os efeitos da paisagem antropizada sobre estes animais. Talvez essa carência em estudo seja reflexo de pouco incentivo à pesquisa e poucos profissionais do ramo da ecotoxicologia, sendo um desafio formar esses profissionais para o futuro. Para o Brasil, considerando a sua diversidade de aves e a crescente modificação ambiental, torna uma região ímpar para biomonitoramento em prol da conservação da vida selvagem. Aqui, foram mostradas diferenças claras na frequência de micronúcleo em espécie onívora em área dominada por lavouras. Isso implica na baixa qualidade ambiental quando comparamos mesmos animais a uma área controle (Unidade de Conservação). Desse modo, encorajamos mais estudos com esse tópico no Brasil.