

Revista
Ciência, Tecnologia & Ambiente

Efeito do cádmio e do glifosato na musculatura de mamangavas

Fábio Camargo Abdalla^{1*}, Monica Jones Costa², Guilherme Sampaio¹, Daiane Almeida de Camargo¹, Marina Pedrosa¹, Felipe Lissoni de Andrade Nogueira¹

^{1*}Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental. Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional, Universidade Federal de São Carlos, Campus Sorocaba, Rodovia João Leme dos Santos, km 110 – SP 264, CEP 18052-780. *Autor para correspondência: fabdalla@ufscar.br

²Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental. Laboratório de Fisiologia da Conservação, Universidade Federal de São Carlos, Campus Sorocaba, Rodovia João Leme dos Santos, km 110 – SP 264, CEP 18052-780.

RESUMO

Foram realizados estudos morfométricos da musculatura de voo de operárias de *Bombus morio* (Swederus, 1787) (Hymenoptera, Bombini) expostas ao cádmio e ao glifosato. Operárias de *B. morio*, coletadas no município de Sorocaba (23°34'53.1"S 47°31'29.5") foram mantidas em laboratório por 51 dias. Dois grupos experimentais foram realizados (n=10 cada), um exposto ao cádmio a 1ppb e o outro ao glifosato a 10 ppm. As abelhas foram mantidas em incubadora (24N, 26°C) em caixas individuais e a exposição foi realizada através de uma mistura ofertada ad libitum de mel e pólen, contendo 2 mL das soluções contaminadas. As operárias do grupo controle foram mantidas em cativeiro nas mesmas condições, porém alimentadas somente com a mistura de mel e pólen em 2 mL de água. Os resultados mostraram que ambos os xenobióticos alteram a estrutura da fibra muscular de voo de operárias de *B. morio*. Em ambos os casos, as estrias transversais (sarcômeros) aumentaram de comprimento, assim como o diâmetro das miofibrilas. Comparado ao grupo controle, o glifosato provocou um aumento na área das mitocôndrias. Os resultados indicam que a estrutura da fibra muscular de voo sofreu alterações que podem levar ao comprometimento da atividade de polinização nas abelhas expostas aos xenobióticos, uma vez que estas alterações podem comprometer a atividade de voo.

Palavras-chave: *Bombus morio*, herbicida, metal-traço, ecotoxicologia, musculatura

ABSTRACT

The morphometry of the flight muscle of workers of *Bombus morio* (Hymenoptera: Bombini) was studied. Workers of *B. morio*, collected in the municipality of Sorocaba, state of São Paulo, Brazil (23°34'53.1 "S 47°31'29.5") were kept in the laboratory for 51 days. Two experimental groups were performed (n = 10 each), an exposed to cadmium 1 ppb and one another exposed to glyphosate 10 ppm. The bees were kept in B.O.D. (24N, 26 °C) in individual boxes and bioassays were carried out by ingestion ad libitum of a mixture of honey and pollen containing 2 mL of contaminated solutions. Workers of the control group were maintained caged in the same conditions, but only fed with honey and pollen mixture with 2 mL of water. The results showed that both xenobiotics change the structure of the flight muscle fiber of *B. morio* workers. In both cases, the transversal striations (sarcomeres) increased length, as also the diameter of myofibrils. Compared to the control group, glyphosate caused an increase in the area of the mitochondria. The results indicate that the structure of the flight muscle of the exposed bees undergone changes that can lead to threat of pollinating activity, once such structural muscle alteration can also compromise the flight.

Keywords: *Bombus morio*, herbicide, metal trace, ecotoxicology, musculature

INTRODUÇÃO

À semelhança do que se observa com a espécie *Apis mellifera*, vários relatos de declínio súbito e mesmo desaparecimento de populações inteiras de várias espécies do gênero *Bombus* são registrados, anualmente, por pesquisadores de vários países principalmente dos Continentes Europeu e Americano (Biesmeijer et al., 2006, Martins and Melo, 2010, Cameron et al., 2011). Entre as décadas de 1950 e 2000 foram registrados, em países do Leste Europeu, declínios populacionais de 13 espécies de *Bombus*, sendo que quatro delas estão consideradas extintas (Kosior et al., 2007). Na América do Norte, especificamente no Estado de Illinois (EUA), não há registro de ocorrência das espécies *B. affinis*, *B. borealis*, *B. terricola* e *B. variabilis* desde 1940. O mesmo vem ocorrendo com as espécies *B. affinis*, *B. fraternus*, *B. pensylvanicus*, *B. vagans* e *B. occidentalis* em todo o território dos Estados Unidos e, também, onde estas espécies ocorrem no Canadá (Grixti et al., 2009; Cameron et al., 2011).

Em nosso país, mais especificamente no Paraná e em algumas localidades do Estado de Santa Catarina, declínio seguido de desaparecimento da espécie *B. bellicosus* foram registrados por Martins and Melo (2010). As causas para o desaparecimento das populações deste gênero de Hymenoptera são as mais variadas possíveis, porém todos os autores têm como consenso o aumento das regiões de agricultura intensiva e industrialização dos locais onde as espécies eram abundantes, e consequente aumento da utilização de agrotóxicos, liberação de resíduos tóxicos industriais, alteração das condições geobotânicas dos ecossistemas e aumento de parasitas oportunistas, inclusive daqueles que são específicos de outras espécies de abelhas (Evans et al., 2008, Santos et al., 2008, De Jong, 2009, Plischuk et al., 2009, Martins and Melo, 2010, Cameron et al., 2011, Abdalla et al., 2014).

Devido às atividades intensivas agrícola, industrial e de mineração são crescentes os estudos demonstrando não só a contaminação das abelhas como de seus ninhos com xenobióticos e metais-traço, uma vez que estes insetos transitam por quase todos os *habitats* (aéreo, aquático e terrestre) sujeitos à contaminação química, como também utilizam produtos desses ambientes, como água, pólen, seiva, resina e mesmo

barro para a construção dos seus ninhos. Portanto, devido a contaminação da vegetação, do solo e da água, a ocorrência de metais-traço como cobre, mercúrio, chumbo e cádmio, em ninhos de abelhas apresenta crescente registro na literatura científica.

O cádmio é um dos metais traço que apresentou as maiores taxas de elevação no ambiente entre décadas de 1970 e 1980, sendo seu acúmulo diretamente proporcional ao aumento da industrialização (Alloway, 1990). Portanto, apesar de ser naturalmente encontrado no ambiente em concentrações muito baixas, o aumento do acúmulo de cádmio nos ecossistemas deve-se à ação antrópica, tal como a exploração e beneficiamento de outros metais como o zinco e o chumbo (Boon and Soltanpour, 1992), produção de tintas, pilhas e baterias alcalinas (Potsch, 1967); de combustíveis e lubrificantes; corretivos e fertilizantes (Amaral-Amaral-Sobrinho et al., 1992), assim como estão presentes como elementos surfactantes de pesticidas e fungicidas (Lagerwerff, 1971), constituindo um dos principais resíduos metálicos industriais e urbanos (Alloway, 1990). Já foi demonstrado que o cádmio a 1ppb causa sérios danos aos órgãos internos de *Bombus morio* (Abdalla and Domingues, 2015).

Além do cádmio, herbicidas como o glifosato pode, também, afetar o desenvolvimento normal de órgãos internos de abelhas. O glifosato é o princípio ativo de herbicidas a exemplo do Roundup®, um herbicida largamente utilizado na agricultura intensiva e que pode permanecer por tempo indeterminado no meio ambiente, contaminando a água e o solo (Cabrera et al., 2008). Segundo Gregorc (2011), foi identificada morte celular em ovários de larvas de *A. mellifera* expostas ao glifosato. Além disso, foi comprovado por Çavans (2007) que o glifosato pode causar cito- e genotoxicidade em peixes. O glifosato a 10 ppm provoca, também, efeito negativo sobre as células do corpo gorduroso e do desenvolvimento ovariano de *B. morio*, *B. atratus* e *Xylocopa suspecta* (Abdalla, comunicação pessoal).

As abelhas desempenham um papel central nos ecossistemas naturais e agrícolas, uma vez que são um dos principais prestadores de serviços ecossistêmicos de polinização. O declínio global de abelhas pode provocar um sério déficit dos serviços de polinização e consequentemente falha na reprodução de muitas plantas,

principalmente as não comerciais, cuja importância é indiscutível para a manutenção dos ecossistemas naturais (Imperatriz-Fonseca, 2007). Pelo o exposto, o presente trabalho teve como objetivo analisar o efeito do cádmio e do glifosato sob a musculatura de voo e da região miogênica do vaso dorsal da espécie *B. morio*, uma vez que, pertencente ao gênero *Bombus*. Das quase 240 espécies encontradas no mundo, o Brasil conta com apenas seis espécies. Cinco delas são endêmicas da região Neotropical ocorrendo em países como a Argentina, o Brasil, a Colômbia e a Venezuela (Moure and Melo, 2012). Registrando, ainda, um caso de endemismo na região Amazônica (Moure and Sakagami, 1962, Sakagami, 1976).

MATERIAL E MÉTODOS

Operárias de *B. morio* (Swederus, 1787) (Hymenoptera: Bombini) foram coletadas nos fragmentos de Mata Atlântica e Cerrado (23°34'53.1"S 47°31'29.5"E) em uma área que compreende o *Campus* de Sorocaba da Universidade Federal de São Carlos (SP). As abelhas foram coletadas em floradas de *Cassia* sp. Linnaeus (1753) através de rede entomológica. Após coletadas, as abelhas foram transferidas, individualmente, para tubos Falcon cônicos de 50 mL mantidos dentro de uma caixa de isopor. Em laboratório, as abelhas foram retiradas dos tubos Falcon e mantidas, isoladamente, em caixas especiais em estufa de incubação B.O.D. (*biochemical oxygen demand*), a 26°C, umidade relativa de 70%, no escuro. Para um dos ensaios realizou-se a mistura de mel e pólen acrescidas de 2 mL de solução de cádmio a 1 ppb e, para o outro ensaio, acrescentou à mistura de mel e pólen 10 ppm de glifosato. As concentrações utilizadas para ambos os ensaios são permitidas pelo CONAMA (Resolução nº. 357 de 17 de

março de 2005 do CONAMA e a Portaria nº. 518 de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde) para as águas de classes I e II. Ao grupo controle foi ofertada a mesma mistura (mel e pólen) acrescida de 2 mL de água. A exposição, portanto, foi realizada por ingestão *ad libitum*. Todos os dias as caixas eram limpas, inspecionadas e o alimento trocado. As abelhas expostas ao cádmio foram mantidas em laboratório por 21 dias. As que foram expostas ao glifosato, permaneceram por 31 e 51 dias. As abelhas do grupo controle permaneceram até a sua morte. Após narcose ou morte das abelhas estas tiveram suas musculaturas de voo e do vaso dorsal dissecadas e fixadas em solução de paraformaldeído a 4%, seguindo os procedimentos de rotina para microscopia de luz. Secções histológicas de 1,5 µm de espessura foram realizadas em micrótomo Leica® modelo RM225 e as lâminas histológicas dos materiais de estudo foram analisadas em fotomicroscópio Leica® modelo DM 1000. As medições do comprimento das estriações transversais e da altura das miofibrilas foram feitas com o auxílio do programa Leica Application Suite V3.8 (LASV3.8). Os dados obtidos foram tratados estatisticamente através do programa Graphpad Prism v.4, utilizando-se de análise de variância, teste de Whitney.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando comparados ao grupo controle, o tecido muscular de voo das abelhas que foram submetidas à exposição crônica ao cádmio apresentou alteração nas dimensões de suas fibras musculares com relação a seus sarcômeros (comprimento) e miofibrilas (espessura). Os sarcômeros da musculatura de voo das abelhas expostas aumentaram de comprimento e as miofibrilas, de espessura (Tabela 1).

Tabela 1. Morfometria comparada da musculatura de voo das abelhas expostas ao cádmio 1ppb por 21 dias (n=10 para cada grupo).

Músculo de voo (Comprimento/Altura)	Média em µm	Desvio Padrão	Valor de p*
Sarcômero – Controle	2,5	0,2776	<0,001
Sarcômero – Exposto	2,8	0,3785	<0,001
Miofibrila - Controle	2,2	0,4387	<0,001
Miofibrila - Exposto	2,9	0,6746	<0,001

*Teste de Whitney: p<0,05

Assim como na exposição ao cádmio, o glifosato provocou aumento do comprimento dos sarcômeros e da

espessura das miofibrilas, quando comparados ao grupo controle (Tabela 2).

Tabela 2. Morfometria comparada da musculatura de voo das abelhas expostas ao glifosato por 31 e 51 dias (n=10 para cada grupo).

Músculo de voo (Comprimento/Altura)	Média em μm	Desvio Padrão	p-value*
Sarcômero – Controle	2,5	0,2656	<0,001
Sarcômero – Exposto	2,8	0,2521	<0,001
Miofibrila - Controle	2,2	0,4325	<0,001
Miofibrila - Exposto	5,9	0,4567	<0,001

*Teste de Whitney: $p < 0,05$

Em operárias de *B. morio* não expostas aos xenobióticos a largura média dos sarcômeros é de 2,5 μm e a espessura das miofibrilas, em média, é de 2,2 μm . Os dados obtidos com relação ao grupo controle estão de acordo com os descritos para a largura das miofibrilas em *Scaptotrigona postica* e *A. mellifera* (Adade and Cruz-Landim, 2004, Fernandez-Winckler and Cruz-Landim, 2008). No caso de *A. mellifera* as rainhas acasalam durante o voo, portanto apresentam medidas da espessura das miofibrilas maiores do que a das rainhas já fecundadas; 3,4 μm para 2 μm , respectivamente. Já as rainhas dos meliponíneos geralmente não acasalam durante voo, o que também reflete diferenças na largura das miofibrilas entre as rainhas virgens e as fecundadas, sendo menores nas primeiras; 2,2 μm . O comprimento dos sarcômeros entre estas duas espécies também é muito semelhante ao encontrado para a espécie estudada (Tabelas 1 e 2), ou seja, ao redor de 3 μm nas rainhas virgens de *S. postica* e 2,8 μm nas fecundadas de *A. mellifera* (Cruz-Landim, 2009).

Tanto nas abelhas melíferas como nos meliponíneos, as abelhas campeiras possuem a musculatura de voo mais desenvolvida do que nas recém-emergidas e nutridoras, assemelhando as maiores medidas entre as rainhas de cada espécie (Cruz-Landim, 2009). Os resultados do grupo controle de *B. morio* assemelham-se mais aos obtidos para rainhas virgens de *S. postica* e fecundadas de *A. mellifera*, assim como operárias não forrageadoras de ambas as espécies.

As operárias de *B. morio* mantidas em laboratório por 31 e 51 dias expostas ao glifosato tiveram a área de suas mitocôndrias aumentada com relação ao grupo controle (Tabela 3, Fig. 1A, B). O aumento da área mitocondrial pode ser devido ao processo de degeneração desta organela entre as abelhas experimentais, uma vez que as mitocôndrias do grupo exposto se apresentam turgescidas e altamente vacuolizadas. Neste caso, ainda não é possível afirmar se tal vacuolização faz parte do processo normal de envelhecimento das miofibrilas da musculatura de voo ou da ação direta do glifosato.

Tabela 3. Morfometria da área mitocondrial das abelhas expostas ao glifosato por 31 e 51 dias (n=10 para cada grupo).

Área Mitocondrial	Média em μm	Desvio Padrão	p-value*
Mitocôndria – Controle	3,0	0,3249	<0,001
Mitocôndria – Exposto	7,0	0,1257	<0,001

*Teste de Whitney: $p < 0,05$

Confrontando os dados da análise morfométrica com a análise morfológica nas abelhas expostas ao glifosato (Tabelas 2, 3), observa-se que os espaços entre as miofibrilas parecem mais intumescidos, devido ao maior tamanho das mitocôndrias. Além do fato das mitocôndrias estarem maiores no grupo experimental, apresentando-se mais acidófilas quando coradas pela eosina. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas das áreas das mitocôndrias entre as operárias de *B. morio* expostas por 31 e 51 dias, porém, nas últimas houve uma intensa vacuolização mitocondrial (Fig. 1A, B).

Estudos sobre o piriproxifeno, um inseticida largamente utilizado no controle de pragas, quando aplicado em larvas de 5º instar de *A. mellifera* africanizada, demonstraram a influencia no desenvolvimento da musculatura de voo das pupas (Fernandez et al., 2012). Além do atraso no desenvolvimento da musculatura de voo, ocorre aumento de células do corpo gorduroso entre as fibras musculares (Fernandez et al., 2012). Este inseticida é análogo ao hormônio juvenil (HJ) que atua na diferenciação das castas durante o desenvolvimento pré- e pós-embrionário. A alteração dos títulos de HJ na hemolinfa durante o desenvolvimento larval devido ao piriproxifeno pode ter

causado atraso do começo do desenvolvimento da musculatura de voo nas pupas. Tais alterações podem ter caráter irreversível e gerar indivíduos com a musculatura de voo seriamente comprometida, afetando, assim, o desempenho geral da colônia e, principalmente, a atividade de polinização. Todavia, os autores não fazem referência a alterações das medidas dos sarcômeros, das miofibrilas ou das mitocôndrias. Segundo Abdalla et al. (2008) doses crescentes de exposição ao glifosato causaram uma diminuição no conteúdo total de proteínas musculares em *Oreochromis niloticus*, uma espécie de peixe.

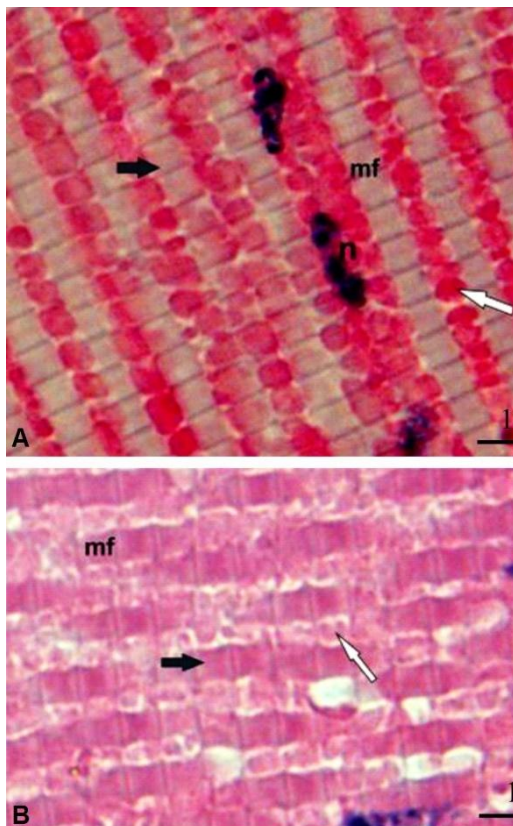


Figura 1. Micrografias do tecido muscular de voo coradas com HE do grupo controle (A) e do grupo exposto ao glifosato (B). mf: miofibrila; seta branca: mitocôndria; seta preta: sarcômero, n: núcleo das fibras musculares.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam que a fibra muscular de voo sofreu alterações estruturais significativas quando as operárias de *B. morio* são expostas ao cádmio a 1ppb e ao glifosato 10 ppm. Tanto o metal-traço quanto o herbicida provocaram aumento da largura dos sarcômeros e da espessura da miofibrilas. Adicionalmente, o glifosato

provocou vacuolização e aparente comprometimento estrutural das mitocôndrias, as quais são bem maiores no grupo exposto devido a sua vacuolização. Os efeitos adversos do sobre o comportamento das abelhas contaminadas precisam ser estudados em trabalhos futuros com diferentes abordagens e parâmetros metodológicos. Porém, sugere-se que tais mudanças estruturais possam levar ao comprometimento da atividade de polinização nas abelhas expostas ao cádmio, uma vez que podem comprometer diretamente o desempenho da atividade de voo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao apoio financeiro obtido da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP (98/00613-0, 11/22001-3), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A.L., SILVA FILHO, J.C., GODOI, A.R., CARMO, C.A., EDUARDO, J.L.P., 2008. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 37, pp. 260-258.
- ABDALLA, F.C., SAMPAIO, G., PEDROSA, M., SIPRIANO, T.P. DOMINGUES, C.E.C., SILVA-ZACARIN, E.C.M., DAIANE, C.A., 2014. Larval development of *Physocephala* (Diptera, Conopidae) in the bumble bee *Bombus morio* (Hymenoptera, Apidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, vol. 58, no. 4, pp. 343-348.
- ABDALLA, F.C. and DOMINGUES, C.E.C., 2015. Hepato-Nephrotic System: a novel model of biomarkers for analysis of the ecology of stress in environmental biomonitoring. *PLoS One*, vol. 10, no. 7, pp. 1-9.
- ADADE, C.M. and CRUZ-LANDIM, C., 2004. Diferenciação e envelhecimento do músculo do voo em operárias de *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, vol. 21, no. 2, pp. 379-384.

- ALLOWAY, B., 1990. *Heavy Metals in Soil. Cadmium*. In: B. ALLOWAY, ed. New Jersey: John Wiley & Sons.
- AMARAL SOBRINHO, N.M.B. et al., 1997. Metais pesados em fertilizantes e corretivos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, vol. 16, no. 2, pp. 271-276.
- BIESMEIJER J.C., ROBERTS, S. P. M., REEMER, M. OHLEMULLER, R., EDWARDS, M., PEETERS, T., SCHAFFERS, A.P., POTTS, S.G., KLEUKERS, R., THOMAS, C.D., SETTELE, J., KUNIN, W.E., 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, vol. 313, pp. 351–354.
- BOON, D.Y. and SOLTANPOUR, P. N., 1992. Lead, cadmium, and zinc contamination of aspen garden soils and vegetation. *Journal Environment Quality*, vol. 21, pp. 82-86.
- CABRERA, L., COSTA, F. B., PRIMEL, E.G. 2008. Estimativa de risco de contaminação de águas por pesticidas na região sul do estado RS. *Química Nova*, vol. 31, no. 8, pp. 1982-1986.
- CAMERON, S. A., LOZIER, J.D., STRANGE, J. P., KOCH, J. B., CORDES, N., SOLTER, L. F., 2011. Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 108, pp. 662-667.
- ÇAVAN, T. and KONEN, S., 2007. Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. *Mutagenesis*, vol. 22, no. 4, pp. 263–268.
- CRUZ-LANDIM, C., 2009. *Abelhas: morfologia e função de sistemas*. 1. ed. São Paulo: Fundação, Editora da UNESP.
- DE JONG, D., 2009. Desaparecimento de abelhas; pesticidas agrícolas afetam insetos, safras e saúde humana. *Scientific American*, vol. 84, pp. 48-49.
- EVANS, E., THORP, R., JEPSEN, S., BLACK, S. H., 2008. Status review of three formerly common species of bumble bee in the subgenus *Bombus*: *Bombus affinis* (the rusty patched bumble bee), *B. terricola* (the yellowbanded bumble bee), and *B. occidentalis* (the western bumble bee). Portland: The Xerces Society of invertebrate Conservation.
- FERNANDEZ, M. C., SUBRA, E., ORTIZ, A., 1994. Honey, environmental indicator. Environmental practices for quality agriculture. In *Proceeding of the Congress of the Spanish Society of Organic Agriculture*, (SSOA'94), 1994. Toledo, Spain, pp. 37-44.
- FERNANDEZ-WINCKLER, F. and CRUZ-LANDIM, C., 2008. A morphological view of the relationship between indirect flight muscle maturation and the flying needs of two species of advanced eusocial bees. *Micron*, vol. 39, pp. 1235-1242.
- GREGORC, A. and ELLIS, J.D., 2011. Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 99, no. 2, pp. 200-207.
- GRIXTI, J.C., WONG, L.T., CAMERON, S.A., FAVRET, C., 2009. Decline of bumble bees (*Bombus*) in the North American Midwest. *Biological Conservation*, vol. 142, pp. 75-84.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. et al., 2007. O desaparecimento das abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e as perspectivas do uso de abelhas não melíferas na polinização. [viewed 8 August 2016]. Embrapa. Online version. Available from: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/69296/1/Abelha.pdf>.
- KOSIOR A., CELARY, W., OLEJNICZAK, P., FIJAL, J., KRÓL, W., SOLARZ, W., PONKA, P., 2007. The decline of bumble bees and cuckoo bees (Hymenoptera: Apidae: Bombini) of western and central Europe. *Oryx*, vol. 41, pp. 79–89.
- LAGERWERF, J.V., 1971. Uptake of cadmium, lead and zinc by radish from soil and air. *Soil Science*, vol. 111, pp. 129-133.
- MARTINS, A.C., MELO, G.A.R., 2010. Has the bumblebee *Bombus bellicosus* gone extinct in the northern portion of its distribution range in Brazil? *Journal Insect Conservation*, vol. 14, pp. 207–210.
- MOURE, J.S. and MELO, G.A.R., 2012. Bombini Latreille, 1802. In J. S. MOURE, D. URBAN, G.A.R. MELO, orgs. *Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea)*

- in the Neotropical Region*. [viewed 8 August 2016].
Online version. Available from:
<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>.
- MOURE, J. S. and SAKAGAMI, S. F., 1962. As mamangabas sociais do Brasil. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, vol. 5, pp. 65–194.
- PLISCHUK, S., MARTÍN-HERNÁNDEZ, R., PRIETO, L., LUCÍA, M., BOTÍAS, C., MEANA, A., ABRAHAMOVICH, A.H., LANGE, C., HIGES, M., 2009. South American native bumblebees (Hymenoptera: Apidae) infected by *Nosema ceranae* (Microsporidia), an emerging pathogen of honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology Reports*, vol. 1, no. 2, pp. 131–135.
- POTSCH, C., 1967. *Mineralogia*. Rio de Janeiro: Livraria São José. 337 p.
- SAKAGAMI, S. F., 1976. Specific differences in the bionomic characters of bumblebees: a comparative review. *Journal of the Faculty of Science*, vol. 20, pp. 390–447.
- SANTOS, A. M., SERRANO, J.C., COUTO, R.M., ROCHA, L.S.G., MELLO-PATIU, C.A., GARÓFALO, C.A., 2008. Conopid flies (Diptera: Conopidae) parasitizing *Centris (Heterocentris) analis* (Fabricius) (Hymenoptera: Apidae, Centridini). *Neotropical Entomology*, vol. 37, no. 5, pp. 606-608.