

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
COMPORTAMENTO E BIOLOGIA ANIMAL

Felipe dos Santos Nascimento

**Impacto do desastre de Mariana (MG) na seleção de folhas e na escavação de ninhos por
Acromyrmex subterraneus (Forel, 1893) (Hymenoptera, Formicidae)**

Felipe dos Santos Nascimento

**Impacto do desastre de Mariana (MG) na seleção de folhas e na escavação de ninhos por
Acromyrmex subterraneus (Forel, 1893) (Hymenoptera, Formicidae)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Comportamento e Biologia Animal.

Orientadora: Dra Juliane Floriano Lopes Santos

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Nascimento, Felipe dos Santos.

Impacto do desastre de Mariana (MG) na seleção de folhas e na escavação de ninhos por *Acromyrmex subterraneus* (Forel, 1893) (Hymenoptera, Formicidae) / Felipe dos Santos Nascimento. -- 2020. 51 f.

Orientadora: Juliane Floriano Lopes Santos
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2020.

1. Formigas cortadeiras. 2. Rejeito de mineração. 3. Herbivoria. 4. Escavação. 5. Samarco. I. Floriano Lopes Santos, Juliane, orient. II. Título.

Felipe dos Santos Nascimento

Impacto do desastre de Mariana (MG) na seleção de folhas e na escavação de ninhos por *Acromyrmex subterraneus* (Forel, 1893) (Hymenoptera, Formicidae)

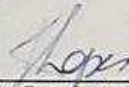
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia): Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Juliane Floriano Lopes Santos

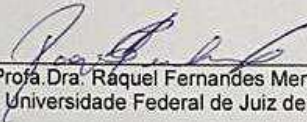
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Juliane Floriano Lopes Santos (Orientadora)



Profa. Dra. Carla Rodrigues Ribas
Universidade Federal de Lavras



Profa. Dra. Raquel Fernandes Mendonça
Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e às energias positivas e ressonantes do universo que me guiaram até aqui de forma que agregaram em minha bagagem todo esse aprendizado e lições valorosas. Cada degrau conquistado, cada obstáculo ultrapassado e cada preconceito enfrentado e que hoje se demonstram como conquistas internas essenciais nessa caminhada.

Agradeço aos meus pais, Rosane e Luiz, por estarem do meu lado e por confiarem em meus propósitos. Aos meus irmãos Lucas, Dalila e Gabriel por serem motivadores da minha busca pelo meu melhor. Aos meus queridos avós, tios, tias, primos, primas e padrinhos por sempre serem solícitos e carinhosos.

Agradeço à todos meus amigos, de todos os núcleos (dos quais tenho sorte e felicidade de ser membro), que sempre estiveram comigo me apoiando, torcendo por mim e me aguentaram nas minhas piores fases. Agradeço por toda amizade, cumplicidade e por serem meus psicólogos nas horas vagas, não sei o que faria sem vocês na minha vida.

Gratidão aos nestmates do MirmecoLab: André, Antônio, Júlia, Lara, Luana e Thiago e à toda ajuda e apoio de vocês nesse tempo. Obrigado por me acolherem, ajudarem e terem paciência. Vocês são incríveis!

Em especial agradeço à minha orientadora Juliane, por ter me recebido de braços abertos, por confiar e acreditar em mim. Isso é algo muito valioso pra mim. Obrigado por ser essa inspiração. Sempre serei grato pelo seu carinho e acolhimento.

“...a raiz do altruísmo está na empatia, a capacidade de ler emoções nos outros; sem um senso da necessidade ou desespero do outro, não há envolvimento. E se há duas posições morais que nossos tempos exigem são precisamente estas, autocontrole e piedade.” (GOLEMAN, D.).

RESUMO PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

O estado de Minas Gerais sofreu o maior desastre ambiental do Brasil em novembro de 2015, que consistiu no rompimento da barragem de Fundão (Mariana-MG), sob a responsabilidade da mineradora Samarco. Essa tragédia liberou na bacia do Rio Doce cerca de 50 milhões de metros cúbicos de lama contendo rejeito de mineração. A lama atingiu casas e afetou diretamente vidas de moradores, gerando grandes danos socioeconômicos e, principalmente, ambientais, assoreando rios e compactando solos. Dessa forma as áreas atingidas necessitam de estratégias de recuperação, como a de revegetação, que consiste no plantio de mudas. O crescimento das mudas é afetado pela compactação do solo, que prejudica o desenvolvimento das raízes ao impedir a absorção de água. Dessa forma, os herbívoros aproveitam-se das condições de vulnerabilidade das mudas e causam o desfolhamento, como, por exemplo, o grupo das formigas cortadeiras popularmente conhecidas como saúvas (*Atta*) e quenquéns (*Acromyrmex*). No processo de busca por alimento, as formigas cortadeiras causam danos econômicos e ambientais, devido ao corte de grande quantidade de folha fresca, desfavorecendo o sucesso de projetos de revegetação. No entanto, formigas cortadeiras não devem ser reconhecidas apenas como pragas. A atividade de escavação enriquece o solo ao disponibilizar nutrientes (via deposição de matéria orgânica), contribui para o desenvolvimento de raízes de plantas próximas ao ninho, evita a erosão, promove descompactação e aeração do solo. A escavação é guiada pelos gradientes de dióxido de carbono (CO_2) presentes no solo, sendo usados também como pistas de locais e profundidades para a nidificação ou expansão de ninhos já estabelecidos. Deste modo, as formigas cortadeiras apresentam um duplo papel no processo de recuperação de áreas afetadas por desastres ambientais. Neste trabalho, foi avaliado o efeito do rejeito de mineração na seleção de folhas de pata-de-vaca (*Bauhinia rufa*) e na escavação de ninhos nos diferentes tipos de solos pela espécie de formiga cortadeira quemquem (*Acromyrmex subterraneus*). As plantas cultivadas em solos com diferentes concentrações de rejeito de mineração (0, 25, 50, 75 e 100%) e suas folhas foram oferecidas às formigas, em forma de discos, para a realização do teste de seleção. Ademais, para as análises laboratoriais das folhas dividimos em características físicas (espessura das folhas e teor de água) e químicas (amidos e carboidratos). Com isso observamos que as plantas cultivadas no tratamento de 100% tiveram valores baixos para as características físicas e valores altos para as químicas, sendo este o tratamento de plantas mais transportadas pelas formigas, por terem folhas mais leves, finas e com maior conteúdo energético. Para a atividade de escavação utilizamos as mesmas

concentrações de rejeito de mineração (0, 25, 50, 75 e 100%), colocamos esse solo em um recipiente devidamente vedado com uma sonda de CO₂ acoplada. Durante as três primeiras horas a sonda mediu as concentrações de CO₂ apenas do solo, após esse tempo foram colocadas 30 operárias no sistema e realizados mais três horas de medição, agora com formigas. Contudo o fluxo de CO₂ não variou em função da quantidade de solo escavado para qualquer concentração de rejeito de mineração. Porém, o solo menos escavado pelas operárias de quenquém (*A. subterraneus*) foi com o tratamento de 100% rejeito. Por fim, considerando os resultados obtidos é possível supor que *A. subterraneus* poderá prejudicar o projeto de revegetação devido à herbivoria e estabelecer ninhos próximos aos locais atingidos pelo desastre. Para garantir a manutenção e sucesso dos projetos de revegetação são recomendados o monitoramento, o controle das formigas e o uso de fertilizantes nos solos atingidos pelo desastre.

Palavras-chave: Formigas, Revegetação, Samarco.

RESUMO

O rompimento da barragem de rejeitos de mineração em Mariana-MG trouxe danos socioeconômicos e ambientais. Uma ação mitigadora para a recuperação do solo e da biodiversidade é a revegetação. Um dos principais obstáculos à revegetação é a presença de formigas cortadeiras, uma vez que cortam uma grande quantidade de folhas frescas para o cultivo do fungo simbionte. Por outro lado, formigas cortadeiras não devem ser reconhecidas apenas como espécies praga. Sua atividade de escavação interfere no enriquecimento do solo, contribuindo assim para o sucesso dos programas de revegetação. A escavação disponibiliza nutrientes (via deposição de matéria orgânica), evita a erosão, contribui para o desenvolvimento de raízes de plantas próximas ao ninho e promove descompactação e aeração do solo. Deste modo, as formigas cortadeiras apresentam um duplo papel no processo de recuperação de áreas afetadas por desastres ambientais. A escavação por formiga cortadeiras possui uma relação intrínseca com a dinâmica do dióxido de carbono (CO₂), de modo que gradientes de concentração são usados como indicadores de locais e profundidades ideais para essa atividade. Com isso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito das diferentes concentrações de rejeito de mineração no processo de (i) seleção de folhas e na (ii) escavação de ninhos por *Acromyrmex subterraneus*. Para tanto, espécimes de *Bauhinia rufa* (pata-de-vaca), foram cultivadas em solo contendo diferentes concentrações de rejeito de mineração (0, 25, 50, 75 e 100%). Folhas de *B. rufa* foram cortadas, marcadas de acordo com cada concentração de rejeito e oferecidos em uma arena de forrageamento, conectada à colônia por uma ponte de vidro. Em seguida, registrou-se a frequência de discos transportados, até que todos os discos de uma das concentrações de rejeito testadas fosse completamente transportado pelas operárias. Para comprovar o efeito novidade (atração das operárias por recursos alimentares não familiares), o teste de seleção foi realizado novamente após 60 dias do primeiro contato com *B. rufa*. Além disso, as folhas foram avaliadas quanto a sua espessura, teor de água, concentração de amido e carboidratos solúveis totais (CST). Observou-se que os discos de plantas cultivadas em 100% de rejeito foram os mais transportados pelas operárias, no primeiro contato e nos testes realizados após 60 dias. Porém, houve um aumento na probabilidade de carregamento dos discos com menores concentrações de rejeito, indicando a redução na preferência. Folhas de plantas cultivadas em concentrações maiores de rejeito apresentaram menor espessura e teor de água e maior teor de amido e CST. Também foi verificada a variação do fluxo de CO₂ no solo *in loco* e em laboratório usando uma sonda com sensor infravermelho. Bem como se o fluxo de CO₂ varia em função da atividade de escavação realizado pelas formigas. Para tanto, foram utilizadas amostras de rejeito misturadas com substrato fértil, previamente preparado, para obter as diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%). Foi utilizada uma câmara hermética de escavação (contendo o solo) com uma sonda de CO₂ acoplada. Nas três primeiras horas foi mensurado a emissão de CO₂ do solo, e nas três horas seguintes, mensurou-se a emissão de CO₂ do solo com a presença de 30 operárias de diferentes colônias (n = 50). O fluxo de CO₂ *in loco* (Barra Longa – MG) não variou em relação às distâncias ao rio Gualaxo. O mesmo foi verificado no fluxo de CO₂ não variou em função da quantidade de solo escavado (g), para qualquer concentração de rejeito de mineração, apesar da massa de solo escavado pelas operárias de *A. subterraneus* foi menor em solo com 100%. A partir dos resultados obtidos é possível supor que *A. subterraneus* poderá prejudicar o projeto de revegetação devido à herbivoria e estabelecer ninhos próximos aos locais atingidos pelo desastre. Para garantir a manutenção e sucesso dos projetos de revegetação, é recomendado o monitoramento e controle dessas formigas e também o uso de fertilizantes nos solos atingidos pelo desastre.

Palavras-chave: Escavação, Formigas cortadeiras, Herbivoria, Rejeito de mineração, Samarco.

ABSTRACT

The rupture of the mining waste dam in Mariana-MG has brought socioeconomic and environmental damage. A mitigating action for the recovery of soil and biodiversity is the revegetation. One of the main obstacles to revegetation is the presence of leaf-cutting ants, since they cut a large amount of fresh leaves for the cultivation of the symbiotic fungus. On the other hand, leaf-cutting ants should not be recognized only as pest species. Its digging activity interferes with the enrichment of soil, thus contributing to the success of revegetation programs. Digging provides nutrients (by organic matter deposition), prevents erosion, contributes to development of plant roots close to the nest and promotes soil decompression and aeration. Leaf-cutting ant digging has an intrinsic relationship with carbon dioxide (CO₂), whose gradients concentration are used as clues of ideal locations and depths for this activity. In this way, leaf-cutting ants play a dual role in the recovery process of areas affected by environmental disasters. Thus, the present study aimed to evaluate the effect of different concentrations of mining waste on the process of (i) leaf selection and (ii) nest digging by *Acromyrmex subterraneus*. For that, specimens of *Bauhinia rufa* (pata-de-vaca), were grown in soil containing different concentrations of mining waste (0, 25, 50, 75 and 100%). *B. rufa* leaves were cut, marked according to each concentration of mining waste concentration and offered in a foraging arena, connected to the colony by a glass bridge. Then, the frequency of transported discs was recorded, until all discs from one of the tested mining waste concentrations were completely transported by workers. To prove the novelty effect, the selection test was performed again 60 days after the first contact with *B. rufa*. In addition, the leaves were evaluated for thickness, water content, starch concentration and total soluble carbohydrates (TSC). It was observed that discs of plants grown in 100% of mining waste were the most transported by workers, at the first contact and in the tests carried out after 60 days. However, the probability of loading discs with lower concentrations of mining waste was increased, indicating a reduction of preference. Leaves' plants grown in higher concentrations of mining waste showed less thickness and water content and higher content of starch and TSC. It was also verified the variation of CO₂ flow on the soil *in loco* and in the laboratory using a probe with infrared sensor. Likewise, CO₂ flow varies depending on the digging activity carried out by workers. For this, mining waste samples mixed with previously prepared fertile substrate were used to obtain the different concentrations (0, 25, 50, 75 and 100%). An airtight digging chamber (containing soil) with a CO₂ probe attached was used. In the first three hours, the CO₂ emission from soil was measured, and in the next three hours, CO₂ emission from soil was measured with the presence of 30 workers from different colonies (n = 50). The flow of CO₂ in loco (Barra Longa - MG) did not vary in relation to the distances to the Gualaxo river. The same was verified in CO₂ flow did not vary depending on the amount of soil excavated (g), for any concentration of mining waste, despite the weight of soil excavated by workers of *A. subterraneus* was lower in soil with 100%. From this results, it is possible that *A. subterraneus* could prejudice the revegetation project due to herbivory and build nests close to the places affected by the disaster. To ensure the maintenance and success of revegetation projects, it is recommended to monitor and control these leaf cutting ants and also to use fertilizers in the soils affected by the disaster.

Keywords: Digging, Herbivory, Leaf-cutting ants, Mining waste, Samarco.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Leaf discs transport likelihood increase according to mining waste concentration, on the two familiarity phases (Unknown and Known) of the selection process 24
- Figura 2.** *Bauhinia rufa* leaf thickness of plants grown in soil with different mining waste concentrations 24
- Figura 3.** *Bauhinia rufa* leaf water content of plants grown in soil with different mining waste concentrations 25
- Figura 4.** *Bauhinia rufa* leaf starch content of plants grown in soil with different mining waste concentrations 26
- Figura 5.** *Bauhinia rufa* leaf TSC content of plants grown in soil with different mining waste concentrations 26

CAPÍTULO 2

- Figura 6.** Esquema do sistema de circulação de ar para o experimento de escavação 41
- Figura 7.** Figura 1. Variação dos valores de CO₂ no ambiente onde foi realizado os experimentos de escavação, obtidos pelo analisador de gases micro portátil (GGA-918, Los Gatos Research) 42
- Figura 8.** Figura 2. Fluxo de CO₂ mensurado no solo a diferentes distâncias do rio Gualaxo (Barra Longa – MG). Os valores de 1 a 5 exibidos no eixo x representam o gradiente crescente de afastamento do rio e consequentemente a concentração do rejeito de mineração no solo 43
- Figura 9.** Figura 3. Massa de solo escavado pelas operárias de *Acromyrmex subterraneus* em solo com diferentes concentrações de rejeito de mineração 44
- Figura 10.** Figura 4. Fluxo de CO₂ em relação a massa do solo escavado pelas formigas e as diferentes concentrações de rejeito de mineração 44
- Figura 11.** Modelo teórico para explicar o fluxo de CO₂ negativo registrado nas réplicas de escavação do solo pelas operárias de *Acromyrmex subterraneus* 46

SUMÁRIO

1	Introdução geral	12
1.1	Referências bibliográficas...	14
2	– Capítulo 1. Does the mining waste concentration interferes with leaf selection by <i>Acromyrmex subterraneus</i> ?	17
2.1	– Abstract	17
2.2	– Introduction	18
2.3	– Methods...	20
2.4	– Results...	23
2.5	– Discussion	27
2.6	– References	29
3	– Capítulo 2. Fluxo de CO ₂ e atividade de escavação de <i>Acromyrmex subterraneus</i> em solo com diferentes concentrações de rejeito de mineração	37
3.1	– Resumo	37
3.2	– Introdução	38
3.2	– Material e métodos.	39
3.3	– Resultados.	43
3.4	– Discussão	45
3.5	– Referências.	47
4	Considerações Finais	51

INTRODUÇÃO GERAL

O maior desastre ambiental do Brasil ocorreu em novembro de 2015 com o rompimento da barragem de Fundão (Mariana-MG), sob responsabilidade da mineradora Samarco, que provocou graves impactos socioeconômicos e ambientais na macro e microrregião. O rompimento da barragem liberou cerca de 50 milhões de m³ de lama contendo rejeito de mineração no ambiente, afetando diretamente a bacia do Rio Doce (Marta-Almeida et al., 2016; de Oliveira Gomes et al., 2017). Essa lama atingiu a altura de 15 metros, assolando construções, áreas de plantio e vegetação nativa e soterrando o Distrito de Bento Rodrigues (Vitória, 2019).

Segundo a Embrapa (2015), a sedimentação dos rejeitos de mineração interfere diretamente nos processos de infiltração de água, circulação de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, germinação de sementes e desenvolvimento das raízes no solo afetado. Tal cenário demanda urgentes e prioritárias ações para recuperação do solo e da biodiversidade. Dessa forma, a revegetação tem um papel estratégico na recuperação da biodiversidade, no enriquecimento do solo, no sequestro de carbono atmosférico, na preservação da qualidade da água e no controle de erosões (Almeida & Sanchez, 2005; Ataíde et al., 2011).

As plantas selecionadas para a revegetação devem apresentar baixa taxa de mortalidade, altas taxas de produção de sementes e de fixação de nutrientes no solo. Além disso, devem ser tolerantes às restrições químicas, físicas e biológicas do solo provocadas pela contaminação com o rejeito (Graham & Vance, 2000; de Araújo et al., 2005). Plantas que atendem bem a esses requisitos são pertencentes às famílias *Poaceae* e *Fabaceae* (Rodrigues et al., 2004; Silva & Corrêa, 2008; Teixeira et al., 2015).

No processo de implementação da vegetação, a presença e ataque de herbívoros é preocupante desde as fases iniciais até a fase final do primeiro ciclo vegetativo. De acordo com Mattei (1997), caso os herbívoros não sejam controlados, sua ação de desfolhamento pode causar desuniformidade na área revegetada.

Uma das principais causas de desfolhamento é proveniente da ação de formigas cortadeiras, representadas pelos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Myrmicinae, Attini), pois cortam grandes quantidades de material vegetal fresco, o qual é transportado para o interior da colônia e utilizado para o cultivo do fungo simbiote (Hölldobler & Wilson, 1990; Della-Lúcia & Oliveira, 1993). A adequabilidade do substrato vegetal ao cultivo do fungo simbiote é determinante na seleção de folhas por formigas cortadeiras (Saverschek et al., 2010), embora também devam ser considerados os fatores da abundância, distribuição espaço-

temporal e diversidade da vegetação na área (Farji-Brener, 2001; Lanan, 2014). Destaca-se que a discriminação, e consequente seleção de folhas, pode ocorrer ao nível intraespecífico e até mesmo entre folhas da mesma planta (Meyer et al., 2006; Ribeiro Neto et al., 2012).

Outro fator importante na modulação do comportamento de seleção de folhas é o efeito novidade que se caracteriza pela alta atratividade das operárias por recursos alimentares não familiares (Roces & Hölldobler, 1994), assim espécies vegetais utilizadas em programas de revegetação podem se tornar o principal alvo.

Por outro lado, formigas cortadeiras exercem um papel positivo fundamental no ambiente, como agentes protagonistas do aumento do intemperismo no solo (Schwartzman, 2002; Dorn, 2014), em função da escavação de ninhos subterrâneos. Os ninhos são constituídos por câmaras, nas quais operárias cultivam o fungo simbiote e abrigam ovos, larvas, pupas e rainha, câmaras de lixo e de solo, as quais são conectadas por túneis que conduzem à superfície do solo (Moreira et al., 2004ab; Verza et al., 2007; Lopes et al., 2011). Toda essa atividade de escavação enriquece o solo pois promove a ciclagem de nutrientes, descompactação e aeração, aumenta a infiltração da água, além de reduzir as taxas de erosão (Moutinho et al., 2003; Leite et al., 2018). A colonização do solo por formigas pode regular os processos de revegetação, haja vista que, a curto prazo, sua presença cria e mantém alta heterogeneidade nos nutrientes do solo e a longo prazo, ativam o crescimento microbiano estimulando assim o desenvolvimento das plantas (Lu et al., 2019).

É evidente que formigas cortadeiras apresentam um duplo papel durante o processo de recuperação de áreas afetadas por desastres ambientais, como o ocorrido na Barragem do Fundão-MG. Devido às altas taxas de herbivoria, podem limitar o sucesso da revegetação, em especial na fase de plantio das mudas. Por outro lado, devido ao importante papel no enriquecimento do solo, contribuem para o sucesso de projetos de revegetação.

A presente dissertação é constituída por dois capítulos. O primeiro refere-se ao artigo submetido à revista “*Biotropica*”, no qual verificou-se o efeito das diferentes concentrações de rejeito de mineração na seleção foliar de *Bauhinia rufa* pela formiga cortadeira *Acromyrmex subterraneus* (Forel, 1893). Já o segundo capítulo, também nas normas da revista “*Biotropica*”, avaliou a variação do fluxo de CO₂ no solo *in loco* e em laboratório, em função da atividade de escavação realizada pelas formigas nas diferentes concentrações de rejeito de mineração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, R., and L. Sánchez. 2005. Revegetação de áreas de mineração: critérios de monitoramento e avaliação do desempenho / Monitoring and evaluating performance of mining revegetation. *Revista Arvore* 29: 47-54.
- Ataide, E. S., P. D. A. Castro, and G. W. Fernandes. 2011. Floristic and characterization of the rupestrian ferruginous field area in the alegria complex mining, Serra de Antonio Pereira, Ouro Preto, Minas Gerais, Brazil. *Revista Arvore* 35: 1265-1275.
- de Araújo, F. S., S. V. Martins, J. A. A. M. Neto, and J. L. Lani. 2005. Floristic of shrub - tree vegetation colonizing an area degraded by kaolin mining, in Brás Pires, MG. *Revista Arvore* 29: 983-992.
- Della Lucia, T. M. C., and P. S. Oliveira. 1993. Forrageamento. In T. M. C. Della Lucia (Ed.). *As formigas cortadeiras*, pp. 84-105, Folha de Viçosa.
- Dorn, R. 2014. Ants as a powerful biotic agent of olivine and plagioclase dissolution. *Geology* 42: 771-774.
- Embrapa. 2015. Avaliação dos impactos causados ao solo pelo rompimento de barragem de rejeito de mineração em Mariana, MG: Apoio ao plano de recuperação agropecuária *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*.
- Farji-Brener, A. G. 2001. Why are leaf-cutting ants more common in early secondary forests than in old-growth tropical forests? An evaluation of the palatable forage hypothesis. *Oikos* 92: 169-177.
- Gomes, L. E. D., L. B. Correa, F. Sa, R. R. Neto, and A. F. Bernardino. 2017. The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 120: 28-36.
- Graham, P. H., and C. P. Vance. 2000. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crop. Res.* 65: 93-106.
- Hölldobler, B., and E. O. Wilson. 1990. The ants, *Harvard University Press*.
- Lanan, M. 2014. Spatiotemporal resource distribution and foraging strategies of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol. News* 20: 53-70.
- Lopes, J. L., Ribeiro, M. Brugger, R. Camargo, and L. Forti. 2011. Internal Architecture and Population Size of *Acromyrmex subterraneus molestans* (Hymenoptera, Formicidae) Nests: Comparison Between a Rural and an Urban Area. *Sociobiology* 58: 593-695.

- Lu, M., S. J. Wang, Z. Zhang, M. K. Chen, S. H. Li, R. Cao, Q. B. Cao, Q. Q. Zuo, and P. Wang. 2019. Modifying effect of ant colonization on soil heterogeneity along a chronosequence of tropical forest restoration on slash-burn lands. *Soil Tillage Res.* 194: 9.
- Marta-Almeida, M., R. Mendes, F. N. Amorim, M. Cirano, and J. M. Dias. 2016. Fundao Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident. *Mar. Pollut. Bull.* 112: 359-364.
- Mattei, V. L. 1997. Physical shelters evaluation in field direct sowing of *Pinus taeda* L. *Ciência Florestal* 7.
- Moreira, A. A., L. C. Forti, A. P. P. Andrade, M. A. C. Boaretto, and J. F. S. Lopes. 2004a. Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera : Formicidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 39: 109-116.
- Moreira, A. A., L. C. Forti, M. A. C. Boaretto, A. P. P. Andrade, J. F. S. Lopes, and V. M. Ramos. 2004b. External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera : Formicidae) nests. *J. Appl. Entomol.* 128: 204-211.
- Moutinho, P., D. Nepstad, and E. Davidson. 2003. Influence of leaf-cutting ant nests on secondary forest growth and soil properties in Amazonia. *Ecology* 84: 1265-1276.
- Roces, F., and B. Hölldobler. 1994. Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta cephalotes*. *Oecologia* 97: 1-8.
- Rodrigues, J. E. L. F., R. N. B. Alves, O. M. N. Lopes, R. N. G. Teixeira, and E. S. Rosa. 2004. A importância do feijão de porco (*Canavalia ensiformis* DC) como cultura intercalar em rotação com milho e feijão caupi em cultivo de coqueirais no município de Ponta-de-Pedras/Marajó-PA. *Embrapa Amazônia Oriental - Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*: 4.
- Saverschek, N., H. Herz, M. Wagner, and F. Roces. 2010. Avoiding plants unsuitable for the symbiotic fungus: learning and long-term memory in leaf-cutting ants. *Anim. Behav.* 79: 689-698.
- Schwartzman, D. 2002. Life, Temperature, and the Earth: The Self Organizing Biosphere, *Columbia University Press*.
- Silva, L. D. C. R., and R. S. Corrêa. 2008. Sobrevivência e crescimento de seis espécies arbóreas submetidas a quatro tratamentos em área minerada no cerrado. *Revista Árvore* 32.
- Teixeira, P. C., I. L. Mesquita, S. T. Macedo, and W. G. Teixeira. 2015. Resposta de vetiver à aplicação de calcário e fósforo em três classes de solo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 19: 99-105.

Verza, S. S., L. C. Forti, J. F. S. Lopes, and W. O. H. Hughes. 2007. Nest architecture of the leaf-cutting ant *Acromyrmex rugosus rugosus*. *Insect. Soc.* 54: 303-309.

Vitória, F., B. Bandini, E. Rachid, and J. Almeida. 2019. Desastre ambiental da barragem de fundão, Mariana, MG - Análise de impactos socioambientais. *Revista Internacional de Ciências* 9.

CAPÍTULO 1 - Does mining waste concentration in the soil interfere with leaf selection by *Acromyrmex subterraneus* (Formicidae)?

ABSTRACT: Revegetation programs are proposed to recover the soil and biodiversity of disturbed sites, this being the case of the Rio Doce basin, Brazil. This region was hugely affected by a mining waste dam disruption, whose leakage on the soil altered its chemical and physical characteristics, and consequently the plants. The expected alterations of the plants can make them more attractive for leaf cutting ants, as lower water content induces an increase of non-structural carbohydrates. In this context, we evaluated whether *Acromyrmex subterraneus* workers differentiate among plants grown on soil with different mining waste concentrations. Leaf discs from plants grown in soil containing 0, 25, 50, 75 and 100% of mining waste were simultaneously offered to ant colonies in a foraging arena. The number of transported discs from each mining waste concentration was recorded until all discs of any concentration had been transported. Leaf selection assays were repeated after 30 days due to the novelty effect phenomenon. Leaf thickness, water, starch and total soluble carbohydrate contents were determined. Leaf discs from plants grown in soil with 100% of mining waste concentration were preferentially selected in both selection assays. Leaf thickness and water content were significantly lower in plants from the aforementioned treatment, while starch and total soluble carbohydrates were higher. Results suggest that seedlings implanted in sites with high mining waste concentration are under high predation risk. Revegetation programs must measure the impact of leaf cutting ants as both herbivorous and soil ecosystem engineers, for the best management of these insects.

Keywords: *Bauhinia rufa*, Leaf-cutting ants, Mine tailings, Revegetation, Fundão dam disaster.

1 | INTRODUCTION

Revegetation programs aim to assist the environmental restoration process in disturbed areas. By promoting the recovery of the local flora and fauna diversity, soil enrichment, erosion control, organic carbon sequestration and maintenance of water quality, these programs speed up the establishment of forests (Almeida & Sánchez, 2005; Ataíde, Castro, & Fernandes, 2011; Oliveira, 2014). Plant species selected for revegetation must be tolerant to the chemical, physical and biological restrictions of disturbed soils (Araújo, Martins, Neto, & Lani, 2005; Graham & Vance, 2000), especially those contaminated by mining waste.

In November 2015, the Rio Doce basin was affected by the disruption of the Fundão mining waste dam in Mariana, Minas Gerais, Brazil. The dam breached and has released about 50 million m³ of mud with mining waste along the Rio Doce basin (Gomes, Correa, Sa, Neto, & Bernardino, 2017). The mining waste mud caused great environmental damage, with a considerable loss of vegetation (Fernandes et al., 2016) and local fauna diversity (Carmo et al., 2017). To mitigate the impact of the disaster, a revegetation program was initiated in January 2015 (Prado et al, 2019).

The mining waste mud composition was determined in order to verify the chemical alterations of the soil. A significant increase of particulate matter levels of Fe, Al, Mn, Cu, and Cr was found (Segura et al., 2016; Silva et al., 2016). Also, the level of As in contaminated soil samples was above the prevention value (CONAMA, 2009), but this element has natural anomalous background levels in the soil of the Iron Quadrangle region (Guerra et al., 2017). Toxicological *Allium cepa* bioassays made with chemical elements present in contaminated soil samples from the same disaster verified cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects and also reduced germination and mitotic indexes (Segura et al., 2016). On the other hand, although several tissues from plants of affected areas have increased content of Fe, Mn, Cu, and Cr, contamination by hazardous elements (Pb, Cd, As) has not been verified (Coelho et al., 2020).

The physical characteristics of the soil are also altered due to the sedimentation of the mining waste, that directly interferes with soil compaction. The Fundão dam retained particles of smaller granulometry (silt) of the mining waste (Thomé & Passini, 2018), which filled the porous space of the soil after the disaster, hindering water infiltration and nutrient circulation, as well as organic matter decomposition, seed germination, root development and seedling survival (Embrapa, 2015; Queiroz-Voltan, Nogueira, & Miranda, 2000; Segura et al., 2016; Silva et al., 2016; Taylor & Brar, 1991). This physical alteration of the soil is a bottleneck for the implementation of vegetation recovery strategies in the area, as it could cause a water

deficit in implanted seedlings and also inhibits their development, even of those with rapid growth, a sought characteristic for plant species used in revegetation programs.

The herbivore attack is another factor that negatively affects the survival of the seedlings implanted in degraded areas (Plath, Mody, Potvin, & Dorn, 2011), even in habitats without mining waste, especially because fast growing plant species have difficulty to produce defenses (see Huot, Yao, Montgomery, & He, 2014, for ‘growth–defense tradeoff’ phenomenon review). Often these species produce induced defenses through low concentrations of highly potent, qualitative compounds (e.g., alkaloids, cardenolides, glucosinolates), whose production could be restricted by the availability of chemical elements in the soil (Kempel, Schadler, Chrobock, Fischer, & van Kleunen, 2011). Therefore, plants growing in soil contaminated with mining waste experience water and nutrient deficiency, hindering their development (Cruz, Gomes, Bicalho, Della Torre, & Garcia, 2020; Guittonny-Larchevêque, Bussière, & Pednault, 2016) and making them more susceptible to herbivores.

One of the main causes of failure in revegetation programs in Brazil comes from the action of leaf-cutting ants, represented by *Atta* and *Acromyrmex* (Myrmicinae, Formicidae) (Coan et al., 2004; Costa, Vasconcelos, & Bruna, 2017; Fleury, Silla, Rodrigues, do Couto, & Galetti, 2015; Knoechelmann et al., 2020; Leal, Wirth, & Tabarelli, 2014; Lima Júnior, Ferreira, Dias, Corrêa, & da Silva, 2019). The damage caused by these ant species limits the establishment of seedlings due the high defoliation rate (Costa et al., 2017). Leaf cutting ants are the most abundant herbivore in forest edges and small fragments of different phytophisionomies (da Silva, Silva, Ribeiro-Neto, Wirth, & Leal, 2018; Siqueira et al., 2017, 2018; Wirth, Meyer, Leal, & Tabarelli, 2008). In disturbed habitats their abundance and action as herbivores is even more prominent (Costa, Vasconcelos, Vieira-Neto, & Bruna, 2008; Leal et al., 2014), as they are less attacked by predators (Wirth et al., 2008) and parasitoids (Almeida, Wirth, & Leal, 2008). Also leaf cutting ants prefer pioneer species with fewer chemical defenses (Falcão, Pinto, Wirth, & Leal, 2011; Silva et al., 2013) which are common in these areas.

Leaf-cutting ants have a refined capacity for chemical perception of plant characteristics. Thus, they are able to obtain information about the quality of the plant resource, its energetic value, the amount of water (Meyer, Roces, & Wirth, 2006; Ribeiro-Neto, Pinho, Meyer, Wirth, & Leal, 2012) and its nutrient content, such as starch and total soluble carbohydrate (TSC) (Ribeiro-Neto, Pinho, Meyer, Wirth, & Leal, 2012; Richard, Mora, Errard, & Rouland, 2005). All these characteristics are crucial at the leaf selection

process, in which drought stressed leaves with increased nutrient contents are preferred (Blanton & Ewel, 1985; Meyer, Roces, & Wirth, 2006; Mundim, Costa, & Vasconcelos, 2009; Ribeiro-Neto, Pinho, Meyer, Wirth, & Leal, 2012; Vasconcelos & Cherrett, 1996).

Ant colonies of both genera have a high population density and use the mass recruitment system as foraging strategy that ensures the cutting and massive transport of fresh plant material into the colony (Costa et al., 2008; Roces, 2002; Urbas, Araújo, Leal, & Wirth, 2007). While foraging, ant workers engage in a selection process in which both chemical and physical properties of the leaves play a very important role.

The leaf selection occurs at two levels: (a) colonial, taking into account the distance between the resource and the demands of the colony population, including the symbiotic fungus nutrition; (b) individual, in which the forager worker must meet its nutritional needs and, therefore, is influenced by its experience in food resource exploration and recognition (Lopes, Forti, & Camargo, 2004; Roces, 1994, 2002). Learning and memory also play an important role at the foraging process, integrating a self-organized system in which the collective response is shaped to promote high efficiency at both colonial and individual levels (Falibene, Roces, & Rossier, 2015).

The novelty effect is another important factor that modulates the leaf selection process. Unfamiliar food sources are highly attractive, and therefore preferred by leaf-cutting ants (Camargo, Lopes, Forti, de Matos, & de Andrade, 2003; Roces & Hölldobler, 1994). The preference for unfamiliar plant species could take place even for plants unsuitable for the symbiotic fungus, as they are rejected only after having been previously accepted, due to the delayed rejection phenomenon (Saverschek & Roces, 2011).

So, if seedlings suffer chemical and physical alterations due the mining waste in the soil, they could become more attractive to leaf-cutting ants, either because of the lesser quantity of water or by chemical differences, what would compromise especially the implementation phase of the revegetation program. In this context, we aimed to evaluate whether *Acromyrmex subterraneus* (Forel, 1893) workers are able to differentiate among plants grown under different mining waste concentrations on the soil, since these different soil conditions alter chemical and physical characteristics of plants. Obtained data is relevant to preview the impact of leaf cutting ants over the revegetation program.

2 | METHODS

2.1 | Species of study and maintenance of colonies

The experiment was conducted in MirmecoLab at Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Brazil, under controlled conditions of temperature and relative humidity ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ and $75 \pm 5\%$ R.H.). We used 10 colonies of *A. subterraneus* collected in December 2016, and kept in a closed system composed of three compartments interconnected by transparent plastic tubes, corresponding to: foraging arena, fungus chamber and waste chamber. The fungus chamber contained a 1 cm layer of plaster at the bottom to maintain the moisture for the symbiotic fungus. All colonies had approximately 200 cm³ of fungus garden. *Acalypha wilkesiana* Müll.Arg. (Euphorbiaceae) leaves were provided daily to the colonies. Colonies were leaf-deprived for 24 hours prior to the experimental assays.

2.2 | Plant cultivation and leaf discs preparing

Seeds of *Bauhinia rufa* (Bong.) Steud. (Fabaceae) from the Plant Physiology Laboratory at UFJF, were germinated in Carolina Soil® substrate, composed by *Sphagnum* peat moss, expanded vermiculite, dolomitic limestone, agricultural plaster and traces of NPK fertilizer. After germination, the seedlings were transferred to 25 L pots with eutrophic substrates at different concentrations. The substrate consisted of a mixture of soil (latosol type, topsoil layer) and sand (1.5:1 by volume). To this mixture, it was added a chemical fertilizer, Forth Frutas®, composed by 12% N, 5% P₂O₅, 15% K₂O, 1% Ca, 1% Mg, 5% S, 0.2% Zn, 0.2% Fe, 0.05% Cu, 0.06% B, 0.08% Mn and 0,005% Mo (1 g fertilizer/L substrate) and an acidity corrector, AgroSilício®, composed by 36% CaO and 9% MgO (2 g acidity corrector/L substrate). Mining waste from Fundão dam was then mixed at different concentrations to the eutrophic substrate by volume: 0, 25, 50, 75 and 100%, using a concrete mixer. The mining waste was collected at the Risoleta Neves hydroelectric power plant's dam, located in the Santa Cruz do Escalvado municipality and stored in a greenhouse at UFJF for two months before the seedlings were planted. About 10.5 million m³ of mining waste from Fundão dam was retained at the reservoir of this hydroelectric (RAMBOLL, 2019).

Plant specimens were kept in the greenhouse since its germination in August 2017. After 13 months, five individuals grown in each mining waste concentration were chosen for the experimental assays. *Bauhinia rufa* was chosen because it is a native species, has the plant characteristics required for revegetation programs, and is suited to fungus cultivation by leaf cutting ants.

Leaves from plants grown at different mining waste concentrations were collected for the experimental assays, and cut in 0.5 cm diameter discs using a metal punch avoiding the leaf's veins. Each leaf disc was marked with a color corresponding to each mining waste concentration, using permanent markers (Edding®) (Camargo, Forti, Lopes, Andrade, &

Ottati, 2007). Both sides of the discs have been marked to allow their identification when transported.

2.3 | Effect of mining waste concentration on leaf selection

To verify whether the waste concentration in the soil influences the selection of plants, leaf selection assays were performed. Each ant colony was connected by a glass bridge (50 x 3 cm) to a foraging arena containing 10 leaf discs of one plant individual from each mining waste concentration (total of 50). The discs were randomly arranged in a semicircle form and the assay was started by opening the connection between the colony and the bridge. For each assay, the number of transported discs from each mining waste concentration was recorded until all discs of any concentration had been transported

This procedure was repeated five times in each colony, thus each plant was tested only once by colony, and all plants were tested in all colonies. This constituted the first phase, called "Unknown", of the selection process' evaluation, which lasted 17 days.

The second phase, named "Known", followed the same experimental procedures adopted for the Unknown phase. It took place 30 days later to consider the novelty effect, and lasted 19 days. The time lapse between the Unknown and Known phases is related to the workers' estimated average lifetime of 90 days (Camargo et al., 2007). During these 30 days, colonies were treated with *A. wilkesiana* leaves.

2.4 | Leaf analysis

The thickness of the *B. rufa* leaves was measured from plants kept in the greenhouse with a digital caliper gauge, using 3 fresh leaves from 5 plants of each mining waste concentration (total of 75 leaves). The thickness of the leaves was determined in points without veins.

The water content of leaves was determined using 150 fresh leaf discs, being 10 discs from 3 plants of each mining waste concentration. Leaf discs were immediately weighed, to determine the fresh weight (FW), then oven-dried at 80°C for 48 hours and weighed again to determine the dry weight (DW). Leaf water content was calculated by taking the difference between the FW and DW, and dividing it by FW (Garnier & Laurent, 1994; Shipley, 1995).

Total soluble carbohydrates (TSC) and starch content were determined by spectrophotometry, using the method proposed by DuBois, Gilles, Hamilton, Rebers, and Smith (1956) and modified by Shimizu (2009). Thirteen fresh leaves were used, being 2 leaves from 3 plants of each mining waste concentration. Extractions were performed using samples with 0.05 g FW, homogenized in ethanol 80%. The samples were centrifuged and had their residue separated from the supernatant. From the supernatant, the TSC was measured using the anthrone method (Shimizu, 2009).

From the TSC extraction residue, the starch content was determined. The TSC extraction residue was re-suspended in perchloric acid (30%) for 30 min, followed by centrifugation. Starch content was also determined by the anthrone method (Shimizu, 2009).

In both TSC and starch content analyses, a standard glucose curve was used for calibration and the absorbance was determined at 620 nm. All extract concentrations were expressed as mg of substance per g of FW.

2.5| Statistical analysis

The proportion of transported discs of each mining waste concentration was calculated and the data was submitted to a general linear mixed model (GLMM), using binomial distribution. Explanatory variables were the mining waste concentration and evaluation phase (Unknown, Known). The colony was considered as the random variable.

To analyze the effect of mining waste concentration over water content, thickness, TSC and starch of leaves, GLMMs using the Gamma distribution family were applied. The plant individual was used as the random factor.

All analyses were done using the software R 3.6.0 (R Core Team, 2019) with the packages nlme (Pinheiro, Bates, DebRoy, Sarkar, & Team, 2012), lme4 (Bates, Machler, Bolker, & Walker, 2015), lattice (Sarkar, 2008) and multcomp (Hothorn, Bretz, & Westfall, 2008). For the elaboration of the graphs, ggplot2 (Wickham, 2016) and ggpubr (Kassambara, 2019) were used.

3 | RESULTS

It was registered that the likelihood of leaf disc transport increased according to the mining waste concentration, on other words the higher the mining waste concentration on leaves, the higher their likelihood of transport ($Z = 3.83$, $P < 0.0001$). Leaf discs from 100% mining waste concentration were preferentially transported in both phases (Unknown and Known), but the overall likelihood of leaf disc transport was higher at the Known phase ($Z = -6.03$, $P < 0.0001$). A significant interaction between mining waste concentration and phases was verified ($Z = 2.71$, $P = 0.006$), indicating that after the first contact with the plant substrate, the ants were more likely to transport leaf discs from lower mining waste concentration (Figure 1).

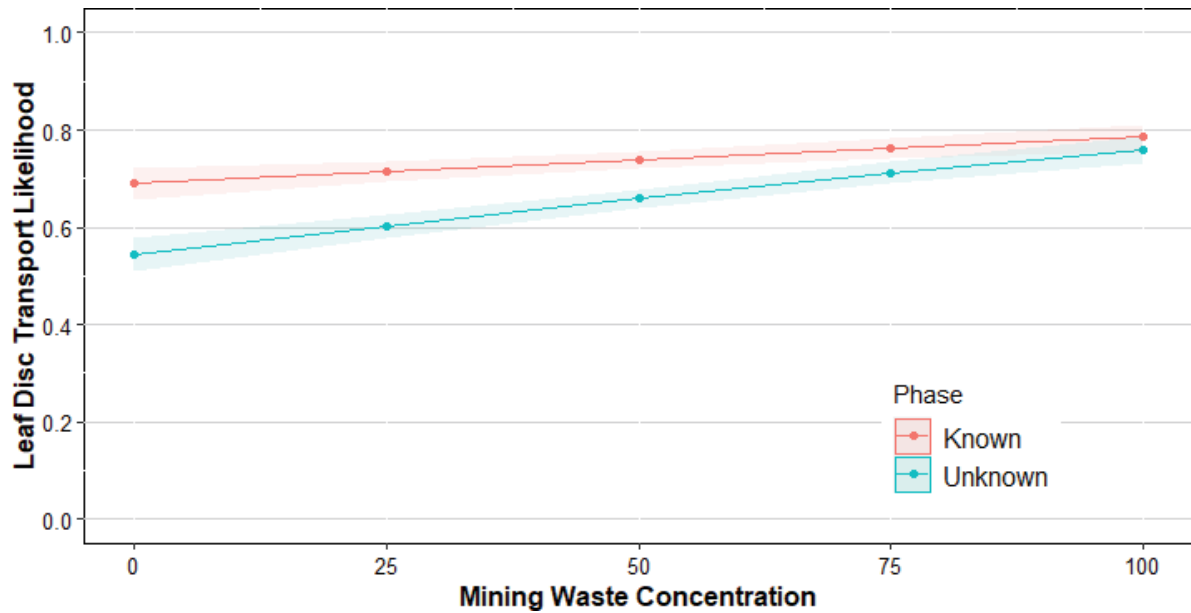


Figure 1. Likelihood of transport of leaf discs from plants grown at different mining waste concentrations, in the two phases (Unknown and Known) of the leaf selection experiment.

Bauhinia rufa leaf thickness was smaller for plants grown at 100% ($t = -3.84$, $P = 0.0001$) and 25% ($t = -2.43$, $P = 0.015$) of mining waste in comparison with control plants (0% of mining waste concentration). In average, leaves from plants grown at 100% were 15% thinner than at 0% of mining waste concentration (Figure 2). There was no significant reduction of leaf thickness from plants grown at 50% ($t = 0.88$, $P = 0.38$) and 75% ($t = -1.34$, $P = 0.18$) of mining waste concentration.

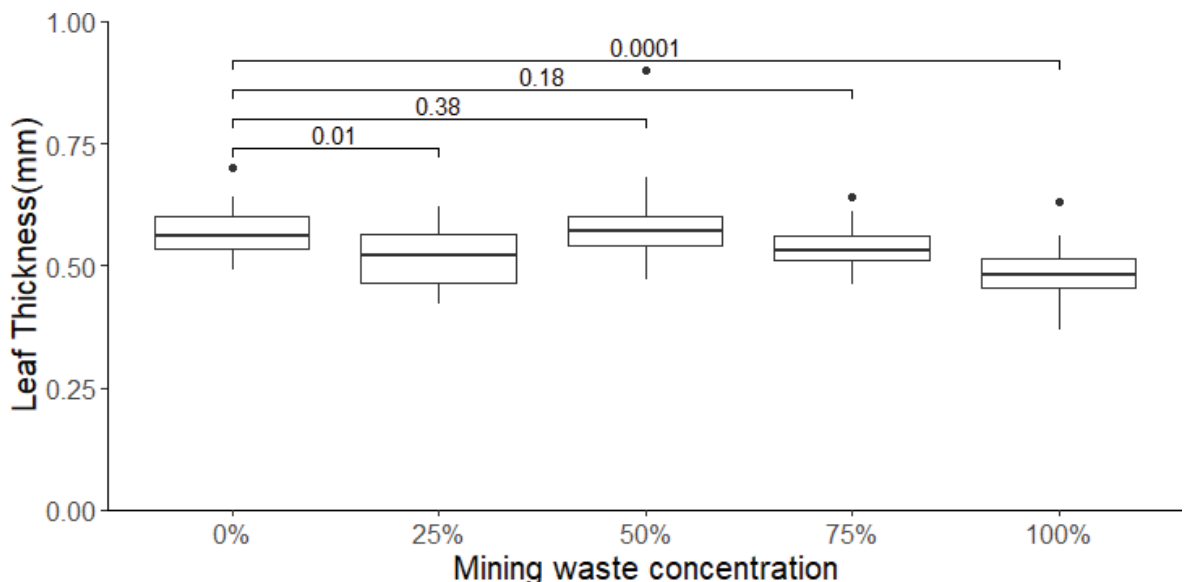


Figure 2. Leaf thickness of *Bauhinia rufa* plants grown in soil with different mining waste concentrations. The boxplots represent median and percentiles, the whiskers represent the minimum and maximum values and points represent the outliers. GLMM p -values are indicated above the horizontal brackets.

Leaf water content of plants grown at 100% mining waste concentration was about 30% lower in comparison with those grown at 0% ($t = -3.03$, $P = 0.002$). This reduction was not verified for leaves at 75% ($t = -0.21$, $P = 0.83$), 50% ($t = -1.23$, $P = 0.22$) and 25% ($t = -1.61$, $P = 0.11$). This result suggests that plants grown at the highest mining waste concentration were in hydric deficit (Figure 3).

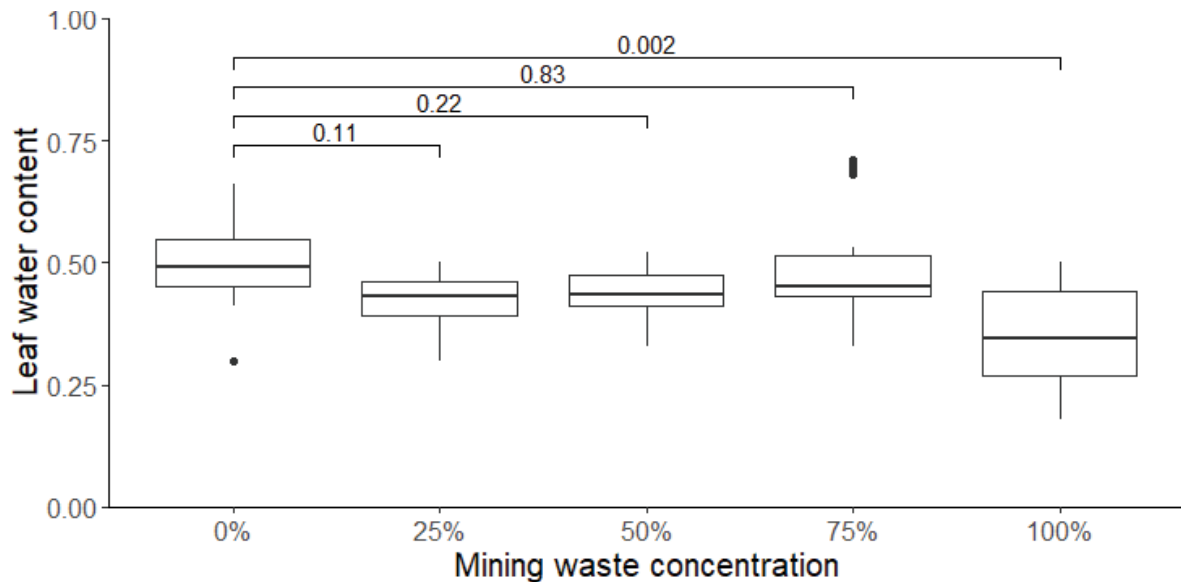


Figure 3. Leaf water content of *Bauhinia rufa* plants grown in soil with different mining waste concentrations. The boxplots represent median and percentiles, the whiskers represent the minimum and maximum values and points represent the outliers. GLMM p -values are indicated above the horizontal brackets.

Leaf starch content of plants grown at 100% mining waste concentration was in average 42% higher than from those grown at 0% ($t = -2.49$, $P = 0.012$). Also, a significant increase of starch content was verified in leaves at 75% ($t = -2.17$, $P = 0.029$) and at 50% ($t = -2.24$, $P = 0.025$) of mining waste concentration. Leaves from plants grown at 25% of mining waste concentration did not differ from the control ($t = -1.76$, $P = 0.08$) (Figure 4).

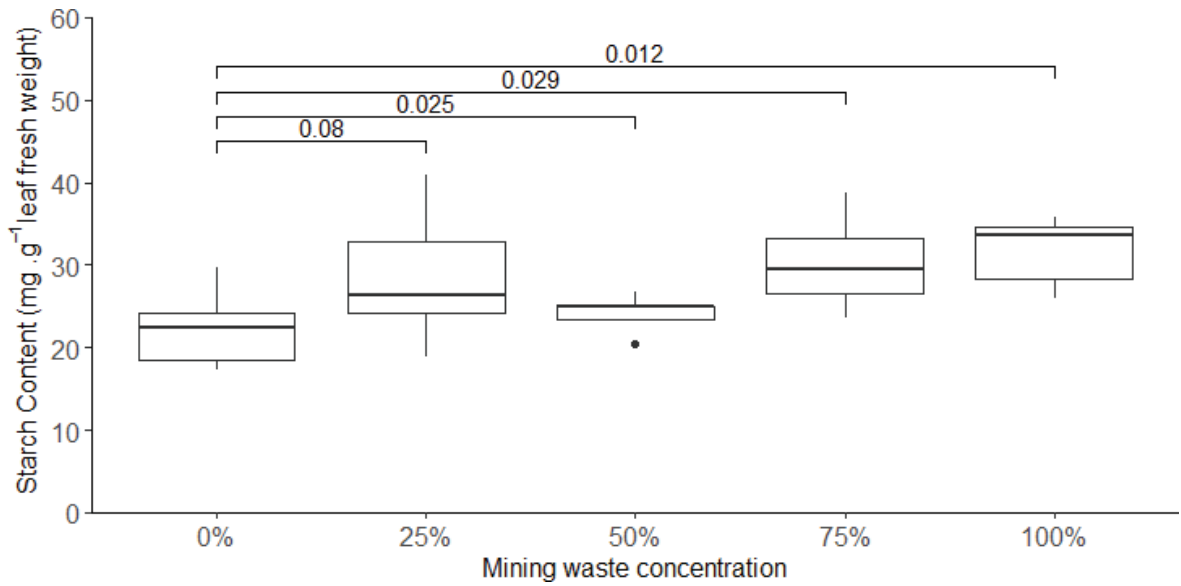


Figure 4. Leaf starch content of *Bauhinia rufa* plants grown in soil with different mining waste concentrations. The boxplots represent median and percentiles, the whiskers represent the minimal and maximal values and points represent the outliers. GLMM p -values are indicated above the horizontal brackets.

Similar results were registered in relation TSC, being verified a significant increase of leaf TSC content of plants grown at 100% ($t = 4.36$, $P < 0.0001$), 75% ($t = 4.09$, $P < 0.0001$) and 50% ($t = 2.73$, $P = 0.006$) of mining waste concentration in relation to the control plants (0%) (Figure 5). The average increase of leaf TSC content of plants raised in soils with 100% and 75% of mining waste concentration was of about 44% in relation to control plants.

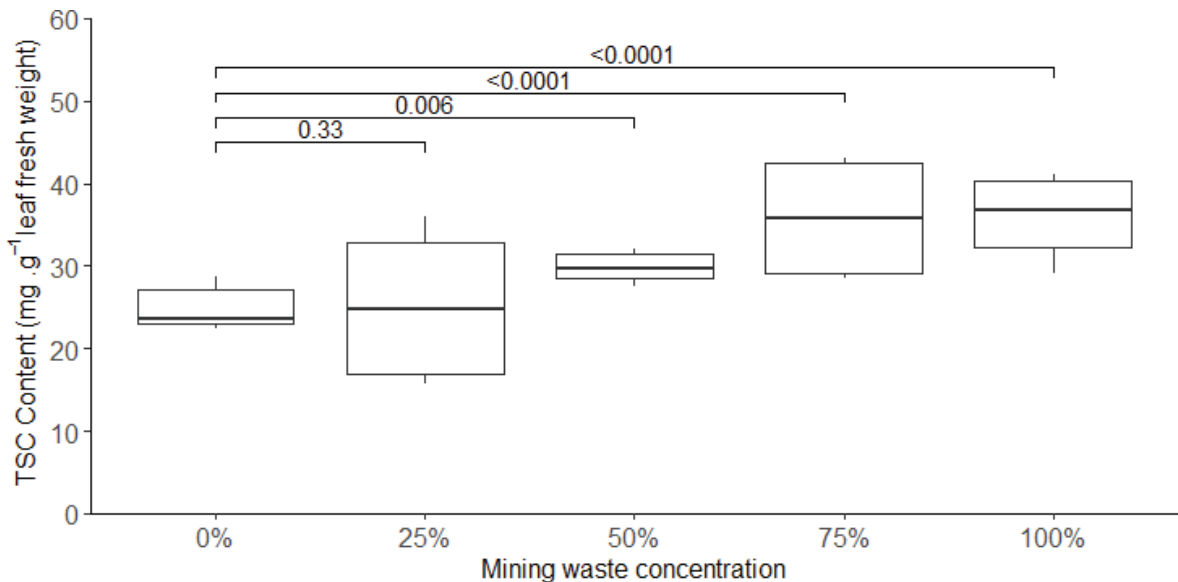


Figure 5. Leaf TSC content of *Bauhinia rufa* plants grown in soil with different mining waste concentrations. The boxplots represent median and percentiles, the whiskers represent

the smallest and largest values and points represent the outliers. GLMM *p*-values are indicated above the horizontal brackets.

4 | DISCUSSION

Acromyrmex subterraneus workers preferentially transported leaves from plants grown in soil with 100% of mining waste concentration, both when the plant substrate was unknown and after first contact (Unknown and Known familiarity phases). These preferentially transported leaves had the lowest water content and thickness, along with higher starch and TSC contents. Such chemical and physical alterations, which were probably caused by the high concentration of mining waste on the soil, explain the selection made by ants. It was important to consider the possibility that the novelty effect could mask the influence of the mining waste on the leaf selection. By evaluating this process in two phases, it is certain that the preference for leaves from 100% is consistent, and not due to the novelty effect.

Reductions in both leaf water content and leaf thickness of plants grown at 100% of mining waste concentration were probably caused by water deficit. Mining waste interferes with physical properties of the soil (Silva et al., 2016) and so with root development, that in turn affects the uptake of H₂O and nutrients by plant roots (Andrade et al., 2018). Other plant species also raised in soil with high concentration of mining waste from the Fundão dam showed low development, such as *Oryza sativa* (Andrade et al., 2018), *Chrysopogon zizanioides*, *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon winterianus* from Poaceae (Zago, das Dores, & Watts, 2019), *Albizia polycephala* and *Peltophorum dubium*, both from Fabaceae, and *Cybistax antisiphilitica*, *Handroanthus heptaphyllus* and *Handroanthus impetiginosus* from Bignoniaceae (Cruz et al., 2020).

Thus, why did *A. subterraneus* workers select leaf discs from plants grown in soil with higher mining waste concentration? These *B. rufa* leaves had lower water content and were thinner than the others, probably due to the water deficit imposed by the presence of mining waste in the soil. Water deficit promotes the increase of osmolytes (sugars, organic acids and ions) in the cytosol as a physiological response to maintain hydric potential and leaf turgor (Bradford & Hsiao, 1982; Maia et al., 2007; Meyer, Roces, & Wirth, 2006). In fact, the leaf discs preferentially transported in the present study have both of these characteristics: less water content and higher content of starch and TSC. Even after the first contact, leaf discs from plants raised in higher mining waste concentration were still preferred.

Leaf cutting ants have the ability to detect variations in osmolyte concentrations in plant tissues (Meyer, Roces, & Wirth, 2006; Ribeiro-Neto et al., 2012), selecting those with

higher concentration of these compounds. Their preference for drought-stressed leaves is associated to a higher content of non-structural carbohydrates (Meyer, Roces, & Wirth, 2006), which include starch and TSC. It is important to highlight that higher concentration of non-structural carbohydrates also induced preference in leaves which were not drought stressed (Meyer, Roces, & Wirth, 2006). Plants at disturbed habitats are more susceptible to drought stress (Ferreira & Laurance, 1997), once drought stress causes osmolyte concentration to increase, they will become a higher quality food source, favoring leaf cutting ant populations (Meyer, Roces, & Wirth, 2006).

Thus, seedlings implemented at high mining waste concentration sites will have more difficulty to grown and so a reduced chance of survival if the ants' preference registered in this study remains true in the field. Results obtained in this work suggest that in parallel with the implementation of the revegetation program, a rigorous study should be carried out to determine the impact of leaf cutting ant as herbivorous. Furthermore, it must be took in account that leaf cutting ants are soil ecosystem engineers, and their nest construction activities could counter balance the effects of the mining waste on the soil.

REFERENCES

- Almeida, R., & Sánchez, L. (2005). Revegetação de áreas de mineração: critérios de monitoramento e avaliação do desempenho / Monitoring and evaluating performance of mining revegetation. *Revista Árvore*, 29, 47-54. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000100006>
- Almeida, W., Wirth, R., & Leal, I. R. (2008). Edge-mediated reduction of phorid parasitism on leaf-cutting ants in a Brazilian Atlantic forest. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 129(3), 251-257. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00774.x>
- Andrade, G. F., Paniz, F. P., Martins, A. C., Rocha, B. A., Lobato, A. K. D., Rodrigues, J. L., . . . Batista, B. L. (2018). Agricultural use of Samarco's spilled mud assessed by rice cultivation: A promising residue use? *Chemosphere*, 193, 892-902. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.099>
- Araújo, F. S., Martins, S. V., Neto, J. A. A. M., & Lani, J. L. (2005). Floristic of shrub - tree vegetation colonizing an area degraded by kaolin mining, in Brás Pires, MG. *Revista Árvore*, 29(6), 983-992. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622005000600018>
- Ataíde, E. S., Castro, P. D. A., & Fernandes, G. W. (2011). Floristic and characterization of the rupestrian ferruginous field area in the alegria complex mining, Serra de Antonio Pereira, Ouro Preto, Minas Gerais, Brazil. *Revista Árvore*, 35(6), 1265-1275. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622011000700013>
- Bates, D., Machler, M., Bolker, B. M., & Walker, S. C. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48.
- Bini, C., Maleci, L., Tani, C., & Wahsha, M. (2016). Preliminary observations on the metal tolerance and resilience capacity of *Helichrysum italicum* (roth) g. Don growing on mine soils. *Eqa-International Journal of Environmental Quality*, 21, 41-50. <https://doi.org/10.6092/issn.2281-4485/6599>
- Bini, C., Wahsha, M., Fontana, S., & Maleci, L. (2012). Effects of heavy metals on morphological characteristics of *Taraxacum officinale* Web growing on mine soils in NE Italy. *Journal of Geochemical Exploration*, 123, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.07.009>
- Blanton, C. M., & Ewel, J. J. (1985). Leaf-cutting ant herbivory in successional and agricultural tropical ecosystems. *Ecology*, 66(3), 861-869. <https://doi.org/10.2307/1940548>

- Bradford, K. J., & Hsiao, T. C. (1982). Physiological Responses to Moderate Water Stress. In O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond, & H. Ziegler (Eds.), *Physiological Plant Ecology II* (Vol. 12 / B, pp. pp 263-324). Encyclopedia of Plant Physiology (New Series): Springer, Berlin, Heidelberg.
- Camargo, R. S., Forti, L. C., Lopes, J. F. S., Andrade, A. P. P., & Ottati, A. L. T. (2007). Age polyethism in the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel, 1911 (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, *131*(2), 139-145.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2006.01129.x>
- Camargo, R. S., Lopes, J. F., Forti, L. C., de Matos, C. A. O., & de Andrade, A. P. P. (2003). Alimentary preconditioning in *Acromyrmex subterraneus brunneus* workers. *Sociobiology*, *42*(1), 81-86.
- Carmo, F. F., Kamino, L. H. Y., Tobias, R., de Campos, I. C., do Carmo, F. F., Silvino, G., . . . Pinto, C. E. F. (2017). Fundao tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. *Perspectives in Ecology and Conservation*, *15*(3), 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2017.06.002>
- Coan, L. F. B., Sena, C., Bianco, D., Lichtemberg, P. S., Miller, P. R. M., Pereira, A. A. A., & Comin, J. J. (2004). Recuperação de área degradada por construção de rodovia na Praia Mole, Florianópolis, SC. *Revista Eletrônica de Extensão*, *1*(1).
<https://doi.org/10.5007/%25x>
- Coelho, D. G., Marinato, C. S., de Matos, L. P., de Andrade, H. M., da Silva, V. M., Neves, P. H. S., & de Oliveira, J. A. (2020). Evaluation of Metals in Soil and Tissues of Economic-Interest Plants Grown in Sites Affected by the Fundao Dam Failure in Mariana, Brazil. *Integrated environ assessment and management*. <https://doi.org/10.1002/ieam.4253>
- Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 420, de 28 de dezembro de (2009). Publicada no DOU nº 249, de 30/12/2009, pág. 81–84, § ANEXO II (2009).
- Costa, A. N., Vasconcelos, H. L., & Bruna, E. M. (2017). Biotic drivers of seedling establishment in Neotropical savannas: selective granivory and seedling herbivory by leaf-cutter ants as an ecological filter. *Journal of Ecology*, *105*(1), 132-141.
<https://doi.org/10.1111/1365-2745.12656>
- Costa, A. N., Vasconcelos, H. L., Vieira-Neto, E. H. M., & Bruna, E. M. (2008). Do herbivores exert top-down effects in Neotropical savannas? Estimates of biomass consumption by leaf-cutter ants. *Journal of Vegetation Science*, *19*(6), 849-U814.
<https://doi.org/10.3170/2008-8-18461>

- Cruz, F. V. D., Gomes, M. P., Bicalho, E. M., Della Torre, F., & Garcia, Q. S. (2020). Does Samarco's spilled mud impair the growth of native trees of the Atlantic Rainforest? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 12. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110021>
- da Silva, J. L. G., de Holanda Silva, I. L., Ribeiro-Neto, J. D., Wirth, R., & Leal, I. R. (2018). Forest edge orientation influences leaf-cutting ant abundance and plant drought stress in the Brazilian Atlantic forest. *Agricultural and Forest Entomology*, 20(3), 358-365. <https://doi.org/10.1111/afe.12268>
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. 10.1021/ac60111a017
- Embrapa. (2015). *Avaliação dos impactos causados ao solo pelo rompimento de barragem de rejeito de mineração em Mariana, MG: Apoio ao plano de recuperação agropecuária*.
- Falcão, P. F., Pinto, S. R. R., Wirth, R., & Leal, I. R. (2011). Edge-induced narrowing of dietary diversity in leaf-cutting ants. *Bulletin of Entomological Research*, 101(3), 305-311. <https://doi.org/10.1017/S000748531000043X>
- Falibene, A., Roces, F., & Rossier, W. (2015). Long-term avoidance memory formation is associated with a transient increase in mushroom body synaptic complexes in leaf-cutting ants. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00084>
- Fernandes, G. W., Goulart, F. F., Ranieri, B. D., Coelho, M. S., Dales, K., Boesche, N., . . . Soares, B. (2016). Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. *Brazilian Journal of Nature Conservation*, 14(2), 35-45. <https://doi.org/10.1016/j.ncon.2016.10.003>
- Ferreira, L. V., & Laurance, W. F. (1997). Effects of forest fragmentation on mortality and damage of selected trees in central Amazonia. *Conservation Biology*, 11(3), 797-801. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1997.96167.x>
- Fleury, M., Silla, F., Rodrigues, R. R., do Couto, H. T. Z., & Galetti, M. (2015). Seedling fate across different habitats: The effects of herbivory and soil fertility. *Basic and Applied Ecology*, 16(2), 141-151. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2014.11.006>
- Garnier, E., & Laurent, G. (1994). Leaf anatomy, specific mass and water content in congeneric annual and perennial grass species. *New Phytologist*, 128(4), 725-736. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb04036.x>

- Gomes, L. E. D., Correa, L. B., Sa, F., Neto, R. R., & Bernardino, A. F. (2017). The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 120(1-2), 28-36. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.056>
- Graham, P. H., & Vance, C. P. (2000). Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crops Research*, 65(2-3), 93-106. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00080-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00080-5)
- Guerra, M. B. B., Teaney, B. T., Mount, B. J., Asunskis, D. J., Jordan, B. T., Barker, R. J., . . . Schaefer, C. (2017). Post-catastrophe Analysis of the Fundao Tailings Dam Failure in the Doce River System, Southeast Brazil: Potentially Toxic Elements in Affected Soils. *Water Air and Soil Pollution*, 228(7), 12. <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-017-3430-5>
- Guillon-Larchevêque, M., Bussière, B., & Pednault, C. (2016). Tree-substrate water relations and root development in tree plantations used for mine tailings reclamation. *Journal of Environmental Quality*, 45(3), 1036-1045. <https://doi.org/10.2134/jeq2015.09.0477>
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*, 50(3), 346-363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>
- Huot, B., Yao, J., Montgomery, B. L., & He, S. Y. (2014). Growth-defense tradeoffs in plants: A balancing act to optimize fitness. *Molecular Plant*, 7(8), 1267-1287. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu049>
- Kassambara, A. (2019). ggplot2 - Based Publication Ready Plots (Version 0.2.4). ggpubr R Package.
- Kempel, A., Schadler, M., Chrobock, T., Fischer, M., & van Kleunen, M. (2011). Tradeoffs associated with constitutive and induced plant resistance against herbivory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(14), 5685-5689. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016508108>
- Knoechelmann, C. M., Oliveira, F. M. P., Siqueira, F. F. S., Wirth, R., Tabarelli, M., & Leal, I. R. (2020). Leaf-cutting ants negatively impact the regeneration of the Caatinga dry forest across abandoned pastures. *Biotropica*, 11. <https://doi.org/10.1111/btp.12782>
- Leal, I. R., Wirth, R., & Tabarelli, M. (2014). The Multiple Impacts of Leaf-Cutting Ants and Their Novel Ecological Role in Human-Modified Neotropical Forests. *Biotropica*, 46(5), 516-528. <https://doi.org/10.1111/btp.12126>
- Lima Júnior, P. H., Ferreira, W. C., Dias, D. P., Corrêa, R. S., & da Silva, D. F. P. (2019). Crescimento de inicial de espécies arbóreas nativas em diferentes espaçamentos em área degradada. *Global Science and Technology*, 12(1).

- Lopes, J. F. S., Forti, L. C., & Camargo, R. S. (2004). The influence of the scout upon the decision-making process of recruited workers in three *Acromyrmex* species (Formicidae : Attini). *Behavioural Processes*, 67(3), 471-476.
<https://doi.org/10.1016/j.beproc.2004.08.001>
- Maia, P. S. P., Oliveira Neto, C. F., Castro, D. S., Lobato, A. K. S., Santos, P. C. M., & Costa, R. C. L. (2007). Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas a estresse hídrico. *Brazilian Journal of Biosciences*, 5, 918-920.
- Maleci, L., Buffa, G., Wahsha, M., & Bini, C. (2014). Morphological changes induced by heavy metals in dandelion (*Taraxacum officinale* Web.) growing on mine soils. *Journal of Soils and Sediments*, 14(4), 731-743. <https://doi.org/10.1007/s11368-013-0823-y>
- Marta-Almeida, M., Mendes, R., Amorim, F. N., Cirano, M., & Dias, J. M. (2016). Fundao Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident. *Marine Pollution Bulletin*, 112(1-2), 359-364.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.07.039>
- Meyer, S. T., Roces, F., & Wirth, R. (2006). Selecting the drought stressed: effects of plant stress on intraspecific and within-plant herbivory patterns of the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Functional Ecology*, 20(6), 973-981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01178.x>
- Mundim, F. M., Costa, A. N., & Vasconcelos, H. L. (2009). Leaf nutrient content and host plant selection by leaf-cutter ants, *Atta laevigata*, in a Neotropical savanna. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 130(1), 47-54. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00789.x>
- Oliveira, P. A. (2014). *Organic fertilization and emissions of greenhouse gases in the recovery of iron ore beneficiation tailing dam*. (Master Dissertation). Universidade Federal de Viçosa, Universidade Federal de Viçosa.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., & Team, R. C. (2012). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models (Version 3.1-143). R package
- Prado, I. G. O., Silva, M. C. S., Prado, D. G. O., Kimmelmeier, K., Pedrosa, B. G., Silva, C. C., Kasuya, M. C. M. (2019). Revegetation process increases the diversity of total and arbuscular mycorrhizal fungi in areas affected by the Fundão dam failure in Mariana, Brazil. *Applied Soil Ecology*, 141, 84-95. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.05.008>
- Plath, M., Mody, K., Potvin, C., & Dorn, S. (2011). Establishment of native tropical timber trees in monoculture and mixed-species plantations: Small-scale effects on tree

- performance and insect herbivory. *Forest Ecology and Management*, 261(3), 741-750.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.12.004>
- Queiroz-Voltan, R. B., Nogueira, S. D. S., & De Miranda, M. A. C. (2000). Root structural aspects and development of soybean in compacted soils. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 35(5), 929-938. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000500010>
- RAMBOLL. (2019). *Relatório Quadrimestral de Monitoramento Consolidado*.
- Ramos, S. J., Gastauer, M., Mitre, S. K., Caldeira, C. F., Silva, J. R., Neto, A. E. F., & Siqueira, J. O. (2019). Plant growth and nutrient use efficiency of two native Fabaceae species for mineland revegetation in the eastern Amazon. *Journal of Forestry Research*, 1(7). <https://doi.org/10.1007/s11676-019-01004-w>
- Ribeiro-Neto, J. D., Pinho, B. X., Meyer, S. T., Wirth, R., & Leal, I. R. (2012). Drought stress drives intraspecific choice of food plants by *Atta* leaf-cutting ants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 144(2), 209-215. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01283.x>
- Richard, F. J., Mora, P., Errard, C., & Rouland, C. (2005). Digestive capacities of leaf-cutting ants and the contribution of their fungal cultivar to the degradation of plant material. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systems and Environmental Physiology*, 175(5), 297-303. <https://doi.org/10.1007/s00360-005-0485-1>
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing (Version 3.6.1). Vienna, Austria. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- Roces, F. (1994). Odor learning and decision-making during food collection in the leaf-cutting ant *acromyrmex-lundi*. *Insectes Sociaux*, 41(3), 235-239.
<https://doi.org/10.1007/BF01242294>
- Roces, F. (2002). Individual complexity and self-organization in foraging by leaf-cutting ants. *Biological Bulletin*, 202(3), 306-313. <https://doi.org/10.2307/1543483>
- Roces, F., & Hölldobler, B. (1994). Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta-cephalotes*. *Oecologia*, 97(1), 1-8.
<https://doi.org/10.1007/BF00317902>
- Sarkar, D. (2008). *Lattice: Multivariate Data Visualization with R*. Springer Science & Business Media.
- Saverschek, N., & Roces, F. (2011). Foraging leafcutter ants: olfactory memory underlies delayed avoidance of plants unsuitable for the symbiotic fungus. *Animal Behaviour*, 82(3), 453-458. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.05.015>

- Segura, F. R., Nunes, E. A., Paniz, F. P., Paulelli, A. C. C., Rodrigues, G. B., Braga, G. U. L., . . . Batista, B. L. (2016). Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environmental Pollution*, 218, 813-825.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.005>
- Shimizu, E. S. C. (2009). *Aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados à quebra de dormência física em sementes de paricá [Schizolobium parahyba var. amazonicum (Huber ex Ducken) Barneby]*. (Masters Dissertation). Universidade Federal Rural da Amazônia,
- Shipley, B. (1995). Structured interspecific determinants of specific leaf area in 34 species of herbaceous angiosperms. *Functional Ecology*, 9(2), 312-319.
<https://doi.org/10.2307/2390579>
- Silva, A. C., Cavalcante, L. C. D., Fabris, J. D., Júnior, R. F., Barral, U. M., de Melo Farnezi, M. M., & Stumpf, H. O. (2016). Chemical, mineralogical and physical characteristics of a material accumulated on the river margin from mud flowing from the collapse of the iron ore tailings dam in Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brazil. *Revista Espinhaço*, 5(2), 44-53.
- Silva, J. R., Gastauer, M., Ramos, S. J., Mitre, S. K., Neto, A. E. F., Siqueira, J. O., & Caldeira, C. F. (2018). Initial growth of Fabaceae species: Combined effects of topsoil and fertilizer application for mineland revegetation. *Flora*, 246, 109-117.
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.08.001>
- Silva, P. S. D., Bieber, A. G. D., Knoch, T. A., Tabarelli, M., Leal, I. R., & Wirth, R. (2013). Foraging in highly dynamic environments: leaf-cutting ants adjust foraging trail networks to pioneer plant availability. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 147(2), 110-119.
<https://doi.org/10.1111/eea.12050>
- Siqueira, F. F. S., Ribeiro-Neto, J. D., Tabarelli, M., Andersen, A. N., Wirth, R., & Leal, I. R. (2017). Leaf-cutting ant populations profit from human disturbances in tropical dry forest in Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 33, 337-344.
<https://doi.org/10.1017/S0266467417000311>
- Siqueira, F. F. S., Ribeiro-Neto, J. D., Tabarelli, M., Andersen, A. N., Wirth, R., & Leal, I. R. (2018). Human disturbance promotes herbivory by leaf-cutting ants in the Caatinga dry forest. *Biotropica*, 50(5), 779-788. <https://doi.org/10.1111/btp.12599>
- Taylor, H. M., & Brar, G. S. (1991). Effect of soil compaction on root development. *Soil & Tillage Research*, 19(2-3), 111-119. [https://doi.org/10.1016/0167-1987\(91\)90080-H](https://doi.org/10.1016/0167-1987(91)90080-H)

- Thomé, R., & Passini, M. L. (2018). Barragens de rejeitos de mineração: Características do método de alteamento para montante que fundamentaram a suspensão de sua utilização em Minas Gerais. *Ciências Sociais Aplicadas em Revista*, 18(34), 49-65.
- Urbas, P., Araújo, M. V., Leal, I. R., & Wirth, R. (2007). Cutting more from cut forests: Edge effects on foraging and herbivory of leaf-cutting ants in Brazil. *Biotropica*, 39(4), 489-495. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00285.x>
- Vasconcelos, H. L., & Cherrett, J. M. (1996). The effect of wilting on the selection of leaves by the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 78(2), 215-220. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb00784.x>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*.
- Wirth, R., Meyer, S. T., Leal, I. R., & Tabarelli, M. (2008). Plant Herbivore Interactions at the Forest Edge. In B. W. Lüttge U., Murata J. (Ed.), *Progress in Botany* (Vol. 69, pp. 423-448). Berlin, Heidelberg: Springer.
- Zago, V. C. P., das Dores, N. C., & Watts, B. A. (2019). Strategy for phytomanagement in an area affected by iron ore dam rupture: A study case in Minas Gerais State, Brazil. *Environmental Pollution*, 249, 1029-1037. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.060>

CAPÍTULO 2 – Fluxo de CO₂ e atividade de escavação de *Acromyrmex subterraneus* em solo com diferentes concentrações de rejeito de mineração

RESUMO: O rompimento da barragem de Fundão (Mariana-MG) liberou no ambiente lama com rejeito de mineração, alterando propriedades físicas, químicas e biológicas do solo na área atingida. Para a recuperação da qualidade do solo é importante a presença de agentes do intemperismo como formigas cortadeiras que, a partir da atividade de escavação, depositam matéria orgânica, descompactam e aeram o solo. A escavação é guiada pelos gradientes de dióxido de carbono (CO₂) presentes no solo e são usados como pistas de locais e profundidades para a nidificação ou expansão de ninhos já estabelecidos. Desta forma, foi verificada a variação da concentração de CO₂ no solo *in loco* e em laboratório, a partir da medição da emissão por uma sonda. Além disso, verificou-se o efeito da concentração de rejeito na escavação por meio da massa de solo escavado por operárias de *Acromyrmex subterraneus* e se o fluxo de CO₂ varia em função da escavação nas diferentes concentrações de rejeito de mineração. As concentrações de rejeito de mineração testadas foram 0, 25, 50, 75 e 100%. Além disso, 30 operárias por colônia foram colocadas em um sistema de circulação de ar (CO₂ mensurado por 3 horas em sistema contendo apenas solo e por 3 horas contendo solo com operárias). O fluxo de CO₂ *in loco* e no laboratório não variaram. O fluxo de CO₂ em função da quantidade de solo escavado, para qualquer concentração de rejeito, também não variou. O fluxo de CO₂ não variou em função da quantidade de solo escavado, para qualquer concentração de rejeito de mineração, já a massa de solo escavado foi significativamente menor em concentrações de 75 e 100%. A partir dos resultados obtidos em campo e em laboratório é possível supor que *A. subterraneus* poderá estabelecer ninhos nos locais atingidos pelo desastre, garantindo a manutenção dos processos biogeoquímicos.

Palavras-chave: Dióxido de carbono, Formigas cortadeiras, Intemperismo, Ninhos, Samarco.

1| INTRODUÇÃO

Um dos maiores desastres ambientais do Brasil ocorreu em novembro de 2015, com o rompimento da barragem de Fundão (Mariana-MG), sob responsabilidade da mineradora Samarco. Esse rompimento liberou cerca de 50 milhões de m³ de lama no ambiente, afetando diretamente a bacia do Rio Doce (Marta-Almeida et al., 2016; de Oliveira Gomes et al., 2017). Alterando as propriedades físicas e químicas do solo também foram alteradas (Segura et al., 2016; Silva et al., 2017), especialmente em função da sedimentação (Taylor & Brar, 1991; Queiroz-Voltan et al., 2000; Embrapa, 2015). Além disso, a lama assolou grande parte da vegetação adjacente, reduzindo as taxas de fotossíntese e, conseqüentemente, a absorção de dióxido de carbono atmosférico da região.

Parte do carbono liberado na atmosfera advém de emissões naturais, provenientes da respiração de raízes de plantas, da fauna edáfica e pela decomposição de matéria orgânica feita por microrganismos (Panosso et al., 2008). Caso o solo não seja adequado para o desenvolvimento de plantas, devido ao desastre, a emissão de CO₂ por estes organismos seria reduzida. No entanto, a ausência de vegetação também se constitui de um problema quanto ao sequestro e retenção a longo prazo de carbono no ambiente. Do mesmo modo, caso o solo não seja adequado para o estabelecimento da fauna edáfica, toda a atividade realizada por esses organismos, que é essencial para a recuperação do solo no local, também ficaria comprometida.

A atividade da fauna do solo contribui significativamente para a disponibilidade de água para a vegetação, controle de erosões e desenvolvimento da fertilidade do solo, visto especialmente a sua contribuição no aumento de matéria orgânica (Cerdeira & Jurgensen, 2008; Bottinelli et al., 2015; Arnold & Williams, 2016). Dentre a fauna do solo, destacam-se as formigas com ninhos hipogeicos, que interferem nos processos biogeoquímicos, podendo estimular a emissão (Frouz, 2000; Lenoir et al., 2001; Gutiérrez & Jones, 2006) ou sequestro de CO₂ atmosférico (Schwartzman, 2002; Dorn, 2014).

Formigas cortadeiras, representadas pelos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Hymenoptera, Formicidae), se destacam nesse contexto devido à construção de ninhos subterrâneos com arquitetura variada e de grandes dimensões. Além disso, exibem relação intrínseca com o CO₂ cujos gradientes de concentração são usados como pistas, que atuam como estímulo para a atividade de escavação de seus ninhos (Buehlmann et al., 2012; Römer et al., 2018). Nesse sentido, a emissão de CO₂ pelo solo localizado em áreas atingidas pelo rejeito pode interferir na fundação de novas colônias de formigas cortadeiras, uma vez que as mesmas se orientam por meio de concentrações ótimas de CO₂ para realizar a escavação (Römer, Bollazzi, &

Roces, 2017). Sua atividade de escavação do solo é um importante fator na regeneração da cobertura vegetal, por permitir a aeração do solo, disponibilizando nutrientes e contribuindo no desenvolvimento das raízes, principalmente em estágios iniciais de sucessão ecológica (Moutinho et al., 2003). Caso as concentrações de rejeito interfiram na dinâmica de escavação, de forma a reduzir ou impedir totalmente tal atividade, esse importante papel ecológico estaria comprometido.

O presente estudo teve como objetivo avaliar: (i) o fluxo de CO₂ *in loco* do solo afetado pelo rompimento da barragem de Fundão, Mariana – MG, considerando diferentes distâncias do leito do rio Gualaxo, no qual houve o escoamento da lama, para verificar a viabilidade do estabelecimento de ninhos nessas áreas; (ii) o efeito de diferentes concentrações de rejeito de mineração no solo na atividade de escavação por operárias de *Acromyrmex subterraneus* (Forel, 1893) e (iii) se a atividade de escavação em solos com diferentes concentrações de rejeitos de mineração pode interferir nos processos de emissão ou sequestro de CO₂.

2| MATERIAL E MÉTODOS

2.1| Determinação do fluxo de CO₂ do solo *in loco*:

As medidas de fluxo de CO₂ do solo foram realizadas no município de Barra Longa, MG (20°16'04''S, 43°05'52''W), às margens do rio Gualaxo em abril de 2019. O rio Gualaxo e seu entorno foi atingido pelo rompimento da barragem.

As margens do rio foram divididas em 10 transectos perpendiculares ao rio, sendo cada transecto composto por cinco pontos equidistantes que se distanciavam da margem do rio e, portanto, apresentavam diferentes concentrações do rejeito de mineração. O primeiro ponto foi demarcado a um metro da margem do rio e o último em local livre de rejeito.

Para as medições do fluxo de CO₂ foi utilizada uma sonda manual com sensor infravermelho (Testo - modelo 535). A sonda foi acoplada a um recipiente de 300 mL o qual foi inserido na superfície do solo, de forma a evitar a entrada de ar atmosférico e escape de gases do solo. Após a estabilização do aparelho (dois minutos), foi registrada a concentração de CO₂ em ppm, a cada minuto, durante cinco minutos consecutivos e a partir da variação da concentração foi medido o fluxo.

2.2| Coleta do rejeito e preparação do substrato:

Amostras da lama com rejeitos da barragem de Fundão foram coletadas em novembro de 2016, a partir de material dragado do lago da Usina Hidrelétrica Risoleta Neves

(20°12'27.2"S - 42°51'17.3"W), localizada nos municípios de Rio Doce - MG e Santa Cruz do Escalvado - MG, onde a maior parte da lama com rejeito estava retida.

Os solos para escavação apresentavam diferentes concentrações de rejeito (100%, 75%, 50%, 25% e 0%). Para tanto foi realizada a mistura da lama com substrato fértil composto por solo, areia e esterco bovino na proporção 3:2:1 (vol/vol/vol) e adicionados 50g de escória de silicato (Agrosilicon; minerais Harsco), para correção da sua acidez. Ressalta-se que os substratos 100% e 0% consistiam respectivamente de rejeito sem mistura de solo fértil e de solo sem mistura de rejeito.

2.3| Manutenção das colônias de *Acromyrmex subterraneus*:

Foram selecionadas 50 colônias de *A. subterraneus*, mantidas em sistema fechado composto por três compartimentos interligados por tubos plásticos transparentes, correspondendo a: arena de forrageio, câmara de fungo e material descartado. A câmara de fungo contém uma camada de gesso de 1 cm para manter a umidade do fungo simbiote. Todas as colônias apresentavam um volume aproximado de 430 cm³ de esponja de fungo simbiote. As colônias são tratadas diariamente com folhas de *Acalypha wilkesiana* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) e mantidas sob condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar (25 ± 1 °C e 75 ± 5% U.R.).

2.4| Seleção de operárias escavadoras:

Para selecionar as operárias escavadoras, as colônias foram conectadas a um cilindro contendo 20 cm de altura de solo previamente compactado e umedecido. As operárias permaneceram cerca de 40 minutos para a acomodação e, posteriormente, 30 indivíduos de tamanho médio (largura da cabeça: 1,2 - 1,6 mm) e coloração marrom escura (operárias maduras: Camargo et al., 2012) que foram observados transportando pellets, foram separados em um recipiente com um chumaço de algodão embebido em água.

2.5 | Teste de escavação em solo com diferentes concentrações de rejeito de mineração:

A fim de verificar se a concentração de rejeitos interfere na atividade de escavação e se esta atividade interfere nos processos de emissão ou sequestro de CO₂, foi conduzido um experimento no MirmecoLab da UFJF-MG, no qual mensurou-se o volume de solo escavado por 30 operárias de *A. subterraneus* e o fluxo de CO₂ resultante da atividade.

Foi utilizado o sistema de circulação de ar (Fig. 6) proposto por Camargo & Forti (2013), o qual é composto por: (I) bomba de ar acoplada a um (II) fluxímetro, o qual manteve um fluxo de ar de 400 ml min⁻¹, conectada a (III) câmara hermética de escavação (cilindro de acrílico: 10 cm de altura e 8 cm de diâmetro) contendo solo com diferentes concentrações de

tratamento, conectada à (IV) câmara hermética respirométrica (cilindro de acrílico: 10 cm de altura e 8 cm de diâmetro) na qual foi acoplada a sonda de medição da concentração CO_2 por infravermelho (Testo: modelo 535) e uma saída de ar. A ligação entre a bomba de ar e as câmaras foi feita por tubos plásticos transparentes de 0,5 cm de diâmetro com diferentes comprimentos. Considerando o volume da câmara de escavação foi utilizado 339,2g de solo para cada tratamento (densidade do solo 1,6 g/cm^3 , 5,4% de teor de água) (Stein & Xavier, 1984).

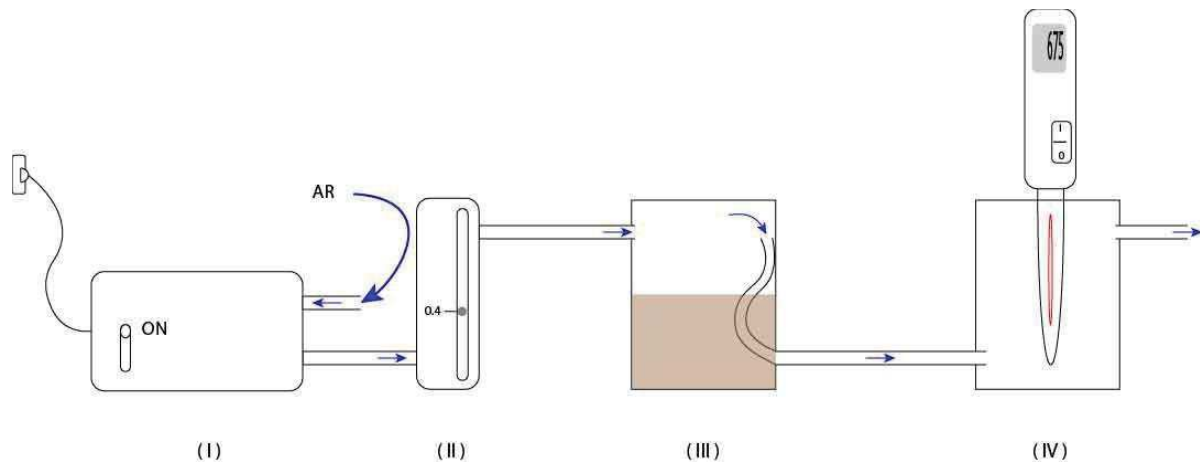


Figura 6. Esquema do sistema de circulação de ar para o experimento de escavação.

O fluxo de CO_2 foi aferido a partir de seis leituras consecutivas com duração de 1 min, realizadas a cada hora durante 6 horas. As três primeiras medições de fluxo foram feitas (i) sem a presença de operárias permitindo a mensuração do fluxo de CO_2 com a câmara contendo apenas o solo. Ao final da 3ª medida de fluxo, a câmara de escavação foi aberta para adicionar as operárias escavadoras e realizadas as medições de fluxo de CO_2 (ii) com a presença das operárias. Cada concentração de rejeito no solo foi replicada 10 vezes, sempre utilizando colônias diferentes ($n=50$). Ao final das seis horas, o solo escavado, que é depositado pelas formigas em forma de pellets, sendo dessa forma facilmente separado, foi pesado em balança analítica.

2.6 | Análises dos dados:

2.6.1 | Determinação do fluxo de CO_2 do solo *in loco*

Os valores de CO_2 mensurados *in loco* no solo afetado pelo rompimento da barragem de Fundão, Mariana – MG, foram convertidos em miligramas de C do CO_2 por área por hora, que constitui o cálculo do fluxo de CO_2 .

A fim de avaliar se a concentração de rejeitos no solo interfere no fluxo de CO_2 , os dados do fluxo de CO_2 foram submetidos a um modelo linear misto generalizado (GLMM)

usando a distribuição da família Gamma, e a distância da margem do rio como variável explicativa. Os transectos perpendiculares ao rio foram utilizados como variável randômica.

2.6.2 | Análise da variação de CO₂ no ambiente de realização do experimento de escavação.

A fim de verificar a presença de qualquer padrão de concentração de CO₂ no ambiente externo, relacionado às horas do dia, que pudesse interferir no experimento foi realizado, foi monitorada a variação do CO₂ atmosférico de 6 às 18 horas, mesmo período do dia no qual foram realizados os experimentos, sob as mesmas condições de temperatura e umidade. Para tanto, foi utilizado um analisador de gases micro portátil (GGA-918, Los Gatos Research), sem conexão com qualquer tipo de câmara. Ou seja, as medições das condições atmosféricas foram feitas diretamente no ambiente. A partir de 44.100 medidas, registaram-se os valores mínimo e máximo de 513 e 693 ppm de CO₂, respectivamente. Considerou-se que não houve qualquer padrão de emissão de CO₂ relacionado às horas do dia (Fig. 7).

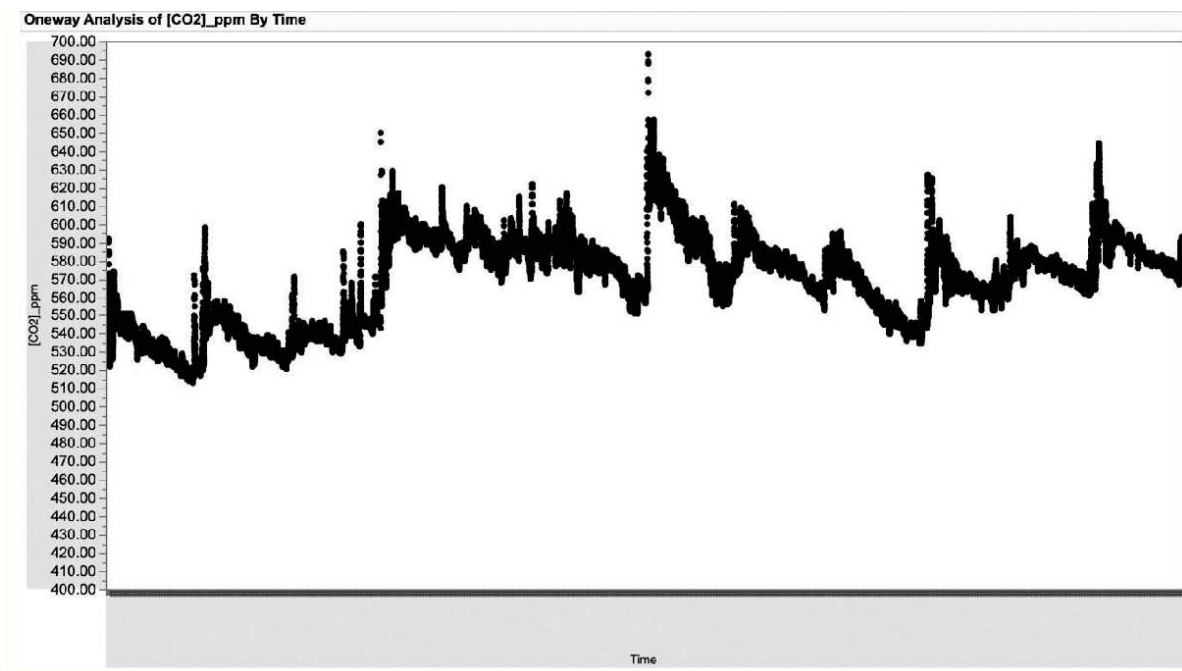


Figura 7. Variação dos valores de CO₂ no ambiente onde foram realizados os experimentos de escavação, obtidos pelo analisador de gases micro portátil (GGA-918, Los Gatos Research).

2.6.3 | Teste de escavação em solo com diferentes concentrações de rejeito de mineração:

Para analisar se as diferentes concentrações do rejeito de lama interferem na atividade de escavação os dados foram submetidos a um modelo linear generalizado (GLM) usando a distribuição Gamma, seguido pelo teste Tukey. A massa do solo escavado foi utilizado como

variável resposta e as concentrações de rejeito como variável explicativa. As colônias não foram consideradas como fator randômico, haja vista o baixo efeito nos resultados.

Já em relação a variação do fluxo de CO₂, os dados foram submetidos a um modelo linear generalizado (GLM) usando a distribuição Gaussiana, tendo como variáveis explicativas a massa do solo escavado e as concentrações de rejeito. Novamente, as colônias não foram consideradas como fator randômico, haja vista o baixo efeito nos resultados.

Todas as análises foram realizadas utilizando o software R 3.6.0 (R Core Team, 2019) e os pacotes car (Fox & Weisberg, 2019), MASS (Venables & Ripley, 2002), multcomp (Hotnorn et al., 2008), lme4 (Bates et al., 2015). Para a elaboração dos gráficos foram utilizados os pacotes ggplot2 (Wickham, 2016), ggpubr (Kassambara, 2019), scales (Reinhart & Genovese, 2019), RcolorBrewer (Neuwirth & Brewer, 2014).

3| RESULTADOS

Foi verificado que o fluxo de CO₂ *in loco* (Barra Longa – MG) não variou em relação às distâncias ao rio Gualaxo, as quais representam um gradiente de concentração de rejeitos no solo (Fig. 8).

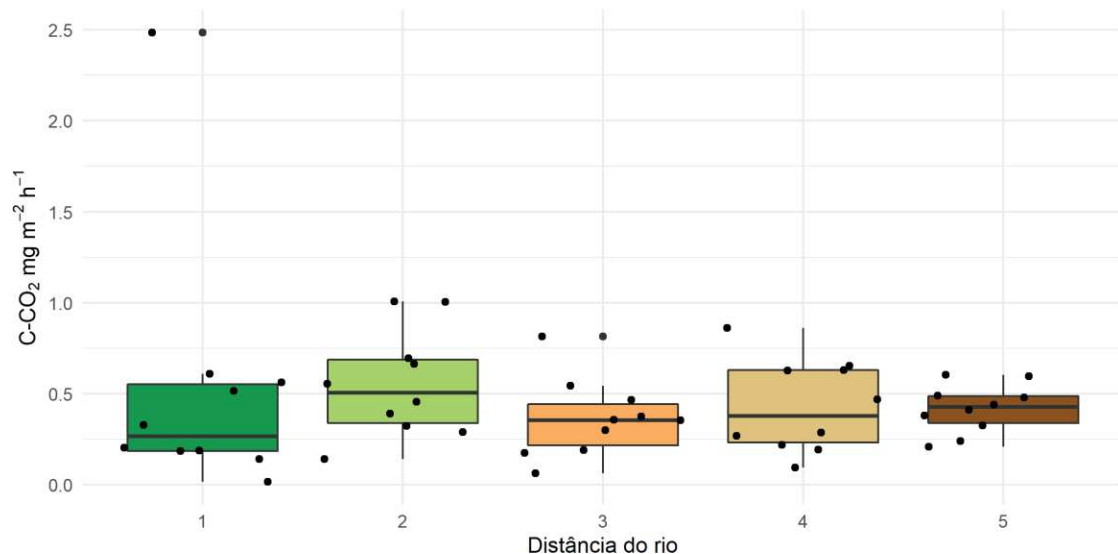


Figura 8. Fluxo de CO₂ mensurado no solo a diferentes distâncias do rio Gualaxo (Barra Longa – MG). Os valores de 1 a 5 exibidos no eixo x representam o gradiente crescente de afastamento do rio e conseqüentemente a concentração do rejeito de mineração no solo.

A massa de solo escavado pelas operárias de *A. subterraneus* foi menor em solo com 100% de rejeito de mineração em comparação com 25%, 50% e 0% ($p < 0.001$). O mesmo foi verificado para o solo com 75% de rejeito de mineração em comparação com 25% ($p < 0.032$), 50% ($p < 0.011$) e 0% ($p < 0.001$). Tais resultados indicam que a quantidade de solo removido foi reduzida em função da maior concentração de rejeitos. Em solos com 100% de rejeitos de

mineração, o valor máximo (0.79 g) registrado foi inferior ao valor mínimo (0.92 g) em solos com 0% de rejeitos (Fig. 9).

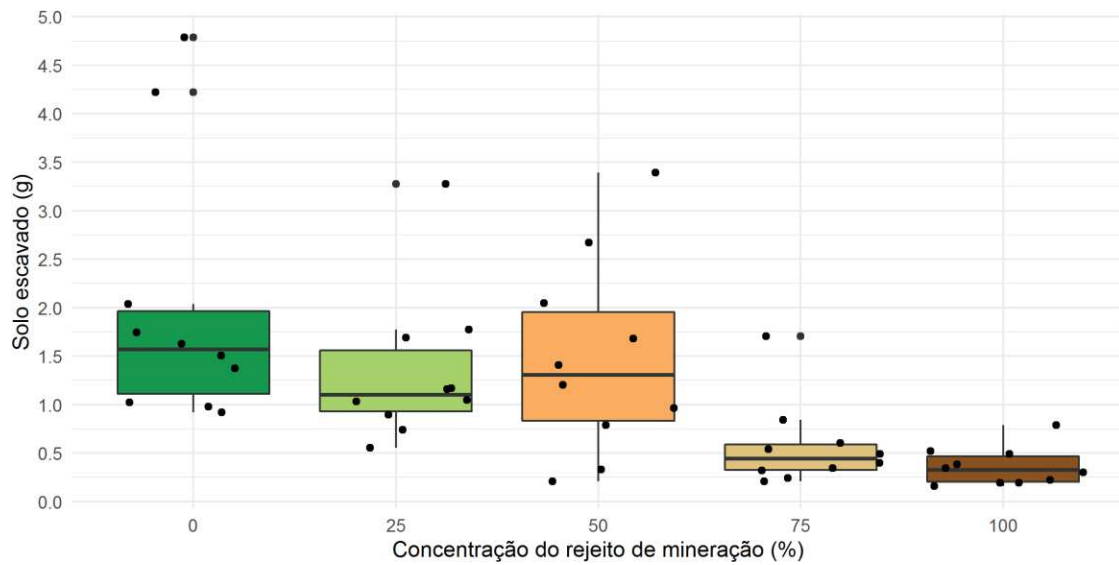


Figura 9. Massa de solo escavado pelas operárias de *Acromyrmex subterraneus* em solo com diferentes concentrações de rejeito de mineração.

No entanto, o fluxo de CO_2 não variou em função da quantidade de solo escavado (g), para qualquer concentração de rejeito de mineração (Fig. 10). Sugere-se que este resultado está relacionado com a ocorrência de sequestro de CO_2 que foi registrado em 4 réplicas no solo com 0%, 50% e 75% de rejeitos, em 5 réplicas no solo com 100% e em 8 réplicas no solo com 25%, das 10 réplicas realizadas para cada concentração de rejeitos.

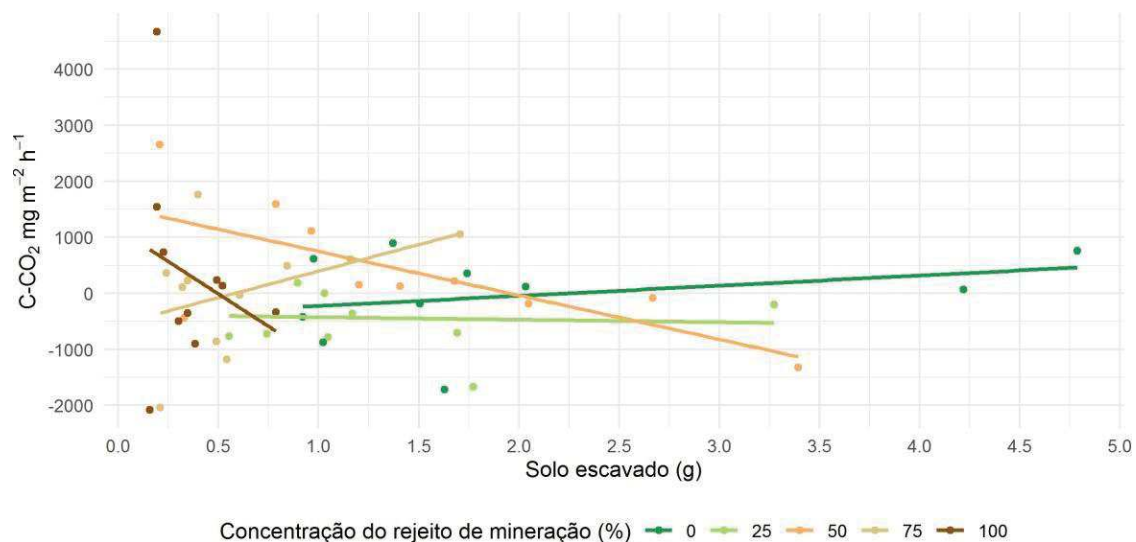


Figura 10. Fluxo de CO_2 em relação à massa do solo escavado pelas formigas e os diferentes tratamentos.

4| DISCUSSÃO

O fluxo de CO₂ no solo *in loco* não variou em relação ao gradiente de concentração de rejeitos de mineração às margens do rio Gualaxo. Do mesmo modo, quando mensurado em laboratório, não foi possível associar a variação do fluxo de CO₂ com as concentrações de rejeito e quantidade de solo escavado, por mais que esta tenha sido inferior nos solos com maior concentração de rejeitos (75 e 100%).

O fato da variação do fluxo de CO₂ *in loco* não estar relacionada ao gradiente de concentração de rejeitos no solo não era esperado. Isto porque há pouco conteúdo de matéria orgânica no rejeito proveniente do desastre da Barragem do Fundão (Silva et al., 2016) e o CO₂ emitido pelo solos é proveniente da respiração de microrganismos, raízes de plantas e fauna edáfica (Zhou et al., 2006). Deste modo, é factível supor que microrganismos estão presentes no rejeito, sendo premente a realização de análises para identificação da microbiota a fim de elucidar os resultados obtidos.

No entanto, caso a emissão do CO₂ atue como sinal de orientação para a seleção de locais de nidificação, do mesmo modo que atua para a escavação de novas câmaras em ninhos já estabelecidos (Römer et al., 2017; 2018), a fundação de ninhos nas áreas contaminadas pelo rejeito de mineração no local não seria limitada por este fator. Formigas cortadeiras evitam locais com concentrações muito altas e muito baixas de CO₂, pois, estas influenciam negativamente na taxa respiratória de seu fungo simbionte, preferindo dessa forma concentrações medianas (Kleineidam & Roces, 2001).

Com relação ao fluxo de CO₂ aferido no experimento em laboratório, recapitula-se que este é resultante da emissão e absorção desse gás no sistema. A emissão é proveniente da respiração das operárias e microrganismos presentes nos substratos. Já a absorção é supostamente proveniente da reação de Urey, na qual o CO₂ reage com silicato de cálcio ou magnésio formando carbonatos de cálcio ou magnésio (Urey, 1952). Tal suposição se embasa nas evidências que estes carbonatos são verificados em maiores concentrações no interior de colônias de formigas quando comparado a solos onde ninhos de formigas estão ausentes (Mandel & Sorenson, 1982; Dorn, 2014) e no fato de formigas serem responsáveis pelo aumento das taxas de intemperismo (Schwartzman, 2002), em função da atividade de escavação do ninho.

Assim, com base nessas informações e nos dados de fluxo negativo verificados no presente estudo, sugere-se um modelo teórico (Fig. 11) para explicar os resultados obtidos. Embora a atividade de escavação possa promover o aumento de CO₂, proveniente da respiração das operárias nesta atividade (Camargo et al., 2013; Camargo & Forti, 2014),

supõem-se que o revolvimento do solo promova a entrada do CO₂ nas camadas não superficiais e este ao sofrer a reação de Urey ficaria retido sob a forma de carbonato. Sugere-se a realização de análises químicas do solo antes e após a atividade de escavação a fim de confirmar esta suposição.

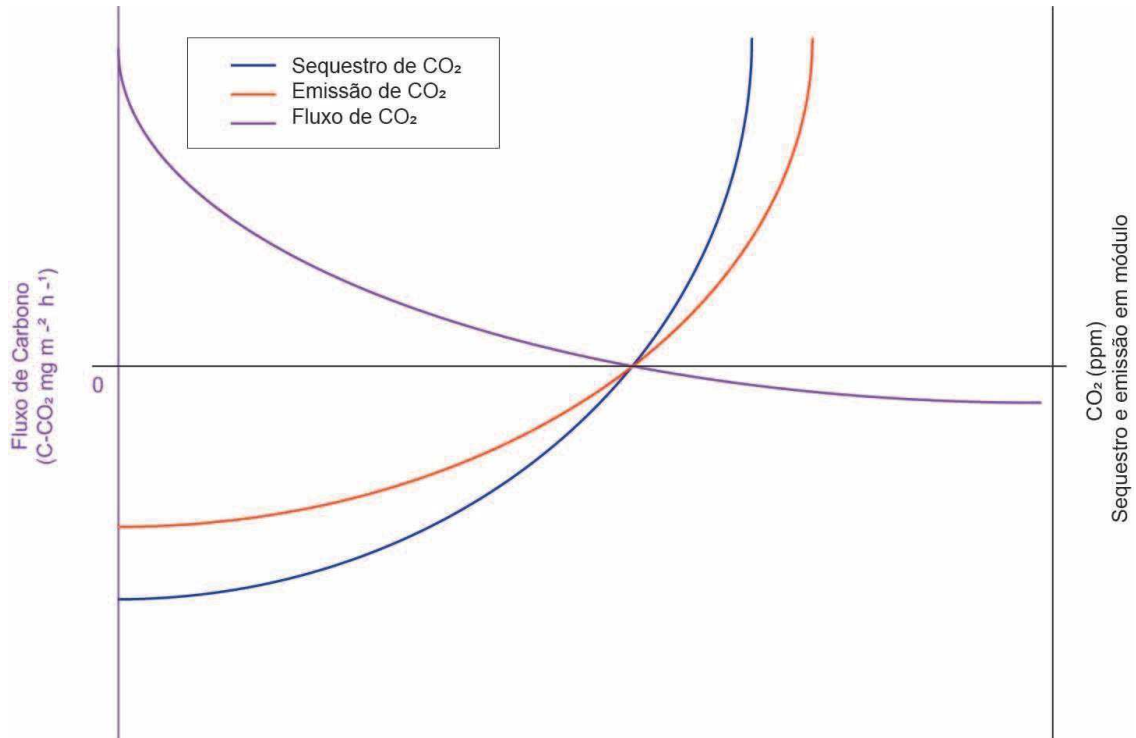


Figura 11. Modelo teórico para explicar o fluxo líquido de CO₂ negativo registrado nas réplicas de escavação do solo pelas operárias de *Acromyrmex subterraneus*.

No entanto, a quantidade de solo escavado foi negativamente relacionada à concentração do rejeito, o que poderia acarretar em alterações na arquitetura interna do ninho e conseqüentemente no sucesso de fundação de novas colônias e/ou expansão de ninhos já existentes no local.

A menor quantidade de material escavado pode estar relacionado com a característica física dos solos constituídos por 100% e 75% de rejeito de mineração. Nestes solos, a agregação primária das partículas (areia, silte e argila) é baixa, devido a maior quantidade de silte e baixa presença de matéria orgânica (Silva et al., 2016). Considerando que a escavação é feita pela retirada e transporte do pellets de solo com as mandíbulas (Pielström & Roces, 2013), substratos com baixa agregação possuem menor estabilidade devido à redução ou ausência de matéria orgânica (Wohlenberg et al., 2004), o que leva ao transporte de pellets muito pequenos.

As características físico-químicas do solo têm sido apontadas como relevantes na determinação de locais de nidificação em formigas, sendo recente a apresentação da Hipótese

da Adequabilidade do Solo (van Gills et al., 2010). Para *Atta*, por exemplo, solos adequados para nidificação não podem estar sujeitos a inundações de longo prazo, drenagem e areia em excesso (Lapointe et al., 1998; van Gills et al., 2010).

Considerando os resultados obtidos em campo e no laboratório é possível supor que *A. subterraneus* poderá estabelecer ninhos nos locais atingidos pelo desastre, mas os novos ninhos estabelecidos podem apresentar alterações quanto a sua arquitetura interna. A colonização da área por formigas cortadeiras garante a manutenção dos processos biogeoquímicos, nos quais estes organismos apresentam contribuição de alta relevância, inclusive promovendo a recuperação da qualidade do solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arnold, S., and E. R. Williams. 2016. Quantification of the inevitable: the influence of soil macrofauna on soil water movement in rehabilitated open-cut mined lands. *Soil* 2: 41-48.
- Bates, D., M. Mächler, B. Bolker, and S. Walker., 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*. 67: 1-48.
- Bottinelli, N., P. Jouquet, Y. Capowiez, P. Podwojewski, M. Grimaldi and X. Peng. 2015. Why is the influence of soil macrofauna on soil structure only considered by soil ecologists?. *Soil and Tillage Research*, 146: 118-124.
- Buehlmann, C., B. S. Hansson and M. Knaden. 2012. Path integration controls nest-plume following in desert ants. *Current Biology*. 22: 645-649.
- Camargo, R. S. and L. C. Forti. 2013. Efeito de grupo versus produção de CO₂ em operárias da formiga cortadeira "*Atta sexdens rubropilosa*". *Ciência rural*, 43: 1754-1758.
- Camargo, R. S., and L. C. Forti. 2014. What is the stimulus for the excavation of fungus chamber in leaf-cutting ants? *Acta ethologica* 18: 31-35.
- Cerdà, A. and M. F. Jurgensen. 2008. The influence of ants on soil and water losses from an orange orchard in eastern Spain. *Journal of Applied Entomology*. 132: 306-314.
- de Oliveira Gomes, L. E., L. B. Correa, F. Sá, R. R. Neto, and A. F. Bernardino. 2017. The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*. 120: 28-36.
- Dorn, R. I. 2014. Ants as a powerful biotic agent of olivine and plagioclase dissolution. *Geology* 42: 771-774.
- Embrapa. 2015. Avaliação dos impactos causados ao solo pelo rompimento de barragem de rejeito de mineração em Mariana, MG: Apoio ao plano de recuperação agropecuária Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

- Fox, J., & S. Weisberg. 2019. An R Companion to Applied Regression (Third).
- Frouz, J. 2000. The effect of nestmoisture on daily temperature regime in the nests of *Formica polyctena* wood ants. *Insectes Sociaux*. 47: 229–235.
- Gomes, L. E. D., L. B. Correa, F. Sa, R. R. Neto, and A. F. Bernardino. 2017. The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 120: 28-36.
- Gutiérrez, J. L. and C. G. Jones. 2006. Physical Ecosystem Engineers as Agents of Biogeochemical Heterogeneity. *BioScience* 56: 227–236.
- Hothorn, T., F. Bretz and P. Westfall. 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences*. 50: 346-363.
- Kassambara, A. (2019). *Ggpubr: 'Ggplot2' Based Publication Ready Plots*, R Package Version 0.2; 2018.
- Kleineidam, C., R. Ernst and F. Rocas. 2001. Wind-induced ventilation of the giant nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri*. *Naturwissenschaften*, 88: 301-305.
- Lapointe, S. L., M. S. Serrano, and P. G. Jones (1998). Microgeographic and Vertical Distribution of *Acromyrmex landolti* (Hymenoptera: Formicidae) Nests in a Neotropical Savanna. *Environmental Entomology*, 27: 636-641.
- Lenoir, L., T. Persson and J. Bengtsson, 2001. Wood ant nests as potential hot spots for carbon and nitrogen mineralization. *Biology and Fertility of Soils* 34: 235–240.
- Mandel, R. D. and C. J. Sorenson. 1982. The Role of the Western Harvester Ant (*Pogonomyrmex occidentalis*) in Soil Formation. *Soil Science Society of America Journal*, 46: 785-788.
- Marta-Almeida, M., R. Mendes, F. N. Amorim, M. Cirano and J. M. Dias. 2016. Fundão Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident. *Marine pollution bulletin*, 112: 359-364.
- Moutinho, P., D. C. Nepstad, and E. A. Davidson. 2003. Influence of leaf-cutting ant nests on secondary forest growth and soil properties in Amazonia. *Ecology*, 84: 1265-1276.
- Neuwirth, E. 2014. *RColorBrewer: ColorBrewer palettes*. R package version 1.1-2. The R Foundation.
- Panosso, A. R., G. T. Pereira, J. Marques Júnior, and N. La Scala Júnior. 2008. Variabilidade espacial da emissão de CO₂ em Latossolos sob cultivo de cana-de-açúcar em diferentes sistemas de manejo. *Engenharia Agrícola* 28: 227-236.

- Pielström, S. and F Roces (2013). Sequential soil transport and its influence on the spatial organisation of collective digging in leaf-cutting ants. PLoS One, 8(2).
- Queiroz-Voltan, R. B., S. D. S. Nogueira, and M. A. C. De Miranda. 2000. Root structural aspects and development of soybean in compacted soils. Pesqui. Agropecu. Bras. 35: 929-938.
- Reinhart, A. and C. R. Genovese. 2019.. Expanding the scope of statistical computing: Training statisticians to be software engineers. arXiv preprint arXiv:1912.13076.
- Römer, D., M. Bollazzi, and F. Roces. 2018. Carbon dioxide sensing in the social context: Leaf-cutting ants prefer elevated CO₂ levels to tend their brood. J. Insect Physiol. 108: 40-47.
- Schwartzman, D. 2002. Life, temperature, and the Earth: the self-organizing biosphere. Columbia University Press.
- Segura, F. R., E. A. Nunes, F. P. Paniz, A. C. C. Paulelli, G. B. Rodrigues, G. U. L. Braga, W. D. Pedreira, F. Barbosa, G. Cerchiaro, F. F. Silva, and B. L. Batista. 2016. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). Environ. Pollut. 218: 813-825.
- Silva, A. C., L. C. D. Cavalcante, J. D. Fabris, R. Franco Júnior, U. M. Barral, M. M. de Melo Farnezi, and H. O. Stumpf. 2017. Chemical, mineralogical and physical characteristics of a material accumulated on the river margin from mud flowing from the collapse of the iron ore tailings dam in Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brazil. Revista Espinhaço. 5: 44-53.
- Stein, C., and G. F. Xavier. 1984. Does substrate density affect the nest depth of *female Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908) (Hymenoptera, Formicidae)? Braz. J. Med. Biol. Res. 17: 297-300.
- Taylor, H. M., and G. S. Brar. 1991. Effect of soil compaction on root development. Soil Tillage Res. 19: 111-119.
- Urey, H.C. 1952. The Planets, their origin and development: new haven. Connecticut, Yale University Press. 245 p
- van Gils, H. A. J. A., A. Gaigl and L. E. Gómez. 2010. The relationship between soil variables and leafcutter ant (*Atta sexdens*) nest distribution in the Colombian Amazon. Insectes sociaux 57: 487-494.
- Venables, W. N. and B. D. Ripley. 2002. Random and mixed effects. In Modern applied statistics with S (pp. 271-300). Springer, New York, NY.
- Wickham, H. 2016. ggplot2: elegant graphics for data analysis. Springer.

- Wohlenberg, E. V., J. M. Reichert, D. J. Reinert, and E. Blume. 2004. Dinâmica da agregação de um solo franco-arenoso em cinco sistemas de culturas em rotação e em sucessão. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 28: 891-900.
- Zhou, X., R. A. Sherry, Y. An, L. L. Wallace, and Y. Luo. 2006. Main and interactive effects of warming, clipping, and doubled precipitation on soil CO₂ efflux in a grassland ecosystem. *Global Biogeochemical Cycles*. 20(1).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os programas de revegetação são importantes e necessários meios para a recuperação das áreas atingidas pelo rejeito de mineração. A presença de formigas cortadeiras nesses locais de revegetação pode apresentar risco à sobrevivência de mudas, uma vez que folhas cultivadas a 100% de rejeito tiveram maior probabilidade de ser transportadas pelas operárias. Caso não seja feito o monitoramento correto dessas áreas, os programas de revegetação podem ter seu sucesso reduzido. Neste contexto a ausência de formigas cortadeiras nesses locais,

Em contraponto, a presença das formigas no solo é relevante devido à atividade de escavação. A partir da escavação as formigas promovem a regeneração da cobertura vegetal, permitem a aeração do solo, disponibilizam matéria orgânica e contribuem para o bom desenvolvimento das raízes de plantas mais próximas. Todos esses benefícios resultantes do intemperismo atuam principalmente em estágios iniciais de sucessão ecológica. A ausência total de formigas cortadeiras comprometeria seu importante papel biogeoquímico nessas áreas. Sendo assim, populações controladas de formigas cortadeiras podem otimizar a recuperação dos solos atingidos por lama, contendo rejeitos de mineração, advindos do rompimento da barragem.

Os estudos realizados levantam pertinentes questões a serem pesquisadas, tais como: (i) a realização de um estudo sobre a diversidade microrganismos que estão presentes no rejeito de mineração e (ii) análises químicas do solo antes e após a atividade de escavação por formigas cortadeiras, a fim de confirmar a reação de Urey .