



ARTIGO

Análise da presença do marcador SCAR associado ao cromossomo B em espécies de abelha sem ferrão do gênero *Partamona*

Alexsandra Medeiros Correia¹, Anderson Fernandes²,
Lucio Antonio de Oliveira Campos¹ e Denilce Meneses Lopes^{1*}

Recebido: 11 de março de 2014 Recebido após revisão: 2 de julho de 2014 Aceito: 20 de outubro de 2014
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2963>

RESUMO: (Análise da presença do marcador SCAR associado ao cromossomo B em espécies de abelha sem ferrão do gênero *Partamona*). A descoberta de cromossomos B em indivíduos da abelha *Partamona helleri* estimulou o desenvolvimento de várias pesquisas acerca desses cromossomos nessa espécie. Esses trabalhos envolveram desde citogenética clássica até a criação de um marcador específico para o cromossomo B (marcador SCAR). Este mesmo marcador foi também encontrado em outras três espécies do gênero (*P. cupira*, *P. rustica* e *P. criptica*) o que poderia indicar a presença de um cromossomo B com sequência semelhante nessas espécies. Com o intuito de entender a dinâmica deste cromossomo no gênero *Partamona*, testamos o marcador SCAR em 1367 indivíduos provenientes de 151 colônias de 15 espécies do gênero *Partamona* (*P. cupira*, *P. helleri*, *P. aff. helleri*, *P. rustica*, *P. seridoenses*, *P. ailyae*, *P. chapadicola*, *P. combinata*, *P. criptica*, *P. epiphytophila*, *P. gregaria*, *P. mulata*, *P. nhambiquara*, *P. testacea* e *P. vicina*). Dentre as espécies analisadas o marcador SCAR foi detectado em cinco espécies (*P. cupira*, *P. helleri*, *P. aff. helleri*, *P. rustica* e *P. seridoenses*). *P. sp. (aff) helleri* apresentou o maior índice de prevalência, seguido por *P. helleri*. Comparação dos valores de prevalência obtidos para as populações analisadas e dados de literatura mostrou que esses cromossomos apresentam variação inter e intrapopulacional. Os dados desse trabalho associados a estudos anteriores indicam que esse cromossomo pode ter sido originado em uma espécie e foi transmitido por processos de hibridização para outras espécies do gênero *Partamona*.

Palavras-chave: Meliponini, marcador molecular, citogenética, cromossomo extra.

ABSTRACT: (Analysis of the presence of the SCAR marker associated with the B chromosome in stingless bee species from genus *Partamona*). The discovery of B chromosomes in individuals of *Partamona helleri* stimulated the development of several studies on these chromosomes in this bee species. These works ranged from classical cytogenetics to the creation of a specific marker for B chromosome (SCAR marker). Such marker has also been found in three other species of the genus (*P. cupira*, *P. rustica* and *P. criptica*), which could indicate the presence of a B chromosome with a similar sequence in these species. Aiming at understanding the dynamics of this chromosome in *Partamona*, we tested the SCAR marker in 1367 individuals from 151 colonies of 15 species of the genus (*P. cupira*, *P. helleri*, *P. aff. helleri*, *P. rustica*, *P. seridoenses*, *P. ailyae*, *P. chapadicola*, *P. combinata*, *P. criptica*, *P. epiphytophila*, *P. gregaria*, *P. mulata*, *P. nhambiquara*, *P. testacea* and *P. vicina*). Among the analyzed species the SCAR marker was detected in five of them (*P. cupira*, *P. helleri*, *P. aff. helleri*, *P. rustica* and *P. seridoenses*). *P. sp. (aff) helleri* showed the highest prevalence index, followed by *P. helleri*. A comparison between the prevalence values obtained for the analyzed populations and literature data showed that these chromosomes present both inter- and intrapopulation variation. Data from this work associated with previous studies indicate that this chromosome may have originated in one species and has been transferred through hybridization processes to other species from genus *Partamona*.

Key words: Meliponini, molecular marker, cytogenetics, extra chromosome.

INTRODUÇÃO

As abelhas da tribo Meliponini possuem importância ecológica e econômica, pois são responsáveis por grande parte da polinização de plantas nativas e cultivadas nas áreas onde ocorrem (Michener 2000). Dentre os 33 gêneros que compõem esta tribo (Camargo & Pedro 2013), encontramos o gênero *Partamona* Schwarz, 1939. Este possui 33 espécies descritas as quais apresentam distribuição exclusivamente Neotropical. Essas abelhas estão presentes em todos os ambientes brasileiros (florestas, caatinga, cerrado e regiões montanhosas) e algumas delas possuem excepcional tolerância a ambientes antrópicos (Camargo & Pedro 2003).

Problemas relacionados com a taxonomia do grupo

têm sido apontados por alguns autores (Camargo & Pedro 2003), pois, várias espécies são muito semelhantes morfologicamente, sendo necessária a utilização de outros caracteres como a arquitetura dos ninhos para fazer o diagnóstico das espécies (Camargo & Pedro 2003).

Em 1992, Costa e colaboradores verificaram que algumas populações da abelha sem ferrão *Partamona helleri* eram portadoras de cromossomos B. Isso estimulou o desenvolvimento de várias pesquisas acerca desses cromossomos não só em *Partamona*, mas também em outros meliponíneos (Tosta *et al.* 2004, Lopes *et al.* 2008, Barth *et al.* 2011, Martins *et al.* 2012).

Tosta *et al.* (2004) utilizando a técnica de RAPD detectaram um fragmento de DNA específico dos indivíduos de *Partamona helleri* portadores de cromossomos

1. Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa (UFV). Avenida PH Rolfs s/n, CEP 36570-900, Viçosa, MG, Brasil.

2. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado do Mato Grosso. Campus de Tangará da Serra, MT-385, Km7, Jardim Aeroporto, CEP 78300-000, Tangará da Serra, MT, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: denilce.lopes@ufv.br

B. Posteriormente este fragmento foi sequenciado e, construído um par de *primers* específicos (marcador SCAR) para identificar a presença do cromossomo B.

Utilizando a citogenética, Marthe *et al.* (2010) mostraram que em *P. cupira*, a presença de banda obtida com marcador SCAR desenvolvido por Tosta *et al.* (2004) estava associada a presença de um cromossomo B. Também foi verificado que populações de duas outras espécies, *P. rustica* e *P. criptica*, apresentavam sequências amplificadas como o uso do marcador SCAR, sugerindo, por inferência, que estas espécies também possuíam o cromossomo B.

A única técnica disponível para detectar a presença de cromossomos B em Meliponini é por meio de citogenética clássica. No entanto, uma limitação para essa técnica seria a necessidade de abrir o ninho para retirada de larvas para obtenção dos cromossomos, o que nem sempre é possível. Assim, o marcador SCAR seria uma alternativa rápida e eficiente para verificar a presença de cromossomo B pelo menos no gênero *Partamona*.

Na tribo Meliponini, a qual pertence o gênero *Partamona*, entre os 33 gêneros apenas em *Melipona* (duas espécies em 74 descritas) (Rocha *et al.* 2007) e *Tetragonisca* (uma espécie em quatro descritas) (Barth *et al.* 2011) já foram identificados cromossomos B. Em *Partamona*, por outro lado, esse número é maior (Tosta *et al.* 2007, Marthe *et al.* 2010) e avaliar sua presença e dinâmica pode auxiliar no entendimento de sua origem bem como num possível papel para esse cromossomo dentro do gênero.

Considerando a demonstração que esse marcador está associado com a presença de cromossomo B em algumas espécies de *Partamona*, nesse trabalho testamos o marcador SCAR em 15 espécies de *Partamona* com o intuito de entender a dinâmica deste cromossomo dentro do gênero.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras e extração de DNA

Foram coletados indivíduos adultos de 151 colônias de 15 espécies do gênero *Partamona*, (Tab. 1, Fig. 1). As amostras foram imersas em etanol absoluto e estocadas em freezer à -20 °C. As espécies foram identificadas pela Dr^a Silvia Regina de Menezes Pedro do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Amostras testemunhas se encontram depositados na Coleção Camargo (Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil) bem como na coleção do Museu de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa-MG, Brasil).

A extração do DNA total das operárias foi realizada conforme recomendado por Waldschmidt *et al.* (1997). A quantificação e verificação da integridade e pureza do DNA foram analisadas por meio de eletroforese em gel de agarose a 0,8% contendo 0,2 µg/ml de GelRedTM (Biotium).

Tabela 1. Relação das espécies analisadas e número de colônias por localidades.

Espécie	Localidade/Estado	Número de colônias (número de indivíduos)
<i>P. helleri</i>	Viçosa/MG	4 (22)
	Sabará/MG	1 (10)
	Poté/MG	2 (20)
	São Gonçalo do Rio Abaixo/MG	1 (10)
	Inhaí/MG	3 (30)
	Mendonha/MG	1 (10)
	Tiros/MG	1 (10)
	Paraopeba/MG	4 (40)
	São Mateus/ES	1 (10)
	Nova Venécia/ES	14 (120)
	Governador Lindenberg/ES	1 (10)
	Ribeirão Preto/SP	5 (49)
	Silva Jardim/RJ	1 (10)
	Fortaleza/CE	1 (9)
	Total	40 (360)
<i>P. cupira</i>	Guimarães/MG	13 (115)
	Januária/MG	2 (20)
	Nova Porteirinha/MG	2 (20)
	Patrocínio/MG	6 (55)
	Brasilândia de Minas/MG	1 (10)
	Marechal Floriano/ES	1 (10)
	Total	25 (230)
<i>P. chapadicola</i>	Maranhão/MA	1 (10)
	Urbano Santo/MA	27 (232)
	Redenção/PA	3 (27)
	Santa Maria das Barreiras/PA	3 (30)
	Total	34 (299)
<i>P. rustica</i>	Januária/MG	2 (20)
	Nova Porteirinha/MG	3 (23)
	Lontra/MG	9 (82)
	Total	14 (125)
<i>P. ailyae</i>	Redenção/PA	2 (16)
	Novo Progresso/PA	1 (10)
	Tangará da Serra/MT	2 (20)
	Nova Xavantina/MT	2 (20)
	Araguari/MG	1 (8)
	Paraopeba/MG	1 (10)
	Catalão/GO	1 (10)
	Total	10 (94)
<i>P. mulata</i>	Cuiabá/MT	1 (10)
	Guimarães/MG	2 (20)
	Total	3 (30)
<i>P. seridoensis</i>	Areia/PB	1 (10)
	João Pessoa/PB	2 (16)
	Camocim/CE	1 (10)
	Mirador/MA	1 (10)
	Total	5 (46)
<i>P. combinata</i>	Catalão/GO	2 (20)
	Uberlândia/MG	1 (9)
	Total	3 (29)
<i>P. criptica</i>	Itamarati/MG	1 (10)
	Guarapari/ES	1 (10)
	Total	2 (20)
<i>P. aff helleri</i>	Paraopeba/MG	3 (23)
	Viçosa/MG	1 (10)
	Total	4 (33)
<i>P. nhambiquara</i>	Tangará da Serra/MT	5 (45)
<i>P. vicina</i>	Nova Xavantina/MT	1 (10)
<i>P. gregaria</i>	Novo Progresso/PA	2 (20)
<i>P. testacea</i>	Novo Progresso/PA	1 (10)
<i>P. epiphytophila</i>	Rio Branco/AC	2 (16)



Figura 1. Mapa com distribuição das espécies de *Partamona* analisadas.

Reação em Cadeia da Polimerase

Para verificar a presença do marcador SCAR associado ao cromossomo B, o DNA total de operárias foi amplificado utilizando-se os *primers* específicos OPK14A (5' CCCGCTACACATATAATTAACG 3') e OPK14B (5' CCCGCTACACCCTAAAATATGC 3') conforme Tosta *et al.* (2007). Ao final da reação, os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 1% e analisados com o auxílio do sistema de captura de imagens Alphadigidoc 1201. A análise dos géis foi feita pela presença e ausência de bandas contendo o produto de amplificação por indivíduo (Fig. 2). Foram utilizados em média 10 indivíduos por colônia.

A distribuição dos cromossomos B na população foi feita com base no cálculo do índice de prevalência que

mede a proporção de indivíduos que possuem cromossomos B na população. Para o cálculo, divide-se o número de indivíduos com cromossomo B pelo número total de indivíduos analisados (Perfectti *et al.* 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O marcador SCAR foi testado em 1367 indivíduos provenientes de 151 colônias de 15 espécies do gênero *Partamona*. Destas, cinco apresentaram a banda referente ao marcador SCAR (*P. cupira*, *P. helleri*, *P. aff helleri*, *P. rustica* e *P. seridoensis*). Apenas 53 indivíduos (3,88%) presentes em 28 colônias (18,5% do total analisadas) apresentaram marcação positiva para o marcador SCAR (Tab. 2).

Populações das espécies *P. criptica*, *P. cupira* e *P. rustica* diferentes do presente trabalho já haviam sido estudadas anteriormente e responderam positivamente ao marcador SCAR indicando que cromossomos B estavam presentes nestas populações (Tosta 2005, Marthe *et al.* 2010), porém no presente trabalho não houve registro para as colônias analisadas de *P. criptica*. Considerando que esse marcador indica a presença de cromossomos B, podemos sugerir que as abelhas de *P. criptica* dessa região ou dessa colônia não possuem cromossomos B, visto que esses cromossomos não possuem distribuição mendeliana e sua frequência e/ou presença pode variar dentro e entre populações (Camacho *et al.* 2000).

A comparação entre os índices de prevalências médias por espécie permitiu observar que *P. sp. (aff) helleri* apresentou o maior valor (0,60), seguida por *P. helleri* (0,56). A espécie que possuiu menor prevalência média foi *P. cupira* (0,20). Porém, o número de colônias tanto de *P. sp. (aff) helleri* quanto de *P. cupira* foram muito



Figura 2. Perfil eletroforético do DNA amplificado com o marcador SCAR em abelhas do gênero *Partamona* (1, OPK14 -, 2, OPK14 +; 3, controle positivo).

Tabela 2. Relação de espécies que apresentaram resultado positivo para o marcador OPK14 e índices de prevalência média por localidade e por espécie.

Espécie	Código	Localidade/Estado	n	Com cromossomo B	Prevalência
<i>P. helleri</i>	PHES117	Governador Lindenberg/ES	10	10	1,00
	PHES119	Governador Lindenberg/ES	10	9	0,90
	PHES128	Governador Lindenberg/ES	10	9	0,90
	PHES129	Governador Lindenberg/ES	10	8	0,80
	PHES122	Governador Lindenberg/ES	10	7	0,70
	PHES120	Governador Lindenberg/ES	10	4	0,40
	PHES131	Governador Lindenberg/ES	10	3	0,30
	PHES127	Governador Lindenberg/ES	10	9	0,90
	Prevalência Média: 0,74				
	PHES118	Jaguaré/ES	10	8	0,80
	PHES121	Jaguaré/ES	10	7	0,70
	Prevalência Média: 0,75				
	PHES124	Alfredo Chaves/ES	10	6	0,60
	PHES130	Alfredo Chaves/ES	10	1	0,10
	Prevalência Média: 0,35				
	PHMG05	Viçosa/MG	3	2	0,67
	PHMG09	Viçosa/MG	2	1	0,50
	PHMG06	Viçosa/MG	3	1	0,33
	Prevalência Média: 0,50				
	PHMG82	Inhaí/MG	10	8	0,80
	PHMG83	Inhaí/MG	10	6	0,60
	Prevalência Média: 0,70				
	PHMG81	Poté/ MG	10	4	0,40
	PHSP112	Ribeirão Preto/ SP	10	5	0,50
	PHSP113	Ribeirão Preto/ SP	10	2	0,20
	Prevalência Média: 0,35				
	PREVALÊNCIA MÉDIA POR sp.: 0,56				
<i>P. cupira</i>	PCUMG1	Guimarânia/MG	10	2	0,20
	PCUMG132	Guimarânia/MG	10	2	0,20
<i>P. aff helleri</i>	PaffHMG11	Paraopeba/MG	7	5	0,71
	PaffHMG14	Paraopeba/MG	6	3	0,50
<i>P. rustica</i>	PREVALÊNCIA MÉDIA POR sp.: 0,60				
	PRUMG2	Nova Porteirinha/MG	10	2	0,20
	PRMG48	Nova Porteirinha/MG	3	2	0,67
	PRUMG145	Nova Porteirinha/MG	10	2	0,20
<i>P. seridoensis</i>	PREVALÊNCIA MÉDIA POR sp.: 0,36				
	PSECE77	Camocim/ CE	10	10	1,00

pequenos para podermos inferir sobre a abundância do cromossomo B nestas espécies.

Na espécie *P. helleri*, as maiores prevalências médias foram encontradas em Governador Lindenberg, ES (0,74), Jaguaré, ES (0,75) e Inhaí, MG (0,70). A alta prevalência média encontrada na população de Jaguaré-ES está parcialmente em desacordo com a prevalência obtida por Manhago (2012) para a mesma população. Essa variação pode indicar que esses cromossomos não estão passando por nenhum processo de fixação, visto que sua frequência varia ao longo do tempo na mesma população. O tempo de vida de uma abelha é cerca de 90 dias, assim caso a rainha seja substituída em pouco tempo todos os indivíduos da colônia poderão carregar quantidades diferentes de cromossomos B alterando sua frequência na população.

Em seu trabalho, para algumas populações, Manhago (2012) apresenta valores de prevalência bem diferente obtidos via biologia molecular (marcador SCAR) e via citogenética clássica. Vale ressaltar que as colônias não são as mesmas, o que pode ser a explicação para tal variação. Quando essa autora compara todas as popu-

lações amostradas em seu trabalho os valores obtidos pelo marcador molecular (0,54) são semelhantes aos encontrados por dados citogenéticos (0,57) indicando que numa abordagem mais ampla as duas informações são coincidentes (Manhago 2012) e esse índice é válido como medida da variação média na população.

Segundo Camacho *et al.* (2000), cromossomos B podem ter uma origem intra ou interespecífica. Martins *et al.* (2012) não encontraram homologia da sonda obtida para o cromossomo B de *P. helleri* com nenhum outro cromossomo do complemento A. Fato que reforça a ideia de uma origem interespecífica para esse cromossomo.

Assumindo que as espécies que apresentam a sequência típica de indivíduos portadores de cromossomos B (identificados via marcador SCAR) também tenham esses cromossomos, duas são as possibilidades para sua origem em *P. helleri*, *P. cupira*, *P. rustica*, *P. criptica* e *P. seridoensis*: 1) Origem comum, na qual o ancestral destas espécies possuía este caráter e o transmitiu à elas, ou 2) Cruzamentos interespecíficos, tendo o caráter surgido em apenas uma linhagem sendo posteriormente transmitido às demais espécies por cruzamentos interespecíficos.

Os dados produzidos por este trabalho e outros na literatura apontam que a origem do cromossomo B em *Partamona* aconteceu em um único evento seguido de transmissão deste cromossomo por cruzamentos interespecíficos. Um dos fatos que suportam essa teoria é a similaridade observada na sequência de fragmentos do cromossomo B de três espécies (*P. cupira*, *P. rustica* e *P. criptica*) (Marthe 2008). Em geral, o DNA presente nos cromossomos B está isento de pressões de seleção natural (Camacho 2005), de maneira que mutações não eliminadas pelo mecanismo de reparo do processo de replicação serão incorporadas ao cromossomo B. O tempo para sua origem no ancestral comum a todas as espécies positivas para o marcador SCAR aproximadamente é 24 milhões de anos, calculado com base em dados moleculares (De Miranda 2012). Se esse cromossomo tivesse uma origem a partir de um ancestral comum entre as espécies analisadas, poderíamos esperar uma taxa maior de incorporação de mutações ao B de cada linhagem após a cladogênese. Entretanto esse fato não é verificado.

Logo, devido ao longo tempo necessário para sua origem no ancestral supostamente portador do cromossomo B e sua elevada conservação propomos que a presença deste cromossomo em várias espécies não esteja relacionada à sua transmissão direta do ancestral comum a elas. Somado a isso, pelo menos um caso de hibridização interespecífica recente foi observado entre as espécies de *P. helleri* e *P. chapadicola* (De Miranda 2012) e cruzamentos desta natureza poderiam estar relacionados com a transmissão do cromossomo B entre as espécies do gênero.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos às Fundações de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro, e à Dr^a Sílvia Regina de Menezes Pedro, pela identificação das espécies no trabalho.

REFERÊNCIAS

- BARTH, A., FERNANDES, A., POMPOLO, S.D.G. & COSTA, M.A. 2011. Occurrence of B chromosomes in *Tetragonisca* Latreille, 1811 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): a new contribution to the cytotoxicity of the genus. *Genetics and molecular biology*, 34(1): 77-79.
- CAMACHO, J.P.M., SHARBEL, T.F. & BEUKEBOOM, L.W. 2000. B-chromosome evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 355(1394): 163-178.
- CAMACHO, J.P.M. 2005. B chromosomes. In: GREGORY, T.R. (Ed). *The evolution of the genome*. New York: Academic Press. p. 223-286
- CAMARGO, J.M.F. & PEDRO, S.R.M. 2003. Meliponini Neotropicais: O gênero *Partamona* Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae, Apinae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 47(3): 311-372.
- CAMARGO, J.M.F. & PEDRO, S.R.M. 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In: MOURE, J. S., URBAN, D. & MELO, G. A. R. (Orgs). *Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version*. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso em: 03 fev. 2014
- COSTA, M.A., POMPOLO, S.G. & CAMPOS, L.A.O. 1992. Supernumerary chromosomes in *Partamona cupira* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Revista Brasileira de Genética*, 15: 801-801.
- DE MIRANDA, A.F. 2012. *Estudos citogenéticos e moleculares do gênero Partamona: Filogenia e cromossomo B*. 60 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa 2012.
- MANHAGO, Z.B.V. 2012. *Avaliação da presença de cromossomos B no gênero Partamona (Hymenoptera, Apidae) no Estado do Espírito Santo, Brasil*. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória 2012.
- MARTHE, J.D.B. 2008. *Análises citogenéticas e de sequências específicas de cromossomos B em Partamona cupira (Hymenoptera: Apidae)*. 30 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa 2008.
- MARTHE, J.B., POMPOLO, S.G., CAMPOS, L.A.O., SALOMÃO, T.M.F. & TAVARES, M.G. 2010. Cytogenetic characterization of *Partamona cupira* (Hymenoptera, Apidae) by fluorochromes. *Genetics and Molecular Biology*, 33(2): 253-255.
- MARTINS, C.C.C., DINIZ, D., SOBRINHO-SCUDELER, P.E., FORRESTI, F., CAMPOS, L.A.O. & COSTA, M.A. 2012. Investigation of *Partamona helleri* (Apidae, Meliponini) B chromosome origin. An approach by microdissection and whole chromosome painting. *Apidologie*. 44(1): 75-81.
- MICHENER, C.D. 2000. *The bees of the world*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 913 p.
- LOPES, D.M., POMPOLO, S.D.G., CAMPOS, L.A.O., TAVARES, M.G. 2008. Cytogenetic characterization of *Melipona rufiventris* Lepeletier 1836 and *Melipona mondury* Smith 1863 (Hymenoptera, Apidae) by C banding and fluorochromes staining. *Genetics and Molecular Biology*, 31(1): 49-52.
- PERFECTTI, F., PITA, M., DE LA VEGA, C.G., GOSÁLVEZ, J. & CAMACHO, J.P.M. 2004. Spatio-temporal dynamics of a neutralized B chromosome in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Cytogenetic and Genome Research*, 106: 376-385
- ROCHA, M.P., POMPOLO, S.G., FERNANDES, A. & CAMPOS, L.A.O. 2007. Melipona: Seis décadas de citogenética. *Bioscience Journal*, 23(7): 111-117.
- TOSTA, V.C., FERNANDES-SALOMÃO, T.M., TAVARES, M.G., POMPOLO, S.G., BARROS, E.G. & CAMPOS, L.A.O. 2004. A RAPD marker associated with B chromosomes in *Partamona helleri* (Hymenoptera, Apidae). *Cytogenetic and Genome Research*, 106(2-4): 279-283.
- TOSTA, V. C. 2005. *Análise da origem molecular dos cromossomos B, e de seus possíveis efeitos fenotípicos em Partamona helleri (Hymenoptera, Apidae)*. 79 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.
- TOSTA, V.C., TAVARES, M.G., FERNANDES, A., BARROS, E.G., CAMPOS, L.A.O. & CAMACHO, J.P.M. 2007. Development of a SCAR marker for the analysis of B chromosome presence in *Partamona helleri* (Hymenoptera, Apidae). *Cytogenetics and Genome Research*, 116(1-2): 127-129.
- WALDSCHMIDT, A.M., FERNANDES-SALOMÃO, T.M., BARROS, E.G. & CAMPOS, L.A.O. 1997. Extraction of genomic DNA from *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae, Meliponae). *Brazilian Journal of Genetics*, 20(3): 421-423.