



<https://tbj.ui.ac.ir/?lang=en>

**Taxonomy and Biosystematics**

E-ISSN: 2322-2190

Document Type: Research Paper

Vol. 14, Issue 4, No.53, (2023), P: 113-130

Received: 08/04/2023 Accepted: 27/05/2023

## **A Study of Honey Bee (*Apis mellifera* L. 1758) Population in Some Regions in Northwest Iran Using the Geometric Morphometric Method**

**Zahra Zaboli**

B.Sc Student, Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran  
z.zaboli2024@mehr.ui.ac.ir

**Roohollah Abbasi\***

Assistant Professor, Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran  
r.abbasi@bio.ui.ac.ir

### **Abstract**

The honey bee is one of the most economically important insect species due to its crucial role in the pollination of agricultural and non-agricultural plants, as well as its direct product contributions. The western honey bee, *Apis mellifera*, now considered a cosmopolitan species due to its widespread distribution by humans, originated in Africa, Europe, and West Asia. This study aimed to evaluate the diversity of this bee in parts of northwest Iran. Worker bees were collected from six study stations in West Azerbaijan and East Azerbaijan provinces and assessed using the geometric morphometric method. Changes in the size and shape of the forewings and hindwings were investigated using 16 homologous landmarks at the bifurcation of the wings. Regarding the size of the forewings and hindwings, the Chahar Borj population of West Azerbaijan had the largest, while the Malekan population of East Azerbaijan had the smallest wings. Significant differences were observed between all the study stations of East Azerbaijan and those of West Azerbaijan. In terms of forewing shape, significant differences were found in all pairwise comparisons except between the populations of Sahand Mountain and Kordeh Deh village. However, for the hindwing, significant differences were observed in only three pairwise comparisons. Additionally, the regression analysis revealed that, unlike the hindwing, changes in the forewing's size and shape are interdependent, with allometry also being observed. This study demonstrates that despite the geographical proximity of the study stations, significant diversity exists in the bee populations.

**Key words:** Honey Bee, *Apis Mellifera*, Geometric Morphometrics, Landmark, Forewing, Hindwing.

### **Introduction**

Bees are insects with a lineage dating back 120 million years. Honey bees include 10 species belonging to the genus *Apis*, of which the species *Apis mellifera* has become a cosmopolitan species with the help of humans. Honey bees produce valuable products for humans and play a crucial role in crop pollination. In recent years, this species has experienced a global decline due to factors such as habitat destruction, pollution, pesticides, and diseases. One aspect that can aid in the adaptation of bees and better equip them to face these challenges is genetic diversity. In this study, the morphological

\*Corresponding author

Zaboli, Z. & Abbasi, R. (2023). A study of honey bee (*apis mellifera* l. 1758) population in some regions in northwest iran using the geometric morphometric method. *Taxonomy and Biosystematics*, 14 (53), 113-130.

2322-2190 © The Author(s). Published by University of Isfahan

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>).



<http://dx.doi.org/10.22108/tbj.2023.137283.1228>



<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20088906.1401.14.53.6.1>



diversity of honey bees, which can sometimes reflect genetic diversity, was investigated in areas of northwest Iran using the geometric morphometric method. This approach is expected to provide insights into the adaptability and resilience of honey bee populations in these regions.

### **Materials and Methods**

A total of 218 bees were collected from 6 study stations located in West Azerbaijan and East Azerbaijan provinces during the spring and summer of 2022 with the cooperation of beekeepers and were transferred to the laboratory and placed in ethanol. Microscopic slides of the right forewing and hindwing of 180 bees were prepared and were photographed using a stereomicroscope equipped with a camera. The number of 16 landmarks in the forewing and 5 landmarks in the hindwing were selected at the bifurcation of the wings and were landmarked using tpsDig2 software. The coordinates of the landmarks were also saved. Then, these coordinates were statistically analyzed in different pieces of software in order to detect possible differences in the shape and size of the fore and hindwings in different populations.

### **Research Findings**

In terms of the size of the forewings and hindwings, comparisons between the populations revealed diversity. The average centroid size of the forewings and hindwings indicated that the Chahar Borj honey bee population had the largest wings, while the Malekan honey bee population had the smallest. A one-way non-parametric Kruskal-Wallis Analysis of Variance, along with its post hoc tests on the centroid size data of the forewings and hindwings, revealed significant differences among most of the populations. Regarding the general shape of the forewings and hindwings, various analyses, including Principal Component Analysis, Canonical Variate Analysis, and Multivariate Analysis of Variance, highlighted diversity and significant differences between the populations. Cluster Analysis of the populations based on forewing and hindwing data further divided these populations into three distinct clusters. In examining the relationship between wing size and shape, Regression Analysis indicated the presence of allometry solely in the forewing.

### **Discussion of Results and Conclusion**

Economically, honey bees are one of the most important insect species. Both morphological and molecular characteristics are employed to evaluate their diversity and to differentiate between populations and species. In recent years, geometric morphometry has been increasingly utilized to distinguish between species, subspecies, and populations. In this study, geometric morphometrics was applied to assess the diversity of the forewings and hindwings of bees. The results revealed that despite the sampled populations being located in a relatively small geographical area, they exhibited a considerable amount of diversity. This finding is significant because a lack of population diversity in honey bees renders them more vulnerable to pests, diseases, and the impacts of climate change. The study underscores the importance of understanding and preserving the genetic and morphological diversity within bee populations to enhance their resilience against environmental challenges.

### **Acknowledgment**

The authors wish to express their sincere gratitude to the journal officials and referees for their valuable contributions. This study was conducted with the financial support of the University of Isfahan and the award granted by the late Dr. Kazemi Ashtiani of the National Elite Foundation, dedicated to young assistant professors. We extend our heartfelt thanks to both these esteemed institutions for their support and assistance.

## مطالعه جمعیتی زنبور عسل (*Apis mellifera* L. 1758) در برخی مناطق شمال غرب ایران با روش مورفومتریک هندسی

زهرا زابلی، دانشجوی کارشناسی، گروه زیست‌شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران  
z.zaboli2024@mehr.ui.ac.ir

روح‌الله عباسی\*، استادیار، گروه زیست‌شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران  
r.abbasi@bio.ui.ac.ir

### چکیده

زنبور عسل به دلیل داشتن نقش مهم در گرده‌افشانی گیاهان زراعی و غیر زراعی و نیز به دلیل محصولاتی که به طور مستقیم تولید می‌کند، یکی از مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین گونه‌های حشرات است. زنبور عسل غربی (*Apis mellifera*) که به دلیل پراکنش گسترده آن توسط انسان، اکنون گونه‌ای جهان‌شمول محسوب می‌شود، از آفریقا، اروپا و غرب آسیا منشأ گرفته است. برای سنجش تنوع جمعیتی این زنبور در بخش‌هایی از شمال غرب کشور، جمعیت‌های زنبور عسل کارگر از شش ایستگاه مطالعاتی در استان‌های آذربایجان غربی و شرقی جمع‌آوری و با استفاده از روش مورفومتریک هندسی ارزیابی شد. تغییرات اندازه و شکل بال جلو و عقب با استفاده از ۱۶ لندمارک همولوگ در محل انشعاب رگبال‌ها بررسی شد. جمعیت زنبور عسل چهاربورج آذربایجان غربی دارای بزرگ‌ترین و جمعیت زنبور عسل ملکان آذربایجان شرقی دارای کوچک‌ترین بال‌های جلو و عقب بود و جمعیت‌های همه ایستگاه‌های مطالعاتی آذربایجان شرقی در مقایسه با آذربایجان غربی اختلاف معنی‌دار داشت. از نظر شکل بال جلو، تمام جمعیت‌های مقایسه‌شده به جز جمعیت کوه سهند و روستای کرده‌ده با هم اختلاف معنی‌دار داشتند؛ اما در بال عقب این اختلاف فقط در سه مقایسه دیده شد؛ همچنین تحلیل رگرسیون نشان داد برخلاف بال عقب، تغییرات اندازه بال و تغییرات شکل بال در بال جلو به هم وابسته هستند و آلومتری دیده می‌شود. این مطالعه نشان داد با وجود نزدیکی بودن ایستگاه‌های مطالعاتی به یکدیگر، تنوع در جمعیت زنبورها مشاهده می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** زنبور عسل، *Apis mellifera*، مورفومتریک هندسی، لندمارک، بال جلو، بال عقب.

### مقدمه

گیاهان گلدار را گرده‌افشانی می‌کرده‌اند. در طول صد میلیون سال گذشته، زنبورها و گیاهان گلدار به گونه‌ای تکامل یافته‌اند که بدون یکدیگر روی زمین یافت

زنبورها از زمانی که دایناسورها در بیش از ۱۲۰ میلیون سال پیش روی زمین راه می‌رفتند، پرواز و

\* مسئول مکاتبات

زابلی، زهرا و عباسی، روح‌الله. (۱۴۰۱). مطالعه جمعیتی زنبور عسل (*Apis mellifera* L. 1758) در برخی مناطق شمال غرب ایران با روش مورفومتریک هندسی. تاکسونومی و بیوسیتماژیک، ۱۴(۵۳)، ۱۱۳-۱۳۰.



زیرگونه‌ها، *Apis mellifera meda* Skorikov 1929b (زنبور عسل ایرانی) و *Apis mellifera anatoliaca* Maa 1953 (زنبور عسل آناتولی) متعلق به دودمان A (فرعی Z) و همچنین *Apis mellifera remipes* Gerstäcker 1 متعلق به دودمان O، به نظر می‌رسد در ایران پراکنش داشته باشند (Ilyasov et al., 2020).

گرده‌افشان‌های وحشی و زنبورهای عسل به دلیل فعالیت‌های انسانی مانند تخریب زیستگاه، آلودگی، آفت‌کش‌ها و بیماری‌ها کاهش جهانی را در سطوح مختلف تجربه می‌کنند (Kükre et al., 2021)؛ علاوه بر این زنبورهای عسل بومی در نتیجه اختلاط ژنتیکی به دلیل فعالیت‌های تجاری، مانند جایگزینی زنبورهای عسل محلی با گونه‌های غیر بومی و شیوه‌های زنبورداری که کلنی‌ها را بین مناطق جغرافیایی جابجا می‌کند، از انقراض محلی رنج می‌برند (De La Rúa et al., 2009). این چالش‌ها تأثیرات منفی بر جمعیت زنبور عسل دارند و به طور احتمالی به انقراض آنها کمک می‌کنند؛ اما گاهی اوقات جمعیت‌های بومی به دلیل ساختار ژنتیکی خود با این چالش‌ها بهتر مواجه می‌شوند (Büchler et al., 2014). تنوع، کلید سازگاری با این شرایط است؛ بنابراین مطالعه تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی زنبور عسل و حفظ و نگهداری آن در سطوح مختلف، یعنی سطوح جمعیت و زیرگونه‌ها، برای حفاظت از گونه‌ها و اکوسیستم‌های زنبورهای عسل و خدمات اقتصادی ارائه شده توسط آنها، اهمیت زیادی دارد (Kükre et al., 2021).

نمی‌شوند. زنبورها علاوه بر نقش مهمی که در گرده‌افشانی و تأمین امنیت غذایی دارند، محصولات باارزش دیگری مانند عسل، موم، بره‌موم و ژل رویال را در اختیار ما قرار می‌دهند که در ساخت سایر محصولات باارزش مانند داروها، شربت‌ها، شمع‌ها، مرهم‌ها، پمادها، محصولات آرایشی، محصولات مرتبط با مو و غیره استفاده می‌شوند (Cardinal & Danforth, 2013; Kane & Faux, 2021).

به طور کلی، آنچه که زنبور عسل نامیده می‌شود شامل ۱۰ گونه متعلق به جنس *Apis*، خانواده Apidae و راسته Hymenoptera است. زنبور عسل غربی، *Apis mellifera* به طور طبیعی در غرب آسیا، اروپا و آفریقا پراکنش دارد (Engel, 1999; Arias & Sheppard, 2012; Han et al., 2005)؛ اما اهلی‌سازی و انتقال این گونه توسط انسان، آن را به گونه‌ای جهان‌وطن تبدیل کرده است که در سراسر جهان به جز قطب جنوب و بسیاری از جزایر اقیانوسی پراکنده شده است (Ruttner, 1988; Hung et al., 2018). نه گونه دیگر *Apis* به طور انحصاری در آسیا یافت می‌شود (Han et al., 2012). پژوهش‌های مورفولوژیک و مولکولی پنج دودمان اصلی تکاملی زنبورهای عسل شامل A (آفریقا) و زیرنژاد آن Z، M (اروپای غربی و شمالی)، C (اروپای شرقی)، O (خاور نزدیک و آسیای مرکزی) و Y (شرق آفریقا و شبه‌جزیره عربی) با بیش از ۳۳ زیرگونه (که نژادهای جغرافیایی نیز نامیده می‌شود) را نشان می‌دهد (Ruttner, 1988; Requier et al., 2019; Ilyasov et al., 2020).

از سیستم تجزیه و تحلیل تصویر متشکل از استریومیکروسکوپ Nikon SMZ-2B شرکت نیکون (Nikon: 9-16, Ohi 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokyo 140, Japan) و دوربین دیجیتال میکروسکوپ شرکت سلسترون (Celestron: 2835 Columbia St. Torrance, California 90503 U.S.A) متصل به رایانه تصویربرداری شد. اسلایدها تا حد امکان در جهت یکسان و مشابه در زیر استریومیکروسکوپ قرار گرفت. تمام تصاویر با درشت‌نمایی ۰/۶ گرفته و تصاویر مربوط به نمونه‌های هر جمعیت در پوشه‌های جداگانه‌ای در رایانه ذخیره شد.

### عددی کردن تصاویر و آماده‌سازی داده‌ها برای تجزیه و تحلیل آماری

تعداد ۱۶ لندمارک در بال جلو و پنج لندمارک در بال عقب در محل انشعاب رگبال‌ها انتخاب شد. لندمارک گذاری روی تصاویر در محیط نرم‌افزار tpsdig2 نسخه ۶۴ بیت ویرایش ۲/۳۲ (Rohlf, 2015) صورت گرفت و فایل مختصات لندمارک tps برای هر جمعیت ایجاد شد. لندمارک گذاری با ترتیب یکسانی (شکل ۲) در همه تصاویر صورت گرفت و تصاویری که به هر دلیل فاقد موقعیت هر کدام از لندمارک‌ها بود، از لندمارک گذاری حذف شد. در نهایت، داده‌های لندمارک مربوط به تمام جمعیت‌ها با ترتیب مشخص شده در جدول ۱ در فایلی ذخیره و آماده تجزیه و تحلیل شد.

تعداد مطالعات متمرکز بر جمعیت زنبور عسل ایران رو به افزایش است. در این مطالعات از روش‌های مورفولوژیکی (Tahmasebi et al., 1998; Parichehreh Dizji et al., 2017; Boulhasani, et al., 2018; Dadgostar et al., 2020a; Dadgostar, et al., 2020b) و روش‌های مولکولی (Rahimi et al., 2016, 2018, 2022; Salehi & Nazemi-Rafie, 2020) برای بررسی ساختار جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی *Apis mellifera meda* استفاده شده است. در پژوهش حاضر، از روش مورفومتریک هندسی برای بررسی تفاوت بین جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مکان‌های مختلف استان‌های آذربایجان غربی و شرقی استفاده شده است.

### مواد و روش‌ها

#### نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها

تعداد ۲۱۸ عدد زنبور کارگر از شش ایستگاه مطالعاتی واقع در استان‌های آذربایجان غربی و آذربایجان شرقی (جدول ۱) طی بهار و تابستان ۱۴۰۱ با همکاری زنبورداران جمع‌آوری، به آزمایشگاه منتقل و در اتانول قرار داده شد. به اذعان زنبورداران، زنبورهای منطقه از نژاد قفقازی هستند. نمونه‌ها با تکاندن کادر داخل کندو به داخل کیسه پلاستیکی جمع‌آوری شد. بال جلو و عقب سمت راست ۱۸۰ زنبور به دقت جدا شد و روی لام قرار گرفت و بال‌های آسیب‌دیده در ساخت لام استفاده نشد. بعد از اضافه کردن یک قطره اتانول روی بال‌ها، لامل روی آنها قرار گرفت و اسلاید بال آماده شد. اسلایدهای آماده شده بلافاصله با استفاده



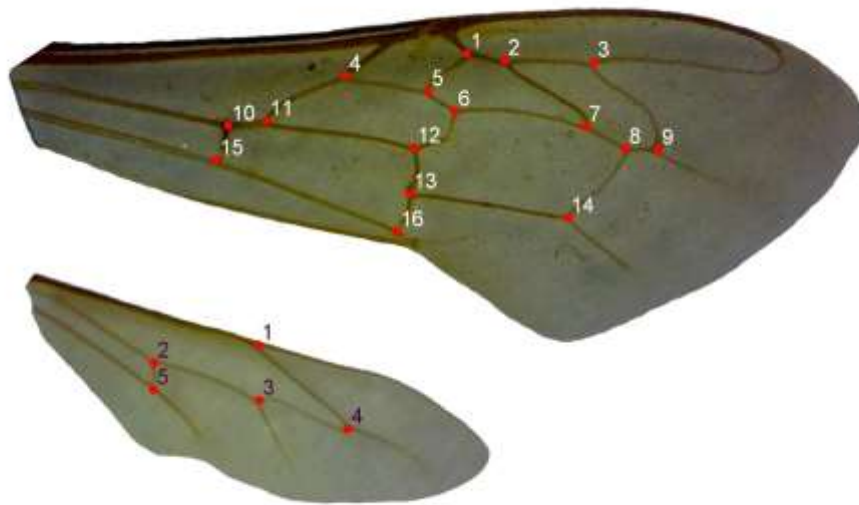
شکل ۱- ایستگاههای مطالعاتی در استانهای آذربایجان غربی (نقده، چهاربورج و میاندوآب) و آذربایجان شرقی (مراغه، سهند و ملکان). (تصویر از Google Earth گرفته شده است.)

Figure 1 - Study stations in West Azerbaijan (Naqadeh, Chahar Borj, and Miandoab) and East Azerbaijan (Maragheh, Sahand, and Malekan) provinces. (Image taken from Google Earth.)

جدول ۱- مشخصات ایستگاههای نمونه برداری، تعداد کل نمونه های جمع آوری شده، تعداد اسلایدهای ساخته شده و لندمارک شده و جایگاه هر جمعیت در ماتریس داده کل به تفکیک بال جلو و بال عقب

Table 1 - Characteristics of the sampling stations, total number of collected samples, number of prepared and landmarked slides, and the position of each population in the overall data matrix, differentiated by forewing and hindwing.

ردیف	شهرستان/شهر	محل نمونه برداری	مختصات جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	تعداد کل نمونه ها	اسلایدهای ساخته شده	لندمارک گذاری بال جلو	لندمارک گذاری بال عقب	جمعیت در ماتریس داده
1	نقده	قره داغ تپه	36°57'34" N 45°23'18" E	1500	45	30	30	30	1-30
2	چهاربورج	منطقه مرحمت آباد	37°07'41.3" N 45°58'18.4" E	1282	30	30	29	30	31-60
3	میاندوآب	جان آقا تپه	36°58'10" N 46°06'10" E	1314	40	30	30	30	61-90
4	مراغه	روستای کرده ده	37°30'40" N 46°25'50" E	1980	33	30	30	29	91-119
5	مراغه	کوه سهند	37°43'51" N 46°30'00" E	3500	36	30	29	30	120-149
6	ملکان	ملکان	37°08'45" N 46°06'10" E	1302	34	30	30	29	150-178



شکل ۲- لندمارک گذاری با استفاده از نرم افزار tpsDig2: بال جلو دارای ۱۶ لندمارک و بال عقب دارای پنج لندمارک طبق ترتیب نشان داده شده است.  
Figure 2 - Landmarking using tpsDig2 software: The forewing has 16 landmarks and the hindwing has five landmarks, as indicated in the shown sequence.

استفاده از ماتریس وزنی و ماتریس اندازه مرکزی و با کمک بسته نرم افزاری tpsRegr نسخه ۶۴ بیت ویرایش ۱/۵۰ (Rohlf, 2015) محاسبه شد. تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (Principle Component Analysis) به عنوان ابزاری برای بررسی الگوهای تنوع در جمعیت با استفاده از ماتریس واریانس - کوواریانس و تجزیه و تحلیل متغیر کانونی (Canonical Variate Analysis) برای تجزیه و تحلیل و آزمون تفاوت بین جمعیت‌ها به ترتیب با استفاده از نرم افزار MorphoJ و NTSYSpc ویرایش ۲/۰۲ (Rohlf, 2000) صورت گرفت. تحلیل واریانس تک متغیره غیر پارامتری Kruskal-Wallis روی داده‌های اندازه مرکزی برای تشخیص تفاوت در اندازه بال‌ها در جمعیت‌ها به همراه آزمون تعقیبی (آزمون Dunn's) برای بررسی تفاوت‌های احتمالی بین هر جفت از جمعیت‌های مقایسه شده انجام شد. تحلیل واریانس چندمتغیره PERMANOVA یک طرفه روی

## تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

ماتریس داده کل لندمارک‌ها به تفکیک بال جلو و بال عقب وارد نرم افزار MorphoJ ویرایش 1.07a (Klingenberg, 2011) و برای احتمال وجود داده‌های خارج از محدوده (Outlier) ناشی از اشتباهات احتمالی در رعایت ترتیب لندمارک‌ها در لندمارک گذاری، ارزیابی شد؛ سپس به منظور حذف تغییرات غیر شکلی و تراز کردن و انطباق (Superimposition) لندمارک‌ها، تحلیل پروکراستی تعمیم یافته (Generalized Procrustes Analysis) در نرم افزار MorphoJ و tpsRelw نسخه ۶۴ بیت ویرایش ۱/۷۵ (Rohlf, 2015) انجام شد. ماتریس اندازه مرکزی و ماتریس وزنی محاسبه شده توسط نرم افزار tpsRelw برای بال جلو و بال عقب به طور جداگانه به منظور تجزیه و تحلیل‌های بعدی ذخیره شد. اثر آلومتریک برای ارزیابی اینکه آیا رابطه‌ای بین تغییرات شکل و اندازه وجود دارد یا خیر با

نمونه تک‌متغیره از جمعیت‌های با میانگین یکسان گرفته شده است. فرض می‌شود که نمونه‌ها نزدیک به توزیع نرمال و دارای واریانس‌های مشابهی هستند. اگر تعداد نمونه‌های جمعیت‌ها برابر باشد، این دو فرض، حیاتی نیست؛ اما اگر مفروضات به شدت نقض شود، باید به جای آن از تحلیل واریانس یک‌طرفه غیرپارامتری Kruskal-Wallis استفاده شود. نتایج آزمون نرمال Shapiro-Wilk و آزمون همگنی Levene's روی داده‌های اندازه مرکزی بال‌های جلو و عقب به طور جداگانه نشان داد که برخی از جمعیت‌ها از توزیع نرمال داده‌ها و همگنی واریانس میانگین‌ها پیروی نمی‌کنند؛ در نتیجه با توجه به نابرابر بودن تعداد نمونه‌ها در جمعیت‌ها، استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه معمول ممکن نیست. تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه غیرپارامتری Kruskal-Wallis روی داده‌های کل اندازه مرکزی بال جلو و بال عقب به طور جداگانه برای بررسی تفاوت‌های احتمالی معنی‌دار بین جمعیت‌ها و درون جمعیت‌ها انجام شد و آزمون تعقیبی (آزمون Dunn's) برای بررسی تفاوت‌های احتمالی بین هر جفت از جمعیت‌های مقایسه‌شده انجام شد. نتایج تحلیل واریانس Kruskal-Wallis روی اندازه مرکزی نشان داد بین جمعیت‌ها از نظر اندازه بال جلو ( $P=1.536E-29$ ) و بال عقب ( $P=6.714E-28$ ) اختلاف معنی‌دار وجود دارد و نتایج آزمون تعقیبی دان نیز نشان داد که بیشتر جمعیت‌های مقایسه‌شده با هم اختلاف معنی‌دار دارند (جدول ۲). از میان جمعیت‌های بررسی‌شده در رابطه با اندازه مرکزی بال جلو، تنها جمعیت‌های نقده - چهاربورج، نقده - میاندوآب، چهاربورج - میاندوآب، روستای کرده‌ده - کوه سهند، روستای کرده‌ده - ملکان و کوه سهند - ملکان فاقد اختلاف معنی‌دار بود؛

داده‌های مختصات لندمارکی انطباق‌یافته با تحلیل پروکراستی برای تشخیص تفاوت در شکل بال‌ها در جمعیت‌ها توسط نرم‌افزار PAST v4.12 (Hammer et al., 2001) با ۹۹۹۹ جایگشت (Permutation) به همراه آزمون تعقیبی Bonferroni-corrected انجام شد. آزمون‌های جایگشت برخلاف نسخه‌های پارامتریک MANOVA به فرضیاتی مانند نرمال بودن داده‌ها نیاز ندارند. خوشه‌بندی یا تحلیل خوشه‌ای روی داده‌های ماتریس وزنی برای تشخیص ارتباطات فنتیک بین جمعیت‌های مطالعه‌شده توسط نرم‌افزار NTSYSpc انجام شد.

## نتایج

### تنوع اندازه بال جلو و بال عقب

اندازه مرکزی که با ریشه دوم مجموع مربع فاصله هر لندمارک تا مرکز آرایش فضایی لندمارک‌های هر نمونه محاسبه می‌شود، به عنوان اندازه هندسی هر نمونه معرفی می‌شود. میانگین اندازه مرکزی در بال جلو، جمعیت زنبورهای عسل چهاربورج را واجد بزرگ‌ترین بال‌ها و جمعیت زنبورهای عسل ملکان را دارای کوچک‌ترین بال‌ها نشان داد (تصویر سمت چپ شکل ۳)؛ همچنین میانگین اندازه مرکزی در بال عقب، جمعیت زنبورهای عسل چهاربورج را واجد بزرگ‌ترین بال‌ها و جمعیت زنبورهای عسل ملکان را دارای کوچک‌ترین بال‌ها نشان داد (تصویر سمت راست شکل ۳).

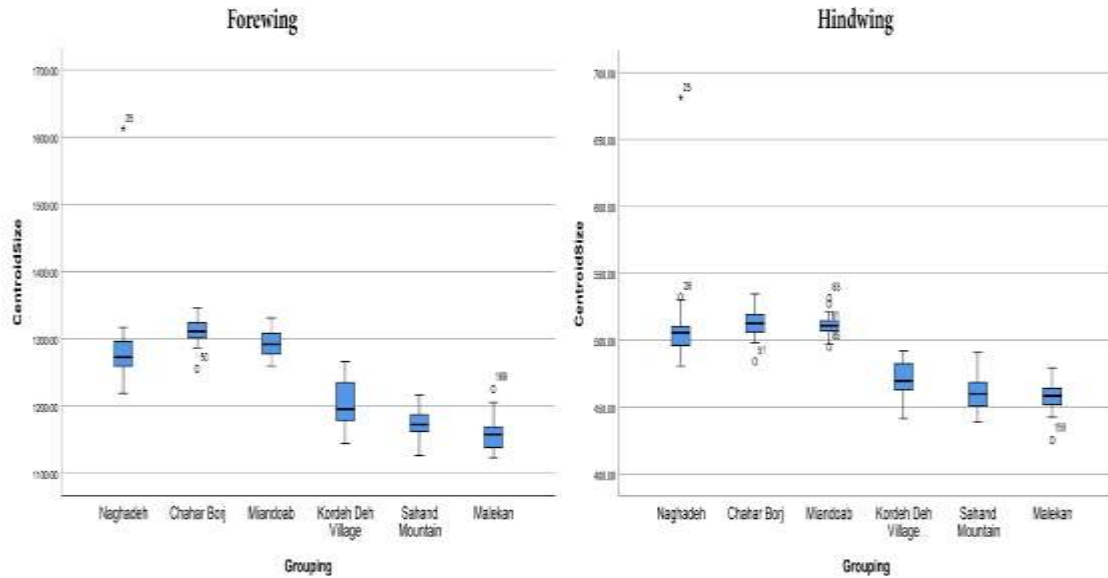
### تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA)

تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) روشی آماری برای آزمایش این فرضیه صفر است که چندین



یادشده فوق فاقد اختلاف معنی دار بود (جدول ۲).

همچنین از میان جمعیت‌های بررسی شده در رابطه با اندازه مرکزی بال عقب، با الگوی مشابهی جمعیت‌های



شکل ۳- میانگین اندازه مرکزی در بال جلو (تصویر سمت چپ) و بال عقب (تصویر سمت راست). جمعیت زنبور عسل چهاربورج دارای بزرگ‌ترین و جمعیت زنبور عسل ملکان دارای کوچک‌ترین بال‌های جلو و عقب است.

Figure 3 - Average centroid size in the forewing (left image) and hindwing (right image). The Chahar Borj honey bee population has the largest, and the Malekan honey bee population has the smallest forewings and hindwings.

جدول ۲- نتایج آزمون روی اندازه مرکزی بال جلو و بال عقب. مقادیر Bonferroni Corrected p-values در سمت راست و مقادیر z statistic در سمت چپ جدول است.

Table 2 - Results of Dunn's test (post hoc) on the centroid size of the forewing and hindwing. Bonferroni Corrected p-values are on the right side and z statistic values are on the left side of the table.

ملکان	کوه سهند	روستای کرده‌ده	میاندوآب	چهاربورج	نقده	ایستگاه مطالعاتی
6.579	5.379	3.891	1.178	2.804	-	نقده
9.327	8.114	6.661	1.636	-	0.07583	چهاربورج
7.757	6.546	5.068	-	1	1	میاندوآب
2.688	1.521	-	6.02E-06	4.07E-10	0.001498	روستای کرده‌ده
1.145	-	1	8.86E-10	7.37E-15	1.13E-06	کوه سهند
-	۱	0.1077	1.31E-13	1.64E-19	7.10E-10	ملکان
6.385	6.156	4.561	1.21	1.511	-	نقده
7.883	7.667	6.059	0.3006	-	1	چهاربورج
7.585	7.366	5.761	-	1	1	میاندوآب
1.809	1.542	-	1.26E-07	2.06E-08	7.64E-05	روستای کرده‌ده
0.2821	-	۱	2.64E-12	2.65E-13	1.12E-08	کوه سهند
-	۱	۱	4.98E-13	4.78E-14	2.56E-09	ملکان

بال جلو

بال عقب

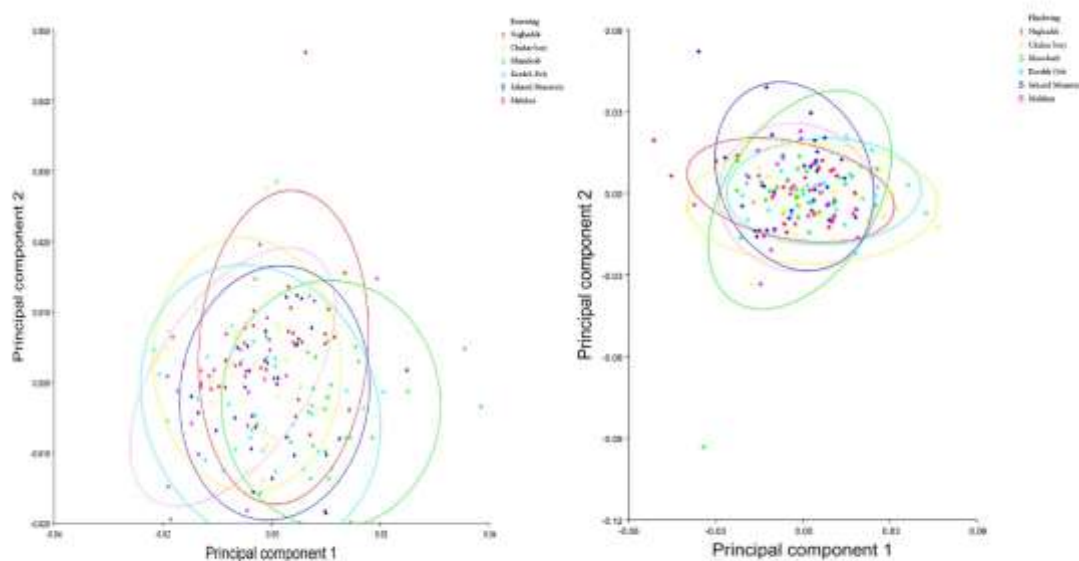
### تجزیه و تحلیل متغیر کانونی (CVA)

نتایج تحلیل متغیر کانونی روی بال جلو و بال عقب در شکل ۵ نشان داده شده است. در این نمودار، صفحه‌ها نشان‌دهنده آرایش فضایی مرجع، ارتفاع میله‌ها نشان‌دهنده فاصله هر جمعیت با آرایش فضایی مرجع و فاصله میله‌ها از هم نشان‌دهنده فاصله جمعیت‌ها از یکدیگر است. براساس نتایج در بال جلو، جمعیت‌های روستای کرده‌ده و ملکان به ترتیب بیشترین و کمترین اختلاف را با آرایش فضایی مرجع نشان داد. طبق نتایج در بال عقب نیز جمعیت‌های نقده و ملکان به ترتیب بیشترین و کمترین اختلاف را با آرایش فضایی مرجع نشان داد.

### تنوع شکل بال جلو و بال عقب

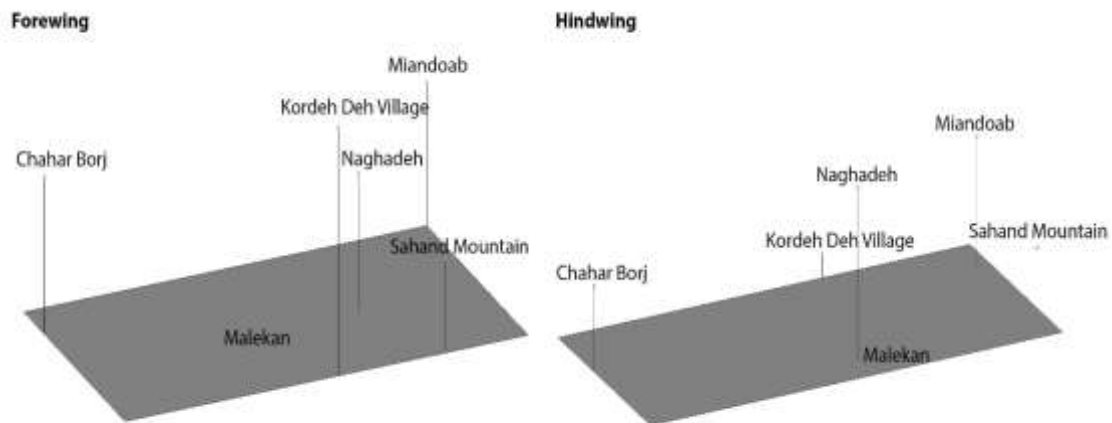
#### تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA)

با تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) تمام نمونه‌ها توسط نرم‌افزار MorphoJ، حدود ۳۲/۸۱۸ درصد تنوع شکل بین نمونه‌ها توسط دو مؤلفه اول استخراج شده از ماتریس واریانس - کوواریانس توضیح داده شد (مؤلفه اول ۱۸/۱۹۲ درصد و مؤلفه دوم ۱۴/۶۲۶ درصد)؛ همچنین ۸۲/۸۱۷ درصد تنوع بال عقب نیز دو مؤلفه اول توضیح دهنده حدود ۵۷/۳۹۵ درصد تنوع شکل بین نمونه‌ها بود (مؤلفه اول ۳۳/۵۷۱ درصد و مؤلفه دوم ۲۳/۸۲۴ درصد) و شش مؤلفه، ۱۰۰ درصد تنوع را توضیح داد. شکل ۴ ترسیم پراکنده (scatter plot) حاصل از این تحلیل را نشان می‌دهد.



شکل ۴- ترسیم پراکنده (scatter plot) تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) در بال جلو (تصویر سمت چپ) و بال عقب (تصویر سمت راست).

Figure 4 - Scatter plot of Principal Component Analysis (PCA) for the forewing (left image) and hindwing (right image).



شکل ۵- نتایج تحلیل متغیر کانونی (CVA) روی بال جلو (سمت چپ) و بال عقب (سمت راست). صفحه‌ها در نمودار نشان‌دهنده آرایش فضایی مرجع و میله‌ها نشان‌دهنده فاصله هر جمعیت با آرایش فضایی مرجع است. فاصله میله‌ها از یکدیگر نیز نشان‌دهنده فواصل جمعیت‌ها از هم است.

Figure 5 - Results of Canonical Variate Analysis (CVA) on the forewing (left side) and hindwing (right side). The planes in the chart represent the spatial arrangement of the reference, and the bars indicate the distance of each population from the spatial arrangement of the reference. The distances between the bars also represent the distances between the populations.

سایر مقایسه جمعیت‌ها با هم اختلاف معنی‌دار نشان نداد (جدول ۳).

### خوشه‌بندی یا تحلیل خوشه‌ای (Cluster Analysis)

خوشه‌بندی یا تحلیل خوشه‌ای فرآیند گروه‌بندی افراد با ویژگی‌های مشابه یا اندازه متغیر مشابه است. همان‌گونه که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، در خوشه‌بندی جمعیت‌ها به واسطه بال جلو (تصویر بالا)، جمعیت‌های نقده، کوه سهند، روستای کرده‌ده و ملککان یک خوشه و جمعیت‌های میان‌دوآب و چهاربورج نیز هر کدام یک خوشه مجزا تشکیل داد؛ همچنین خوشه‌بندی جمعیت‌ها برحسب تشابه در بال عقب سه خوشه مجزا را نشان داد. جمعیت‌های نقده و ملککان یک خوشه، جمعیت‌های میان‌دوآب، کوه سهند و روستای کرده‌ده یک خوشه و جمعیت چهاربورج نیز یک خوشه را تشکیل داد.

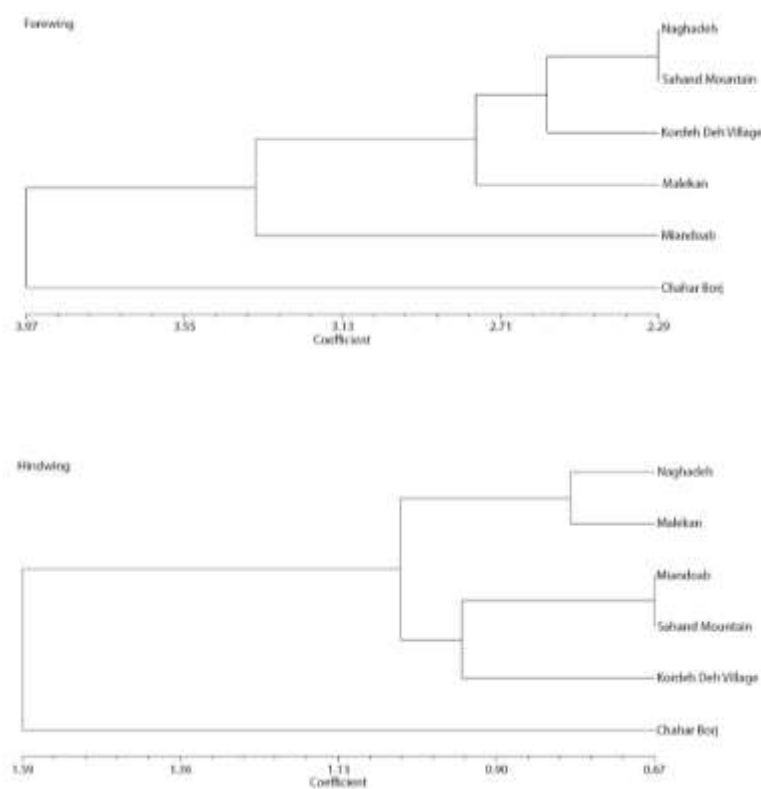
### تجزیه و تحلیل چندمتغیره واریانس (MANOVA)

تجزیه و تحلیل چندمتغیره واریانس PERMANOVA که از آزمون جایگشت (Permutation Test) برای تعیین معنی‌داری تفاوت‌ها استفاده می‌کند، روی داده‌های مختصات لندمارکی انطباق یافته با تحلیل پروکراستی توسط نرم‌افزار PAST v4.12 با تعداد ۹۹۹۹ جایگشت انجام شد. نتایج این آزمون نشان داد بین جمعیت زنبورها تفاوت معنی‌داری از لحاظ شکل بال جلو ( $F=5.452$ ,  $p(\text{same})=0.0001$ ) و بال عقب ( $F=1.164$ ,  $p(\text{same})=0.0006$ ) وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد در بال جلو غیر از جمعیت‌های روستای کرده‌ده و کوه سهند، بقیه مقایسه جمعیت‌ها اختلاف معنی‌دار داشت؛ اما در بال عقب به جز جمعیت‌های روستای کرده‌ده - نقده، کوه سهند - چهاربورج و کوه سهند - روستای کرده‌ده،

جدول ۳- نتایج آزمون تعقیبی Bonferroni-corrected (post hoc) روی داده‌های مختصات لندمارکی انطباق یافته با تحلیل پروکراستی بال جلو و بال عقب. مقادیر p-values در سمت راست و مقادیر F-Value در سمت چپ جدول است.

Table 3 - Results of the Bonferroni-corrected (post hoc) test on the landmark coordinate data aligned with Procrustes analysis for the forewing and hindwing. P-value results are on the right side, and F-Value results are on the left side of the table.

ملکان	کوه سهند	روستای کرده‌ده	میان‌دوآب	چهاربوج	نقده	ایستگاه مطالعاتی
5.504	3.603	4.333	6.806	5.417	-	نقده
2.864	5.325	3.483	13.03	-	0.0015	چهاربوج
11.85	4.99	7.389	-	0.0015	0.0015	میان‌دوآب
2.654	1.756	-	0.0015	0.006	0.003	روستای کرده‌ده
3.644	-	0.843	0.0015	0.0015	0.0015	کوه سهند
-	0.0015	0.069	0.0015	0.0375	0.0015	ملکان
1.017	1.678	4.695	1.021	2.578	-	نقده
1.589	5.021	2.295	1.082	-	0.6135	چهاربوج
0.9976	1.044	1.011	-	0.3525	1	میان‌دوآب
3.622	4.362	-	1	1	0.0405	روستای کرده‌ده
1.97	-	0.0315	0.9885	0.0165	1	کوه سهند
-	۱	0.138	1	1	1	ملکان



شکل ۶- نتایج تحلیل خوشه‌ای جمعیت‌های مطالعه‌شده در بال جلو (بالا) و بال عقب (پایین). در هر بال سه خوشه مجزا از جمعیت‌ها مشاهده می‌شود.

Figure 6 - Results of cluster analysis of the studied populations in the forewing (top) and hindwing (bottom). In each wing, three distinct clusters of populations are observed.

## رابطه بین تغییر اندازه و شکل بال، آلومتری یا ایزومتری

رابطه بین تغییرات اندازه و تغییرات شکل بال‌ها با رگرسیون بررسی شد. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تغییرات آلومتریک در بال جلو وجود داشته است ( $Wilk's\ Lambda = 0.79237403, P < 0.05$ )؛ ولی در بال عقب دیده نشد و این مسئله به این معنی است که تغییرات اندازه و تغییرات شکل در بال جلو به یکدیگر وابستگی دارند.

## بحث

زنبور عسل به دلیل نقشی که در گرده‌افشانی گیاهان و محصولات گلدار و تولید عسل دارد، یکی از مهم‌ترین حشرات است. اندازه بازار جهانی عسل در سال ۲۰۲۱ حدود ۸/۱۷ میلیارد دلار بود و انتظار می‌رود تا سال ۲۰۲۹ به ۱۲/۶۹ میلیارد دلار افزایش یابد (Fortune Business Insights, 2022). تخمین زده می‌شود که زنبور عسل مسئول ۱۲ از ۱۶ میلیارد دلار ارزش گرده‌افشانی سالانه در ایالات متحده است (Calderone, 2012; Rader et al., 2016; Khalifa et al., 2021). کارشناسان کاهش چشمگیر سالانه در کلنی‌های زنبور عسل از سال ۲۰۰۶ را گزارش کرده‌اند. این کاهش به دلایل زیادی مانند آفات، آفت‌کش‌ها، بیماری‌ها، از دست دادن زیستگاه، کاهش گونه‌ها و تنوع ژنتیکی نسبت داده شده است (Nowierski, 2021). تنوع ژنتیکی گونه به آن کمک می‌کند تا بهتر با شرایط محیطی و بیماری‌های متغیر مقابله کند (Somero, 2012; Forsman, 2014; Dillon and Lozier, 2019)؛ بنابراین نظارت بر تنوع و حفظ آن دارای اهمیت است. تنوع فنوتیپی گاهی اوقات بیانگر تنوع ژنتیکی است (Crispo, 2008; Silva et al., 2019).

(2013)؛ بنابراین در این پژوهش از تنوع ساختار بال برای ارزیابی تنوع جمعیت زنبور عسل در مناطق مطالعه شده استفاده شد. منطقی است که فرض شود شیوه‌های زنبورداری مانند جابجایی کلنی‌های زنبور عسل و تجارت زنبور عسل ممکن است به تدریج تنوع زنبورها را کاهش دهد؛ بنابراین فرض بر این است که تنوع در جمعیت‌های زنبور در مکان‌های مطالعه شده وجود ندارد.

در این پژوهش، از اندازه مرکزی بال‌ها به عنوان معیاری برای بررسی تنوع اندازه در بین جمعیت زنبور عسل استفاده شد. میانگین اندازه مرکزی بال جلو و عقب نشان داد جمعیت زنبور عسل چهاربورج بزرگ‌ترین و جمعیت زنبور عسل ملکان کوچک‌ترین بال جلو و عقب را دارند. تحلیل ANOVA و تحلیل تعقیبی post hoc نشان داد در بال‌های جلویی نه تا از ۱۵ مقایسه دوجه‌دو و در بال عقبی نه تا از ۱۰ مقایسه دوجه‌دو دارای اختلاف معنی‌دار است و در این زمینه بال جلو و بال عقب به‌طور دقیق الگوی یکسانی نشان می‌دهند؛ همچنین از مختصات لندمارک انطباق یافته برای ارزیابی تفاوت معنی‌دار در شکل بال با استفاده از تحلیل‌های MANOVA و تحلیل تعقیبی post hoc استفاده شد. داده‌های به‌دست آمده نشان داد در بال‌های جلویی ۱۴ تا از ۱۵ مقایسه دوجه‌دو و در بال عقبی سه تا از ۱۵ مقایسه دوجه‌دو معنی‌دار است. با نگاه دقیق‌تر به داده‌ها، در رابطه با اندازه مرکزی جمعیت‌های آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی با وجود نزدیکی برخی ایستگاهها با یکدیگر، تفاوت معنی‌دار نشان دادند. در رابطه با شکل بال نیز جمعیت‌های تمام ایستگاههای مطالعاتی به‌جز ایستگاههای کوه سهند و کرده‌ده با هم اختلاف معنی‌دار داشتند؛ اما در شکل بال

از استان‌های آذربایجان شرقی و غربی از روش مورفومتریک هندسی استفاده شد. به‌طور کلی، داده‌های به‌دست آمده نشان می‌دهد که با وجود اینکه تمام ایستگاههای مطالعه‌شده در کمتر از ۱۲۵۰۰ کیلومتر مربع واقع شده‌اند، تنوع چشمگیری در اندازه بال و شکل بال در هر دوی بال‌های جلویی و عقبی وجود دارد که تنوع جمعیت‌های زنبور عسل را در این منطقه نشان می‌دهد. مطالعات نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی، سلامت کلی کلنی‌های زنبور عسل را بهبود می‌بخشد. کندوهای دارای تنوع ژنتیکی، مقاومت بیشتری نسبت به بیماری دارند و به محرک‌های محیطی مختلف پاسخ مؤثرتری می‌دهند. فقدان تنوع ژنتیکی برای زنبورهای عسل، آسیب‌پذیری ایجاد می‌کند؛ به طوری که زنده نمی‌مانند در اقلیم در حال تغییر که اکنون مرطوب یا خشک‌تر از حد معمول است؛ همچنین نگرانی وجود دارد که ناتوانی زنبور عسل در مبارزه با بیماری یا عفونت انگلی ممکن است بر پایداری زنبورداری تأثیر منفی بگذارد ( Tarpy et al., 2013; Cridland et al., 2018; Alburaki et al., 2023).

### مشارکت نویسندگان

ر.ع. طراحی مطالعه، تجزیه و تحلیل داده‌ها و نوشتن مقاله را به عهده داشت. ز.ز. جمع‌آوری نمونه‌ها، فعالیت آزمایشگاهی و جمع‌آوری داده‌های مختصات لندمارک را به عهده داشت. نویسندگان نسخه نهایی را خواندند و تأیید کردند.

### تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافی ندارند.

عقب چنین الگویی مشاهده نشد و تنها جمعیت‌های کوه سهند با کرده‌ده، کوه سهند با چهاربورج و کرده‌ده با نقده اختلاف معنی‌دار نشان دادند. تئوری جداسازی با فاصله (IBD) بیان می‌کند که وقتی پراکندگی (یعنی جریان ژن) بین مناطق یا جمعیت‌ها از نظر جغرافیایی محدود می‌شود، تفاوت‌های ژنتیکی ممکن است به‌صورت محلی جمع شود ( Slatkin, 1993; Wright, 1943) و نظریه جداسازی توسط محیط (IBE) بیان می‌کند که تفاوت‌های ژنتیکی با تفاوت در محیط زیست افزایش می‌یابد ( Wang and Summers, 2010; Wang & Bradburd, 2014; Sexton et al., 2014). همچنین داده‌های به‌دست آمده در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تغییرات در اندازه بال و تغییرات در شکل بال در بین جمعیت‌ها در بال جلو وابسته به هم و در بال عقب مستقل از یکدیگر است.

امکان مطالعه خصوصیات مورفولوژیکی و مولکولی برای ارزیابی تمایز بین جمعیت‌ها وجود دارد ( Dutech et al., 2005). مورفولوژی بال ارزیابی شده با روش مورفومتریک هندسی برای شناسایی و تمایز گونه‌های مختلف ( Santos et al., 2018; Ndungu et al., 2023)، زیرگونه‌ها ( Abed et al., 2021) و جمعیت‌های ( Aglagane et al., 2022; Buala & Sopaladawan, 2022) زنبور عسل استفاده شده است. هوش مصنوعی، نرم‌افزارها و برنامه‌های کاربردی مبتنی بر وب نیز به‌منظور تسهیل استفاده از ریخت‌شناسی بال برای طبقه‌بندی و تجزیه و تحلیل بیشتر زنبورهای عسل توسعه یافته‌اند ( Bustamante et al., 2021; Rebelo et al., 2021; Rodrigues et al., 2022). برای ارزیابی تنوع جمعیت‌های زنبور عسل در چند نقطه

## سپاسگزاری

آشتیانی بنیاد ملی نخبگان برای استادیاران جوان انجام شده است؛ بنابراین از هر دو نهاد سپاسگزاری می‌شود.

نویسندگان از مسئولین مجله و داوران صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی می‌کنند. این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه اصفهان و جایزه مرحوم دکتر کاظمی

## References

- Abed, F., Bachir-Bouiadjra, B., Dahloun, L., Yakubu, A., Haddad, A., & Homrani, A. (2021). Procruste analysis of forewing shape in two endemic honeybee subspecies *Apis mellifera intermissa* and *A. m. sahariensis* from the Northwest of Algeria. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(1), 154–164. <https://doi.org/10.13057/BIODIV/D220121>
- Aglagane, A., Tofilski, A., Er-Rguibi, O., Laghzaoui, E. M., Kimdil, L., El Mouden, E. H., ... & Aourir, M. (2022). Geographical Variation of Honey Bee (*Apis mellifera* L. 1758) Populations in South-Eastern Morocco: A Geometric Morphometric Analysis. *Insects*, 13(3), 288. <https://doi.org/10.3390/insects13030288>
- Alburaki, M., Madella, S., Lopez, J., Bouga, M., Chen, Y., & vanEngelsdorp, D. (2023). Honey bee populations of the USA display restrictions in their mtDNA haplotype diversity. *Frontiers in Genetics*, 13, 3566. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2022.1092121/BIBTEX>
- Arias, M. C., & Sheppard, W. S. (2005). Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera: Apinae: Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(1), 25–35. <https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2005.02.017>
- Boulhasani, S., Rajabi Maham, H., & Naderi, M. (2018). Wing geometric-morphometric analysis to determine the population diversity of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) in Northwest of Iran. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*, 31(3), 245–254. [https://animal.ijbio.ir/article\\_1398.html](https://animal.ijbio.ir/article_1398.html) [In Persian].
- Buala, S., & Sopaladawan, P. N. (2022). Geometric morphometric analysis of forewings of *Apis Mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) populations in Thailand. *Tropical Natural History*, 22(1), 56–66. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/tnh/article/download/256705/175246/942685>
- Büchler, R., Costa, C., Hatjina, F., Andonov, S., Meixner, M. D., Conte, Y. L., ... & Wilde, J. (2014). The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis Mellifera* L. colonies in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 205–214. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.03>
- Bustamante, T., Fuchs, S., Grünwald, B., & Ellis, J. D. (2021). A geometric morphometric method and web application for identifying honey bee species (*Apis* spp.) using only forewings. *Apidologie*, 52(3), 697–706. <https://doi.org/10.1007/s13592-021-00857-7>
- Calderone, N. W. (2012). Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: Trend analysis of aggregate data for the period 1992–2009. *Plos One*, 7(5), e37235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037235>
- Cardinal, S., & Danforth, B. N. (2013). Bees diversified in the age of eudicots. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1755). <https://doi.org/10.1098/RSPB.2012.2686>
- Cridland, J. M., Ramirez, S. R., Dean, C. A., Sciligo, A., & Tsutsui, N. D. (2018). Genome sequencing of museum specimens reveals rapid changes in the genetic composition of honey bees in California. *Genome Biology and Evolution*, 10(2), 458–472. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVY007>
- Crispo, E. (2008). Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(6), 1460–1469. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01592.x>
- Dadgostar, S., Delkash Roudsari, S., Nozari, J., Tahmasbi, G., & Hosseini Naveh, V. (2020a). Comparison between natives honey bee (*Apis mellifera meda*) and Carniolan hybrid races

- (*Apis mellifera carnica*) in Hamedan province. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 50(2), 187–195. <https://doi.org/10.22059/ijpps.2019.249277.1006822>
- Dadgostar, S., Nozari, J., & Tahmasbi, G. (2020b). Wing characters for morphological study on the honey bee (*Apis mellifera* L.) populations among six provinces of Iran. *Arthropods*, 9(4), 129–138. [http://www.iaees.org/publications/journals/arthropods/articles/2020-9\(4\)/wing-characters-of-honey-bee.pdf](http://www.iaees.org/publications/journals/arthropods/articles/2020-9(4)/wing-characters-of-honey-bee.pdf) [In Persian].
- De La Rúa, P., Jaffé, R., Dall'Olio, R., Muñoz, I., & Serrano, J. (2009). Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*, 40(3), 263–284. <https://doi.org/10.1051/APIDO/2009027>
- Dillon, M. E., & Lozier, J. D. (2019). Adaptation to the abiotic environment in insects: The influence of variability on ecophysiology and evolutionary genomics. *Current Opinion in Insect Science*, 36, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.09.003>
- Dutech, C., Sork, V. L., Irwin, A. J., Smouse, P. E., & Davis, F. W. (2005). Gene flow and fine-scale genetic structure in a wind-pollinated tree species, *Quercus lobata* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 92(2), 252–261. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.2.252>
- Engel, M. S. (1999). The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). *Journal of Hymenoptera Research*, 8(2), 165–196. [https://kuscholarworks.ku.edu/bitstream/handle/1808/16476/Engel\\_JoHR\\_8\(2\)165.pdf?sequence=1](https://kuscholarworks.ku.edu/bitstream/handle/1808/16476/Engel_JoHR_8(2)165.pdf?sequence=1)
- Forsman, A. (2014). Effects of genotypic and phenotypic variation on establishment are important for conservation, invasion, and infection biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(1), 302–307. <https://doi.org/10.1073/pnas.1317745111>
- Fortune Business Insights. (2022). *Honey Market Size, Share; Global Industry Trends [2022-2029]*. Retrieved March 10, 2023: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/honey-market-100551> (pp. 1–213).
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 9. [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)
- Han, F., Wallberg, A., & Webster, M. T. (2012). From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate?. *Journal of Ecology and Evolution*, 2(8), 1949–1957. <https://doi.org/10.1002/ECE3.312>
- Henriques, D., Chávez-Galarza, J., Teixeira, J. S. G., Ferreira, H., Neves, C. J., Franco, T. M., & Pinto, M. A. (2020). Wing geometric morphometrics of workers and drones and single nucleotide polymorphisms provide similar genetic structure in the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*). *Insects*, 11(2), 89. <https://doi.org/10.3390/insects11020089>
- Hung, K. L. J., Kingston, J. M., Albrecht, M., Holway, D. A., & Kohn, J. R. (2018). The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1870), 1–8. <https://doi.org/10.1098/RSPB.2017.2140>
- Ilyasov, R. A., Lee, M. L., Takahashi, J. I., Kwon, H. W., & Nikolenko, A. G. (2020). A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3615–3621. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2020.08.001>
- Kane, T. R., & Faux, C. M. (2021). *Honey bee medicine for the veterinary practitioner*. John Wiley & Sons.
- Khalifa, S. A. M., Elshafiey, E. H., Shetaia, A. A., El-Wahed, A. A. A., Algethami, A. F., Musharraf, S. G., ... & El-Seedi, H. R. (2021). Overview of bee pollination and its economic value for crop production. *Insects*, 12(8), 688. <https://doi.org/10.3390/INSECTS12080688>
- Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: An integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11(2), 353–357. <https://doi.org/10.1111/J.1755-0998.2010.02924.X>



- Kükre, M., Kence, M., & Kence, A. (2021). Honey bee diversity is swayed by migratory beekeeping and trade despite conservation practices: Genetic evidence for the impact of anthropogenic factors on population structure. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 162. <https://doi.org/10.3389/FEVO.2021.556816/BIBTEX>
- Ndungu, N., Vereecken, N. J., Gerard, M., Kariuki, S., Kati, L. K., Youbissi, A., ... & Nkoba, K. (2023). Can the shape of the wing help in the identification of African stingless bee species? (Hymenoptera: Apidae: Meliponini): Wing geometric morphometrics: A tool for African stingless bee taxonomy. *International Journal of Tropical Insect Science*, 43(1), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s42690-023-00980-1>
- Nowierski, R. M. (2021). *Pollinators at a Crossroads*. Retrieved from: <https://www.usda.gov/media/blog>
- Parichehreh Dizji, S., Nadali, R., & Babayi, M. (2017). Study on some morphological characteristics of the Iranian race honey bee *Apis mellifera meda* (Hymenoptera, Apidae) in north of Iran. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 39(4), 79–91. <https://doi.org/10.22055/ppr.2016.12485>
- Rader, R., Bartomeus, I., Garibaldi, L. A., Garratt, M. P., Howlett, B. G., Winfree, R., ... & Wojciechowski, M. (2016). Non-bee insects are important contributors to global crop pollination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(1), 146–151. <https://doi.org/10.1073/pnas.1517092112>
- Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahrizi, D., Zarei, L., & Jamali, S. (2016). Genetic diversity of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda* Skorikow, 1829) populations based on ISSR markers. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, 62(4), 53–58. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27188735/>
- Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahrizi, D., Zarei, L., & Jamali, S. (2018). Genetic variation in Iranian honey bees, *Apis mellifera meda* Skorikow, 1829, (Hymenoptera: Apidae) inferred from PCR-RFLP analysis of two mtDNA gene segments (COI and 16S rDNA). *Sociobiology*, 65(3), 482–490. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v65i3.2876>
- Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahrizi, D., Zarei, L., & Jamali, S. (2022). Molecular genetic diversity and population structure of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) populations: Implications for breeding and conservation. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129(6), 1331–1342. <https://doi.org/10.1007/S41348-022-00657-W/METRICS>
- Rebelo, A. R., Fagundes, J. M., Digiampietri, L. A., Francoy, T. M., & Biscaro, H. H. (2021). A fully automatic classification of bee species from wing images. *Apidologie*, 52(6), 1060–1074. <https://doi.org/10.1007/s13592-021-00887-1>
- Requier, F., Garnery, L., Kohl, P. L., Njovu, H. K., Pirk, C. W., Crewe, R. M., & Steffan-Dewenter, I. (2019). The conservation of native honey bees is crucial. *Trends in Ecology & Evolution*, 34(9), 789–798. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2019.04.008>
- Rodrigues, P. J., Gomes, W., & Pinto, M. A. (2022). DeepWings©: Automatic wing geometric morphometrics classification of honey bee (*Apis mellifera*) Subspecies using deep learning for detecting landmarks. *Big Data and Cognitive Computing*, 6(3), 70. <https://doi.org/10.3390/bdcc6030070>
- Rohlf, F. J. (2000). *NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.02e*. Exeter Software, Setauket, NY.
- Rohlf, F. J. (2015). The tps series of software. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 26(1), 9–12. <https://doi.org/10.4404/hystrix-26.1-11264>
- Ruttner, F. (1988). *Biogeography and taxonomy of honey bees*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(89\)90176-6](https://doi.org/10.1016/0169-5347(89)90176-6)
- Salehi, S., & Nazemi-Rafie, J. (2020). Discrimination of Iranian honeybee populations (*Apis mellifera meda*) from commercial subspecies of *Apis mellifera* L. using morphometric and genetic methods. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(2), 591–598. <https://doi.org/10.1016/J.ASPEN.2020.04.009>

- Santoso, M. A. D., Juliandi, B., & Raffiudin, R. (2018). Honey Bees species differentiation using geometric morphometric on wing venations. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 197(1), 012015. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/197/1/012015>
- Sexton, J. P., Hangartner, S. B., & Hoffmann, A. A. (2014). Genetic isolation by environment or distance: which pattern of gene flow is most common?. *Evolution*, 68(1), 1–15. <https://doi.org/10.1111/evo.12258>
- Silva, S. E., Silva, I. C., Madeira, C., Sallema, R., Paulo, O. S., & Paula, J. (2013). Genetic and morphological variation in two littorinid gastropods: Evidence for recent population expansions along the East African coast. *Biological Journal of the Linnean Society*, 108(3), 494–508. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.02041.x>
- Slatkin, M. (1993). Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 47(1), 264–279. <https://doi.org/10.2307/2410134>
- Somero, G. N. (2012). The physiology of global change: Linking patterns to mechanisms. *Annual Review of Marine Science*, 4(1), 39–61. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100935>
- Tahmasebi, G. H., Ebadi, R., Esmaili, M., & Kambousia, J. (1998). Morphological study of honeybee (*Apis mellifera* L.) in Iran. *Journal of Crop Production and Processing*, 2(1), 89–101. <https://jcpp.iut.ac.ir/article-1-268-en.html> [In Persian].
- Tarpy, D. R., Vanengelsdorp, D., & Pettis, J. S. (2013). Genetic diversity affects colony survivorship in commercial honey bee colonies. *Naturwissenschaften*, 100(8), 723–728. <https://doi.org/10.1007/S00114-013-1065-Y/FIGURES/2>
- Wang, I. J., & Bradburd, G. S. (2014). Isolation by environment. *Molecular Ecology*, 23(23), 5649–5662. <https://doi.org/10.1111/mec.12938>
- Wang, I. J., & Summers, K. (2010). Genetic structure is correlated with phenotypic divergence rather than geographic isolation in the highly polymorphic strawberry poison-dart frog. *Molecular Ecology*, 19(3), 447–458. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04465.x>
- Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics*, 28(2), 114–138. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/28.2.114>