广西东方蜜蜂遗传多样性分析*

周姝婧[1,2**] 朱翔杰[1,2] 徐新建[1,2] 胡军军[3] 于瀛龙[1]
朱诗谣[1] 熊长安[1] 周冰峰[1,2***]

（1. 福建农林大学动物科学学院（蜂学学院），福州 350002；2. 福建农林大学蜜蜂研究所，福州 350002；
3. 广西壮族自治区养蜂指导站，南宁 530021）

摘 要 【目的】 东方蜜蜂 *Apis cerana* 是我国重要的经济昆虫，是生态循环中的重要环节，对其进行种群遗传研究能为东方蜜蜂遗传资源的发现、保护和利用提供基础。广西是我国东方蜜蜂重要的产区和分布区之一。**【方法】** 本研究通过 33 个形态标记、38 个微卫星标记和 $tRNA^{leu}$-COⅡ片段的线粒体标记，对广西东方蜜蜂进行遗传分化、特征和遗传多样性分析。**【结果】** 根据形态逐步判别-聚类分析、主成分-聚类分析，微卫星 DAPC、Structure 分析、聚类树分析、F_{st}、AMOVA 分析，以及线粒体的 F_{st} 分析，结果显示广西东方蜜蜂没有发生种群遗传分化。广西东方蜜蜂的微卫星遗传多样性水平在各样点间较为稳定，但线粒体遗传多样性在广西不同样点间的差异较大。线粒体遗传结构易受人为影响，受人为影响小的 9 个样点线粒体结构中以 Acmt01001 为主要单倍型；在活框饲养技术发达的北流样点和北海样点，线粒体遗传结构的主要单倍型有 2-3 种，且 Acmt01001 比例不是最高的，这意味着人工育王等人为干扰影响较大。**【结论】** 在广西环境基本一致且种群数量较大，基因流通畅的条件下，最远距离约 650 km 的样点间没有发生遗传分化，意味着东方蜜蜂仅由距离导致遗传分化的距离要大于 650 km。根据广西东方蜜蜂遗传多样性现状，对广西东方蜜蜂遗传资源保护和利用提出了建议。

关键词 东方蜜蜂；广西；遗传分化；遗传多样性；遗传资源

Genetic diversity of *Apis cerana* in Guangxi, China

ZHOU Shu-Jing[1,2**] ZHU Xiang-Jie[1,2] XU Xin-Jian[1,2] HU Jun-Jun[3] YU Ying-Long[1]
ZHU Shi-Yao[1] XIONG Chang-An[1] ZHOU Bing-Feng[1,2***]

(1. College of Animal Sciences (College of Bee Science), Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;
2. Institute of Apicultural Research, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002;
3. Beekeeping Station in Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China)

Abstract [Objectives] *Apis cerana* is an economically essential insect that plays a significant role in pollination and that is well adapted to different ecological environments in China. Population genetic research can provide a basis for the discovery, protection and utilization of the genetic resources of this species. Guangxi province is the main *A. cerana* producing region in China. **[Methods]** Genetic differentiation, genetic characteristics and genetic diversity of *A. cerana* were analyzed in Guangxi using 33 morphological markers, 38 microsatellite markers and a mitochondrial marker of a $tRNA^{leu}$-COⅡ fragment. **[Results]** None of a suite of analytical methods, including morphological stepwise discriminant-cluster analysis, principal component-cluster analysis, microsatellite DAPC, structure analysis, cluster analysis, F_{st} value, mitochondrial F_{st} value or AMOVA, found evidence of genetic differentiation in *A. cerana* in Guangxi. However, although microsatellite genetic diversity of bees from different sample sites in Guangxi was relatively similar, differences were apparent in mitochondrial markers which are susceptible to influence by human factors. Acmt01001 was the main mitochondrial haplotype at 9 sample

*资助项目 Supported projects：财政部和农业农村部：国家现代蜂产业技术体系建设专项资金（CARS-45-KXJ11）；福建省中青年教师教育科研项目（JT180119）；福建农林大学科技专项基金项目（CXZX2017339）

**第一作者 First author，E-mail：sjzhou118@126.com
***通讯作者 Corresponding author，E-mail：bingfengfz@126.com

收稿日期 Received：2020-08-20；接受日期 Accepted：2021-06-24

sites with little human influence. However, the mitochondrial genetic structure at the Beiliu and Beihai sites obviously differed from that at other sites in that 2 or 3 haplotypes other than Acmt01001 were the main haplotypes, a situation probably caused by unscientific breeding and other artificial interference. **[Conclusion]** The population size of *A. cerana* in Guangxi is large and gene flow is frequent. There is no evidence of genetic differentiation over a range of 650 km. In order to protect and utilize the locally adapted genetic resources of *A. cerana* we suggest that a nature reserve be established.

Key words *Apis cerana*; Guangxi; genetic differentiation; genetic diversity; genetic resources

蜜蜂是重要的经济昆虫，为人类提供营养丰富和具有保健功能的蜜蜂产品。作为自然界最重要的授粉者，蜜蜂在促进农牧业增产增值、保持生物多样性和维护生态系统平衡等方面具有重要的意义（Gallai *et al.*，2009；Garibaldi *et al.*，2013；Sluijs *et al.*，2013；Stanley *et al.*，2017）。东方蜜蜂 *Apis cerana* 是我国宝贵的本土遗传资源，在生态环境多样性的条件下，各自与当地环境长期地适应进化，形成了多样性丰富的遗传特征，为开发利用我国东方蜜蜂遗传资源奠定了物质基础（杨冠煌，2001）。

通过对东方蜜蜂种群遗传分化和遗传多样性规律的研究，能够为东方蜜蜂遗传资源的发现、保护与利用提供基础理论。水域是典型的阻碍蜜蜂基因流的环境因子，浙江大门岛距大陆 8 km，岛屿的东方蜜蜂与相邻大陆的东方蜜蜂发生了种群遗传分化（朱翔杰等，2009）；琼州海峡最窄处 19.4 km，海南岛东方蜜蜂与大陆东方蜜蜂发生遗传分化（杨冠煌，2001；国家畜禽遗传资源委员会，2011；周姝婧等，2012；徐新建等，2013a；Zhao *et al.*，2016；Zhou *et al.*，2018）。由于峡谷间的高海拔影响，东方蜜蜂在青藏高原东部的金沙江、雅砻江河谷间基因流阻断，发生种群遗传分化；在青藏高原狭长分布金沙江、雅砻江的河谷中，由于蜜蜂分布的不连续，导致同条峡谷内基因流障碍发生种群遗传分化（Zhu *et al.*，2017）。武夷山主峰黄岗山的西侧，平面距离 3-5 km，海拔高差达 1 100-1 400 m，在垂直分布 4 个植被类型带的环境条件下，海拔 1 770 m 的东方蜜蜂与山谷中海拔 305-720 m 的样本发生种群遗传分化（朱翔杰等，2011）。理论上，距离能够导致基因流减弱。东方蜜蜂在生态环境基本同质的前提下，多少距离能够发生种群遗传分化还未见报道。在秦岭和大巴山区，650 km 距离内的东方蜜蜂没有发生种群遗传分化（郭慧萍等，2016）。

进行蜜蜂种群遗传学研究时，常常联合使用形态标记和分子标记进行分析。其中形态学标记直观、简便易行，可快速检测自然选择的作用，但容易受到发育环境和趋同进化等因素的影响（魏麟等，2004）。在蜜蜂种群遗传学研究中形态标记常用长度标记、翅相关标记、毛相关标记等进行分析（Ruttner，1988；Zhu *et al.*，2017；Zhou *et al.*，2018）。分子标记中线粒体 DNA 是母系遗传，具有高突变率的一种有效检测遗传多样性和种群遗传结构的标记（Garnery *et al.*，1992；Smith and Hagen，1996；Palmer *et al.*，2000；陈灵芝和马克平，2001）。微卫星标记具有共显性、多态性高等特点，是目前应用最广泛的分子标记之一，可用于分析遗传分化及与分化相关机制的研究（Kuwahara *et al.*，2014；Chae *et al.*，2015；Ren *et al.*，2018）、调查种群的遗传结构与特征（Elesawi *et al.*，2016；Xiang *et al.*，2016；Demastes *et al.*，2018）、进行种群遗传多样性检测（Loucif-Ayad *et al.*，2015；Stoffel *et al.*，2018），以及评估种群间的基因渗透等研究（Hirao *et al.*，2017；Machado *et al.*，2018）。在蜜蜂种群遗传研究中线粒体 $tRNA^{leu}$-COⅡ、COⅠ、COⅡ、ND2 等片段是常用的分析标记（于瀛龙等，2013；Tan *et al.*，2016；周姝婧等，2016），微卫星标记也多用来进行蜜蜂种群遗传分化和多样性的研究（Miguel *et al.*，2015；Nikolova *et al.*，2015；郭慧萍等，2016）。

广西壮族自治区位于我国南端，区内多山，自西北向东南海拔逐渐降低，大部分面积的海拔在 1 000 m 以下，植被、气候等生态环境基本一

致。广西现有东方蜜蜂约 56 万群，是我国东方蜜蜂的主产区（秦汉荣等，2016）。20 世纪 70 年代，对广西东方蜜蜂资源进行调查，并根据蜜蜂的 10 个外部形态特征、生物学特性和栖息的生态条件，将广西东方蜜蜂归为东部中蜂亚种的两广型（杨冠煌，2001）。而国家畜禽遗传资源委员会将广西东方蜜蜂归属于华南中蜂（国家畜禽遗传资源委员会，2011）。随后，陆续有学者分别使用形态标记、微卫星标记和线粒体标记研究全国范围或我国南部东方蜜蜂的分化情况，认为广西的东方蜜蜂与贵州、海南、云南等地的东方蜜蜂存在遗传分化（徐新建等，2013a；田崇浩等，2014；刘振国等，2015；骆群等，2015；Zhao *et al.*，2016）。

本文采用形态、微卫星和线粒体 3 种遗传标记对广西的 11 个样点的东方蜜蜂进行遗传多样性分析，以明确广西东方蜜蜂种群在同质环境下的遗传分化情况、遗传特征和遗传多样性水平，为广西东方蜜蜂遗传资源评价、保护和利用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 样本采集

样本采自广西 11 个分布较均匀的样点，共 737 群东方蜜蜂（表 1）。广西东西端的样点距离在 600 km 左右，南北端的样点距离 400-500 km，样点间距离最远的是全州与那坡，距离为 648.6 km。为减少形态分析样本受发育、环境等因素的影响，样本采集时间选择在广西东方蜜蜂生存环境良好的 5-6 月，样本采自多家蜂场的健康正常蜂群，以减少因养蜂人引种、育王对样本代表性的影响；蜂群以半野生的原始饲养蜂群为主，在蜂群内子脾上采集工蜂样本。采集后的样本用无水乙醇处理，并放置于 - 80 ℃的超低温冰箱保存备用。以宁夏（代码为 NX，样本数量 72 只）和海南（代码为 HN，样本数量 53 只）的东方蜜蜂作为外群对照，分析广西东方蜜蜂的遗传分化、遗传特征和遗传多样性水平。

表 1 广西东方蜜蜂的样点信息

Table 1 Sample information of *Apis cerana* collected in Guangxi

样本代码 Sample code	采集地点 Collecting site	采样群数 Number of colonies	经度 Latitude	纬度 Longitude	海拔（m） Altitude
GXNP	广西那坡	78	105°38.628′	23°06.441′	711
GXBS	广西百色	51	106°12.372′	24°16.701′	729
GXTE	广西天峨	64	107°04.219′	24°57.959′	815
GXBM	广西巴马	70	107°11.196′	24°13.568′	781
GXSS	广西上思	79	108°00.873′	22°03.887′	287
GXHJ	广西环江	69	108°05.519′	24°50.828′	304
GXNN	广西南宁	46	108°19.302′	22°45.527′	83
GXBH	广西北海	90	109°23.827′	21°36.937′	22
GXBL	广西北流	60	110°32.021′	22°27.795′	171
GXZP	广西昭平	67	111°01.255′	24°17.177′	109
GXQZ	广西全州	63	111°01.731′	26°12.282′	314

1.2 实验方法

1.2.1 形态标记测定 依据 Ruttner（1988）及杨冠煌（2001）使用的蜜蜂形态遗传标记方法，共测定 33 个适合东方蜜蜂的形态遗传标记（Zhou *et al.*，2016，2018；Zhu *et al.*，2017）。包括与个体大小相关的吻长、第 3 背板长、第 4 背板长、第 5 背板长、第 4 腹板长、第 4 腹板蜡镜长、蜡镜斜长、蜡镜间距、第 7 腹板长、第 7 腹板宽、股节长、胫节长、基跗节长、基跗节宽，与翅相关的右前翅翅长、右前翅翅宽、肘脉指数、

肘脉 a、肘脉 b、后翅钩数和 11 个翅脉角 A4、B4、D7、E9、G18、J10、J16、K19、L13、N23、O26，与毛相关的第 5 背板绒毛带长、第 6 背板毛长。

每个样点进行形态标记研究的蜜蜂样本为 60 只，取自每个样点中 20-30 群不等，每群取 2-3 只吻伸直、翅、足等测量指标完整的蜜蜂。用带 JVC 图像采集器（TK-C921EC）的变倍体视显微镜（GL-99T1）和电脑形态测量系统（Image-Pro Express）联用，对每个样点的 60 只蜜蜂样本进行拍照，并对每个样本的 33 个形态标记进行测量，获得形态数据。

1.2.2　基因组 DNA 提取与扩增　每个蜂群取 1 只工蜂提取全基因组，并分别进行微卫星标记和线粒体标记的扩增。

微卫星标记利用 ExTaq Hot Start Version 扩增试剂盒（宝生生物工程有限公司，大连）进行 38 个微卫星标记扩增实验，引物序列、PCR 的扩增体系和扩增程序参考文献（于瀛龙等，2013；郭慧萍等，2016），样品送至北京金唯智公司（GENEWIZ）进行基因分型。

线粒体标记采用蜜蜂属特有的 $tRNA^{leu}$-COⅡ序列进行扩增，引物序列、PCR 扩增体系和扩增程序参考 Harpur 等（2012）方法。PCR 产物为 352 bp 序列，测序由上海英骏（Invitrogen）生物技术有限公司完成，测序仪为 ABI PRISM 3730xl。本实验得到的序列用 Clustal X 软件进行序列比对，并与测序图核对校准。有变异的个体，进行重复测序，验证其准确性。

1.3　数据统计与分析

形态数据使用 SPSS 20.0 软件和 STATISTICA 10 软件进行分析。采用 SPSS 20.0 软件进行逐步判别分析和聚类分析联用。采用 STATISTICA10 软件，进行主成分分析，将 33 个标记通过线性变换，提炼出少数几个能充分反应差异信息的标记，并利用 SPSS 20.0 软件构建主成分散点图和聚类树。

微卫星数据分析用 R 软件 v3.3.2（R Core Team，2016）运行 adegenet 2.0.0 package 进行主成分判别分析（DAPC）作为分组验证，DAPC 先用 *K*-means 聚类进行分组，当 delta BIC 小于 2 时为最佳分组结果（Kass and Raftery，1995），保留 90%变异的主成分进入判别分析。GenAlEx 6.5 进行广西东方蜜蜂与外群的 AMOVA 分析（Peakall and Smouse，2006），Genepop 在线分析样点间的遗传分化系数（Rousset，2008）。Poptree 2 构建系统发育树（Takezaki *et al.*，2010），Structure 软件进行遗传结构分析（Falush *et al.*，2007；Hubisz *et al.*，2010），使用在线 Structure Harvester 网页计算 ΔK 值，以准确定位分析的分组数。利用 Ne estimator 2.01 软件检测有效种群大小，方法选择“Linkage Disequilibrium”，检验标准为 0.05（Do *et al.*，2013）。Excel Micro-Satellite Toolkit 3.1 计算期望杂合度（H_e）、观察杂合度（H_o）、平均多态信息含量（*PIC*），PopGene1.31 计算有效等位基因数（N_e）和香浓指数（*I*）（Park，2001）。

线粒体数据用 Arlequine 3.5.1.2 软件计算各样点间线粒体的遗传分化系数（F_{st}）和 AMOVA 分析（Excoffier and Lischer，2010）。用 DnaSP 5.0 计算各样点的平均核苷酸差异数（*K*），核苷酸多样度（P_i）和单倍型多样度（*Hd*）（Librado and Rozas，2009）。

2　结果与分析

2.1　广西东方蜜蜂的特征

2.1.1　形态特征　广西东方蜜蜂个体大于海南东方蜜蜂，小于宁夏东方蜜蜂。在吻长、第 3 背板长、第 4 背板长、第 5 背板长、第 4 腹板长、蜡镜长、蜡镜斜长、第 7 腹板长、第 7 腹板宽、股节长、胫节长、基跗节长、基跗节宽、翅长、翅宽 15 个与体型大小相关的标记，广西东方蜜蜂均大于海南东方蜜蜂，小于宁夏东方蜜蜂，且差异显著（$P<0.05$）或极显著（$P<0.01$）（表 2）。

广西东方蜜蜂的肘脉指数、翅脉角 E9、第 5 背板绒毛带长、第 6 背板绒毛长等非个体大小形态标记比海南和宁夏东方蜜蜂小；肘脉 b、翅脉角 B4、翅脉角 O26、翅脉角 N23、翅脉角 J10

表 2 基于 33 个形态标记的广西、宁夏和海南东方蜜蜂形态特征方差分析

Table 2 A list of 33 characters used in One-way ANOVA of *Apis cerana* in Guangxi, Ningxia and Hainan

形态标记 Characters	样点分组 Group		
	广西 Guangxi	宁夏 Ningxia	海南 Hainan
吻长（mm）Proboscis length	4.945 0±0.133 1 Aa	5.137 7±0.095 5 Bb	4.559 6±0.130 9 Cc
第 3 背板长（mm）Length of tergite 3	2.043 0±0.081 5 Aa	2.198 1±0.082 9 Bb	1.952 1±0.053 1 Cc
第 4 背板长（mm）Length of tergite 4	1.842 3±0.066 3 Aa	1.950 0±0.052 6 Bb	1.738 6±0.048 8 Cc
第 5 背板长（mm）Length of tergite 5	1.794 7±0.062 9 Aa	1.918 8±0.052 6 Bb	1.691 3±0.053 2 Cc
第 4 腹板长（mm）Length of sternite 4	2.444 7±0.071 0 Aa	2.604 3±0.060 9 Bb	2.328 3±0.070 1 Cc
蜡镜长（mm）Length of wax plate on sternite 4	1.109 2±0.054 8 Aa	1.261 4±0.053 1 Bb	1.044 9±0.049 1 Cc
蜡镜斜长（mm）Transverse length of wax plate on sternite 4	2.082 6±0.070 0 Aa	2.322 9±0.087 9 Bb	1.993 7±0.050 9 Cc
蜡镜间距离（mm）Distance between wax plate on sternite 4	0.272 8±0.050 2 Aa	0.208 7±0.035 8 Bb	0.282 6±0.050 4 Aa
第 7 腹板长（mm）Length of sternite 7	2.227 6±0.073 8 Aa	2.342 5±0.074 1 Bb	2.076 5±0.066 4 Cc
第 7 腹板宽（mm）Transverse length of sternite 7	2.691 7±0.089 2 Aa	2.886 2±0.083 7 Bb	2.478 2±0.080 7 Cc
股节长（mm）Femur length	2.435 7±0.080 2 Aa	2.564 2±0.060 9 Bb	2.318 8±0.056 4 Cc
胫节长（mm）Tibia length	3.007 7±0.101 8 Aa	3.199 9±0.099 0 Bb	2.898 5±0.071 5 Cc
基跗节长（mm）Metatarsus length	1.842 6±0.070 9 Aa	1.993 9±0.065 8 Bb	1.726 8±0.057 2 Cc
基跗节宽（mm）Metatarsus width	1.029 3±0.046 7 Aa	1.096 6±0.038 1 Bb	1.011 9±0.038 4 Cc
翅长（mm）Forewing length	8.339 5±0.186 8 Aa	8.780 5±0.160 6 Bb	7.820 6±0.147 3 Cc
翅宽（mm）Forewing width	2.870 7±0.083 9 Aa	3.037 7±0.060 6 Bb	2.723 9±0.047 7 Cc
后翅钩数 Number of hamuli	18.3±1.5 Aa	18.1±1.5 Aab	18.7±1.5 Ab
肘脉 a Cubital vein distance a	0.520 6±0.033 1 Aa	0.564 3±0.024 1 Bb	0.495 4±0.030 5 Cc
肘脉 b Cubital vein distance b	0.143 7±0.019 6 Aa	0.149 3±0.019 9 Ab	0.133 1±0.021 7 Bc
肘脉指数 Cubital index	3.693 4±0.598 3 Aa	3.848 7±0.560 0 Aa	3.822 6±0.681 6 Aa
翅脉角 A4（°）Wing vein angles A4	30.9±1.9 Aa	30.8±1.9 Aa	32.1±1.5 Bb
翅脉角 B4（°）Wing vein angles B4	108.9±4.2 Aa	108.1±4.4 ABab	106.9±3.8 Bb
翅脉角 D7（°）Wing vein angles D7	94.4±2.5 Aa	93.0±2.4 Bb	94.4±2.2 Aa
翅脉角 K19（°）Wing vein angles K19	76.8±2.9 Aa	78.3±3.0 Bb	74.5±2.7 Cc
翅脉角 G18（°）Wing vein angles G18	89.0±3.3 Aa	90.7±2.8 Bb	88.5±3.5 Aa
翅脉角 O26（°）Wing vein angles O26	34.0±3.5 Aa	33.9±3.4 ABa	32.6±2.9 Bb
翅脉角 N23（°）Wing vein angles N23	85.4±3.6 Aa	84.3±3.1 ABb	83.5±4.0 Bb
翅脉角 J16（°）Wing vein angles J16	103.5±3.5 Aa	102.8±3.4 Aa	103.3±3.8 Aa
翅脉角 J10（°）Wing vein angles J10	48.0±3.1 Aa	46.8±2.3 Bb	47.5±3.0 ABab
翅脉角 E9（°）Wing vein angles E9	20.5±1.3 Aa	21.5±1.1 Bb	21.1±1.2 Bb
翅脉角 L13（°）Wing vein angles L13	13.6±1.1 Aa	13.0±1.0 Bb	13.8±1.1 Aa
第 5 背板绒毛带长（mm）Stripe of tomentum on tergite 5	1.046 2±0.126 2 Aa	1.302 7±0.108 7 Bb	1.008 9±0.078 2 Ac
第六背板绒毛长（mm）Length of cover hair on tergite 6	0.297 5±0.090 9 Aa	0.442 4±0.045 7 Bb	0.304 5±0.035 2 Aa

表中数据为平均值±标准差，同列数据后标有不同大写字母表示差异极显著（$P<0.01$），标有不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

Data are mean±SD, and followed by different capital letters indicate extremely significant difference at the 0.01 level, and the lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 level.

等比海南和宁夏东方蜜蜂大（表 2）。

2.1.2　微卫星遗传结构特征　广西东方蜜蜂各样点的微卫星等位基因数较多，但大多数位点以 1 种或 2 种等位基因为主。Ac-2（134a）、Ac-5（166a）、K1458（91a）、AT165（255a）、UN117（129a）、AP208（97a）、SV039（124a）、BI314（74a）、K0715（285a）、SV220（159a）、AP066（97a）、SV066（185a）、AP148（236a）、AP042（143a）、AT109（185a）、BI216（145a）、SV261（111a）、UN373（178a）、AT103（154a）、UNEV2（203a）、BI225（203a）、UN270（122a）、A313（345a）、Ac-1（204a）、AT004（152a）等 25 个位点以 1 种等位基因为主，占 50%以上频率；Ac-26（136a、138a）、AT101（244a、245a）、AC045（142a、144a）、BI278（152a、153a）、AP249（209a、211a）、AC139（327a、329a）、AC011（106a、114a）、244T（193a、195a）、Ac-35（124a、126a）9 个位点以 2 种等位基因为主。

广西与外群的分化研究中，微卫星主成分判别分析（DAPC）发现判别函数 1 和判别函数 2 分别可将广西东方蜜蜂与海南东方蜜蜂和宁夏东方蜜蜂分开（图 4：A）。从判别函数 1 中可发现广西东方蜜蜂与海南东方蜜蜂在 Ap085、Ap208、BI314 等高贡献率的位点上存在明显结构差异（图 1：A）。广西东方蜜蜂与海南东方蜜蜂在 Ap085 位点主要表现为等位基因的频率差异，在 Ap208、BI314 位点主要表现为等位基因种类的不同。判别函数 2 中，微卫星 Ac2、Ap085、SV066、Ac011、AP189 位点是高贡献率的位点，广西东方蜜蜂与宁夏东方蜜蜂在这些位点上存在明显的结构差异（图 1：B）。广西东方蜜蜂与宁夏东方蜜蜂在微卫星 Ac2、Ap085、Ac011、AP189 位点主要表现为等位基因的频率差异，在 SV066 位点主要表现为等位基因种类的不同。

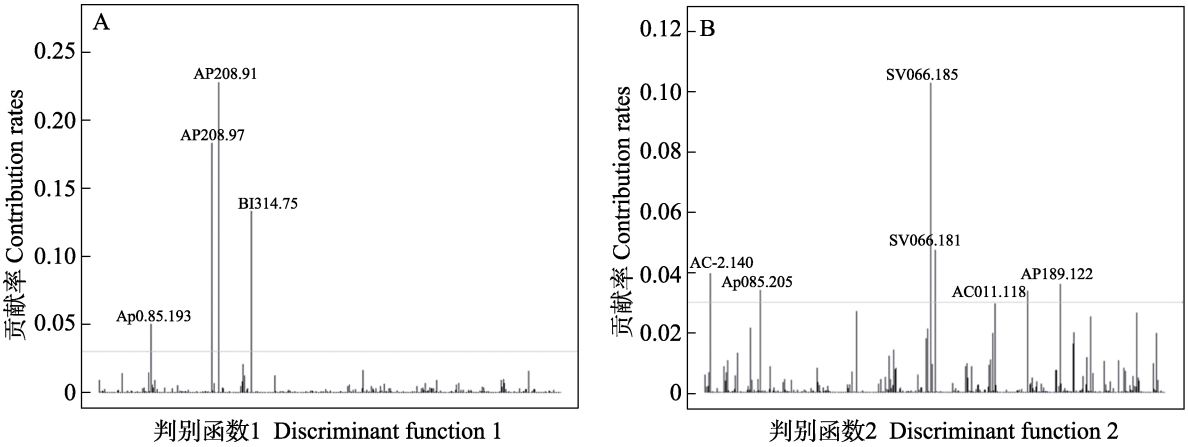

图 1　主成分判别分析中判别函数 1（A）和判别函数 2（B）中微卫星位点的贡献率

Fig. 1　Contribution rates of discriminant function 1 (A) and discriminant function 2 (B) in discriminant analysis of principal component

2.1.3　线粒体 tRNA^{leu}-COⅡ遗传结构特征　广西东方蜜蜂的线粒体 tRNA^{leu}-COⅡ片段共检测到 53 种单倍型，大部分样点的单倍型种类数量为 7-15 种。单倍型 Acmt01001 是广西东方蜜蜂最主要的一种单倍型，占总样本量的 58.62%。另外还有 7 种较为主要的单倍型数量占总样本量的 1%以上，分别为 Acmt01030（11.53%）、Acmt01043（3.53%）、Acmt01254（3.26%）、Acmt01015（1.63%）、Acmt01012（1.49%）、Acmt01022（1.36%）、Acmt01003（1.22%）。除了以上 8 种较为主要的单倍型，广西 53 种单倍型中有 36 种单倍型只在 1 个样点检测到，这些单倍型检测到的数量较少、在各样点的样本量中所占比例较小。

广西样点除了广西北海和广西北流外，其它大部分的广西样点在线粒体遗传结构上以一种单倍型 Acmt01001 为主，占各样点单倍型数量的 49.02%-74.79%（图 2）。而单倍型 Acmt01030

是广西各样点第 2 大单倍型，与主要单倍型 Acmt01001 相比检测到的数量少，占除了广西北海外大部分样点单倍型数量的 6.41%-13.73%。

广西北海样点以 3 种单倍型 Acmt01001、Acmt01010、Acmt01030 为主要单倍型，分别占北流样点样本量的 33.33%、28.89%和 34.44%。广西北流样点以 2 种单倍型为主要单倍型，其中单倍型 Acmt01001 占样本量的 36.67%，Acmt01254 占样本量的 40%（图 2）。这两个样点比例最高的单倍型均不是 Acmt01001。

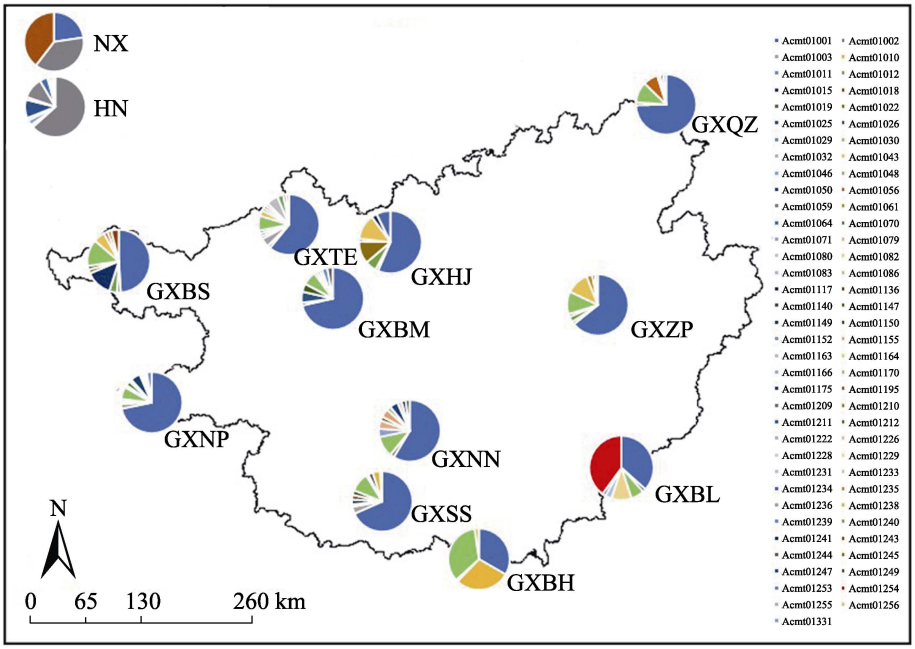

图 2　广西、宁夏和海南的线粒体 tRNA^{leu}-COⅡ遗传结构图

Fig. 2　Distribution of sample collection sites and mitochondrial genetic structure in Guangxi, Ningxia and Hainan

广西样本代码同表 1，外群样本代码 NX、HN 分别是宁夏和海南。

Guangxi sample codes same as Table 1, and the outgroup sample codes NX and HN are Ningxia and Hainan, respectively.

2.2　广西东方蜜蜂遗传分化

根据广西各样点东方蜜蜂的形态分化分析、微卫星遗传分化分析和线粒体分化分析的结果，未发现广西东方蜜蜂发生种群遗传分化。

2.2.1　广西东方蜜蜂形态分化　主成分分析中 KMO=0.845，Bartlett's 球状检验 P=0.000，说明广西及外群样本适合做因子分析。前 2 个主成分贡献率占 68.3%。主成分 1 中贡献率高的形态标记包括吻长、翅长、翅宽、第 3 背板长、第 4 背板长、第 5 背板长、第 5 背板绒毛带长、第 6 背板绒毛长、第 4 腹板长、蜡镜长、蜡镜斜长、蜡镜间距离、第 7 腹板长、第 7 腹板宽、股节长、胫节长、基跗节长、基跗节宽、肘脉 a、肘脉 b。主成分 2 中贡献率高的形态标记包括翅脉角 A4、B4、O26、N23、E9。在主成分 1 和主成分 2 的主成分散点图中，广西所有样点聚为一组，宁夏、海南 2 个外群均远离广西样点（图 3：A）。前 4 个主成分对变异解释的贡献率占 84.2%，以此 4 个主成分进行聚类分析，广西样点聚为一支，宁夏和海南样点在聚类树的最外支（图 3：B）。

形态数据的判别散点分析结果与主成分分析结果相似，同样显示广西所有样点远离外群，紧密地聚为一组（图 3：C）。将解释变异率达 86.5%的前 4 个判别函数的重心函数进行聚类，广西样点聚为一支，2 个外群在聚类树的最外支（图 3：D）。

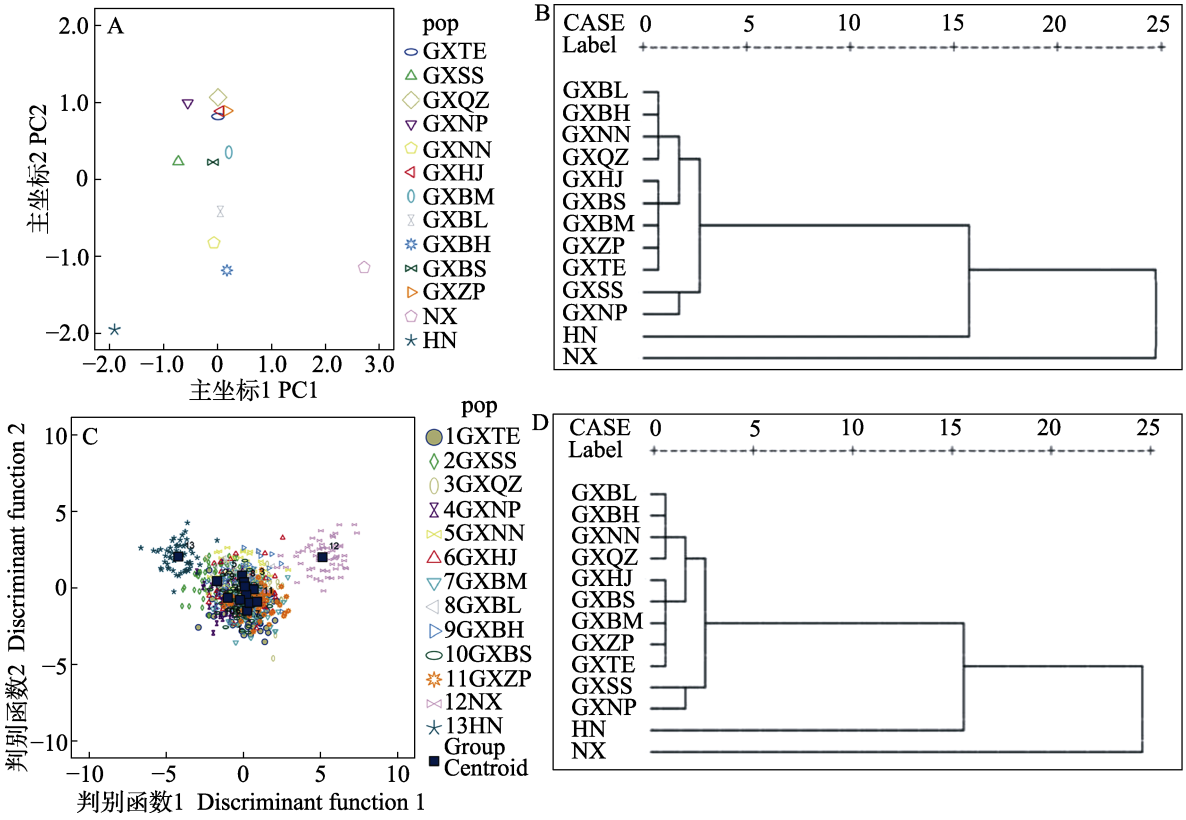

图 3　广西、宁夏和海南东方蜜蜂的 33 个形态标记的主成分分析和判别分析

Fig. 3　The principal component analysis and discriminant analysis of *Apis cerana* in Guangxi, Ningxia and Hainan on 33 morphological markers

A. 主成分分析散点图；B. 主成分分析聚类图；C. 判别分析散点图；D. 判别分析聚类图。样本代码同表 1。
A. PCA plot; B. Tree diagram for PCA; C. DA plot; D. Tree diagram for DA. The sample codes same as in Table 1.

2.2.2　广西东方蜜蜂微卫星分化　微卫星主成分判别分析（DAPC）的判别函数 1 和判别函数 2 做散点图显示广西东方蜜蜂样点聚为一组，判别函数 1 可将广西样点与海南东方蜜蜂明显区分，判别函数 2 可将广西样点与宁夏东方蜜蜂区分开（图 4：A）。广西各东方蜜蜂样点之间的遗传分化系数（F_{st}）在 0-0.03 之间，N_m 在 8.28-166.42，不存在遗传分化。以遗传分化系数构建的 UPGMA 聚类树中，所有广西样点聚为一支在聚类树的内层，外群宁夏和海南东方蜜蜂聚在树的最外层（图 4：B）。遗传结构 Structure 分析中，根据最佳 K 值（ΔK）设置分组 K=3，结构图显示广西各样点东方蜜蜂的遗传结构相似（图 5）。将广西、宁夏和海南东方蜜蜂分组进行 AMOVA 分析，发现广西东方蜜蜂与外群宁夏、海南之间遗传变异程度占到了整体遗传变异的 8%，广西内部的遗传变异程度占整体的 5%，说明广西与外群的遗传变异大于广西内部的变异，进一步确认了广西不存在遗传分化。

2.2.3　广西东方蜜蜂线粒体 tRNA^{leu}-COⅡ标记分化　广西东方蜜蜂与外群宁夏在线粒体 tRNA^{leu}-COⅡ标记上的 F_{st} 介于 0.22-0.35 之间，与外群海南在线粒体标记上的 F_{st} 介于 0.34-0.48 之间。广西东方蜜蜂内部之间的线粒体 F_{st} 介于 0-0.21 之间，广西东方蜜蜂与外群的分化明显大于广西内部之间的遗传分化。AMOVA 分析显示，广西东方蜜蜂与外群的遗传变异占所有样本遗传变异的 35.44%。

2.3　广西东方蜜蜂的遗传多样性

广西东方蜜蜂的微卫星遗传多样性水平在各样点间较为稳定，但线粒体遗传多样性在广西各样点间差异较大（表 3）。广西各样点东方蜜蜂微卫星标记的期望杂合度（H_e）在 0.412 9-0.442 7 之

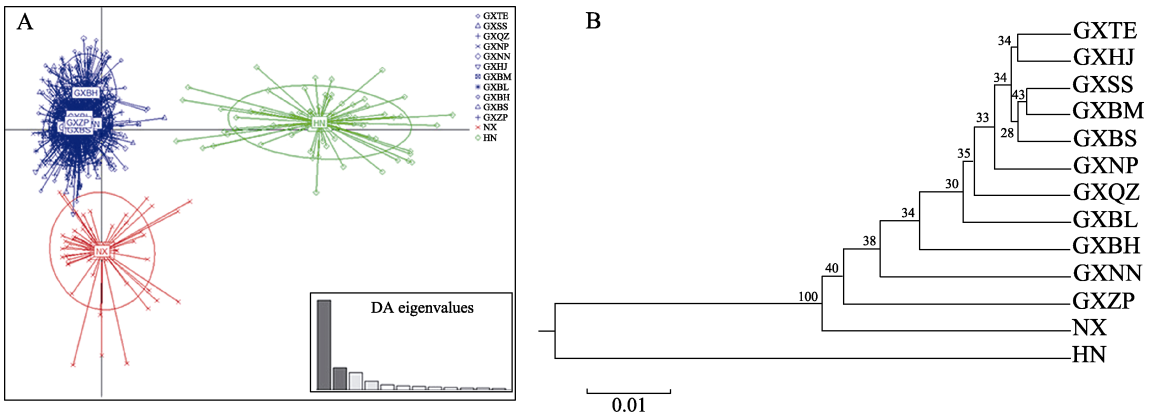

图 4　广西、宁夏和海南东方蜜蜂的 38 个微卫星主成分判别分析（A）和根据 F_{st} 值建立的 UPGMA 聚类树（B）

Fig. 4　Discriminant analysis of principal component (A) and UPGMA phylogenetic tree by F_{st} (B) of *Apis cerana* in Guangxi, Ningxia and Hainan on 38 microsatellite markers

样本代码同表 1。The sample codes same as in Table 1.

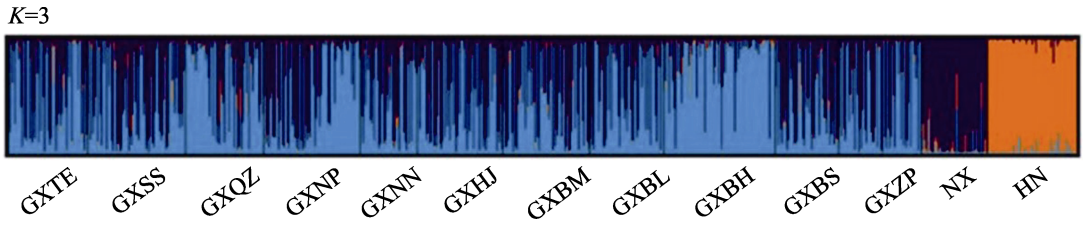

图 5　广西、宁夏和海南东方蜜蜂的微卫星遗传结构分析

Fig. 5　Genetic structure analysis of *Apis cerana* in Guangxi, Ningxia and Hainan

样本代码同表 1。The sample codes same as in Table 1.

表 3　广西各样点、宁夏和海南样点的微卫星和线粒体 tRNA^{leu}-COⅡ多样性参数

Table 3　Diversity parameters of *Apis cerana* in Guangxi, Ningxia and Hainan on microsatellite and mitochondrial markers

样本代码 Sample code	期望杂合度 H_e	观察杂合度 H_o	香浓指数 I	平均多态信息含量 PIC	有效等位基因数 N_e	单倍型多样性 Hd	平均核苷酸差异数 K	核苷酸多样度 P_i
GXNP	0.442 7	0.410 2	0.978 2	0.416 7	2.969 4	0.682 1	1.823 0	0.005 22
GXBS	0.419 1	0.391 7	0.899 2	0.390 3	2.632 6	0.911 4	1.938 0	0.005 93
GXTE	0.412 9	0.396 8	0.876 7	0.384 0	2.620 6	0.609 8	0.975 0	0.002 78
GXBM	0.422 4	0.395 0	0.917 4	0.395 2	2.717 4	0.730 0	0.900 0	0.002 86
GXSS	0.431 8	0.398 4	0.929 7	0.403 3	2.783 7	0.523 5	0.558 0	0.001 60
GXHJ	0.422 4	0.414 8	0.906 0	0.394 3	2.717 7	0.617 6	0.745 0	0.002 12
GXNN	0.437 0	0.412 0	0.914 7	0.404 2	2.702 0	0.647 3	0.797 0	0.002 28
GXBH	0.432 8	0.399 3	0.911 9	0.404 5	2.714 6	0.701 1	0.961 0	0.002 73
GXBL	0.423 6	0.418 6	0.887 7	0.392 4	2.640 7	0.716 9	1.162 0	0.003 41
GXZP	0.431 8	0.415 2	0.929 8	0.402 3	2.806 8	0.565 4	0.679 0	0.001 94
GXQZ	0.421 6	0.408 9	0.916 6	0.394 7	2.841 7	0.430 6	0.359 0	0.001 02
NX	0.437 7	0.407 6	0.899 6	0.401 8	2.580 9	0.598 0	0.744 0	0.002 11
HN	0.408 2	0.367 6	0.849 4	0.375 8	2.628 4	0.661 8	1.454 0	0.004 13

间，观察杂合度（H_o）在 0.391 7-0.418 6 之间，香浓指数（I）在 0.876 7-0.929 8 之间，平均多态信息含量（PIC）在 0.384 0-0.416 7 之间，有效等位基因数（N_e）在 2.620 6-2.969 4 之间（表 3）。根据微卫星数据计算广西 11 个东方蜜蜂样点间的近交系数（F_{is}）范围在-0.000 91-0.074 50 之间，有效种群大小在 400-Infinite 之间。

广西东方蜜蜂线粒体 $tRNA^{leu}$-COⅡ片段的遗传多样性水平在各样点存在较大差异。广西 11 个样点的单倍型多样性（Hd）的范围在 0.430 6-0.911 4，平均核苷酸差异数（K）为 0.359-1.938，核苷酸多样度（P_i）为 0.001 02-0.005 93（表 3）。

3　讨论

地理距离能够阻碍基因流，即使环境相近也会因随机漂变而导致种群遗传分化（王崇云，2008；Barton *et al.*，2010）。在生态环境基本均质的条件下，多少距离能够导致东方蜜蜂种群遗传发生分化还不清楚。本研究采用蜜蜂种群遗传研究常用的 33 个形态标记、38 个微卫星标记和线粒体 $tRNA^{leu}$-COⅡ片段（周姝婧等，2012；徐新建等，2013a；于瀛龙等，2013；郭慧萍等，2016；周姝婧等，2016；于瀛龙等，2017；Zhu *et al.*，2017），对广西全境 11 个样点进行全面的遗传分化分析，结果表明广西的东方蜜蜂各样点间没有发生种群遗传分化。广西样点间最远的距离约为 650 km，说明在生态环境基本一致的条件下，东方蜜蜂种群发生遗传分化的距离要大于 650 km。该结果与我们在秦巴山区的研究结果一致（郭慧萍等，2016）。

研究表明我国东方蜜蜂的微卫星遗传多样性参数范围均处于中等水平（朱翔杰等，2011；Xu *et al.*，2013；徐新建等，2013a，2013b；于瀛龙等，2013；郭慧萍等，2016；Zhao *et al.*，2016；于瀛龙等，2017）。与全国其它地区的 3 个线粒体遗传多样性参数（单倍型多样性 0-0.904 8、核苷酸多样度 0-0.014 02、平均核苷酸差异数 0.263-1.905）相比（周姝婧等，2012；于瀛龙等，2013；Tan *et al.*，2016；周姝婧等，2016；任勤等，2018；王俊杰等，2018），广西东方蜜蜂的线粒体遗传多样性水平在中高度水平。

广西北海样点和北流样点的线粒体结构与广西其它样点差异较大，这两个样点人工饲养蜜蜂的技术较发达，表现出人工育王能够对蜜蜂遗传结构产生显著影响。人为影响小的样点的线粒体结构以一种单倍型为主，受人工饲养影响的种群出现多种主要单倍型。广西大部分样点以 Acmt01001 为主要单倍型；北海样点则是以 Acmt01001、Acmt01010 和 Acmt01030 3 种等位基因为主要单倍型，其中 Acmt01010 在广西其它样点没有发现；而广西北流样点则以 Acmt01001 和 Acmt1254 为主要单倍型，并且 Acmt1254 也未在其它广西样点中发现。根据全国东方蜜蜂单倍型分布信息分析，单倍型 Acmt01010 主要分布在福建和浙江（Xu *et al.*，2013；周姝婧等，2016），广西北海样点的单倍型 Acmt01010 可能由养蜂人从福建、浙江等地引入后，通过人工育王增大比例。广西北流样点 Acmt1254 单倍型在全国东方蜜蜂均没有发现分布记录，可能在本地变异后形成的 Acmt1254 单倍型，经过人工选育导致其频率提高。

广西东方蜜蜂有效种群较大，与外群相比在形态标记、微卫星标记和线粒体标记上均体现出一定特征。与已发表的文献相比，广西东方蜜蜂在形态上与个体大小相关的指标以及大部分的翅相关指标都较小，仅大于海南东方蜜蜂、滇南东方蜜蜂、广东的东方蜜蜂，这是长期适应广西当地环境形成的独特自然资源（杨冠煌，2001；赵建成和吴跃峰，2002；王崇云，2008；国家畜禽遗传资源委员会，2011；骆群等，2015；Zhou *et al.*，2018）。从东方蜜蜂遗传资源的角度，广西的环境条件和种群数量都能够支持较高的遗传多样性，但研究结果发现微卫星多样性在全国只占中等水平。意味着广西的东方蜜蜂遗传资源的保护和利用还有很多工作要做。为此特提出以下建议：（1）在广西西北部的河池、百色等地，蜜粉资源丰富的地方建立广西东方蜜蜂遗传资源保护区，在保护区内通过原始饲养方式为主扩大种群数量，换王时利用自然王台，禁止人工育

王；（2）在养蜂技术发达的地区选育地方良种，并保持广西地方良种的遗传特征和丰富的遗传多样性；（3）加强东方蜜蜂饲养技术培训，在提高生产技术的同时，注重保护地方东方蜜蜂资源遗传结构和遗传多样性。

致谢：在样本采集中得到广西壮族自治区养蜂指导站原站长许政和各样点县市畜牧单位的大力支持，福建农林大学蜂学学院王青博士参与部分采样工作，本科生夏凤枝、赵伟、李玲玉、李悦伊等参与部分实验，在此表示感谢。

参考文献 (References)

Barton NH, Briggs DEG, Eisen JA, Goldstein DB, Patel NH, 2010. Evolution. New York: Gold Spring Harbor Laboratory Press. 460–478.

Chae WB, Hong SJ, Gifford JM, Rayburn AL, Sacks EJ, Juvik JA, 2015. Plant morphology, genome size, and SSR markers differentiate five distinct taxonomic groups among accessions in the genus *Miscanthus*. *Global Change Biology Bioenergy*, 6(6): 646–660.

Chen LZ, Ma KP, 2001. Biodiversity Science：Principles and Practice. Shanghai：Shanghai Science and Technical Publishers. 114–116. [陈灵芝, 马克平, 2001. 生物多样性科学: 原理与实践. 上海: 上海科学技术出版社. 114–116.]

China National Commission of Animal Genetic Resources, 2011. Animal genetic resources in China, Bees. Beijing: China Agriculture Press. 50–55. [国家畜禽遗传资源委员会, 2011. 中国畜禽遗传资源志·蜜蜂志. 北京: 中国农业出版社. 50–55.]

Demastes JW, Hafner DJ, Hafner MS, Light JE, Spradling TA, 2018. Loss of genetic diversity, recovery and allele surfing in a colonizing parasite, *Geomydoecus aurei*. *Molecular Ecology*, 28(4): 1–18.

Do C, Waples RS, Peel D, Macbeth GM, Tillett BJ, Ovenden JR, 2013. NeEstimator v2: Re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (*Ne*) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14(1): 209–214.

Elesawi MA, Germaine K, Bourke P, Malone R, 2016. Genetic diversity and population structure of *Brassica oleracea* germplasm in Ireland using SSR markers. *Comptes Rendus Biologies*, 339(3/4): 133–140.

Excoffier L, Lischer H, 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567.

Falush D，Stephens M, Pritchard JK, 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: Dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, 7(4): 574–578.

Gallai N, Salles JM, Settele J, Vaissière BE, 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68(3): 810–821.

Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I, Winfree R, Aizen MA, Bommarco R, Cunningham SA, Kremen C, Carvalheiro LG, Harder LD, Afik O, Bartomeus I, Benjamin F, Boreux V, Cariveau D, Chacoff NP, Dudenhöffer JH, Freitas BM, Ghazoul J, Greenleaf S, Hipólito J, Holzschuh A, Howlett B, Isaacs R, Javorek SK, Kennedy CM, Krewenka KM, Krishman S, Mandelik Y, Mayfield MM, Motzke I, Munyuli T, Nault BA, Otieno M, Petersen J, Pisanty G, Potts SG, Rader R, Ricketts TH, Rundlöf M, Seymour CL, Seymour CL, Schüepp C, Szentgyörgyi H, Taki H, Tscharntke T, Vergara CH, Viana BF, Wanger TC, Westphal C, Williams N, Klein AM, 2013. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science*, 39(6127): 1608–1611.

Garnery L, Cornuet JM, Solignac M, 1992. Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology*, 1(3): 145–154.

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, 周姝婧, 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.]

Harpur BA, Minaei S, Kent CF, Zayed A, 2012. Management increases genetic diversity of honey bees via admixture. *Molecular Ecology*, 21(18): 4414–4421.

Hirao AS, Watanabe M, Tsuyuzaki S, Shimono A, Li X, Masuzawa T, Wada N, 2017. Gentic diversity within populations of an arctic-alpine species declines with decreasing latitude across the northern hemisphere. *Journal of Biogeography,* 44(12): 1–12.

Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK, 2010. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9(5): 1322–1332.

Kass RE, Raftery AE, 1995. Bayes Factors. *Journal of the American Statistical Association*, 90(430): 773–795.

Kuwahara K, Suzuki R, Ito Y, Mikami T, Onodera Y, 2014. An analysis of genetic differentiation and geographical variation of spinach germplasm using SSR markers. *Plant Genetic Resources*, 12(2): 185–190.

Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.

Liu ZG, Ji T, Shen F, Liang Q, Luo YX, 2015. Genetic diversity of geographic populations of *Apis cerana cerana* estimated by

mitochondrial CO Ⅱ gene sequences. *Journal of Environmental Entomology*, 37(3): 567–575. [刘振国, 吉挺, 沈芳, 梁勤, 罗岳雄, 2015. 基于线粒体 COⅡ基因序列的中华蜜蜂地理种群的遗传多样性研究. 环境昆虫学报, 37(3): 567–575.]

Loucif-Ayad W, Achou M, Legout H, Alburaki M, Garnery L, 2015. Genetic assessment of Algerian honeybee populations by microsatellite markers. *Apidologie*, 46(3): 392–402.

Luo Q, Zhou SJ, Xu XJ, Zhu XJ, Jing PP, Zhou BF, 2015. Morphometric genetic differentiation of *Apis cerana* from Guizhou province. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University* (*Natural Science Edition*), 44(3): 298–302. [骆群, 周姝婧, 徐新建, 朱翔杰, 经翩翩, 周冰峰, 2015. 贵州东方蜜蜂形态遗传分析. 福建农林大学学报: 自然科学版, 44(3): 298–302.]

Machado AP, Clément L, Uva V, Goudet J, Roulin A, 2018. The Rocky mountains as a dispersal barrier between barn owl (*Tyto alba*) populations in north America. *Journal of Biogeography*, 45(6): 1–13.

Miguel I, Garnery L, Iriondo M, Baylac M, Manzano C, Sheppard WS, Estonba A, 2015. Origin, evolution and conservation of the honey bees from La Palma Island (Canary Islands): Molecular and morphological data. *Journal of Apicultural Research*, 54(5): 1–14.

Nikolova S, Bienkowska M, Gerula D, Ivanova E, 2015. Microsatellite DNA polymorphism in selectively controlled *Apis mellifera carnica* and *Apis mellifera caucasica* populations from Poland. *Archives of Biological Sciences*, 67(3): 889–894.

Palmer MR, Smith DR, Kaftanoglu O, 2000. Turkish honeybees: Genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA. *Journal of Heredity*, 91(1): 42–46.

Park SDE, 2001. Trypanotolerance in west african cattle and the population genetic effects of selection. Doctoral dissertation. Dublin: University of Dublin.

Peakall ROD, Smouse PE, 2006. Genalex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1): 288–295.

Qin HR, Xu Z, Hu JJ, Ou HZ, 2016. *Apis cerana* situation and development strategy in Guangxi. *Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 32(1): 13–17. [秦汉荣, 许政, 胡军军, 欧海珠, 2016. 我区中蜂产业现状与发展对策. 广西畜牧兽医, 32(1): 13–17.]

R Core Team, 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

Ren Q, Cao LF, Zhao HX, Wang RS, Chen S, Luo WH, Cao L, Ji CH, 2018. Analysis of genetic diversity of main *Apis cerana* populations in China. *Journal of Henan Agricultural University*, 52(1): 91–95. [任勤, 曹联飞, 赵红霞, 王瑞生, 程尚, 罗文华, 曹兰, 姬聪慧, 2018. 中国主要东方蜜蜂种群的遗传多样性分析. 河南农业大学学报, 52(1): 91–95.]

Ren W, Hu L, Guo L, Zhang J, Tang L, Zhang E, Zhang J, Luo S, Tang J, Chen X, 2018. Preservation of the genetic diversity of a local common carp in the agricultural heritage rice-fish system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(3): E546–E554.

Rousset F, 2008. genepop'007: A complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1): 103–106.

Ruttner F, 1988. Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Berlin: Springer. 66–78.

Sluijs JP, Simon-Delso N, Goulson D, Maxim L, Bonmatin JM, Belzunces LP, 2013. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 5(3/4): 293–305.

Smith DR, Hagen RH, 1996. The biogeography of *Apis cerana* as revealed by mitochondrial DNA sequence data. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 69(Suppl.): 294–310.

Stanley J，Sah K，Subbanna A，Preetha G, Gupta J, 2017. How efficient is *Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae) in pollinating cabbage, *Brassica oleracea* var. capitata? Pollination behavior, pollinator effectiveness, pollinator requirement, and impact of pollination. *Journal of Economic Entomology*, 110(3):826–834.

Stoffel MA, Humble E, Paijmans AJ, Acevedo-Whitehouse K, Chilvers BL, Dickerson B, Galimberti F, Gemmell NJ, Goldsworthy SD, Nichols HJ, Krüger O, Negro S, Osborne A, Pastor T, Robertson BC, Sanvito S, Schultz JK, Shafer ABA, Wolf JBW, Hoffman JI, 2018. Demographic histories and genetic diversity across pinnipeds are shaped by human exploitation, ecology and life-history. *Nature Communications*, 9(1): 1–12.

Takezaki N, Nei M, Tamura K, 2010. POPTREE2: Software for constructing population rrees from allele frequency data and computing other population statistics with Windows Interface. *Molecular Biology & Evolution*, 27(4): 747–752.

Tan K, Qu YF, Wang ZW, Liu ZW, Engel MS, 2016. Haplotype diversity and genetic similarity among populations of the eastern honey bee from Himalaya-Southwest China and Nepal (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 47(2): 197–205.

Tian SH, Zhao ZL, Zhao HT, Ma WH, Yang SS, Meng J, Jiang YS, 2014. Study of the population structure of *Apis cerana* based on mitochondrial gene variation. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(2): 448–459. [田嵩浩, 赵照林, 赵慧婷, 马卫华, 杨珊珊, 孟娇, 姜玉锁, 2014. 基于线粒体基因的东方蜜蜂群体亚分化研究. 应用昆虫学报, 51(2): 448–459.]

Wang CY, 2008. Evolutionary Ecology. Beijing: Higher Education Press. 61–90, 108–123. [王崇云, 2008. 进化生态学. 北京: 高等教育出版社. 61–90, 108–123.]

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(自科版), 46(1): 84–90.]

Wei L, Li XY, Huang Y, Shi XW, 2004. Advance and summarize in genetic markers. *Animal Science and Veterinary Medicine*, 21(10): 42–45. [魏麟, 黎晓英, 黄英, 史宪伟, 2004. 遗传标记及其发展概述. 动物科学与动物医学, 21(10): 42–45.]

Xiang XJ, Li C, Li L, Bian YB, Kwan HS, Nong WY, Cheung MK, Xiao Y, 2016. Genetic diversity and population structure of Chinese Lentinula edodes revealed by InDel and SSR markers. *Mycological Progress*, 15(4): 37.

Xu XJ, Zhu XJ, Zhou SJ, Wu XD, Zhou BF, 2013. Genetic differentiation between *Apis cerana cerana* populations from Damen Island and adjacent mainland in China. *Acta Ecologica Sinica*, 33(3): 122–126.

Xu XJ, Zhou SJ, Zhu XJ, Zhou BF, 2013a. Microsatellite DNA analysis of genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Hainan island, southern China. *Acta Entomologica Sinica*, 56(5): 554–560. [徐新建, 周姝婧, 朱翔杰, 周冰峰, 2013a. 海南岛中华蜜蜂遗传多样性的微卫星 DNA 分析. 昆虫学报, 56(5): 554–560.]

Xu XJ, Zhou SJ, Zhu XJ, Zhou BF, 2013b. Microsatellite DNA genetic diversity of *Apis cerana cerana* from the Loess plateau, northweest China. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University* (*Natural Science Edition*), 42(6): 638–642. [徐新建, 周姝婧, 朱翔杰, 周冰峰， 2013b. 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 GH, 2001. China Honey Bee *Apis cerana*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press. 10–12. [杨冠煌, 2001. 中华蜜蜂. 北京: 中国农业科技出版社. 10–12.]

Yu YL, Zhou SJ, Xu XJ, Zhu XJ, Yang KJ, Chen DY, Zhou BF, 2017. Genetic diversity and genetic differentiation of *Apis cerana* in Guizhou province of southwest China. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University* (*Natural Science Edition*), 46(3): 323–328. [于瀛龙, 周姝婧, 徐新建, 朱翔杰, 杨凯杰, 陈道印, 周冰峰, 2019. 贵州省东方蜜蜂微卫星 DNA 遗传分化与遗传多样性分析. 福建农林大学学报(自然科学版), 46(3): 323–328.]

Yu YL, Zhou SJ, Xu XJ, Zhu XJ, Zhou BF, 2013. Analysis on genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Changbai Mountains. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University* (*Natural Science Edition*), 42(6): 643–647. [于瀛龙, 周姝婧, 徐新建, 朱翔杰, 周冰峰, 2013. 长白山中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)遗传多样性分析. 福建农林大学学报(自然科学版), 42(6): 643–647.]

Zhao JC, Wu YF, 2002. Bioresources Science. Beijing: Science Press. 1–8. [赵建成, 吴跃峰, 2002. 生物资源学. 北京: 科学出版社. 1–8.]

Zhao WZ, Wang M, Liu YQ, Gong XY, Dong K, Zhou DY, He SY, 2016. Phylogeography of *Apis cerana* populations on Hainan island and southern mainland China revealed by microsatellite polymorphism and mitochondrial DNA. *Apidologie*, 48(1): 63–74.

Zhou SJ, Xu XJ, Zhu XJ, Gao JL, Zhou BF, 2012. Genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Hainan based on mitochondrial DNA. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University* (*Natural Science Edition*), 41(2): 170–175. [周姝婧, 徐新建, 朱翔杰, 高景林, 周冰峰, 2012. 海南中华蜜蜂线粒体 DNA 的遗传多样性. 福建农林大学学报(自然版), 41(2): 170–175.]

Zhou SJ, Zhu XJ, Xu XJ, Gao JL, Zhou BF, 2018. Multivariate morphometric analysis of local and introduced populations of *Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae) on Hainan island, China. *Journal of Apicultural Research*, 57(3): 374–381.

Zhou SJ, Zhu XJ, Xu XJ, Wu XD, Zhou BF, 2016. Genetic variation and genetic diversity of *Apis cerana* from Fujian province based on mitochondrial DNA sequence analysis. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University* (*Natural Science Edition*), 45(3): 310–315. [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. 福建师大学报(自然科学版), 45(3): 310–315.]

Zhou SJ, Zhu XJ, Xu XJ, Zheng XJ, Zhou BF, 2016. Assessing of geometric morphometrics analyses in microtaxonomy of the *Apis cerana* Fabricius (Hymenoptera: Apidae) within China. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 89(4): 297–305.

Zhu XJ, Xu XJ, Zhou SJ, Wu XD, Zhou BF, 2011. Genetic analysis of *Apis cerana cerana* in Wuyi Mountain nature reserve based on microsatellite DNA. *Fujian Journal of Apicultural Sciences*, 26(6): 935–940. [朱翔杰, 徐新建, 周姝婧, 吴显达, 周冰峰, 2011. 武夷山自然保护区中华蜜蜂微卫星 DNA 遗传分析. 福建农业学报, 26(6): 935–940.]

Zhu XJ, Zhou BF, Wu XD, Xu XJ, Wang Q, 2009. Morphometric genetic analysis: Population differentiation of *Apis cerana cerana* in Damen Island. *Apiculture of China*, 60(1): 5–7. [朱翔杰, 周冰峰, 吴显达, 徐新建, 王青, 2009. 大门岛中华蜜蜂种群分化形态遗传分. 中国蜂业, 60(1): 5–7.]

Zhu XJ, Zhou BF, Wu XD, Xu XJ, Xia XC, 2011. Genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Fujian based on microsatellite markers. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University* (*Natural Science Edition*), 40(4): 407–411. [朱翔杰, 周冰峰, 吴显达, 徐新建，夏晓翠, 2011. 福建中华蜜蜂微卫星标记的遗传多样性分析. 福建农林大学学报(自然版), 40(4): 407–411.]

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.