

Universidade Federal de Ouro Preto

Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais

A contaminação de mel e pólen por metais pesados e o transporte de metais em uma cadeia alimentar, na região do atingida pelo rompimento da barragem de Fundão (MG)

Leonardo Barbosa Rangel

Ouro Preto

2020

Leonardo Barbosa Rangel

A contaminação de mel e pólen por metais pesados e o transporte de metais em uma cadeia alimentar, na região do atingida pelo rompimento da barragem de Fundão (MG)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Ecologia.

Orientadora: Yasmine Antonini

Co-orientadoras: Alessandra Rodrigues Kozovits
Maria Cristina T. Braga Messias

Ouro Preto

2020

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

R196c Rangel, Leonardo Barbosa .

A contaminação de mel e pólen por metais pesados e o transporte de metais em uma cadeia alimentar, na região atingida pelo rompimento da barragem de Fundão (MG). [manuscrito] / Leonardo Barbosa Rangel. - 2020.

112 f.

Orientadora: Profa. Dra. Yasmine Antonini.

Coorientadores: Profa. Dra. Alessandra Rodrigues Kozovits, Profa. Dra. Maria Cristina Teixeira Braga Messias.

Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro Preto. Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais.

Área de Concentração: Evolução e Funcionamento de Ecossistemas.

1. Metais. 2. Abelhas. 3. Vespas. 4. Recursos Alimentares . 5. Cadeias alimentares (Ecologia). I. Antonini, Yasmine. II. Kozovits, Alessandra Rodrigues. III. Messias, Maria Cristina Teixeira Braga. IV. Universidade Federal de Ouro Preto. V. Título.

CDU 574



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE
BIOMAS TROPICAIS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Leonardo Barbosa Rangel

A contaminação de mel e pólen por metais pesados e o transporte de metais em uma cadeia alimentar, na região atingida pelo rompimento da Barragem de Fundão (MG)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia de Biomas Tropicais da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia de Biomas Tropicais

Aprovada em 21 de julho de 2020.

Membros da banca

Dra. Yasmine Antonini Itabaiana - Orientador(a) (Universidade Federal de Ouro Preto)

Dr. Hermínio Arias Nalini Junior - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Dr. Gustavo Junior da Silva Araujo - (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)

Yasmine Antonini Itabaiana, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 18/01/2021.



Documento assinado eletronicamente por **Danon Cledes Cardoso, COORDENADOR(A) DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE BIOMAS TROPICAIS**, em 20/01/2021, às 19:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0125080** e o código CRC **EFF680F1**.

Aos atingidos pelo rompimento de Fundão,
Aos criadores de abelhas nativas sem-ferrão,
E, às pessoas que confiaram e acreditaram na realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo o que me proporciona, pelas conquistas que me trouxeram até aqui.

À minha mãe e ao meu pai, pelo porto seguro desde a infância, e pelos esforços que fizeram para cuidar dos filhos.

Aos meus filhos, por dar razão a minha existência e me fazer feliz todos os dias.

À Alexandra, por todo amor, companheirismo e apoio.

Agradeço às professoras Dra. Yasmine Antonini, Dra. Maria Cristina T. B. Messias e Dra. Alessandra R. Kozovits, pela oportunidade, paciência, diretrizes e confiança.

À Adriana Trópia de Abreu pelo auxílio, ensinamentos e dedicação em laboratório com minhas amostras e análises, que foi de enorme ajuda para que tudo acontecesse.

Aos funcionários Rubens Gonzaga Modesto, da secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais; Antônio Celso Torres, do laboratório de Geoquímica Ambiental; e George Alberto Dias e Davi Oliveira e Silva, do Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente, da UFOP, pelo apoio.

Aos professores do programa, que direta ou indiretamente contribuíram para o meu desenvolvimento do pensamento científico.

À Nathália de Oliveira Nascimento, pela ajuda no início do trabalho; Graziela França Monteiro e Marina do Vale Beirão pela ajuda com estatísticas e gráficos. E, aqueles que me apoiaram, incentivaram, informaram, responderam e deram suporte a este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais.

À FAPEMIG pelas bolsas concedidas e à Fundação RENOVA pela parceria no projeto.

A realização deste trabalho me proporcionou grande gratificação, quanto ao aprendizado relacionado à pesquisa desenvolvida e mais ainda pela paixão pelas abelhas nativas que foi desencadeada e me levou a iniciar a criação. MUITO OBRIGADO! Gratidão por ter feito este caminhar!

A todos os pesquisadores que dedicam suas vidas e seu tempo a preservação das abelhas e entendem a importância delas para o ambiente e a humanidade.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

Elementos potencialmente tóxicos como os metais e metaloides podem ser transferidos do ambiente (solo, atmosfera e água) para os organismos. A exposição dos organismos a níveis tóxicos de metais pode ter um alto custo para os organismos, com efeitos negativos diretos sobre os indivíduos, afetando os polinizadores e predadores, e efeitos indiretos sobre o funcionamento dos ecossistemas. As abelhas sociais e seus recursos alimentares (mel e pólen) têm sido usadas sistematicamente em estudos de contaminação ambiental, representando satisfatoriamente a contaminação do solo e da atmosfera por diversos poluentes. Já, as abelhas e vespas solitárias nunca foram utilizadas anteriormente com o propósito de quantificar elementos potencialmente tóxicos na cadeia trófica, embora formam um sistema ideal para o estudo de interações tróficas. Este trabalho, dividido em dois capítulos, teve os objetivos de avaliar a contaminação de metais (Al, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, V e Zn) e o metaloide arsênio (As) no mel e pólen estocados nos ninhos de uma espécie de abelha social nativa com grande abundância nos ecossistemas da região, *Tetragonisca angustula* (capítulo 1); e em componentes da cadeia alimentar das abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existent (capítulo 2), em uma região impactada pelo rompimento da barragem de rejeitos de minério de ferro, Fundão (Minas Gerais, Brasil). Os resultados das análises do mel e do pólen mostram que as concentrações de alguns elementos são maiores em áreas diretamente impactadas pelo rompimento de Fundão, enquanto outros foram encontrados em menores concentrações, em comparação com a área controle e as áreas não impactadas, e outros não diferiram significativamente. No entanto, de modo geral, as concentrações encontradas não foram altas em comparação com os valores reportados em outros estudos no Brasil e no mundo, exceto para o elemento Mn, no pólen. Já as análises dos componentes das cadeias alimentares das abelhas e vespas solitárias revelou não haver diferenças significativas nas concentrações dos elementos entre as áreas impactadas e não impactadas, no entanto foram observadas diferenças na concentração da maioria dos elementos entre os níveis tróficos e entre as regiões amostradas. O uso de abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades se mostrou uma ferramenta promissora para estudos de contaminação ambiental e do transporte de contaminantes em cadeias alimentares, e possuem ainda grande potencial para estudos futuros sobre os efeitos e mecanismos de ação de contaminantes, sobre diferentes espécies de polinizadores e predadores, e das possíveis implicações ecológicas e evolutivas da exposição aos diferentes contaminantes.

Palavras-chaves: contaminação ambiental; biomonitoramento; metais; metaloide; abelhas; vespas; recursos tróficos; cadeias alimentares;

ABSTRACT

Abstract: Potentially toxic elements, such as metals and metalloids, can be transferred from the environment (soil, atmosphere and water) to organisms. Exposure of organisms to toxic levels of metals can have a high cost for organisms, with direct negative effects on individuals, affecting pollinators and predators; and indirect effects on ecosystems functioning. Social bees and their food resources (honey and pollen), have been used systematically in studies of environmental contamination, satisfactorily representing the contamination of soil and atmosphere by various pollutants. On another hand, the solitary bees and wasps have never been used with the purpose of quantifying metals/metalloids in the trophic chain, although they form an ideal system for the study of trophic interactions. This work, divided into two chapters, aimed to assess the metals Al, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, V and Zn, and the metalloid As contamination in the honey and pollen stored in the nests of the native social (stingless) bee *Tetragonisca angustula* Latreille (chapter 1), which is highly abundant in the region's ecosystems; and in components of the trophic chain of solitary bees and wasps that nest in pre-existing cavities (chapter 2), in a region impacted by the rupture of the iron ore tailings dam, Fundão (Minas Gerais, Brazil). The results of the analyses of honey and pollen show that the concentrations of some elements are higher in areas directly impacted by the Fundão rupture, while others were found in lower concentrations, in comparison with the control area and the non-impacted areas, and others did not differ significantly. However, in general, the concentrations we found were not high compared to the values reported in other studies in Brazil and worldwide, except for Mn in pollen. The analysis of the components of the food chains of solitary bees and wasps revealed that there were no significant differences in the concentrations of the elements between the impacted and non-impacted areas, however differences were observed in the concentration of most elements between the trophic levels and between the sampled regions. The use of solitary bees and wasps that nest in cavities proved to be a promising tool for studies of environmental contamination and the transport of contaminants in food chains, and they also have great potential for studies of the effects of contaminants on biological parameters of different pollinators and predators species, and the possible ecological and evolutionary implications of exposure to different contaminants.

Keywords: Fundão tailings dam; environmental contamination; biomonitoring; metals; metalloid; bees; wasps; trophic resources; food chains;

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
CAPÍTULO 1	34
The dam break of Fundão: impacts of the contamination on bee pollen and honey of the stingless bee <i>Tetragonisca angustula</i> (Apidae: Meliponina)	34
INTRODUCTION	34
METHODS	40
RESULTS	44
DISCUSSION	56
CONCLUSIONS	62
REFERENCES	63
CAPÍTULO 2	71
Metais pesados viajam pelos compartimentos de uma teia trófica em área impactada por rejeito de mineração	71
INTRODUÇÃO	72
MÉTODOS	76
RESULTADOS	81
DISCUSSÃO	87
CONCLUSÃO	91
REFERENCES	92
SUPPLEMENTARY MATERIAL	96

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figure 1. Map with sampling sites for pollen and honey in the region of Gualaxo do Norte River, Minas Gerais, Brazil. Names and number of sites as in table 1

Figure 2: Boxplot representing the chemical concentrations of the elements found in pollen samples from each locality. The symbol “x” represents the mean. Legend: EC = Control area; PC_NA = Paracatu de Cima non-impacted site; PC_A = Paracatu de Cima impacted site; PB_NA = Paracatu de Baixo non-impacted site; PB_A = Paracatu de Baixo impacted site; G_NA = Gesteira non-impacted site; G_A = Gesteira impacted site; BL_NA = Barra Longa non-impacted site; BL_A = Barra Longa impacted site.

Figure 3. Boxplot representing the chemical concentrations of the elements found in honey samples from each locality. The symbol “x” represents the mean. Legend: EC = Control area; PC_NA = Paracatu de Cima non-impacted site; PC_A = Paracatu de Cima impacted site; PB_NA = Paracatu de Baixo non-impacted site; PB_A = Paracatu de Baixo impacted site; G_NA = Gesteira non-impacted site; G_A = Gesteira impacted site; BL_NA = Barra Longa non-impacted site; BL_A = Barra Longa impacted site; different letters (a, b and c) represents significantly differences in means ($p < 0.05$).

Figure 4. PCA biplot obtained from mean concentration of 12 metals/metalloids present in 55 pollen samples, from the impacted and non-impacted studied sites (in Paracatu de Cima, Paracatu de Baixo, Gesteira and Barra Longa), grouped according to the lithostratigraphic unit it belongs, and the control samples. Legend: SBC_NA = The most upstream non-impacted sites; SBC_A = The most upstream impacted sites; MC_NA = The most downstream non-impacted sites; MC_A = The most downstream impacted sites; EC = Control.

Figure 5. PCA biplot obtained from mean concentration of each of the 12 metals/metalloids analyzed in 53 honey samples from the impacted and non-impacted studied sites (in Paracatu de Cima, Paracatu de Baixo, Gesteira and Barra Longa), grouped according to the lithostratigraphic unit it belongs, and São Sebastião do Paraíso. Legend: SBC_NA = The most upstream non-impacted sites; SBC_A = The most upstream impacted sites; MC_NA = The most downstream non-impacted sites; MC_A = The most downstream impacted sites; EC = Control.

Capítulo 2

Figura 1. Modelo conceitual mostrando os caminhos dos metais pesados entre as cadeias tróficas de abelhas e vespas que nidificam em cavidades pré-existentes.

Figura 2. Mapa com os pontos amostrais dos ninhos-armadilha na região do rio Gualaxo do Norte, Minas Gerais, Brasil. Os nomes e localidades dos pontos estão apresentados na tabela.

Figura 3: Conjunto de ninhos armadilha. As abelhas e vespas que nidificam em cavidades pré-existentes, constroem seus ninhos nas cavidades criadas nos blocos de madeira, as quais foram coletadas periodicamente.

Figura 4: Ninho coletado à esquerda e pupas à direita. Os ninhos são subdivididos em câmaras de cria que contém, em cada uma, uma larva e o alimento necessário para o seu desenvolvimento em adulto. Os ninhos podem ser construídos com substratos como solo superficial ou material vegetal. No caso, o ninho foi construído com barro.

Figura 6. Representação NMDS das concentrações dos elementos químicos nos níveis tróficos, por área amostrada, nas regiões com impacto (A) e sem impacto (B).

Figura 5. Representação da concentração média dos metais/metaloídes analisados nas amostras dos componentes da cadeia trófica de abelhas e vespas que nidificam em cavidades pré-existentes.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Table 1. Geographic localization of sampling sites for pollen and honey in the region of Gualaxo do Norte River, Minas Gerais, Brazil. A- Affecred NA Non-Affected

Table 2: Limits of Quantification (LOQ) for the elements in pollen and honey determined by ICP-OES and ICP-MS.

Capítulo 2

Tabela 1: Localização georeferenciada dos pontos amostrais.

Tabela 2. Concentração dos elementos químicos (mg/kg) analisados nas matrizes da cadeia alimentar de abelhas e vespas nas áreas impactadas e não impactadas entre Paracatu de Baixo e Gesteira. Média \pm desvio-padrão.

Supplementary Material

Table S1: Average relative standard deviation of the determination of each element in the samples of honey and pollen and the limits of quantification of each element (in mg/kg).

Table S2: Certified and observed values (in mg / kg) and recovery rate of the elements of the standard reference material NIST 1515 (n = 2, mean \pm standard deviation).

Table S3: Overall mean concentration (mg/kg) and standard deviation (SD) of each metal/metalloid in the honey samples found in the present research and other works in Minas Gerais, in other regions of Brazil and of the world

Table S4: Overall mean concentration (mg/kg) and standard deviation (SD) of each metal/metalloid in the pollen samples found in the present research and other works in Minas Gerais, in other regions of Brazil and of the world.

Table S5: concentration (mg/kg) of each metal/metalloid in each of the pollen samples we found in the present research. This was the data set used in the statistical analysis.

Table S6: concentration (mg/kg) of each metal/metalloid in each of the honey samples we found in the present research. This was the data set used in the statistical analysis.

Table S7: Concentrations (mg/kg) of the 12 studied metals/metalloids found in the blank samples prepared during the digestion cycles of the honey and pollen samples.

Table S8: Concentrações (mg/kg) dos 12 metais/metaloides estudados nas amostras dos componentes das cadeias alimentares de abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes, da região impactada pelo rompimento da barragem de rejeitos de Fundão (Minas Gerais, Brasil). Este foi o conjunto de dados utilizado nas análises.

INTRODUÇÃO GERAL

Os metais/metaloídeos ocorrem naturalmente nos solos e na atmosfera, e alguns são requeridos pelas plantas e demais organismos como nutrientes. No entanto, atividades antrópicas como, a agricultura (aplicação de fertilizantes e agrotóxicos), a indústria (mineração, fundição e manufatura de produtos) e o transporte de bens e pessoas (queima de combustíveis fósseis), contribuem em muito para o aumento da disponibilização e deposição destes elementos nos ambientes (Gall et al., 2015). Adicionalmente, as grandes catástrofes, como o rompimento de barragens de rejeitos, por exemplo, podem causar repentinamente a contaminação de extensas áreas, o que pode perdurar por um longo período de tempo.

A velocidade com que a maioria dos metais e metaloídeos são lançados no ambiente em decorrência das atividades humanas é consideravelmente maior do que o fluxo pelos ciclos naturais (Nriagu, 1989), e a espécie humana já é considerada um dos principais agentes de modificação dos ciclos geoquímicos (Peñeluas & Filella, 2002; Ellis & Ramankutty, 2008). Portanto a poluição ambiental se faz uma das principais preocupações da humanidade (Rahman & Singh, 2019) e é de suma importância o monitoramento de elementos potencialmente tóxicos nas áreas impactadas pelas atividades poluidoras.

Durante os ciclos biogeoquímicos, os compartimentos ambientais solo, atmosfera e biota trocam massas (e elementos químicos) constantemente, simplificadamente: do solo para a atmosfera, por meio do intemperismo do substrato e a subsequente ação do vento, e da atmosfera para o solo, por meio da deposição atmosférica (Derry & Chadwick, 2007); e as plantas, que são a base da cadeia alimentar, absorvem elementos do solo e atmosfera, os quais podem ser transportados ao longo da cadeia trófica pela alimentação (Ali & Khan, 2019).

Alguns metais são essenciais e são necessários como nutrientes pelos seres vivos – como o Fe, Mn, Cu, Ni, Zn, V e Ba –, no entanto quando absorvidos em concentrações elevadas, podem ter efeitos tóxicos (Kabata-Pendias & Szteke, 2015; Spirić et al., 2019). Outros metais como Pb, Cd e Cr e o metaloídeo As, não são essenciais, não têm funções

biológicas, e podem surtir efeitos negativos sobre os organismos, letais ou sub-letais (Boyd, 2010), já em baixas concentrações (Peralta-Videa et al., 2009). Também, o metal Al, que é um dos elementos mais abundantes nos solos e é encontrado comumente nas plantas (Kabata-Pendias & Szteke, 2015) e animais (Exley, 2009), em concentrações elevadas pode causar efeitos negativos para plantas e animais. De modo geral, a toxicidade de um metal/metaloide para um organismo é influenciada por um conjunto de fatores (Luoma & Rainbow, 2005): a especificidade do metal (características químicas e abundância/concentração), os fatores ambientais, a rota de exposição e as características fisiológicas espécie-específicas.

Os organismos precisam de quantidades balanceadas de metais (Ernst, 2006; Ardestani et al., 2014; Filipiak et al., 2017), e, de fato, a composição química dos recursos alimentares pode ser considerada uma importante força evolutiva (Filipiak et al., 2017). Em ambientes naturalmente metalíferos, onde geralmente ocorrem plantas e insetos tolerantes (Gall et al., 2015), os metais que ocorrem em altas concentrações podem atuar como filtros ecológicos (Meindl & Ashman, 2015), por um lado limitando o desempenho e o estabelecimento das espécies pouco tolerantes, e por outro favorecendo as espécies mais tolerantes.

Além do mais, hipóteses sugerem que a capacidade de sobrevivência em ambientes com altas concentrações de metais que podem ser tóxicos para a maioria dos organismos, pode conferir outras vantagens evolutivas, como a proteção contra patógenos e/ou herbívoros, em plantas (Poschenrieder et al., 2006). Por exemplo, em ecossistemas tropicais de altitude com solos metalíferos, no Quadrilátero Ferrífero (Minas Gerais, Brasil), Ribeiro et al. (2016) demonstraram que as concentrações de Al, Fe e Mn em folhas de plantas nativas têm um efeito negativo sobre a taxa de herbivoria.

Mecanismos variados de tolerância e/ou evasão foram desenvolvidos ao longo da evolução, permitindo a sobrevivência das plantas e animais em solos metalíferos (Hall, 2001; Millaleo et al., 2010; Ardestani et al., 2014). Assim, diferentes estratégias podem permitir a absorção, translocação, acúmulo e desintoxicação de metais, essenciais ou não, pelas plantas

(Colangelo & Guerinot 2006). Apesar de que os mecanismos de transporte dos metais metaloides não essenciais não são bem compreendidos, os estudos indicam que os metais não essenciais podem ser absorvidos e transportados pelas plantas pelas mesmas vias dos metais essenciais, pois suas características químicas se assemelham (Morgan & Connolly 2013). Uma variedade de famílias de transportadores podem estar envolvidos no transporte de metais por dentro das plantas, como YSL (*Yellow Stripe Like*), nicotianamina, CDF (*Cation Diffusion Facilitator*) e as proteínas IRT, ZIP e Nramp, alguns dos quais podem ser incapazes de distinguir determinados elementos (Curie et al., 2000; Reid & Hayes, 2003; Schuler & Bauer, 2011; Kolaj-Robin et al., 2015).

Embora as plantas possam evitar a absorção de metais em concentrações elevadas, geralmente os mecanismos envolvidos na absorção dos elementos são mais fortes do que os mecanismos envolvidos na exclusão (Morgan & Connolly, 2013), portanto as plantas tendem a acumular metais. Porém, o potencial que as plantas têm em absorver e acumular ou excluir cada elemento varia de um elemento para outro, e também de uma espécie vegetal para outra. Inclusive, muitas plantas tolerantes que habitam solos metalíferos, e possuem mecanismos de exclusão de determinados elementos em suas raízes, também acabam transportando para os tecidos aéreos os elementos que excluem, mesmo que em baixas concentrações (Schettini et al., 2017).

Algumas plantas (que geralmente habitam em solos metalíferos) possuem adaptações especiais que podem permitir o acúmulo de concentrações consideravelmente altas de um ou mais elementos nos tecidos aéreos, geralmente envolvendo a quelação dos íons metálicos ou o acúmulo em vacúolos nas folhas, tornando-os inertes (Ernst, 2006). Já foram identificadas a expressão de vários genes em plantas que revelam envolvimento na tolerância a níveis elevados de metais, como os genes das fitoquelatinas, metalotioneínas e metal pesado-ATPase (Chaudhary et al., 2018). Estes genes são responsáveis pela produção de estruturas envolvidas na inativação, na quelação, na desintoxicação e na homeostase de metais nas plantas, as quais

são expressas em quantidades elevadas nas plantas hiperacumuladoras (Chaudhary et al., 2018).

Metais e metaloides, quando transportados para os órgãos superiores, como as folhas e as flores - os quais contêm os recursos tróficos dos herbívoros e polinizadores -, podem entrar na cadeia alimentar de invertebrados terrestres, podendo afetar as abelhas (polinizadoras) e as vespas (as quais são predadoras de herbívoros ou predadores de herbívoros), e os serviços ecossistêmicos desempenhados por eles (Skaldina & Sovari, 2019). Além da entrada nas cadeias tróficas por meio das plantas (Gall et al., 2015), é possível que ocorra absorção de metais/metaloides diretamente pela ingestão de partículas depositadas sobre os alimentos ingeridos, ou ainda, por meio da superfície corporal e da respiração (Chapman, 2008), conferindo um perigo para as comunidades biológicas, incluindo os humanos. Portanto, a contaminação do meio ambiente com elementos potencialmente tóxicos para os organismos deve(ria) ser uma das principais preocupações da sociedade em relação as consequências das atividades antrópicas.

Em animais, podem ser observados mecanismos fisiológicos, semelhantes aos observados em plantas, que permitem a tolerância até certos níveis de determinados metais no organismo, geralmente envolvendo a quelatação e inativação dos íons metálicos, ou a excreção (Boyd & Rajakaruna, 2013). No entanto, em ambientes contaminados, onde a concentração de um ou mais elementos encontram-se suficientemente altas, podem ocorrer prejuízos em nível fisiológico e comportamental nos insetos que não possuem mecanismos eficientes de tolerância, resultando na diminuição das populações e da biodiversidade (Mogren & Trumble, 2010).

Por outro lado, a tolerância também tem um custo energético metabólico, pois a produção das estruturas envolvidas na proteção do organismo implica em um gasto de energia que poderia ser usada na produção de outras estruturas, ou seja, há um *trade-off* de menor produção por maior sobrevivência (Walker et al., 2012). Por exemplo, em plantas, a produção

de fitoquelatinas e metalotioneínas, para a desintoxicação de metais como As, Cd e Cu, envolve gastos (energia, S e N), que seriam investidos no metabolismo primário (Ernst, 2006). Em ambientes metalíferos ou contaminados, geralmente são observadas menores biomassas e taxas de reprodução em plantas em comparação com ambientes com baixas concentrações de metais (Ernst, 2006). Cruz et al. (2020) demonstraram que cinco espécies arbóreas, nativas da Mata Atlântica e que ocorrem na região da bacia do Rio Doce, apresentaram menor biomassa durante o crescimento inicial em áreas impactadas pela deposição de rejeitos de Fundão, do que em áreas não impactadas, no entanto o ocorrido foi associado às limitações nutritivas, devido à baixa disponibilidade de nutrientes, baixo teor de matéria orgânica e baixa capacidade de troca catiônica nos rejeitos.

Em abelhas já foram demonstrados diversos efeitos negativos de metais/metaloides contaminantes. Em um gradiente de contaminação de As e Cd de fontes industriais, foram encontradas menores biomassas, quantidade de indivíduos e menor produção de mel em *Apis mellifera* (Bromenshenk et al., 1991). Em gradientes de poluição ambiental (principalmente dos elementos Cd, Pb e Zn), nas áreas mais próximas as fontes poluidoras (indústrias de fundição de zinco e chumbo), foram encontradas menores biomassas e sobrevivência dos emergentes em *Osmia rufa* (Moroń et al., 2014). Nos mesmos gradientes de poluição ambiental, um na Polônia e o outro no Reino Unido, também foram encontradas nos locais mais poluídos, menor diversidade e abundância de abelhas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes e maior proporção de indivíduos mortos da abelha solitária *Megachile ligniseca* (Moroń et al., 2012). Também, o tamanho das asas em *Osmia bicornis* apresentou correlação negativa com a contaminação ambiental no gradiente de contaminação de Cd, Pb e Zn, próximo a uma indústria de fundição de zinco, na Polônia (Szentgyorgyi et al., 2017).

Além do mais, a exposição a níveis elevados de metais pode afetar a comunicação química entre os organismos, por exemplo, prejudicando habilidade de plantas em detectar

sinais químicos voláteis (Boyd, 2010) e de insetos, em detectar informações químicas variadas (para uma revisão veja, Lurling & Scheffer, 2007). Estudos comportamentais em abelhas e outros insetos, que utilizam sinais químicos, indicam que metais podem afetar o processamento de informações olfatórias, bem como o aprendizado e a memória, conseqüentemente afetando capacidades cognitivas necessárias para o forrageamento (Klein et al., 2017). Além das interações entre plantas e polinizadores, outras interações de grande importância ecológica podem ser afetadas por metais contaminantes, como as interações presas-predadores, interações simbióticas e também interações intraespecíficas, como o acasalamento (Lurling & Scheffer, 2007).

Os poluentes (dentre eles, metais e metaloides), têm sido apontados como entre os principais responsáveis pelo declínio global nas populações das abelhas, perturbando funções cerebrais, afetando o desempenho dos indivíduos e comprometendo as colônias (Klein et al., 2017). Estudos recentes (alguns dos quais realizados em laboratório, e outros em gradientes de contaminação ambiental) têm avaliado os efeitos da ingestão de dietas contendo níveis variados de metais/metaloides por abelhas, como Al, Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb e As, observando-se, de modo geral, efeitos negativos associados ao aumento nas concentrações, sobre o comportamento (Meindl & Ashman, 2013; Søvik et al., 2015; Chicas-Moiser et al., 2015; Xun et al., 2017; Burden et al., 2019; Chicas-Moiser et al., 2019) e o desenvolvimento de abelhas (Di et al., 2016; Szentgyorgyi et al., 2017), sobre a performance das colônias (Bromenshenk et al., 1991; Hladun et al., 2016), e também sobre a diversidade e composição de polinizadores (Meindl & Ashman, 2015), o que pode surtir efeitos secundários sobre as plantas e os outros organismos.

A avaliação dos riscos à saúde humana e para os ecossistemas em áreas poluídas em decorrência de atividades antrópicas é desafiadora. O estabelecimento de limites de concentrações de metais/metaloides não essenciais considerados seguros para a saúde humana ou de outros seres vivos é questionável (Moullis et al., 2020), além de serem restritos a poucos

elementos. Os mecanismos de ação e os efeitos de muitos elementos não são bem compreendidos (Ali et al., 2019) e a presença de múltiplos elementos, pode resultar em efeitos somatórios, sinérgicos ou antagonistas (Boyd, 2010; Mogren & Trumble, 2010). Os efeitos adversos podem ocorrer desde a escala intracelular até a interespecífica (Lurling & Sheffer, 2007), afetando os organismos e os ecossistemas, diretamente ou indiretamente, mesmo em concentrações não consideradas tóxicas para os humanos (Søvik et al., 2015).

O transporte de metais pelos níveis tróficos é um fenômeno complexo (Bañuelos & Ajwa, 1999). De acordo com Kabata-Pendias (2004), as plantas podem absorver facilmente elementos em solução no solo. No entanto, a solubilização dos elementos no solo é dependente das propriedades físico-químicas dos compostos e das propriedades do solo (Cataldo & Wildung, 1978), além de fatores climáticos e biológicos (Kabata-Pendias, 2004). Além do mais, os metais/metaloídeos podem viajar de um nível trófico para o outro, por meio da cadeia alimentar, no entanto as respostas fisiológicas podem variar de um organismo para outro, para cada elemento, podendo ocorrer de um nível trófico para outro, a biotransferência, a bioacumulação ou a biomagnificação (Ali & Khan, 2019).

Os artrópodes tem sido utilizados em diversos estudos de contaminação ambiental, indicando os níveis de contaminantes no ambiente (Negri et al., 2015; Oliveira et al., 2016, Smith et al., 2019) e bioacumulação nos níveis tróficos superiores (Heikens et al., 2001, Peterson et al., 2003, Nummelin et al., 2007, Conti et al., 2017, Conti et al., 2018, Dar et al., 2019). O uso das abelhas sociais e os seus recursos alimentares (mel e pólen) estão entre as principais técnicas usadas no monitoramento ambiental (Al-Alam et al., 2019), sendo reconhecido há décadas (veja revisão em, Herrero-Latorre et al., 2017).

As colônias das abelhas sociais (Himenoptera, Apidae) são compostas por milhares de indivíduos, os quais cerca de $\frac{1}{4}$ são polinizadores ativos e interagem, cada um, em cada voo em busca de recursos, com centenas de flores para completar o estômago com néctar e a cobrícula com pólen (Celli, 1992). O corpo das abelhas, repleto de pelos, as torna propensas a

transportar partículas presentes no ambiente para o ninho por aderência, assim contaminantes presentes no material particulado atmosférico ou sobre as superfícies as quais as abelhas entram em contato são acumulados nos produtos estocados nos ninhos (Negri et al., 2015; Herrero-Latorre et al., 2017; Al-Alam et al., 2019).

Cada forrageador atua como um micro-amostrador levando para o ninho um grande conjunto de amostras de pólen, néctar e, ao mesmo tempo, partículas suspensas no ar e/ou depositadas sobre as superfícies as quais as abelhas entram em contato na área de entorno do ninho (Van der Steen et al., 2016). O néctar e o pólen contêm elementos que podem ter sido absorvidos via radicular e/ou foliar (Kalbande et al., 2008; Shahid et al., 2016; Xun et al., 2017; Luo et al., 2019). Portanto, os elementos presentes no mel e no pólen estocados no ninho das abelhas representam os elementos presentes no ambiente (solo e atmosfera, principalmente), no entorno do ninho, na área onde os recursos foram coletados.

Uma das espécies de abelhas sociais nativas mais abundantes e bem distribuídas nos ecossistemas brasileiros é a abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Imperatriz-Fonseca et al., 1984), popularmente conhecida como Jataí. No Brasil, as abelhas sem ferrão nativas são responsáveis por 40 a 90% da polinização das árvores nativas (Kerr et al., 1996) e representam uma grande proporção da biomassa dos insetos polinizadores (Pioker-Hara et al., 2014). Portanto, as abelhas nativas têm um papel importante no sucesso reprodutivo das plantas, podendo afetar a composição das florestas tropicais (Samejima et al., 2004).

As colônias de *Tetragonisca angustula* Latreille (Apidae, Meliponina) são compostas por entre 2000 e 5000 abelhas (Nogueira-Neto, 1970), e, comparando-as com as abelhas do gênero *Apis*, elas coletam recursos em uma área muito menor. Para a espécie de *T. angustula*, 75% da atividade de forrageamento ocorre dentro de 290 m de distância do ninho (Nieuwstadt & Iraheta, 1996), portanto, em termos de monitoramento ambiental, os elementos presentes no mel e pólen estocados no ninho representam, majoritariamente, os elementos presentes no ambiente, dentro deste raio de distância. Em suma, *T. angustula* distribui-se amplamente nos

ecossistemas regionais, tem hábitos generalistas (tanto de nidificação, como alimentares), e um papel importante na polinização da flora nos biomas tropicais (Braga et al., 2012), portanto esta abelha tem grande potencial no monitoramento ambiental na região, além de uma grande importância ecológica.

As abelhas e vespas solitárias também possuem grande importância pelas funções ecológicas desempenhadas (como polinizadoras e predadoras) e possuem grande potencial para estudos de contaminação ambiental. Com a técnica do uso de ninhos-armadilha, desenvolvida por Krombeim (1967), as abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes podem indicar mudanças ambientais, por meio de análises da diversidade e abundância de espécies, bem como da avaliação de parâmetros biológicos, como o número da prole, a mortalidade das crias, biomassa, etc. (Krombeim, 1967; Tschardt et al., 1998; Morón et al., 2012; Morón et al., 2014; Araújo et al., 2018a; Araújo et al., 2018b; para uma revisão veja Staab et al., 2018). Embora esta técnica tenha grande potencial para estudos da transferência de contaminantes na cadeia trófica, até onde sabemos pouquíssimos estudos fizeram o uso de ninhos armadilha para a captura de abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes, para o estudo de contaminantes no sistema pólen-abelhas (Morón et al., 2012; Morón et al., 2014); e os sistemas formados por presas-vespas solitárias ainda não foram explorados. Judd et al (2017) analisaram o perfil nutritivo da vespa solitária *Trypoxylon lactitarse* e determinaram as concentrações totais de Cu, Fe, Mn e Zn em larvas e pupas (adultos imaturos), no entanto o alimento larval (as presas, que geralmente são outros invertebrados) não foi analisado.

A região do Quadrilátero Ferrífero (QF), em Minas Gerais, é caracterizada pela presença de grande concentração de minérios e por solos naturalmente ricos em Fe, Mn e Al e diversos outros metais e metalóides (como As, por exemplo) (Souza et al., 2015). Portanto, é uma região atrativa para as mineradoras, sendo considerada uma das regiões mais importantes para a produção mineral nacional, e conhecida mundialmente pelas suas reservas (Deschamps

et al. 2002). Concomitantemente, o QF está sujeito aos problemas potenciais derivados da atividade mineradora, tais como a poluição do solo, da água e do ar – durante a exploração do minério, a criação de barragens, águas residuais e emissão de poeira, ou, eventualmente, pelo rompimento de barragens de rejeitos. Os elementos presentes nos rejeitos podem ser remobilizados para a atmosfera, solos, água e biosfera pelo intemperismo físico e/ou reações biogeoquímicas (Hudson-Edwards 2016).

. No dia 05 de novembro de 2015, o rompimento da barragem de rejeitos de minério de ferro “Fundão” (Marina, Minas Gerais), que continha aproximadamente 50 milhões de m³ de rejeitos, liberou cerca de 34 milhões de m³ de rejeitos rio abaixo, atingindo a barragem Santarém e em seguida os rios Gualaxo do Norte, do Carmo e Doce, e posteriormente o oceano Atlântico (IBAMA, 2015). Solos e sedimentos, historicamente contaminados por minerações na bacia do Rio do Carmo (Costa et al., 2006; Rodrigues et al., 2014), foram dispersos pelo fluxo de rejeitos após o rompimento de Fundão (Davila et al., 2020). O forte fluxo dos rejeitos rio abaixo provocou a alteração do leito do rio, através do grande deslocamento de massa (erosão) e pelo acúmulo (deposição) de rejeitos nos canais, nas planícies de inundação e no reservatório da Usina Hidrelétrica Risoleta Neves (Carmo et al., 2017).

Estimativas indicam que 457,6 ha de florestas e 1.176,6 ha de outras áreas que não florestas foram inundadas pelos rejeitos, principalmente nos 74 km iniciais a partir da barragem (Omachi et al., 2018), sendo diretamente atingidos 835,3 ha (hectares) classificados na legislação brasileira (lei nº12,651, 25 de maio de 2012) como Áreas de Preservação Permanente (APP), nas bacias dos rios Gualaxo do Norte e do Carmo (IBAMA, 2016). Na região, aproximadamente 90% dos habitats ripários foram impactados pela deposição direta de rejeitos, que podem conter metais e metalóides em concentrações tóxicas (Fernandes et al., 2016). Áreas utilizadas para agricultura (Sanches et al., 2018, Davila et al., 2020), e 21km de estradas rurais também foram afetadas (Carmo et al., 2017). Portanto, áreas de grande

importância ecológica para os ecossistemas locais e regionais, bem como para a saúde humana, foram impactadas.

Os habitats ripários tem uma grande importância ecológica para os ecossistemas terrestres, tanto como habitats de muitas espécies em si, como para a dispersão de muitas espécies de plantas e animais, incluindo as abelhas (Brito et al., 2017; Gutiérrez-Chacón et al., 2019). Estes habitats são uma importante fonte de abrigo e recursos alimentares para as abelhas e vespas (Araújo et al., 2018b). Essas áreas são classificadas como Área de Preservação Permanente (APP) na legislação brasileira (lei nº12,651, 25 de maio de 2012) (Brasil, 2012), devido a grande importância para a biodiversidade, conectando áreas de vegetação, principalmente em paisagens fragmentadas pela ocupação humana. Além do mais, essa conexão entre as áreas por meio de corredores ecológicos permite um maior fluxo gênico e, portanto maior diversidade genética nas populações remanescentes, consequentemente aumentando a resistência e a resiliência à condições adversas.

A possibilidade de contaminação ambiental por elementos que podem ser tóxicos para os organismos (tais como, os metais e metaloides), nas áreas impactadas pelo rompimento de Fundão, é uma das principais preocupações para a sociedade (Davila et al., 2020). Portanto, estudos tem sido realizados a fim de analisar as características físicas, químicas e biológicas, após o rompimento de Fundão, do material presente nos rios (sedimentos e água) (Hatje et al., 2017; Segura et al., 2016; Valeriano et al., 2019, Reis et al., 2020), em suas margens (solos das planícies de inundação ou estuários) (Silva et al., 2016; Guerra et al., 2017; Almeida et al., 2018; Queiroz et al., 2018; Davila et al., 2020) e no material particulado atmosférico (poeira) (Fernandes et al. 2019). Ensaio toxicológicos também foram realizados com organismos modelo como o peixe *Geophagus brasiliensis* (Gomes et al. 2019) e o vegetal *Allium cepa* (Segura et al. 2016). No entanto, até o momento, não se sabe como os polinizadores e predadores terrestres e seus recursos alimentares foram afetados pelo impacto do rompimento de Fundão.

Tais estudos, em diferentes compartimentos ambientais, são fundamentais como parte da avaliação dos riscos para a saúde humana e ecossistêmica, bem como para o planejamento de ações. Eventos extremos, como a inundação provocada pelo rompimento de uma barragem de rejeitos de mineração, podem afetar a quantidade e a qualidade dos recursos disponíveis (recursos florais, presas e/ou locais para nidificação), afetando as comunidades de insetos polinizadores e predadores, como as abelhas e vespas (Erenler et al. 2020). Não se sabe se metais/metaloídes dispersos pelo ambiente nas áreas atingidas pela inundação provocada pelo rompimento de Fundão estão sendo alocados em componentes da cadeia trófica e/ou em seus produtos (que inclusive podem ser consumidos pela população humana – como mel e pólen).

Resumindo, a composição química dos recursos alimentares para os animais e a composição química do solo para as plantas, atuam como importantes forças ecológico-evolutivas, afetando a biodiversidade, o funcionamento dos organismos e dos ecossistemas. Portanto, a contaminação ambiental pode ter implicações sobre diversos níveis de organização biológica, de curto à longo prazo de tempo. Neste contexto, o presente trabalho de dissertação, dividido em dois capítulos, teve o objetivo de avaliar se metais/metaloídes potencialmente tóxicos para os organismos estão sendo alocados (no período da pesquisa e nas áreas estudadas) nos alimentos estocados nos ninhos da abelha nativa *Tetragonisca angustula* (mel e pólen) – primeiro capítulo –, e em componentes das cadeias tróficas formadas pelas abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes e seus recursos tróficos – segundo capítulo –, comparando-se as concentrações dos elementos entre áreas diretamente impactadas pela inundação de rejeitos oriundos do rompimento de Fundão e áreas não impactadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Alam, J.; Chbani, A.; Faljoun, Z.; Millet, M. The use of vegetation, bees, and snails as important tools for the biomonitoring of atmospheric pollution – a review. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 26, n. 10, p. 9391-9408, 2019.
- Ali, H.; Khan, E. Trophic transfer, bioaccumulation, and biomagnification of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in food chains/webs – Concepts and implications for wildlife and human health. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v.25, n.6, p. 1353-1376, 2019.
- Ali, H.; Khan, E.; Ilahi, I. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. **Journal of Chemistry**, v. 2019, 2019.
- Almeida, C.A.; Oliveira, A.F.; Pacheco, A.A.; Lopes, R.P.; Neves, A.A.; De Queiroz, M.E.L.R. Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin–Brazil. **Chemosphere**, v. 209, p. 411-420, 2018.
- Ardestani, M.M; Straalen, N.M.; Gestel, C.A.M. Uptake and elimination kinetics of metals in soil invertebrates: A review. **Environmental Pollution**, v. 193, p. 277-295, 2014.
- Araújo, G.J.; Fagundes, R.; Antonini, Y. Trap-nesting hymenoptera and their network with parasites in recovered Riparian forests Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 47, n. 1, p. 26-36, 2018a.
- Araújo, G.J.; Monteiro, G. F.; Messias, M.C.T.B.; Antonini, Y. Restore it, and they will come: trap-nesting bee and wasp communities (Hymenoptera: Aculeata) are recovered by restoration of riparian forests. **Journal of Insect Conservation**, v. 22, n. 2, p. 245-256, 2018b.
- Bañuelos, G.S.; Ajwa, H. Trace elements in soils and plants: an overview. **Journal of Environmental Science and Health, Part A, Toxic Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 34, n. 4, p. 951-974, 1999.
- Boyd, R.S. Heavy metal pollutants and chemical ecology: Exploring new frontiers. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 1, p. 46-58, 2010.
- Braga, A.B.; Oliveira, E.S.; Neto, J.S.; Conde, M.M.; Barth, O.M.; Lorenzon, M.C. Floral sources to *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) and their pollen morphology in a southeastern Brazilian Atlantic Forest. **Revista de Biología Tropical**, v. 60, n. 4, p. 1491-1501, 2012.
- Brasil. Lei n° 12,651, 25 de maio de 2012. 2012. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Lei/L12651.htm#art83>
- Bromenshenk, J.J.; Gudatis, J.L.; Carlson, S.R. Thomas, J.M.; Simmons, M.A. Population dynamics of honey bee nucleus colonies exposed to industrial pollutants. **Apidologie**, v. 22, n. 4, p. 359-369, 1991.

- Burden, C.M.; Morgan, M.O.; Hladun, K.R.; Amdam, G.V.; Trumble, J.J.; Smith, B.H. Acute sublethal exposure to toxic heavy metals alters honey bee (*Apis mellifera*) feeding behavior. **Scientific Reports**, v. 9, n.1, p. 1-10, 2019.
- Boyd, R.S.; Rajakaruna, N. Heavy metal tolerance. **Oxford University Press**, 2013.
- Brito, T.F.; Phifer, C.C.; Knowlton, J.L.; Fiser, C.M.; Becker, N.M.; Barros, F.C.; Contrera, F.A.L.; Maués, M.M.; Juen, L.; Montag, L.F.A.; Webster, C.R.; Flaspohler, D.J.; Santos, M.P.D.; Silva, D.P. Forest reserves and riparian corridors help maintain orchid bee (Hymenoptera: Euglossini) communities in oil palm plantations in Brazil. **Apidologie**, v. 48, n. 5, p. 575-587, 2017.
- Carmo, F.F.; Kamino, L.H.Y; Tobias Junior, R.; Campos, I.C.; Carmo, F.F.; Silvino, G.; Castro, K.J.S.X; Mauro, M.L.; Rodrigues, N.U.A.; Miranda, M.P.S.; Pinto, C.E.F. Fundação tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 15, n. 3, p. 145-151, 2017.
- Cataldo, D.A.; Wildung, R.E. Soil and plant factors influencing the accumulation of heavy metals by plants. **Environmental Health Perspectives**, v. 27, p. 149-159, 1978.
- Celli, G. Bio-indicators in the monitoring of environmental pollution. **Aerobiologia**, v. 8, n. 1, p. 115-121, 1992.
- Chapman, P.M. Environmental risks of inorganic metals and metalloids – a continuing, evolving, scientific odyssey. **Human and Ecological Risk Assessment**, v.14, n.1, p. 5-40 2008.
- Chaudhary, K.; Agarwal, S.; Khan, S. Role of phytochelatins (PCs), metallothioneins (MTs), and heavy metal ATPase (HMA) genes in heavy metal tolerance. In: **Mycoremediation and Environmental Sustainability**. Springer, Cham. p. 39-60, 2018.
- Chicas-Mosier, A.M.; Cooper, B.A.; Melendez, A.M.; Pérez, M.; Oskay, D.; Abramson, C.I. The effects of ingested aqueous aluminum on floral fidelity and foraging strategy in honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Toxicology and Safety**, v. 143, p. 80-86, 2017.
- Chicas-Mosier, A.M.; Dinges, C.W.; Agosto-Rivera, J.L.; Giray, T.; Oskay, D.; Abramson, C.I. Honey bees (*Apis mellifera* spp.) respond to increased aluminum exposure in their foraging choice, motility, and circadian rhythmicity. **PloS One**, v. 14, n. 6, p. e0218365, 2019.
- Colangelo, E.P.; Guerrinot, M.L. Put the metal to the petal. Metal uptake and transport throughout plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 3, p. 322-330, 2006.
- Conti, E.; Costa, G.; Liberatori, G.; Vannuccini, M. L.; Protano, G.; Nannoni, F.; Corsi, I. Ariadna spiders as bioindicator of heavy elements contamination in the Central Namib Desert. **Ecological indicators**, v. 95, p. 663-672, 2018.
- Conti, E.; Dattilo, S.; Costa, G.; Puglisi, C. The ground beetle *Parallelomorphus laevigatus* is a potential indicator of trace metal contamination on the eastern coast of Sicily. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 183-190, 2017.

- Costa, A.T.; Nalini, H.A.; Castro, P.T.A.; Lena, J.C.; Morgenstern, P.; Friese, K. Sediment contamination in floodplains and alluvial terraces as an historical record of gold exploitation in the Carmo River basin, Southeast Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brazil. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 34, n. 3, p. 245-256, 2006.
- Curie, C.; Cassin, G.; Couch, D.; Divol, F.; Higuchi, K.; Jean, M.; Misson, J.; Schikora, A.; Czernic, P.; Mari, S. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. **Annals of Botany**, v. 103, n. 1, p. 1-11, 2009.
- Dar, M.I.; Green, I.D.; Khan, F.A. Trace metal contamination: Transfer and fate in food chains of terrestrial invertebrates. **Food Webs**, v. 20, p. e00116, 2019.
- Davila, R.B.; Fontes, M.P.F.; Pacheco, A.A.; Ferreira, M.S. Heavy metals in iron ore tailings and floodplain soils affected by the Samarco dam collapse in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 709, p. 136151, 2020.
- Souza, J.J.L.L.; Abrahão, W.A.P.; Mello, J.W.V.; Silva, J.; Costa, L.M.; Oliveira, T.S. Geochemistry and spatial variability of metal(loid) concentrations in soils of the state of Minas Gerais, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 505, p. 338-349, 2015.
- Derry, L.A.; Chadwick, O.A. Contributions from Earth`s atmosphere to soil. **Elements**, v. 3, n. 5, p. 333-338, 2007.
- Deschamps, E.; Ciminelli, V.S.T; Lange, F.T.; Matschullat, J.; Raue, B.; Schmidt, H. Soil and sediment geochemistry of the Iron Quadrangle, Brazil. The case of Arsenic. **Journal of Soils & Sediments**, v. 2, n. 4, p. 216-222, 2002.
- Di, N.; Hladun, K.R.; Zhang, K.; Liu, T.X.; Trumble, J.T. Laboratory bioassays on the impact of cadmium, copper and lead on the development and survival of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae and foragers. **Chemosphere**, v. 152, p. 530-538, 2016.
- Ellis, C.E.; Ramankutty, N. Putting people into the map: anthropogenic biomes of the world. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 6, n. 8, p. 439-447, 2008.
- Erenler, H.E.; Gillman, M.P.; Ollerton, J. Impact of extreme events on pollinator assemblages. **Current Opinion in Insect Science**, v. 38, p. 34-39, 2020.
- Ernst, W.H.O. Evolution of metal tolerance in higher plants. **Forest Snow and Landscape Research**, v. 80, n. 3, p. 251-274, 2006.
- Exley, C. Darwin, natural selection and the biological essentiality of aluminium and silicon. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 34, n. 12, p. 589-593, 2009.
- Gall, J.E.; Boyd, R.S.; Rajakaruna, N. Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 187, n. 4, p. 201, 2015.
- Gomes, L.C.; Chippari-Gomes, A.R.; Miranda, T.O.; Pereira, T.M.; Merçon, J.; Davel, V.C.; Barbosa, B.V.; Pereira, A.C.H.; Frossard, A.; Ramos, J.P.L. Genotoxicity effects on *Geophagus brasiliensis* fish exposed to Doce River water after the environmental disaster in the city of Mariana, MG, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 4, p. 659-664, 2019.

- Guerra, M.B.B.; Teaney, B.T.; Mount, B.J.; Asunskis, D.J.; Jordan, B.T.; Barker, R.J.; Santos, Schaefer, C.E.G.R. Post-catastrophe Analysis of the Fundão tailings dam failure in the Doce River system, Southeast Brazil: Potentially toxic elements in affected soils. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n. 7, p. 252, 2017.
- Gutiérrez-Chacón, C.; Valderrama-A, C.; Klein, A.M. Biological corridors as important habitat structures for maintaining bees in a tropical fragmented landscape. **Journal of Insect Conservation**, v. 24, n. 1, p. 187-197, 2020.
- Hall, J.Á. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 366, p. 1-11, 2002.
- Hatje, V.; Pedreira, R.M.A.; Rezende, C.E.; Schettini, C.A.F.; Souza, G.C.; Marin, D.C.; Hackspacher, P.C. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.
- Heikens, A.; Peijnenburg, W.J.G.M.; Hendriks, A.J. Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. **Environmental Pollution**, v. 113, n. 3, p. 385-393, 2001.
- Herrero-Latorre, C.; Barciela-García, J.; García-Martín, S.; Peña-Crecente, R.M. The use of honeybees and honey as environmental bioindicators for metals and radionuclides: a review. **Environmental Reviews**, v. 25, n. 4, p. 463-480, 2017.
- Hladun, K.R.; Parker, D.R.; Trumble, J.T. Cadmium, copper, and lead accumulation and bioconcentration in the vegetative and reproductive organs of *Raphanus sativus*: implications for plant performance and pollination. **Journal of Chemical Ecology**, v. 41, n. 4, p. 386-395, 2015.
- Hladun, K.R.; Di, N.; Liu, T.X.; Trumble, J.T. Metal contaminant accumulation in the hive: Consequences for whole-colony health and brood production in the honey bee (*Apis mellifera* L.). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 2, p. 322-329, 2016.
- Hudson-Edwards, K. Tackling mine wastes. **Science**, v. 352, n. 6283, p. 288-290, 2016.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis 2015. Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais. 2015. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br/centrais-de-conteudo/laudo-tecnico-preliminar-ibama-pdf>>. Acesso em: 11 de set. de 2020.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis 2016. Nota Técnica 02001.000606/2016-36 de 31 de março de 2016 - Mensuração do dano em APP dos rios Gualaxo do Norte, Carmo e seus afluentes. 2016. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br/centrais-de-conteudo/2016-03-nota-tecnica-02001-000606-2016-36-pdf>>. Acesso em: 11 de set. de 2020.
- Imperatriz-Fonseca, V.L.; Kleinert-Giovannini, A.; Cortopassi-Laurino, M.; Ramalho, M. Hábitos de coleta de *Tetragonisca angustula* Latreille. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Boletim de Zoologia**, v. 8, n. 8, p. 115-131, 1984.

- Judd, T.M.; Fasnacht, M.P. A nutritional profile of the trap-nesting wasp *Trypoxylon lactitarse* (Hymenoptera: Crabronidae): comparison of sexes and overwintering and non-overwintering generations. **Insects**, v. 8, n. 1, p. 3, 2017.
- Kabata-Pendias, A. Soil-plant transfer of trace elements – an environmental issue. **Geoderma**, v. 122, n. 2-4, p. 143-149, 2004.
- Kalbande, D.M.; Dhadse, S.N.; Chaudhari, P.R.; Wate, S.R. Biomonitoring of heavy metals by pollen in urban environment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 138, n. 1-3, p. 233, 2008.
- Kerr, W.E.; Carvalho, G.A.; Nascimento, V.A. **Abelha Uruçu: Biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte, Fundação Acangauá, 143p., 1996.
- Klein, S.; Cabirol, A.; Devaud, J.M.; Barron, A.B.; Lihoreau, M. Why bees are so vulnerable to environmental stressors. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 32, n. 4, p. 268-278, 2017.
- Kolaj-Robin, O.; Russel, D.; Hayes, K.A.; Pembroke, J.T.;Soulimane, T. Cation Diffusion Facilitator family: Structure and function. **FEBS Letters**, v. 589, n. 12, p. 1283-1295, 2015.
- Krombein, K.V. **Trap-nesting wasps and bees. Life histories, nests and associates**. Washington, DC Smithsonian Inst. Press, 570p., 1967.
- Luo, X.; Bing, H.; Luo, Z.; Wang, Y.; Jin, L. Impacts of atmospheric particulate matter pollution on environmental biogeochemistry of trace metals in soil-plant system: A review. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 113138, 2019.
- Luoma, S.N.; Rainbow, P.S. Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 7, p. 1921-1931, 2005.
- Lürling, M.; Scheffer, M. Info-disruption: pollution and the transfer of chemical information between organisms. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 22, n. 7, p. 374-379, 2007.
- Millaleo, R; Reyes-Díaz, M.; Ivanov, A.G; Mora, M.L.; Alberdi, M. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation, and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10 , n. 4, p. 476-494, 2010.
- Meindl, G.A.; Ashman, T.L. Effects of floral metal accumulation on floral visitor communities: Introducing the elemental filter hypothesis. **American Journal of Botany**, v. 102, n. 3, p. 379-389, 2015.
- Meindl, G.A.; Ashman, T.L. The effects of aluminum and nickel in nectar on the foraging behavior of bumblebees. **Environmental Pollution**, v. 177, p. 78-81, 2013.
- Mogren, C.L.; Trumble, J.T. The impacts of metals and metalloids on insect behavior. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 135, n. 1, p. 1-17, 2010.
- Morgan, J.B.; Connoly, E.L. Plant-soil interactions: Nutrient uptake. **Nature Education Knowledge**, v. 4, n. 8, p.2, 2013.

- Moroń, D.; Grześ, I.M.; Skorka, P.; Szentgyörgyi, H.; Laskowski, R.; Potts, S.G.; Woyciechowski, M. Abundance and diversity of wild bees along gradients of heavy metal pollution. **Journal of Applied Ecology**, v. 49, n. 1, p. 118-125, 2012.
- Moroń, D.; Szentgyörgyi, H.; Skórka, P.; Potts, S.G.; Woyciechowski, M. Survival, reproduction and population growth of the bee pollinator, *Osmia rufa* (Hymenoptera: Megachilidae), along gradients of heavy metal pollution. **Insect Conservation and Diversity**, v. 7, n. 2, p. 113-121, 2014.
- Moulis, J.M.; Bulat, Z.; Djordjevic, A.B. Threshold in the Toxicology of Metals: challenges and pitfalls of the concept. **Current Opinion in Toxicology**, v. 19, p. 28-33, 2020.
- Negri, I.; Mavris, C.; Di Prisco, G.; Caprio, E.; Pellecchia, M. Honey Bees (*Apis mellifera*, L.) as Active Samplers of Airborne Particulate Matter. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0132491, 2015.
- Nogueira-Neto, P. **A criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo. Ed. Chacaras e Quintais, v. 365, 1970.
- Nriagu, J.O. Global inventory of natural and antropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. **Nature**, v. 279, n. 5712, p. 409-411, 1979.
- Nummelin, M.; Lodenius, M.; Tulisalo, E.; Hirvonen, H.; Alanko, T. Predatory insects as bioindicators of heavy metal pollution. **Environmental Pollution**, v. 145, n. 1, p. 339-347, 2007.
- Oliveira, R.C.; Queiroz, S.C.N.; Da Luz, C.F.P.; Porto, R.S.; Rath, S. Bee pollen as a bioindicator of environmental pesticide contamination. **Chemosphere**, v. 163, p. 525-534, 2016.
- Omachi, Y.C.; Siani, S.M.O.; Chagas, F.; Mascagni, M.; Cordeiro, M.; Garcia, G.; Thompson, C.C.; Siegle, E.; Thompson, F.L. Atlantic Forest loss caused by the world's largest tailing dam collapse (Fundão Dam, Mariana, Brazil). **Remote Sense Applications: Society and Environment**, v. 12, p. 30-34, 2018.
- Peñuelas, J.; Filella, I. Metal pollution in Spanish terrestrial ecosystems during the twentieth century. **Chemosphere**, v. 46, n. 4, p. 501-505, 2002.
- Peralta-Videa, J.R.; Lopez, M.L.; Narayan, M.; Saupe, G.; Gardea-Torresdey, J. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, n. 8-9, p. 1665-1677, 2009.
- Peterson, L.R.; Trivett, V.; Baker, A.J.; Aguiar, C.; Pollard, A.J. Spread of metals through an invertebrate food chain as influenced by a plant that hyperaccumulates nickel. **Chemoecology**, v. 13, n. 2, p. 103-108, 2003.
- Pioker-Hara, F.C.; Drummond, M.S.; Kleinert, A.M.P. The influence of the loss of brazillian savanna vegetation on the occurrence of stingless bees nests (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 393-400, 2014.

- Poschenrieder, C.; Tolrà, R.; Barceló, J. Can metals defend plants against biotic stress? **TRENDS in Plant Science**, v. 11, n. 6, 2006.
- Queiroz, H.M.; Nóbrega, G.N.; Ferreira, T.O.; Almeida, L.S.; Romero, T.B.; Santaella, S.T.; Bernardino, A.F.; Otero, X.L. The Samarco mine tailing disaster: a possible time-bomb for heavy metals contamination?. **Science of the Total Environment**, v. 637, p. 498-506, 2018.
- Rahman, Z.; Singh, V.P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 7, p. 419, 2019.
- Reid, R.; Hayes, J. Mechanisms and control of nutrient uptake in plants. **International Review of Cytology**, v. 229, p. 73-115, 2003.
- Reis, D.A.; Nascimento, L.P.; Abreu, A.T.; Nalini, H.A.; Roeser, H.M.P.; Santiago, A.F. Geochemical evaluation of bottom sediments affected by historic mining and the rupture of the Fundão dam, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 4, p. 4365-4375, 2020.
- Ribeiro, S.P.; Londe, V.; Bueno, A.P.; Barbosa, J.S.; Corrêa, T.L.; Soeltl, T.; Maia, M.; Pinto, V.D.; Dueli, G.F.; Sousa, H.C.; Kozovits, A.R.; Nalini, H.A. Plant defense against leaf herbivory based on metal accumulation: examples from a tropical high altitude ecosystem. **Plant Species Biology**, v. 32, n. 2, p. 147-155, 2017.
- Rodrigues, A.S.; Malafaia, G.; Costa, A.T.; Nalini, H.A. Iron ore mining promotes iron enrichment in sediments of the Gualaxo do Norte River basin, Minas Gerais State, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, v. 71, n. 9, p. 4177-4186, 2014.
- Sánchez, L.E.; Alger, K.; Alonso, L.; Barbosa, F.A.R.; Brito, M.C.W.; Laureano, F.V.; May, P.; Roeser, H.; Kakabadse, Y. **Impacts of the Fundão Dam failure**. International Union for Conservation of Nature, 2018.
- Samejima, H.; Marzuki, M.; Nagamitsu, T.; Nakasizuka, T. The effects of human disturbance on a stingless bee community in a tropical rainforest. **Biological Conservation**, v. 120, n. 4, p. 577-587, 2004.
- Schuler, P.; Bauer, M. Heavy metals need assistance: the contribution of nicotianamine to metal circulation throughout the plant and the Arabidopsis NAS gene family. **Frontiers in Plant Science**, v. 2, p. 69, 2011.
- Segura, F.R.; Nunes, E.A.; Paniz, F.P.; Paulelli, A.C.C.; Rodrigues, G.B.; Braga, G.Ú.L.; Pedreira Filho, W.R.; Barbosa Junior, F.; Cerchiaro, G.; Silva, F.F.; Batista, B.L. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, v. 218, p. 813-825, 2016.
- Shahid, M.; Dumat, C.; Khalid, S.; Schreck, E.; Xiong, T.; Niazi, N.K. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 36-58, 2017.

- Silva, A.C.; Cavalcante, L.C.D.; Fabris, J.D.; Franco Júnior, R.; Barral, U.M.; Farnezi, M.M.M.; Viana, A.J.S.; Ardisson, J.D.; Fernandez-Outon, L.E.; Lara, L.R.S.; Stumpf, H.O.; Barbosa, J.B.S.; Silva, L.C. 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**, v. 5, n. 2, p. 44-53, 2016.
- Skaldina, O.; Sorvari, J. Ecotoxicological Effects of Heavy Metal Pollution on Economically Important Terrestrial Insects. In: Kesari K. (eds) Networking of Mutagens in Environmental Toxicology. **Environmental Science and Engineering**. Springer, Cham, p. 137-144, 2019.
- Smith, K.E.; Weis, D.; Amini, M.; Shiel, A.E.; Lai, V.W.M.; Gordon, K. Honey as a biomonitor for a changing world. **Nature Sustainability**, v. 2, n. 3, p. 223-232, 2019.
- Søvik, E.; Perry, C.J.; Lamora, A.; Barron, A.B.; Ben-Shahar, Y. Negative impact of manganese on honeybee foraging. **Biology Letters**, v.11, n. 3, p. 20140989, 2015.
- Spirić, D.; Ćirić, J.; Đorđević, V.; Nikolić, D.; Janković, S.; Nikolić, A.; Petrović, Z.; Katanić, N.; Teodorović, V. Toxic and essential element concentrations in different honey types. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 99, n. 5, p. 474-485, 2019.
- Staab, M.; Pufal, G.; Tschardtke, T.; Klein, A.M. Trap nests for bees and wasps to analyse trophic interactions in changing environments—A systematic overview and user guide. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 11, p. 2226-2239, 2018.
- Szentgyörgyi, H.; Moroń, D.; Nawrocka, A.; Tofilski, A.; Woyciechowski, M. Forewing structure of the solitary bee *Osmia bicornis* developing on heavy metal pollution gradient. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 8, p. 1031-1040, 2017.
- Tian, S.; Liang, T.; Li, K. Fine road dust contamination in a mining area presents a likely air pollution hotspot and threat to human health. **Environment International**, v. 128, p. 201-209, 2019.
- Tschardtke, T.; Gathmann, A.; Steffan-Dewenter, I. Bioindication using trap-nesting bees and wasps and their natural enemies: community structure and interactions. **Journal of Applied Ecology**, v. 35, n. 5, p. 708-719, 1998.
- Valeriano, C.; Neumann, R.; Alkmim, A.R.; Evangelista, H.; Heilbron, M.; Neto, C.C.A.; Souza, G.P. Sm–Nd and Sr isotope fingerprinting of iron mining tailing deposits spilled from the failed SAMARCO Fundão dam 2015 accident at Mariana, SE-Brazil. **Applied Geochemistry**, v. 106, p. 34-44, 2019.
- Van Der Steen, J.J.M.; Cornelissen, B.; Blacquièrre, T.; Pijnenburg, J.E.M.L.; Severijnen, M. Think regionally, act locally: metals in honeybee workers in the Netherlands (surveillance study 2008). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 8, p. 463, 2016.
- Nieuwstadt, M.G.L.; Iraheta, C.R. Relation between size and foraging range in stingless bees (Apidae, Meliponinae). **Apidologie**, v. 27, n. 4, p. 219-228, 1996.

- Walker, C.H.; Sibly, R. M.; Hopkin, S.P.; Peakall, D.B. **Principles of Ecotoxicology**. CRC Press, 2012.
- Xun, E.; Zhang, Y.; Zhao, J.; Guo, J. Translocation of heavy metals from soils into floral organs and rewards of *Cucurbita pepo*: implications for plant reproductive fitness. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 235-243, 2017.

The dam break of Fundão: impacts of the contamination on pollen and honey from the stingless bee *Tetragonisca angustula* (Apidae: Meliponina) beehives

Abstract: Metals and metalloids pollution are one of the main negative impacts of mining. Furthermore, the mining wastes are often stored in tailings dams, which are prone to failures and even its total collapse. The Fundão tailing dam collapse (Minas Gerais, Brazil, 15th November 2015), considered the world's largest dam disaster in terms of waste volume released, flooded large areas in the Gualaxo do Norte and do Carmo rivers floodplains. Our research aimed to analyze metals/metalloids (Fe, Mn, Al, Zn, Ba, Cu, Ni, V, Pb, Cr, Cd and As) levels in honey and pollen samples from the native stingless bee *Tetragonisca angustula* hives, from impacted and non-impacted areas (from Paracatu de Cima to Barra Longa, Minas Gerais) and also an external control area. The samples were wet acid digested in a microwave oven and the elements concentration were determined by ICP-OES and ICP-MS. The metals/metalloids contents in honey and pollen samples were compared between the impacted and the reference non-impacted areas, and the external control area. In general, the elements concentrations found in honey and pollen samples from the impacted areas were not high compared to the reference areas as well as the levels reported in other works, except Mn in pollen.

Keywords: Fundão; iron ore; tailings dam break; biomonitoring; metals; metalloid; honey; pollen; stingless bee;

INTRODUCTION

One of the main negative impacts of mining is the environmental pollution with metals. Mine wastes from metals ores exploitation are often stored in tailings dams (Hudson-Edwards et al., 2011), which are sources of metals inputs into nearby soil, air, water and living organisms, by physical weathering and biogeochemical reactions (Hudson-Edward, 2016). Furthermore, tailing dams are prone to failures and even extreme events such as its rupture, causing the sudden release of large quantities of contaminants over large areas (Kossoff et al., 2014; Enreler et al., 2020), changing the physical, chemical e biological features of the environment in the impacted areas. Due the potentially toxic effects of metals on living things, environmental pollution assessment is a public concern in contaminated areas.

Currently, there are thousands of tailing dams worldwide and more than a hundred tailing dam accidents have been reported, despite the true number of accidents is probably much higher (Rico et al., 2008). Additionally, many mining tailings dams are built under low investment projects, applying the upstream method, although it is known to be risky and it have accounted for many of the tailings dam accidents. Recently, around 20 failures events have happened per decade (Azam & Li, 2010). Minas Gerais state, Brazil, especially in the Iron Quadrangle, is under intense mining activity as it is known worldwide for the ores deposits and is an attractive area for mining industry (Deschamps et al., 2002). Last five years two great tailings dams collapsed in the Iron Quadrangle.

Metals/metalloids are among the most important environmental pollutants, because of its long persistence in the environment, beyond the potentially negative effects on living organisms and ecosystem functioning (Ali & Khan, 2019). Since 1970, honeybees have increasingly been employed in biomonitoring (for a review, see Herrero-Latorre et al., 2017). Thus, bees and bees' byproducts are considered one of the main biomonitors (Al-Alam et al., 2019), indicating the levels of a wide range of pollutants (from metals to agrochemicals), within a relatively known area around the hive.

The concentration of the elements found in bees' (and stingless bees') byproducts, such as honey and pollen, reflects (gives a fingerprint of) the concentration found in its living area, where it gathers resources for colony provision (Van der Steen et al., 2016). Plants may uptake metals and metalloid from soil and translocate them to the upper tissues, including the floral resources, pollen and nectar (Ernst & Bast-Cramer, 1980; Xun et al., 2017; Hladun et al., 2015). Plus, contaminants in the air particulate matter may fall over plants surfaces, contaminating bees' resources (Nascimento et al., 2018a). So, the metals/metalloids concentrations in the honey and pollen stored in the bees' nests are affected by soil geochemistry, plant traits (physiology and morphology) and interactions, and also anthropogenic inputs in the environment.

In the Neotropical ecosystems, the stingless bees (and specially *Tetragonisca angustula* Latreille) fulfill the desired features for biomonitoring, reported by Al-Alam et al. (2019): ubiquitous distribution, high abundance, short life-time span and live within a home-range, so they represent contamination over short time and a relatively known area. Moreover, they are a keystone group as they are the main pollinators in most tropical ecosystems (Kerr 1996; Pioker-Hara et al., 2014), so they provide a valuable ecosystem service in both natural and anthropic ecosystems. *T. angustula* is one of the most abundant and widely distributed stingless bees in Brazil (Imperatriz-Fonseca et al., 1984; Braga et al., 2012).

Although the use of stingless bees as bioindicator is quite new, it is growing increasingly last years. To our knowledge, nine studies used native stingless bees to quantify metals/metalloid concentrations in honey or pollen, eight of them in Brazil (Nascimento et al., 2015; Oliveira et al., 2017; Siqueira et al., 2017; Nascimento et al., 2018a; Nascimento et al., 2018b; Bonsucesso et al., 2018; Dourado et al., 2019; Oliveira et al 2020) and one in Australia (Zhou et al., 2018). Both *T. angustula* honey and pollen can accumulate a wide variety of metals and metalloids from the environment, and may represent contamination in

areas under mining activity and urbanization (Nascimento et al., 2018a; Oliveira et al., 2017; Oliveira et al., 2020).

The task of monitoring metals/metalloids in bees' trophic resources is not only a valuable biomonitoring tool, but also an important data to evaluate how much these important pollinators may be exposed to potentially toxic elements in contaminated areas and which could be the long term consequences for metal/metalloid exposure. Metals and metalloids contaminants in bees' food resources may impair bees fitness, because the foraging behavior and/or development may be negatively affected by high enough concentrations of metals/metalloids, such as Al, Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb and As (Bromenshenk et al., 1991; Meindl et al., 2013, 2015; Søvik et al., 2015; Hladun et al., 2016; Di et al., 2016; Szentgyorgyi et al., 2017; Xun et al., 2017; Chicas-Moiser et al., 2017; Burden et al., 2019; Chicas-Moiser et al., 2019). However, most of these researches focused in the specie *Apis mellifera*, and evidences suggests that different species, sub-species and populations may be differently affected by metals contamination, depending upon the internal physiologic responses triggered by metal exposure (Morgan et al., 2007; Chicas-Moiser et al., 2019).

Recent stingless bees ecotoxicology studies have shown that agrochemicals pollutants may impose serious threats to stingless bees colonies (Tome et al., 2015; Dorneles et al., 2017; Moreira et al., 2018; Castilhos et al., 2019). However, there is still a lack of knowledge about how the stingless bees are affected by metals/metalloid contaminants in their trophic resources, what may be a promising field for future research, since metals/metalloids pollution and its consequences, is an emerging issue. In metalliferous soils, high metals/metalloids concentrations may have an ecologic and evolutionary importance, acting like a filter against the establishment of low tolerance species, while the more tolerant species are favored (Meindl & Ashman, 2015). However, in contaminated areas, any metals/metalloids at high enough concentrations may cause great ecological damage if the living organisms can't tolerate it. Furthermore, even if the living organisms can tolerate high

concentrations of the elements found in the contaminated area, tolerance has also a cost, which mean less energy (also less N and S, that is required to produce metal chelators, for example) available for primary metabolism (Ernst 2006), what could lead to poor performance and lower pollination by bees, for example.

The Dam break of Fundão (Minas Gerais, Brazil), 5th November 2015, released around 35 millions m³ of iron mining tailings (IBAMA, 2015), revolving soil and sediments historically contaminated by years of mining activities in the basins of Gualaxo do Norte and do Carmo Rivers (Hatje et al., 2017; Davila et al., 2020), that were majority deposited in the main channel and in the river banks of the Gualaxo do Norte and do Carmo Rivers. In this region, around 90% of the riparian habitats were impacted by the tailings wave resulted by Fundão dam rupture (Fernandes et al., 2016). IBAMA (2016) estimated that it were directly impacted 835.3 hectares of habitats that are classified as Areas of Permanent Preservation in the Brazilian legislation – law n^o12,651, 25th May –, due the great relevance of the ecologic functions provided by this areas, contributing to conservation of water resources, soil and biodiversity, beyond the fauna and flora genetic flux facilitation (Brazil, 2012).

The tailings that were stored in Fundão dam came from the processing of iron ore exploited in Alegria mine (in Iron Quadrangle), from itabirite rock (Silva et al., 2016) – mostly composed of hematite, magnetite, martite and quartz (Valeriano et al., 2019). Generally, Iron Quadrangle soils contain large amounts of iron and manganese oxides, which naturally give it a great potential to accumulate metals (Carvalho Filho et al., 2015). High (but very variable) concentrations of metals were found in itabirite samples from Iron Quadrangle's eastern (Selmi et al., 2009), where it is situated Alegria mine, among others.

Iron oxides (goethite, hematite and magnetite) represent between 30.8 and 48.2 % of the tailing's content deposited on Gualaxo do Norte and do Carmo rivers' banks (Valeriano et al., 2019), what gives a great capacity of cationic metals adsorption by the tailing. Additionally, under the current conditions the pH in the soils impacted by the tailings flood

tend to be high, due the processing of the iron ore that involves the addition of large quantities of flocculants and sodium hydroxide (Santos et al., 2019), and then the particle's surface charge becomes negative (Pires et al., 2003; Almeida et al., 2018), so metals and metalloid cations tend to be adsorbed into soil particles, and the availability of these elements to plants (and therefore to the food chain) tends to be low. However, this picture may change over time: considering that the dynamic of the metals and metalloids in soils may change after pH decrease or other changes in abiotic and/or biotic factors, the transfer of elements to the plants and pollinators resources should be constantly monitored for a long-time scale. The constant monitoring of the impacted areas is important to understand the dynamics of the chemical elements associated to the mud and how the pollinators are being affected by the geochemical changes caused by the Fundão break.

In addition to soil pollution by direct deposition, air pollution is also a recognized threat of mine tailings. They are considered a potential source of atmospheric particulate emission containing metals and metalloids (Martin et al., 2017), because they are prone to atmospheric suspension, for example, due mechanical action of wind and vehicle traffic (Tian et al., 2019). So, food chain contamination may also occur via atmospheric deposition of fine size particles, which can be found in the Fundão tailings, over food surfaces. The particles' grain size in Fundão's tailings range from 2 to 200 μm (Segura et al., 2016; Almeida et al., 2018), mostly smaller than 50 μm (Almeida et al., 2018), what makes it prone to such phenomenon. Indeed, high levels of As, Al, Mn e Pb were found in dust samples from impacted areas under intense vehicle traffic, on Gualaxo do Norte river bank (Fernandes et al., 2019).

Summarizing, metals/metalloids deposited over the ground may be absorbed by plants and then move within plants to the nectar and pollen in flowers or may be released into the atmosphere with dust and then they may be deposited over flowers visited by stingless bees. Up to date, besides the high number of studies carried out in the region of the dam break of

Fundão, there is no information if the trophic resources of the native stingless bee *Tetragonisca angustula* are contaminated with metals/metalloids in the impacted areas. Therefore, the objective of this research was to assess the total concentrations of the metals/metalloids Fe, Al, Mn, Zn, Cu, Ba, Ni, V, Pb, Cr, Cd and As, in honey and pollen stocked in *T. angustula*'s hives, to evaluate if the concentrations of the elements are higher in the impacted areas than in non-impacted reference areas. We expected to find higher concentrations of metals/metalloids in honey and pollen from impacted areas, than non-impacted. In addition, given that there is a lithological variation in the studied region, the metals composition in the honey and pollen samples should change from upstream to downstream.

METHODS

Study area

This study was carried out in areas located on the banks of the Gualaxo do Norte and do Carmo rivers (Minas Gerais) (Tab. 1), between the locality of Paracatu de Cima and the city of Barra Longa (Fig. 1) (approx. at 76km away from the dam), one of the main regions affected by the tailings deposition resulting from the dam break of Fundão.

The region is inserted in the geomorphological unit of the Dissected Plateaus of the south and east center of Minas Gerais (Costa 2001), where meandering rivers occur. The dominant soil in the study region is the dystrophic red-yellow latosol (Costa, 2001). Sampling points 1 to 6 (Paracatu de Cima and Paracatu de Baixo) are the most upstream, located in the lithostratigraphic unit of the Santa Barbara Complex (Costa, 2001), and points 7 to 10 (Gesteira and Barra Longa) are the most downstream (Fig. 1), located in the Mantiqueira Complex lithostratigraphic unit (Costa, 2001).

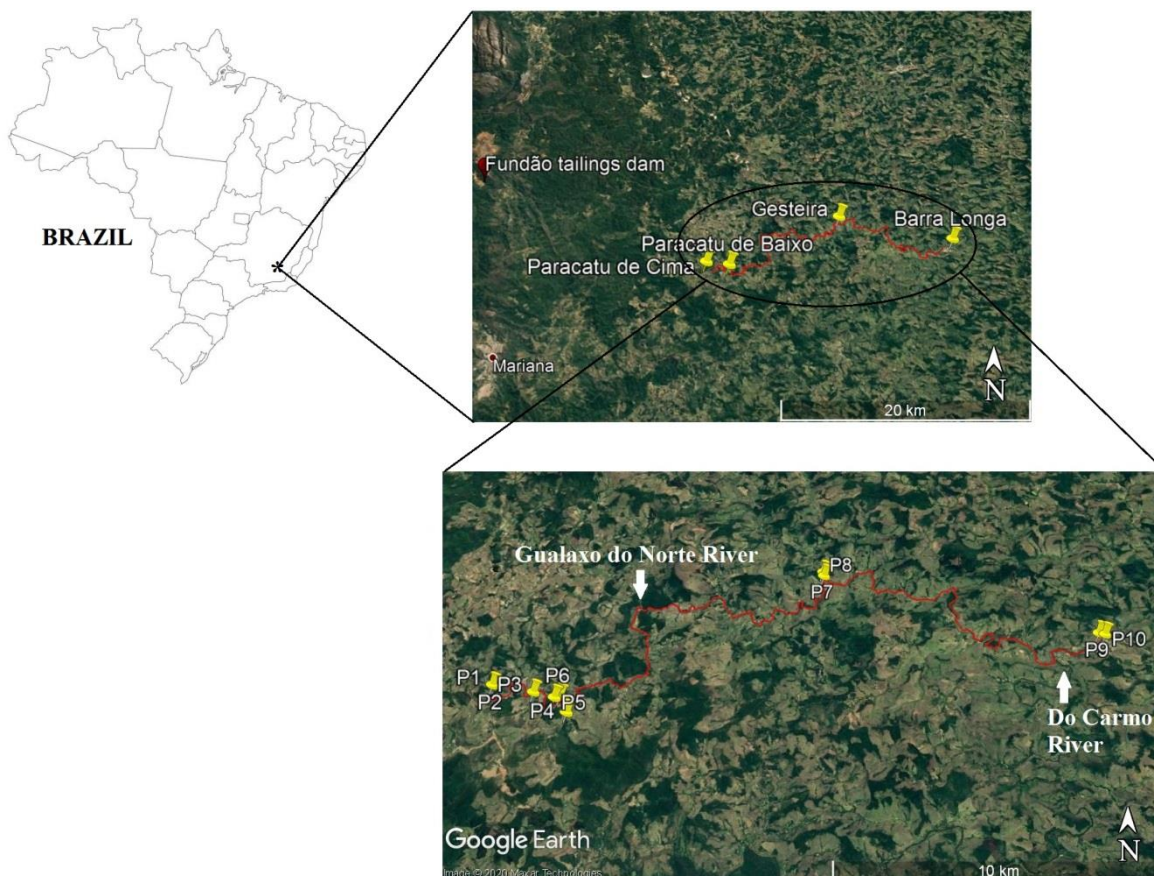


Figure 1. Map with the sampling sites for pollen and honey from *T. angustula* beehives, in the region of Gualaxo do Norte and do Carmo Rivers, Minas Gerais, Brazil. Names and number of sites are described in table 1. The river course is marked in red color. Note that Gualaxo do Norte River joins do Carmo River just before the sampling points P9 and P10 (Barra Longa).

Sampling

Samplings of pollen and honey combs of *Tetragonisca angustula* hives were performed from November 2018 to June 2019 in 10 sampling sites between the sub-district of Paracatu de Cima and the municipality of Barra longa (see table 1, for the geographic coordinates), Minas Gerais. Five beehives were installed, each one at one site, in the region directly impacted by the dam break; and five in adjacent non-impacted sites, as reference. The minimal distance between the beehive in impacted and non-impacted sites was of 500 m, since this is the maximum distance of flight of workers of *T. angustula* (Nogueira-Neto et al.,

1997) and most foraging activities occur around 300 m within the nest (Nieuwstadt & Iraheta, 1996).

Table 1. Geographic localization of sampling sites for pollen and honey in the region of Gualaxo do Norte River, Minas Gerais, Brazil. I = Impacted; NI = Non-Impacted. *Approximated distance following the river course.

SAMPLING SITE	LOCALITY NAME	LOCATION	IMPACT LEVEL	APROX. DISTANCE FROM FUNDÃO (KM)*
1	Paracatu de Cima	20°18'10.88"S 43°14'38.36"W	I	40.2
2	Paracatu de Cima	20°18'10.48"S 43°14'38.92"W	NI	40.2
3	Paracatu de Baixo	20°18'18.39"S 43°13'49.88"W	I	44.3
4	Paracatu de Baixo	20°18'41.54"S 43°13'7.45"W	NI	44.3
5	Paracatu de Baixo	20°18'24.40"S 43°13'24.50"W	NI	44.3
6	Paracatu de Baixo	20°18'22.53"S 43°13'18.38"W	I	44.3
7	Gesteira	20°15'47.5"S 43°08'13.4"W	I	62.7
8	Gesteira	20°15'42.50"S 43° 8'14.39"W	NI	62.7
9	Barra Longa	20°16'58.94"S 43° 2'40.78"W	I	79.1
10	Barra Longa	20°17'00.4"S 43°02'33.4"W	NI	79.1

Before the beehives were installed in the field, we took honey and pollen samples from combs, in November 2018, to use as control, since the hives came from a region free of mining activities, outside of the Iron Quadrangle, obtained from natural areas. In the field, each beehive was sampled two times (in February and June of 2019).

Pollen and honey were collected directly from the combs. Each of the honey samples were taken with a disposable sterile plastic pipette, to assure no contamination of the samples. These field-collected pools were stored under refrigeration until analysis. .

Chemical analysis

The concentrations of the studied elements were determined using ICP-MS (model Agilent 7700x) and ICP-OES (model Agilent 725). Sample preparation was performed according to previously described methods (Oliveira et al., 2017). Triplicates of 0.5 g and 1.0 g of each samples of pollen and honey (respectively) were acid digested in a microwave oven Milestone Ethos s1 (Step1: Ramp time - 10 min until 200°C; Step 2: Hold time - 15 min at 200 °C; Step 3: Cooling - 30 min), with 7 mL 65% m/m nitric acid (Suprapur, Merck, Darmstadt, Germany) and 1 mL 30% m/m hydrogen peroxide (Suprapur, Merck). Each digested sample were filled up to final volume of 40 mL, with Mili-Q ultrapure water (resistivity $18.2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$), obtained from a water purifying system (Direct Q 3). All chemical proceedings were performed in the Environmental Geochemistry Laboratory from the Department of Geology, at Ouro Preto Federal University.

Blank samples containing only the reagents used and milli-Q water, were prepared during each digestion cycle, in the same way as the samples of honey and pollen and subsequently analyzed on the spectrometers, to check the purity of the reagents and the absence of contamination during laboratory procedures (the results found in the blank samples are shown in table S7). Samples of the standard reference material NIST 1515 (apple leaves), previously dried in an oven, containing approximately 0.5 g, were subjected to the same process of digestion and determination of the elements in the spectrometers, to validate the digestion method. The recovery rates of the elements that we analyzed in the reference material were considered satisfactory, ranging from 87% to 118% (table S2). The correlation coefficients of the calibration curves of the analyzed elements were always close to 1. Rh, Y and Te were used as internal calibration standard for the equipment. The limit of

quantification of each element was defined as 3 times the limit of detection of the equipment (table S1).

Statistical analysis

General Linear Models (GLMs), built under Gaussian family, were created to assess differences in the concentrations of each studied metal/metalloid (dependent variable) between the sampled localities (independent variable). Residual analyses were conducted to evaluate the suitability of the error distribution family chosen, for each model. Also, all models were tested against null models before the significance test. Then, when a significantly difference was found in the mean concentrations of an element between the sampled sites, we performed contrast analysis to separate the significantly different sites ($p < 0.05$). For statistical analysis the concentrations found below the limit of quantification were considered as half the limit of quantification of the element (USEPA, 2000).

Principal component analyses (PCA) were used to investigate the multivariate structure of the dataset and to highlight possible trends among the data. The samples from Paracatu de Cima and Paracatu de Baixo were grouped together as they are the most upstream sampling points, while the one from Gesteira and Barra Longa were grouped together as they are the most downstream sampling points. Once derived, the principal components (PCs) can be used for further analyses to visualize groupings of the data, to verify the presence of outlier values and to determine the variables that discriminate among groups. All analyses and figures were done using R software (R Development Core Team, 2020).

RESULTS

Metal concentrations assessment

Pollen

We found statistically significant differences ($p < 0.05$) between the mean concentration of at least one of all the sampling sites for the following elements: Fe ($F_{55,47} = 2.72$; $p = 0.018$), Mn ($F_{55,47} = 7.97$; $p < 0.001$), Al ($F_{55,47} = 2.51$; $p = 0.027$), Zn ($F_{55,47} = 6.51$; $p < 0.001$), Cu ($F_{55,47} = 2.86$; $p = 0.014$), Ba ($F_{55,47} = 9.05$; $p < 0.001$), Ni ($F_{55,47} = 4.20$; $p = 0.001$), V ($F_{55,47} = 2.71$; $p = 0.018$), As ($F_{55,47} = 2.45$; $p = 0.031$). The concentrations of the 12 studied elements found in each of the pollen samples are shown in the supplementary material (Table S5).

In general, the pollen samples from the control area (located far away from the region impacted by Fundão break and other mining sources of pollution, in a natural area in São Sebastião do Paraíso, Minas Gerais) presented significantly higher concentrations of Al and V than it were found in the impacted and non-impacted areas from Paracatu de Cima to Barra Longa. The concentrations of the other metals/metalloids (As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn) in the control samples were within the range we found in the pollen samples from the impacted and non-impacted areas.

The mean concentration of Al in pollen was highest in the samples from control (89.37 ± 57.81 mg/kg). There were no differences in the concentrations of this element in pollen samples from the impacted and the non-impacted sites (overall mean 45.58 ± 31.81 mg/kg) (Figure 2A).

The mean concentration of As in samples from the non-impacted site at Barra Longa was significantly higher than in the samples from all the other sites (0.021 ± 0.010 mg/kg), including the impacted site at Barra Longa (0.012 ± 0.008 mg/kg) (Figure 2B).

Ba mean concentration in the pollen samples from the non-impacted area at Paracatu de Cima was significantly higher than the mean in the samples from the impacted site within the same locality (13.33 ± 3.33 mg/kg *versus* 4.79 ± 2.17 mg/kg). On the contrary, in

Gesteira, Ba mean concentration was higher in the samples from the impacted site, compared to the samples from the non-impacted site (Figure 2C).

The mean concentrations of Cd in the samples of pollen are not significantly different between the sampling sites (Figure 2D).

The mean concentrations of Cr in the samples of pollen are not significantly different between the sampling sites (Figure 2E).

The mean concentration of Cu in the control pollen samples is higher than those from the other sites, except from the non-impacted site in Gesteira. Also, Cu mean concentration in the pollen samples from Gesteira non-impacted site is higher than the mean concentrations from the impacted site (12.21 ± 3.61 mg/kg *versus* 11.45 ± 1.38 mg/kg (Figure 2F).

Fe mean concentration in the pollen samples from Paracatu de Baixo non-impacted site was higher than the mean concentrations found in the samples from the other sites, including the control (202.80 ± 143.49 mg/kg). One outlier in Fe concentration was found in one affected site (Gesteira – 505.85 mg/kg) (Figure 2G).

The mean concentration of Mn in the pollen samples from the impacted site in Paracatu de Cima was higher than the concentrations found in the samples from the other sites, including the control (199.12 ± 142.20 mg/kg *versus* overall mean 78.82 ± 34.26 mg/kg) (Figure 2H).

The mean concentration of Ni in pollen samples was significantly higher in samples from the impacted sites of Gesteira and Barra Longa, compared to the samples from non-impacted sites in the same region (1.26 ± 0.80 mg/kg *versus* 0.70 ± 0.28 mg/kg, in Gesteira; and 1.21 ± 0.39 mg/kg *versus* 0.58 ± 0.18 mg/kg, in Barra Longa) (Figure 2I).

The mean concentration of Pb in the samples of pollen from each sampling site aren't significantly different between the sampling sites (Figure 2J).

The mean concentration of V in the control pollen samples ($0,153 \pm 0,110$ mg/kg) was higher than the concentration in the samples from the impacted and non-impacted sites in our

study area (overall mean $0,069 \pm 0,044$ mg/kg), which didn't significantly differ among each other (Figure 2K).

Zn mean concentration in the pollen samples from the control (30.48 ± 5.18 mg/kg) was lower than the concentration in the samples from any impacted and non-impacted sites. The mean concentration found in the impacted area in Paracatu de Cima was higher than the adjacent non-impacted reference area (40.16 ± 3.09 mg/kg *versus* 35.19 ± 4.12 mg/kg); however, the non-impacted area in Paracatu de Baixo also presented high Zn mean concentration (37.61 ± 5.20 mg/kg). The samples from the impacted and non-impacted areas from Gesteira and Barra Longa didn't present significantly differences in Zn mean concentrations within the same localities, but differences were found among localities (they were higher in samples from Gesteira than Barra Longa) (Figure 2L).

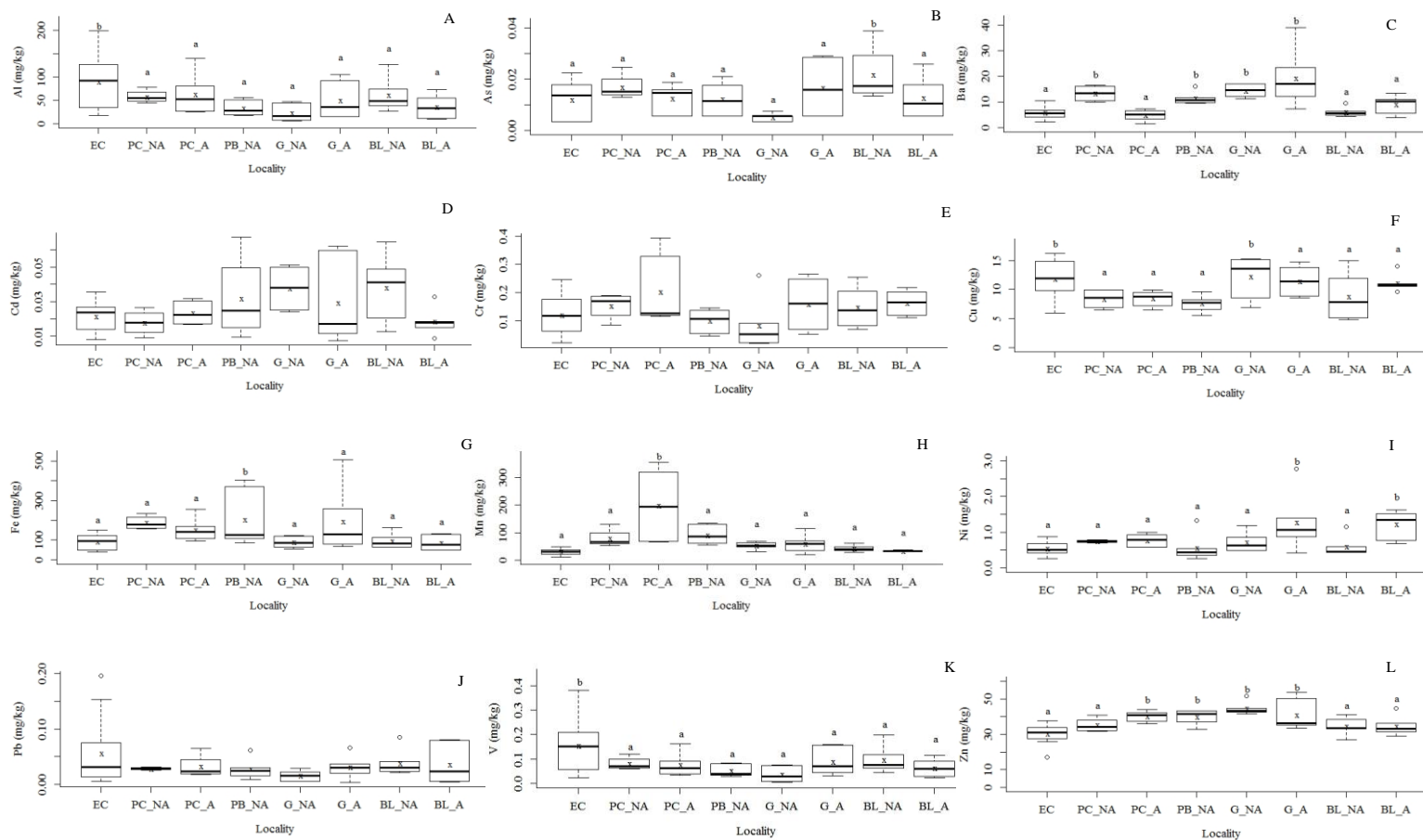


Figure 2: boxplot representing the chemical concentrations of the elements found in pollen samples from each locality. The symbol “x” represents the mean. Legend: EC = Control area; PC_NA = Paracatu de Cima non-impacted site; PC_A = Paracatu de Cima impacted site; PB_NA = Paracatu de Baixo non-impacted site; PB_A = Paracatu de Baixo impacted site; G_NA = Gesteira non-impacted site; G_A = Gesteira impacted site; BL_NA = Barra Longa non-impacted site; BL_A = Barra Longa impacted site; different letters (a, b and c) represents significantly differences in means ($p < 0.05$).

Honey

We found statistically significant differences between the mean concentration of at least one of all the sites for the following elements in honey samples: Al ($F_{51,42} = 8.32$; $p < 0.001$); Fe ($F_{53,44} = 7.93$; $p < 0.001$); Mn ($F_{53,44} = 7.84$; $p < 0.001$); Ba ($F_{53,44} = 5.24$; $p = 0.0001$); Cu ($F_{53,44} = 38.70$; $p < 0.001$); Ni ($F_{31,22} = 14.49$; $p < 0.001$); Cr ($F_{53,44} = 2.24$; $p = 0.041$); V ($F_{52,44} = 5.76$; $p < 0.001$); As ($F_{53,44} = 10.00$; $p < 0.001$); Cd ($F_{53,44} = 2.21$; $p = 0.044$); Pb ; Zn ($F_{53,44} = 75.05$; $p < 0.001$). The concentrations of the 12 studied elements found in each of the honey samples are shown in the supplementary material (Table S6).

In general, the honey samples from the control area presented significantly higher concentrations of Al, Cd, Cu, Fe, V and Zn than it were found in the impacted and non-impacted areas from Paracatu de Cima to Barra Longa. The concentrations of the other metals/metalloids (As, Ba, Cr, Mn, Ni and Pb) in the control samples were within the range we found in the honey samples from the impacted and non-impacted areas.

The mean concentration of Al was higher in honey samples from the control samples (3.70 ± 0.56 mg/kg). There were no differences in the concentrations of this element in honey samples from affected and non-affected sites (overall mean 0.80 ± 0.67 mg/kg) (Figure 3A).

The mean concentration of As was higher in honey from the control samples compared to most of the samples from the impacted and non-impacted sites (except in the samples from Gesteira impacted area from Barra Longa non-impacted area). The mean concentration of As was higher at the impacted site of Gesteira than at the non-impacted site (0.0038 ± 0.0018 versus 0.0023 ± 0.0010 mg/kg), and also at Barra Longa non-impacted site compared to the impacted (0.0049 ± 0.0001 versus 0.0016 ± 0.0002 mg/kg) (Figure 3B).

The mean concentration of Ba in the honey samples from the impacted area at Paracatu de Baixo and from the impacted and non-impacted areas at Gesteira, were higher than the mean concentrations in the other sites. Comparing Ba mean concentration in the honey samples within the same locality, the mean concentrations were similar between the

impacted and non-impacted sites, except in Paracatu de Baixo because the mean concentration was significantly higher in the impacted site compared to the non-impacted (0.28 ± 0.02 mg/kg *versus* 0.22 ± 0.15 mg/kg) (Figure 3C).

The mean concentration of Cd in the samples of honey from the control was higher than the mean concentrations found in the affected and non-impacted sites from Paracatu de Cima to Barra Longa (0.0009 ± 0.0006 mg/kg *versus* overall mean 0.0003 ± 0.0002 mg/kg). However, the mean concentration of Cd in honey samples from the affected and non-impacted sites from Paracatu de Cima to Barra Longa were not significantly distinct (Figure 3D).

The mean Cr concentration found in honey samples from the control was similar to the mean concentration found in mostly all impacted and non-impacted studied areas from Paracatu de Cima to Barra Longa, except in Gesteira impacted area, where significantly higher Cr mean concentration were found. Cr mean concentration observed in honey samples from the impacted area at Gesteira was higher than in the samples from the non-impacted area (0.072 ± 0.026 mg/kg *versus* 0.065 ± 0.034 mg/kg) (Figure 3E).

The samples from our external control area presented the highest Cu concentrations (0.79 ± 0.01 mg/kg). Cu mean concentration in the honey samples from Barra Longa non-impacted area were significantly higher than in the impacted area (0.24 ± 0.004 mg/kg *versus* 0.05 ± 0.028 mg/kg). In general, the concentrations found in the samples from Gesteira impacted and non-impacted areas were as high as at Barra Longa non-impacted area; and the mean concentrations in the honey samples from Paracatu de Cima and Paracatu de Baixo areas were lower (Figure 3F).

The mean Fe concentrations were higher in honey samples from the control than in samples from the studied impacted and non-impacted areas from Paracatu de Cima to Barra Longa (6.92 ± 0.70 mg/kg *versus* overall mean 1.55 ± 1.29 mg/kg). However, samples from the impacted and non-impacted areas from Paracatu de Cima to Barra Longa didn't

significantly differ from each other, within same localities and among different localities (Figure 3G).

Our external control samples, as well as the impacted area at Paracatu de Baixo, presented the highest Mn concentrations found in honey samples. Within the same locality, significant differences were found between Mn mean concentrations in the impacted and non-impacted areas at Paracatu de Baixo and Gesteira. Though in Paracatu de Baixo higher concentrations were found at the impacted area (4.41 ± 0.67 mg/kg *versus* 2.92 ± 2.03 mg/kg), in Gesteira higher concentrations were observed at the non-impacted area (3.36 ± 0.85 mg/kg *versus* 1.68 ± 0.85 mg/kg). Overall, honey samples from the impacted and non-impacted areas of Paracatu de Cima and Barra Longa, as well as the impacted area at Gesteira, presented lower Mn concentrations (Figure 3H).

Ni mean concentration in honey samples from non-impacted areas at Gesteira and Barra Longa were significantly higher than the adjacent non-impacted areas (0.123 ± 0.031 mg/kg *versus* 0.052 ± 0.011 mg/kg; and 0.128 ± 0.002 mg/kg *versus* 0.038 ± 0.016 mg/kg, respectively). All samples from Paracatu de Baixo impacted areas were all below 0.07 mg/kg (the quantification limit obtained in ICP-MS in the day they were analyzed) (Figure 3I).

The mean concentration of Pb in honey didn't significantly differ between the sampling sites, although the samples from Gesteira's non-impacted site presented almost two fold Gesteira's impacted site mean concentration (0.0022 ± 0.0024 *versus* 0.0012 ± 0.0011 mg/kg). Overall, wide ranges of lead concentrations were observed in the samples (minimum 0.0008 mg/kg *versus* maximum 0.0064 mg/kg) (Figure 3J).

V mean concentration in honey from the control area was almost three times higher than the levels found in the impacted and non-impacted areas from Paracatu de Cima to Barra Longa (0.0088 ± 0.0009 mg/kg *versus* overall mean 0.0030 ± 0.0015 mg/kg). However, V mean concentration in honey samples from the impacted and non-impacted areas from Paracatu de Cima to Barra Longa were not significantly distinct (Figure 3K).

Zn mean concentration in the samples from our external control area was significantly higher than all other sampled sites (3.67 ± 0.43 mg/kg). However, Zn concentrations didn't significantly differ between the impacted and non-impacted areas from Paracatu de Cima to Barra Longa (overall mean 0.40 ± 0.21 mg/kg), within same localities and among different localities (Figure 3L).

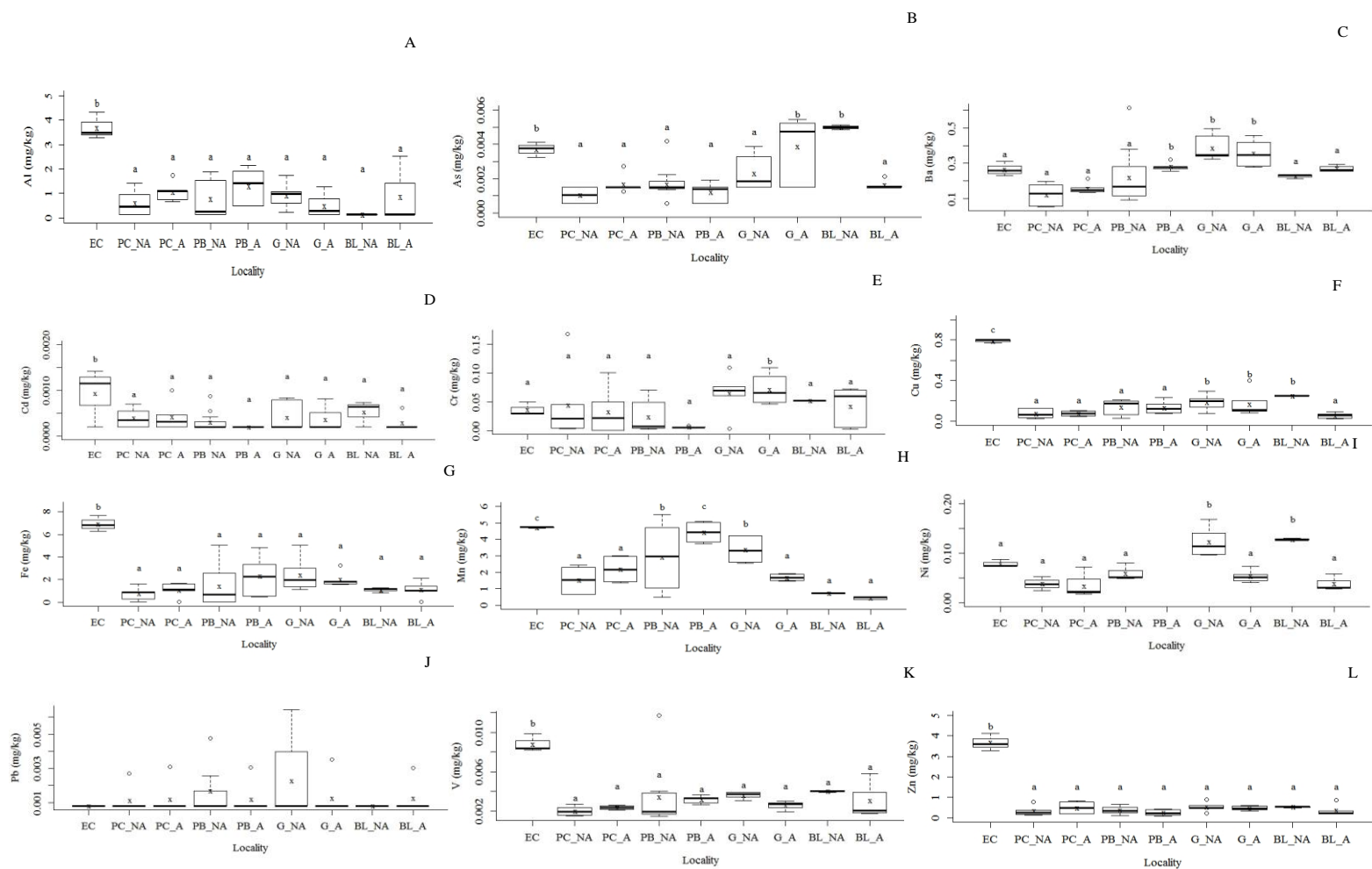


Figure 3: boxplot representing the chemical concentrations of the elements found in honey samples from each locality. The symbol “x” represents the mean. Legend: EC = Control area; PC_NA = Paracatu de Cima non-impacted site; PC_A = Paracatu de Cima impacted site; PB_NA = Paracatu de Baixo non-impacted site; PB_A = Paracatu de Baixo impacted site; G_NA = Gesteira non-impacted site; G_A = Gesteira impacted site; BL_NA = Barra Longa non-impacted site; BL_A = Barra Longa impacted site; different letters (a, b and c) represents significantly differences in means (p < 0.05).

Metal composition

Pollen

In general, the decreasing order of abundance of the analyzed elements in the pollen samples in this study was Fe > Mn > Al > Zn > Cu > Ba > Ni > Cr > V > Pb > Cd > As. The concentrations range may be grouped as lower than 0.1 mg/kg (V, Pb, Cd e As); between 0.1 e 1 mg/kg (Ni e Cr); between 1 and 50 mg/kg (Zn, Cu and Ba) and between 50 and 500 mg/kg (Fe, Mn and Al).

The first and second principal components (PC1 and PC2) explained 73.5 % of the data variance (figure 4). In general, the impacted and non-impacted sites from the most upstream and the most downstream sampling points were discriminated mainly by PC2, while PC1 distinguished better the samples of the external area (control) from the others. The scores applied to the mean concentration found in pollen samples from each impacted and non-impacted sites from each sampled region, shows that pollen from the most upstream impacted site were discriminated mainly by the elements Mn and Cr. The elements As, Cd and Ba were important to discriminate the most downstream non-impacted site, although Ba concentrations were also high in the most downstream impacted site. Arsenic levels in the most downstream non-impacted site were high, thus As was an important element to distinguish this area from all others.

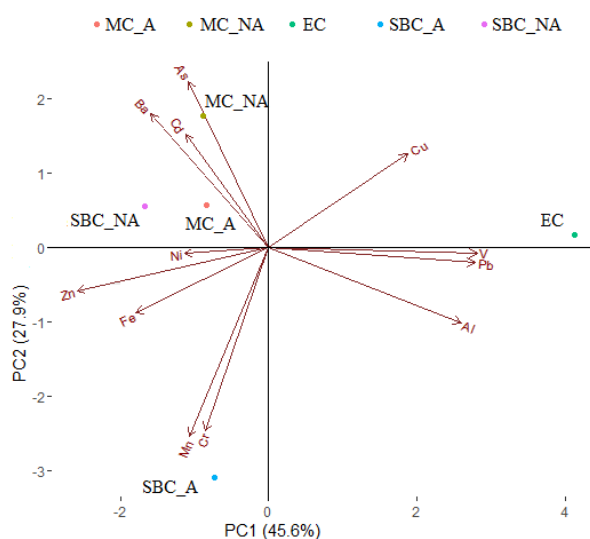


Figure 4. PCA biplot obtained from mean concentration of 12 metals/metalloids present in 55 pollen samples, from the impacted and non-impacted studied sites (in Paracatu de Cima, Paracatu de Baixo, Gesteira and Barra Longa), grouped according to the lithostratigraphic unit it belongs, and the control samples. Legend: SBC_NA = The most upstream non-impacted sites; SBC_A = The most upstream impacted sites; MC_NA = The most downstream non-impacted sites; MC_A = The most downstream impacted sites; EC = Control.

Honey

In general, the decreasing order of abundance of the analyzed elements in the honey samples in this study was $Mn > Fe > Al > Zn > Ba > Cu > Ni > Cr > Pb > V > As > Cd$. The analyzed elements may be grouped in two categories according to their concentrations: lower (Cd, As, V, Pb, Cr and Ni) and higher (Cu, Ba, Zn, Al, Fe and Mn) than 0.1 mg/kg.

The first and second principal components (PC1 and PC2) explained 92.3 % of the data variance (figure 5). In general, the impacted and non-impacted sites were discriminated mainly by PC2, while PC1 distinguished better the samples of the external area (the control) from the others. The scores applied to the mean concentration of the 12 elements found in honey samples from each affected and non-affected sites from each lithostratigraphy, shows that the elements content in honey from the most upstream impacted and non-impacted areas were very similar..

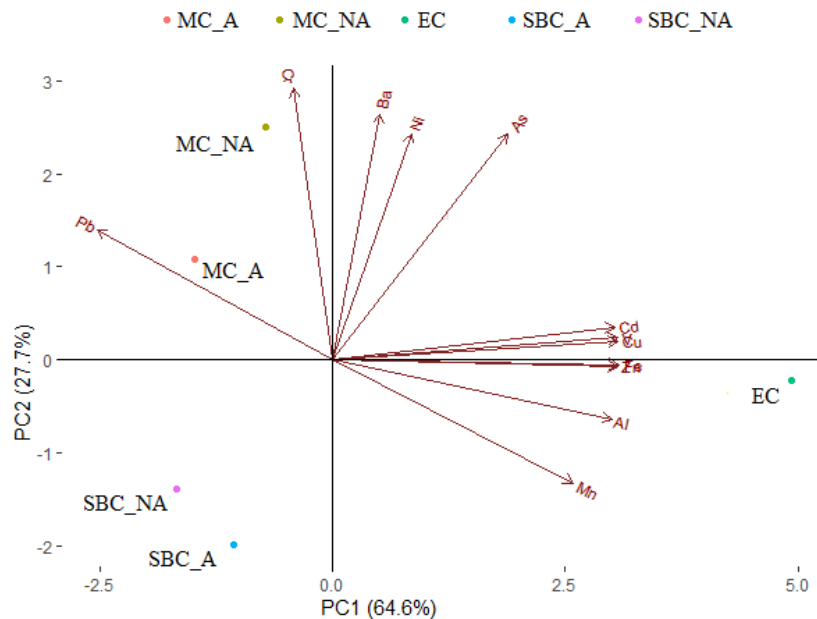


Figure 5. PCA biplot obtained from mean concentration of each of the 12 elements analyzed in 53 honey samples from the impacted and non-impacted studied sites (in Paracatu de Cima, Paracatu de Baixo, Gesteira and Barra Longa), grouped according to the lithostratigraphic unit it belongs, and São Sebastião do Paraíso. Legend: SBC_NA = The most upstream non-impacted site; SBC_A = The most upstream impacted site; MC_NA = The most downstream non-impacted sites; MC_A = The most downstream impacted sites; EC = Control.

DISCUSSION

Until this moment, nothing was known about how native pollinators' food resources (the pollen and nectar stored in *T. angustula*'s beehives) were affected by the Fundão mining tailings dam break (Minas Gerais, Brazil). This work provides the first insights into how much the stingless bees may be exposed to potentially toxic metals/metalloids in the impacted areas, in the period of this study. The results we found are important to action planning, as well as for society in general. Following, we discussed the concentrations we found in the honey and pollen samples along the gradient of impact, comparing to the spectrum of contamination reported in other works in the region impacted by the tailings, and also comparing to the metals/metalloids concentrations in honey and pollen reported in other

studies in Brazil and worldwide. We also discussed the possible ecological implications of metals/metalloids contamination for bees, according to the recent literature about the theme.

Our results showed that a wide range of concentrations of metals/metalloids had accumulated in *T. angustula* pollen and honey samples. The level of accumulation depended on the location of the beehive if in impacted or non-impacted sites in the study area. Generally, the studied elements were present in higher concentrations in pollen than in honey samples. This is in agreement with other studies, as metals and metalloids usually occur in higher concentrations in pollen than in honey (see tables S3 and S4). So, in a toxicological point of view, probably the bee larvae are more exposed to potentially toxic metals/metalloids than the adults, since pollen is the main food source of the larvae. Both pollen and honey proved to be a good indicator of the presence of metal/metalloids released in the environment (atmosphere and/or soil) exhibiting differences in the concentrations of metals/metalloids in the gradient of impact. We found higher concentrations in the pollen samples from the impacted areas than the non-impacted areas within the same locality, for the following elements: Mn (Paracatu de Cima), Ni (Gesteira and Barra Longa) and Zn (Paracatu de Cima). And, in the honey samples: Ba and Mn (Paracatu de Baixo), and As and Cr (Gesteira).

Previous studies in impacted areas, by the Fundão tailings dam break, also found the elements As, Cr, Fe and Mn (one of them or more) at higher concentrations in impacted sediments (Hatje et al., 2017; Reis et al., 2020), soils (Guerra et al., 2017), plants (Coelho et al., 2020; Cruz et al., 2020) and dust samples (Fernandes et al., 2019), than in the control samples. And, Segura et al. (2016) found that Ba mobilization potential from the mud was high, and Fe, Mn, Cr and also Cu, were among the most abundant elements in the tailings. These studies corroborate our findings. However, there is still controversies, for example, Davila et al. (2020) analyzed As, Ba, Cr, Cu, Ni, V, Zn, Fe and Mn in the tailings deposited over the impacted soils and non-impacted soils, revealing lower concentrations of all elements in the tailings, except Fe. Also, Cruz et al. (2020) found higher concentrations of Cu, Fe, Mn

and Zn in soils than in the tailings, in the region of Barra Longa (Minas Gerais). Thereby, we emphasize the necessity of the monitoring programs, covering different biotic and abiotic compartments, for long-term scale, to understand the dynamic of the potentially toxic elements and how the different compartments are being affected along the impacted regions.

Indeed, Fe, Mn, Ba and As contamination were found in Gualaxo do Norte River sediments samples from upstream of the environmental disaster (Reis et al., 2020), what is supported by the earlier studies in the region (before Fundão dam collapse), which showed that Gualaxo do Norte and do Carmo Rivers basins have been historically contaminated by the mining industry and artisanal mining (Costa et al., 2003; Rodrigues et al., 2013, 2014). Additionally, these basins drain waters that run over metalliferous soils, which are naturally enriched in a variety of metals/metalloids due rock weathering, so these rivers naturally contribute to the dispersion of many elements through their courses, plus the elements added by centuries of anthropic activities (Costa et al., 2003; Rodrigues et al., 2013, 2014; Vicq et al., 2015; Reis et al., 2020), such as gold, iron and manganese mining. For example, As may be naturally found at high concentrations in some sites around the Iron Quadrangle (Minas Gerais, Brazil), due the occurrence of the mineral arsenopyrite (Vicq et al., 2015), associated to gold ore, that is also very abundant in the do Carmo river basin and is also rich in other metals such as Ba, Cu and Zn (Costa et al., 2006), which are released by gold mining and may accumulate in other abiotic and biotic compartments. So, these elements have accumulated in the rivers and floodplain soils and were added and mixed to the tailings mud runoff. The influence of so many sources of metals/metalloids along time in these basins, may explain the wide range of variation in the concentrations of the studied metals/metalloids in the honey and pollen samples.

The most toxic of the elements we studied, As, Cr, Cd and Pb, were found in concentrations that can be considered low in our honey and pollen samples, both in the impacted and non-impacted areas, considering that the concentrations we found are similar or

lower than previously reported in honey and pollen samples from *T. angustula*'s combs, from various sites in the Iron Quadrangle (Minas Gerais, Brazil) (Nascimento et al., 2018a; Oliveira et al., 2017), and also in *Apis mellifera* honey and pollen samples from other regions in Brazil (Magalhães 2010; Morgano et al., 2010; Batista et al., 2012).

These non-essential metals/metalloids are among the most hazardous metals and they can generate reactive oxygen species in cells (Ali et al., 2019; Rahman & Singh, 2019). Honey bees chronically exposed to Pb and Cd diets led to an increase in α -tocopherol (vitamin E) levels in bees and Cd also led to an increase in metallothionein-like proteins (MTLPs) (Gauthier et al., 2016), what may confer a protective mechanism, against low levels of those toxicants, preventing the damages from the oxidative stress caused by Cd and Pb (α -tocopherol) and also decreasing the bioavailability of Cd (MTLPs). Purać et al. (2018) identified and described a metallothionein gene in *A. mellifera* and also showed evidences of protective mechanisms against increasingly metals exposure: increasing Cd, Cu e Pb concentration in food led to a dose-dependent increase in the metallothionein gene expression, both in laboratory tests and in field experiments. These authors also identified five putative metallothionein protein sequences from *Apis florea*, *Bombus impatiens* and *Bombus terrestris*, which presented high degree of homology with *A. mellifera* metallothionein, suggesting a high conservation of this protein within the Hymenoptera order. However, lower biomass, number of bees and honey yield were shown in *A. mellifera* nucleous colonies exposed to industrial pollution (As and Cd) (Bromenshenk et al., 1991).

Mn was found at higher concentrations in the impacted areas in our upper sampling points (Paracatu de Cima and Paracatu de Baixo), both in pollen and honey samples. The concentrations we found in pollen from Paracatu de Cima impacted area were considerably higher the means observed in the other sites from the present study and also the concentrations reported in other studies in Brazil (Morgano et al. 2012, Sattler et al. 2016,

Siqueira et al. 2017, Nascimento et al. 2018a, Oliveira et al. 2020) and around the world (Yang et al. 2013, Taha et al. 2017, Altunatmaz et al. 2017), except the concentration revealed in *Camellia japonica* monofloral pollen from China (Yang et al., 2013). In another way, in the honey samples, although Mn mean concentration from Paracatu de Baixo impacted area was higher than the non-impacted area, the concentrations we found are relatively low comparing to the concentrations reported in *T. angustula* honey samples from the Iron Quadrangle (Oliveira et al., 2020) and *A. mellifera* honey samples from other regions of Brazil (Magalhães et al., 2010; Batista et al., 2012).

It was demonstrated by Søvik et al. (2015) that Mn ingestion by honey bees increases brain biogenic amines (octopamine, dopamine and serotonin) levels in a dose-dependent manner, leading to a precocious transition from the in hive activities to foraging activity in workers. Thus, colony fitness may be negatively affected through long-time exposure to high Mn concentrations in food, because precocious foragers are less effective in collecting resources (Perry et al., 2015), and high foraging performance (amount and rate of food collection) is linked to individuals' experience (Klein et al., 2019), beyond the navigational abilities or physical performance (Søvik et al., 2015).

In general, the concentrations of Al, Ba, Cu, Fe, Ni, V and Zn in the honey and pollen samples were considered low – even though Ba, Ni and Zn were found at significantly higher concentrations in some of the impacted sites than in the reference non-impacted sites –, given that the concentrations we found were similar or lower than it was reported in other works in the Iron Quadrangle (Minas Gerais, Brazil), other regions of Minas Gerais and around the world (see tables S3 and S4).

Noteworthy, despite most of these metals are known to have important roles in bees' physiology (except Al), the exposure to high concentrations may lead to several physiologic or behavior impairment. For example, recent evidences showed that the Al concentrations in bees' supply affect honey bees lifespan, circadian adherence and motility (Chicas-Moiser et

al., 2019). These authors showed that when low doses were added to water supply, bees' activity increased, but at higher doses it resulted in exhaustion and low activity levels; it was also observed reduction in the circadian rhythmicity at higher doses; and, reduced survival in the treated groups compared to the control. Also, other studies on pollinators toxicology showed that honey bees' survivor may be negatively affected by Cu, Cd and Pb exposure (Di et al 2016). It was also shown that Zn, Cd and Pb contamination in a gradient of pollution negatively affected the wing size in the solitary bee *Osmia bicornis* (Szentgyorgyi et al., 2017). As well, the time bees spent foraging on flowers were negatively affected by Cu, Ni, Zn and and Pb contamination (Meindl & Ashman, 2013; Xun et al., 2017), what may result in poorer performance.

Beyond that, secondary implications for plant reproductive fitness were found in *Cucurbita pepo* (squash) grown in soils supplemented with Cu, Ni, Zn and Pb (Xun et al., 2017). Xun et al. (2018) also demonstrated that *Hosta ensata* (a native plant from China) interactions with pollinators and nectar robbers were affected by treatments containing artificial nectar solutions with Cu (55 mg/l), Ni (50 mg/l), Zn (80 mg/l) and Pb (55 mg/l), resulting in lesser visitation rate by nectar robbers and higher visitation rate by pollinators, although the pollinators spent less time foraging in the treated groups and removed significantly less nectar, in relation to the control treatment.

Those studies illustrate that plants and pollinators may suffer direct negative effects of metals contamination, and indirect effects through affecting plant-insect interactions. However, the effects of many metals/metalloids on pollinators are not yet clearly elucidated, most experiments rely only with *A. mellifera* specie and nothing is known about the effects of these metals/metalloids on the stingless bees physiology and behavior, as well as on the colonies performance. So, the ecological implications of metals and metalloids for plants and pollinators should be better depicted in future researches, both on naturally metalliferous and contaminated sites.

In relation to the risks posed to human health by the consumption of honey and pollen produced by *T. angustula* in the region impacted by Fundão mining tailings dam rupture, we state that the maximum levels determined by the Brazilian National Agency of Sanitary Vigilance (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA) in honey for the elements As (0.3 mg/kg), Cd (0.1 mg/kg) and Pb (0.3 mg/kg) (ANVISA, 2013) and in foodstuff for Zn (50.0 mg/kg), Ni (5.0 mg/kg), Cu (30.0 mg/kg) and Cr (0.1 mg/kg) (ANVISA, 2013) are all above the levels we found in our honey and pollen samples. Likewise, the concentrations we found for these elements in honey and pollen shall be safe for humans.

Metals composition assessment

The PCA indicate that the 12 studied metals/metalloids composition in the honey and pollen samples from the impacted and non-impacted studied sites were closely related to each other, while the control samples metals/metalloids content were very distinct to others. The PCA suggests that, in honey, the composition of metals/metalloids in the impacted sites were closely related to the reference non-impacted sites. However, in pollen, the high Mn concentrations found in the impacted site at Paracatu de Cima showed discrepancy in relation to the concentrations found in the non-impacted site. Many other studies have found that the geographical origin is an important factor for honey and pollen metals/metalloids content distinction, such as Andrade et al. (2014), Morgano et al. (2010), Morgano et al. (2012), Batista et al. (2012), Baroni et al. (2015), Bogdanov et al. (2007) and Oliveira et al. (2020). Closer localities may be closer related in many biotic and abiotic local features such as plant composition and soil geochemistry, what may contribute to the differences in the concentration of some elements among the studied sites.

CONCLUSIONS

Overall, despite there were observed differences in metals/metalloids mean concentrations in honey and pollen between some of the impacted and non-impacted areas from Paracatu de Cima to Barra Longa, the levels we found were not high compared to the metals/metalloids concentrations reported in honey and pollen in other researches, in Brazil and around the world, except the Mn concentrations in pollen we found in Paracatu de Cima impacted area. Furthermore, the concentrations found are all below the permissible threshold of Brazilian legislation and shouldn't pose risks for human consumption. However, we emphasize that metals/metalloids in the stingless bees food resources should be constantly monitored in the region impacted by the tailings dam collapse, to understand the dynamics of the metals/metalloids in the impacted areas and how the stingless bees may be affected in long-term.

Acknowledgments

The authors are grateful for financial support from the Brazilian government agency Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and the Fundação RENOVA. We also thank to Federal University of Ouro Preto, the post-graduate program in Ecology of Tropical Biomes (Ecologia de Biomas Tropicais) and the laboratory of Environmental Geochemistry (Laboratório de Geoquímica Ambiental).

REFERENCES

- Al-Alam, J.; Chbani, A.; Faljoun, Z.; Millet, M. The use of vegetation, bees, and snails as important tools for the biomonitoring of atmospheric pollution – a review. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 26, n. 10, p. 9391-9408, 2019
- Ali, H.; Khan, E. Trophic transfer, bioaccumulation, and biomagnification of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in food chains/webs – Concepts and implications for wildlife and human health. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v.25, n.6, p. 1353-1376, 2019.

- Ali, H.; Khan, E.; Ilahi, I. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity and bioaccumulation. **Journal of Chemistry**, v. 2019, 2019.
- Almeida, C.A.; Oliveira, A.F.; Pacheco, A.A.; Lopes, R.P.; Neves, A.A.; De Queiroz, M.E.L.R. Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin–Brazil. **Chemosphere**, v. 209, p. 411-420, 2018.
- Altunatmaz, S.S.; Tarhan, D.; Aksu, F.; Barutçu, U.B.; Or, M.E. Mineral element and heavy metal (cadmium, lead and arsenic) levels of bee pollen in Turkey. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 136-141, 2017.
- Andrade, C.K.; dos Anjos, V.E.; Felsner, M.L.; Torres, Y.R.; Quináia, S.P. Direct determination of Cd, Pb and Cr in honey by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 146, p. 166-173, 2014.
- ANVISA. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013.
- Azam, S.; Li, Q. Tailings dam failures: a review of the last one hundred years. **Geotechnical News**, v. 28, n. 4, p. 50-54, 2010.
- Baroni, M.V.; Podio, N.S.; Badini, R.G.; Inga, M.; Ostera, H.A.; Cagnoni, M.; Gautier, E.; Peral-García, P. Hoogewerff, J; Wunderlin, D.A. Linking soil, water, and honey composition to assess the geographical origin of argentinean honey by multielemental and isotopic analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 18, p. 4638-4645, 2015.
- Batista, B. L., Da Silva, L. R. S., Rocha, B.A., Rodrigues, J.L.; Berretta-Silva, A.A.; Bonates, T.O.; Gomes, V.S.D; Barbosa, R.M.; Barbosa, F. Multi-element determination in Brazilian honey samples by inductively coupled plasma mass spectrometry and estimation of geographic origin with data mining techniques. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 209-215, 2012.
- Braga, A.B.; Oliveira, E.S.; Neto, J.S.; Conde, M.M.; Barth, O.M.; Lorenzon, M.C. Floral sources to *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) and their pollen morphology in a southeastern Brazilian Atlantic Forest. **Revista de Biología Tropical**, v. 60, n. 4, p. 1491-1501, 2012.
- Brazil. Law nº 12.651, 25th May 2012. 2012. Available in: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Lei/L12651.htm#art83>
- Bromenshenk, J.J.; Gudatis, J.L.; Carlson, S.R. Thomas, J.M.; Simmons, M.A. Population dynamics of honey bee nucleus colonies exposed to industrial pollutants. **Apidologie**, v. 22, n. 4, p. 359-369, 1991.
- Bogdanov, S.; Haldimann, M.; Luginbühl, W.; Gallmann, P. Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. **Journal of Apicultural Research**, v. 46, n. 4, p. 269-275, 2007.
- Bonsucesso, J. S., Gloaguen, T. V., do Nascimento, A. S., de Carvalho, C. A. L., Dias, F. D. S. Metals in geopropolis from beehive of *Melipona scutellaris* in urban environments. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 687-694, 2018.

- Carvalho Filho, A.; Inda, A.V.; Fink, J.R.; Curi, N.. Iron oxides in soils of different lithological origins in Ferriferous Quadrilateral (Minas Gerais, Brazil). **Applied Clay Science**, v. 118, p. 1-7, 2015.
- Castilhos, D.; Bergamo, G.C.; Gramacho, K.P.; Gonçalves, L.S. Bee colony losses in Brazil: a 5-year online survey. **Apidologie**, v. 50, n. 3, p. 263-272, 2019.
- Costa, A.T. Geoquímica das águas e dos sedimentos da Bacia do Rio Gualaxo do Norte, Leste-Sudeste do Quadrilátero Ferrífero (MG): Estudo de uma área afetada por atividades de extração mineral. Doctoral thesis, Universidade Federal de Ouro Preto, 2001.
- Costa, A.T, Nalini, H.A., Castro, P.T.A.; Lena, J.C.; Morgenstern, P.; Friese, K. Sediment contamination in floodplains and alluvial terraces as an historical record of gold exploitation in the Carmo River basin, Southeast Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brazil. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 34, n. 3, p. 245-256, 2006.
- Deschamps, E.; Ciminelli, V.S.T; Lange, F.T.; Matschullat, J.; Raue, B.; Schmidt, H. Soil and sediment geochemistry of the Iron Quadrangle, Brazil. The case of Arsenic. **Journal of Soils & Sediments**, v. 2, n. 4, p. 216-222, 2002.
- Davila, R.B.; Fontes, M.P.F.; Pacheco, A.A.; Ferreira, M.S. Heavy metals in iron ore tailings and floodplain soils affected by the Samarco dam collapse in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 709, p. 136151, 2020.
- Di, N.; Hladun, K.R.; Zhang, K.; Liu, T.X.; Trumble, J.T. Laboratory bioassays on the impact of cadmium, copper and lead on the development and survival of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae and foragers. **Chemosphere**, v. 152, p. 530-538, 2016.
- Dinkov, D.; Stratev, D. The content of two toxic heavy metals in Bulgarian bee pollen. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 3, p. 1343, 2016.
- Dourado, G.S.; Gomes, V.V.; Maia, M.T.V.; Vasconcelos, A.A.; Costa, K.S.; Faial, K.D.C.F.; Carneiro, B.S.; Vasconcelos Junior, N.T.; Taube, P.S. Determination of macro and trace element levels in honey from the lower amazonian region, Brazil. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v. 6, n. 23, p. 29-44, 2019.
- Dorneles, A.L.; Rosa, A.S.; Blochtein, B. Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*. **Apidologie**, v. 48, n. 5, p. 612-620, 2017.
- Erenler, H.E.; Gillman, M.P.; Ollerton, J. Impact of extreme events on pollinator assemblages. **Current Opinion in Insect Science**, v. 38, p. 34-39, 2020.
- Ernst, W.H.O.; Bast-Cramer, W.B. The effect of lead contamination of soils and air on its accumulation in pollen. **Plant and Soil**, v. 57, n. 2-3, p. 491-496, 1980.
- Fernandes, G.W.; Goulart, F.F.; Ranieri, B.D.; Coelho, M.S.; Dales, K.; Boesche, N.; Bustamante, M.; Carvalho, F.A.; Carvalho, D.C.; Dirzo, R.; Fernandes, S.; Galleti Jr., P.M.; Millan, V.E.G.; Mielke, C.; Ramirez, J.L.; Neves, A.; Rogass, C.; Ribeiro, S.P.; Scariot, A.; Soares-Filho, B. Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza & Conservação**, v. 14, n. 2, p. 35-45, 2016.

- Fernandes, C.S.; Santos, A.C.; Santos, G.R.; Teixeira, M.C. Arsenic contaminated dust and the mud accident in Fundão (Brazil). In: **Environmental Arsenic in a Changing World: Proceedings of the 7th International Congress and Exhibition on Arsenic in the Environment** (AS 2018), July 1-6, 2018, Beijing, PR China. CRC Press, p. 203, 2019.
- Formicki, G.; Greń, A.; Stawarz, R.; Zyśk, B.; Gał, A. Metal Content in Honey, Propolis, Wax, and Bee Pollen and Implications for Metal Pollution Monitoring. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 22, n. 1, 2013.
- Guerra, M.B.B.; Teaney, B.T.; Mount, B.J.; Asunskis, D.J.; Jordan, B.T.; Barker, R.J.; Santos, Schaefer, C.E.G.R. Post-catastrophe Analysis of the Fundão tailings dam failure in the Doce River system, Southeast Brazil: Potentially toxic elements in affected soils. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n. 7, p. 252, 2017.
- Herrero-Latorre, C.; Barciela-García, J.; García-Martín, S.; Peña-Creciente, R.M. The use of honeybees and honey as environmental bioindicators for metals and radionuclides: a review. **Environmental Reviews**, v. 25, n. 4, p. 463-480, 2017.
- Hatje, V.; Pedreira, R.M.A.; Rezende, C.E.; Schettini, C.A.F.; Souza, G.C.; Marin, D.C.; Hackspacher, P.C. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.
- Hladun, K.R.; Parker, D.R.; Trumble, J.T. Cadmium, copper, and lead accumulation and bioconcentration in the vegetative and reproductive organs of *Raphanus sativus*: implications for plant performance and pollination. **Journal of Chemical Ecology**, v. 41, n. 4, p. 386-395, 2015.
- Hladun, K.R.; Di, N.; Liu, T.X.; Trumble, J.T. Metal contaminant accumulation in the hive: Consequences for whole-colony health and brood production in the honey bee (*Apis mellifera* L.). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 2, p. 322-329, 2016.
- Hudson-Edwards, K. Tackling mine wastes. **Science**, v. 352, n. 6283, p. 288-290, 2016.
- Hudson-Edwards, K.A.; Jamieson, H.E.; Lottermoser, B.G. Mine wastes: past, present, future. **Elements**, v. 7, n. 6, p. 375-380, 2011.
- Imperatriz-Fonseca, V.L.; Kleinert-Giovannini, A.; Cortopassi-Laurino, M.; Ramalho, M. Habitos de coleta de *Tetragonisca angustula angustula* Latreille, (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Boletim de Zoologia**, v. 8, n. 8, p. 115-131, 1984.
- Kerr, W.E.; Carvalho, G.A.; Nascimento, V.A. **Abelha Uruçu: Biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte, Fundação Acangaú, 143p., 1996.
- Klein, S.; Pasquaretta, C.; He, X.J.; Perry, C.; Søvik, E.; Devaud, J.M.; Barron, A.B.; Lihoreau, M. Honey bees increase their foraging performance and frequency of pollen trips through experience. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2019.
- Kossoff, D.; Dubbin, W.E.; Alfredsson, M.; Edwards, S.J.; Macklin, M.G.; Hudson-Edwards, K.A. Mine tailings dams: characteristics, failure, environmental impacts, and remediation. **Applied Geochemistry**, v. 51, p. 229-245, 2014.

- Magalhães, M. 2010. Honey and pollen of *Apis mellifera* as bioindicator of environmental pollution by heavy metals. Dissertation. Universidade Federal de Ouro Preto, MG, Brazil. pp.66.
- Martin, R.; Dowling, K.; Pearce, D.C.; Florentine, S.; McKnight, S.; Stelcer, E.; Cohen, D.D.; Stopic, A.; Bennett, J.W. Trace metal content in inhalable particulate matter (PM 2.5–10 and PM 2.5) collected from historical mine waste deposits using a laboratory-based approach. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 39, n. 3, p. 549-563, 2017.
- Meindl, G.A.; Ashman, T.L. The effects of aluminum and nickel in nectar on the foraging behavior of bumblebees. **Environmental Pollution**, v. 177, p. 78-81, 2013.
- Morgan, A.J.; Kille, P.; Stürzenbaum, S.R. Microevolution and ecotoxicology of metals in invertebrates. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 4, p. 1085-1096, 2007.
- Morgano, M.A.; Martins, M.C.T.; Rabonato, L.C.; Milani, R.F.; Yotsuyanagi, K.; Rodriguez-Amaya, D.B. Inorganic contaminants in bee pollen from southeastern Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 11, p. 6876-6883, 2010.
- Morgano, M.A.; Martins, M.C.T.; Rabonato, L.C.; Milani, R.F.; Yotsuyanagi, K.; Rodriguez-Amaya, D.B. A Comprehensive Investigation of the Mineral Composition of Brazilian Bee Pollen: Geographic and Seasonal Variations and Contribution to Human Diet. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 4, p. 727-736, 2012.
- Nascimento, A. S., Marchini, L. C., de Carvalho, C. A. L., Araújo, D. F. D., da Silveira, T. A., de Olinda, R. A. Determining the levels of trace elements Cd, Cu, Pb and Zn in honey of stingless bee (Hymenoptera: Apidae) using voltammetry. **Food and Nutrition Sciences**, v. 6, n. 7, p. 591, 2015.
- Nascimento, A.S.; Chambó, E.D.; Oliveira, D.J.; Andrade, B.R.; Bonsucesso, J.S.; Carvalho, C.A.L. Honey from stingless bee as indicator of contamination with metals. **Sociobiology**, v. 65, n. 4, p. 727-736, 2018b.
- Nascimento, N.O.; Nalini, H.A.; Ataíde, F.; Abreu, A.T.; Antonini, Y. Pollen storage by stingless bees as an environmental marker for metal contamination: spatial and temporal distribution of metal elements. **Sociobiology**, v. 65, n. 2, p. 259-270, 2018a.
- Nieuwstadt, M.G.L.; Iraheta, C.R. Relation between size and foraging range in stingless bees (Apidae, Meliponinae). **Apidologie**, v. 27, n. 4, p. 219-228, 1996.
- Nogueira-Neto, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997.
- Oliveira, F.A.; Abreu, A.T.; Nascimento, N.O.; Froes-Silva, R.E.S.; Antonini, Y.; Nalini, H.A.; Lena, J.C. Evaluation of matrix effect on the determination of rare earth elements and As, Bi, Cd, Pb, Se and In in honey and pollen of native Brazilian bees (*Tetragonisca angustula* – Jataí) by Q-ICP-MS. **Talanta**, v. 162, p. 488-494, 2017.
- Oliveira, F.A.; Abreu, A.T.; Nascimento, N.O.; Froes-Silva, R.E.S.; Nalini, H.A.; Antonini, Y. Mineral content in honey and pollen from native stingless bees *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) in the Iron Quadrangle, Brazil. **Journal of Apicultural Research**, p. 1-12, 2020.

- Perry, C.J.; Søvik, E.; Myerscough, M.R.; Barron, A.B. Rapid behavioral maturation accelerates failure of stressed honey bee colonies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 11, p. 3427-3432, 2015.
- Pioker-Hara, F.C.; Drummond, M.S.; Kleinert, A.M.P. The influence of the loss of brazilian savanna vegetation on the occurrence of stingless bees nests (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 393-400, 2014.
- Pires, J.M.M.; Lena, J.C.D.; Machado, C.C.; Pereira, R.S. Potencial poluidor de resíduo sólido da Samarco Mineração: estudo de caso da barragem de Germano. **Revista Árvore**, v. 27, n. 3, p. 393-397, 2003.
- Rahman, Z.; Singh, V.P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 7, p. 419, 2019.
- Rico, M.; Benito, G.; Díez-Herrero. Floods from tailings dam failures. **Journal of Hazardous Materials**, v. 154, n. 1-3, p. 79-87, 2008.
- Santos, O.S.H.; Avellar, F.C.; Alves, M.; Trindade, R.C.; Menezes, M.B.; Ferreira, M.C.; França, G.S.; Cordeiro, J.; Sobreira, F.G.; Yoshida, I.M.; Moura, P.M.; Baptista, M.B.; Scotti, M.R. Understanding the environmental impact of a mine dam rupture in Brazil: Prospects for remediation. **Journal of Environmental Quality**, v. 48, n. 2, p. 439-449, 2019.
- Sattler, J.A.G.; De-Melo, A.A.M.; Nascimento, K.S.; Melo, I.L.P.; Mancini-Filho, J.; Sattler, A.; Almeida-Muradian, L.B. Essential minerals and inorganic contaminants (barium, cadmium, lithium, lead and vanadium) in dried bee pollen produced in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Food Science and Technology**, v. 36, n. 3, p. 505-509, 2016.
- Segura, F.R.; Nunes, E.A.; Paniz, F.P.; Paulelli, A.C.C.; Rodrigues, G.B.; Braga, G.Ú.L.; Pedreira Filho, W.R.; Barbosa Junior, F.; Cerchiaro, G.; Silva, F.F.; Batista, B.L. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, v. 218, p. 813-825, 2016.
- Selmi, M.; Lagoeiro, L.E.; Endo, I. Geochemistry of hematite and itabirite, Quadrilátero Ferrífero, Brazil. **Revista Escola de Minas**, v. 62, n. 1, p. 35-43, 2009.
- Silva, A.C.; Cavalcante, L.C.D.; Fabris, J.D.; Franco Júnior, R.; Barral, U.M.; Farnezi, M.M.M.; Viana, A.J.S.; Ardisson, J.D.; Fernandez-Outon, L.E.; Lara, L.R.S.; Stumpf, H.O.; Barbosa, J.B.S.; Silva, L.C. 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**, v. 5, n. 2, p. 44-53, 2016.
- Siqueira, J.S.; Pereira, J.B.; Lemos, M.S.; Dantas Filho, H.A.; Dantas, K.G.F. Optimization of a Digestion Method Using Diluted Acid in Bee Pollen Samples for Determination of Fe, Mn, and Zn by Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 3, p. 759-763, 2017.
- Solayman, M.; Islan, M.A.; Paul, S.; Ali, Y.; Khalil, M.I.; Alam, N.; Gan, S.H. Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a

- comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 219-233, 2016.
- Søvik, E.; Perry, C.J.; Lamora, A.; Barron, A.B.; Ben-Shahar, Y. Negative impact of manganese on honeybee foraging. **Biology Letters**, v.11, n. 3, p. 20140989, 2015.
- Szentgyörgyi, H.; Moroń, D.; Nawrocka, A.; Tofilski, A.; Woyciechowski, M. Forewing structure of the solitary bee *Osmia bicornis* developing on heavy metal pollution gradient. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 8, p. 1031-1040, 2017.
- Taha, E.K.A.; Al-Jabr, A.M.; Al-Kahtani, S.N. Honey bees, bee-collected pollen and honey as monitors of environmental pollution at an industrial cement area in Saudi Arabia. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 90, n. 1, p. 1-10, 2017.
- Tian, S.; Liang, T.; Li, K. Fine road dust contamination in a mining area presents a likely air pollution hotspot and threat to human health. **Environment International**, v. 128, p. 201-209, 2019.
- Tomé, H.V.V.; Barbosa, W.F.; Martins, G.F.; Guedes, R.N.C. Spinosad in the native stingless bee *Melipona quadrifasciata*: Regrettable non-target toxicity of a bioinsecticide. **Chemosphere**, v. 124, p. 103-109, 2015.
- United States Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs. **Assigning Values to Non-Detected/Non-Quantified Pesticide Residues in Human Health Food Exposure Assessments**. Office of Pesticide Programs, US Environmental Protection Agency, 2000.
- Valeriano, C.; Neumann, R.; Alkmim, A.R.; Evangelista, H.; Heilbron, M.; Neto, C.C.A.; Souza, G.P. Sm–Nd and Sr isotope fingerprinting of iron mining tailing deposits spilled from the failed SAMARCO Fundão dam 2015 accident at Mariana, SE-Brazil. **Applied Geochemistry**, v. 106, p. 34-44, 2019.
- Van Der Steen, J.J.M.; Cornelissen, B.; Blacquièrre, T.; Pijnenburg, J.E.M.L.; Severijnen, M. Think regionally, act locally: metals in honeybee workers in the Netherlands (surveillance study 2008). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 8, p. 463, 2016.
- Vicq, R.; Matschullat, J.; Leite, M.G.P.; Nalini, H.A.; Mendonça, F.P.C. Iron Quadrangle stream sediments, Brazil: geochemical maps and reference values. **Environmental Earth Sciences**, v. 74, n. 5, p. 4407-4417, 2015.
- Xun, E.; Zhang, Y.; Zhao, J.; Guo, J. Translocation of heavy metals from soils into floral organs and rewards of *Cucurbita pepo*: implications for plant reproductive fitness. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 235-243, 2017.
- Xun, E.; Zhang, Y.; Zhao, J.; Guo, J. Heavy metals in nectar modify behaviors of pollinators and nectar robbers: Consequences for plant fitness. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 1166-1175, 2018.
- Yang, K.; Wu, D.; Ye, X.; Liu, D.; Chen, J.; Sun, P. Characterization of chemical composition of bee pollen in China. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 3, p. 708-718, 2013.

Zhou, X.; Taylor, M.P.; Davies, P.J. Tracing natural and industrial contamination and lead isotopic compositions in an Australian native bee species. **Environmental Pollution**, v. 242, n. 54-62, 2018.

Metais e metaloides viajam pelos compartimentos das cadeias alimentares de abelhas e vespas solitárias, em áreas impactadas por rejeitos de mineração

Resumo: as abelhas e vespas solitárias, que nascem em ninhos construídos em cavidades pré-existentes, e os alimentos que são armazenados nos ninhos para a alimentação das larvas, formam sistemas multi-tróficos, os quais permitem explorar de que modo ocorre a transferência de elementos químicos nas cadeias alimentares (pólen – abelhas – parasitoides; e invertebrados – vespas – parasitoides). Quantificamos e avaliamos a transferência de 12 metais/metaloides (Al, Mn, Fe, Zn, Ba, Cu, Ni, V, Pb, Cr, As e Cd) nos componentes das cadeias tróficas de abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes, em uma região que sofreu o impacto do rompimento da barragem de rejeitos de mineração de ferro, Fundão (Minas Gerais, Brasil), e em áreas não impactadas diretamente. Hipotetizamos que as concentrações de metais seriam maiores naqueles organismos cujos ninhos se localizem em regiões diretamente impactadas pela deposição de rejeitos, em comparação com regiões não impactadas. Além disso, esperamos que os elementos fossem encontrados em diferentes concentrações em relação ao nível trófico dos organismos e a região amostrada. Nossos resultados mostraram não haver diferença significativa na concentração dos elementos entre as áreas impactadas e não impactadas. No entanto, verificamos que as concentrações dos elementos variam entre as regiões amostradas e, em alguns casos, também entre os diferentes níveis tróficos das cadeias alimentares. Nós demonstramos que os elementos da cadeia trófica de abelhas e vespas que nidificam em cavidades pré-existentes podem ser utilizados como indicadores da presença de metais e metaloides em áreas sujeitas aos impactos da mineração. Entretanto, o potencial para acumular metais difere entre os dois grupos. Assim, sua capacidade de discriminar diferentes metais pesados poluentes diferem e mais estudos são necessários para detectar diferenças na eficiência de diferentes grupos de insetos para acumular diferentes metais pesados.

Palavras-Chaves: metais; metaloides; contaminação ambiental; cadeia trófica; recursos alimentares; abelhas; vespas.

INTRODUÇÃO

A relação multi-trófica entre plantas hospedeiras, insetos herbívoros e predadores pode ser usada como um sistema modelo para estudar os efeitos de metais pesados em diferentes níveis tróficos do ecossistema (Dar et al., 2015). Nesse relacionamento, plantas servem como uma rota para a transferência de metais do solo para insetos herbívoros e os insetos herbívoros para os níveis tróficos superiores (Devokta & Schmidt, 2000).

O transporte de metais pelos níveis tróficos é um fenômeno complexo (Bañuelos & Ajwa, 1999). De acordo com Kabata-Pendias (2004), as plantas podem absorver facilmente elementos em solução no solo. Para as plantas, a biodisponibilidade dos elementos no solo é dependente das propriedades físico-químicas dos compostos e das propriedades do solo (Cataldo & Wildung, 1978), além de fatores climáticos e biológicos (Kabata-Pendias, 2004). Também, o potencial de bioacumulação de um metal por um determinado organismo também é influenciado pela interação de um conjunto de fatores, tais como os fatores abióticos, as características químicas do elemento e a sua concentração, as características fisiológicas espécie-específicas e a rota de exposição (Luoma & Rainbow, 2005).

Os artrópodes têm sido utilizados em diversos estudos de contaminação ambiental, indicando bioacumulação nos níveis tróficos superiores (Heikens et al., 2001; Peterson et al., 2017; Nummelin et al., 2007; Conti et al., 2017; Conti et al., 2018; Dar et al., 2019), e também usados como monitores ambientais, indicando as concentrações de elementos presentes no ambiente (Negri et al., 2015; Oliveira et al., 2016; Smith et al 2019). No entanto, o uso de abelhas e vespas solitárias, que nidificam em cavidades pré-existentes, ainda é raro nos estudos de contaminação ambiental, e até onde sabemos as concentrações de metais/metaloídes nunca foi determinada nos sistemas formados pelos alimentos larvais e os indivíduos imaturos de abelhas e vespas (após completarem a alimentação larval, em fase de pupa).

Em gradientes de contaminação ambiental de fontes industriais (fundição de Zn e Pb, na Polônia e no Reino Unido), metais contaminantes (Cd, Pb e Zn) foram analisados no alimento larval e nos adultos de abelhas solitárias que nidificam em cavidades (*Osmia rufa*) (Moroń et al., 2014). As abelhas solitárias respondem aos gradientes de contaminação ambiental com mudanças na riqueza e abundância de espécies (Moroń et al., 2012) e em parâmetros biológicos como o número de células de cria e a mortalidade dos descendentes (Moroń et al., 2014). Szentgyörgyi et al. (2017) mostraram que a assimetria das asas dianteiras da abelha solitária *Osmia bicornis* não foi afetada pela contaminação ambiental (Cd, Pb e Zn), no entanto o tamanho das asas apresentou correlação negativa com a contaminação.

As vespas sociais já foram satisfatoriamente utilizadas em estudos de contaminação ambiental em áreas sujeitas à urbanização (Urbini et al., 2006) e à industrialização (fundição de Cu-Ni) (Skaldina et al., 2020). No entanto, até onde sabemos os sistemas formados pelas vespas solitárias e os alimentos larvais (as presas capturadas pelas vespas adultas), nunca foram avaliados. Ao consumir presas contaminadas com metais em altas concentrações, as vespas também podem ser negativamente afetadas em termos de saúde e vigor, resultando conseqüentemente em uma redução proporcional na eficácia do controle de pragas. Assim, elevados níveis de metais vestigiais ao longo das cadeias alimentares podem levar a toxicidade (Dar et al., 2019), o que pode limitar o papel benéfico desempenhado por insetos predadores em um ecossistema (Green et al., 2010). Neste sentido, os efeitos negativos dos metais tóxicos vão além dos organismos, pois como consequência dos efeitos diretos sobre os polinizadores e predadores (Skaldina et al., 2019), o funcionamento dos ecossistemas pode ser afetado (Gall et al., 2015; Skaldina et al., 2019).

A transferência de metais pesados para insetos predadores do solo através da cadeia alimentar pode afetar parâmetros de aptidão diferentes desses invertebrados predadores (Suganya et al., 2016; Zhang et al., 2017). A sobrevivência e persistência de insetos em

ambientes cronicamente poluídos ocorre em custos energéticos (Sibly e Calow, 1989; Stone et al., 2001; Walker et al., 2012). Em ambiente poluído cronicamente insetos gastam uma quantia significativa de seu orçamento de energia em desintoxicação suplementar que resulta em interrupção do crescimento normal (biomassa e reprodução) e respiração (Stone et al., 2001; Walker et al., 2012). Em revisão recente Dar et al. (2019) mostraram que os metais pesados podem alterar aspectos fisiológicos, comportamentais, reprodutivos e morfológicos em sistemas predador-presa em artrópodes.

Muito pouco se sabe sobre os custos potenciais, para os ecossistemas em geral, associados à acumulação de elementos tóxicos. Entender esses processos é importante, uma vez que proporcionam uma visão sobre as reverberações ecológicas da hiperacumulação, e lançam luz sobre as possíveis pressões seletivas que levaram a evolução deste fenômeno fascinante. Uma melhor visão ecológica também irá ajudar na gestão das áreas impactadas pela mineração, onde a quantidade de elementos tóxicos lançadas no ambiente é geralmente muito elevada.

As abelhas e vespas solitárias possuem grande importância pelas funções ecológicas desempenhadas (como polinizadoras e predadoras) e possuem grande potencial para estudos de contaminação ambiental. Tanto abelhas quanto vespas solitárias não mantem nenhum contato com a prole depois da oviposição, de forma que a principal forma de seus imaturos se contaminarem seria pela ingestão de alimentos contaminados, sendo para as abelhas o pólen e para as vespas os invertebrados. Portanto, os alimentos larvais e as crias que já completaram sua alimentação, formam sistemas ideais para estudos de transferência de metais/metaloides entre os componentes de suas cadeias alimentares. Com a técnica do uso de ninhos-armadilha, desenvolvida por Krombeim (1967), as abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes tem podem ser usadas em estudos de transferência de metais/metaloides em cadeias alimentares em áreas contaminadas.

O objetivo desse trabalho foi avaliar de que forma metais/metaloídeos podem ser transferidos entre as gerações em sistemas fechados formados pelos adultos imaturos e o alimento larval de abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes, em área que sofreu impacto pelo rompimento de uma barragem de rejeito de mineração. Nossa hipótese é que as concentrações de metais/metaloídeos serão maiores naqueles organismos cujos ninhos se localizam em regiões diretamente impactadas pelo rejeito, comparado com regiões não impactadas. A figura conceitual ilustra a ideia do trabalho (figura 1). Vespas predadoras capturam artrópodes de solos contaminados para alimentar suas larvas. As larvas ao se alimentarem das presas estariam ingerindo metais/metaloídeos que podem se acumular no seu corpo. Do mesmo modo, as larvas de abelhas podem se contaminar ao ingerirem alimento larval (pólen, néctar, óleos vegetais) coletados em áreas contaminadas. Os imaturos das vespas e abelhas por sua vez, podem sofrer parasitoidismo por seus inimigos naturais (por exemplo, vespas parasitas ou dípteros), que também podem acumular contaminantes.

Observar que os metais/metaloídeos podem entrar nas cadeias alimentares terrestres por outras vias além da interface solo-planta. As larvas das vespas, ao se alimentarem de invertebrados que vivem no solo, podem ingerir partículas de solo depositados sobre a superfície corporal das presas. E as larvas das abelhas podem ingerir partículas de material particulado atmosférico depositadas sobre o pólen. Ainda, os imaturos de abelhas e vespas, contaminados por metais, podem servir de alimento para parasitoides que também se contaminariam com metais.

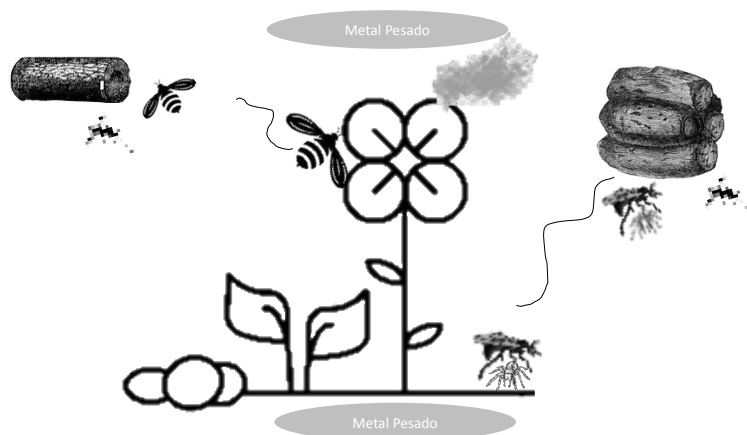


Figura 1. Modelo conceitual mostrando os caminhos de entrada dos metais pesados nas cadeias tróficas de abelhas e vespas que nidificam em cavidades pré-existentes.

MÉTODOS

Área de estudo

Este estudo foi conduzido em pontos amostrais nas margens dos rios Gualaxo do Norte (Minas Gerais) (tab. 1), entre o distrito Paracatu de Baixo e Gesteira (fig. 1), uma das principais regiões afetadas pela deposição de lama oriunda do rompimento da barragem de rejeitos de minério de ferro “Fundão”.

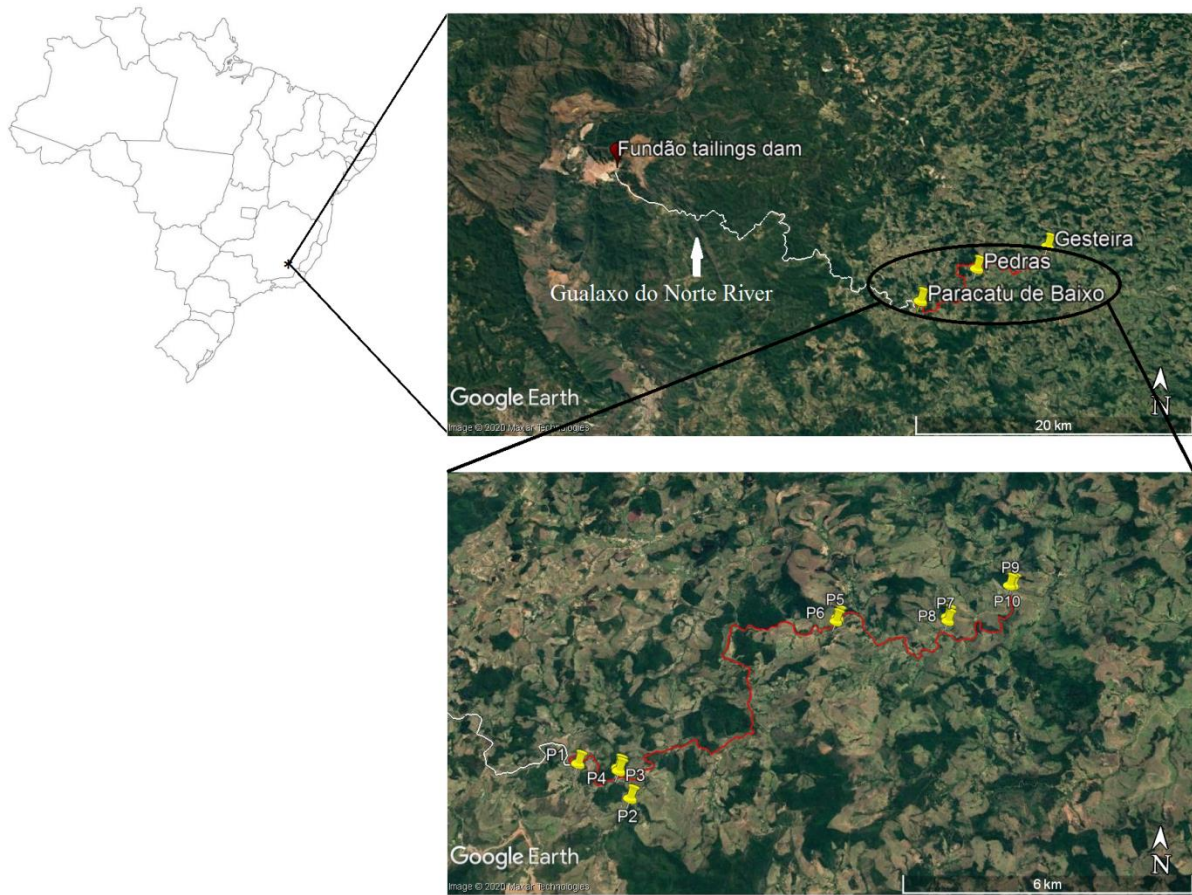


Figura 3. Mapa com os pontos amostrais dos ninhos-armadilha na região do rio Gualaxo do Norte, Minas Gerais, Brasil. Trajeto percorrido pelos rejeitos de Fundão em branco, e a região estudada ao longo do rio Gualaxo do Norte, em vermelho.

Tabela 1: Localização georeferenciada dos pontos amostrais

Ponto	Código localidade	Localidade	Coordenadas	Área
1	1	Paracatu de Baixo	20°18'18.39"S / 43°13'49.88"W	Impactada
2	1	Paracatu de Baixo	20°18'41.54"S / 43°13'7.45"W	Não Impactada
3	1	Paracatu de Baixo	20°18'20.29"S / 43°13'19.15"W	Impactada
4	1	Paracatu de Baixo	20°18'22.53"S / 43°13'18.38"W	Não Impactada
5	2	Pedras	20°16'19.65"S / 43°10'36.46"W	Impactada
6	2	Pedras	20°16'22.85"S / 43°10'37.74"W	Não Impactada
7	3	Estrada Pedras- Gesteira	20°16'18.86"S / 43°9'6.29"W	Impactada
8	3	Estrada Pedras- Gesteira	20°16'15.45"S / 43°9'6.53"W	Não Impactada
9	4	Gesteira	20°15'46.61"S /	Impactada

10	4	Gesteira	43°8'11.42"W 20°15'47.27"S / 43°8'14.26"W	Não Impactada
----	---	----------	---	---------------

Ninhos-armadilha

Os ninhos-armadilha consistem em blocos de madeira com furos (cavidades) de 10 cm de profundidade, envolvidos por canudos de papel-cartão preto de mesmo tamanho e diâmetro. Cada ponto amostral contém um conjunto de ninhos-armadilha, com um total de 135 cavidades de diferentes diâmetros – 6 mm, 9 mm e 12 mm –, em igual número e posições aleatórias (fig. 3)



Figura 3: Conjunto de ninhos armadilha. As abelhas e vespas que nidificam em cavidades pré-existentes, constroem seus ninhos nas cavidades criadas nos blocos de madeira, as quais foram coletadas periodicamente.

Triagem das partes de interesse dos ninhos de abelhas e vespas (pupas, substrato, alimento de provisão das larvas) e armazenamento das amostras

O substrato utilizado na construção dos ninhos, o alimento de provisão das larvas e duas pupas das abelhas/vespas foram triados de cada ninho (fig. 4), e os indivíduos restantes foram mantidos em tubos de vidro fechados para a identificação das espécies dos adultos emergentes, para realização posterior de digestão ácida e análise elementar no ICP-MS. As amostras foram armazenadas no Laboratório de Biodiversidade da Universidade Federal de

Ouro Preto, em Eppendorfs, em um freezer. Posteriormente foi realizada a secagem das mesmas à 40 °C em estufa, por 72h, e as mesmas foram armazenadas a temperatura ambiente.



Figura 4. Ninho coletado à esquerda e pupas à direita. Os ninhos são subdivididos em câmaras de cria que contém, em cada uma, uma larva e o alimento necessário para o seu desenvolvimento em adulto. Os ninhos podem ser construídos com substratos como solo superficial ou material vegetal. No caso, o ninho foi construído com barro.

Análises em laboratório

Foram analisados um total de 93 amostras sendo 37 de vespas imaturas (pupas), 30 de abelhas imaturas, 12 amostras de provisão de vespa, 10 amostras de provisão de abelha e quatro parasitoides, provenientes de 40 amostras de ninhos em áreas impactadas e 53 de áreas não impactadas. Em relação a cada localidade (veja tabela para códigos e nomes) foram 16 amostras provenientes da localidade 1, 36 da localidade 2, 21 amostras da localidade 3 e 20 amostras da localidade 4. Foram identificados, dos adultos emergentes dos ninhos, duas espécies de vespas dos gênero Trypoxilon e duas do gênero Pachodynerus, três espécies de abelhas (dos gêneros Centris, Megachile e Tetrapedia) e uma espécie de parasitoide da família Bombyliidae. As amostras das provisões (os alimentos larvais) das vespas foram representadas apenas por aranhas, e das abelhas uma mistura de óleos vegetais, pólen e néctar, que não foram identificados.

As amostras foram submetidas à digestão ácida em um bloco digestor (modelo DigPrep jr), para a realização da oxidação das matrizes orgânicas e solubilização dos

elementos. Posteriormente foi realizada a determinação das concentrações dos elementos Al, Mn, Fe, Zn, Ba, Cu, Ni, V, Pb, Cr, As e Cd com o uso de um Espectrômetro de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS, modelo AGILENT 7700X).

Antes da digestão as amostras foram secas em estufa à 105 °C por três horas, e em seguida foi aferido o peso seco. As amostras de invertebrados foram preparadas seguindo o procedimento previamente descrito por Nummelin et al. (2007), onde foram adicionados 5 ml de ácido nítrico (65%) em cada amostra, as quais foram inicialmente aquecidas por 2h à 50 °C. Em seguida, os tubos contendo as amostras foram tampados e aquecidos por mais 16h à 110 °C. Após o resfriamento dos tubos, foram adicionados 5 ml de peróxido de hidrogênio (30%), em cada um, e os tubos foram tampados e aquecidos por 8h à 110 °C. Por fim, as amostras foram diluídas até completar um volume de aproximadamente 15 ml com água Milli-Q e filtradas.

As amostras de pólen foram preparadas de acordo com o procedimento descrito por Oliveira et al. (2017) e Nascimento et al. (2018), com adaptações para o uso de um bloco digestor. As amostras previamente pesadas foram submetidas à digestão ácida, adicionando-se 7 ml de ácido nítrico (65%) e 1 ml de peróxido de hidrogênio (30%) nos tubos do bloco digestor contendo as amostras. Após adição dos ácidos, inicialmente, as amostras ficaram em contato com os reagentes durante aproximadamente 16h, com os tubos fechados, sem aquecimento. Em seguida, os tubos fechados foram aquecidos a 110 °C por 20h. Após atingir a temperatura ambiente, os tubos foram abertos e as amostras foram diluídas até o volume final de aproximadamente 15 ml, e, por fim, foram filtradas.

Uma amostra em branco foi preparada, seguindo o mesmo procedimento das outras amostras, a cada ciclo de digestão, para avaliar possíveis contaminações durante o procedimento. Todos os reagentes utilizados foram ultrapuros (Suprapur, Merck, Alemanha). A precisão da aferência das concentrações dos elementos em cada amostra foi avaliada pelo coeficiente de variação de três leituras realizadas no ICP-MS.

Análises estatísticas

Modelos lineares generalizados com efeitos mistos com distribuição de erros gaussianas foram construídos para avaliar se as concentrações dos elementos químicos variam entre áreas impactadas e não impactadas, entre localidades e entre as matrizes (a partir de agora chamados de nível trófico). Na teia alimentar de vespas consideramos as provisões como primeiro nível trófico, os imaturos ou adultos recém-formados como segundo nível trófico e os parasitoides terceiro nível. Na teia alimentar de abelhas a massa de pólen foi considerada o primeiro nível, os imaturos ou adultos recém-formados o segundo nível e os parasitoides o terceiro nível.

O Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS) foi construído, baseado na distância de Bray-Curtis, para avaliar espacialmente as concentrações de metais nos níveis tróficos das cadeias alimentares de abelhas e vespas em relação às áreas amostradas com e sem impacto.

RESULTADOS

As concentrações dos 12 elementos estudados, obtidas em cada amostra analisada, estão apresentadas no material suplementar (tabela 8). As médias dos valores das concentrações dos elementos químicos entre as áreas impactadas e não impactadas estão representadas na Tab. 2. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações dos 12 elementos químicos selecionados entre os ninhos localizados em áreas impactadas e não impactadas (Tab. 3). No entanto, a concentração de As pode ser considerada marginalmente significativa ($p = 0,06$), nota-se que as concentrações médias foram consideravelmente maiores nas áreas impactadas ($1,13 \pm 1,59$ versus $0,28 \pm 0,40$ mg/kg), apesar da alta variabilidade observada. Embora não foi encontrada diferença estatisticamente

significativa entre as concentrações médias de Fe das áreas impactadas e não impactadas, pode-se notar também que a média das concentrações nas áreas impactadas foi consideravelmente maior ($5861,1 \pm 10478,0$ versus $2433,1 \pm 4499,2$ mg/kg).

Tabela 2. Concentração dos elementos químicos (mg/kg) analisados nas matrizes da cadeia alimentar de abelhas e vespas nas áreas impactadas e não impactadas entre Paracatu de Baixo e Gesteira. Média \pm desvio-padrão.

Elemento	Concentração média dos elementos nos componentes das cadeias tróficas de abelhas e vespas solitarias (mg/kg)	
	Áreas não impactadas	Áreas impactadas
Al	$1338,6 \pm 1604,4$	$1313,5 \pm 1729,6$
As	$0,28 \pm 0,40$	$1,13 \pm 1,59$
Ba	$6,58 \pm 8,46$	$5,36 \pm 5,74$
Cd	$0,30 \pm 0,35$	$0,40 \pm 0,35$
Cr	$4,08 \pm 5,69$	$5,03 \pm 8,64$
Cu	$44,9 \pm 68,05$	$42,09 \pm 36,51$
Fe	$2433,1 \pm 4499,2$	$5861,1 \pm 10478,0$
Mn	$90,2 \pm 141,2$	$94,2 \pm 154,6$
Ni	$2,76 \pm 3,81$	$2,57 \pm 2,96$
Pb	$1,16 \pm 1,38$	$1,37 \pm 1,50$
V	$2,58 \pm 3,84$	$2,20 \pm 4,31$
Zn	$186,2 \pm 220,7$	$155,7 \pm 85,0$

Foram encontradas diferenças significativas nas concentrações dos elementos químicos nos níveis tróficos das teias de abelhas e vespas (tab. 3). De forma geral, foram encontradas concentrações mais altas de todos os elementos nas provisões e nos indivíduos imaturos dos ninhos de vespas, exceto o Ba, que apresentou maior concentração na provisão das abelhas (massa de pólen).

Nas teias tróficas dos ninhos das vespas, maiores concentrações de Cu, Ni e Zn foram encontradas nas provisões das vespas quando comparados com os imaturos. Ao contrário, maiores concentrações de Al, Fe, Mn, Pb, As, Cr e V foram verificadas nos imaturos de vespas (fig. 5).

Já nos ninhos das abelhas, encontramos concentrações maiores de Fe, Al, Ba, Cr, Mn, Ni e V na provisão das abelhas quando comparados com os imaturos. Por outro lado, concentrações maiores de As, Cd e Pb foram observadas nas abelhas imaturas.

As concentrações de Al, V, Cr, Ni, Cu, Zn, Cd e Pb foram mais altas nos parasitóides quando comparados com os imaturos de abelhas. No entanto, quando comparadas as concentrações entre os parasitoides e os imaturos de vespas, todos os elementos apresentaram concentração menores nos parasitoides, exceto Cd que as concentrações foram semelhantes.

No modelo que considera a interação entre os níveis tróficos e as áreas impactadas e não impactadas encontramos variação significativa das concentrações de 9 dos 12 elementos. Quando usamos o modelo considerando a localidade e impacto encontramos diferenças nas concentrações de As, Cr, Fe, Mn, V e Zn (tab. 3).

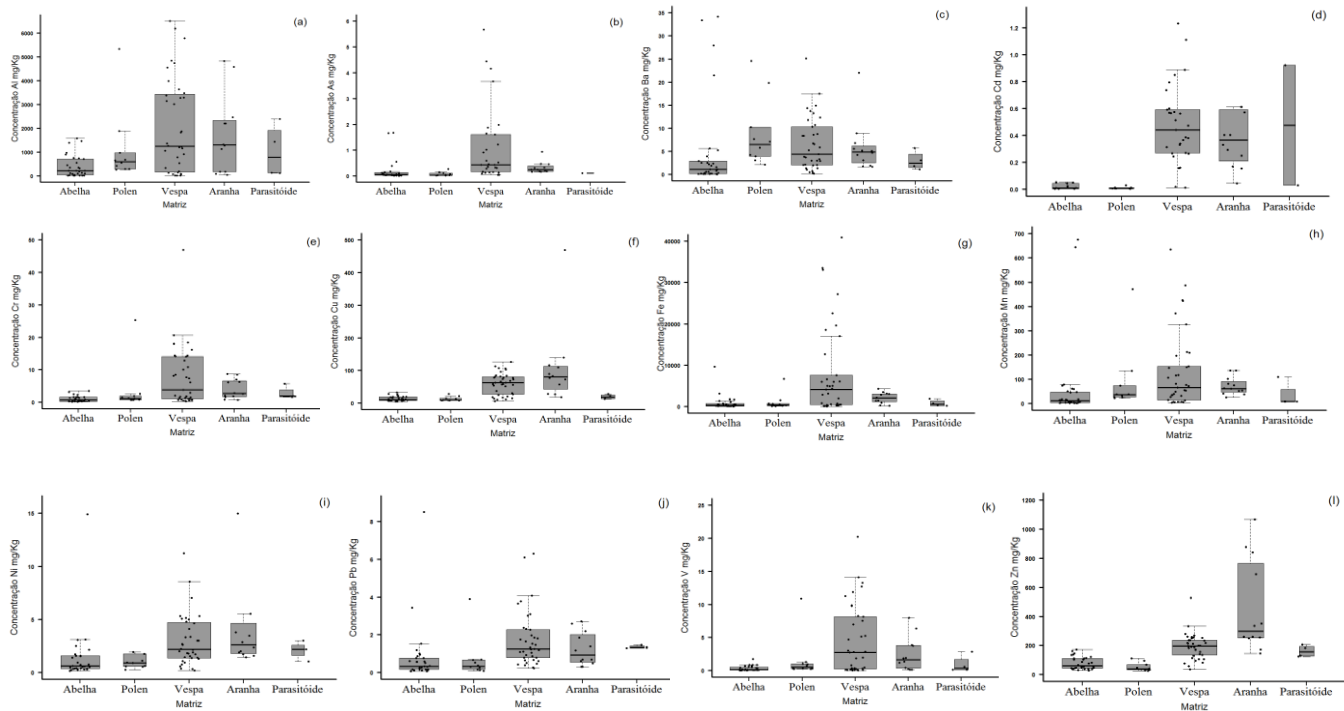


Tabela 3. Resultados dos modelos lineares de efeitos mistos, mostrando os efeitos da categoria de impacto, da categoria trófica, da interação entre as categorias de impacto e trófica e da interação entre a categoria de impacto e a localidade, sobre as concentrações dos metais/metaloídes analisados.

Variável resposta	Variável fixa explanatória	χ^2	GL	Deviance	P	
Al	Categoria de impacto	0,26	1	1614,4	0,609	
V		0,43	1	508,4	0,507	
Cr		0,09	1	618,5	0,760	
Mn		2^{-4}	1	1177,4	0,988	
Fe		1,120	1	1894,3	0,289	
Ni		0,006	1	474,47	0,935	
Cu		0,001	1	1007,2	0,973	
Zn		0,57	1	1195,9	0,449	
As		3,51	1	195,9	0,060*	
Cd		1,10	1	39,1	0,293	
Ba		0,69	1	615,3	0,404	
Pb		0,30	1	326,1	0,583	
Al		Categoria trófica	17,16	4	1597,5	0,001*
V			22,97	4	485,9	<0,001*
Cr	21,01		4	597,5	<0,001*	
Mn	7,79		4	1169,6	0,099	
Fe	25,18		4	1870,3	<0,001*	
Ni	7,55		4	466,9	0,109	
Cu	30,27		4	976,9	<0,001*	
Zn	43,94	4	1152,5	<0,001*		
As	14,32	4	185,1	0,006*		

Cd		20,44	4	19,7	<0,001*
Ba		11,36	4	604,7	0,022*
Pb		6,79	4	319,67	0,147
Al	Interação entre cat. de impacto e cat. Trófica	17,33	5	1597,3	0,003*
V		23,25	5	485,6	<0,001*
Cr		21,33	5	597,2	<0,001*
Mn		14,06	9	1163,3	0,120
Fe		28,07	5	1867,4	<0,001*
Ni		7,57	5	466,9	0,181
Cu		30,33	5	976,8	<0,001*
Zn		46,12	5	1150,4	<0,001*
As		18,29	5	181,1	0,002*
Cd		20,67	5	19,5	<0,001*
Ba		11,66	5	604,4	0,039*
Pb		7,11	5	319,3	0,212
Al	Interação entre cat. de impacto e localidade	8,44	4	1606,2	0,076
V		13,05	4	495,8	0,011*
Cr		15,68	4	602,9	0,003*
Mn		22,59	4	1152,1	<0,001*
Fe		13,32	4	1882,1	0,009*
Ni		5,34	6	469,1	0,499
Cu		7,92	4	999,2	0,094
Zn		11,12	4	1185,4	0,025*
As		13,59	4	185,8	0,008*
Cd		5,55	4	34,6	0,235
Ba		8,39	6	607,6	0,210
Pb		6,38	6	320,0	0,381

A significância foi testada por ANOVA, comparando-se os modelos completos (e reduzidos) com um modelo nulo, considerando-se diferença estatística quando $p < 0,05$. A variável aleatória foi o ninho capturado.

Tabela 4. Representação da concentração geral dos elementos químicos (mg/kg) analisados nas matrizes da cadeia alimentar de abelhas e vespas ao longo de um gradiente de impacto de montante (Paracatu de Baixo) para jusante (Gesteira). Média \pm desvio-padrão.

Elemento	Localidade			
	Paracatu de Baixo	Pedras	Estrada Pedras-Gesteira	Gesteira
Al	1803.66 \pm 1729.09	1828.49 \pm 1981.54	762.68 \pm 1309.76	666.31 \pm 590.08

As	0.34 ± 0.44	0.94 ± 1.41	0.19 ± 0.29	0.17 ± 0.17
Ba	5.04 ± 5.38	8.72 ± 8.59	6.20 ± 9.44	1.97 ± 1.24
Cd	0.38 ± 0.47	0.32 ± 0.27	0.38 ± 0.42	0.02 ± 0.01
Cr	3.01 ± 2.85	8.11 ± 9.83	2.29 ± 3.62	1.42 ± 0.72
Cu	71.26 ± 112.23	51.89 ± 41.26	32.05 ± 29.75	19.32 ± 6.33
Fe	4264.95 ± 7332.15	6904.90 ± 10552.56	1023.26 ± 1769.46	1083.23 ± 2112.69
Mn	57.61 ± 53.79	185.23 ± 198.09	32.68 ± 29.32	13.78 ± 16.26
Ni	3.39 ± 5.31	2.86 ± 3.27	2.16 ± 2.25	2.35 ± 3.29
Pb	1.42 ± 1.52	1.38 ± 1.46	0.74 ± 0.75	1.42 ± 1.78
Zn	353.37 ± 339.52	156.17 ± 102.74	118.47 ± 71.44	118.32 ± 35.75
V	2.22 ± 2.63	4.35 ± 5.35	1.28 ± 2.60	0.32 ± 0.26

O resultado do NMDS foi significativo na região impactada e não impactada (SI-stress = 0,033 R2= 0,84; I stress =0,04 R2=0,80) (fig. 6).

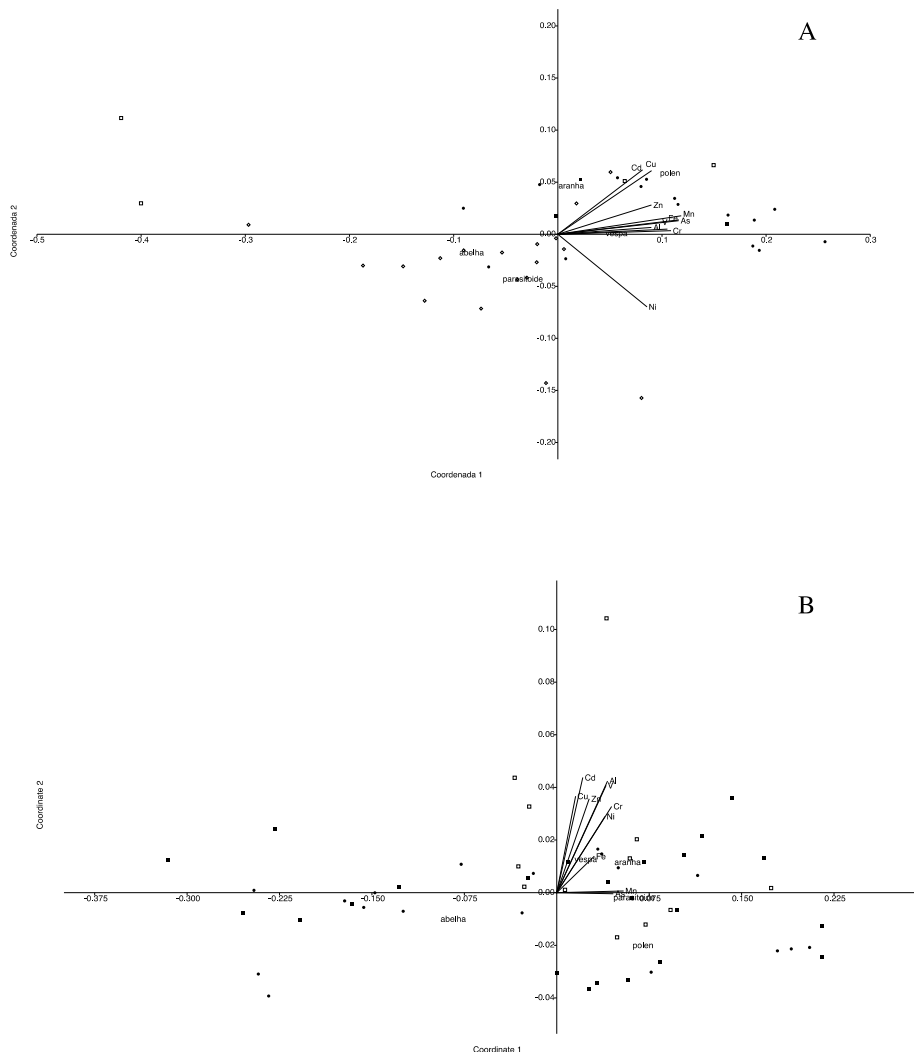


Figura 6. Representação NMDS das concentrações dos elementos químicos nos níveis tróficos, por área amostrada, nas regiões com impacto (A) e sem impacto (B).

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que não existe diferença significativa na concentração dos elementos químicos analisados entre as áreas impactadas e não impactadas pelo rompimento da barragem para a maioria dos elementos químicos estudados. Para todos os elementos observa-se uma ampla variação nas concentrações em relação ao valor da média. No entanto,

verificamos que as concentrações dos elementos diferem entre as regiões amostradas e também entre os diferentes níveis tróficos das teias alimentares de abelhas e vespas. Estes resultados mostram que abelhas e vespas que nidificam em cavidades pré-existentes podem ser utilizados como indicadores da presença de diferentes metais/metaloídes em áreas impactadas pela mineração.

Sabe-se que os organismos podem ser expostos a contaminantes por diversas rotas. Embora o caminho mais conhecido seja por meio da interface solo-plantas, poluentes presentes na matéria particulada atmosférica também podem ser absorvidos pelos organismos pela alimentação, ou através da superfície corporal (Tyler et al., 1989; Chapman, 2008). Apesar da matéria particulada na atmosfera ser um contaminante que se difunde no ar, tem recebido relativa baixa atenção, em relação ao impacto na saúde dos insetos em geral e conseqüentemente sobre as teias alimentares dos quais fazem parte. Insetos podem ingerir partículas finas de matéria particulada via o alimento, por exemplo, no néctar, pólen ou nas presas. Em insetos como abelhas e vespas a coleta de matéria particulada fina durante o forrageamento pode ser traduzido em um acúmulo de xenobióticos na massa de pólen (Nascimento et al., 2018) e nas provisões oferecidas pelas vespas as suas larvas (Vanderstock et al., 2019).

Ao contrário do esperado, não encontramos diferenças nas concentrações da maioria dos elementos químicos avaliados nas matrizes provenientes de ninhos instalados em áreas impactadas e não impactadas e isso pode ser explicado pelo tipo de solo na região, que naturalmente apresenta alguns elementos em concentrações maiores. Para As e Fe, verificamos concentrações maiores nas matrizes provenientes de ninhos situadas nas áreas impactadas, principalmente na região de Pedras onde foi encontrada a concentração média de As quase sete vezes maior do que o encontrado na área não impactada ($2,14 \pm 1,88$ versus $0,31 \pm 0,45$ mg/kg). O rejeito que foi depositado nos solos apresenta altas concentrações de Fe. Já As, embora estudos mostrando que o teor de As no rejeito original é baixo, a onda de

rejeito revolveu bastante os solos e os sedimentos ao longo do rio Gualaxo do Norte, podendo trazer para a superfície o As que estava inerte (Hatje et al., 2017; Davila et al., 2019).

Quando analisamos as concentrações dos elementos considerando as regiões estudadas, verificamos diferenças significativas nas concentrações de As, Cr, Fe, Mn, V, Zn com um declínio das concentrações de montante para jusante, isso pode ser explicado tanto pela variação geológica das rochas ao longo do gradiente de distância (Costa, 2001), como pelo efeito do derramamento do rejeito que pode resultar em um maior acúmulo de metais nas áreas mais próximas à fonte (a barragem). As concentrações da maioria dos elementos foram maiores nas matrizes coletadas nos pontos mais a montante (Paracatu de Baixo) e foram diminuindo para jusante (Gesteira). O acúmulo de metais pesados durante o forrageamento vem sendo documentado em gradientes de contaminação ambiental. Os níveis de poluição no pólen estocado por abelhas é positivamente correlacionado com a poluição por metais pesados, assim como o conteúdo no corpo de abelhas, operárias de formigas, material de construção do ninho (Skaldina et al., 2018; veja revisão em Feldhaar and Otti, 2020).

Em dois gradientes de contaminação independentes, na Polônia e no Reino Unido, Moron et al. (2014) revelaram maiores concentrações de Cu, Pb e Zn, no alimento larval e em abelhas solitárias adultas (*Osmia rufa*), em áreas mais próximas à indústrias de fundição de Zn e Pb do que em áreas mais distantes. Também, as vespas sociais (*Vespula vulgaris*, “yellowjacket”) apresentaram concentrações decrescentes de As, Cd, Cu, Ni e Pb, com o aumento na distância de uma indústria de fundição de Cu-Ni, na Finlândia (Skaldina et al., 2020). Outra vespa social, *Polistes dominulus*, também apresentou concentrações de Pb nas vespas adultas e nas massas fecais larvais, maiores em áreas urbanas do que em áreas rurais (Urbini et al., 2006).

Análises de correlação vêm mostrando ainda que com o aumento da poluição por metais pesados (Cd, Pb e Zn), a mortalidade de abelhas solitárias aumenta (Morón et al 2012, 2014). Embora não tenhamos testado os efeitos da contaminação sobre a sobrevivência,

estudos mostram (veja revisão em Feldhaar and Otti, 2020) que o acúmulo de metais afetam a fisiologia (por exemplo, obstrução de túbulos de Malphigi) e o sistema imune (redução da resposta imune). Du et al. (2019) mostraram que o predador *Cryptolaemus montrouzieri* tem o metabolismo energético e sistema imunológico alterados ao se alimentar de cochonilhas contaminadas.

Conforme esperado, houve variação da concentração dos elementos entre os níveis tróficos das cadeias alimentares de abelhas e vespas. No entanto, vespas parecem acumular mais metais pesados do que abelhas, pois concentrações mais altas de todos os elementos foram verificadas nos componentes da sua cadeia trófica. Para a maioria dos elementos, as vespas que nasceram dos ninhos apresentaram concentrações mais altas do que suas presas. Já no sistema pólen-abelhas, as concentrações médias dos elementos entre as massas de pólen e as abelhas, praticamente não diferiu, o que pode indicar que embora os elementos sejam transferidos, não ocorre biomagnificação.

Os resultados dos estudos sobre biotransferência de metais ao longo das cadeias alimentares terrestres até invertebrados predadores fornecem evidências conflitantes de bioacumulação, indicando potenciais variados de acumulação na cadeia alimentar, dependendo das espécies e dos elementos estudados. Agora está claro que a fisiologia determina o acúmulo de metais (Migula et al., 2013) e não o nível trófico, e alguns predadores de invertebrados desenvolveram mecanismos fisiológicos para excretar com eficiência os vestígios de metais consumidos em suas presas (Mann et al., 2011).

Por exemplo, a aranha predadora *Dysdera crocata*, que caça isópodes com altos teores corporais de Cd, excreta o Cd efetivamente (Hopkin, 1989). Também, a vespa social *Polistes dominulus*, que alimenta suas larvas com insetos herbívoros, revelou que as concentrações de Pb nas massas fecais das larvas chegam a superar as concentrações no corpo dos adultos em até 36 vezes, indicando a existência de mecanismos de excreção ou barreiras de absorção de Pb eficientes (Urbini et al 2006). Judd et al (2017) determinaram as concentrações totais de

Cu, Fe, Mn e Zn em larvas e pupas da vespa solitária *Trypoxylon lactitarse* e revelam, para todos os elementos, maiores concentrações nas larvas do que nas pupas.

Em contraste, aranhas-lobo (*Pirata piraticus*) assimilaram quase 70% do Cd de presas contaminadas (Hendrickx et al., 2003). Estudos sugerem que em alguns invertebrados, a tolerância até determinados níveis de alguns metais como Cu, Zn e Cd está relacionada à produção de metalotioneínas, cuja função é manter a homeostase de metais e a desintoxicação (Janssens et al., 2009). Purać et al. (2018), mostraram que em *Apis mellifera* metalotioneínas são expressas em uma relação dose-dependente das concentrações de Cu, Cd e Pb no alimento, sugerindo um papel da mesma na desintoxicação de metais e na tolerância. Esses achados contrastantes ilustram que existem variações na fisiologia de espécies individuais e diferentes estratégias evolutivas surgiram em face à exposição dos organismos em ambientes que contém níveis elevados de metais e, portanto, generalizações sobre o acúmulo de metais não podem ser feitas com base em estreita relação trófica.

CONCLUSÃO

Nós demonstramos que os elementos da cadeia trófica de abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes podem ser utilizados como indicadores da presença de metais e metaloides em áreas sujeitas aos impactos da mineração. Entretanto, o potencial para acumular metais difere entre os dois grupos. Assim, sua capacidade de discriminar diferentes metais/metaloides poluentes diferem e mais estudos são necessários para detectar diferenças na eficiência de diferentes grupos de insetos para acumular diferentes metais/metaloides.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio da FAPEMIG, Fundação Renova e CNPQ pelo apoio financeiro e bolsas de pesquisa. Adriana Trópia pelo apoio nas análises no laboratório de Geoquímica da UFOP, Marina Beirão pelo apoio nas análises estatísticas, Graziella França Monteiro pelos gráficos.

REFERENCES

- Cataldo, D.A.; Wildung, R.E. Soil and plant factors influencing the accumulation of heavy metals by plants. **Environmental Health Perspectives**, v. 27, p. 149-159, 1978.
- Chapman, P.M. Environmental risks of inorganic metals and metalloids – a continuing, evolving, scientific odyssey. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 14, n. 1, p. 5-40, 2008.
- Conti, E.; Costa, G.; Liberatori, G.; Vannuccini, M. L.; Protano, G.; Nannoni, F.; Corsi, I. Ariadna spiders as bioindicator of heavy elements contamination in the Central Namib Desert. **Ecological indicators**, v. 95, p. 663-672, 2018.
- Conti, E.; Dattilo, S.; Costa, G.; Puglisi, C. The ground beetle *Parallelomorphus laevigatus* is a potential indicator of trace metal contamination on the eastern coast of Sicily. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 183-190, 2017.
- Costa, A.T. Geoquímica das águas e dos sedimentos da Bacia do Rio Gualaxo do Norte, Leste-Sudeste do Quadrilátero Ferrífero (MG): Estudo de uma área afetada por atividades de extração mineral. Doctoral thesis, Universidade Federal de Ouro Preto, 2001.
- Dar, M.I.; Green, I.D.; Khan, F.A. Trace metal contamination: Transfer and fate in food chains of terrestrial invertebrates. **Food Webs**, v. 20, p. e00116, 2019.
- Dar, M.I.; Khan, F.A.; Green, I.D.; Naikoo, M.I. The transfer and fate of Pb from sewage sludge amended soil in a multi-trophic food chain: a comparison with the labile elements Cd and Zn. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 20, p. 16133-16142, 2015.
- Devkota, B., Schmidt, G.H. Accumulation of heavy metals in food plants and grasshoppers from the Taigetos Mountains, Greece. **Agriculture, Ecosystem & Environment**, v. 78, n. 1, p. 85–91, 2000.
- Du, C.; Wu, J.; Bashir, M.H.; Shaukat, M.; Ali, S. Heavy Metals Transported Through A multi-trophic food chain influence the energy metabolism and immune responses of *Cryptolaemus montrouzieri*. **Ecotoxicology**, v. 28, n. 4, p. 422-428, 2019.
- Feldhaar, H.; Otti, O. Pollutants and their interactions with diseases of social Hymenoptera. **Insects**, v. 11, n. 3, p. 153, 2020.

- Janssens, T.K.S.; Roelofs, D.; Straalen, N.M. Molecular mechanisms of heavy metal tolerance and evolution in invertebrates. **Insect Science**, v. 16, n. 1, p. 3-18, 2009.
- Gall, J.E.; Boyd, R.S.; Rajakaruna, N. Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 187, n. 4, p. 201, 2015.
- Green, I.D.; Diaz, A.; Tibbett, M. Factors affecting the concentration in seven-spotted ladybirds (*Coccinella septempunctata* L.) of Cd and Zn transferred through the food chain. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 1, p. 135–141, 2010.
- Hatje, V.; Pedreira, R.M.A.; Rezende, C.E.; Schettini, C.A.F.; Souza, G.C.; Marin, D.C.; Hackspacher, P.C. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.
- Heikens, A.; Peijnenburg, W.J.G.M.; Hendriks, A.J. Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. **Environmental Pollution**, v. 113, n. 3, p. 385-393, 2001.
- Hendrickx, F.; Maelfait, J.P.; Langenbick, F. Absence of cadmium excretion and high assimilation result in cadmium biomagnification in a wolf spider. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 55, n. 3, p. 287–292, 2003.
- Hopkin, S.P. **Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates**. Barking, UK: Elsevier Applied Science, 1989.
- Judd, T.M.; Fasnacht, M.P. A nutritional profile of the trap-nesting wasp *Trypoxylon lactitarse* (Hymenoptera: Crabronidae): Comparison of sexes and overwintering and non-overwintering generations. **Insects**, v. 8, n. 1, p. 3, 2017.
- Luoma, S.N.; Rainbow, P.S. Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 7, p. 1921-1931, 2005.
- Mann, R.M.; Vijver, M.G.; Peijnenburg, W.J.G.M. Metals and metalloids in terrestrial systems: bioaccumulation, biomagnification and subsequent adverse effects. **Ecological Impacts of Toxic Chemicals**, Bentham Science Publishers, p. 43-62, 2011.
- Migula, P.; Wilczek, G.; Babczynska, A. Effects of heavy metal contamination. In: **Spider Ecophysiology**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 403-414, 2013.
- Moroń, D.; Grzes, I.M.; Skorka, P.; Szentgyorgyi, H.; Laskowski, R.; Potts, S.G.; Woyciechowski, M. Abundance and diversity of wild bees along gradients of heavy metal pollution. **Journal of Applied Ecology**, v. 49, p. 118–125, 2012.
- Moroń, D.; Szentgyorgyi, H.; Skorka, P.; Potts, S.G.; Woyciechowski, M. Survival, reproduction and population growth of the bee pollinator, *Osmia rufa* (Hymenoptera: Megachilidae), along gradients of heavy metal pollution. **Insect Conservation and Diversity**, v. 7, p. 113–121, 2014.
- Nascimento, N.O.; Nalini, H.A.; Ataide, F.; Abreu, A.T.; Antonini, Y. Pollen storage by stingless bees as an environmental marker for metal contamination: Spatial and temporal distribution of metal elements. **Sociobiology**, v. 65, p. 252–263, 2018.

- Negri, I.; Mavris, C.; Di Prisco, G.; Caprio, E.; Pellecchia, M. Honey bees (*Apis mellifera*, L.) as active samplers of airborne particulate matter. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0132491, 2015.
- Nummelin, M.; Lodenius, M.; Tulisalo, E.; Hirvonen, H.; Alanko, T. Predatory insects as bioindicators of heavy metal pollution. **Environmental Pollution**, v. 145, n. 1, p. 339-347, 2007.
- Oliveira, R.C.; Queiroz, S.C.N.; Da Luz, C.F.P.; Porto, R.S.; Rath, S. Bee pollen as a bioindicator of environmental pesticide contamination. **Chemosphere**, 163, 2016
- Oliveira, F.A.; Abreu, A.T.; Nascimento, N.O.; Froes-Silva, R.E.S.; Antonini, Y.; Nalini, H.A.; Lena, J.C. Evaluation of matrix effect on the determination of rare earth elements and As, Bi, Cd, Pb, Se and In in honey and pollen of native Brazilian bees (*Tetragonisca angustula* – Jataí) by Q-ICP-MS. **Talanta**, v. 162, p. 488-494, 2017.
- Peterson, E.M.; Wooten, K.J.; Subbiah, S.; Anderson, T.A.; Longing, S.; Smith, P.N. Agrochemical mixtures detected on wildflowers near cattle feed yards. **Environmental Science and Technology Letters**, v. 4, n.6, p. 216–220, 2017.
- Purać, J.; Nikolić, T.V.; Kojić, D.; Čelić, A.S.; Plavša, J.J.; Blagojević, D.P.; Petri, E.T. Identification of a metallothionein gene in honey bee *Apis mellifera* and its expression profile in response to Cd, Cu and Pb exposure. **Molecular Ecology**, v. 28, n. 4, p. 731-745, 2019.
- Sibly, R.M.; Calow, P. A life-cycle theory of responses to stress. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 37, n. 1-2, p. 101-116, 1989.
- Skaldina, O.; Peräniemi, S.; Sorvari, J. Ants and their nests as indicators for industrial heavy metal contamination. **Environmental Pollution**, v. 240, p. 574-581, 2018.
- Skaldina, O.; Sorvari, J. Ecotoxicological effects of heavy metal pollution on economically important terrestrial insects. In: Kesari K. (eds) Networking of Mutagens in Environmental Toxicology. **Environmental Science and Engineering**. Springer, Cham, 2019.
- Skaldina, O.; Cizek, R.; Peräniemi, S.; Kolehmainen, M.; Sorvari, J. Facing the threat: common yellowjacket wasps as indicators of heavy metal pollution. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 29031-29042, 2020.
- Smith, K.E.; Weis, D.; Amini, M.; Shiel, A.E.; Lai, V.W.M.; Gordon, K. Honey as a biomonitor for a changing world. **Nature Sustainability**, v. 2, n. 3, p. 223-232, 2019.
- Stone, D., Jepson, P., Kramarz, P., Laskowski, R., 2001. Time to death response in carabid beetles exposed to multiple stressors along a gradient of heavy metal pollution. **Environmental Pollution**, v. 13, p. 239–244, 2001.
- Suganya, M.; Karthi, S.; Shivakumar, M.S. Effect of cadmium and lead exposure on tissue specific antioxidant response in *Spodoptera litura*. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 6, p. 90-100, 2016.

- Szentgyörgyi, H.; Morón, D.; Nawrocka, A.; Tofilski, A.; Woyciechowski, M. Forewing structure of the solitary bee *Osmia bicornis* developing on heavy metal pollution gradient. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 8, p. 1031-1040, 2017.
- Tyler, G.; Pålsson, A.M.B.; Bengtsson, G.; Bååth, E.; Tranvik, L. Heavy-metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 47, n. 3-4, p. 189-215, 1989.
- Urbini, A.; Sparvoli, E.; Turillazi, S. Social paper wasps as bioindicators: a preliminary research with *Polistes dominulus* (Hymenoptera Vespidae) as a trace metal accumulator. **Chemosphere**, v. 64, p. 697-703, 2006.
- Vanderstock, A.M.; Latty, T.; Leonard, R.J.; Hochuli, D.F. Mines over matter: Effects of foliar particulate matter on the herbivorous insect, *Helicoverpa armigera*. **Journal of Applied Entomology**, v. 143, p. 77–87, 2019.
- Walker, C.H.; Sibly, R. M.; Hopkin, S.P.; Peakall, D.B. **Principles of Ecotoxicology**. CRC Press, 2012.
- Zhang, C.; Wang, X.; Ashraf, U.; Qiu, B.; Ali, S. Transfer of lead (Pb) in the soil-plant-mealybug-ladybird food chain, a comparison with host plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 289–295, 2017.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1: Average relative standard deviation of the determination of each element in the samples of honey and pollen and the limits of quantification of the elements (in mg / kg). The readings of the samples of each matrix in the ICP-MS were performed in two days so two limits of quantification (LQ) are reported for each matrix (each one referring to the limit of quantification of the equipment on its day of operation). The elements Al, Fe, Mn, Cu, Zn and Ba in the pollen samples were determined in ICP-OES and the other elements in ICP-MS; and in the honey samples, all elements were determined in the ICP-MS. NA = does not apply.

<i>Elemento</i>	<i>POLÉN</i>			<i>MEL</i>		
	RSD (%)	LQ₁	LQ₂	RSD (%)	LQ₁	LQ₂
<i>Al</i>	1,0	11,37	NA	4,4	0,2798	0,0347
<i>Fe</i>	1,5	2,61	NA	2,2	0,0607	0,0360
<i>Mn</i>	0,6	0,32	NA	2,0	0,0054	0,0011
<i>Cu</i>	1,1	0,76	NA	2,9	0,0025	0,0167
<i>Zn</i>	0,4	0,54	NA	3,0	0,0325	0,0761
<i>Ba</i>	0,3	0,06	NA	2,1	0,0017	0,0042
<i>V</i>	3,5	0,0066	0,0034	5,0	0,0007	0,0009
<i>Cr</i>	4,6	0,0096	0,0098	9,0	0,0034	0,0024
<i>Ni</i>	2,5	0,0078	0,0052	3,9	0,0049	0,0711
<i>As</i>	9,3	0,0112	0,0068	12,6	0,0033	0,0011
<i>Cd</i>	6,1	0,0012	0,0014	10,8	0,0004	0,0008
<i>Pb</i>	8,3	0,0022	0,0108	9,5	0,0021	0,0016

Table S2: Certified, observed values (in mg / kg) and recovery rate of the elements in the standard reference material NIST 1515 (n = 2, mean ± standard deviation).

Elemento	NIST1515_{CERTIFIED}	NIST1515_{OBSERVED}	Recovery (%)
Al	284.5 ± 5.8	265.5 ± 11.2	93.3
Ba	48.8 ± 2.3	46.7 ± 1.48	95.8
Cd	0.0132 ± 0.0015	0.0149 ± 0.002	113.1
Cr	0.3	0.35 ± 0.05	118.2
Cu	5.69 ± 0.13	5.43 ± 0.27	95.4
Fe	82.7 ± 2.6	79.8 ± 2.67	96.5
Mn	54.1 ± 1.1	52.89 ± 2.23	97.7
Ni	0.936 ± 0.094	0.955 ± 0.05	102.1
Pb	0.47 ± 0.024	0.41 ± 0.01	87.3
Zn	12.45 ± 0.43	12.05 ± 0.53	96.7
V	0.254 ± 0.027	0.226 ± 0.01	89.3

Table S3: Overall mean concentration (mg/kg) and standard deviation (SD) of each metal/metalloid in the honey samples found in the present research and other works in Minas Gerais, in other regions of Brazil and of the world. *SD value is not available; LD = Limit of Detection.

	The present study	Oliveira <i>et al.</i> (2017)	Oliveira <i>et al.</i> (2020)	Magalhães (2010)	Batista <i>et al.</i> (2012)	Nascimento <i>et al.</i> (2018b)	Dourado <i>et al.</i> (2019)	Formick <i>et al.</i> (2012)	Diaz <i>et al.</i> (2019)*
	Minas Gerais, Brazil	Iron Quadrangle, Minas Gerais, Brazil	Iron Quadrangle, Minas Gerais, Brazil	Minas Gerais, Brazil	Various regions of Brazil	Bahia, Brazil	Pará, Brazil	Southern Poland	Tenerife, Spain
Al	0.97 ± 0.95	-	8.33 ± 5.71	4.11 ± 0.95	1.39 ± 1.19	-	2.46 ± 2.23	-	-
V	0.0033 ± 0.0020	-	<LD	-	0.0068 ± 0.0079	-	-	-	-
Cr	0.0396 ± 0.0368	-	-	0.5425 ± 0.1017	-	0.4143 ± 0.1168	0.0200	-	-
Mn	2.50 ± 1.66	-	12.55 ± 10.66	3.32 ± 3.75	4.30 ± 4.40	0.58 ± 0.36	0.43 ± 0.23	-	0.91
Fe	1.85 ± 1.78	-	22.41 ± 23.93	8.01 ± 1.10	3.50 ± 2.70	2.16 ± 0.88	2.94 ± 4.02	0.0010 ± 0.0005	1.95
Ni	0.06 ± 0.04	-	0.18 ± 0.26	-	0.04 ± 0.06	0.017 ± 0.003	0.26 ± 0.07	2.29 ± 0.91	-
Cu	0.16 ± 0.17	-	0.66 ± 0.94	0.61 ± 0.18	0.20 ± 0.10	0.4 ± 0.14	-	-	0.59
Zn	0.59 ± 0.79	-	1.42 ± 0.59	2.89 ± 0.62	1.50 ± 1.20	0.78 ± 0.20	-	3.45 ± 1.40	1.91
As	0.0021 ± 0.0014	0.0046 ± 0.0052	-	-	0.0030 ± 0.0032	-	-	-	-
Cd	0.00037 ± 0.00029	0.00015 ± 0.00008	-	0.40750 ± 0.02753	0.00033 ± 0.00028	0.00100	0.02533 ± 0.01619	0.00378 ± 0.00216	0.00200
Ba	0.25 ± 0.11	-	0.30 ± 0.28	0.57 ± 0.19	0.37 ± 0.44	-	0.50 ± 0.75	-	-
Pb	0.0013 ± 0.0012	<LD	-	-	0.0087 ± 0.0072	0.0007	-	0.0938 ± 0.0226	0.0400

Table S4: Overall mean concentration (mg/kg) and standard deviation (SD) of each metal/metalloid in the pollen samples found in the present research and other works in Minas Gerais, in other regions of Brazil and of the world. LQ = Limit of Quantification.

	The present study	Oliveira <i>et al.</i> (2017)	Oliveira <i>et al.</i> (2020)	Nascimento <i>et al.</i> (2018a)	Magalhães (2010)	Morgano <i>et al.</i> (2010)	Morgano <i>et al.</i> (2012)	Siqueira <i>et al.</i> (2017)	Sattler <i>et al.</i> (2016)	Formick <i>et al.</i> (2012)	Altunalmaz <i>et al.</i> (2017)	Yang <i>et al.</i> (2013)
	Minas Gerais, Brazil	Minas Gerais, Brazil	Minas Gerais, Brazil	Minas Gerais, Brazil	Minas Gerais, Brazil	Minas Gerais, Brazil	Minas Gerais, Brazil	Pará, Brazil	Rio Grande do Sul, Brazil	Southern Poland	Turkey	China
Al	57.53 ± 44.55	-	15.55 ± 12.45	251.84 ± 177.59	81.84 ± 13.27	143.10 ± 122.50	-	-	-	-	-	129.24 ± 32.77
V	0.09 ± 0.07	-	0.20 ± 0.16	-	-	-	-	-	4.43 ± 0.03	-	-	-
Cr	0.13 ± 0.08	-	-	1.64 ± 1.61	1.54 ± 1.12	0.39 ± 0.27	-	-	10.00 ± 0.00	-	0.79 ± 0.36	-
Mn	66.07 ± 69.39	-	12.95 ± 9.57	50.85 ± 20.99	30.63 ± 18.34	-	40.90 ± 14.60	65.95 ± 64.20	40.00 ± 0.00	-	29.3 ± 41.55	70.22 ± 99.64
Fe	127.63 ± 89.55	-	24.11 ± 22.83	451.77 ± 138.48	119.23 ± 35.02	-	202.00 ± 135.00	22.63 ± 18.61	134.00 ± 1.00	0.01 ± 0.00	203.1 ± 183.21	119.28 ± 38.74
Ni	0.76 ± 0.43	-	1.17 ± 0.93	1.03 ± 1.10	-	1.75 ± 1.97	-	-	-	5.71 ± 1.77	0.51 ± 0.56	1.33 ± 1.05
Cu	10.33 ± 3.17	-	2.90 ± 2.07	4.65 ± 2.41	10.64 ± 3.69	-	11.31 ± 6.00	-	8.7 ± 0.00	-	10.41 ± 3.05	17.34 ± 4.45
Zn	36.45 ± 6.84	-	1.60 ± 0.45	35.01 ± 4.56	39.54 ± 8.93	-	41.10 ± 15.30	42.41 ± 16.86	35.00 ± 0.00	108.66 ± 24.84	29.15 ± 6.60	45.09 ± 10.66
As	0.0133 ± 0.0083	0.1685 ± 0.1649	-	0.0715 ± 0.0471	-	0.36 ± 0.47	-	-	-	-	0.3908 ± 0.4278	7.9525 ± 5.0424
Cd	0.0266 ± 0.0155	-	-	<LQ	0.6990 ± 0.3492	0.0230 ± 0.0180	-	-	0.0910 ± 0.0010	0.0508 ± 0.0214	0.0691 ± 0.0391	0.2733 ± 0.0953
Ba	9.63 ± 6.30	-	3.95 ± 4.12	5.32 ± 4.87	5.72 ± 3.67	5.39 ± 2.80	-	-	7.44 ± 0.07	-	-	-
Pb	0.0368 ± 0.0360	0.1475 ± 0.1843	-	0.3632	-	0.1100 ± 0.1200	-	-	0.1500 ± 0.0100	1.6725 ± 0.4004	0.1925 ± 0.1259	0.5218 ± 0.4491

Table S5: concentration (mg/kg) of each metal/metalloid in each of the pollen samples we found in the present research. This was the data set used in the statistical analysis. I = impacted; NI = non-impacted. *SD* = Standard-deviation.

Sample	Sampling site	Locality	Disturbance	Al	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Ba	Cd	Pb	Ni	As
1	p1	Paracatu de Cima	I	1.074	0.002	0.101	3.006	1.606	0.097	0.184	0.152	0.0004	0.0031	0.021	0.0015
2	p1	Paracatu de Cima	I	1.102	0.002	0.039	2.979	1.106	0.090	0.240	0.139	0.0002	0.0008	0.017	0.0015
3	p1	Paracatu de Cima	I	1.104	0.003	0.051	2.883	1.650	0.048	0.202	0.135	0.0010	0.0008	0.022	0.0015
4	p2	Paracatu de Cima	NI	0.140	0.002	0.038	2.309	0.886	0.089	0.260	0.174	0.0002	0.0008	0.024	0.0015
5	p2	Paracatu de Cima	NI	0.140	0.002	0.046	2.243	0.933	0.124	0.790	0.178	0.0005	0.0008	0.053	0.0015
6	p2	Paracatu de Cima	NI	0.140	0.002	0.168	2.431	0.827	0.127	0.363	0.196	0.0007	0.0027	0.037	0.0015
7	p9	Barra Longa	I	0.140	0.002	0.060	0.504	0.955	0.091	0.185	0.256	0.0006	0.0008	0.030	0.0015
8	p9	Barra Longa	I	0.140	0.002	0.073	0.498	1.042	0.067	0.866	0.263	0.0002	0.0030	0.058	0.0015
9	p9	Barra Longa	I	0.140	0.002	0.071	0.495	0.018	0.057	0.338	0.257	0.0002	0.0008	0.028	0.0015
10	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.140	0.002	0.064	1.548	0.018	0.196	0.338	0.147	0.0002	0.0008	0.048	0.0015
11	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.140	0.002	0.060	1.634	0.018	0.112	0.343	0.130	0.0002	0.0008	0.080	0.0015
12	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.140	0.002	0.040	1.686	0.018	0.095	0.309	0.136	0.0002	0.0008	0.051	0.0015
13	p7	Gesteira	I	0.140	0.002	0.047	1.896	3.278	0.082	0.336	0.286	0.0002	0.0008	0.041	0.0044
14	p7	Gesteira	I	0.140	0.003	0.094	1.893	1.886	0.201	0.404	0.290	0.0002	0.0008	0.056	0.0015
15	p7	Gesteira	I	0.356	0.003	0.079	1.853	1.556	0.398	0.418	0.279	0.0002	0.0008	0.074	0.0015

16	p8	Gesteira	NI	0.995	0.004	0.110	4.219	1.811	0.220	0.503	0.340	0.000 2	0.000 8	0.169	0.003 9
17	p8	Gesteira	NI	1.743	0.004	0.061	4.204	1.385	0.294	0.615	0.350	0.000 2	0.006 4	0.140	0.001 5
18	p8	Gesteira	NI	1.056	0.004	0.077	3.999	5.043	0.211	0.483	0.345	0.000 2	0.000 8	0.113	0.001 5
19	p7	Gesteira	I	0.214	0.003	0.109	1.496	1.643	0.103	0.566	0.417	0.000 2	0.000 8	0.054	0.005 2
20	p7	Gesteira	I	1.286	0.002	0.054	1.458	1.846	0.111	0.606	0.457	0.000 5	0.003 5	0.049	0.005 4
21	p7	Gesteira	I	0.771	0.003	0.050	1.503	1.806	0.097	0.477	0.401	0.000 8	0.000 8	0.044	0.005 1
22	p10	Barra Longa	NI	0.140	0.004	0.053	0.712	0.827	0.243	0.494	0.232	0.000 6	0.000 8	0.127	0.005 0
23	p10	Barra Longa	NI	0.140	0.004	0.051	0.751	1.295	0.252	0.532	0.214	0.000 7	0.000 8	0.127	0.004 8
24	p10	Barra Longa	NI	0.140	0.004	0.053	0.725	1.179	0.250	0.585	0.232	0.000 2	0.000 8	0.131	0.005 1
25	p8	Gesteira	NI	0.229	0.004	0.067	2.607	3.009	0.179	0.901	0.495	0.000 8	0.004 0	0.098	0.001 5
26	p8	Gesteira	NI	0.594	0.003	0.072	2.635	2.160	0.141	0.462	0.453	0.000 8	0.000 8	0.096	0.003 3
27	p8	Gesteira	NI	0.982	0.003	0.004	2.532	1.137	0.075	0.223	0.323	0.000 2	0.000 8	na	0.002 2
28	p6	Paracatu de Baixo	I	1.906	0.003	0.006	4.980	4.856	0.158	0.415	0.279	0.000 2	0.000 8	na	0.000 6
29	p6	Paracatu de Baixo	I	2.134	0.004	0.007	5.106	3.283	0.168	0.388	0.280	0.000 2	0.000 8	na	0.001 5
30	p6	Paracatu de Baixo	I	1.787	0.003	0.007	5.025	3.374	0.230	0.338	0.280	0.000 2	0.000 8	na	0.001 4
31	p5	Paracatu de Baixo	NI	1.525	0.004	0.005	5.501	2.168	0.199	0.661	0.199	0.000 4	0.002 6	na	0.001 8
32	p5	Paracatu de Baixo	NI	1.628	0.004	0.004	5.406	2.929	0.207	0.600	0.199	0.000 2	0.002 5	na	0.001 5

33	p5	Paracatu de Baixo	NI	1.519	0.004	0.005	5.110	1.357	0.181	0.522	0.188	0.0002	0.0008	na	0.0019
34	p1	Paracatu de Cima	I	0.742	0.002	0.001	1.457	1.001	0.061	0.834	0.148	0.0002	0.0008	na	0.0014
35	p1	Paracatu de Cima	I	0.674	0.002	0.001	1.371	0.018	0.052	0.711	0.161	0.0005	0.0008	na	0.0013
36	p1	Paracatu de Cima	I	1.741	0.003	0.005	1.429	1.192	0.103	0.788	0.213	0.0002	0.0008	0.072	0.0027
37	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.141	0.002	0.003	0.488	0.027	0.026	0.132	0.094	0.0002	0.0008	na	0.0014
38	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.253	0.001	0.006	0.481	0.018	0.033	0.122	0.101	0.0005	0.0008	na	0.0006
39	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.274	0.002	0.004	0.512	0.039	0.031	0.187	0.099	0.0009	0.0008	na	0.0006
40	p2	Paracatu de Cima	NI	1.417	0.003	0.005	0.813	1.602	0.039	0.144	0.055	0.0005	0.0008	na	0.0006
41	p2	Paracatu de Cima	NI	0.961	0.002	0.004	0.649	0.018	0.034	0.248	0.057	0.0002	0.0008	na	0.0006
42	p2	Paracatu de Cima	NI	0.748	0.002	0.005	0.654	0.285	0.020	0.164	0.083	0.0002	0.0008	na	0.0006
43	p9	Barra Longa	I	1.407	0.004	0.003	0.326	1.427	0.027	0.200	0.281	0.0002	0.0008	na	0.0016
44	p9	Barra Longa	I	2.530	0.006	0.006	0.343	2.115	0.023	0.220	0.296	0.0002	0.0008	na	0.0021
45	p6	Paracatu de Baixo	I	0.483	0.003	0.005	3.736	0.461	0.077	0.123	0.268	0.0002	0.0030	na	0.0006
46	p6	Paracatu de Baixo	I	0.481	0.003	0.009	3.822	0.525	0.079	0.087	0.256	0.0002	0.0008	na	0.0014
47	p6	Paracatu de Baixo	I	1.055	0.003	0.006	3.849	1.260	0.087	0.124	0.319	0.0002	0.0008	na	0.0019
48	p5	Paracatu de Baixo	NI	na	na	0.071	4.256	5.061	0.193	0.419	0.613	0.0002	na	na	0.0042
49	p5	Paracatu de Baixo	NI	1.881	0.004	0.011	4.228	2.190	0.175	0.351	0.365	0.0002	0.0008	na	0.0015

50	p5	Paracatu de Baixo	NI	na	0.012	0.023	4.282	3.389	0.177	0.532	0.380	0.0002	0.0048	na	0.0022
51	p0	Origem	Controle	3.288	0.008	0.029	4.739	6.298	0.801	4.142	0.258	0.0012	0.0008	0.074	0.0038
52	p0	Origem	Controle	4.343	0.010	0.051	4.665	7.686	0.773	3.287	0.311	0.0002	0.0008	0.074	0.0032
53	p0	Origem	Controle	3.487	0.008	0.030	4.771	6.797	0.802	3.603	0.229	0.0014	0.0008	0.087	0.0041
			MEAN	0.978	0.003	0.040	2.504	1.855	0.166	0.592	0.251	0.0004	0.0013	0.070	0.0022
			SD	0.956	0.002	0.037	1.666	1.783	0.174	0.796	0.116	0.0003	0.0012	0.040	0.0014

Table S6: concentration (mg/kg) of each metal/metalloid in each of the honey samples we found in the present research. This was the data set used in the statistical analysis. I = impacted; NI = non-impacted. *SD* = Standard-deviation.

Sampl e	Samplin g site	Locality	Disturbanc e	V	Cr	Ni	As	Cd	Ba	Pb	Cu	Zn	Mn	Al	Fe
1	p8	Gesteira	NI	0.072	0.081	0.48	0.0055	0.0511	17.08	0.0227	15.21	44.58	54.82	44.35	120.51
2	p8	Gesteira	NI	0.041	0.261	0.48	0.0055	0.0498	15.84	0.0123	15.33	43.40	48.50	22.74	102.18
3	p8	Gesteira	NI	0.076	0.091	0.49	0.0055	0.0465	16.97	0.0289	14.32	41.46	48.86	47.33	122.22
4	p2	Paracatu de Cima	NI	0.065	0.084	0.73	0.0129	0.0149	9.99	0.0293	9.87	35.37	129.25	56.24	161.72
5	p1	Paracatu de Cima	I	0.084	0.393	0.88	0.0055	0.0268	3.34	0.0264	9.55	41.60	320.00	74.24	167.93
6	p1	Paracatu de Cima	I	0.090	0.124	0.99	0.0055	0.0316	1.50	0.0649	9.93	43.88	355.08	79.88	166.22
7	p1	Paracatu de Cima	I	0.162	0.328	0.93	0.0187	0.0304	4.36	0.0445	9.29	40.27	309.37	139.35	256.48
8	p10	Barra Longa	NI	0.198	0.255	0.47	0.0293	0.0435	5.65	0.0848	9.94	38.22	38.84	126.39	164.22
9	p10	Barra Longa	NI	0.117	0.185	0.44	0.0389	0.0388	6.37	0.0413	11.94	33.48	40.02	74.30	112.99
10	p10	Barra Longa	NI	0.063	0.205	1.16	0.0177	0.0487	4.35	0.0315	14.99	41.26	48.21	38.18	83.27
11	p9	Barra Longa	I	0.023	0.112	1.52	0.0055	0.0172	10.17	0.0054	10.59	36.27	30.72	10.03	48.81
12	p9	Barra Longa	I	0.028	0.119	1.41	0.0055	0.0184	13.46	0.0046	10.97	34.65	30.44	10.58	47.26
13	p9	Barra Longa	I	0.072	0.185	1.62	0.0156	0.0327	10.11	0.0219	10.66	44.49	33.23	40.81	78.16
14	p7	Gesteira	I	0.091	0.189	1.00	0.0055	0.0622	23.48	0.0205	13.83	50.15	59.87	46.86	169.91
15	p7	Gesteira	I	0.049	0.133	1.13	0.0055	0.0597	20.46	0.0035	13.13	53.87	56.95	24.29	90.34
16	p7	Gesteira	I	0.159	0.248	0.87	0.0192	0.0188	12.10	0.0297	8.83	35.19	34.43	104.70	258.49
17	p2	Paracatu de Cima	NI	0.076	0.184	0.70	0.0245	0.0265	16.51	0.0253	6.43	31.78	68.44	53.08	192.70
18	p2	Paracatu de Cima	NI	0.120	0.190	0.78	0.0154	0.0206	15.87	0.0311	7.28	32.69	64.78	78.06	235.03
19	p2	Paracatu de Cima	NI	0.058	0.155	0.76	0.0147	0.0091	10.98	0.0274	9.97	40.96	52.85	44.34	157.67
20	p1	Paracatu de	I	0.038	0.115	0.58	0.0158	0.0182	7.38	0.0175	7.18	35.81	77.69	25.98	105.76

		Cima													
21	p1	Paracatu de Cima	I	0.032	0.120	0.68	0.0134	0.0169	5.67	0.0183	6.47	42.22	67.07	25.80	94.21
22	p1	Paracatu de Cima	I	0.042	0.130	0.57	0.0157	0.0170	6.54	0.0193	8.33	37.22	65.53	30.64	118.63
23	p9	Barra Longa	I	0.092	0.202	0.77	0.0259	0.0089	3.82	0.0790	9.61	31.86	37.91	55.26	127.66
24	p9	Barra Longa	I	0.046	0.147	0.67	0.0055	0.0181	11.00	0.0242	14.01	31.47	30.29	25.34	74.89
25	p9	Barra Longa	I	0.115	0.217	1.26	0.0177	0.0148	5.48	0.0800	10.79	29.05	34.71	72.23	132.30
26	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.043	0.146	0.42	0.0055	0.0338	9.55	0.0296	7.23	43.14	61.33	27.26	111.05
27	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.037	0.138	0.34	0.0055	0.0495	10.30	0.0230	6.57	36.89	81.38	28.71	106.48
28	p4	Paracatu de Baixo	NI	0.029	0.047	0.26	0.0055	0.0673	11.14	0.0156	5.55	32.81	88.34	17.94	85.68
29	p7	Gesteira	I	0.044	0.070	2.77	0.0290	0.0114	39.12	0.0300	14.75	33.30	19.17	14.84	78.05
30	p7	Gesteira	I	0.030	0.052	1.40	0.0123	0.0156	13.66	0.0660	8.57	36.73	71.31	15.47	66.92
31	p7	Gesteira	I	0.157	0.265	0.42	0.0285	0.0074	7.32	0.0370	9.59	36.07	113.91	91.99	505.85
32	p5	Paracatu de Baixo	NI	0.032	0.056	1.33	0.0210	0.0160	16.12	0.0092	9.61	40.82	53.90	19.00	141.48
33	p5	Paracatu de Baixo	NI	0.082	0.114	0.44	0.0176	0.0150	9.71	0.0258	8.25	42.06	128.93	51.44	403.47
34	p5	Paracatu de Baixo	NI	0.081	0.102	0.53	0.0174	0.0094	11.74	0.0617	8.30	43.16	133.49	56.31	368.66
35	p8	Gesteira	NI	0.003	0.021	0.86	0.0075	0.0252	12.23	0.0179	8.58	42.68	62.99	6.62	54.09
36	p8	Gesteira	NI	0.008	0.021	0.76	0.0034	0.0241	11.08	0.0054	6.87	51.61	67.51	7.81	63.71
37	p8	Gesteira	NI	0.014	0.025	1.19	0.0034	0.0299	13.57	0.0054	12.97	43.37	30.04	10.27	70.87
38	p10	Barra Longa	NI	0.044	0.070	0.43	0.0168	0.0205	4.81	0.0207	5.71	33.63	35.73	27.18	62.86
39	p10	Barra Longa	NI	0.068	0.089	0.58	0.0134	0.0125	5.55	0.0289	4.84	26.79	29.22	44.20	63.00
40	p10	Barra Longa	NI	0.083	0.084	0.44	0.0147	0.0647	9.45	0.0231	5.11	33.24	62.33	53.30	78.87
41	p0	Origin	Control	0.064	0.079	0.25	0.0034	0.0079	2.59	0.0121	15.86	17.06	11.54	33.31	52.75
42	p0	Origin	Control	0.051	0.030	0.46	0.0034	0.0106	3.59	0.0054	11.89	25.63	19.68	17.78	47.26

43	p0	Origin	Control	0.022	0.023	0.28	0.0034	0.0100	4.09	0.0054	12.37	26.44	18.97	23.86	38.96
44	p0	Origin	Control	0.192	0.184	0.86	0.0177	0.0237	7.56	0.1530	15.71	37.53	31.08	133.64	122.33
45	p0	Origin	Control	0.228	0.204	0.51	0.0225	0.0277	6.76	0.1957	15.90	36.19	28.03	163.94	134.11
46	p0	Origin	Control	0.040	0.036	0.38	0.0034	0.0104	4.08	0.0137	12.93	26.20	19.31	22.61	42.90
47	p0	Origin	Control	0.336	0.246	0.65	0.0204	0.0230	6.63	0.0979	9.14	30.62	24.73	198.14	151.73
48	p0	Origin	Control	0.206	0.169	0.80	0.0140	0.0269	10.34	0.0558	9.73	30.96	47.29	119.84	113.88
49	p0	Origin	Control	0.382	0.149	0.71	0.0169	0.0289	9.32	0.0628	10.51	30.50	42.15	119.45	120.42
50	p0	Origin	Control	0.037	0.057	0.37	0.0034	0.0171	6.21	0.0054	9.82	32.58	31.79	34.04	47.27
51	p0	Origin	Control	0.150	0.080	0.48	0.0088	0.0355	2.09	0.0208	5.94	34.92	29.20	73.92	94.48
52	p0	Origin	Control	0.069	0.068	0.57	0.0072	0.0240	5.20	0.0204	7.20	35.08	30.16	47.55	61.67
53	p0	Origin	Control	0.131	0.119	0.78	0.0137	0.0189	5.55	0.0315	10.34	28.73	31.01	91.92	84.56
54	p0	Origin	Control	0.214	0.189	0.50	0.0214	0.0260	6.15	0.0853	16.18	32.10	45.99	140.14	134.87
55	p0	Origin	Control	0.183	0.163	0.49	0.0179	0.0269	5.66	0.0639	13.93	32.65	45.52	120.44	121.98
			MEAN	0.092	0.137	0.76	0.0133	0.0266	9.63	0.0368	10.33	36.45	66.07	57.53	127.63
			SD	0.078	0.081	0.43	0.0083	0.0155	6.30	0.0360	3.17	6.84	69.39	44.55	89.55

Table S7: Concentrations (mg/kg) of the 12 studied metals/metalloids found in the blank samples prepared during the digestion cycles of the honey and pollen samples.

POLLEN BLANKS												
Blank sample	Al	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Ba	Cd	Pb	Ni	As
1	<11.37	<0.0034	0.0178	<0.32	<2.61	<0.76	0.55	<0.0144	<0.0012	0.0034	0.009	<0.011
2	<11.37	<0.0034	0.0639	<0.32	<2.61	<0.76	0.96	<0.0144	0.0046	<0.0020	<0.008	<0.011
3	<11.37	<0.0034	0.0679	<0.32	<2.61	<0.76	0.87	<0.0144	0.0053	<0.0020	<0.008	<0.011
4	<11.37	<0.0034	0.0662	<0.32	<2.61	<0.76	0.82	<0.0144	0.0048	<0.0020	<0.008	<0.011
5	<11.37	<0.0066	<0.0098	<0.32	<2.61	<0.76	0.78	0.01	0.0048	<0.0108	0.014	<0.007
6	<11.37	<0.0066	<0.0098	<0.32	<2.61	<0.76	0.83	0.01	0.0052	<0.0108	0.023	<0.007
7	<11.37	<0.0066	0.0204	<0.32	<2.61	<0.76	0.85	0.01	0.0050	<0.0108	0.016	<0.007
HONEY BLANKS												
Blank sample	Al	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Ba	Cd	Pb	Ni	As
1	0.04	0.0016	0.0041	0.01	0.81	0.02	0.20	0.01	0.0022	0.0062	<0.0711	<0.0044
2	0.24	0.0019	0.0043	0.02	2.09	0.03	0.22	0.01	0.0022	0.0033	<0.0711	<0.0044
3	0.14	0.0012	<0.0024	0.02	0.65	0.04	0.32	0.05	0.0023	0.0079	<0.0711	<0.0044
4	0.18	<0.0009	0.0035	0.03	1.43	0.04	0.30	0.04	0.0025	0.0045	<0.0711	<0.0044
5	<0.0347	<0.0009	0.0092	<0.0011	0.88	<0.0167	0.15	0.01	0.0026	0.0024	<0.0711	<0.0044
6	0.59	<0.0009	0.0050	0.02	1.12	<0.0167	0.39	0.06	0.0034	0.0083	0.144	<0.0044

Table S8: Concentrações (mg/kg) dos 12 metais/metaloídeos estudados nas amostras dos componentes das cadeias alimentares de abelhas e vespas solitárias que nidificam em cavidades pré-existentes, da região impactada pelo rompimento da barragem de rejeitos de Fundão (Minas Gerais, Brasil).

Amostra	Matriz	Identificação	Cod. ninho	Ponto	Local	Categoria	Al	V	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Ba	Pb
1	aranha	-	1	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	44.08	0.11	0.79	25.15	232.13	2.01	77.25	171.32	0.1764	0.6101	4.21	0.48
2	vespa	<i>Trypoxilon sp.1</i>	1	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	3643.64	9.89	10.02	76.36	4995.82	3.02	57.66	189.22	0.5237	0.5654	10.66	2.30
3	vespa	<i>Trypoxilon sp.1</i>	1	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	14.68	0.10	0.44	13.97	84.18	2.22	14.76	94.30	0.0926	0.1575	1.06	0.47
4	aranha	-	2	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	2462.21	6.37	7.01	52.18	3119.60	3.77	56.64	144.15	0.3262	0.4026	4.68	1.84
5	vespa	-	2	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	16.30	0.06	0.41	26.38	184.65	1.30	53.64	168.48	0.1616	0.5632	2.15	0.43
6	vespa	-	2	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	68.27	0.28	1.05	39.55	281.22	7.03	73.13	217.39	0.1244	0.7948	3.66	1.81
7	vespa	-	2	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	79.16	0.32	1.46	47.86	381.55	8.56	78.50	233.56	0.1682	0.8481	3.86	1.84
8	aranha	-	3	p5	Pedras	I	177.63	0.42	1.62	135.99	3035.24	1.88	139.77	334.26	0.9408	0.4034	5.54	0.61
9	vespa	<i>Trypoxilon sp.2</i>	3	p5	Pedras	I	909.23	1.98	14.37	152.59	12691.45	1.54	112.23	255.07	1.6401	0.5694	8.62	1.24
10	vespa	<i>Trypoxilon sp.2</i>	3	p5	Pedras	I	1234.37	2.78	8.44	423.45	22589.96	1.81	51.30	139.49	1.9811	0.1599	14.87	1.97
11	aranha	-	5	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	4830.15	7.98	2.76	38.13	4311.50	1.72	82.99	260.98	0.4660	0.3296	1.89	0.68
12	vespa	-	5	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	4735.93	7.54	2.87	72.69	4109.07	1.35	78.58	279.68	0.4332	0.3644	2.06	0.61
13	vespa	-	5	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	3289.52	5.15	2.06	34.46	2842.24	1.71	84.95	248.52	0.2868	0.5915	2.02	6.29
14	vespa	-	8	p6	Pedras	NI	4542.91	14.11	18.35	371.02	7580.03	4.64	80.67	234.42	0.5925	0.4393	13.29	6.10

15	vespa	-	8	p6	Pedras	NI	3477.74	11.26	14.17	209.22	5989.58	3.33	66.15	255.82	0.4312	0.3797	5.89	2.38
16	abelha	-	18	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	20.35	0.04	0.24	2.56	57.94	0.60	8.95	54.95	0.0286	NA	0.09	0.17
17	abelha	-	18	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	17.73	0.03	0.24	3.01	76.90	0.48	9.56	50.97	0.0219	NA	0.10	0.14
18	abelha	-	9	p6	Pedras	NI	354.98	0.83	1.55	644.31	1716.89	1.39	11.75	46.96	1.6775	NA	33.36	0.57
19	abelha	-	9	p6	Pedras	NI	346.99	0.85	1.63	675.49	1814.38	1.57	11.94	45.73	1.6576	0.0107	34.16	0.59
20	abelha	-	9	p6	Pedras	NI	27.79	0.06	0.25	61.81	267.47	0.41	9.44	50.68	0.3929	NA	5.61	0.17
21	vespa	-	12	p6	Pedras	NI	3984.18	8.12	14.38	80.76	4952.75	2.98	58.22	210.30	0.4564	0.5131	4.39	1.52
22	vespa	-	12	p6	Pedras	NI	3379.10	6.98	10.79	65.90	4291.84	2.69	73.07	197.35	0.3480	0.4712	2.91	1.19
23	aranha	-	30	p6	Pedras	NI	1317.72	3.75	6.26	81.14	2017.95	3.46	108.84	255.66	0.2462	0.1692	8.91	1.39
24	vespa	<i>Trypoxilon sp.2</i>	30	p6	Pedras	NI	3137.98	11.89	18.02	149.51	5947.34	5.07	102.33	194.36	0.3064	0.3295	10.34	3.78
25	vespa	<i>Trypoxilon sp.2</i>	30	p6	Pedras	NI	3013.78	9.75	16.20	116.93	5018.06	5.13	105.61	235.40	0.3259	0.7372	8.76	3.09
26	aranha	-	24	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	181.80	0.23	1.78	101.65	2177.51	2.34	469.16	1066.52	0.1726	1.7518	1.73	1.17
27	vespa	-	24	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	1167.71	1.82	3.82	147.17	16997.17	1.08	62.51	195.10	1.0117	0.2650	6.74	1.11
28	vespa	-	24	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	1864.49	3.03	6.10	196.70	27228.60	1.44	81.46	267.32	1.6065	0.2701	8.33	1.46
29	aranha	-	14	p5	Pedras	I	1282.69	1.36	2.57	135.80	3505.14	2.85	115.84	349.35	0.4557	0.5704	6.83	0.68
30	vespa	-	14	p5	Pedras	I	6185.86	13.25	20.57	634.67	18590.13	5.33	67.65	188.12	4.4453	0.3119	14.35	4.08
31	vespa	-	14	p5	Pedras	I	5782.91	12.69	17.94	326.41	19594.94	4.77	55.35	216.80	4.1542	0.2676	13.75	3.65

32	vespa	-	16	p5	Pedras	I	1259.97	2.75	7.73	425.18	33498.19	1.89	56.58	198.22	3.6691	0.8877	17.49	1.74
33	vespa	-	16	p5	Pedras	I	1366.17	2.85	7.35	213.04	33032.51	1.80	36.62	155.37	1.8702	0.3389	12.30	1.66
34	aranha	-	28	p5	Pedras	I	85.63	0.14	0.64	41.38	312.69	1.42	88.90	259.00	0.2491	0.2502	1.65	0.31
35	vespa	-	28	p5	Pedras	I	3280.07	4.69	8.18	54.10	3117.37	4.10	106.95	332.56	0.3648	0.3861	6.58	0.78
36	aranha	-	29	p5	Pedras	I	1127.09	1.17	1.99	52.69	901.59	1.59	72.32	247.78	0.3129	0.6123	3.06	0.30
37	vespa	-	29	p5	Pedras	I	6500.05	8.23	12.81	106.26	6077.38	5.31	96.42	259.22	0.9106	0.5986	8.39	1.06
38	aranha	-	6	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	2202.19	1.87	8.51	60.42	1375.88	14.96	27.00	877.61	0.1682	0.2936	5.09	2.19
39	aranha	-	6	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	2200.74	1.93	8.72	62.29	1470.07	17.14	27.63	838.52	0.2125	0.1540	5.19	2.71
40	vespa	-	6	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	785.84	0.25	0.52	53.66	576.40	1.40	126.15	526.27	0.0475	0.5729	5.25	0.65
41	abelha	<i>Centris sp.</i>	22	p3	Paracatu_de_Baixo	I	12.71	0.01	0.10	2.41	142.12	0.32	7.49	38.59	0.0313	NA	0.06	0.08
42	abelha	<i>Centris sp.</i>	22	p3	Paracatu_de_Baixo	I	11.18	0.01	0.22	2.74	59.46	0.40	6.81	37.45	0.0714	NA	0.05	0.14
43	abelha	<i>Centris sp.</i>	31	p6	Pedras	NI	14.51	0.01	0.13	1.96	40.69	0.27	4.98	27.16	0.0060	NA	0.04	0.06
44	abelha	<i>Centris sp.</i>	31	p6	Pedras	NI	44.12	0.06	0.34	2.43	255.35	0.37	6.88	29.27	0.0172	NA	0.12	0.10
45	abelha	-	20	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	219.32	0.16	0.46	47.13	128.08	2.51	8.43	80.92	NA	0.0493	27.95	0.16
46	abelha	-	20	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	190.12	0.07	0.34	49.81	230.05	1.55	8.81	110.99	NA	0.0530	21.44	0.24
47	abelha	-	21	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	132.70	0.09	0.24	1.86	97.03	0.27	5.89	36.87	0.0116	0.0032	0.14	0.09
48	abelha	-	21	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	1460.56	1.76	3.43	59.29	1306.84	1.73	8.20	101.94	0.0946	0.0081	2.17	0.76

49	aranha	-	25	p2	Paracatu_de_Baixo	NI	4580.31	3.83	6.16	75.20	2829.48	5.53	18.21	690.73	0.1638	0.0431	22.00	2.59
50	abelha	<i>Tetrapedia sp.</i>	201	p10	Gesteira	I	1391.30	0.84	3.16	17.64	9624.54	3.08	32.15	160.12	0.5492	NA	2.90	1.53
51	abelha	<i>Tetrapedia sp.</i>	201	p10	Gesteira	I	717.02	0.52	2.48	9.54	3161.73	3.11	19.63	121.47	0.1192	NA	1.54	0.95
52	vespa	-	202	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	537.88	0.31	1.21	5.93	1986.17	0.76	24.47	172.45	NA	NA	1.37	1.23
53	vespa	-	202	p4	Paracatu_de_Baixo	NI	21.41	0.08	1.67	12.37	334.60	NA	26.65	103.58	NA	NA	2.98	0.93
54	vespa	-	203	p7	Estrada_Pedras_Gesteira	I	95.43	0.16	0.74	35.22	430.75	0.92	84.11	252.29	0.1197	1.2311	3.25	0.79
55	vespa	-	203	p7	Estrada_Pedras_Gesteira	I	4837.89	5.23	14.03	116.34	6629.80	4.99	63.05	213.76	1.2150	1.1110	11.76	2.28
56	abelha	-	19	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	748.50	0.57	1.33	3.83	1750.40	0.52	10.90	44.04	0.1380	NA	0.58	0.30
57	abelha	-	19	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	546.93	0.40	1.09	2.80	540.95	0.35	9.61	36.85	0.0613	NA	0.32	0.32
58	vespa	-	27	p9	Gesteira	I	1830.73	0.78	1.82	4.83	813.95	2.14	13.11	80.14	0.1289	NA	1.37	0.67
59	vespa	-	27	p9	Gesteira	I	75.73	0.02	0.25	2.94	37.31	0.19	5.89	34.34	NA	NA	0.20	0.23
60	abelha	-	7	p6	Pedras	NI	453.29	0.08	0.41	72.96	143.37	0.53	13.42	86.99	0.0341	0.0034	0.52	0.34
61	abelha	-	7	p6	Pedras	NI	118.00	0.05	0.17	17.14	81.03	0.15	4.99	45.35	0.0120	0.0223	0.20	0.07
62	vespa	<i>Pachodynerus sp.2</i>	26	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	148.60	0.05	0.74	5.89	142.47	0.34	11.71	75.11	NA	0.0190	0.33	0.39
63	vespa	<i>Pachodynerus sp.2</i>	26	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	329.54	0.03	1.03	5.05	114.93	0.56	10.14	55.82	NA	0.0125	0.28	0.26
64	abelha	-	11	p6	Pedras	NI	20.20	0.02	0.33	45.95	69.42	0.23	7.12	36.50	0.0565	0.0040	0.20	0.16
65	abelha	-	11	p6	Pedras	NI	217.05	0.14	0.66	6.41	176.32	0.30	7.10	42.87	0.1006	NA	0.31	0.26

66	abelha	-	204	p10	Gesteira	I	970.59	0.46	1.33	8.61	573.32	0.74	25.55	133.82	NA	0.0438	1.12	3.44
67	vespa	-	15	p5	Pedras	I	NA	20.22	46.86	486.38	40909.43	11.23	77.57	181.45	5.6633	0.2435	25.12	3.01
68	abelha	<i>Tetrapedia sp.</i>	205	p10	Gesteira	I	103.49	0.07	0.65	13.15	603.67	NA	22.21	101.87	0.1758	NA	0.77	0.56
69	abelha	<i>Tetrapedia sp.</i>	205	p10	Gesteira	I	1576.37	0.15	1.53	13.51	489.58	2.15	18.86	64.40	NA	NA	2.52	1.00
70	abelha	-	206	p10	Gesteira	I	219.36	0.19	0.48	77.69	574.34	0.93	18.05	75.60	0.0520	0.0099	1.11	0.60
71	vespa	-	207	p10	Gesteira	I	134.73	0.12	0.83	5.55	212.28	2.59	19.76	112.77	NA	NA	0.69	0.86
72	vespa	-	207	p10	Gesteira	I	1200.82	0.22	1.66	6.49	502.58	3.36	30.09	135.04	NA	NA	1.99	1.32
73	parasitide	-	30	p6	Pedras	NI	2397.39	2.86	5.71	108.60	1928.60	2.98	27.76	205.85	0.1062	0.9200	5.71	1.48
74	parasitide	Bombyliidae	201	p10	Gesteira	I	1431.50	0.54	1.81	8.76	760.45	2.20	22.50	180.95	NA	NA	3.04	1.35
75	parasitide	Bombyliidae	210	p10	Gesteira	I	123.54	0.11	1.56	7.81	187.98	NA	12.59	123.67	NA	NA	1.83	1.28
76	parasitide	Drosophila Bombilidae	210	p10	Gesteira	I	134.91	0.13	1.92	8.41	274.96	1.05	13.79	130.04	NA	0.0301	1.10	1.30
77	abelha	-	209	p10	Gesteira	I	95.54	0.10	0.80	6.79	169.72	0.76	15.89	112.54	NA	NA	3.92	0.77
78	abelha	<i>Tetrapedia sp.</i>	210	p10	Gesteira	I	739.04	0.66	1.61	13.59	1074.32	1.57	19.14	171.74	NA	NA	2.32	1.19
79	abelha	<i>Tetrapedia sp.</i>	210	p10	Gesteira	I	320.76	0.35	1.39	9.42	421.08	0.58	20.75	138.03	NA	NA	1.85	0.86
80	abelha	<i>Tetrapedia sp.</i>	211	p10	Gesteira	I	905.83	0.65	2.24	16.37	711.69	14.91	28.22	145.64	NA	NA	2.47	8.50
81	abelha	<i>Megachile sp.</i>	212	p10	Gesteira	I	104.21	0.08	0.97	7.49	213.28	0.72	14.49	109.47	NA	NA	5.25	0.51

82	vespa	<i>Pachodynerus sp.1</i>	213	p10	Gesteira	I	185.13	0.13	0.64	6.03	508.08	0.36	17.47	129.12	0.0478	NA	0.49	0.51
83	vespa	<i>Pachodynerus sp.1</i>	213	p10	Gesteira	I	1065.64	0.47	1.37	31.14	749.80	2.01	16.32	105.68	0.1443	NA	2.97	1.08
84	polen	-	4	p3	Paracatu_de_Baixo	I	1887.69	1.31	1.09	34.02	1515.60	0.58	8.43	24.27	0.1554	0.0065	5.80	0.67
85	polen	-	11	p6	Pedras	NI	651.61	0.71	1.51	134.96	647.06	1.10	28.32	35.98	0.1087	0.0061	2.09	0.69
86	polen	-	13	p6	Pedras	NI	415.73	0.29	0.70	25.33	157.72	0.89	8.85	36.39	0.0198	0.0055	3.87	0.09
87	polen	-	13	p6	Pedras	NI	298.32	0.28	0.80	26.91	118.29	0.56	9.12	32.67	0.0141	0.0032	3.02	0.17
88	polen	-	13	p6	Pedras	NI	289.01	0.21	0.64	37.32	108.10	0.61	9.47	39.77	0.0273	0.0056	4.24	0.13
89	polen	-	13	p6	Pedras	NI	977.24	1.01	2.63	72.94	689.04	1.92	12.98	66.82	0.0775	0.0106	7.68	0.52
91	polen	-	17	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	683.69	0.93	1.93	33.71	465.38	1.76	8.16	44.62	0.0257	0.0287	24.58	0.30
91	polen	-	21	p8	Estrada_Pedras_Gesteira	NI	256.76	0.31	1.20	38.34	237.93	0.93	14.16	110.39	0.0367	0.0111	7.10	0.36
92	polen	-	23	p3	Paracatu_de_Baixo	I	549.05	0.23	0.64	22.01	283.38	0.25	7.72	26.34	0.0285	0.0051	10.22	0.24
93	polen	<i>Centris sp.</i>	31	p6	Pedras	NI	5325.94	10.90	25.36	471.49	6709.31	16.93	21.73	93.20	0.2679	NA	19.82	3.89