

基于几何形态学方法的秦巴山区中华蜜蜂翅形态变异研究*

邱立飞** 魏朝明*** 王俊杰 刘红霞 赵白雪 张 或 廉振民***

(陕西师范大学, 生命科学学院, 药用资源与天然药物化学教育部重点实验室, 西安 710119)

摘 要 【目的】本研究拟揭示陕西省秦巴山区的中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 翅形态变异规律, 为研究中华蜜蜂种下形态分化提供依据。【方法】基于几何形态测量学方法对陕西省秦巴山区 17 个样地的中华蜜蜂前翅进行量化分析, 并结合主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)、典型变量分析(Canonical variate analysis, CVA)、薄板样条分析(Thin-plate spline, TPS)等方法探讨该地区中华蜜蜂形态分化规律及影响因素。【结果】不同采样地的中华蜜蜂种群在翅大小上存在显著性差异, 同时翅大小与所处地理位置存在显著的相关性。前翅形态变异主成分分析结果显示来自秦岭北坡的 5 个种群与秦岭南坡以及巴山地区的种群在 PC1 方向上存在一定的分化。TPS 分析结果显示北坡 5 个采样地种群具有较宽的翅。马氏距离和普氏距离结果均显示秦岭北坡种群与秦岭南坡种群以及巴山种群之间均存在显著性差异, 且秦岭南坡种群与巴山种群之间的差异较小。普氏距离随着地理距离的增大而变大, 但南北坡之间存在一定的差异。【结论】翅大小与其所处地理位置存在明显的相关性, 海拔和纬度上的差异是造成翅大小变化的主要因素。处于秦岭北坡的种群与秦岭南坡以及巴山地区中华蜜蜂种群出现一定程度的翅脉形态分化。

关键词 中华蜜蜂, 秦巴山区, 几何形态测量学

Geometric analysis of morphological variation in the wing of *Apis cerana cerana* from the Qinling-Daba Mountain Areas

QIU Li-Fei** WEI Zhao-Ming*** WANG Jun-Jie LIU Hong-Xia
ZHAO Bai-Xue ZHANG Yu LIAN Zhen-Min***

(Key Laboratory of the Ministry of Education for Medicinal Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry,
College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract [Objectives] To analyze morphological variation in *Apis cerana cerana* in the Qinling-Daba Mountain Regions of Shaanxi Province in order to provide evidence for further studies on the evolution of this species. [Methods] Geometric morphometric methods, including Principal Component Analysis, Canonical Variate Analysis and Thin-plate splines, were used to analyze wing variation in 17 *A. c. cerana* populations from the Qinling-Daba Mountain Areas in Shaanxi. [Results] Wing size of *A. c. cerana* was significantly different among populations and there was a significant correlation between wing size and geographic location. The forewing shape of southern groups obviously clustered together on the positive PC1 axis, whereas that of northern groups clustered on the negative PC1 axis. Thin-plate spline analysis showed that southern and northern groups differ in wing shape. Significance testing for morphological differences among populations based on Mahalanobis and Procrustes distances indicate significant differences between southern and northern groups, and between northern and Bashan groups. However, the differences between southern and Bashan groups were distinctly smaller than those between the other groups. The correlation between Procrustes distance and geographic distance in southern and northern groups was positive, but there were differences in the degree of correlation. [Conclusion] *A. c. cerana* wing size varies

*资助项目 Supported projects :陕西省自然科学基金(2015SF251);2016 年国家大学生创新创业训练创新子项目(cx16027 ,cx16118)

**第一作者 First author , E-mail : qiolifei@snnu.edu.cn

***共同通讯作者 Co-corresponding authors , E-mail : Lianzm@snnu.edu.cn; weizhaoming@snnu.edu.cn

收稿日期 Received : 2017-05-15 , 接受日期 Accepted : 2017-11-23

geographically and altitude and latitude appear to be major factors affecting wing size. *A. c. cerana* populations from the northern Qinling Mountains differ to a certain degree in wing shape from those from the southern Qinling Mountains and the Daba Mountains.

Key words *Apis cerana cerana*, Qinling-Daba Mountains, geometric morphometric

秦巴山区位于我国的中西部,域内的秦岭不仅是我国的南北以及温带与亚热带的分界线,同时也是动物区系中古北界与东洋界的分界线。秦岭南北坡以及巴山地区气候差异明显,在植物种类上也存在较大差异,是研究生物表型分化的较好场所。中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 在分类上属于膜翅目(Hymenoptera) 蜜蜂总科(Apoidea) 蜜蜂科(Apidae) 蜜蜂属(*Apis*),为东方蜜蜂 *Apis cerana* Fabricius 的一个亚种(Ruttrn, 1988; Higes *et al.*, 2006),广泛分布在我国除新疆、内蒙古外的其他地区,从海南岛、台湾岛到内陆,从东部沿海到西部海拔 3 500 m 的青藏高原均有分布(杨冠煌, 1984)。其适应于我国本土的生态环境进化出了抗螨害、耐寒、善于利用零星蜜源等优良特性,对我国早春以及晚秋时节开花的植物授粉起着关键作用(杨冠煌, 2001)。

国内对于东方蜜蜂种群分化的研究经历了由早期的形态学到分子生物学方向的转变,但从已有的研究中我们可以发现基于形态学方法与分子生物学方法在最终结果上存在一定的差异,如对福建东方蜜蜂的研究中基于 Ruttnr 1988 年提出的形态学测量标准的研究可以将福建地区的蜜蜂分为三大类群(朱翔杰等, 2011),而基于线粒体 tRNA^{leu}-CO II 数据结果表明该地区未出现明显的遗传分化且在种群内部存在较大的基因流(周姝婧和朱翔杰, 2016)。在对云南(谭垦等, 2003; 殷玲等, 2015) 四川(罗凌娟和谭垦, 2008; 徐国威等, 2014) 甘肃(谭垦和祁文忠, 2004)的中华蜜蜂的研究中也出现类似的问题。在较大范围的基于形态学以及分子生物学方法对中华蜜蜂的研究中二者也存在一定的差异(吉挺, 2009)。目前对于局部区域内中华蜜蜂表型分化的解释认为海拔、温度、地理距离、蜜源植物以及人为活动等都会对中华蜜蜂的表型分化产生影响(谭垦, 2003; 王桂芝, 2008;

吉挺, 2009; 朱翔杰等, 2011)。在已有的对秦巴山区中华蜜蜂的研究结果中,郭新军(2005)基于微卫星方法的结果表明秦岭南北坡存在一定的分化。郭慧萍等(2016)同样基于微卫星的研究表明该地区存在较大规模的野生和家养中华蜜蜂种群且具有较高的遗传多样性,种群呈连续分布状态,未出现明显的遗传分化;但所选样地主要集中在秦岭南坡以及巴山地区,仅宝鸡渭滨区处于秦岭北坡地区,因此不能充分说明该地区中华蜜蜂种群的分化状况。

几何形态测量学方法已经广泛的被应用于分类学、古生物学和系统学的研究中(Pretorius, 2005; Rattanawanee *et al.*, 2007)。该方法使用坐标点来替代距离和角度,所选坐标点通过缩放、平移和旋转来叠加坐标从而去除由于样本的大小、方位和物理性因素的影响,使其能更精确的辨别样本间的微小差异(Bai *et al.*, 2010)。昆虫翅由于其二维性以及可靠的遗传特性被广泛应用于基于形态学的系统学和系统发生学研究(Aytekin *et al.*, 2007; Bai *et al.*, 2015, 2016)。Tofilski(2008)认为几何形态测定比标准形态测定法在研究蜜蜂亚种方面更可靠。基于蜂类翅的几何形态学分析很好地被应用在种、亚种甚至个体水平的鉴定上(Mendes *et al.*, 2007; Francoy *et al.*, 2008)。一些研究已经证明单独的翅形态测定可以用来识别一些蜂类物种以及亚种(Tofilski, 2008; İrfan *et al.*, 2011)。Rattanawanee 等(2012)基于该方法对泰国境内大蜜蜂不同地理种群间的形态分化进行了研究。因此,翅的几何形态学方法可以应用于区分蜂种(Francoy *et al.*, 2008)、亚种(Tofilski, 2008)和亚群(Rattanawanee *et al.*, 2012)。

本文将基于几何形态测量学方法,开展对秦巴山区中华蜜蜂前翅形态分化上的研究。研究结果将有助于发现中华蜜蜂的种下形态分化规律,

从而为开展中华蜜蜂以及本地区物种多样性保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究选择了陕西省秦巴山区的中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 样本(图 1), 地点包括汉中、安康、宝鸡、渭南、商洛、西安 6 市 17 县(表 1)。

采集方法: 在蜂巢口采集外出采集花蜜的成年工蜂, 每群采集 10 只, 每个采样地采集数量不少于 6 群, 并将蜜蜂放入 75% 的酒精中保存备用。

1.2 实验方法

1.2.1 前翅图像获取 摘取工蜂右侧前翅, 使用两个载玻片将翅压在中间固定, 制得玻片标本。随后使用德国蔡司 Discovery V 20 荧光体式显微成像系统对本标进行微距拍照。在图像采集过程中, 需保持显微镜的焦距、放大倍数和拍摄角度固定不变。

1.2.2 数据的标准化处理 使用 TPS Util v 1.46 (Rohlf, 2010) 和 TPSdig2 (Rohlf, 2006) 分

别对每个中华蜜蜂的前翅进行数字化标点处理(标志点, Landmarks)。前翅标志点根据 Bookstein 定义的标志点共选取 20 个标志点(图 2)。使用 IMP 系列软件 Coordgen6.0 (Rohlf and Slice, 1990) 对标志点使用广义普氏分析法 (Generalized procrustes analysis, GPA) 进行叠加, 以第 1 和第 7 标志点作为基准线并使标志点离差最小化, 同时基于 GLS 法计算各个样地翅的平均形态。

1.3 统计分析

1.3.1 翅大小变化分析 将普式叠加得到的每个前翅图形的中心值 (Centroid size, CS 值) 输入到 SPSS 20.0 软件做单因素方差分析 (One-way ANOVA), 分析各采样地中华蜜蜂前翅大小的差异, 并分别做 17 个样点中华蜜蜂前翅大小 (CS 值) 的箱型图。通过计算 17 个样地蜜蜂前翅中心值的平均大小并将其与所处样地的地理信息进行回归分析, 解析翅大小变化与地理位置变化的相关性。

1.3.2 翅形态变化分析 依据不同采样地的地

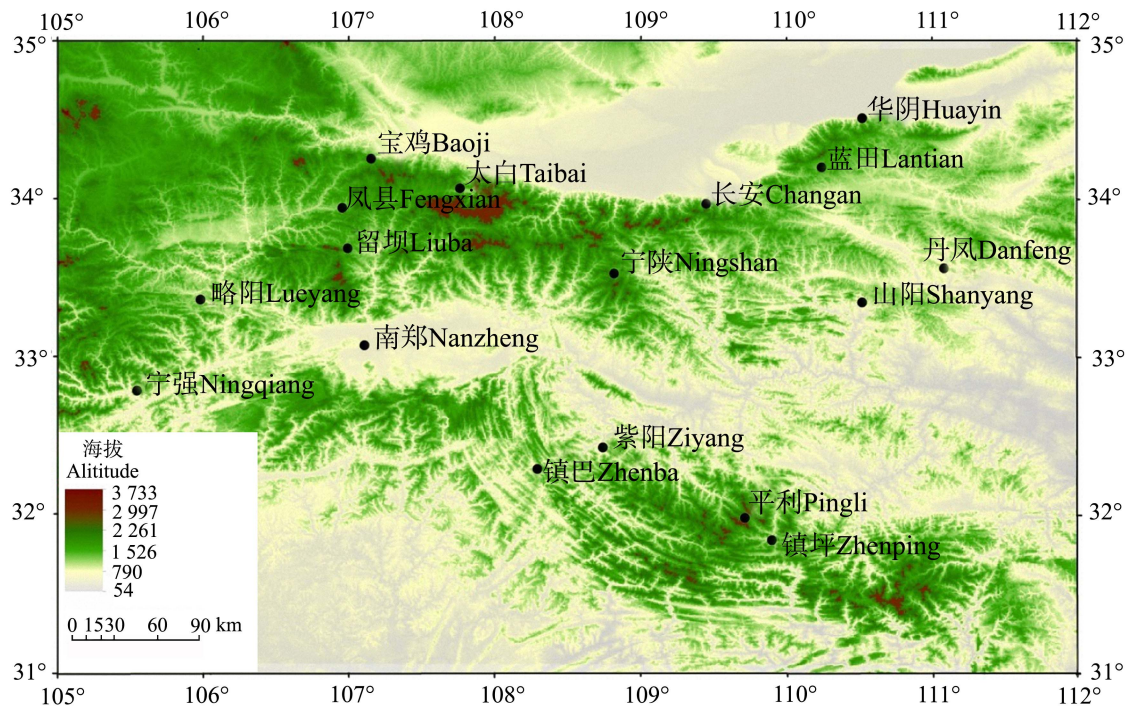


图 1 本研究中的 17 个采样地分布信息

Fig. 1 The distributed of 17 geographical populations in this study

表 1 本研究中 17 个采样地的样本信息

Table 1 The specimen collection information of 17 geographical populations in this study

地理区域 Geographic region	种群代码 Sample code	采集地点及饲养方式 Collecting site/Feeding model	采集时间 Collecting date	经纬度 Latitude and longitude	海拔 Altitude (m)	数量/群数 Number/Colony
秦岭北 Northern of Qinling Mountain	tb	陕西省宝鸡市太白县/A Taibai county, Baoji, Shaanxi Province /A	2015/10/03	107°46.85'E/ 34°05.71'N	1 376	30/10
	hy	陕西省渭南市华阴县/A Huayin county, Weinan, Shaanxi Province/A	2015/10/06	110°02.39'E/ 34°51.54'N	420	30/10
	lt	陕西省西安市蓝田县/A Lantian county, Xian, Shaanxi Province/A	2015/10/16	109°73.36'E/ 34°21.83'N	1 192	30/06
	ca	陕西省西安市长安区/A Changan district, Xian, Shaanxi Province/A	2015/10/17	109°11.69'E/ 33°98.14'N	863	30/10
	bj	陕西省宝鸡市渭滨区/A Weibin district, Baoji, Shaanxi Province /A	2016/05/10	106°96.31'E/ 34°25.01'N	1 105	30/10
秦岭南坡 Southern of Qinling Mountain	lb	陕西省汉中市留坝县/B Liuba county, Hanzhong, Shaanxi Province/B	2015/08/22	106°82.55'E/ 33°66.51'N	1 446	30/10
	ly	陕西省汉中市略阳县/A Lueyang county, Hanzhong, Shaanxi Province/B	2015/08/26	105°82.21'E/ 33°32.11'N	994	30/10
	ns	陕西省安康市宁陕县/A Ningshan county, Ankang, Shaanxi Province/A	2015/07/22	108°54.74'E/ 33°55.97'N	1 353	30/10
	df	陕西省商洛市丹凤县/A Danfeng county, Shangluo, Shaanxi Province/A	2015/10/13	110°61.16'E/ 33°57.97'N	636	30/10
	sy	陕西省商洛市山阳县/A Shanyang county, Shangluo, Shaanxi Province/A	2015/10/10	110°03.15'E/ 33°40.24'N	910	30/10
	fx	陕西省宝鸡市凤县/B Feng county, Baoji, Shaanxi Province/B	2015/10/01	106°82.47'E/ 33°93.50'N	1 319	30/10
	nq	陕西省汉中市宁强县/A Ningqiang county, Hanzhong, Shaanxi Province/A	2015/08/15	105°58.08'E/ 32°82.78'N	661	30/10
巴山地区 Daba Mountain Areas	zb	陕西省汉中市镇巴县/A Zhenba county, Hanzhong, Shaanxi Province/A	2015/08/19	108°01.67'E/ 32°31.54'N	785	30/10
	nz	陕西省汉中市南郑县/A Nanzheng county, Hanzhong, Shaanxi Province/A	2015/08/24	106°95.91'E/ 33°08.26'N	523	30/10
	zy	陕西省安康市紫阳县/A Ziyang county, Ankang, Shaanxi Province/A	2015/09/11	108°44.64'E/ 32°39.86'N	892	30/10
	zp	陕西省安康市镇坪县/A Zhenping county, Ankang, Shaanxi Province/A	2015/9/13	109°48.51'E/ 31°84.96'N	932	30/10
	pl	陕西省安康市平利县/A Pingli county, Ankang, Shaanxi Province/A	2015/09/15	109°32.06'E/ 32°02.86'N	1 787	30/10

不同采样地的中华蜜蜂的饲养方式分别用 A (传统养殖方式技术), B (活框养殖饲养技术) 表示。

The feeding model of different populations are expressed by A (tradition farming method) and B (movable honeycomb).

理分布, 将 17 个采样地分为秦岭北坡种群 (hy、lt、bj、tb、ca)、秦岭南坡种群 (fx、lb、ns、sy、ly、df)、巴山种群 (nq、nz、zy、zb、zp、pl)。将不同采样地经过标准化处理所得形态学数据导入 Morpho J (Klingenberg, 2011) 软件, 经

Procustes 分析, 生成协方差矩阵, 在此基础上进行主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA), 选取前三个主成分做散点图展示不同种群的差异, 同时使用 Morpho J 软件做薄板样条分析 (Thin-plate spline, TPS) 将标质点的差异以

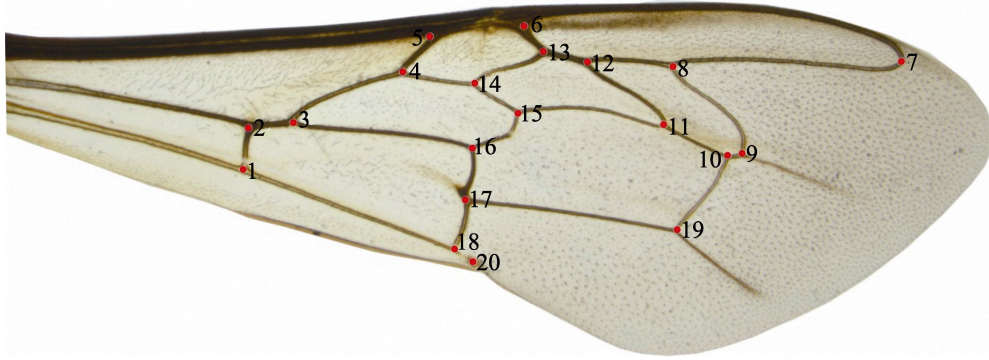


图2 中华蜜蜂前翅的20个标志点分布

Fig. 2 Locations of the 20 landmarks on the forewing of honeybee workers considered in the geometric morphometric analysis

可视化的形式展现出来。翅脉描述参考吴燕如(2000)。将PCA分析后的前5个PCA得分导入Mesquite软件中,运用聚类分析功能通过平均距离法建立矩阵,由非加权平均法(Unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)聚类。在PCA分析的基础上我们对各个样地的形态学差异进行统计学检验,应用典型变量分析方法(Canonical variate analysis, CVA)并将结果用马氏距离(Mahalanobis distance)和普氏距离(Procrustes distance)展现出来。

1.3.3 翅形变化与地理距离关系分析 本实验选择处于秦岭北坡的hy、lt、bj、tb、ca种群以及南坡的fx、lb、ns、sy、ly、df种群分别分析翅形态变化与地理距离之间的关系。所选北坡以及南坡种群内部具有类似的气候环境并且不存在因高山造成的地理隔离。种群间的地理距离通过Arcgis软件计算得到,将所选样地经标准化处理的形态数据导入Morpho J软件中,计算不同采样地种群间的普氏距离(普氏距离代表种群间的平均形态之间的差异程度),用于检验各组间的形态差异。将所得形态距离与地理距离数据导入SPSS软件中进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 翅大小变化分析

单因素方差分析结果表明17个样地的前翅中心值之间存在显著性差异($F_{(19,968)}=0.000 < 0.001$)。基于LSD方法的多重检验结果显示lt、

tb(具最大CS)与其他各组之间存在极显著性差异($P=0.000 < 0.001$),ly、nq、nz(具较小CS)同样与其他样地间存在极显著性差异($P=0.000 < 0.001$)。不同采样地翅大小CS值变化范围如图3(A)所示。逐步回归分析方法显示各样地平均CS值与经度、纬度以及海拔间存在显著相关性(表2),不同采样地翅大小的CS平均值随着经度(图3:B),纬度(图3:C),以及海拔(图3:D)值的增大而增大。

2.2 翅形态变化分析

三大地理区域17个采样地的平均形态主成分分析结果(图4)。前翅主成分分析共获得17个主成分,其中前三个主成分占总变异量的60.195%(第一主成分PC1为26.016%,第二主成分PC2为20.683%,第三主成分PC3为13.495%)(图4c)。从PC1/PC2以及PC1/PC3散点图结果可以看出,处于秦岭北坡的种群(bj、lt、hy、ca、tb)主要集中在PC1的负半轴,处于秦岭南坡的种群(ly、fx、lb、df、ns、sy)主要集中在PC1的正半轴,处于巴山地区的种群(zy、nz、zb、zp、nq)在正负半轴均有分布;在PC2以及PC3正负方向上,三大地理区域的不同采样地均有分布(图4:A,B)。从薄板样条分析结果可以看出,在PC1方向上,处于PC1正半轴方向上的种群表现为具有较宽的翅型,同时处于翅中部的肘脉出现加长,表现为标志点4,5间距离加大,同时前缘脉标志点16,17向后延伸,而处于PC1负半轴的种群表现出相反的

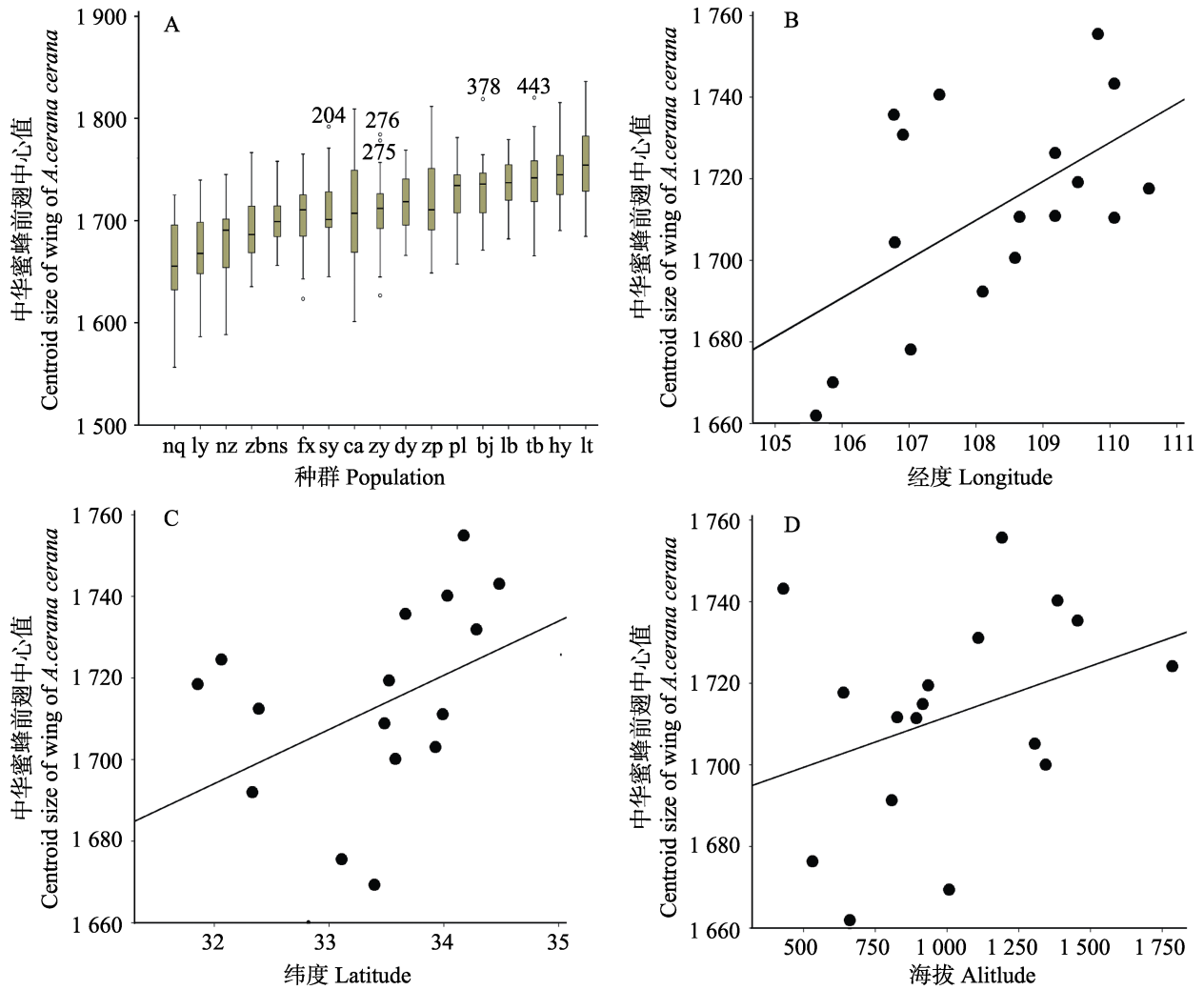


图 3 实验中所选 17 个样地翅大小变异图
Fig. 3 Patterns of geographical variation in wing size

A. 不同采样地前翅 CS 大小变化箱图；B. CS 平均值与经度关系图；
C. CS 平均值与纬度关系图；D. CS 平均值与海拔关系图。图中种群代码见表 1。下图同。

A. Boxplot of centroid size (CS) of *A. cerana* in wing size across geographical populations;
B. Relationship between centroid size (mean) and longitude; C. Relationship between centroid size (mean) and latitude;
D. Relationship between centroid size (mean) and altitude. The population code is the same as table 1. The same below.

表 2 17 个采样地的翅大小与地理信息回归分析结果

Table 2 The results of the stepwise liner regression analysis of wing size and geographic information

	系数 Coefficient	t-检验 t-test	P 值 P-value
常量 Intercept	298.695	0.907	0.381
经度 Longitude	9.269	3.541	0.004
海拔 Altitude	0.038	3.404	0.005
纬度 Latitude	11.105	2.260	0.042

前翅大小变异模型： $R^2=0.668$ ； $F=8.725$ ；自由度=3； P 值=0.002。

Dependent with forewing size, model: $R^2=0.668$; $F=8.725$; $df=3$, $P=0.002$.

趋势；在 PC2 方向上，翅的变化主要体现在标志点 1、2，即连接肘脉与臀脉的横脉在前后位置上的差异，从而导致处于负半轴的翅具有较狭长的第一肘室，而处于正半轴的翅具有较为短小的第一肘室。PC3 方向上变异位点较多，整体变异效果是处于 PC3 负半轴的种群较处于正半轴的种群具有较宽的翅型，但整体差异不大(图 5)。从聚类结果可以看出南坡主要采样地种群与巴山地区采样地种群聚在一起，北坡采样地中仅 ca 种群与南坡采样地的种群聚在一起(图 4 :A)。

基于马氏距离结果显示，秦岭北坡与南坡以

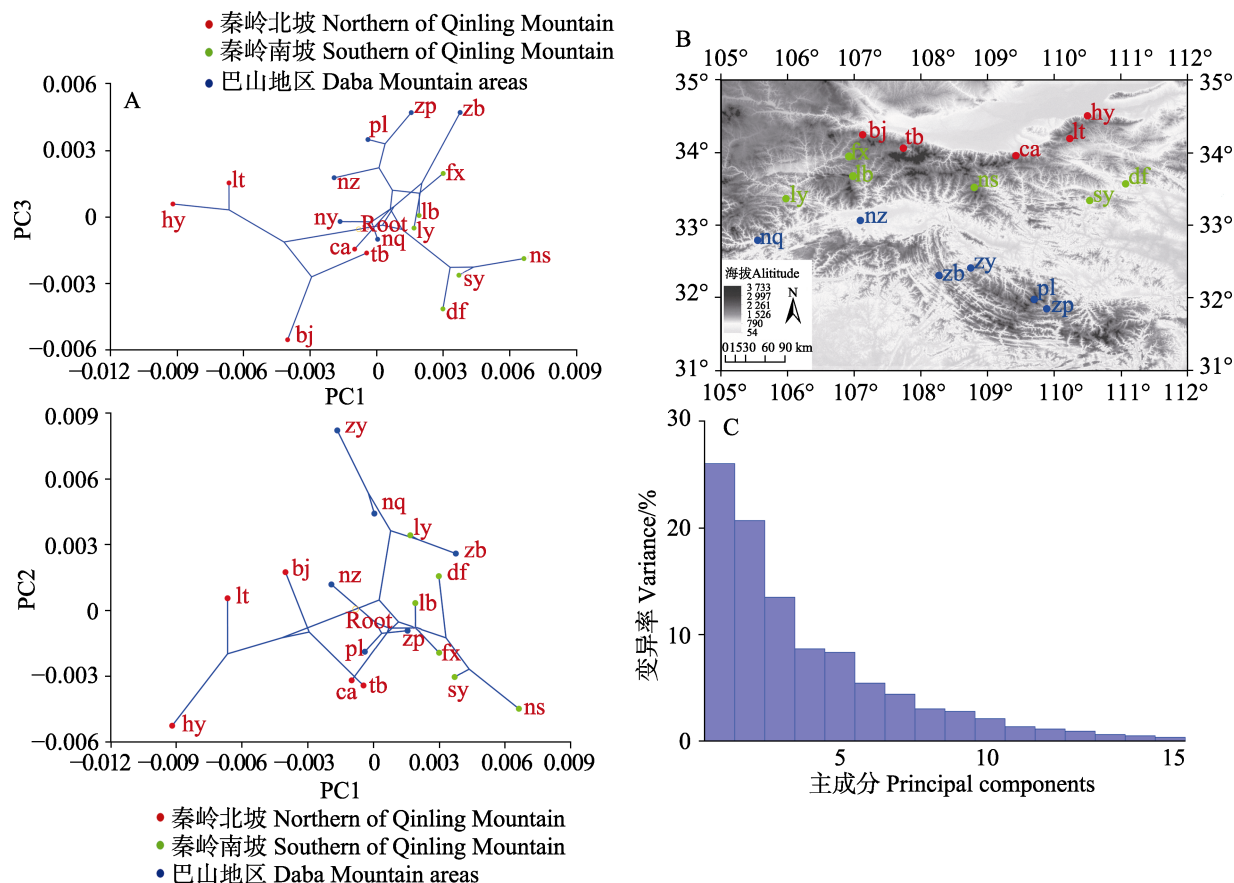


图 4 中华蜜蜂前翅形态变异主成分分析结果

Fig. 4 The PCA results of wing shape of *Apis cerana cerana*

A. 基于 UPGAM 方法的聚类结果投影在前翅 PCA 分析结果中, 并用不同颜色的圆圈展示不同地理区域种群; B. 17 个采样地的地理分布图; C. 各个主成分所占变异量。

A. The clustering results based on the UPGAM method are projected in the results of the forewing PCA analysis and the different geographical areas are displayed with different color circles; B. The distributed of 17 geographical populations in this study; C. The variance explained by each PC.

及秦岭北坡与巴山地区的马氏距离分别为 3.512 和 3.813, 均大于南坡与巴山之间的马氏距离 2.385, 即秦岭北坡与巴山之间的马氏距离为三者之间的最大距离, 这也与地理距离的大小相符合。在差异显著性检验方面, 北坡与巴山之间差异极显著 ($P=0.0006 < 0.001$), 北坡与南坡差异显著 ($P=0.0033 < 0.01$), 而南坡和巴山地区差异不显著 ($P=0.080 > 0.05$)。

基于普氏距离, 秦岭北坡与南坡以及秦岭北坡与巴山地区的马氏距离分别为 0.0078 和 0.0074, 均大于秦岭南坡种群和巴山中群间的普氏距离 0.0057。在显著性检验方面, 秦岭北坡种群与秦岭南坡种群间以及秦岭北坡与巴山种群间的 P

值分别为 0.001 和 0.002, 均存在极显著性差异; 而秦岭南坡种群与巴山种群间 P 值为 0.024 小于 0.05 存在显著性差异。

2.3 翅形态差异与地理距离关系

在本研究中选择处于秦岭北坡的 5 个种群的地理距离与普氏距离的相关性检测结果显示二者存在明显的正相关 ($P=0.008 < 0.01$; $r=0.781^{**}$)。处于南坡的 6 个种群间地理距离与普氏距离相关性检测结果显示二者不存在明显的相关性 ($P=0.102 > 0.05$; $r=0.438$)。以地理距离为自变量, 普氏距离为因变量做散点图 (图 6)。

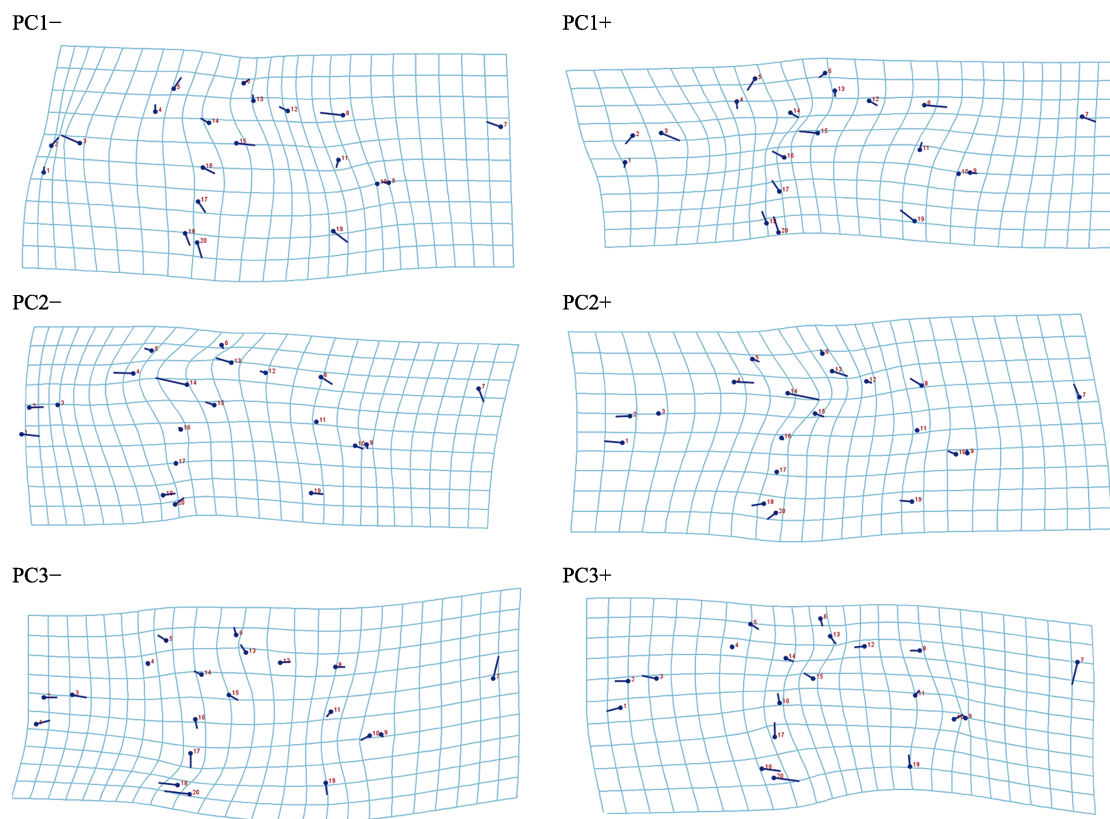


图5 中华蜜蜂前翅形态变异薄板样条分析结果

Fig. 5 The TPS results of wing shape of *Apis cerana cerana*

前翅扭曲变形图，分别表示前三个主成分在各自的极端状态下的翅型结构。

Thin plate spline analysis results are shown by deformation grids, which represents the deformations in wing shape in extreme conditions for each PC.

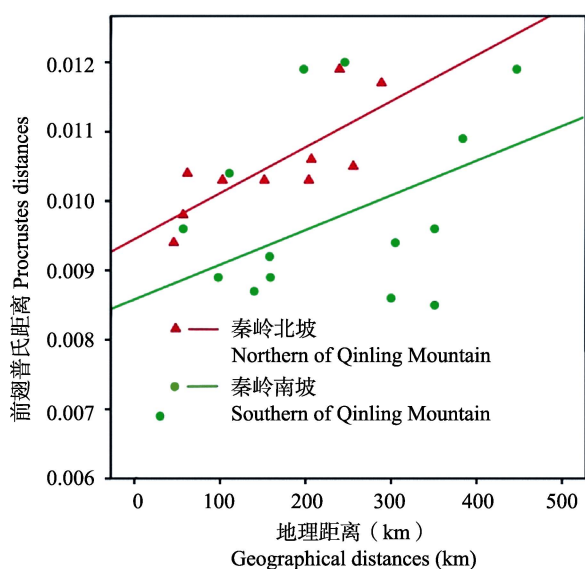


图6 地理距离与普氏距离相关性分析结果

Fig. 6 Relationship between the geographical distances and the Procrustes distances

3 讨论

翅大小 (CS 值) 与地理信息的分析结果显示, 翅大小随着纬度、海拔的升高而变大的结果与龚一飞 (1980), 谭垦 (2003) 及谭垦和祁文忠 (2004) 对中华蜜蜂的体型以及翅大小的研究结果一致。温度、食物、地形等因素均会影响到昆虫翅的大小 (Vargas *et al.*, 2010), 如在较高的温度下昆虫倾向于发育成较小的体型 (Atkinson, 1994), 而体型大小的变化一定程度上反映出翅大小的变化 (Bai *et al.*, 2016)。目前对局部区域内中华蜜蜂形态大小变化的研究发现, 中华蜜蜂适应所处环境在形态特征上会发生相应改变, 而诱导产生这种变化的原因有海拔、温度、地理距离、蜜源植物丰富度以及人为

活动等(谭垦, 2003; 王桂芝, 2008; 吉挺, 2009; 朱翔杰等, 2011)。同时翅大小的增大表明工蜂的飞翔能力的增强, 从而对零散蜜源的采集和寻找能力加强, 对恶劣环境的适应性增强(Cheng, 1993)。因此高纬度高海拔地区前翅面积的增大与适应当地环境的自然环境密切相关。

形态标记由于受遗传因素和环境因素的共同影响表现出较大的变异(McMullan and Brown, 2006)。基于 PCA 分析方法以及 CVA 分析方法对翅形态变异的研究结果均显示, 北坡与南坡间的翅形态分化较相似地理距离下的秦岭南坡与巴山地区间翅形态分化更加明显, 出现一定程度的分化。目前对于中华蜜蜂遗传分化的研究中, 地理距离、生境碎片化、生态隔离、岛屿隔离等因素被认为会引起中华蜜蜂种群的分化(朱翔杰, 2009; 徐新建, 2010)。中华蜜蜂在秦巴山区存在较大规模的野生和家养种群且呈连续分布状态, 郭慧萍等(2016)的研究结果认为在连续分布区域内仅地理距离因素导致中华蜜蜂种群遗传分化的可能性很小。Zhu 等(2017)对四川省内的中华蜜蜂研究结果表明海拔超过 3 300 m 可能会造成中华蜜蜂的基因流障碍而造成种群的分化, 而秦岭地区主要分水岭海拔很少超过 2 000 m, 因此秦岭山脉不会成为南北坡中华蜜蜂种群交流的障碍。同时南北坡在温度以及蜜源植物开花时间上的差异, 可能造成蜜蜂在分蜂时间上的不同步从而形成一定的生态隔离(Hepburn, 2001; 黎九州, 2010), 但这种隔离也会因中华蜜蜂频繁的交流 and 特殊的婚飞行为而打破, 故可能的生态隔离机制在该区域并不能形成稳定的基因流障碍。因此在不存在稳定的基因流障碍的前提下, 我们认为南北坡翅形态结构上的分化与地理环境有着密切的关系。基于薄板样条分析结果显示在 PC1 方向上处于负半轴的秦岭北坡的 5 个采样地种群较秦岭南坡和巴山采样地的种群具有更宽的翅型, 同时在中部受力区存在部分翅脉的延长, 说明其飞行能力得到了加强。在对中华蜜蜂翅脉的发育研究中发现, 在较低温度下前翅肘脉和前闰脉的节点增多, 从而表现出延长趋势(周冰峰等, 2007)。

因此南北坡温度上的差异可能是导致翅形态变化的重要原因。同时秦岭特有的北陡南缓的地形结构, 使得北坡垂直差异变化更大, 对中华蜜蜂飞行能力和飞行稳定性的要求更高, 而较宽的翅型有助于增强其飞行的稳定性和采蜜能力。

对于广布种而言, 地理距离是种群分化的关键因素之一。一般认为相隔越远地理距离的种群之间进行基因交流的机会就越小, 从而造成种群间形态上的差异(Kingsolver *et al*, 2007)。地理距离与普氏距离分析结果显示, 随着地理距离的增大, 秦岭南北坡不同采样点的翅形差异也逐渐变大, 且北坡不同样地的形态差异较南坡更大。这可能与秦岭南坡较北坡有更好的生态环境以及较大规模的野生种群存在, 使得种群交流较北坡更加频繁, 从而减弱了表型的分化有关。

参考文献 (References)

- Atkinson D, 1994. Temperature and organism size—a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, 25: 1–58.
- Aytekin AM, Terzo M, Rasmont P, Çagatay N, 2007. Landmark based geometric morphometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille). *Ann. Soc. Entomol. Fr.*, 43(1): 95–102.
- Bai M, Jarvis K, Wang SY, Song KQ, Wang YP, Wang ZL, Li WZ, Wang W, Yang XK, 2010. A second new species of ice crawlers from China (Insecta: Grylloblattodea), with thorax evolution and the prediction of potential distribution. *PLoS ONE*, 5(9): e12850.
- Bai Y, Dong JJ, Guan DL, Xie JY, Xu SQ, 2016. Geographic variation in wing size and shape of the grasshopper *Trilophidi aannulata* (Orthoptera: Oedipodidae): morphological trait variations follow an ecogeographical rule. *Scientific Reports*, 6: 32680.
- Bai Y, Ma LB, Xu SQ, Wang GH, 2015. A geometric morphometric study of the wing shapes of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) from the Qinling Mountains and adjacent regions: An environmental and distance-based consideration. *Florida Entomologist*, 98(1): 162–169.
- Cheng YC, 1993. Apiculture in China. Beijing: China Agricultural Publication. 10–25.
- Francoy TM, Wittmann D, Drauschke M, Müller S, Steinhage V, Bezerra-Laure MAF, De Jong D, Gonçalves SL, 2008. Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39: 488–494.

- Guo HP, Zhou SJ, Zhu XJ, Xu XJ, Yu YL, Yang KJ, Chen DY, Zhou BF, 2016. Population genetic analysis of *Apis cerana cerana* from the Qinling-Daba Mountain Areas based on microsatellite DNA. *Acta Entomologica Sinica*, 59(3): 337–345. [郭慧萍, 周妹婧, 朱翔杰, 徐新建, 于瀛龙, 杨凯杰, 陈道印, 周冰峰, 2016. 秦巴山区中华蜜蜂种群微卫星 DNA 遗传分析. 昆虫学报, 59(3): 337–345.]
- Guo XJ, 2005. Biogeography of Apidae in Qinling Mountain. Master dissertation. Shaanxi: Shaanxi Normal University. [郭新军, 2005. 秦岭地区蜜蜂科昆虫生物地理学研究. 硕士学位论文. 陕西: 陕西师范大学.]
- Higes M, Garcia-Palencia P, Martin-Hernandez R, Meana A, 2007. Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Invertebr. Pathol.*, 94(3): 211–217.
- Hepburn HR, Radloff SE, Verma S, Verma LR, 2001. Morphometric population of *Apis cerana* populations in the southern Himalayan region. *Apidologie*, 32: 435–448.
- İrfan K, Ayça Ö, Stefan F, 2011. Reevaluation of honeybee (*Apis mellifera*) microtaxonomy: a geometric morphometric approach. *INRA, DIB-AGIB and Springer Science+Business Media BV.*, 42: 618–627.
- Ji T, 2009. Research of genetic diversity among *Apis cerana* in China. Doctoral dissertation. Jiangsu: Yangzhou University. [吉挺, 2009. 中国东方蜜蜂资源遗传多样性分析. 博士学位论文. 江苏: 扬州大学.]
- Klingenberg CP, 2011. MorphoJ: An integrated software package for geometric morphometrics. *Mol. Ecol. Resour.*, 11: 353–357.
- Luo LJ, Tan K, 2008. A study of morphology of Sichuan *A. cerana*. *Journal of Bee*, (9): 3–4. [罗凌娟, 谭垦, 2008. 四川省东方蜜蜂的形态学研究. 蜜蜂杂志, (9): 3–4.]
- Li JZ, 2010. Investigation on nectar plants in Shaanxi Province. *Journal of Bee*, (9): 39–42. [黎九州, 2010. 陕西省蜜源植物调查. 蜜蜂杂志, (9): 39–42.]
- Mendes MFM, Franco TM, Nunes-Silva P, Menezes C, Imperatriz-Fonseca VL, 2007. Intra-population variability of *Nannotrigona testaceicornes* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) using relative wasps analysis. *Bioscience*, 23: 147–152.
- McMullan JB, Brown MJF, 2006. The influence of small-cell brood combs on the morphometry of honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 37: 665–672.
- Pretorius E, 2005. Using geometric morphometrics to investigate wing dimorphism in males and females of Hymenoptera a case study based on the genus *Tachysphex* Kohl (Hymenoptera: Sphecidae: Larrinae). *Australian Journal of Entomology*, 44: 113–121.
- Rohlf FJ, 2006. Tps-Dig, Digitize Landmarks and Outlines, Version 2.05. Department of Ecology and Evolution. New York: State University of New York at Stony Brook.
- Rattanawanee A, Chanchao C, Wongsiri S, 2007. Morphometric and genetic variation of small dwarf honeybees *Apis andreniformis* Smith, 1858 in Thailand. *Insect Science*, 14(6): 451–460.
- Rattanawanee A, Chanchao C, Wongsiri S, 2012. Geometric morphometric analysis of giant honeybee (*Apis dorsata* Fabricius, 1793) populations in Thailand. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 15(4): 611–618.
- Ruttnre F, 1988. Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Heidelberg (Berlin): Springer-Verlag. 288.
- Rohlf FJ, Slice DE, 1990. Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmark. *Systematic Zoology*, 39: 30–59.
- Rohlf FJ, 2010. tps-UTIL, File Utility Program, Version 1. 46. Department of Ecology and Evolution. New York: State University of New York at Stony Brook.
- Tan K, Zhang X, He SY, Zhou DY, 2003. Morphometric and biogeography of Yunnan *A. cerana*. *Apiculture of China*, 54(3): 4–6. [谭垦, 张炫, 和绍禹, 周丹银, 2003. 云南东方蜜蜂的形态特征数值分类研究. 中国养蜂, 54(3): 4–6.]
- Tan K, Qi WZ, 2004. Morphometric study of *Apis cerana* in Gansu. *Journal of Bee*, (3): 6–7. [谭垦, 祁文忠, 2004. 甘肃东方蜜蜂的形态特征研究. 蜜蜂杂志, (3): 6–7.]
- Tofilski A, 2008. Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. *Apidologie*, 39: 558–563.
- Vargas REM, Ya-umphan P, Phumala-Morales N, 2010. Climate associated size and shape changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Thailand. *Infection, Genetics and Evolution*, 10(4): 580–585.
- Wan GZ, 2008. Research on diversity and classification of *Apis cerana* from North-China. Doctoral dissertation. Shandong: Shandong Agricultural University. [王桂芝, 2008. 中国华北地区东方蜜蜂多样性及其分类研究. 博士学位论文. 山东: 山东农业大学.]
- Wu YR, 2000. Fauna Sinica, Insecta, vol. 20, Melittidae Apidae. Beijing: Science Press. 17. [吴燕如, 2000. 中国动物志, 昆虫纲, 第二十卷, 准蜂科, 蜜蜂科. 北京: 科学出版社. 17.]
- Xu GW, Zhou DY, Liu YQ, Chen CF, Yu ZY, Zhao WZ, Wang SH, Li ZN, He SY, 2014. Genetic diversity of *Apis cerana* in Sichuan

- province based on mitochondrial dna sequence CO I-CO II. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 29(1): 63-70. [徐国威, 周丹银, 刘意秋, 成纯富, 于增源, 赵文正, 王顺海, 李念周, 和绍禹, 2014. 基于线粒体 DNA (mtDNA) CO I - CO II 分析四川省东方蜜蜂遗传多样性. 云南农业大学学报, 29(1): 63-70.]
- Xu XJ, 2010. Population genetics of *Apis cerana cerana* in northwest China. Master dissertation. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University. [徐新建, 2010. 陕甘宁中华蜜蜂种群遗传分析. 硕士学位论文. 福建: 福建农林大学.]
- Yang GH, 1984. Resource investigation of honeybee in China. *Apiculture of China*, (3): 4-7. [杨冠煌, 1984. 中华蜜蜂资源调查. 中国养蜂, (3): 4-7.]
- Yang GH, 2001. *Apis cerana cerana*. Beijing: Chinese Agricultural Science and Technology Press. 1-15. [杨冠煌, 2001. 中华蜜蜂. 北京: 中国农业科技出版社. 1-15.]
- Yin L, Ji T, Li GH, Niu DF, 2015. Genetic differentiation of *Apis cerana* from Yunnan, China based on mtDNA COII sequences. *Journal of Southern Agriculture*, 46(8): 1500-1504. [殷玲, 吉挺, 李冠华, 牛德芳, 2015. 基于 COII 序列的云南东方蜜蜂遗传分化研究. 南方农业学报, 46(8): 1500-1504.]
- Zhou BF, Li Y, Zhu XJ, Chen WF, Zhou Y, Zhang X, Chen YH, 2007. The effect of temperature during sealed brood period on the vein of the honeybee forewing. *Apiculture of China*, 58(5): 5-8. [周冰峰, 李月, 朱翔杰, 陈文锋, 周宇, 张星, 陈焰煌, 2007. 封盖期发育温度对蜜蜂前翅翅脉增加的影响. 中国蜂业, 58(5): 5-8.]
- Zhou SJ, Zhu XJ, Xu XJ, Wu XD, Zhou BF, 2016. Genetic variation genetic of *Apis cerana* form Fujian Province based on mitochondrial DNA sequence analysis. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 45(3): 311-315. [周姝婧, 朱翔杰, 徐新建, 吴显达, 周冰峰, 2016. 福建东方蜜蜂线粒体 DNA 的遗传变异和遗传多样性. 福建农林大学学报(自然科学版), 45(3): 311-315.]
- Zhu XJ, 2009. Study on population genetics of *Apis cerana cerana* in Fujian province and adjacent regions. Doctoral dissertation. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University. [朱翔杰, 2009. 福建及临近地区中华蜜蜂种群遗传分析. 博士学位论文. 福建: 福建农林大学.]
- Zhu XJ, Zhou BF, Xu XJ, Zheng XJ, Wang Q, Yu YL, Ju Q, 2011. Morphometric analysis of populations of the Chinese honeybee, *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae), in Fujian, Southeast China. *Acta Entomologica Sinica*, 54(5): 566-574. [朱翔杰, 周冰峰, 徐新建, 郑秀娟, 王青, 于瀛龙, 巨騫, 2011. 福建中华蜜蜂种群形态数值分析. 昆虫学报, 54(5): 566-574.]
- Zhu XJ, Zhou SJ, Xu XJ, Wang JW, Yu YL, Yang KC, Luo Q, Xu YY, Wang SH, Zhou BF, 2017. Morphological differentiation in Asian honey bee (*Apis cerana*) populations in the basin and highlands of southwestern China. *Journal of Apicultural Research*, 56(3): 203-209.