

基因组分析揭示陕西中华蜜蜂遗传多样性*

刘 强^{1**} 姜 衍² 郭 伟³ 孙金博³ 拜维波³ 卜 莉^{3***} 张小燕^{2***}

(1. 陕西省延安市动物疫病预防控制中心, 延安 716000; 2. 重庆师范大学生命科学学院, 重庆 401331;

3. 陕西省延安市养蜂试验站, 延安 716000)

摘 要 【目的】基于全基因组重测序对陕西及其邻近地区不同地理区位下的中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 群体的遗传多样性进行研究, 为陕西中华蜜蜂遗传资源的保护和利用提供参考。【方法】对采自陕西西部的 49 个中华蜜蜂群体样本进行全基因组重测序, 结合此前的研究与 GenBank 公开数据, 运用 PCA 主成分分析、ADMIXTURE 群体遗传结构分析、系统发育分析、遗传变异分析等群体遗传学方法进行分析。

【结果】群体遗传结构与 PCA 主成分分析表明, 陕西北部高原群体与陕西中部平原、西部平原、西部山地和南部山地群体具有明显的遗传分化; 且西部平原与山地群体之间也存在遗传差异。遗传变异分析表明, 陕西北部高原群体与陕西其他群体之间的 F_{st} 平均值为 0.050 9, 高于陕西其他地理区位群体之间的 F_{st} 平均值 0.029 6, 并且与西部山地群体具有最小的 F_{st} 值 0.039 7, 同时, 在邻近地区中, 与太行吕梁群体具有最小的 F_{st} 值 0.044 3; 此外, 陕西西部平原群体与神农架林区群体具有最小的 F_{st} 值 0.022 1; 与其他群体相比, 陕西西部平原、山地两个群体内部具有相对较高的核酸多态性, 分别为 0.001 430 62 和 0.001 483 04, 表明它们群体内部相对较高的遗传多样性。系统进化树表明, 陕西西部山地群体、陕西北部高原群体与太行吕梁群体具有较近的遗传关系; 陕西西部平原群体与神农架林区群体具有较近的遗传关系。【结论】陕西中华蜜蜂不同地理区位之间具有丰富的遗传多样性, 且陕西北部高原群体与陕西其他地理区位群体间具有明显的遗传分化; 同时根据分析结果推测了陕西中华蜜蜂可能的历史传播路线, 分为独立的南、北两条路线。本研究首次从全基因组重测序角度揭示了陕西中华蜜蜂遗传多样性, 探明了不同地理区位下的遗传关系, 为陕西中华蜜蜂种质资源的保护与利用提供了有力参考。

关键词 中华蜜蜂; 全基因组重测序; 陕西; 遗传多样性

Genomic analysis reveals genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Shaanxi

LIU Qiang^{1**} JIANG Yan² GUO Wei³ SUN Jin-Bo³ BAI Chu-Bo³
BU Li^{3***} ZHANG Xiao-Yan^{2***}

(1. Animal Disease Prevention and Control Center of Yan'an, Yan'an 716000, China; 2. College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China; 3. Yan'an Beekeeping Experiment Station, Yan'an 716000, China)

Abstract 【Aim】To investigate the genetic diversity of *Apis cerana cerana* populations across different geographical locations in Shaanxi and its adjacent areas, and to provide a reference for the conservation and utilization of *A. cerana cerana* genetic resources in Shaanxi. 【Methods】Whole-genome resequencing was carried out on 49 *A. cerana cerana* populations collected from western Shaanxi. The raw data was analyzed using PCA principal component analysis, ADMIXTURE population genetic structure analysis, phylogenetic analysis, and genetic variation analysis in combination with previous studies and GenBank public data. 【Results】Population genetic structure and PCA principal component analysis showed distinct genetic differentiation between the northern plateau population of Shaanxi and the central plain, western plain, western

*资助项目 Supported projects: 重庆市自然科学基金项目 (No.cstc2021jcyj-msxmX0425); 重庆荣昌农牧高新技术产业研发专项 (cstc2020ngzx0012); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (No.CARS-44-KXJ20, No.CARS-44-SYZ 15)

**第一作者 First author, E-mail: 929416219@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: 1115779629@qq.com; xyzhang18@163.com

收稿日期 Received: 2023-03-16; 接受日期 Accepted: 2023-12-23

mountainous, and southern mountainous populations of Shaanxi. Genetic differences were also observed between WShxiPn and WShxiMt. Genetic variation analysis showed that the average F_{st} value between the NShxiPl and other populations in Shaanxi was 0.050 9. This value was higher than the average F_{st} value of 0.029 61 between populations in other geographical locations within Shaanxi. WShxiMt had a low F_{st} value of 0.039 7. In the adjacent areas, TailvMt also had a low F_{st} value of 0.044 3 similarly, a low F_{st} value of 0.022 1 was observed for WshxiPn and ShenFr. Compared with other populations, WShxiPn and WShxiMt had relatively high nucleic acid polymorphisms of 0.001 430 62 and 0.001 483 04, respectively. This indicates a relatively high level of genetic diversity within their populations. Phylogenetic tree analysis showed that WShxiMt, NShxiPl, and TailvMt shared a close genetic relationship, whereas WShxiPn was found to be closely related to ShenFr.

[Conclusion] A high level of genetic diversity was exhibited among the different geographical regions of Chinese bees in Shaanxi. There was pronounced genetic differentiation between populations in the northern plateau of Shaanxi and populations in other geographical regions of Shaanxi. Our analysis revealed two possible independent historical transmission routes for *A. cerana cerana* in Shaanxi. One route appeared to be in north Shaanxi, and the second in south Shaanxi. This study is the first of its kind to demonstrate the genetic diversity of *A. cerana* from the perspective of whole-genome resequencing. Additionally, we revealed the genetic relationship between different geographical locations. This study contributes valuable genetic information for the protection and utilization of germplasm resources of *A. cerana* in Shaanxi.

Key words *Apis cerana cerana*; whole genome resequencing; Shaanxi; genetic diversity

中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 属于膜翅目 Hymenoptera 蜜蜂总科 Apoidea 蜜蜂属 *Apis*, 是东方蜜蜂的一个亚种, 是我国境内的特有种 (陈盛禄等, 2001), 在我国境内广泛分布。中华蜜蜂是重要的经济昆虫与传粉昆虫 (曾志将, 2007), 因其在我国特殊的资源地位, 一直是遗传多样性与环境适应性的研究重点。

陕西位于北纬 31°42'-39°35', 南北跨度较大, 其境内有较丰富的地理类型与气候类型 (刘胤汉, 1980), 为物种的遗传与进化提供了坚实的基础。此前, 对陕西中华蜜蜂遗传多样性的研究大多是通过形态学、线粒体 DNA、微卫星分级标记技术等 (徐新建等, 2013; 郑秀娟, 2013)。王俊杰等 (2018) 对陕西秦巴山区中华蜜蜂微卫星和线粒体 DNA 进行分析, 显示陕西秦巴山区中华蜜蜂具有较高的遗传多样性水平; 刘强等 (2021) 研究也证实气候因素与陕西中华蜜蜂的特定形态指标的表型可塑性存在着密切的关联。

群体基因组学研究中中华蜜蜂物种的遗传分布与动态变化, 相较于形态学与单一的分子标记技术, 具有更全面、更精确等优势, 是当前研究我国中华蜜蜂种质资源重要手段之一, 对中华蜜蜂种质资源的保护与利用具有重要的促进作用 (Chen *et al.*, 2018; Ji *et al.*, 2020; Shi *et al.*,

2020)。本研究采集了陕西西部平原总计 49 群中华蜜蜂样本进行全基因组重测序, 并结合此前的研究与公开数据, 通过群体基因组学的方法来研究陕西中华蜜蜂的遗传多样性及其与地理区位因素之间的动态关系, 以期为陕西中华蜜蜂种质资源多样性的研究以及对其保护与利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试样本

从陕西陇县野外采集得到 49 群中华蜜蜂, 保存至 75%酒精中。每群随机抽取 1 只工蜂, 取头、胸部组织提取总 DNA, 4 °C 保存待测序。从 GenBank 上下载得到陕西西安、榆林、安康, 甘肃岷县, 四川九寨沟的中华蜜蜂基因组数据, 并结合此前测序得到的山西吕梁、湖北神农架林区、四川马尔康的原始数据。群体样本数量总计 130 群, 根据采集地点的地理位置分为 WShxiPn、WShxiMt、CShxiPn、NShxiPl、SShxiMt、Minx、Jiuzg、TailvMt、ShenFr、WSichPl 等 10 个种群, 其中 WShxiPn、WShxiMt、CShxiPn、NShxiPl、SShxiMt 为陕西内部种群, Minx、Jiuzg、TailvMt、ShenFr、WSichPl 为邻近地区 (表 1)。

表 1 样本数量与地理分布
Table 1 Sample size and geographical distribution

种群 Populations	样本数量 Number of individuals	地理位置 Geography location	区域 Area
WShxiPn	26	陕西陇县 Longxian, Shaanxi	西部平原 Western plain
WShxiMt	23	陕西陇县 Longxian, Shaanxi	西部山地 Western mountains
CShxiPn	10	陕西西安 Xi'an, Shaanxi	中部平原 Central plain
NShxiPl	10	陕西榆林 Yulin, Shaanxi	北部高原 Northern plateau
SShxiMt	10	陕西安康 Ankang, Shaanxi	南部山地 Southern mountains
Minx	10	甘肃岷县 Minxian, Gansu	邻近地区 Adjacent area
Jiuzg	10	四川九寨沟 Jiuzhaigou, Sichuan	邻近地区 Adjacent area
TailvMt	13	山西吕梁 Lvliang, Shanxi	邻近地区 Adjacent area
ShenFr	9	湖北神农架林区 Shennongjia, Hubei	邻近地区 Adjacent area
WSichPl	9	四川马尔康 Barkam, Sichuan	邻近地区 Adjacent area

1.2 全基因组重测序及 SNP calling

委托百迈克生物对 49 群中华蜜蜂进行全基因组重测序,使用的测序平台为 Illumina HiSeq, 测序深度为 30X, reads 长度为 150 bp。使用 FASTX-Toolkit 软件 (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/) 对 $Q<20$ 的低质量序列和含有 5% 以上不可读碱基的原始 reads 进行去除。以高质量的阿坝中华蜜蜂为参考基因组,使用 BWA-MEM (Li, 2013) 将过滤得到的样本 reads 匹配到参考基因组上 (Lan *et al.*, 2021)。使用 SAMtools (Li, 2011) 对比对得到的 BAM 文件进行排序处理。使用 GATK v4.0 (do Valle *et al.*, 2016) 对上一步得到的 BAM 文件去除重复读取并进行 SNP calling。使用 VCFtools (Danecek *et al.*, 2011) 对 SNPs 进行过滤筛选, 过滤参数 (maf=0.05, max missing=0.5), 获得高质量的 SNPs 数据用于后续分析。

1.3 群体遗传与系统发育分析

使用 Admixture (Alexander *et al.*, 2009) 软件, 假设 K 值为 2-9, 基于松弛算法得到群体遗传结构。使用 Eigensoft (Price *et al.*, 2006) 程序进行主成分分析。基于 SNPs 使用 PHYLIP v3.697 (Felsenstein, 1993) 以邻接法构建系统进化树, 设置外群为西方蜜蜂 *Apis mellifera*, 设置 bootstrap 重复检验次数为 1 000, 最后使用 iTOL (<http://itol.embl.de/>) 对系统进化树进行可

视化。

1.4 遗传变异分析

使用 METAPO2 (López - Cortegano *et al.*, 2019) 计算不同种群之间的群体遗传分化指数 (F_{st}), 参数设置为默认参数, 得到数据后使用 pheatmap R 语言包形成热图矩阵 (Kolde and Kolde, 2015)。计算个体之间的共祖系数、近交系数、遗传分化指数。使用 VCFtools (Danecek *et al.*, 2011) 计算不同种群内部的核酸多态性 (π)。

2 结果与分析

2.1 陕西中华蜜蜂群体遗传分化情况

基于 130 群中华蜜蜂基因组 SNPs 进行了群体遗传分析。PCA 主成分分析 (图 1: A) 显示, 在主成分 1 与主成分 2 的作用下, 陕西西部平原群体 (WShxiPn)、西部山地群体 (WShxiMt)、陕西中部平原群体 (CShxiPn) 以及陕西南部山地群体 (SShxiMt) 距离较近, 聚集在一起, 而陕西北部高原群体 (NShxiPl) 距离其他陕西群体相对较远。同时发现同样采集自陇县的 WShxiPn 和 WShxiMt 在聚类中存在较明显的分离, 这表明它们之间存在一定的遗传分化。此外, 在邻近地区中, 神农架林区群体 (ShenFr) 距离陕西群体较近, 这表明它们可能与陕西群体具有较近的遗传关系, 这种趋势可能反映了神农架林区群体与陕西群体之间由于存在较少的地

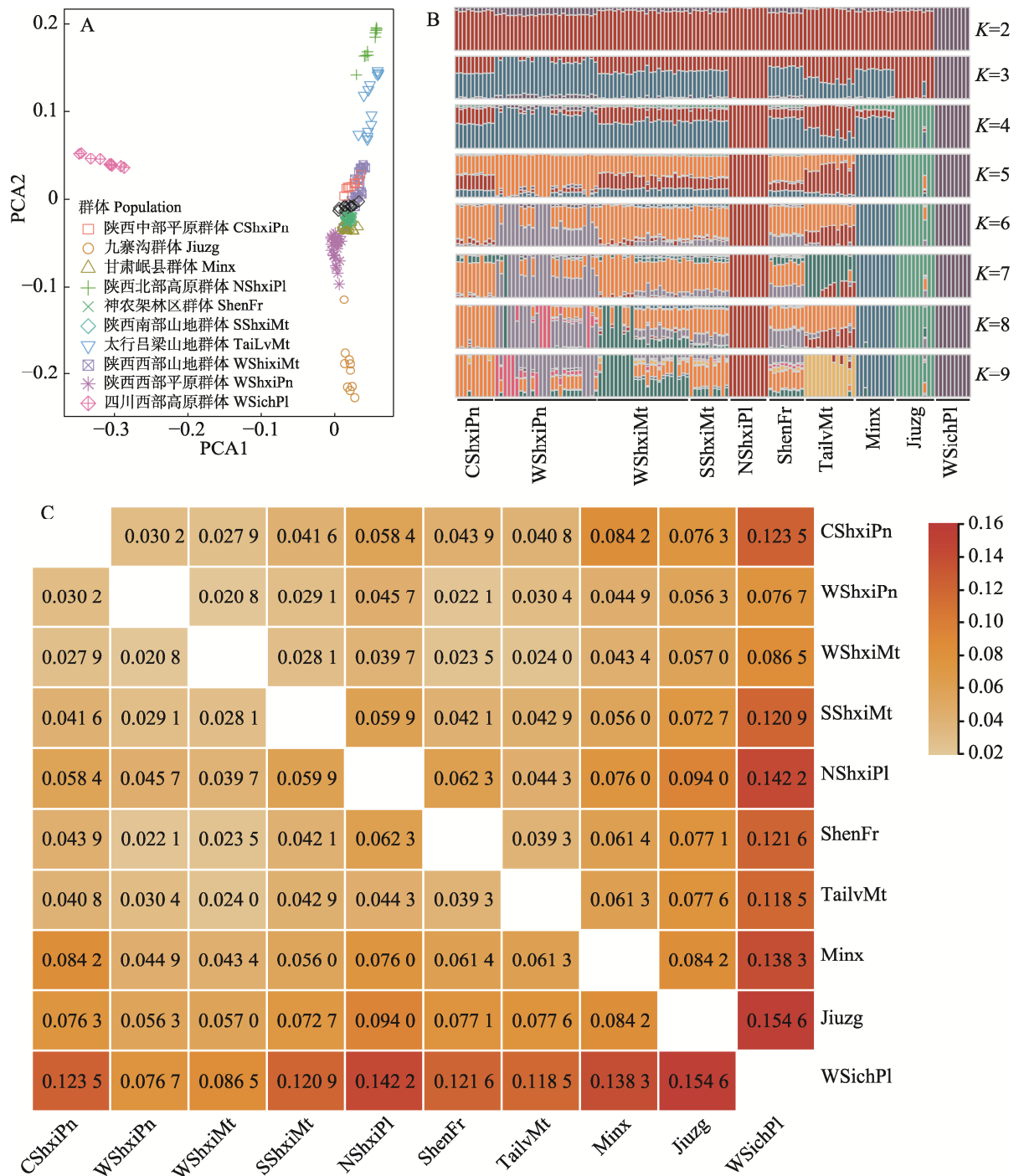


图 1 群体遗传分析

Fig. 1 Population genetic analysis

A. 基于 SNPs 的主成分分析; B. 群体遗传结构随分组组数 (K) 的变化;C. 遗传分化指数 (F_{st})。种群代码同表 1, 下图同。A. Principal component analysis based on SNPs; B. Variation of population genetic structure with the number of subgroups (K); C. Genetic differentiation index (F_{st}). Population codes are the same as in Table 1 and the same below.

理隔离, 导致基因流更频繁, 遗传交换更为普遍。而九寨沟群体 (Jiuzg)、川西高原群体

(WSichPl) 距离所有其他群体都较远, 具有较远的遗传关系。

为了进一步研究陕西及其邻近地区中华蜜蜂的祖先与血缘情况,基于以上 10 个种群的 130 群样本的 SNPs 进行了 Admixture 群体结构分析(图 1: B)。结果显示,在当假设样本中存在 2 个群体($K=2$)时川西高原群体从混合群体中分离,九寨沟群体和岷县群体在 $K=5$ 时分离,陕西北部高原群体在 $K=6$ 时分离,太行吕梁群体在 $K=9$ 时分离。这表明川西高原群体、九寨沟、岷县、陕西北部高原群体、太行吕梁群体与陕西中部、西部及南部各群体之间具有明显的遗传分化;神农架林区群体与陕西中部、西部及南部群体具有共同祖先,表明它们之间存在较近的遗传关系。此外,采集自陇县的西部平原群体与西部山地群体之间的祖先血统构成存在明显差异。总的来说,群体遗传结构的结果与主成分分析结果一致。

陕西及其邻近地区中华蜜蜂的群体遗传分化指数(F_{st})显示(图 1: C),陕西北部高原群体(NShxiPl)与陕西其他群体之间的 F_{st} 平均值为 0.050 9,显著高于陕西中部、西部及南部群

体之间的 F_{st} 平均值 0.0296 1,表明陕西北部高原群体具有较高程度的遗传分化。陕西北部高原群体和其他群体相比与西部山地群体具有最小的 F_{st} 值 0.039 7,同时,在邻近地区中,与太行吕梁群体具有最小的 F_{st} 值 0.044 3,表明它们之间存在较近的遗传关系。陕西西部群体 WShxiMt 与 WShxiPn 与神农架林区群体具有较小的 F_{st} 值(0.023 5、0.022 1)。

为了更清晰地研究各个群体内部的遗传变异,使用 π : 核酸多态性, f_{ii} : 共祖系数, F_i : 近交系数, G_i : 分化系数等统计学指标来衡量遗传变异的关系与水平(表 2)。研究发现,陕西西部群体 WShxiPn 与 WShxiMt 的种群内部具有较高的核酸多态性,分别为 0.001 430 62 和 0.001 483 04,分别高于其他陕西内部群体的平均值 0.001 202 09 达到 19.01%与 23.3%。这表明陕西西部群体内部具有较高的遗传多样性。WShxiPn 与 WShxiMt 的群体内部较低的共祖系数 f_{ii} (0.764 9、0.757 8)与近交系数 F_i (0.803 3、0.786 1)也说明了它们群体内部较高的遗传多样性比例。

表 2 各群体内部的遗传变异
Table 2 Genetic variation index within each population

群体 Population	数量 N Number	核酸多态性 π	共祖系数 f_{ii}	近交系数 F_i	分化系数 G_i
CShxiPn	10	0.001 201 52	0.783 3	0.815 8	0.575 1
WShxiPn	26	0.001 430 62	0.764 9	0.803 3	0.581 6
WShxiMt	23	0.001 483 04	0.757 8	0.786 1	0.558 4
SShxiMt	10	0.001 163 45	0.785 8	0.816 0	0.570 7
ShenFr	9	0.001 375 60	0.779 8	0.811 5	0.572 0
TailvMt	13	0.001 514 17	0.756 7	0.768 7	0.524 7
Minx	10	0.001 057 32	0.797 9	0.842 8	0.611 1
Jiuzg	10	0.001 030 26	0.807 2	0.845 0	0.598 0
WSichPl	9	0.001 127 89	0.821 6	0.839 7	0.550 8

π : 核酸多态性 Nucleic acid polymorphism; f_{ii} : 共祖系数 Coefficient of coancestry; F_i : 近交系数 Coefficient of inbreeding; G_i : 分化系数 Differentiation coefficient.

2.2 陕西中华蜜蜂群体系统进化分析

为了更清晰地探究陕西及其邻近地区中华蜜蜂的系统发育与进化关系,选取 10 个种群的高质量 SNPs 并以西方蜜蜂为外群构建 NJ 树(图

2)。结果显示,陕西北部高原群体(NShxiPl)与太行吕梁群体(TailvMt)聚类为同一支,存在较近的系统进化关系;同时,陕西西部山地群体(WShxiMt)与 NShxiPl、TailvMt 具有较近的系统进化关系,陕西西部平原群体(WShxiPn)

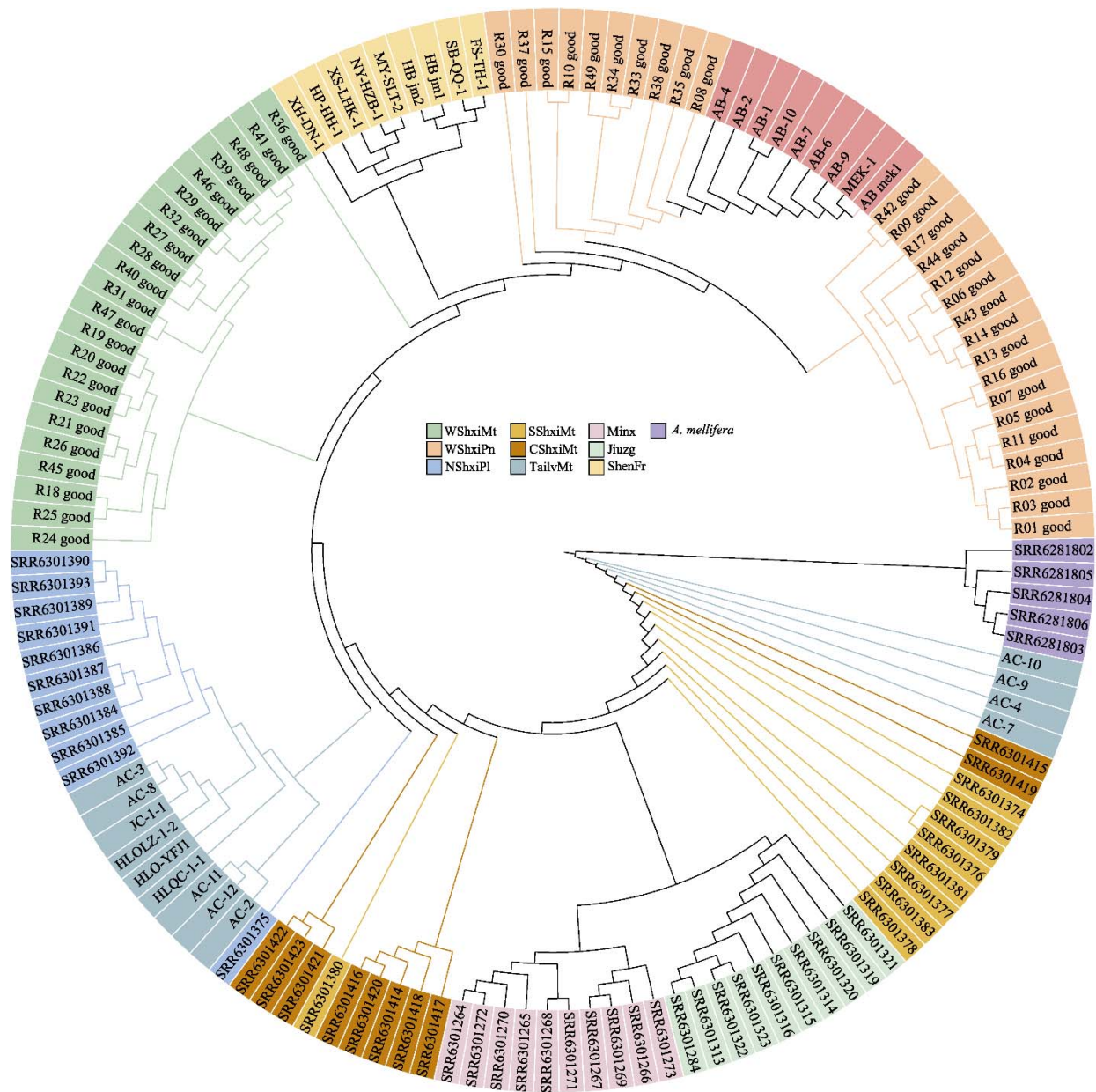


图 2 邻接法构建的基于 SNPs 的陕西及其邻近地区中华蜜蜂系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of *Apis cerana cerana* in Shaanxi and its neighboring areas based on SNPs constructed by the neighbor-joining method

与神农架林区群体 (ShenFr) 具有较近的系统进化关系, 结合 ADMIXTURE 群体遗传结构分析的结果, 表明神农架林区群体可能与陕西西部平原群体有较近的祖先亲缘关系。

3 讨论

陕西省南北跨度较大, 其地理类型与气候类型都较为复杂 (黄建军, 2002), 为物种的遗传进化与原种保持都提供了良好的生境。本研究基

于全基因组重测序技术探究了陕西及其邻近地区中华蜜蜂的遗传多样性与进化, 研究显示, 陕西内部不同地理区位的中华蜜蜂具有丰富的遗传多样性。北部黄土高原群体 (NShxiPl) 与中部关中平原群体 (CShxiPn)、南部安康盆地群体 (SShxiMt)、西部平原群体 (WShxiPn) 及西部山地群体 (WShxiMt) 在遗传结构上具有明显差异 (图 1: B)。同时, 成对的群体遗传分化指数 (F_{st}) 结果也表明它们之间具有较高的遗传分化

水平(图 1: C)。已有相关研究表明,低海拔与高海拔的中华蜜蜂种群之间会出现遗传分化(Yu *et al.*, 2019),这表明黄土高原相对于关中平原与安康盆地的高海拔以及不同的环境因素等原因促成了中华蜜蜂群体的适应性进化,从而表现出与陕西内部其他中华蜜蜂群体之间较大的遗传差异。

同时,研究发现在同一区位内的陕西西部中华蜜蜂群体也存在一定的遗传分化。基于 SNPs 的主成分分析(图 1: A)、Admixture 群体遗传结构分析(图 1: B),以及系统发育分析(图 2)三者共同表明,同样采集自陕西陇县的陕西西部群体 WShxiPn 与 WShxiMt 存在一定的遗传分化,其中, WShxiMt 群体与 NShxiPl、TailvMt 两个北方高海拔群体较为接近,它们在系统发育分析中显示出较近的系统进化关系,并且在主成分分析中的聚类也相对距离较近。

此外,陕西西部群体 WShxiPn 与 WShxiMt 显示出与神农架林区群体 ShenFr 有较近的遗传关系,并具有较近的共同祖先。尽管岷县群体(Minx)、九寨沟群体(Jiuzg)与陕西西部群体具有更近的地理距离,但所有分析结果都表明 Minx、Jiuzg 与陕西内部各群体间均具有明显的遗传分化,这可能是由于山地与高原的海拔等因素形成了强大的地理阻隔,限制了两地中华蜜蜂的基因流动(Paar *et al.*, 2004)。WShxiPn 与 WShxiMt 的种群内部具有较高的核酸多态性,分别为 0.001 430 62 和 0.001 483 04(图 1: C),分别高于其他陕西内部群体的平均值 0.001 202 09 达到 19.01%与 23.3%,也表明了陕西西部群体内部具有相对较高的遗传多样性。陇县位于地处渭北高原西部边缘地区,地貌类型多样,地形破碎复杂,它位于关山和渭北高原西部的千山之间,县城坐落在千河谷地的中部,总地势是西北高东南低。陇县地处古北界,但又与东洋界相近。在动物区系中处于华北、蒙新、青藏、华中、西南五区交汇地带(胡乔木, 1993)。近期有研究发现陇县关山中海拔的繁殖鸟类群落多样性最为丰富(杨亚桥等, 2021),也有研究者发现高海拔的烟田中昆虫群落的多样性最为丰富(张京理, 2010),陇县复杂的地理环境可能为该地区

生物多样性的产生提供了基础条件。本研究同样显示,海拔较高的 WShxiMt 群体相对于海拔较低的 WShxiPn 群体具有更高的核酸多态性水平,表明其具有更高的多样性。陇县其复杂的地理区位因素与环境因素,可能使得陇县的基因流动更加频繁,基因库较为丰富,促进了当地中华蜜蜂群体的遗传多样性的提高。

根据遗传结构分析、系统进化分析等结果,推测可能的陕西中华蜜蜂历史传播路线,分为独立的南、北两条路线。南方路线由神农架林区起源,传播进入关中平原,并在关中平原广泛分布;北方路线由太行吕梁山脉起源,传播进入黄土高原。此外,在如陇县这样的平原与山地交界处,北方路线传入的高原山地群体与南方路线传入的平原群体发生一定程度的交流与融合。

本研究采用基于全基因组重测序的群体遗传分析方法,揭示了陕西中华蜜蜂在不同地理条件下的遗传差异。特别是在北方高海拔高原地区,陕西中华蜜蜂群体展现出明显的遗传分化,这可能是由于地理隔离和环境适应性所致。另外,观察到采样自陕西陇县的陕西西部群体具有较高的遗传多样性水平,这可能受到陇县独特的地理位置和复杂的地形因素的影响。基于这些发现,本研究提出了陕西中华蜜蜂历史传播路线的推测,并认为这些结果对于陕西中华蜜蜂的种质资源利用与保护具有重要参考价值。

参考文献 (References)

- Alexander DH, Novembre J, Lange K, 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9): 1655–1664.
- Chen C, Wang HH, Liu ZG, Chen X, Tang J, Meng FM, Shi W, 2018. Population genomics provide insights into the evolution and adaptation of the eastern honey bee (*Apis cerana*). *Molecular Biology and Evolution*, 35(9): 2260–2271.
- Chen SL, 2001. Chinese Honeybee Science. Beijing: China Agricultural Press. 525–533. [陈盛禄, 2001. 中国蜜蜂学. 北京: 中国农业出版社. 525–533.]
- Danecek P, Auton A, Abecasis G, Albers CA, Banks E, DePristo MA, Handsaker RE, Lunter G, Marth GT, Sherry ST, McVean G, Durbin R, 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15): 2156–2158.
- do Valle ÍF, Giampieri E, Simonetti G, Padella A, Manfrini M, Ferrari A, Papayannidis C, Zironi I, Garonzi M, Bernardi S,

- Delledonne M, Martinelli G, Remondini D, Castellani G, 2016. Optimized pipeline of MuTect and GATK tools to improve the detection of somatic single nucleotide polymorphisms in whole-exome sequencing data. *BMC Bioinformatics*, 17(Suppl.12): 341.
- Felsenstein J, 1993. PHYLIP (phylogeny inference package), version 3.5 c. Joseph Felsenstein. <https://csbf.stanford.edu/phylip/>
- Huang JJ, 2002. Study on the coupling relation between eco-environment and geotectonics in Shaanxi Province. Doctor dissertation. Xi'an: Northwestern University. [黄建军, 2002. 陕西生态环境及其与地质构造的耦合关系研究. 博士学位论文. 西安: 西北大学.]
- Hu QM, 1993. Encyclopedia of China: Geography of China. Beijing: Encyclopedia of China Publishing House. 22–23. [胡乔木, 1993. 中国大百科全书: 中国地理. 北京: 中国大百科全书出版社. 22–23.]
- Ji YK, Li XG, Ji T, Tang JB, Qiu LF, Hu JH, Dong JX, Luo SQ, Liu SL, Frandsen PB, Zhou XG, Parey SH, Li LM, Niu QS, Zhou X, 2020. Gene reuse facilitates rapid radiation and independent adaptation to diverse habitats in the Asian honeybee. *Science Advances*, 6(51): eabd3590.
- Kolde R, Kolde MR, 2015. Package ‘pheatmap’, 2015. R package. <https://cran.r-project.org/web/packages/pheatmap>.
- Lan L, Shi P, Song HL, Tang XY, Zhou JY, Yang JD, Yang MX, Xu JS, 2021. De novo genome assembly of Chinese plateau honeybee unravels intraspecies genetic diversity in the eastern honeybee, *Apis cerana*. *Insects*, 12(10): 891.
- Li H, 2013. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM: arXiv 1303.3997. <http://arxiv.org/abs/1303.3997.pdf>.
- Li H, 2011. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics*, 27(21): 2987–2993.
- Liu Q, Deng P, Shi P, Bu L, Zhang D, 2021. Morphological differentiation of *Apis cerana cerana* under different climate types in Shaanxi Province. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 49(11): 38–45. [刘强, 邓萍, 石鹏, 卜莉, 张东, 2021. 不同气候类型下陕西中蜂的形态分化研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 49(11): 38–45.]
- Liu YH, 1980. On natural zonation in the Shanxi Province. *Acta Geographica Sinica*, 35(3): 210–218. [刘胤汉, 1980. 关于陕西省自然地带的划分. 地理学报, 35(3): 210–218.]
- López-Cortegano E, Pérez-Figueroa A, Caballero A, 2019. Metapop2: Re-implementation of software for the analysis and management of subdivided populations using gene and allelic diversity. *Molecular Ecology Resources*, 19(4): 1095–1100.
- Paar J, Oldroyd BP, Huettinger E, Kastberger G, 2004. Genetic structure of an *Apis dorsata* population: The significance of migration and colony aggregation. *Journal of Heredity*, 95(2): 119–226.
- Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D, 2006. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 38(8): 904–909.
- Shi P, Zhou J, Song HL, Wu YJ, Lan L, Tang XY, Ma ZG, Vossbrinck CR, Vossbrinck B, Zhou ZY, Xu JS, 2020. Genomic analysis of Asian honeybee populations in China reveals evolutionary relationships and adaptation to abiotic stress. *Ecology and Evolution*, 10(23): 13427–13438.
- Wang JJ, Li WM, Qiu LF, Ma LH, Feng ZH, Lian ZM, Wei ZM, 2018. The genetic diversity of *Apis cerana cerana* from Qinling-Daba Mountain areas in Shaanxi Province based on mitochondrial DNA sequence analysis. *Journal of Shaanxi Normal University (Natural Science Edition)*, 46(1): 84–90. [王俊杰, 李婉玫, 邱立飞, 马丽红, 冯志豪, 廉振民, 魏朝明, 2018. 陕西秦巴山区中华蜜蜂线粒体 DNA 的遗传多样性. 陕西师范大学学报(自然科学版), 46(1): 84–90.]
- Xu XJ, Zhou SJ, Zhu XJ, Zhou BF, 2013. Microsatellite DNA genetic diversity of *Apis cerana cerana* from the Loess Plateau, northwest China. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 42(6): 638–642. [徐新建, 周妹婧, 朱翔杰, 周冰峰, 2013. 黄土高原中华蜜蜂遗传多样性的微卫星 DNA 分析. 福建农林大学学报(自然科学版), 42(6): 638–642.]
- Yang YQ, Liu BY, Liu W, Luo L, Yin JF, Gao XB, 2021. A preliminary study on breeding birds community diversity in Guanshan, Longxian County, Shaanxi Province. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 37(5): 597–602. [杨亚桥, 刘博野, 刘威, 罗磊, 伊剑锋, 高学斌, 2021. 陕西陇县关山繁殖鸟类群落多样性研究. 生态与农村环境学报, 37(5): 597–602.]
- Yu YL, Zhou SJ, Zhu XJ, Xu XJ, Wang WF, Zha L, Wang P, Wang JW, Lai K, Wang SH, Hao LN, Zhou BF, 2019. Genetic differentiation of eastern honey bee (*Apis cerana*) populations across Qinghai-Tibet Plateau-Valley landforms. *Frontiers in Genetics*, 10: 483.
- Zeng ZJ, 2007. Bee Biology. Beijing: China Agriculture Press. 20–27. [曾志将, 2007. 蜜蜂生物学. 北京: 中国农业出版社. 20–27.]
- Zhang JL, Xu L, Li X, Zhang JJ, Yan PJ, Deng XC, Liu Y, Meng F, Lin XL, 2010. Studies on insects community diversity in different altitudes tobacco fields in Longxian, Shaanxi Province. *Journal of Northwest A&F Forestry University (Natural Science Edition)*, 38(11): 173–180. [张京理, 许玲, 李鑫, 张金钰, 闫培俊, 邓小成, 柳颖, 孟芳, 林晓丽, 2010. 陇县不同海拔烟田昆虫群落的多样性研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 38(11): 173–180.]
- Zheng XJ, 2013. Morphometric analysis of *Apis cerana cerana* populations in the Loess Plateau of China. Master dissertation. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. [郑秀娟, 2013. 黄土高原地区中华蜜蜂种群形态遗传分析. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学.]