

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Comparative description of mitochondrial genomes of the honey bee *Apis* (Hymenoptera: Apidae): four new genome sequences and *Apis* phylogeny using whole genomes and individual genes

Ah Rha Wang^{a,†}, Jong Seok Kim^{a,†}, Min Jee Kim^a, Hye-Kyung Kim^b, Yong Soo Choi^b, Iksoo Kim^{a,*}

^a*Department of Applied Biology, College of Agriculture & Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Republic of Korea.*

^b*Department of Agricultural Biology, National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju-gun 565-850, Republic of Korea.*

(Received 2 November 2016, accepted 10 October 2017)

***Corresponding author:** Email: ikkim81@chonnam.ac.kr

[†]These authors contributed equally to this paper.

Online Supplementary Material

Table S1. List of primers used to amplify and sequence the four *Apis* mitochondrial genomes.

Species	Fragment name	Primer name	Direction ^a	Sequence (5'-3')	Nucleotide position ^b
<i>A. cerana</i>					
	Long fragments				
	LF1*	LF1-F1	F	AAATATTTTCAGTTTTATGATC	2884-2904
	"	LF1-R2	R	TATTTGACCTCATGGTAGTAC	11319-11339
	LF2*	LF2-F2	F	TTTTAATCTTAATTCAACATCG	13333-13354
	"	LF2-R1	R	TCTAAADACTTTAATTCCTG	2829-2848
	Short fragments				
	SF1	LF01-SF01-F1	F	GGAGATCCAATTTTWTATCAAC	2558-2579
	"	LF01-SF01-R2	R	CGTTTAGAAATTAATCTTTC	3302-3321
	SF17	LF02-SF05-F1	F	GAAATTTTGGTTCAATTTTAGG	11017-11038
	"	LF02-SF05-R2	R	TAWGCAAATAAGAAATATCATTC	11736-11758
<i>A. laboriosa</i>					
	Long fragments				
	LF1*	LF1-F2	F	TGGATCAATCTTCTTTATAGC	5603-5623
	"	LF1-R1	R	AAGATAGTTCTAGAAAGTGAC	14462-14483
	LF2*	LF2-F1	F	TAGATAGAAACCAATCTGAC	13055-13074
	"	LF2-R1	R	TTGAAATGTTCTCTCACG	5211-5228
	Short fragments				
	SF6	LF01-SF06-F1	F	TTCAAAATATATTATTAACCTTAG	9452-9475
	"	LF01-SF06-R2	R	ATACATGAADTCCATGAAATCC	5628-5649
	SF24	LF03-SF05-F2	F	CTTATCGTGGATTATCAAATTAATC	14690-14714
	"	LF03-SF05-R2	R	AAATTATATTTAATAAATAATTCTG	478-502
<i>A. dorsata</i>					
	Long fragments				
	LF1	LF1-F1	F	TTACTATATTATTATTTGATCG	2456-2477
	"	LF1-R2	R	TTGCTCGAAGAATTGAATATGC	11588-11609
	LF2	LF2-F1	F	AAGATAGTTTTGAAAAGTGAC	11929-11950
	"	LF2-R1	R	TAGAGAGAATCGTTGATTAGC	9352-9372
	Short fragments				
	SF1	LF01-SF01-F1	F	GGAGATCCAATTTTWTATCAAC	2515-2536
	"	LF01-SF01-R2	R	CGTTTAGAAATTAATCTTTC	3259-3278
	SF2	LF01-SF02-F1	F	TTATTTYAAGATTATTTCATTG	3005-3026
	"	LF01-SF02-R2	R	TTAAATATAAAATTTTAATGATGG	3734-3758
	SF3	LF01-SF03-F1	F	AATCAAATTCATATTATGCTG	3531-3551
	"	LF01-SF03-R1	R	TGAWGGATCAAATATTTC	4496-4513
	SF4	LF01-SF04-F1	F	GGTCAATGTTTCAGAAATTTGTGG	4073-4095
	"	LF01-SF04-R2	R	GAAATTAAATTTGCTGATAATCG	4952-4974
	SF5	LF01-SF05-F2	F	AATATTTTGTAGATTAATACC	4724-4743
	"	LF01-SF05-R2	R	TCTCGAATAATATCTCGRAATC	5321-5342

SF6	LF01-SF06-F1	F	TTCAAAATATATTATTAACCTTAG	5049-5072
"	LF01-SF06-R2	R	ATACATGAADTCCATGAAATCC	5755-5776
SF7	LF01-SF07-F1	F	TTTTTTRATCCAATAGAAATTCC	5518-5540
"	LF01-SF07-R1	R	GGATTAAATCCACATTCAAATGG	6181-6203
SF8	LF01-SF08-F1	F	TTATGAAWTAGCAATTTGATATTGAC	5853-5878
"	LF01-SF08-R1	R	ATTTGATTATGAADTTTATATTG	6476-6798
SF9	LF01-SF09-F1	F	AATGAATAAATAATTATTTAAATTG	6389-6413
"	LF01-SF09-R2	R	AGATTATGTGGATTTCCATTTTTAG	7322-7346
SF10	LF01-SF10-F2	F	ATAGAAATTGCTATAATTTTATCTTC	7127-7152
"	LF01-SF10-R1	R	TTTTCACCTTGATTACCAATAGC	7771-7793
SF11	LF01-SF11-F1	F	AATTGACTTAAAGTWGAATAAGC	7555-7577
"	LF01-SF11-R2	R	GTGGAATTTTATTATTTAARTTTAG	8326-8350
SF12	LF01-SF12-F1	F	TAAGAAATTAATCCTAAACCATC	7995-8017
"	LF1-R2	R	ATAGGCCAACTAATAGACG	8782-8800
SF13	LF02-SF01-F1	F	TTGAATAAATAAATCTAAATAAAC	8575-8598
"	LF02-SF01-R2	R	TTTTTTATATAGTTRTAAATGAGG	9376-9400
SF14	LF02-SF02-F1	F	GAGCTTTTAATAATCAMCCATG	9143-9164
"	LF02-SF02-R2	R	AATTTTCTTGATTCTGTTTGTG	9838-9863
SF15	LF02-SF03-F1	F	TAGTTAATATTATTAATCCATATG	9557-9580
"	LF02-SF03-R1	R	TARGAAAATAATTAATATTCC	10426-10448
SF16	LF02-SF04-F4	F	CAATAAATTCATTATTAATT	10379-10398
"	LF02-SF04-R1	R	TGAATTAACGGAATAATCATCC	10985-11007
SF17	LF02-SF05-F1	F	GAAATTTTGGTTCAATTTTAGG	10851-10872
"	LF02-SF05-R2	R	TAWGCCAAATAAGAAATATCATTC	11570-11592
SF18	LF02-SF06-F1	F	CATTTAACTGGATCATCAAATCC	11348-11370
"	LF02-SF06-R2	R	AAGRATATTTGTATTAATTTTTTATC	12226-12252
SF19	LF02-SF07-F2	F	GAACCTGAATAAGTATATTTTTG	11919-11942
"	LF02-SF07-R1	R	GGTTGAAATAAWCCAAATAAAAAA	13133-13156
SF20	LF03-SF01-F1	F	CCAACAAACAAAACCTGGATAAAC	12545-12567
"	LF03-SF01-R2	R	AATTTATGATTAAAAGAATAAATTACC	13226-13252
SF21	LF03-SF02-F1	F	AATTTAAAAATTAAAGTCCTTTTCG	13003-13026
"	LF03-SF02-R2	R	TATAATTTTAGGTCGATCTGCTC	13570-13592
SF22	LF03-SF03-F1	F	ATTAAATAAAATTCTATAGGGTC	13375-13397
"	LF03-SF03-R2	R	GTACCTTTTGATCAGGGTTG	14132-14152
SF23	LF03-SF04-F2	F	AAAAAACTAGATATCAATAAGTTTCG	13993-14018
"	LF03-SF04-R2	R	AAAAAACTAGGATTAGATACCCTAC	14807-14831
SF24	LF03-SF05-F2	F	CTTATCGTGGATTATCAAATTAATC	14689-14713
"	LF03-SF05-R1	R	AATAAATAATTCTGAAACAATG	15041-15062
SF25	LF03-SF06-F1	F	TTTTTATAGTAGGGTATCTAATCC	14799-14822
"	LF03-SF06-R1	R	TTATATAAAAATTTTAATTTATCGAC	268-294

SF26	LF03-SF07-F1	F	AATAAGCTAAATAAAGCTTACAGG	234-257
"	LF03-SF07-R2	R	TTTATTATTTTCATATGAATAAATTATTC	873-900
SF27	LF03-SF08-F2	F	ATAGAATTTTGTACAATTATCAGAATT	650-678
"	LF03-SF08-R2	R	AG TGAGACTATTATATWAATTAGATTTTC	1277-1303
SF28	LF03-SF09-F1	F	AAAAAAATTATTAGCATGTTCAAC	1051-1074
"	LF03-SF09-R2	R	TGTTACAAATGTATTATAAATTTGATC	1990-2016
SF29	LF03-SF10-F7	F	CTAGAATAATTATAATCTGAAATTA	1371-1395
"	LF03-SF10-R1	R	AAGATTGCTGTAATAAAWACTGATC	2396-2420
SF30	LF03-SF11-F1	F	CCAAGACCAGGAACAGGATGAAC	2197-2219
"	LF03-SF11-R1	R	TCGWGTATCAACATCTAATCC	2725-2745

A. mellifera ligustica

Long fragments

LF1	LF1-F2	F	ATCCAATTTTWTATCAAC	2467-2484
"	LF1-R1	R	AAAGGTWTAATTAATTTTATACC	8958-8980
LF2	LF2-F2	F	TAAGAAATTAATCCTAAACCATC	8199-8221
"	LF2-R1	R	ATTCAAGATCGAAAAGGTCC	13116-13135
LF3	LF3-F2	F	ATTAAAMCCTGAAACTAATTC	12596-12616
"	LF3-R2	R	TCTAAADACTTTAATTCCTG	2734-2753

Short fragments

SF1	LF01-SF01-F1	F	GGAGATCCAATTTTWTATCAAC	2463-2484
"	LF01-SF01-R2	R	CGTTTAGAAATTAATCTTTC	3207-3226
SF2	LF01-SF02-F1	F	TTATTTYAAGATTTATTCATTG	2953-2974
"	LF01-SF02-R2	R	TTAAATATAAAATTTTAATGATGG	3852-3876
SF3	LF01-SF03-F1	F	AATCAAATTCATATTATGCTG	3649-3669
"	LF01-SF03-R1	R	TGAWGGATCAAATATTTTC	4614-4631
SF4	LF01-SF04-F1	F	GGTCAATGTTTCAGAAATTTGTGG	4191-4213
"	LF01-SF04-R2	R	GAAATTAAATTTGCTGATAATCG	5070-5092
SF5	LF01-SF05-F2	F	AATATTTTTAGATTAATACC	4842-4861
"	LF01-SF05-R2	R	TCTCGAATAATATCTCGRAATC	5451-5472
SF6	LF01-SF06-F1	F	TTCAAAATATATTATTAACCTTAG	5167-5190
"	LF01-SF06-R2	R	ATACATGAADTCCATGAAATCC	5885-5906
SF7	Apis_AT_SF7_N_F1	F	ATTTATTCTTGTATCATCAGG	5683-5703
"	LF01-SF07-R1	R	GGATTAAATCCACATTCAAATGG	6306-6328
SF8	LF01-SF08-F1	F	TTATGAAWTAGCAATTTGATATTGAC	5983-6008
"	LF01-SF08-R1	R	ATTTGATTATGAADTTTATATTG	6604-6626
SF9	LF01-SF09-F1	F	AATGAATAAATAATTATTTAAATTG	6514-6538
"	LF01-SF09-R2	R	AGATTATGTGGATTTCCATTTTATG	7522-7546
SF10	LF01-SF10-F2	F	ATAGAAATTGCTATAATTTTATCTTC	7326-7351

"	LF01-SF10-R1	R	TTTTCAACTTGATTACCAATAGC	7968-7990
SF11	LF01-SF11-F1	F	AATTGACTTAAAGTWGAATAAGC	7752-7774
"	LF01-SF11-R2	R	GTGGAATTTTATTATTTAARTTTAG	8523-8547
SF12	LF01-SF12-F1	F	TAAGAAATTAATCCTAAACCATC	8199-8221
"	LF1-R2	R	ATAGGCAAACATAATAGACG	8997-9015
SF13	LF02-SF01-F1	F	TTGAATAAATAAATCTAAATAAAC	8794-8817
"	LF02-SF01-R2	R	TTTTTATATAGTTRTAAAATGAGG	9591-9614
SF14	LF02-SF02-F1	F	GAGCTTTTAATAATCAMCCATG	9358-9379
"	LF02-SF02-R2	R	AATTTTCTTGATTTTCTGTTTGTG	10087-10112
SF15	LF02-SF03-F1	F	TAGTTAATATTATTAATCCATATG	9769-9792
"	LF02-SF03-R1	R	TARGAAAATATAATTAATATTCC	10661-10683
SF16	LF02-SF04-F4	F	CAATAAATTCATTATTAATT	10614-10633
"	LF02-SF04-R1	R	TGAATTAAACGGAATAATCATCC	11244-11266
SF17	LF02-SF05-F1	F	GAAATTTTGGTTCAATTTTAGG	11111-11132
"	LF02-SF05-R2	R	TAWGCAAATAAGAAATATCATTC	11829-11851
SF18	LF02-SF06-F1	F	CATTTAAGTGGATCATCAAATCC	11619-11641
"	LF02-SF06-R2	R	AAGRATATTTGTATTAATTTTTTATC	12555-12581
SF19	LF02-SF07-F2	F	GAACTTGAATAAGTATATTTTTG	12217-12240
"	LF02-SF07-R1	R	GGTTGAAATAAWCCAAATAAAAAA	13087-13106
SF20	LF03-SF01-F2	F	ATCTAATTCAGGATATAAAATTC	12953-12976
"	LF03-SF01-R1	R	TAAATTACCTTAGGGATAACAGCG	13540-13563
SF21	LF03-SF02-F1	F	AATTTAAAAATTAAAGTCCTTTTCG	13331-13354
"	LF03-SF02-R2	R	TATAATTTTAGGTCGATCTGCTC	13899-13921
SF22	LF03-SF03-F1	F	ATTAAATAAAATTCTATAGGGTC	13704-13726
"	LF03-SF03-R2	R	GTACCTTTTGTATCAGGGTTG	14432-14452
SF23	LF03-SF04-F2	F	AAAAAACTAGATATCAATAAGTTTCG	14294-14319
"	LF03-SF04-R2	R	AAAAAACTAGGATTAGATACCCTAC	15171-15195
SF24	LF03-SF05-F2	F	CTTATCGTGGATTATCAAATTAATC	15049-15073
"	LF03-SF05-R1	R	AATAAATAATTCTGAAACAATG	15402-15423
SF25	Apis_AT_F1	F	TAACCGCTATTGCTGGC	15336-15352
"	Apis-m-E-R1	R	ATAATGTTTTTTTAAACTA	8-26
SF26	Apis-m-AT2-F1	F	AACATATATGAATAAATAAGC	16137-16157
"	Apis-m-Q-R1	R	TAAAATTCAAAATTTTATGTGC	314-335
SF27	LF03-SF07-F1	F	AATAAGCTAAATAAAGCTTACAGG	226-249
"	LF03-SF07-R2	R	TTTATTATTTTATATGAATAAATTATTC	827-854
SF28	LF03-SF08-F2	F	ATAGAATTTTGTACAATTATCAGAATT	604-632

			AG	
"	LF03-SF08-R2	R	TGAGACTATTATATWAATTAGATTTTC	1259-1284
SF29	LF03-SF09-F1	F	AAAAAAATTATTAGCATGTTCAAC	1005-1028
"	LF03-SF09-R2	R	TGTTACAAYTGTATTATAAATTTGATC	1938-1964
SF30	LF03-SF10-F7	F	CTAGAATAATTATAATCTGA	1325-1344
"	LF03-SF10-R1	R	AAGATTGCTGTAATAAAWACTGATC	2344-2368
SF31	LF03-SF11-F1	F	CCAAGACCAGGAACAGGATGAAC	2145-2167
"	LF03-SF11-R1	R	TCGWGTATCAACATCTAATCC	2673-2693

^aF and R, forward and reverse direction of transcription. ^bNucleotide positions are with respect to each fragment of *A. cerana*, *A. dorsata*, *A. laboriosa*, and *A. mellifera ligustica* mitochondrial genomes. *Sequencing was completed by the shotgun method.

Table S2. Frequency of four most frequently used codons in *Apis* mitochondrial genomes.

Species	Codon (%)				Total
	TTA (L)	ATT (I)	TTT (F)	ATA (M)	
<i>Apis andreniformis</i> (KF736157)	13.54	12.92	10.48	8.54	45.47
<i>Apis andreniformis</i> (KC294228)	13.55	12.87	10.51	8.47	45.40
<i>Apis cerana</i> (GQ162109)	13.15	12.31	9.15	8.50	43.11
<i>Apis cerana</i> (KM244704)	13.18	12.37	9.18	8.53	43.26
<i>Apis cerana japonica</i>	13.08	12.43	9.19	8.51	43.21
<i>Apis cerana</i>	13.08	12.32	9.24	8.50	43.15
<i>Apis dorsata</i> (KC294229)	12.70	12.92	9.87	9.36	44.85
<i>Apis dorsata</i>	12.68	12.84	10.01	9.38	44.90
<i>Apis florea</i> (JX982136)	14.02	12.68	9.81	8.39	44.89
<i>Apis florea</i> (KC170303)	14.07	12.79	9.79	8.40	45.05
<i>Apis koschevnikovi</i> (AP017643)	13.35	12.45	9.88	8.54	44.22
<i>Apis koschevnikovi</i> (KY348372)	13.30	12.48	9.80	8.49	44.07
<i>Apis laboriosa</i>	12.68	12.93	9.87	9.27	44.75
<i>Apis nigrocincta</i>	13.28	12.66	9.55	8.27	43.76
<i>Apis mellifera capensis</i>	12.53	12.83	9.58	8.62	43.56
<i>Apis mellifera intermissa</i>	12.47	12.80	9.58	8.58	43.42
<i>Apis mellifera lamarckii</i>	12.64	12.69	9.58	8.57	43.48
<i>Apis mellifera ligustica</i> (L06178)	12.84	12.95	9.66	8.49	43.93
<i>Apis mellifera ligustica</i>	12.74	12.96	9.69	8.46	43.85
<i>Apis mellifera meda</i>	12.85	12.96	9.69	8.46	43.96
<i>Apis mellifera mellifera</i>	12.84	12.70	9.58	8.60	43.72
<i>Apis mellifera scutellata</i> (KJ601784)	12.53	12.77	9.61	8.60	43.50
<i>Apis mellifera scutellata</i> (KY614238)	12.75	12.77	9.61	8.60	43.73
<i>Apis mellifera syriaca</i>	12.66	12.64	9.61	8.54	43.45
Average	13.02	12.71	9.69	8.61	44.03

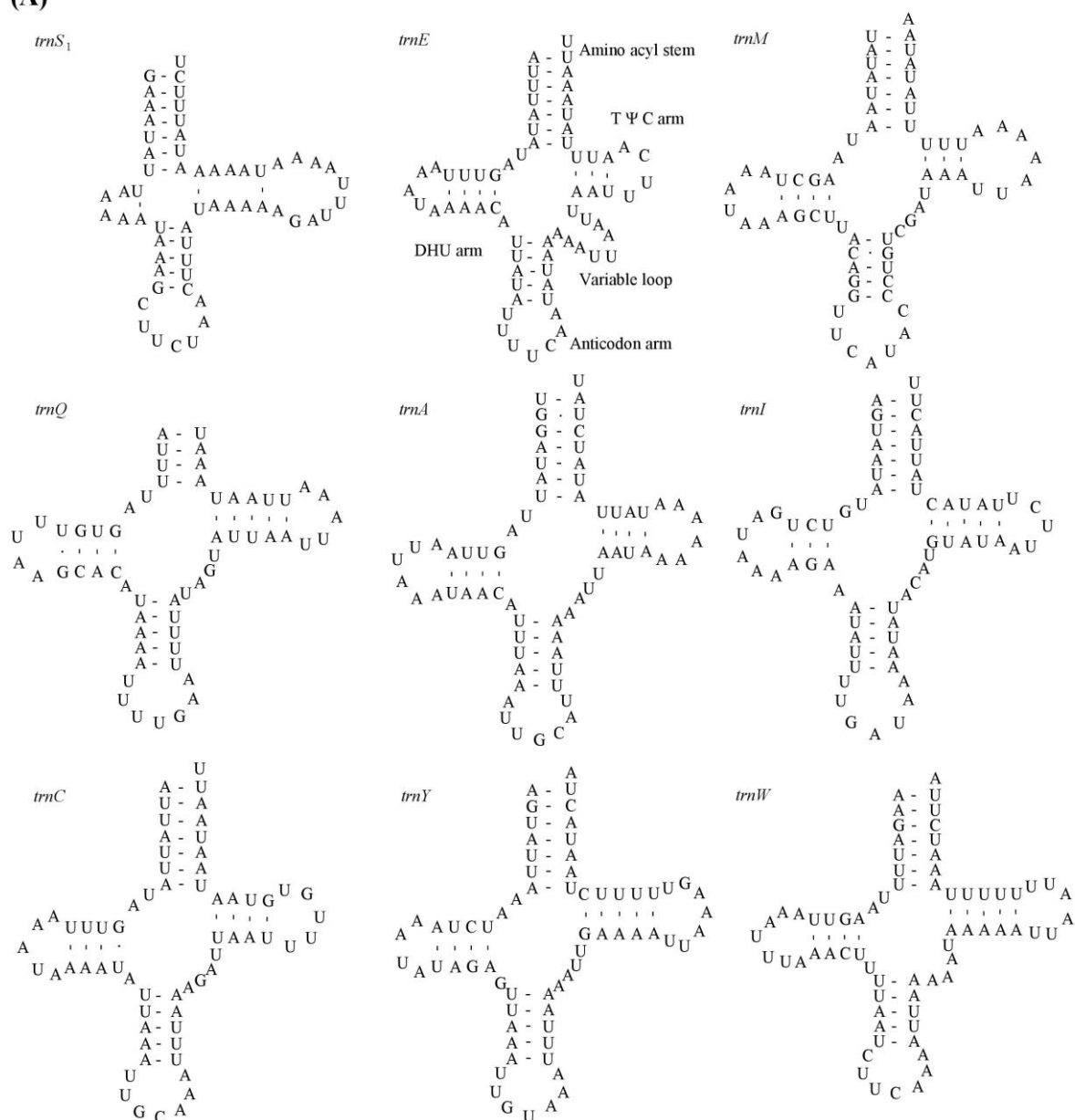
Letter within parenthesis indicates corresponding amino acid. Bold-faced font indicates species sequenced in this study.

Table S3. Node supports for relationships among species in Apinae identified from partitioning schemes.

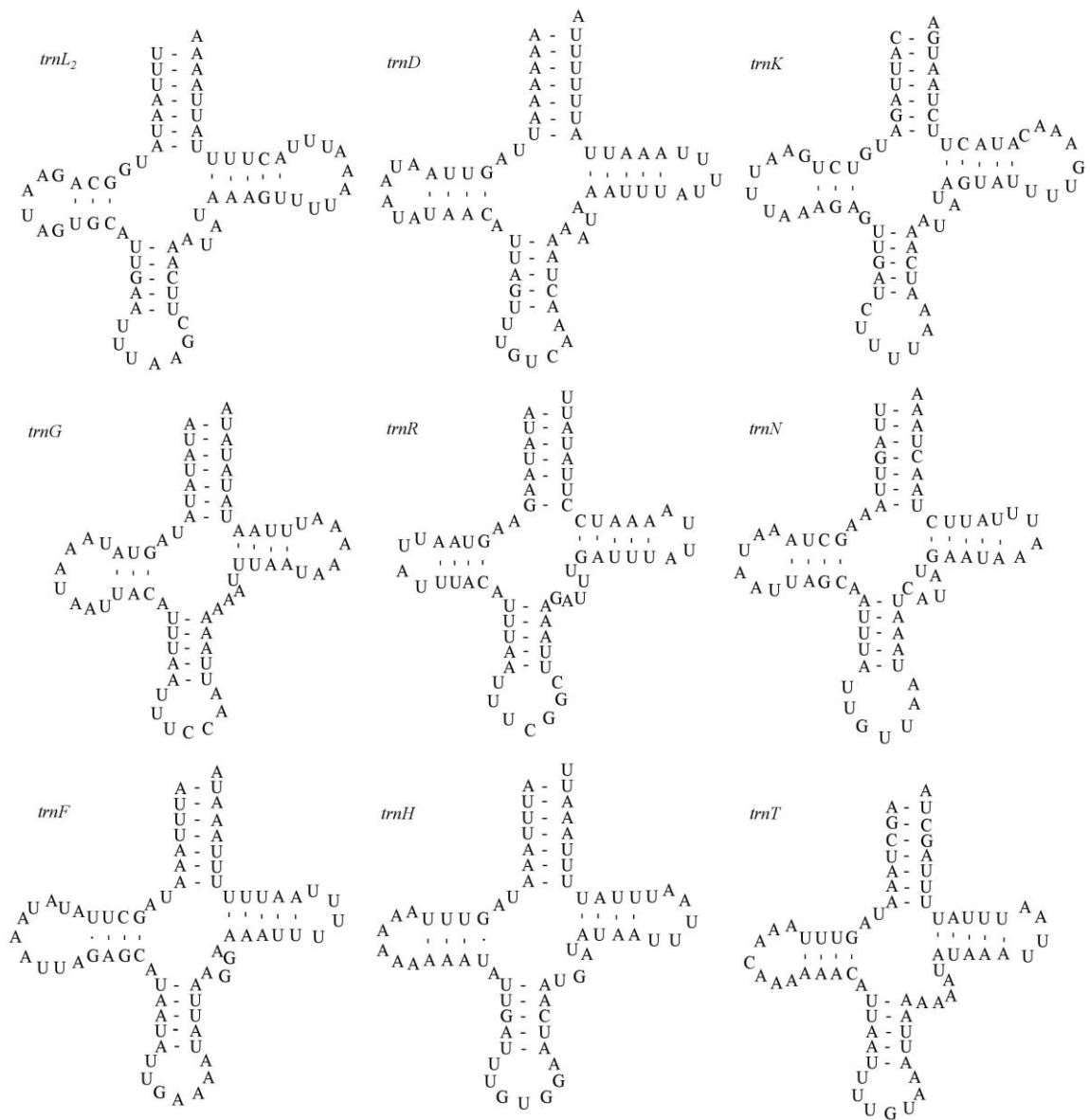
Relationships	Dataset no.							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Monophyly of each species								
<i>A. mellifera</i>	1	1	1	1	100	100	100	100
<i>A. cerana</i>	1	1	1	1	100	100	100	100
<i>A. nigrocincta</i>	1	1	1	1	100	100	100	100
<i>A. koschevnikovi</i>	1	1	1	1	100	100	100	100
<i>A. dorsata</i>	1	1	1	1	100	100	100	100
<i>A. laboriosa</i>	1	1	1	1	100	100	100	100
<i>A. andreniformis</i>	1	1	1	1	100	100	100	100
<i>A. florea</i>	1	1	1	1	100	100	100	100
Relationships among <i>Apis</i>								
(<i>A. cerana</i> + <i>A. nigrocincta</i>)	1	1	1	1	100	100	100	100
((<i>A. cerana</i> + <i>A. nigrocincta</i>) + <i>A. koschevnikovi</i>)	1	1	1	1	100	100	100	100
(((<i>A. cerana</i> + <i>A. nigrocincta</i>) + <i>A. koschevnikovi</i>) + <i>A. mellifera</i>)	1	1	1	1	80	88	99	90
(<i>A. dorsata</i> + <i>A. laboriosa</i>)	1	1	1	1	100	100	100	100
(((((<i>A. cerana</i> + <i>A. nigrocincta</i>) + <i>A. koschevnikovi</i>) + <i>A. mellifera</i>) + (<i>A. dorsata</i> + <i>A. laboriosa</i>))	1	1	1	1	100	100	100	100
(<i>A. andreniformis</i> + <i>A. florea</i>)	1	1	1	1	100	100	100	100
(((((<i>A. cerana</i> + <i>A. nigrocincta</i>) + <i>A. koschevnikovi</i>) + <i>A. mellifera</i>) + (<i>A. dorsata</i> + <i>A. laboriosa</i>)) + (<i>A. andreniformis</i> + <i>A. florea</i>))	1	1	1	1	100	100	100	100

1, BI analysis using unpartitioned data; 2, BI analysis using the data partitioned into two groups, PCGs and rRNAs; 3, BI analysis using data partitioned into four groups based on codon positions of PCGs and RNAs; 4, BI analysis using the data partitioned into 14 groups based on PCGs and rRNAs; 5, ML analysis using unpartitioned data; 6, ML analysis using the data partitioned into two groups, PCGs and rRNAs; 7, ML analysis using the data partitioned into four groups based on codon positions of PCGs and RNAs; and 8, ML analysis using the data partitioned into 14 groups based on PCGs and rRNAs.

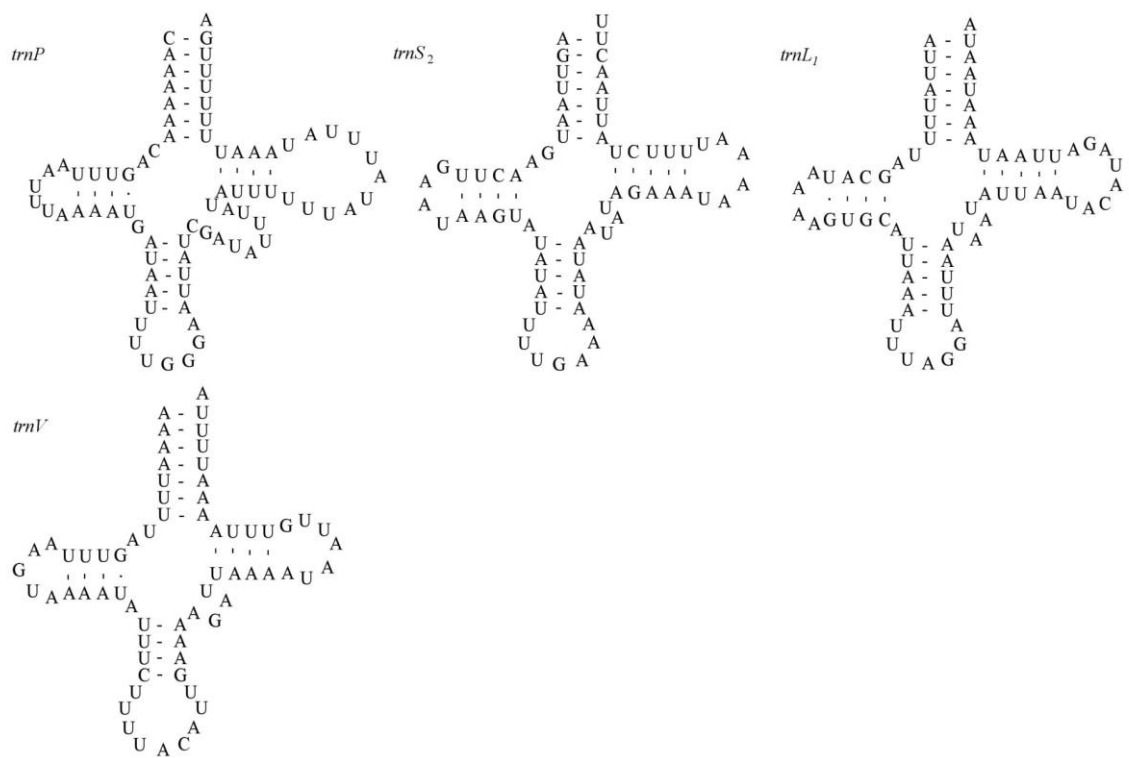
(A)



Supplementary Material Figure S1. Continued (1/12)

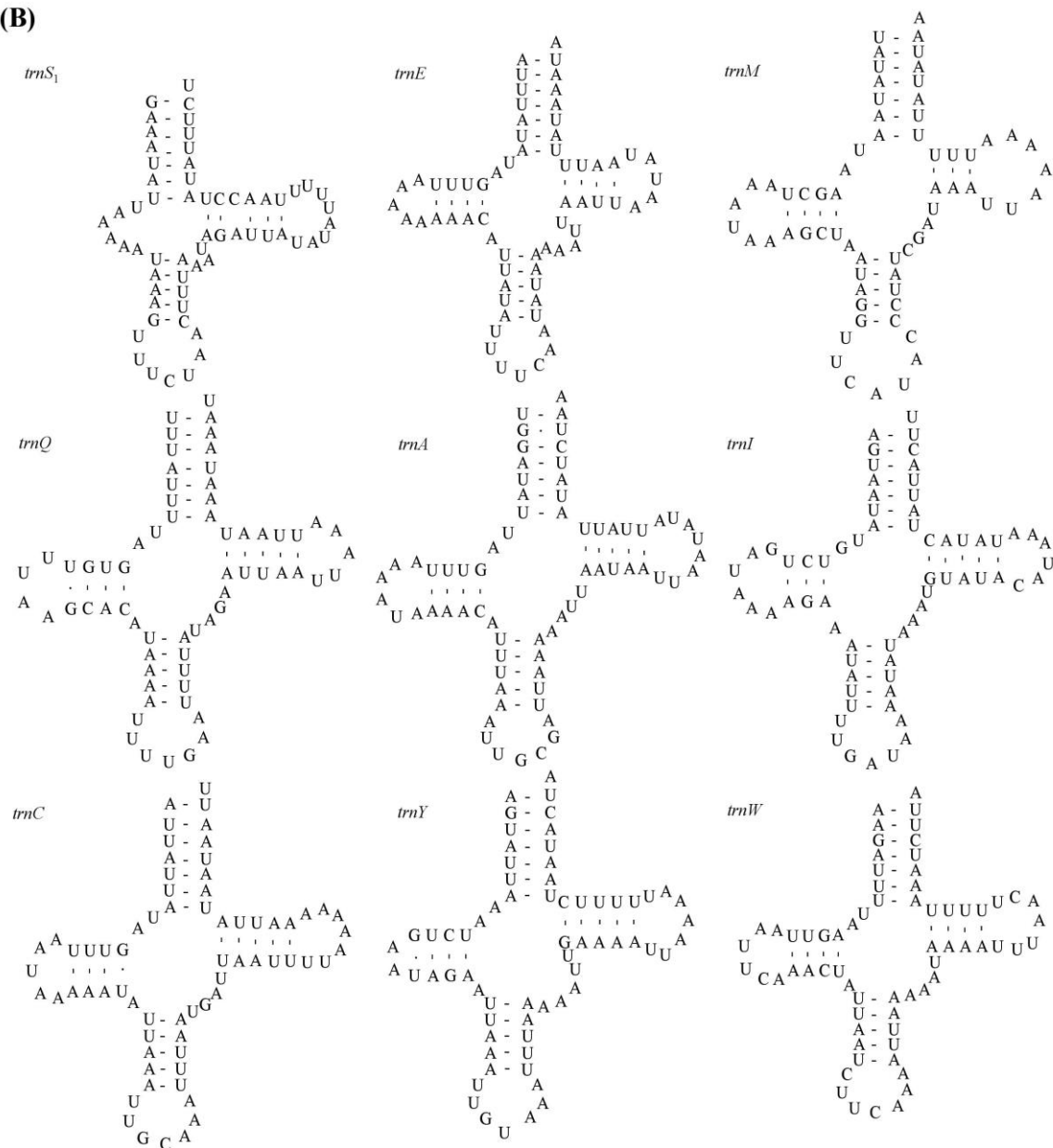


Supplementary Material Figure S1. Continued (2/12)

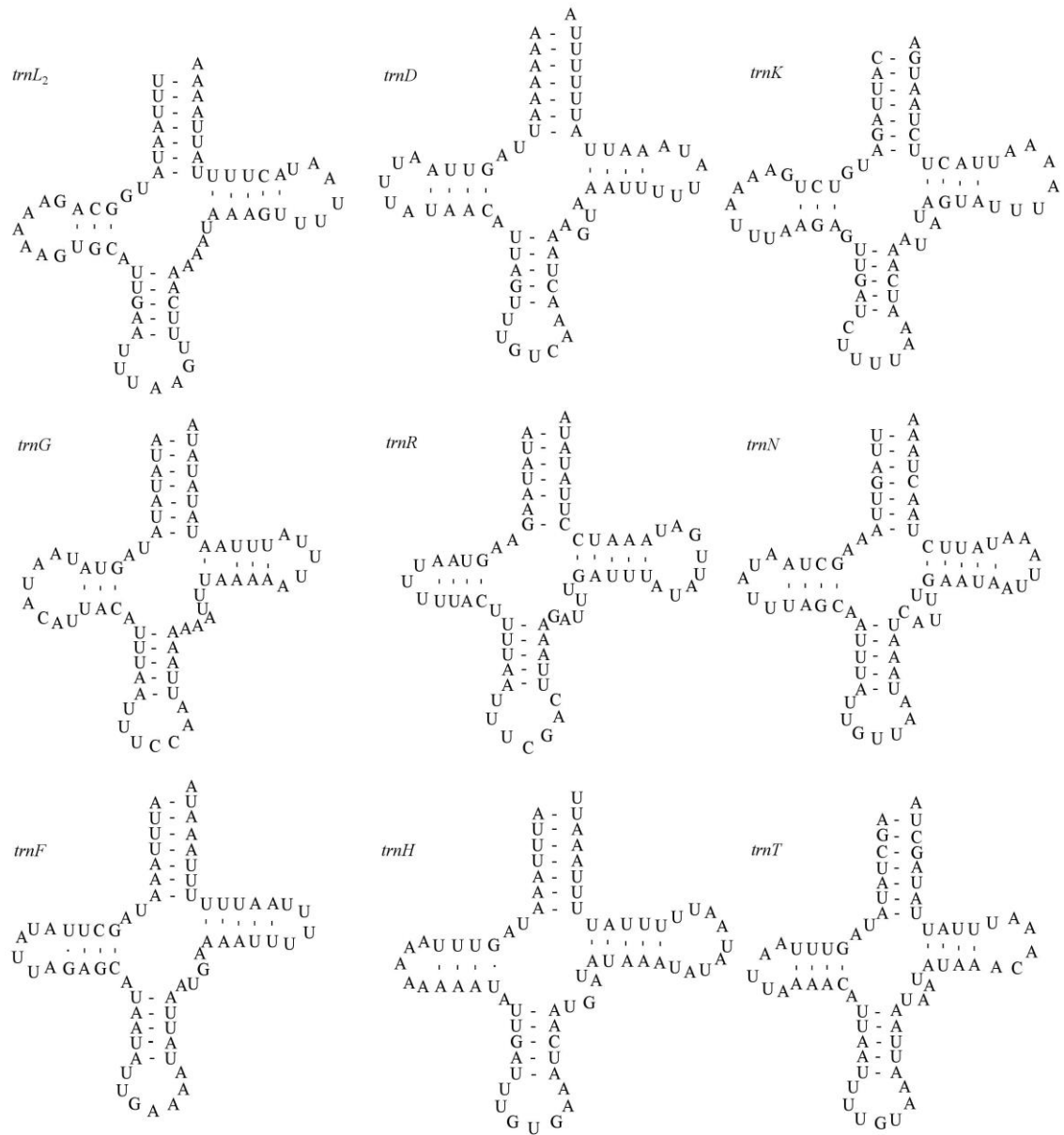


Supplementary Material Figure S1. Continued (3/12)

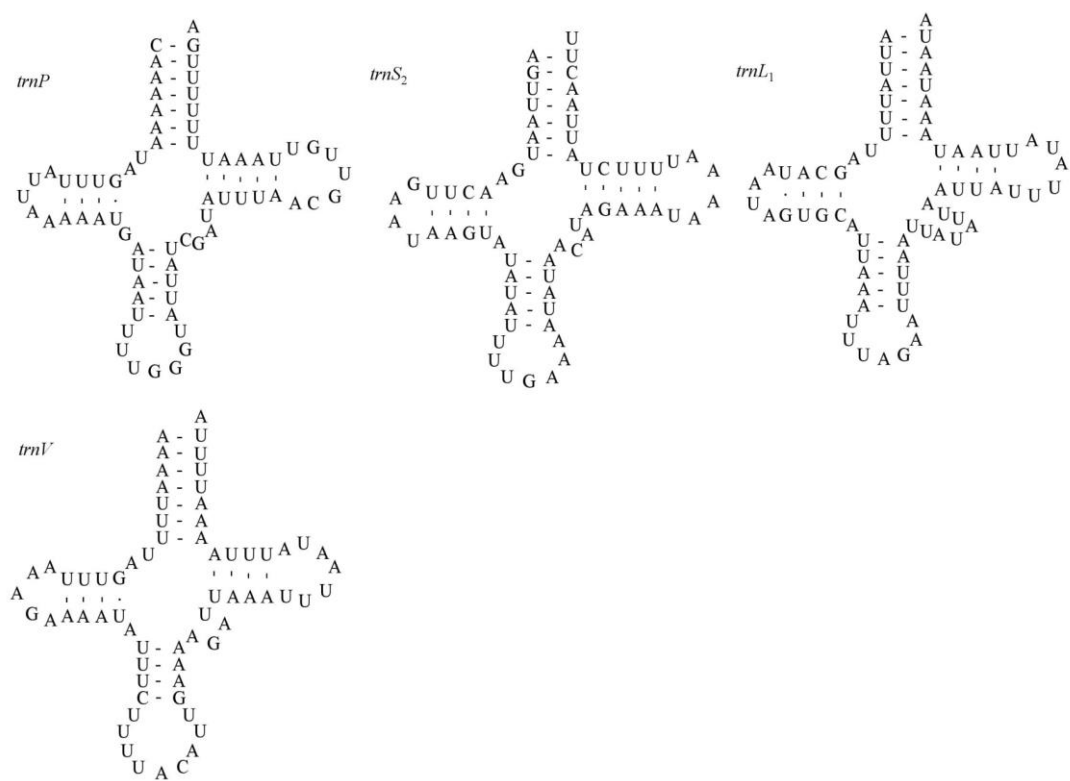
(B)



Supplementary Material Figure S1. Continued (4/12)

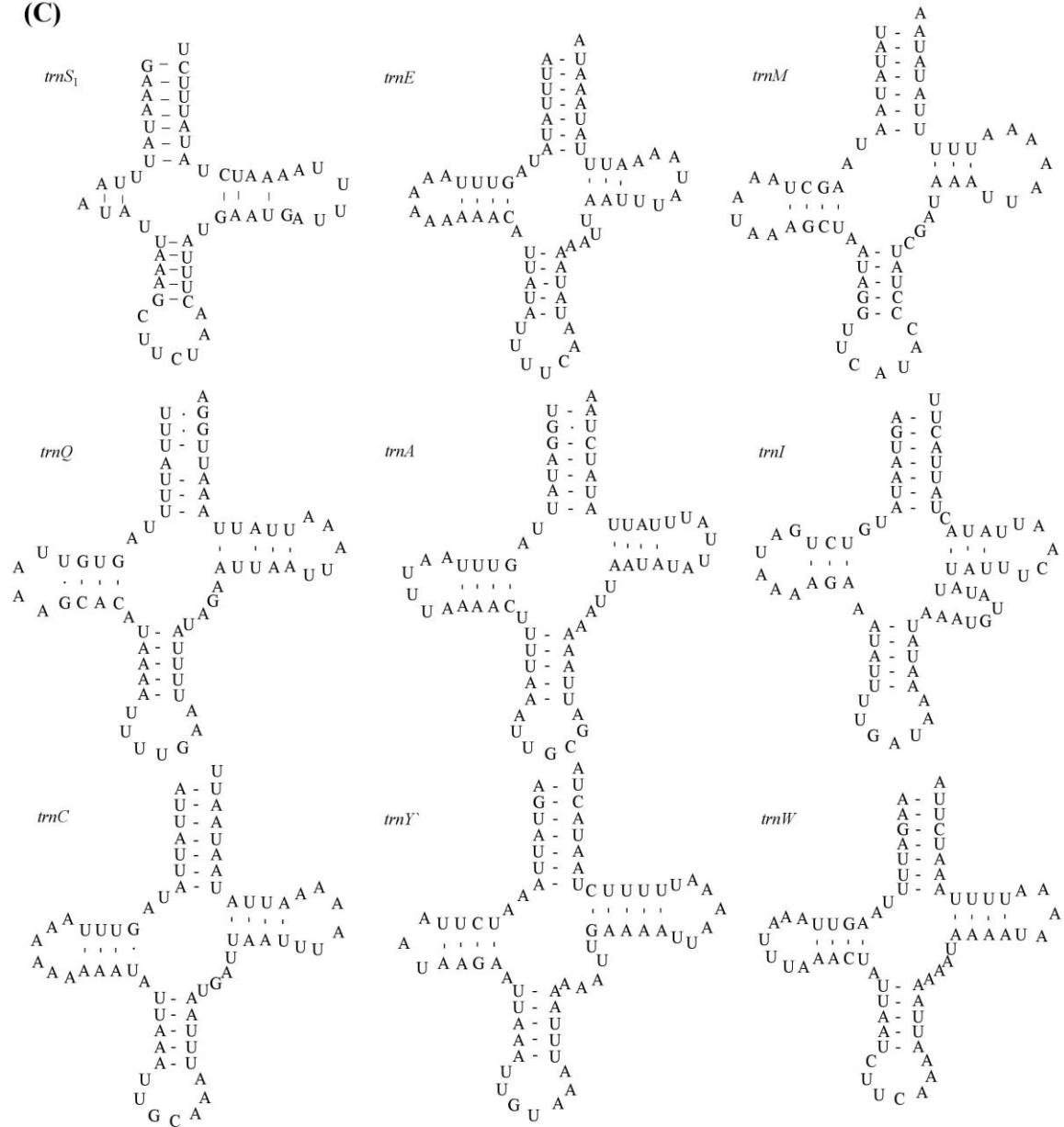


Supplementary Material Figure S1. Continued (5/12)

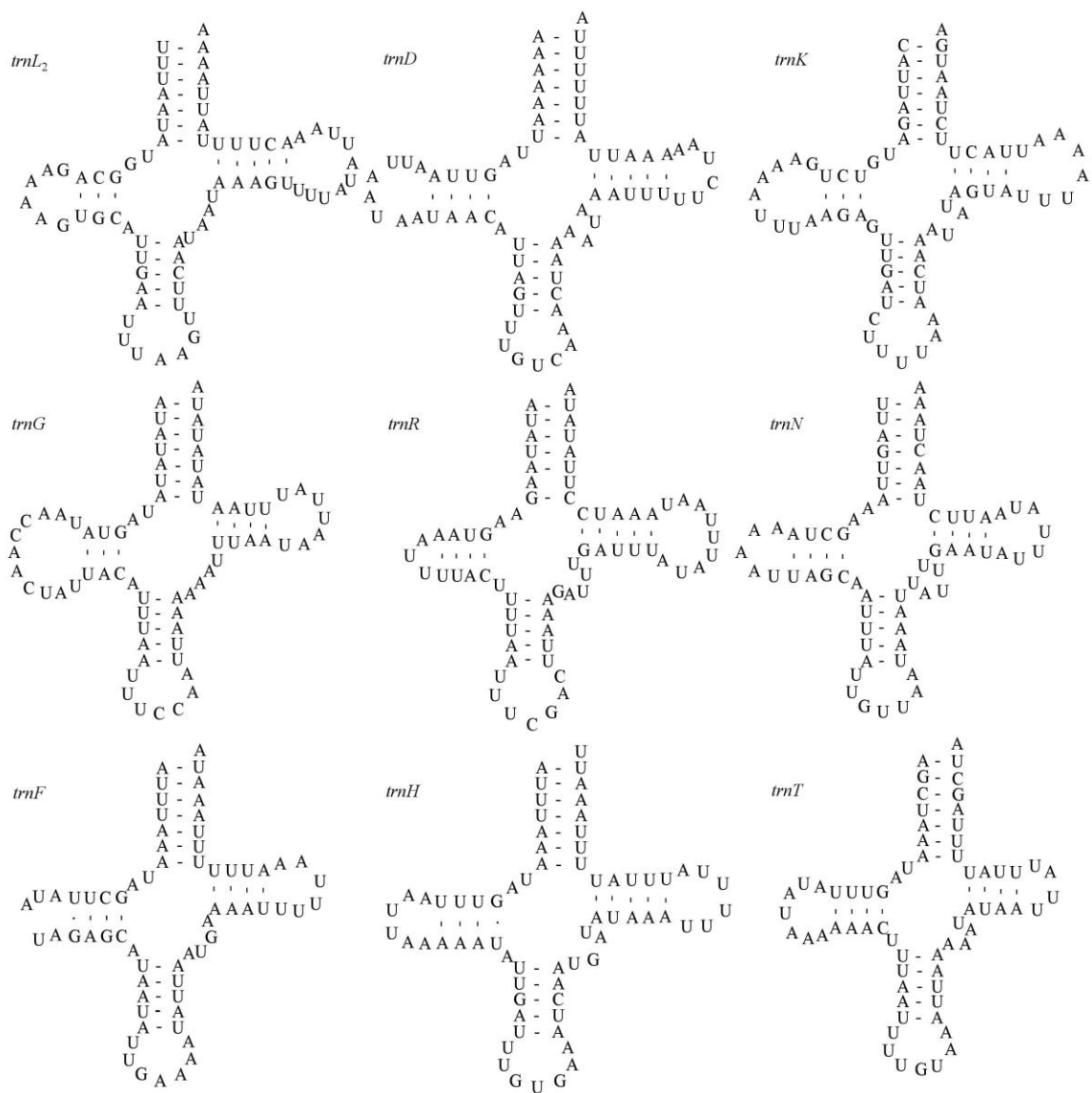


Supplementary Material Figure S1. Continued (6/12)

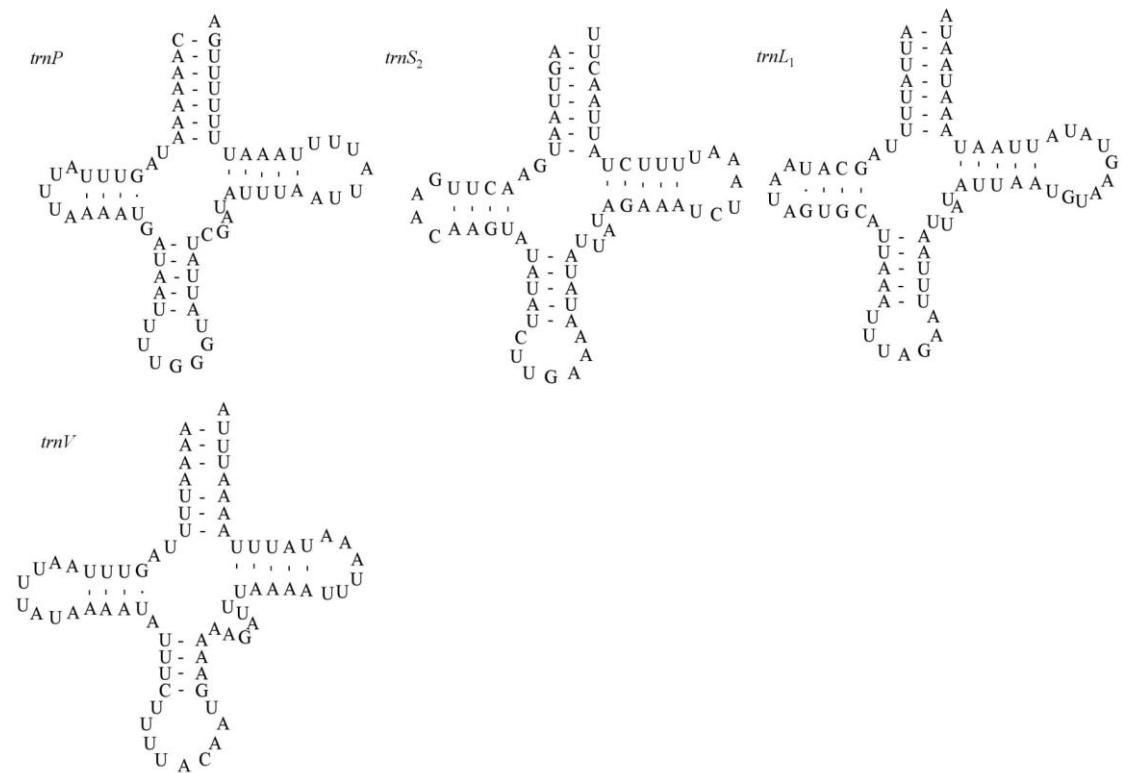
(C)



Supplementary Material Figure S1. Continued (7/12)

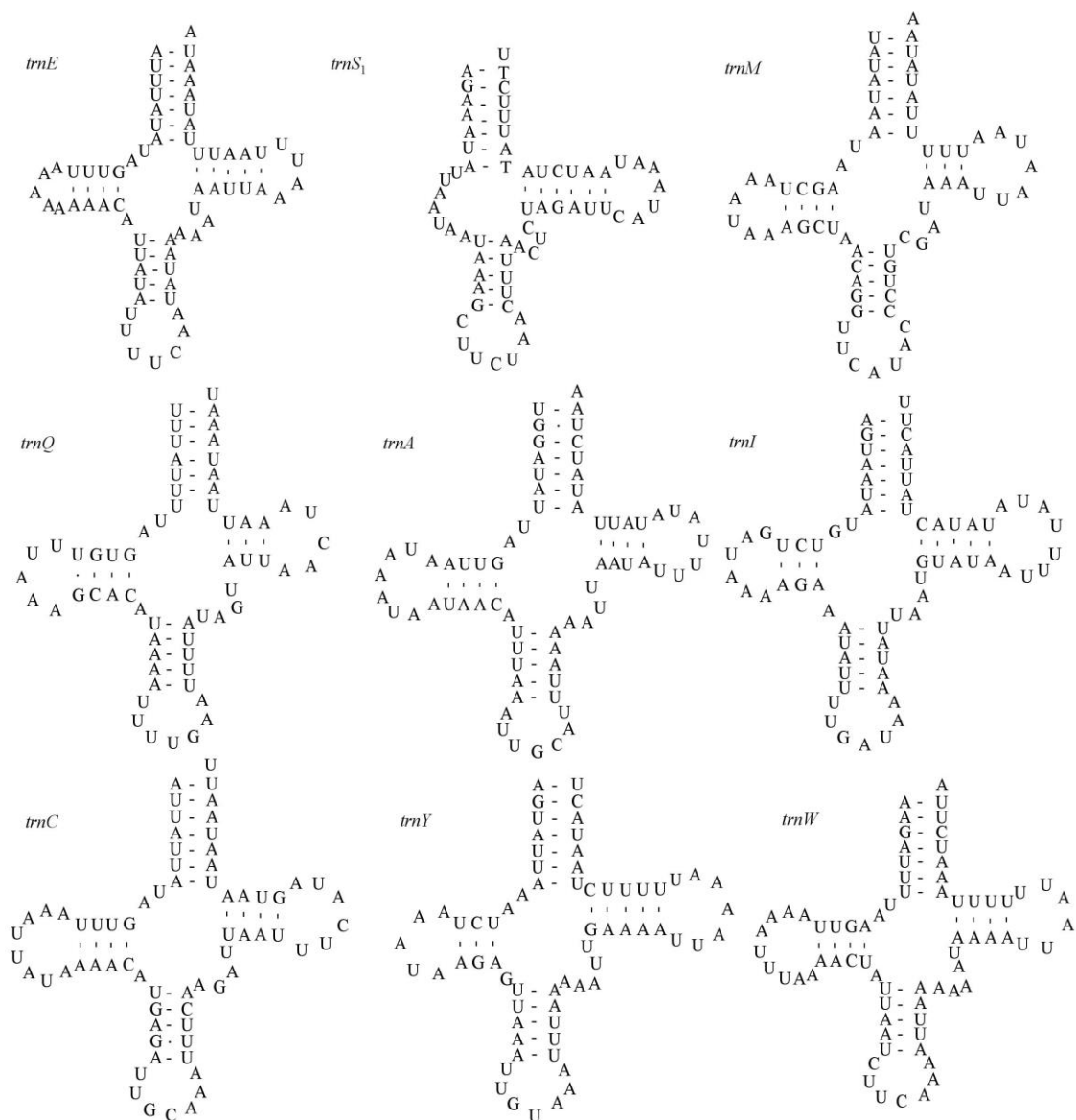


Supplementary Material Figure S1. Continued (8/12)

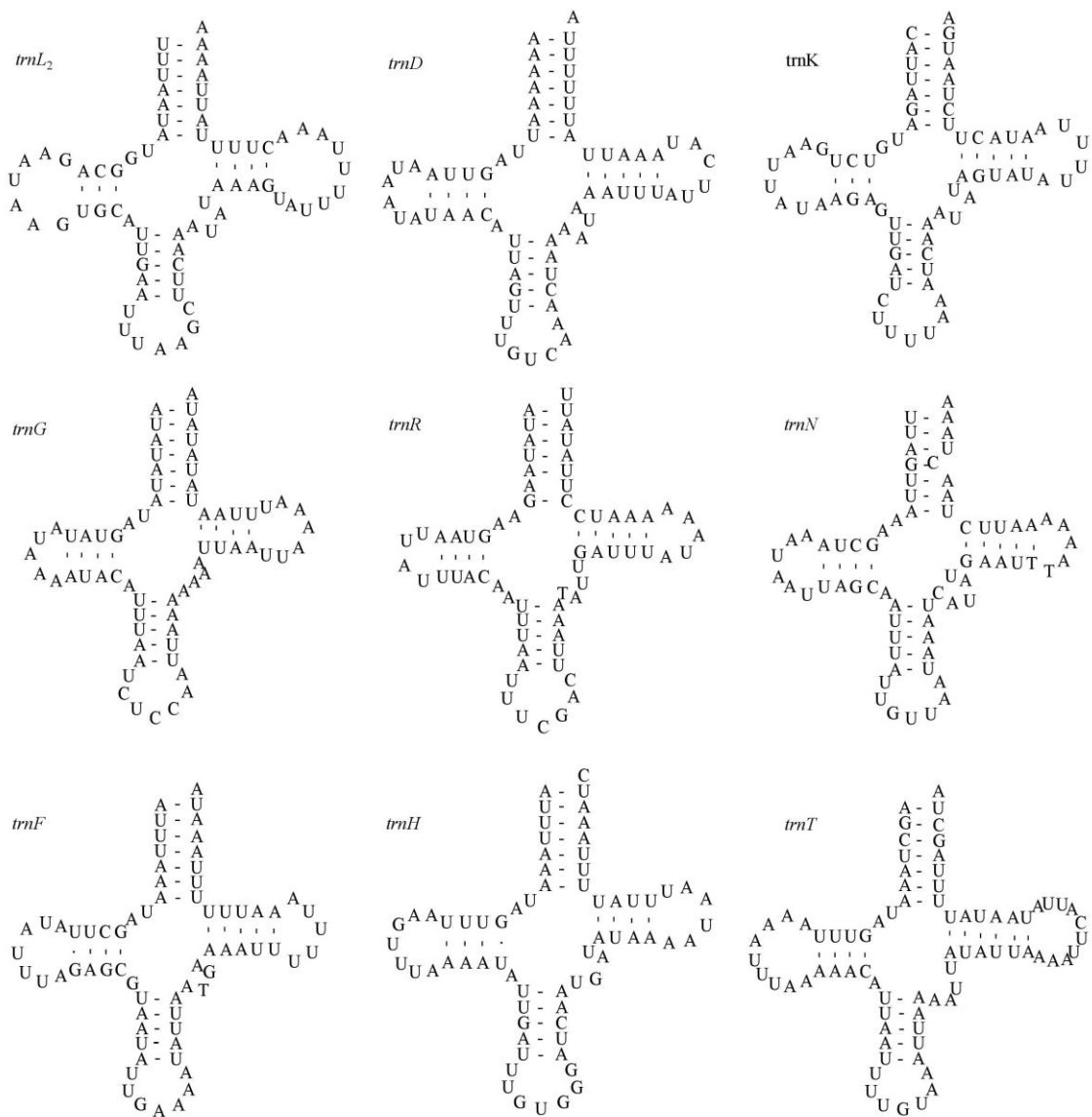


Supplementary Material Figure S1. Continued (9/12)

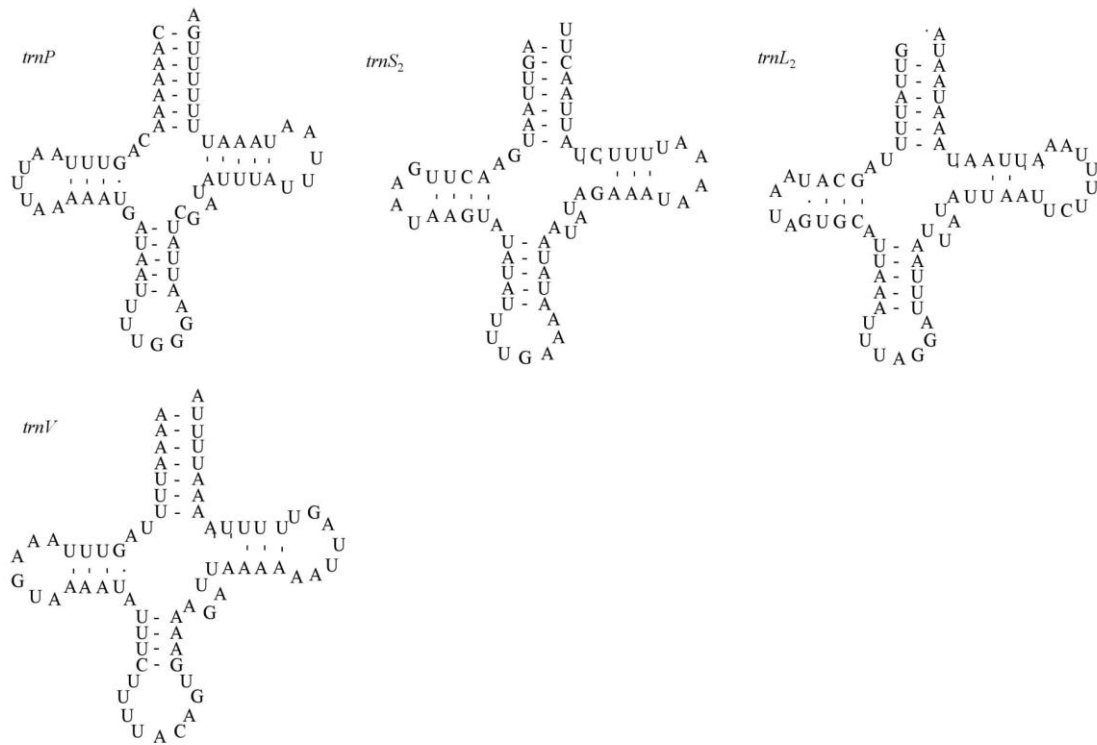
(D)



Supplementary Material Figure S1. Continued (10/12)



Supplementary Material Figure S1. Continued (11/12)



Supplementary Material Figure S1. (12/12)

Figure S1. Predicted secondary cloverleaf structures for the tRNA genes of the four *Apis* species sequenced in this study. (a) *Apis cerana*, (b) *Apis dorsata*, (c) *Apis laboriosa*, and (d) *Apis mellifera ligustica*. Dashes (-) indicate Watson-Crick base-pairing, and centered dots (•) indicate G-U base pairing. Arms of tRNAs (clockwise from top) are the amino acid acceptor arm, TΨC arm, anticodon arm, and dihydrouridine (DHU) arm.

(A) *Apis andreniformis* (KF736157)

 5'-CTATGATATTTTATTTTAAATA-3'
 (22 bp, 91%)
 5'-AATTAAATTAATTTTAATTAATTTATA-3'
 (27 bp, 100%)
 5'-AATTTTATAA-3'
 (10 bp, 27%)
 5'-TAATTGGTGGTTGTCGTGTATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAATTATTAATTTA-3'
 (68 bp, 82%)
 5'-TAATTGGTGGTTGTCGTGTATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAATTATTAATTTA-3'
 (68 bp, 82%)
 5'-TAATTGGTGGTTGTCGTGTATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAATTATTAATTTA-3'
 (68 bp, 82%)
 5'-TAATTGGTGGTTGTCGTGTATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAAGTATTAATTTA-3'
 (68 bp, 81%)
 5'-TAATTGGTGGTTGTCGTGTATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAATTATTAATTTTAT-3'
 (69 bp, 83%)
 5'-TTTTCTTCTAATTATATTAAGTT-3'
 (24 bp, 88%)
 5'-AATAATATATATAATAATTAATTAATTTTAAAAATTTTAAATTTAATTTTAT-3'
 (55 bp, 100%)
 5'-TAATTATTTATATATATATATATGTATAAAATAAAATTAAGTAAATATTAATTAGAAGGTAAGATAAAATTAGAAAAAAA
 TTAATATTTTATAATGATTTAAATTAATAATA-3'
 (117 bp, 93%)
 5'-ATATTTAAAAATTAAAAATTTTATTTTATAATATTAGAATATAAAATGATAAAAAAAATAAATAATAAAATTTAATTAATTTT
 GA-3'
 (90 bp, 97%)
 5'-TTAATAAAATTAAAAATTAATTTATTAAT-3'
 (28 bp, 100%)
 5'-ATTAATAATTAATATTAATAATAATATAAAAAATAATAATTAATTTTATATATATATATATATATTAATAAATTTTAAATA
 AAATGATAAAATTTTAAATAAAAAATTAATA-3'
 (118 bp, 99%)
 5'-ATTAATTTAAAAATAAAATT-3'
 (20 bp, 100%)
 5'-AAAAATTTAAATTTTAT-3'
 (16 bp, 100%)
 5'-ATTTAAAAATTTTATTTTATTGTTTAAAAA-3'
 (30 bp, 97%)
 5'-CATTTTAATAAAATAAATAATATAATTAATTAATAAAATATAATAGTGGAAATTTTAA-3'
 (61 bp, 93%)
 5'-TTTAAATTAATATTTAA-3''
 (18 bp, 100%)
 5'-ATTATAAAATT-3'
 (11 bp, 100%)
 5'-TTTTTAAATTAATAATTTTGTGTTAATTATATGATGTTACTAAATTTAAATTTATTATTATTAATTTTATGTTACAATTGTATTAT
 TTTTAAACTTAAATTAATTTTATTTTATTATTATTATTAATAATTTGTTGTAATTTATCTACTATTTTAAITCAATTAATCA
 CAACATTATTATATAAATAATAATTATATATTGTTGTTTATAGTATTATAA-3'
 (225 bp, 92%)
 5'-AATAAAATTTATTTATTA-3'
 (17 bp, 100%)
 5'-AATAAAATTTATTTATTA-3'
 (20 bp, 95%)
 5'-TTTATTAATTTATTAATTTATTTAAAAA-3'
 (27 bp, 100%)

(B) *Apis andreniformis* (KC294228)

[illegible]

(C) *Apis cerana* (GQ162109)

E --- M	5'-AAAAATAAATTATATAAAAAATCCATTATATAAT-3'
(34 bp, 94%)	
M --- Q	5'-TTATATAAAAATTTTATAATTTATTTGGGTCTATCATCTATCAATAATTTATTATTAATTTAAATATCCCTGTAAATTTTCTAAAA AAAAAAACAAAAAAAATTAAGAACTATTGGATAATAATCAATTGTAATAATAATAACAATAATAATAATAATAATAAT AATAATAATAACTCAATAAAAAATAATGAAATAATATATGTTTAATAAATTTATAATAAAA -3'
(231 bp, 91%)	
A --- I	5'-TTTATGCTAATTTTAAA-3'
(18 bp, 89%)	
Y --- H	5'-TTAATCATTATTATAT -3'
(16 bp, 94%)	
L₂ --- COII	5'-TTTAATAAGCTACAATTGCATTGAATTCTGAATTCAAACTCAAAGTAAAAAAGCTTTTATTAAAATTAATAATTTAAATTTATTA TTAAA -3'
(89 bp, 85%)	
ATP6 --- COIII	5'-AAAATTAAATTAATTTA-3'
(17 bp, 100%)	
COIII --- G	5'-TATTAATAATATAAATTAATTTATATAAATATTATTTATACITTTATAATATATATATATATATAT -3'
(66 bp, 98%)	
ND3 --- R	5'-TAAATTAATATTCTAAATA-3'
(19 bp, 95%)	
R --- N	5'-AAATTTAAATTTTAATTA-3'
(19 bp, 100%)	
N --- E	5'-ATAATTTTATAATAAATT-3'
(18 bp, 100%)	
H --- ND4	5'-AAAATTAAATTAATTTA-3'
(17 bp, 100%)	
ND4L --- T	5'-AAATTTTAATATTTAAATTTCAA-3''
(23 bp, 100%)	
T --- P	5'-AATTTATTTAAAATT-3'
(15 bp, 96%)	
P --- ND6	5'-AAAAATAAATCTTAATAATAAATTTTAAACATGAAATTTAAATAAATTA-3'
(50 bp, 94%)	
ND6 --- CytB	5'-ATATTTAACATA-3'
(12 bp, 92%)	
CytB --- S₂	5'-ATTTAAATTTTACTCTTAATTAA-3'
(23 bp, 91%)	
S₂ --- ND1	5'-TATTTTACTTA-3'
(12 bp, 92%)	

Supplementary Material Figure S2. Continued (3/24)

(D) *Apis cerana* (KM244704)

	5'-AAAAATAAATTATATAAAAAATCCATTTATATAAT-3'
(34 bp, 94%)	
	5'-TTATATAAAATTTTATAATTTATTTGGGTCTATCATCTATCAATAATCTATTTATTAATTTAAATATCCCTGTAAATTTTCTAAAAA AAAACAAAAAAAATTAAGAACTATTGGATAATAATCAATTGTAATAATAAACAATAATAATAATAATAATAATAAT AATAACTCAATAAAAAATAATGAAATAATATATGTTTAATAAATTTATAATAAA-3'
(231 bp, 91%)	
	5'-TTTATGCCAATTTTAAA-3'
(18 bp, 83%)	
	5'-TTAATCATTATTATAT -3'
(16 bp, 94%)	
	5'-TTTAATAAGCTACAATTGCATTGAATTCTGAATTCAACTCAAAGTAAAAAACTTTTATTAAAATTAATAATTTAAATTTATTATTA AA -3'
(89 bp, 85%)	
	5'-TCTATAATTTAAAATAAA-3'
(17 bp, 94%)	
	5'-TATTAATAATATAAAATTTAATTTATATAAATATTATTTATACTTTATAATATATATATATATATATAT -3'
(66 bp, 98%)	
	5'-TAAATTAATATTCTAAATA-3'
(19 bp, 95%)	
	5'-AAATTTAAAATTTTAATTA-3'
(19 bp, 100%)	
	5'-ATAATTTTATAATAAATT-3'
(18 bp, 100%)	
	5'-AAAATTAAATTAATTTA-3'
(17 bp, 100%)	
	5'-AAATTTTAATATTTAAATTTCAA-3''
(23 bp, 96%)	
	5'-AATTTATTTAAAATTTCAAAAAATTTATAAA-3'
(32 bp, 97%)	
	5'-AAAAATAAATCTTAATAATAAAATTTTAAACATGAAATTTAAATAAATTA-3'
(50 bp, 94%)	
	5'-ATATTTAACATA-3'
(12 bp, 92%)	
	5'-ATTTAAATTTACTCTTAATTAA-3'
(23 bp, 91%)	
	5'-TATTTATACTTA-3'
(12 bp, 92%)	

Supplementary Material Figure S2. Continued (4/24)

(E) *Apis cerana japonica* (AP017314)

		5'-AAAAATAAATTATATAAAATCCATTTATATAAT-3'
(34 bp, 94%)		
		5'-TTATATAAAAAATTTTATAATTTATTTGGGTCTATCATCTATCAATAATCTATTTATTAATTTAAATATCCCTGTAAATTTTCTA AAAAAAAACAAAAAAAATTAAGAACTATTGGATAATAATCAATTGTAATAATAACAATAATAATAATAATATAA TAATAATAATAAATACTCAATAAAAAATAATGAAATAATATATGTTTAATAAATTTATAATAAAA-3'
(231 bp, 89%)		
		5'-TTTATGCTAATTTTAAA-3'
(18 bp, 89%)		
		5'-TTAATCATTATTATAT-3'
(16 bp, 94%)		
		5'-TTTAATAAGCTACAATTGCATTGAATTCTGAATTCAAACTCAAAGTAAAAAATTTTATTAAAATTAATAATTTAAATTTATTATT AAA-3'
(89 bp, 87%)		
		5'-TCTGTAATTAATAAAA-3'
(17 bp, 88%)		
		5'-TATTAATAATATAAAATTAATTTATATAAATATTATTATACCTTTATAATATATATATATATATATAT-3'
(66 bp, 99%)		
		5'-TAAATTAATATTCTAAATAA-3'
(20 bp, 95%)		
		5'-AAATTTAAAAATTTAATTA-3'
(19 bp, 100%)		
		5'-ATAATTTTATAATAAATT-3'
(18 bp, 100%)		
		5'-AAAATTAATTAATTTA-3'
(17 bp, 100%)		
		5'-AAATTTAATATTTAAATTTCAA-3''
(23 bp, 96%)		
		5'-AATTTATTTAAAATT-3'
(32 bp, 97%)		
		5'-AAAAAAAATAAATCTTAATAATAAAATTTTCAACATGAAATTTAAATAAATT-3'
(54 bp, 93%)		
		5'-ATATTTAACATA-3'
(12 bp, 92%)		
		5'-ATTTAAATTTTACTCTTAATTAA-3'
(23 bp, 91%)		
		5'-TATTTATACTTA-3'
(12 bp, 92%)		

Supplementary Material Figure S2. Continued (5/24)

(F) *Apis cerana* (This study)

[illegible]

Supplementary Material Figure S2. Continued (6/24)

(G) *Apis dorsata* (KC294229)

E --- M	5'-AAAATAATAATTTTAAAATAATTTATAATTTTAAAATAATTATTAATTTTCTATAAAATTTAAATTTAAATAAATTATT-3'
(82bp, 99%)	
A --- I	5'-ATATAACTTATT-3'
(12 bp, 92%)	
I --- ND2	5'-AATAATAATAATATAATATATTATTTTATTA-3'
(32 bp, 100%)	
C --- Y	5'-TTTATACTTTAT-3'
(12 bp, 92%)	
Y --- W	5'-TTTAATAATTTTATATTATATATATATATATAATACAT-3'
(40 bp, 98%)	
L2 --- COII	5'-TTAATAAATTTTATTATTATTA-3'
(24 bp, 100%)	
COIII --- G	5'-AATTATTATATAAATTATAAAATAAGTATAAATTTATATTATATATAT -3'
(49 bp, 98%)	
ND3 --- R	5'-TTTATTATTAATTTATAAATACATTTATAATATAAA-3'
(36 bp, 97%)	
R --- N	5'-AAAAATATTACTCTAATTTT-3'
(20 bp, 90%)	
F --- ND5	5'-AATTTAAATAAATT-3'
(14 bp, 100%)	
ND4 --- ND4L	5'-AATTTAAATAAATT-3'
(31 bp, 94%)	
ND4L --- T	5'-AAATTTAATAT-3'
(11 bp, 100%)	
T --- P	5'-AATTTATTAAATT-3'
(13 bp, 100%)	
P --- ND6	5'-AATTCCATTATTTAAAAATCTTAAATATTTAATAAATTA-3'
(40 bp, 93%)	
ND6 --- CytB	5'-TATAATATACAAAATA-3'
(16 bp, 93%)	
CytB --- S2	5'-TTTATAAATTTT-3'
(12 bp, 100%)	

Supplementary Material Figure S2. Continued (7/24)

(H) *Apis dorsata* (This study)



Supplementary Material Figure S2. Continued (8/24)

(I) *Apis florea* (JX982136)

		5'-TATATTTAAATTTATAAACCG-3'
(22 bp, 86%)		
		5'-TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATTTATTAATATAAAAAATAATTTATCAAAATTTATAAATATATTATAAA TTTATATTTAAAAATTTATAAACCG-3'
(108 bp, 94%)		
		5'-TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATTTATTAATATAAAAAATAATTTATCAAAATTTATAAATATATTATAAA TTTATATTTAAAAATTTATAAACCG-3'
(108 bp, 94%)		
		5'-TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATTTATTAATATAAAAAATAATTTATCAAAATTTATAAATATATTATAAA TTTATATTTAAAAATTTATAAACCGAC-3'
(110 bp, 94%)		
		5'-AAATTTTATTTTAAATTTTATAAA-3'
(24 bp, 100%)		
		5'-TTTTAAATTTTAAATAAAAAATTATTAAATTTTAAAAATATTAGTATAAAAAATTCAA-3'
(58 bp, 97%)		
		5'-TAAATAATAA-3'
(10 bp, 100%)		
		5'-AATAATATATAAAAAATAAAATTTTAT-3'
(32 bp, 100%)		
		5'-TTCAAATAAAAAATAATTTTT-3'
(22 bp, 96%)		
		5'-TTTATTAAAAAAATATTTTAAATTTTT-3'
(30 bp, 100%)		
		5'-TTAAAAAATTAATTTTAAAAATTACTAAAAATTTTTCTATA-3'
(41 bp, 95%)		
		5'-TTAATAAATTAATAAATTAATTTATTAAT-3'
(35 bp, 100%)		
		5'-TAAATAAATTTCTTAATATAAATATATATATATAT-3'
(36 bp, 97%)		
		5'-TATTTTAATTTTA-3'
(13 bp, 100%)		
		5'-TAAAAATACTATAAAA-3'
(16 bp, 94%)		
		5'-AATAATTTAT-3'
(10 bp, 100%)		
		5'-TTTTTAAATCAGAACAAATTAATTTTTTATATT-3'
(35 bp, 91%)		
		5'-GAATTTTAAATTAATTAACAATCGTTATAACTTATAAATCTAATAAA-3''
(47 bp, 87%)		
		5'-AATTAAAAT-3'
(10 bp, 100%)		
		5'-ATAATTAAAAATGAAAAATAATTCCAATTTAT-3
(31 bp, 90%)		
		5'-TATAAATTAATTTATTA-3'
(18 bp, 100%)		
		5'-TTAAATAAATAAATTTTA-3'
(18 bp, 100%)		
		5'-TTAAATATCTATCTATTTTAAAAATTAATTTGTAATAAAAAATATTAGTATAAAAAATAACATATATATATATATAT-3'
(79 bp, 94%)		

Supplementary Material Figure S2. Continued (9/24)

(J) *Apis florea* (KC170303)

		5'-TATATTTAAAATTTATAAACCG-3'
(22 bp, 86%)		
		5'-TTTAATTTATAAAGTTAATAAAAATTAACATTATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATATCAAATTTATAAATATATTTATAAA TTTATATTTAAAATTTATAAACCG-3'
(108 bp, 94%)		
		5'-TTTAATTTATAAAGTTAATAAAAATTAACATTATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATATCAAATTTATAAATATATTTATAAA TTTATATTTAAAATTTATAAACCG-3'
(108 bp, 94%)		
		5'-TTTAATTTATAAAGTTAATAAAAATTAACATTATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATATCAAATTTATAAATATATTTATAAATTT ATATTTAAAATTTATAAACCAAC-3'
(110 bp, 95%)		
		5'-AAATTTTATTTTAAATTTTATAA-3'
(23 bp, 100%)		
		5'-TTAAAAATTTTAAATAAAAAATTATTAATTTTAAAAATATTAGTATAAAAAATTAAA-3'
(58 bp, 98%)		
		5'-TAAATAATAA-3'
(10 bp, 100%)		
		5'-AATAATATATAAAAAATAAAATTTTAT-3'
(32 bp, 100%)		
		5'-TCAAATAAAAAATAATTTT-3'
(21 bp, 95%)		
		5'-TTAATTAAAAAATATTTTAAATTTT-3'
(28 bp, 100%)		
		5'-TTAAAAATTAATTTTAAAAATTACTAAAAATTTTCTATA-3'
(40 bp, 95%)		
		5'-TTAATAAATTAATTTAAATATTAATAATTT-3'
(35 bp, 100%)		
		5'-TAAATAAATTTCTTATAT-3'
(19 bp, 95%)		
		5'-TTTTTAATTTA-3'
(13 bp, 100%)		
		5'-AAAAATATTATAAAA-3'
(16 bp, 94%)		
		5'-AATAATTTAT-3'
(10 bp, 100%)		
		5'-TTTTTAAATCAAATAATTAATTTTATATT-3'
(34 bp, 97%)		
		5'-GAATTTTAAATTAATTAACATCGTTATAACTTATAAATCTAATAAA-3''
(47 bp, 87%)		
		5'-AATTAATTAAT-3'
(10 bp, 100%)		
		5'-ATAATTAAAA-3'
(10 bp, 100%)		
		5'-TAAATTTAAATTATTA-3'
(17 bp, 100%)		
		5'-TAAATAAATAAATTTTA-3'
(17 bp, 100%)		
		5'-TTAATATCTATCTATTTTAAAAATTAATTTTGTAAATAAAAAATATTAGTATAAAAAATAACATATATATATATAT-3'
(77 bp, 94%)		

Supplementary Material Figure S2. Continued (10/24)

(K) *Apis koschevnikovi* (AP017643)

		5'-AATTTAATAA-3'
(10 bp, 100%)		
		5'-TATTATAATAAATTAACATATTATATATATATATATGTATATT-3'
(43 bp, 95%)		
		5'-TATTATAATAAATTAACATATTATATATATATATATATATATATATGTATATT-3'
(55 bp, 96%)		
		5'-AATCTTTATTAATTAATT-3'
(18 bp, 94%)		
		5'-AATTATAATTTT-3'
(13 bp, 100%)		
		5'-ATTATATATTAAT-3'
(13 bp, 100%)		
		5'-TAATTTAATAAAGCAATTTATGCACTGAATTTAATCAATAAAATAGTTATATAAACTTTTATTAATATTAATAATTAATTAATTA TTAAA-3'
(90 bp, 90%)		
		5'-TTTATTAATTTAA-3'
(13 bp, 100%)		
		5'-TTATTATTTATTAATAAATAAAATATTTTTTTTTTATATATATAT-3'
(45 bp, 100%)		
		5'-ATATATATATATATATATATATTATAAATAAATTTTAAAT-3'
(41 bp, 100%)		
		5'-AATCTAAATAATTAAAAATAAATTTT-3'
(27 bp, 96%)		
		5'-AAATTTTAATTAAATTATTA-3'
(20 bp, 100%)		
		5'-AATTACTTAAAT-3'
(15 bp, 93%)		
		5'-AAAATAAAATTTTTATTATATTTTAATTAAATTA-3'
(36 bp, 90%)		
		5'-ATAATTTTACTTAAATTAATAA-3'
(22 bp, 100%)		
		5'-TAATTAATAATAAATAACTTTTT-3'
(23 bp, 96%)		
		5'-TAATTTATTTATTTATTAATTA-3'
(23 bp, 100%)		

Supplementary Material Figure S2. Continued (11/24)

(L) *Apis koschevnikovi* (KY348372)

 ---  5'-ACTATAATAAGTTAACAATTAATATATATATATATATATTATT-3'
 (45 bp, 93%)

 ---  5'-AATCTTTATTAATTAAT-3'
 (17 bp, 94%)

 ---  5'-AATTATAATTTTT-3'
 (13 bp, 100%)

 ---  5'-ATTATATATTAAT-3'
 (13 bp, 100%)

 ---  5'-TAATTTAATAAAGCAATTTATGCACTGAATTTAATCAATAAAATAGTTATATAAACTTTTATTAATATTAAATAATTAATTAATTA
 TTTAA-3'
 (90 bp, 90%)

 ---  5'-TTTATTAATTTAA-3'
 (13 bp, 100%)

 ---  5'-TTATTATTATTATAATAAATAAAATATTTATAATATAT-3'
 (37 bp, 100%)

 ---  5'-ATATATATATATATATATATATATATATATATATTATAAATAAAATTTTAAAT-3'
 (57 bp, 100%)

 ---  5'-AATCTAAGTAATTAAAAATAATATT-3'
 (26 bp, 92%)

 ---  5'-AAATTTTAATTAAATTATTA-3'
 (20 bp, 100%)

 ---  5'-AATTTACTTAAATTT-3'
 (16 bp, 94%)

 ---  5'-AAAATAAAATTTTTATTATATTTTAATTAAATTA-3'
 (36 bp, 90%)

 ---  5'-ATAATTTTATTTAAATTAATAA-3'
 (22 bp, 100%)

 ---  5'-TAATCAATAATAAATACTTTTT-3'
 (23 bp, 91%)

 ---  5'-TAATTTATTTATTTATTAATTA-3'
 (23 bp, 100%)

Supplementary Material Figure S2. Continued (12/24)

(M) *Apis laboriosa* (This study)

  5'-TAAATTAAATTATT-3'
(14 bp, 100%)

  5'-CATATAAATTATTTATT-3'
(17 bp, 94%)

  5'-AATAATATTTCCAATTTAATATTATATTATTA-3'
(32 bp, 94%)

  5'-AATAAACTTAAATTTATTTTATTTTAAAA-3'
(32 bp, 94%)

  5'-AAATTATTTATAATATTTCAAT-3'
(22 bp, 96%)

  5'-TTAATAAATTAATTCCTATTATTATAA-3'
(28 bp, 93%)

  5'-TCTATAAAAATATACATTTTATTTTATATATTTTAATATTATCTTAATATTTAT-3'
(54 bp, 94%)

  5'-AAATAATTAAATAACAATAATAATAAATTAGAAT-3'
(36 bp, 94%)

  5'-ATATATATATATATATATATTATTATTATTTTATTTTCAATTAATAATTTTTTTTTTAAAAAAAATAAT-3'
(71 bp, 99%)

  5'-CATTATTATAAATAATAATAATATAAT-3'
(30 bp, 97%)

  5'-TAATTTAATAAT-3'
(12 bp, 100%)

  5'-AATTTATTAAAT-3'
(13 bp, 100%)

  5'-AAAAACCTAATTATTTTAACTACAAAATTTAATAAATTA-3'
(40 bp, 90%)

  5'-ATTATAATTTTATTTTATTTTATA-3'
(23 bp, 100%)

  5'-TTTTTTTTTAAATTTTAA-3'
(18 bp, 100%)

  5'-TATTATTTACAACATTATATTAATATATTTAAATTATAAATTTAATGCATCATAATGCTTAAATAATAAATTA-3'
(73 bp, 90%)

Supplementary Material Figure S2. Continued (13/24)

(N) *Apis nigrocincta* (KY799147)



Supplementary Material Figure S2. Continued (14/24)

(O) *Apis mellifera capensis* (KX870183)

 5'-TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAAATAAATAACCTAAAAATTATTTATTAATAA-3'
 (60bp, 92%)

 5'-ATTATATAATTTAAATAAATATTAATTTTAAAAATAAAAT-3'
 (39 bp, 100%)

 5'-TTATTTACCATGATATAGTA-3'
 (20 bp, 80%)

 5'-AAGTAAGATTTAAAAAACCCCTTTTATTTTATTTTATTTTAAATTTTAAAAATATACA-3'
 (61 bp, 90%)

 5'-TTAATAAATTAATATAAAATAAAACAAATATAACAGAATATATTTATTTAAAATTTAATTTATTTAAAATTTCCCACTTAATTCATATTAGTTTAAAAATAAATTAATAACAATTTTAATAAAAAATAAATAATTTATTTTATATTGAATTTTAAATTCATCTTAAAGATTTAATCTTTTATTTAAATTAATAAATTAATATAAAAATAAACAAAAATAACAGAATATATTTATTTAAATTTAATTTTATTTAA-3'
 (259 bp, 93%)

 5'-AATATTTATAAATAAAACTAA-3'
 (21 bp, 95%)

 5'-TAAAAATTTATAAATTAATAAATAAATTAATAATCAAATAAAATTATAATTATAATTAT-3'
 (94 bp, 99%)

 5'-AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAT-3'
 (33 bp, 88%)

 5'-TTTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATATTTTAAAAATAAAAAACCTAAAATAATATAATAAATTAATTTATTACATTATTTATTTAAAT-3'
 (96 bp, 97%)

 5'-AAATTTAAATAA-3'
 (12 bp, 100%)

 5'-CTAATTTTAAACTTTAAT-3'
 (19 bp, 90%)

 5'-TCAATATAATTAATAAATAATAAATATATTTAA-3'
 (32 bp, 97%)

 5'-AAATCTTATAA-3'
 (12 bp, 92%)

 5'-AATTTATCATTCATAAATTT-3'
 (20 bp, 90%)

 5'-TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAATTTATTATATTATTTAATTTTTTACCATCA-3'
 (59 bp, 93%)

 5'-ATTAATAAAAAATTAATTTTTTTTTTAAAAATCAATTTTTTAAATTTTA-3'
 (48 bp, 98%)

 5'-TTTACTTATTTTAAATATAAATTAATATTTAACT-3'
 (34 bp, 94%)

Supplementary Material Figure S2. Continued (15/24)

(P) *Apis mellifera intermissa* (KM458618)

		5'-TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACCTAAAAATTATTATTAATAA-3'
(49 bp, 92%)		
		5'-ATTATATAATTTAAATAAAATTTAATTTTAAAAATAAAAT-3'
(38 bp, 100%)		
		5'-TTATTTACCATGATATAGTA-3'
(20 bp, 80%)		
		5'-AAGTAAGATTTAAAAAATCCTTTTTTATTTTTTATTTTTTAAATTTTAAAAATACA-3'
(66 bp, 92%)		
		5'-TTTCCCACTTAATTCATATTAATTTAAGAATAAATTAATAACAATTTTAAATAAAATAAATAATTTTATTTTATATTGAA TTTTTAATTCATCTTAAAGATTTAATCTTTTATTTAAATTAATAAATTAATATAAAATAAAACAAAATATAACAAATATATTT ATTAATAATTTAATTTATTTAAA-3'
(191 bp, 92%)		
		5'-AATATTTAAAAATAAAACTAA-3'
(20 bp, 95%)		
		5'-TAAAAATTTATAAATTAATAAAATAAATAATCAATTATATATATATATATATAT-3'
(54 bp, 98%)		
		5'-AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT-3'
(33 bp, 88%)		
		5'-TTTTTATTTAATTTATTTTATTTAAATAATTAATATTTTAAAAATAAAACCTAAAATAATATAATAAATTAATTTATTACATTA TTTTATTTAAAT-3'
(96 bp, 97%)		
		5'-AAATTTAAATAA-3'
(12 bp, 100%)		
		5'-CTAATTTTAAACTTTAAT-3'
(19 bp, 90%)		
		5'-AAATCTTATAA-3'
(12 bp, 92%)		
		5'-AATTTATCATTCAATAAAT-3'
(19 bp, 90%)		
		5'-TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAATTAATTATATTATTATTAATTTTACCATCA-3'
(59 bp, 93%)		
		5'-ATTAAATAAAAAATTAATTTTAAAAATCAATTTTAAATTTT-3'
(44 bp, 98%)		
		5'-TTTTACTTATTTAATATAAATTAATATTAAACT-3'
(34 bp, 94%)		

Supplementary Material Figure S2. Continued (16/24)

(Q) *Apis mellifera lamarckii* (KY464958)



Supplementary Material Figure S2. Continued (17/24)

(R) *Apis mellifera ligustica* (L06178)

		5'-TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAATCTAAAAATTATTTATTAATAA-3'
(49 bp, 93%)		
		5'-ATTATATAAATTAATTTAGATAAATATTAATTTTAAATAAT-3'
(42 bp, 98%)		
		5'-TTATTTAACATGATATAATA-3'
(20 bp, 90%)		
		5'-AAATAAGATTTAAAAAACCTTTTTATTTTTATTTTTTAAATTTTAAATATATACA-3'
(62 bp, 92%)		
		5'-TTTCCCACCTTAATTCATATTAATTTAAAAATAAATTAATAACAATTTTAATAAAAATAAATAATTAATTTTATTTATATTG AATTTTAAATTCATCTTAAAGATTTAATCTTTTTATTAAAATTAATAAATTAATATAAAAATAAAACAAAATATAACAGAATA TATTTATTAATTTAATTTATTAAA -3'
(193 bp, 92%)		
		5'-AATATTAAAAATAAACTAA-3'
(20 bp, 95%)		
		5'-TAAAAATTTATAAATTAAAAAATAAAATTATAATTATATATATATATATATAT-3'
(54 bp, 100%)		
		5'-AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT-3'
(33 bp, 88%)		
		5'-TTTTATTTAATTTATTTATTTAAAATAATTAATTTTTTAAAAATAAACCTAAAATAATATAATAAATTATTTATTATATTAT TTTATTTAAAT-3'
(95 bp, 98%)		
		5'-AAATTTAAATAA-3'
(13 bp, 100%)		
		5'-CTAATTTTAAACTTTAAT-3'
(19 bp, 90%)		
		5'-AAATCTTATAA-3'
(12 bp, 92%)		
		5'-AATTTATCATTCAATAAAT-3'
(19 bp, 90%)		
		5'-TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAATTAATTATATTATTATTAATTTTTACCATCA-3'
(59 bp, 93%)		
		5'-ATTAAATAAAAAATTAATTTTTTAAAAATCAATTTTAAATTTTA-3'
(45 bp, 98%)		
		5'-TTTACTTATTTAATATAAATTAATATTAAACT-3'
(34 bp, 94%)		

Supplementary Material Figure S2. Continued (18/24)

(S) *Apis mellifera ligustica* (This study)

[illegible]

Supplementary Material Figure S2. Continued (19/24)

(T) *Apis mellifera meda* (KY464957)

 	5'-TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAATCTAAAAATTATTATTAATAA-3'
(49 bp, 94%)	
 	5'-ATTATATAAATTAATTTAGATAAATATTAATTTTAGAATAAAAT-3'
(43 bp, 95%)	
 	5'-TTATTTAACATGATATAGTA-3'
(20 bp, 85%)	
 	5'-AAATAAGATTTAAAAAACCCCTTTTATTTTATTTTATTTTAAATTTTAAAAATATATACA-3'
(62 bp, 92%)	
 	5'-TTTCCCACTTAATTCATATTAATTTAAAAATAAATTAATAACAATTTTAAATAAAATAAATAATTTTATTTTATATTGAA TTTAAATTCATCTTAAAGATTTAATCTTTTATTTAAATTAATAAATTAATATATAATAAAACAAAATATAACAGAATATATT TATTTAAATTTAATTTATTTAAA-3'
(192 bp, 93%)	
 	5'-AATATTTAAAAATAAACTAA-3'
(20 bp, 95%)	
 	5'-TAAAAATTTATAAATTAAAAAATAAAATTATAATTATATATATATATA-3'
(49 bp, 100%)	
 	5'-AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT-3'
(33 bp, 88%)	
 	5'-TTTTTTAATTTATTTATTTAAAATAATTAATTTTAAATAAAACCTAAAATAATATAATAAATTATTTTATTATATTATT TATTTAAAT-3'
(94 bp, 98%)	
 	5'-AAATTTAAAATAA-3'
(13 bp, 100%)	
 	5'-CTAATTTTAAACTTTAAT-3'
(19 bp, 90%)	
 	5'-AAATTCCTAA-3'
(10 bp, 90%)	
 	5'-AATTTATCATTCAATAATT-3'
(20 bp, 90%)	
 	5'-TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAATTAATTATATTATTATTAATTTTACCATCA-3'
(59 bp, 93%)	
 	5'-ATTTAATAAAAAATTAATTTTAAAAATCAATTTTAAATTTTA-3'
(45 bp, 98%)	
 	5'-TTTTACTTATTTAACATAAATTAATATTAACT-3'
(34 bp, 91%)	

Supplementary Material Figure S2. Continued (20/24)

(U) *Apis mellifera mellifera* (KJ396191)

		5'-TTATTTAACATGATATAATA-3'
(20 bp, 90%)		
		5'-AAGTAAGATTTAAAAAACCTTTTTATTTTTATTTTTAAAAATTTTAAATATATACA-3'
(62 bp, 90%)		
		5'-TTTCCCCACTTAATTCATATTAATTTAAAAATAAATTAATAACAATTTTAAATAAAATAAATAATTAATTTTATTTTATATTGA ATTTTAAATTCATCTTAAAGATTTAATCTTTTATTTAAATTAATAAATTAATATAAAATAAAATAAAATATAACAGAATATA TTTATTAAAACTTAATTTATTTAAA-3'
(193 bp, 92%)		
		5'-TAAATATTAAAAATAAACTAA-3'
(23 bp, 96%)		
		5'-TAATAAAAAATTTATAAATTAAAAAATAAAATTATAATTATATATATATATATATAT-3'
(57 bp, 100%)		
		5'-TAAATTTAAATAATTACAATAATAACTACCAAAT-3'
(36 bp, 89%)		
		5'-TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAACCTAAAATAATATAATAAATTATTTATTACATTATT TTATTTAAAT-3'
(95 bp, 97%)		
		5'-AAATTTAAATAA-3'
(13 bp, 100%)		
		5'-CTAATTTTAAACTTTAAT-3'
(19 bp, 90%)		
		5'-AAATCTTATAA-3'
(12 bp, 92%)		
		5'-AATTTATCATTCAATAAATT-3'
(19 bp, 90%)		
		5'-TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAATTAATTATATTATTATTAATTTTACCATCA-3'
(59 bp, 93%)		
		5'-ATTAAATAAAAAATTAATTTTTTAAAAATCAATTTTAAATTTTA-3'
(45 bp, 98%)		
		5'-TTTACTTATTTAATATAAATTAATATTAACT-3'
(34 bp, 94%)		

Supplementary Material Figure S2. Continued (21/24)

(V) *Apis mellifera scutellata* (KJ601784)

E --- **S_I** 5'-TAATTAAGTCAAATTAAATTTAAATAACAAATAAATAACCTAAAAATTATTTATTAATA-3'
(60 bp, 92%)

S_J --- **M** 5'-ATTATATAATTTAAATAAATATTAATTTTAAAATAAAAT-3'
(39 bp, 100%)

C --- **E** 5'-TTATTTACCATGATATAATA-3'
(20 bp, 85%)

Z --- **H'** 5'-AAGTAAGATTTAAAAAACCCTTTTTATTTTTTATTTTTTAAATTTTTAAATATACA-3'
(59 bp, 90%)

L₂ --- **COII** 5'-TTAATAAATTAATATAAAATAAAACAAAATATAACAAGAATATATTTATTAAAATTTAATTTATTAAAATCCCCACTTAATTCA
TATTAATTTAAAAATAAATTAATAACAATTTTAATAAAATTTTAATCTTTTATTAAAATTAATAAATTAATATAAAATAAAACA
AAATATAACAGAATATATTTATTAAAATTTAATTTATTAAA-3'
(211 bp, 93%)

ATP6 --- **COIII** 5'-AATATTATAAAATAAACTAA-3'
(20 bp, 95%)

COIII --- **G** 5'-TAAAAATTATAAATTAATAAATAAATAAATAATCAAAATAAAATTATAATTATAATATATATATATATATATATATATAT
ATATATATATAT-3'
(95 bp, 99%)

ND3 --- **R** 5'-AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT-3'
(33 bp, 88%)

R --- **N** 5'-TTTTTATTTAATTTATTTATTAATAAATAATTAATTTTAAAAATAAAACCTAAAATAATATAATAAATTAATTTATTACATTA
TTTTATTAAAT-3'
(96 bp, 97%)

E --- **ND5** 5'-AAATTTAAATAA-3'
(12 bp, 100%)

H --- **ND4** 5'-ATAATTTTTTAAACTTTAAT-3'
(19 bp, 90%)

ND4 --- **ND4L** 5'-TCAATATAATTAATAATAAATATATTAA-3'
(28 bp, 96%)

ND4L --- **T** 5'-AAATTCITTATAA-3'
(12 bp, 92%)

T --- **P** 5'-AATTTATCATTCATAAATTT-3'
(20 bp, 90%)

ND6 --- **CytB** 5'-TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAATTATTATATTATTATTAATTTTTACCATCA-3'
(59 bp, 93%)

CytB --- **S₂** 5'-ATTAATAAAAAAAAAATTAATTTTTTTTTTAAAAATCAATTTTTAAATTTTA-3'
(49 bp, 9%)

S₂ --- **NDI** 5'-TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT-3'
(34 bp, 94%)

Supplementary Material Figure S2. Continued (22/24)

(W) *Apis mellifera scutellata* (KY614238)

		5'-TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAAATAAATAACCTAAAAATTATTTATTAATAA-3'
(60 bp, 92%)		
		5'-ATTATATAATTTAAATAAATATTAATTTTAAAAATAAAAT-3'
(39 bp, 100%)		
		5'-TTATTTACCATGATATAGTA-3'
(20 bp, 80%)		
		5'-AAGTAAGATTTAAAAAACCCCTTTTTTATTTTTTATTTTTTAAATTTTAAAAATATACA-3'
(60 bp, 90%)		
		5'-TTAATAAATTAATATAAAATAAAACAAAATATAACAGAATATATTTATTTAAATTTAATTTATTTAAATTTCCCACTTAATTCA TATTAATTTAAAAATAAATTAATAACAATTTTAATAAAATAAATAAATTAATTTATTTTATATTGAATTTTAATTCAATCTTA AAGATTTAATCTTTTATTAAAAATTAATAAATTAATATAAAATAAAACAAAATATAACAGAATATATTTATTTAAATTTAATTT ATTAAA-3'
(259bp, 93%)		
		5'-AATATTCATAAATAAAACTAA-3'
(21 bp, 91%)		
		5'-TAAAAATTTATAAATTAATAAATAAATAAATAATCAATAAAATTATAATTATAATATATATATATATATATATATAT ATATATATAT-3'
(93 bp, 99%)		
		5'-AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT-3'
(33 bp, 88%)		
		5'-TTTTTATTTAATTTATTTTATTTAAATAATTAATATTTTAAAAATAAAAACTAAAATAATATAATAAATTAATTTACATT ATTTTATTTAAAT-3'
(96 bp, 98%)		
		5'-AAATTTAAATAA-3'
(12 bp, 100%)		
		5'-CTAATTTTAACTTTAAT-3'
(19 bp, 90%)		
		5'-TCAATATAATTAATAATAAATATATTAA-3'
(28 bp, 96%)		
		5'-AAATCTTATAA-3'
(12 bp, 92%)		
		5'-AATTTATCATTCAATAAATT-3'
(20 bp, 90%)		
		5'-TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAATTAATTATATTATTATTAATTTTACCATCA-3'
(59 bp, 93%)		
		5'-ATTAAATAAAAAATTAATTTTTTTTTTAAAAATCAATTTTAAATTTTA-3'
(48 bp, 98%)		
		5'-TTTTACTTATTTAATATAAATTAATATTAAACT-3'
(34 bp, 94%)		

Supplementary Material Figure S2. Continued (23/24)

(X) *Apis mellifera syriaca* (KP163643)

		5'-TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAAATAAAATAACCTAAAAATTATTTATTAACAAA-3'
(61 bp, 90%)		
		5'-TATTATAATAATTTAATTTAAATATTAATTTAAATAAAAT-3'
(41 bp, 100%)		
		5'-TTATTTAACATGATA-3'
(15 bp, 87%)		
		5'-AAATAAGATTTAAAAAACCTTTTTTATTTTTTATTTTTTAAAAATTTTAAATATACA-3'
(60 bp, 92%)		
		5'-TTAATAAATTAATATAAAATAAAATAAAATATAACAGAATATATTATTAAAACTTAATTTATTA-3'
(67bp, 96%)		
		5'-AATATTAATAAAATAAACTAA-3'
(20 bp, 95%)		
		5'-TAAAAATTTATAAATTAATAAAATAAAATTAATAAATAAAATTAATAATTATAATTATATATATAT-3'
(71 bp, 100%)		
		5'-AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAT-3'
(33 bp, 88%)		
		5'-AAATTTAAATAA-3'
(12 bp, 100%)		
		5'-ATAATTTTAAACTTTAAT-3'
(20 bp, 90%)		
		5'-TCAATATAATTAATAATAAATAAATATATTAA-3'
(32 bp, 97%)		
		5'-AAATTCCTTATAA-3'
(12 bp, 92%)		
		5'-AATTTATCATTCAATAAT-3'
(19 bp, 90%)		
		5'-TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAATTAATATTATTATTAATTTTACCATCA-3'
(59 bp, 93%)		
		5'-ACTAAATTAATAATTTTAAATCAATTTTAAATTTTA-3'
(45 bp, 96%)		
		5'-TTTTACTTATTTAATATAAATTAATATTAACT-3'
(34 bp, 94%)		

Supplementary Material Figure S2. (24/24)

Figure S2. The intergenic space sequences of (a) *Apis andreniformis* (KF736157), (b) *Apis andreniformis* (KC294228), (c) *Apis cerana* (GQ162109), (d) *Apis cerana* (KM244704), (e) *Apis cerana japonica* (AP017314), (f) *Apis cerana* (This study), (g) *Apis dorsata* (KC294229), (h) *Apis dorsata* (This study), (i) *Apis florea* (JX982136), (j) *Apis florea* (KC170303), (k) *Apis koschevnikovi* (AP017643), (l) *Apis koschevnikovi* (KY348372), (m) *Apis laboriosa* (This study), (n) *Apis nigrocincta* (KY799147), (o) *Apis mellifera capensis* (KX870183), (p) *Apis mellifera intermissa* (KM458618), (q) *Apis mellifera lamarckii* (KY464958), (r) *Apis mellifera ligustica* (L06178), (s) *Apis mellifera ligustica* (This study), (t) *Apis mellifera meda* (KY464957), (u) *Apis mellifera mellifera* (KJ396191), (v) *Apis mellifera scutellata* (KJ601784), (w) *Apis mellifera scutellata* (KY614238), and (x) *Apis mellifera syriaca* (KP163643). Numbers within parentheses are lengths and A/T percentages of intergenic spacer sequences.

(A) *Apis andreniformis*

trnQ - *trnL*₁ (97.1%)

A. andreniformis (KF736157) TAATTGGTGGTGTGCGGTATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAAGTA
A. andreniformis (KC294228) TAATTGGTGGTGTGCGGTATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAATTA

<i>A. andreniformis</i> (KF736157)	TTAATTTA-
<i>A. andreniformis</i> (KC294228)	TTAATTTAT

*trnL*₁–*trnA* (100%)

A. andreniformis (KF736157) TAATTGGTGGTGTGCGTGATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAATTA
A. andreniformis (KC294228) TAATTGGTGGTGTGCGTGATACTGCTATTAATAATTTTGAATTAATTTTAAAAATTA

<i>A. andreniformis</i> (KF736157)	TTAATTTAT
<i>A. andreniformis</i> (KC294228)	TTAATTTAT

***trnI* - ND2 (94.5%)**

A. andreniformis (KF736157) --AATAATATATAATAATTAATTAATAATTTTTAAAAATTTTAAATTTAATTTTAT
A. andreniformis (KC294228) AATAATATATATAATAATTAATTAATAATTTTTAAAAATTTTAAATTTAATTTTAT
 * *****

ND2-trnC (69.1%)

[illegible]

A. andreniformis (KF736157) TATATATATATGTATAAATAAATAAATTAGTAAATATTAAATTAGAAGGTAAGATAAAA
A. andreniformis (KC294228) TATATATATATGTATAAATAAATAAATTAGTAAATATTAAATTAGAAGGTAAGATAAAA

A. andreniformis (KF736157) TTAGAAAAAAAATTAATATTTTATAATGATTAAATTAATAATA
A. andreniformis (KC294228) TTAGAAAAAAAATTAATATTTTATAATGATTAAATTAATAATA

trnY-trnW (100%)

A. andreniformis (KF736157) ATATTAAAAATTAAAAATTTTATTTTATAATATTAGAATATAAAATGATAAAAAAAAT
A. andreniformis (KC294228) ATATTAAAAATTAAAAATTTTATTTTATAATATTAGAATATAAAATGATAAAAAAAAT

A. andreniformis (KF736157) AAATAATAAAAAATTTAATTAATTATTTTGA
A. andreniformis (KC294228) AAATAATAAAAAATTTAATTAATTATTTTGA

Supplementary Material Figure S3. Continued (1/11)

ND4L – trnT (32.9%)
A. andreniformis (KF736157) -----
A. andreniformis (KC294228) TAATTTTAAATTAGTTAATGTGATTAAATAAGTAAGTATTTTAAATAAAATAATAATTAA

A. andreniformis (KF736157) -----TTTAAATTAAATATTAA
A. andreniformis (KC294228) ATAAATTTTGAAATCACAACTTTAAATTAAATTTTAAATTTAAATTAATAA

trnR – trnN (100%)
A. andreniformis (KF736157) ATTTAAATTTTATTTTATTGTTTTAAAA
A. andreniformis (KC294228) ATTTAAATTTTATTTTATTGTTTTAAAA

trnP – ND6 (88.2%)
A. andreniformis (KF736157) TTTTTTAATTTAATAATTTTGTTTAATTATATGATGTTACTAAATTTAAATTATTTATTA
A. andreniformis (KC294228) TTTTTTAATTTAATAATTTTGTTTAATTATATGATGTTACTAAATTTAAATTATTTATTA

A. andreniformis (KF736157) TTAATTTTATGTTACAATTGTATTATTTTTTAACTTAAATTTATTTTATTTATTTAT
A. andreniformis (KC294228) TTAATTTTATGTTACAATTGTATTATTTTTTAACTTAAATTTATTTTATTTATTTAT

A. andreniformis (KF736157) TTATTAAATAATTATTGTGTAAATTTTACTACTATTTTTTAATTCATATTACCAACAT
A. andreniformis (KC294228) TTATTAAATAATTATTGTGTAAATTTTACTACTATTTTTTAATTCATATTACCAACAT

A. andreniformis (KF736157) TATTATATAAATATAATTATATTTGTGTTTTATAGTATTATAA-----
A. andreniformis (KC294228) TATTATATAAATATAATTATATTTGTGTTTTATAGTATTATAAATAAATATTATATT

A. andreniformis (KF736157) -----
A. andreniformis (KC294228) TATATTAATTTAACA

Supplementary Material Figure S3. Continued (2/11)

(B) *Apis cerana*

trnE – *trnM* (97.1 ~ 100%)

A. cerana (GQ162109) AAAAAATAAATTATATAAAAAATCCATTATATAAT
A. cerana (KM244704) AAAAAATAAATTATATAAAAAATCCATTATATAAT
A. c. japonica (AP017314) AAAAAATAAATTATATAAAAAATCCATTATATAAT
***A. cerana* (This study)** AAAAAATAAATTATATAAAAAATCTATTATATAAT

trnM - trnQ (71.0 ~ 97.3%)

A. cerana (GQ162109) TTATATAAAATTTTATAATTTATTTGGGCTCATCATCTATCAATAAATTATTTATTAAT
A. cerana (KM244704) TTATATAAAATTTTATAATTTATTTGGGCTCATCATCTATCAATAATCTATTTATTAAT
A. c. japonica (AP017314) TTATATAAAATTTTATAATTTATTTGGGCTCATCATCTATCAATAATCTATTTATTAAT
***A. cerana* (This study)** TTATATAAAATTTTATAATTTATTTGGGCTCATCATCTATCAATAATCTATTTATTAAT

A. cerana (GQ162109) TTAATATCCCTGTAATTTTCTAAAAAACAACAAAAAATTAAGAACTATTGG
A. cerana (KM244704) TTAATATCCCTGTAATTTTCTAAAAAACAACAAAAAATTAAGAACTATTGG
A. c. japonica (AP017314) TTAATATCCCTGTAATTTTCTAAAAAACAACAAAAAATTAAGAACTATTGG
***A. cerana* (This study)** TTAATATCCCTGTAACCTTCTAAAAAACAACAAAAAATTAAGAACTATTGG

A. cerana (GQ162109) ATAATAATCAATTGTAATAATAATAACAATAATAATAATAAATATAAIAATAATAATAAT
A. cerana (KM244704) ATAATAATCAATTGTAATAATAATAACAATAATAATAATAAATATAATAATAATAATAAT
A. c. japonica (AP017314) ATAATAATCAATTGTAATAATAATAACAATAATAATAATAAATATAATAATAATAATAAT
***A. cerana* (This study)** ATAATAATCAATTGTAATAATAATAACAATAATAATAATAAATATAATAATAATAATAAT

A. cerana (GQ162109) AACTCAATAAAAAATATGAAATAATATATGTTTAATAAATTTATAATAAAA
A. cerana (KM244704) AACTCAATAAAAAATATGAAATAATATATGTTTAATAAATTTATAATAAAA
A. c. japonica (AP017314) AACTCAATAAAAAATATGAAATAATATATGTTTAATAAATTTATAATAAAA
***A. cerana* (This study)** AACTCAATAAAAAATATGAAATAATATATGTTTAATAAATTTATAATAAAA

trnL₂–*COII* (100%)

A. cerana (GQ162109) TTTAATAAGCTACAATTGCATTGAATTCTGAATTCAAACTCAAAGTAAAAAACTTTTATT
A. cerana (KM244704) TTTAATAAGCTACAATTGCATTGAATTCTGAATTCAAACTCAAAGTAAAAAACTTTTATT
A. c. japonica (AP017314) TTTAATAAGCTACAATTGCATTGAATTCTGAATTCAAACTCAAAGTAAAAAACTTTTATT
***A. cerana* (This study)** TTTAATAAGCTACAATTGCATTGAATTCTGAATTCAAACTCAAAGTAAAAAACTTTTATT

<i>A. cerana</i> (GQ162109)	AAAATTAATAATTTAAATTTATTATTAAA
<i>A. cerana</i> (KM244704)	AAAATTAATAATTTAAATTTATTATTAAA
<i>A. c. japonica</i> (AP017314)	AAAATTAATAATTTAAATTTATTATTAAA
<i>A. cerana</i> (This study)	AAAATTAATAATTTAAATTTATTATTAAA

Supplementary Material Figure S3. Continued (3/11)

COIII–trnG (94.3 ~ 100%)

<i>A. cerana</i> (GQ162109)	TATTAATAATATAAATTAATTTATATAAATATTATTTTATACTTTATAATATATATATAT
<i>A. cerana</i> (KM244704)	TATTAATAATATAAATTAATTTATATAAATATTATTTTATACTTTATAATATATATATAT
<i>A. c. japonica</i> (AP017314)	TATTAATAATATAAATTAATTTATATAAATATTATTTTATACTTTATAATATATATATAT
<i>A. cerana</i> (This study)	TATTAATAATATAAATTAATTTATATAAATATTATTTTATACTTTATAATATATATATAT

<i>A. cerana</i> (GQ162109)	ATATAT----
<i>A. cerana</i> (KM244704)	ATATATAT--
<i>A. c. japonica</i> (AP017314)	ATATAT----
<i>A. cerana</i> (This study)	ATATATATAT

trnT–trnP (46.9 ~ 100%)

<i>A. cerana</i> (GQ162109)	AATTTATTTAAAATT-----
<i>A. cerana</i> (KM244704)	AATTTATTTAAAATTTCAAAAAATTTATAAA
<i>A. c. japonica</i> (AP017314)	AATTTATTTAAAATT-----
<i>A. cerana</i> (This study)	AATTTATTTAAAATT-----

trnP–ND6 (96.1%)

<i>A. cerana</i> (GQ162109)	----AAAAATAAATCTTAATAATAAAATTTTAAACATGAAATTTAAATAAATTA
<i>A. cerana</i> (KM244704)	----AAAAATAAATCTTAATAATAAAATTTTCAACATAAAATTTAAATAAATTA
<i>A. c. japonica</i> (AP017314)	AAAAAAAAATAAATCTTAATAATAAAATTTTCAACATGAAATTTAAATAAATTA
<i>A. cerana</i> (This study)	---AAAAATAAATCTTAATAATAAAATTTTCAACATGAAATTTAAATAAATTA

***** ***** *****

Supplementary Material Figure S3. Continued (4/11)

(C) *Apis florea*

***trnS₁* - *trnS₁* (100%)**

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATAT
TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATAT
*****
```

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
CAAATTTATAAATATATTTTATAAATTTATTTTAAATTTATAAACCG
CAAATTTATAAATATATTTTATAAATTTATTTTAAATTTATAAACCG
*****
```

***trnS₁* - *trnS₁* (100%)**

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATAT
TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATAT
*****
```

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
CAAATTTATAAATATATTTTATAAATTTATTTTAAATTTATAAACCG
CAAATTTATAAATATATTTTATAAATTTATTTTAAATTTATAAACCG
*****
```

***trnS₁* - *trnM* (99.1%)**

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATAT
TTTAATTTATAAAGTTAATAAAATTAACATTATATTTTATTAATATAAAAAATAATTTATAT
*****
```

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
CAAATTTATAAATATATTTTATAAATTTATTTTAAATTTATAAACCGAC
CAAATTTATAAATATATTTTATAAATTTATTTTAAATTTATAAACCAAC
***** **
```

***trnQ* - *trnA* (94.8%)**

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
TTTTAAATTTTAAATAAAAAATTATTAATTTTAAAAATATTAGTATAAAAAATTCAA
TTAAAAATTTTAAATAAAAAATTATTAATTTTAAAAATATTAGTATAAAAAATTAAA
** ***** **
```

***trnI* - *ND2* (84.4%)**

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
AATAATATAT--AAAAATAAATAAAATTTTAT
AATAATATATAAAAAATAAATAAAATTTTAT--
***** ***** *
```

***trnC* - *trnY* (87.1%)**

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
TTTATTAAAAAAATATTTTAAATTTT
-TTAATTAAAAAAATATTTTAAATTTT-
*** * *****
```

***trnY* - *trnW* (95.2%)**

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
TTAAAAATTAATTTTAAAAATTACTAAATTTTCTATA
-TTAAAAATTAATTTTAAAAATTACTAAATTTTCTATA
* *****
```

***trnL₂* - *COII* (85.7%)**

A. florea (JX982136)

A. florea (KC170303)

```
TTAATAAATTAATTTAAATATTAAATTTATTAAT
TTAATAAATTAATTTAAATATTAAATTT-----
*****
```

Supplementary Material Figure S3. Continued (5/11)

COIII – trnG (44.4%)

A. florea (JX982136) TAAATAAATTTCTTAAATATAAATATATATATATAT
A. florea (KC170303) TAAATAAATTTT-----CTTATAT--

ND4 - ND4L (80.0%)

A. florea (JX982136) TTTTAAATCAGAACAATTAAATTTTTTATATTT
A. florea (KC170303) -TTTTAAATCAAATAATTAAATTTTTTATATTT
**** ** ** *****

ND4L – trnT (100%)

A. florea (JX982136) GAATTTTAAATTTATTACAATCGTTTATAACTTATAAATCTAATAAA
A. florea (KC170303) GAATTTTAAATTTATTACAATCGTTTATAACTTATAAATCTAATAAA

trnP – ND6 (32.3%)

A. florea (JX982136) ATAATTAATAATGAAAATAATTCCAATTTAT
A. florea (KC170303) ATAATTAATA-----

trnS₂ – ND1 (97.5%)

A. florea (JX982136) TTAAATATCTATCTATTTTAAAAATTAATTTTGAATAAAAAATATTAGTATAAAAAATA
A. florea (KC170303) TTAAATATCTATCTATTTTAAAAATTAATTTTGAATAAAAAATATTAGTATAAAAAATA

A. florea (JX982136) TACATATATATATATAT
A. florea (KC170303) TACATATATATATAT--

Supplementary Material Figure S3. Continued (6/11)

(D) *Apis koschevnikovi*

***trnM* – *trnM* (77.8%)**

A. koschevnikovi (AP017643) TATTATAATAAATTAACATATTATATATATATATATATATATATATATGTATATT
A. koschevnikovi (KY348372) -ACTATAATAAGTTAACAATTAATATATATATATATATATATTATATT-----
* *

***trnL₂* – *COII* (100%)**

A. koschevnikovi (AP017643) TAATTTAATAAAGCAATTTATGCACTGAATTTAATCAATAAAATAGTTATATAAACTTTT
A. koschevnikovi (KY348372) TAATTTAATAAAGCAATTTATGCACTGAATTTAATCAATAAAATAGTTATATAAACTTTT

A. koschevnikovi (AP017643) ATTAATATTAATAATTAATTAATTATTTAA
A. koschevnikovi (KY348372) ATTAATATTAATAATTAATTAATTATTTAA

***COIII* – *trnG* (89.1%)**

A. koschevnikovi (AP017643) TTATTATTTATTAATAAATAAAATATTTTTTTTTATATATATAT
A. koschevnikovi (KY348372) TTATTATTTATTAATAAATAAAATATTTATAATATAT-----
***** * * *

***trnR* – *trnN* (72.4%)**

A. koschevnikovi (AP017643) -----ATATATATATATATATATATATTATAAATAAATTTTAAAT
A. koschevnikovi (KY348372) ATATATATATATATATATATATATATATATATTATAAATAAATTTTAAAT

***trnP* – *ND6* (100%)**

A. koschevnikovi (AP017643) AAAATAAAATTTTTATTTATATTTTAATTAAATTA
A. koschevnikovi (KY348372) AAAATAAAATTTTTATTTATATTTTAATTAAATTA

Supplementary Material Figure S3. Continued (7/11)

(E) *Apis dorsata*

trnE – *trnM* (100%)

A. dorsata (KC294229) AAAAAATAAATTTTAAAAATAATTATAATTTTAAAAATAATTATTAATTTTCTATAAA
A. dorsata (This study) AAAAAATAAATTTTAAAAATAATTATAATTTTAAAAATAATTATTAATTTTCTATAAA

<i>A. dorsata</i> (KC294229)	TTTAAATTTTAAATAAATTATT
<i>A. dorsata</i> (This study)	TTTAAATTTTAAATAAATTATT

trnI–*ND2* (100%)

<i>A. dorsata</i> (KC294229)	AATAATAATAATATAATATATTATTTTATTA
<i>A. dorsata</i> (This study)	AATAATAATAATATAATATATTATTTTATTA

trnY-trnW (41.2%)

A. dorsata (KC294229) -----TTTAATAAT-----TTTATATTATA-----
A. dorsata (This study) TTTAATAAAATTTATATATATATTATATATATATATATATATAAATATATATTATAT
 ** *** * *****

A. dorsata (KC294229) -TATATATATATAATACAT
A. dorsata (This study) ATATATATATATAATACAT

COIII-trnG (69.7%)

A. dorsata (KC294229) AATTATTATATAAATTATAAAAATAAGTATAAAATTT-----ATATTATATATAT----

A. dorsata (This study) AATTATTATATAAATTATAAAAATAAGTATAAATAACATAATACATTATATTATTATATATAT

***** *

***ND3-trnR* (100%)**

A. dorsata (KC294229) TTTATTATTAATTATAAATACATTATAATATAAA
A. dorsata (This study) TTTATTATTAATTATAAATACATTATAATATAAA

ND4 – ND4L (12.9%)

A. dorsata (KC294229) ATAAATAAATATTATTATTAAGTTATCATAT
A. dorsata (This study) -----CATA

trnP-ND6 (95.0%)

A. dorsata (KC294229) AATCCATTTATTTAAAAATCTTAAATATTTAATAAAATTA
A. dorsata (This study) AATCCATTTATTTAAAAATCTTATATATTTAATAAAATTA

Supplementary Material Figure S3. Continued (8/11)

(F) *Apis mellifera*

trnE – *trnS*_I (95.9~ 100%)

A. m. capensis (KX870183) TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAATAAAATACCTAAAAATATTTTATTAATAA-
A. m. intermissa (KM458618) TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAATAAAATACCTAAAAATATTTTATTAATAA-
A. m. lamarcii (KY464958) TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAATAAAATACCTAAAAATATTTTATTAACAA-
A. m. ligustica (L06178) TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAAT-----AATCTAAAAATATTTTATTAATAA-
***A. m. ligustica* (This study)** TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAAT-----AATCTAAAAATATTTTATTAATAA-
A. m. meda (KY464957) TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAAT-----AATCTAAAAATATTTTATTAATAA-
A. m. scutellata (KJ601784) TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAAT-----AATCTAAAAATATTTTATTAATAA-
A. m. scutellata (KY614238) TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAATAAAATACCTAAAAATATTTTATTAACAAA-
A. m. syriaca (KP163643) TAATTAAGTCAAATTTAATTTAAATAACAATAAAATACCTAAAAATATTTTATTAATAA-

***** ** ***** **

trnS_I – *trnM* (64.9 ~ 100%)

A. m. capensis (KX870183) -----ATTATATAAATTTAAATAAATATTAATTTTAAAAATAAAAT
A. m. intermissa (KM458618) -----ATTATATAAATTTAAATAAATTTAATTTT-AAAAATAAAAT
A. m. lamarckii (KY464958) ---ATTATATAAATTTAATTTAAATATTAATTTTAAAAAT-AAAAAT
A. m. ligustica (L06178) ATTATATAAAATTAATTTAGATAAAATATTAATTTTAAAAATAAT--
***A. m. ligustica* (This study)** ATTATATAAAATTAATTTAGATAAAATATTAATTTTAAAAATAAT--
A. m. meda (KY464957) ATTATATAAAATTAATTTAGATAAAATATTAATTTTAGAATAAAAT--
A. m. scutellata (KJ601784) -----ATTATATAAATTTAGATAAAATATTAATTTTAAAAATAAAAT
A. m. scutellata (KY614238) -----ATTATATAAATTTAAATAAATATTAATTTTAAAAATAAAAT
A. m. syriaca (KP163643) --TATTATAAATAATTTAATTTAAATATTAATTTTAAAAAT-AAAAAT

* * * * *

trnY-trnW (47.1 ~ 100%)

A. m. capensis (KX870183) AAGTAAGATTTAAAAACCTTTTTATTTTTTATTTTTTTAAATTTTAAATATACA----
A. m. intermissa (KM458618) AAGTAAGATTTAAAAATCCTTTTTATTTTTTATTTTTTTATTTTTTAAATTTTAAATATACA----
A. m. lamarckii (KY464958) AAGTAAGATTTAAAAACCTTTTTATTTTTTATTTTTTAAA-ATTTTAAATATATACA----
A. m. ligustica (L06178) AAATAAGATTTAAAAACCTTTTTATTTTTTATTTTTTTAA-ATTTTAAATATATATACA----
***A. m. ligustica* (This study)** AAATAAGATTTAAAAACCTTTTTATTTTTTATTTTTTTAA-ATTTTAAATATATATACA----
A. m. meda (KY464957) AAATAAGATTTAAAAACCTTTTTATTTTTTATTTTTTTAA-ATTTTAAATATATATACA----
A. m. mellifera (KJ396191) AAGTAAGATTTAAAAACCTTTTTATTTTTTATTTTTTTAAA-ATTTTAAATATATATACA----
A. m. scutellata (KJ601784) -----TTATTTACCATGATATAATA-----
A. m. scutellata (KY614238) -----TTATTTACCATGATATAGTA-----
A. m. syriaca (KP163643) -----TTATTTAACATGATA-----

COIII-trnG (82.0 ~ 100%)

A. m. capensis (KX870183) ---TAAAAATTTATAA-ATTA AAAAATAAAAATTAATAATCAAAATAAAATTTATAATTATAA
A. m. intermissa (KM458618) ---TAAAAATTTATAAAATTA-----AAAAATAAAATAATCAATT
A. m. lamarckii (KY464958) ---TAAAAATTTATAAATTA AAAAATAAAAATTAATAATCAAAATAAAATTTATAAATATAT
A. m. ligustica (L06178) ---TAAAAATTTATAAAATTA-----AAAAATAAAATTTATAAATATAT
A. m. ligustica (This study) ---TAAAAATTTATAAAATTA-----AAAAATAAAATTTATAAATATAT
A. m. meda (KY464957) ---TAAAAATTTATAAAATTA-----AAAAATAAAATTTATAAATATAT
A. m. mellifera (KJ396191) TAATAAAAAATTTATAAAATTA-----AAAAATAAAATTTATAAATATAT
A. m. scutellata (KJ601784) ---TAAAAATTTATAA-ATTA AAAAATAAAAATTAATAATCAAAATAAAATTTATAATTATAA
A. m. scutellata (KY614238) ---TAAAAATTTATAA-ATTA AAAAATAAAAATTAATAATCAAAATAAAATTTATAAATATAT
A. m. syriaca (KP163643) ---TAAAAATTTATAAATTA AAAAATAAAAATTAATAATCAAAATAAAATTTATAATTATAA

***** * * * * * * * * *

[illegible]

Supplementary Material Figure S3. Continued (9/11)

A. m. capensis (KX870183) ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT
A. m. intermissa (KM458618) ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT
A. m. lamarkii (KY464958) ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT
A. m. ligustica (L06178) ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT
***A. m. ligustica* (This study)** ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT
A. m. meda (KY464957) ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT
A. m. mellifera (KJ396191) TAAAAATTTAAATAATTACAATAATACTACCAAAAT
A. m. scutellata (KJ601784) ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT
A. m. scutellata (KY614238) ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT
A. m. syriaca (KP163643) ---AATTTAAATAATTACAATAATTACTACCAAAAT

A. m. capensis (KX870183) ----TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAAACCTAAAA
A. m. intermissa (KM458618) ----TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAAACCTAAAA
A. m. lamarckii (KY464958) TTTTATTTAATTTATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAACCTCTAAAA
A. m. ligustica (L06178) -----TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAAACCTAAAAAT
***A. m. ligustica* (This study)** -----TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAAACCTAAAAAT
A. m. meda (KY464957) -----TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTT-TAAAAATAAAACCTAAAAAT
A. m. mellifera (KJ396191) -----TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAAACCTAAAAAT
A. m. scutellata (KJ601784) ----TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAAACCTAAAA
A. m. scutellata (KY614238) ----TTTTATTTAATTTATTTATTTAAATAATTAATTTTAAAAATAAAACCTAAAA
*** * ***** *

A. m. capensis (KX870183) TAATATAATAAAATTAAATT----ATTACATTATTTATTTAAAT
A. m. intermissa (KM458618) TAATATAATAAAATTAAATT----ATTACATTATTTATTTAAAT
A. m. lamarckii (KY464958) TAATATAATAAAATTAAATTATTTATTACATTATTTATTTAAAT
A. m. ligustica (L06178) AATATAATAAAATTATATTT----ATTATATTATTTATTTAAAT
***A. m. ligustica* (This study)** AATATAATAAAATTATATTT----ATTATATTATTTATTTAAAT
A. m. meda (KY464957) AATATAATAAAATTATATTT----ATTATATTATTTATTTAAAT
A. m. mellifera (KJ396191) AATATAATAAAATTATATTT----ATTACATTATTTATTTAAAT
A. m. scutellata (KJ601784) TAATATAATAAAATTAAATT----ATTACATTATTTATTTAAAT
A. m. scutellata (KY614238) TAATATAATAAAATTAAATT----ATTACATTATTTATTTAAAT

* * * * *

**** *

A. m. capensis (KX870183) --TCAATATAATTAATAAAA--TAATAAATATATTTAA
A. m. lamarckii (KY464958) --TCAATATAATTAATAAAT--AAATAAATATATTTAA
***A. m. ligustica* (This study)** ATTCAATATAATTAATAATAATAATAAATATATTTAA
A. m. mellifera (KJ396191) --TCAATATAATTAA-----TAATAAATATATTTAA
A. m. scutellata (KJ601784) --TCAATATAAATTAA-----TAATAAATATATTTAA
A. m. scutellata (KY614238) --TCAATATAAATTAATAAT--AAATAAATATATTTAA

A. m. capensis (KX870183) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATTATATTATTAATTTTACCATCA
A. m. intermissa (KM458618) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATTATATTATTAATTTTACCATCA
A. m. lamarckii (KY464958) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATAATATTATTATTAATTTTACCATCA
A. m. ligustica (L06178) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATTATATTATTATTAATTTTACCATCA
***A. m. ligustica* (This study)** TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATTATATTATTATTAATTTTACCATCA
A. m. meda (KY464957) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATTATATTATTATTAATTTTACCATCA
A. m. mellifera (KJ396191) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATTATATTATTATTAATTTTACCATCA
A. m. scutellata (KJ601784) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATTATATTATTATTAATTTTACCATCA
A. m. scutellata (KY614238) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATTATATTATTATTAATTTTACCATCA
A. m. syriaca (KP163643) TTAATATTTAATTTAAATCATTATTAAAATTATAATATTATTATTAATTTTACCATCA

47

CytB – trnS₂ (80.9 ~ 100%)

```

A. m. capensis (KX870183) -ATTAAATAAAAAATTAATTTTTTTTTTAAAAATCAATTTTAAATTTTA
A. m. intermissa (KM458618) -ATTAAATAA-AAAATTAATTT--TTTTAAAATCAATTTTAAATTTT-
A. m. lamareckii (KY464958) -ACTAAATTA-AAAATTAATTTTTTTTTTAAAAATCAATTTTAAATTTTA
A. m. ligustica (L06178) -ATTAAATAA-AAAATTAATTT--TTTTAAAATCAATTTTAAATTTTA
A. m. ligustica (This study) -ATTAAATAA-AAAATTAATTT--TTTTAAAATCAATTTTAAATTTTA
A. m. meda (KY464957) -ATTAAATAA-AAAATTAATTT--TTTTAAAATCAATTTTAAATTTTA
A. m. mellifera (KJ396191) -ATTAAATAA-AAAATTAATTT--TTTTAAAATCAATTTTAAATTTTA
A. m. scutellata (KJ601784) ATTAAATAAAAAAATTAATTTTTTTTTTAAAAATCAATTTTAAATTTTA
A. m. scutellata (KY614238) -ATTAAATAAAAAATTAATTTTTTTTTTAAAAATCAATTTTAAATTTTA
A. m. syriaca (KP163643) -ACTAAATTA-AAAATTAATTT--TTTTAAAATCAATTTTAAATTTTA
* * * * *

```

trnS₂ – NDI(97.6 ~ 100%)

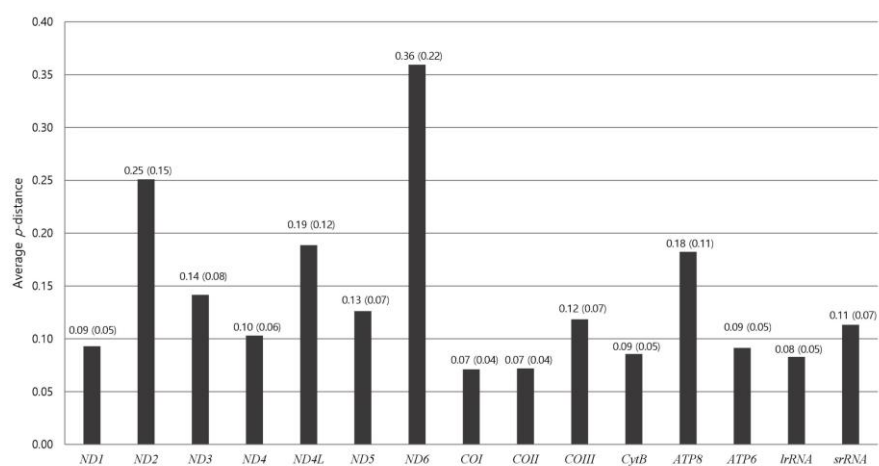
```

A. m. capensis (KX870183) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
A. m. intermissa (KM458618) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
A. m. lamareckii (KY464958) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
A. m. ligustica (L06178) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
A. m. ligustica (This study) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
A. m. meda (KY464957) TTTTACTTATTTTAACATAAATTAATATTAAACT
A. m. mellifera (KJ396191) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
A. m. scutellata (KJ601784) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
A. m. scutellata (KY614238) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
A. m. syriaca (KP163643) TTTTACTTATTTTAATATAAATTAATATTAAACT
* * * * *

```

Supplementary Material Figure S3. (11/11)

Figure S3. Alignment of intraspecific intergenic spacer sequences for (a) *Apis andreniformis*, (b) *Apis cerana*, (c) *Apis florea*, (d) *Apis koschevnikovi*, (e) *Apis dorsata*, and (f) *Apis mellifera*. Numbers within parentheses are the A/T percentages of intergenic spacer sequences.



Supplementary Material Figure S4.

Figure S4. Average p -distance of mitochondrial genomes in *Apis*. Values within parenthesis are standard deviations of the means.

(A) *ND1*

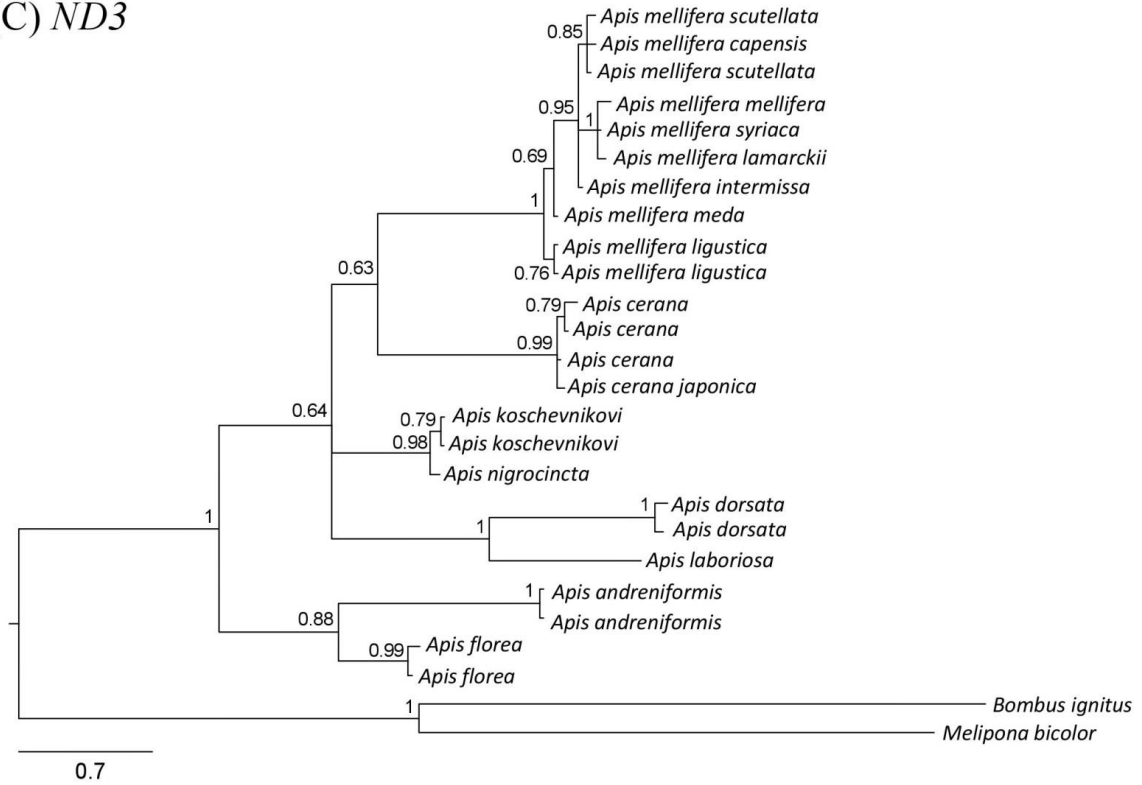
0.93
1
Apis mellifera ligustica
Apis mellifera ligustica
Apis mellifera meda
0.88
0.93
1
Apis mellifera scutellata
Apis mellifera capensis
Apis mellifera scutellata
Apis mellifera intermissa
0.55
1
Apis mellifera mellifera
Apis mellifera syriaca
0.81
1
Apis mellifera lamarckii
Apis koschevnikovi
0.74
1
Apis koschevnikovi
Apis cerana
1
1
Apis cerana
Apis cerana
0.85
1
Apis cerana japonica
Apis nigrocincta
1
1
Apis andreniformis
Apis andreniformis
1
1
Apis florea
Apis florea
1
1
Apis laboriosa
Apis dorsata
1
Apis dorsata
1
Bombus ignitus
Melipona bicolor

Phylogenetic tree showing relationships between *Apis* species and outgroups *Bombus ignitus* and *Melipona bicolor*. The tree is rooted at the bottom with *Bombus ignitus* and *Melipona bicolor*. The *Apis* species are grouped into several clades, with bootstrap values indicated at the nodes. The species names are listed on the right, and the bootstrap values are on the left.

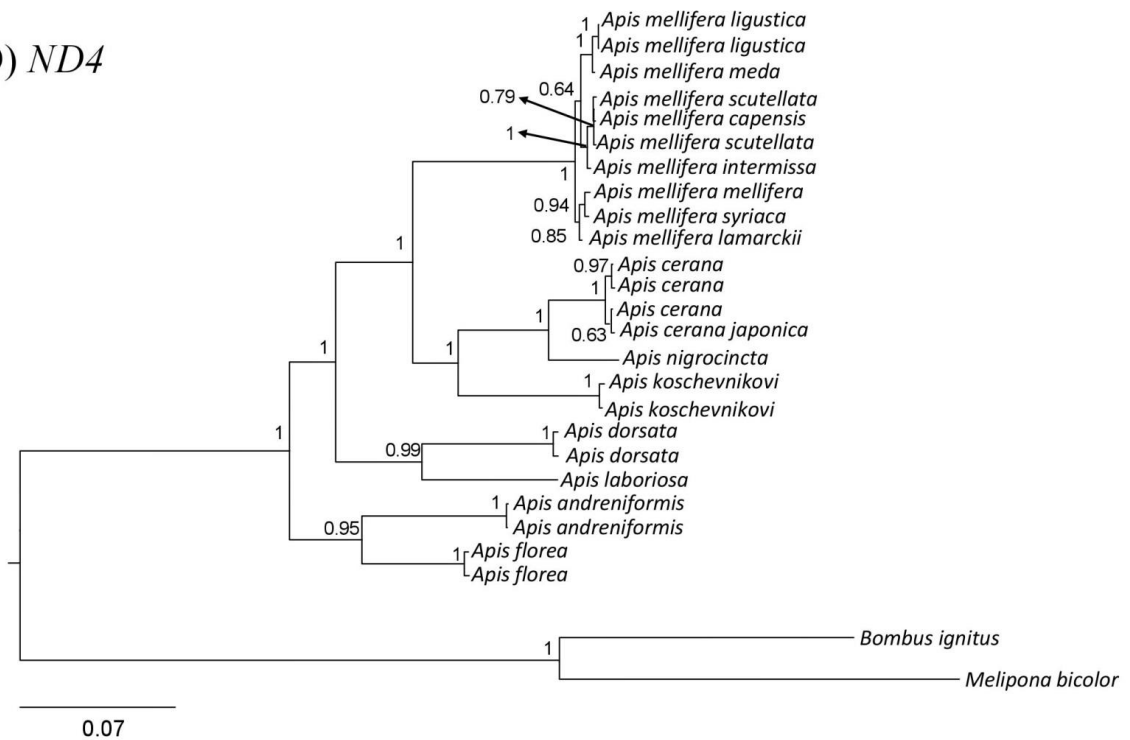
- Apis mellifera meda* (0.67)
- Apis mellifera ligustica* (0.83)
- Apis mellifera mellifera* (0.96)
- Apis mellifera syriaca* (0.86)
- Apis mellifera lamarckii* (0.94)
- Apis mellifera scutellata* (0.80)
- Apis mellifera scutellata* (0.97)
- Apis mellifera capensis* (0.93)
- Apis mellifera intermissa*
- Apis koschevnikovi* (1)
- Apis koschevnikovi*
- Apis cerana* (0.97)
- Apis cerana* (1)
- Apis cerana japonica* (1)
- Apis cerana*
- Apis nigrocincta*
- Apis andreniformis* (1)
- Apis andreniformis*
- Apis florea* (0.95)
- Apis florea* (1)
- Apis laboriosa*
- Apis dorsata* (0.63)
- Apis dorsata*
- Bombus ignitus* (0.83)
- Melipona bicolor*

Supplementary Material Figure S5. Continued (1/8)

(C) ND3

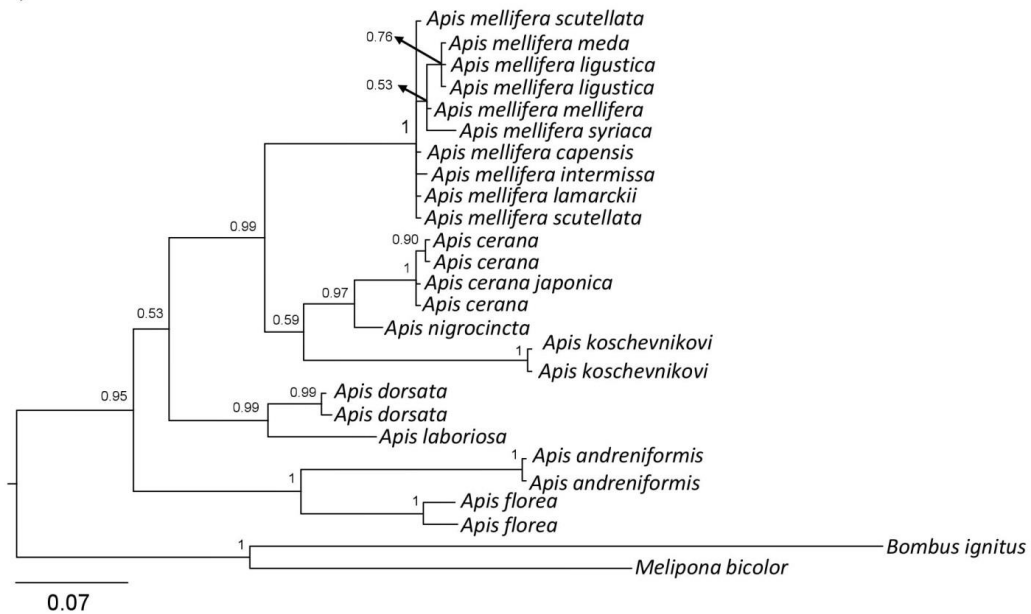


(D) ND4

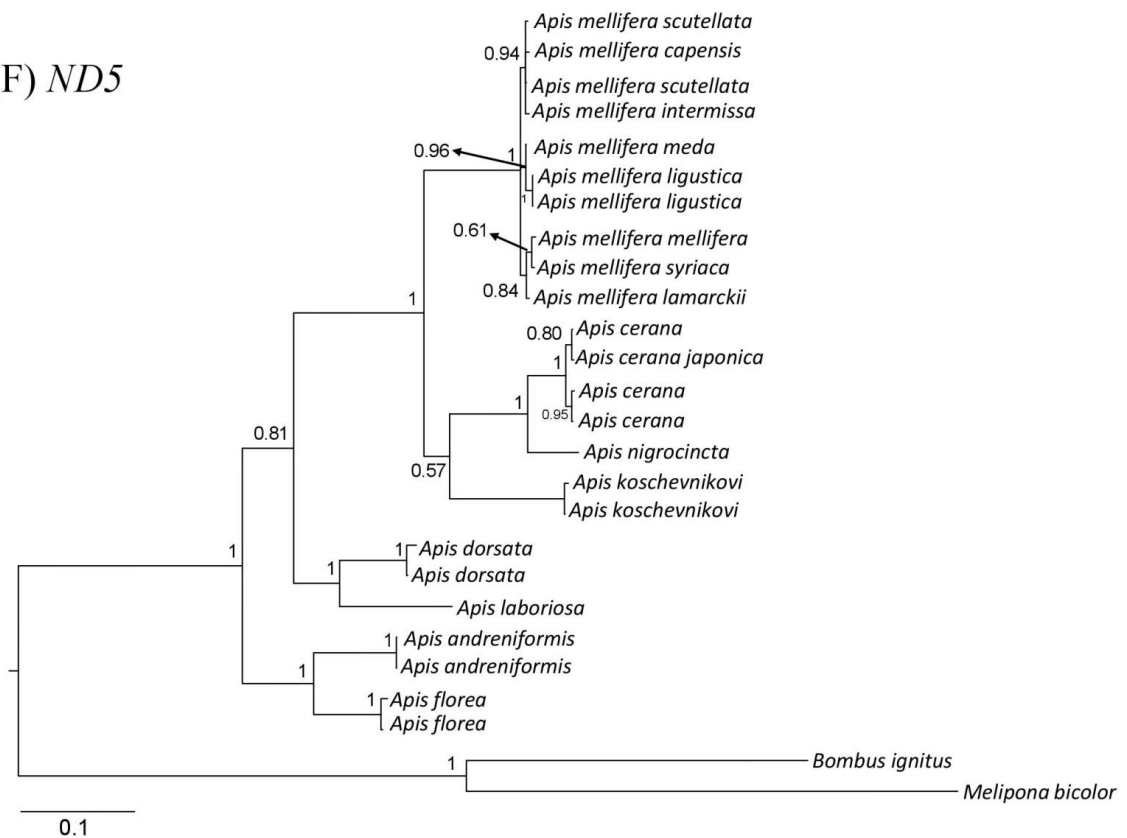


Supplementary Material Figure S5. Continued (2/8)

(E) ND4L

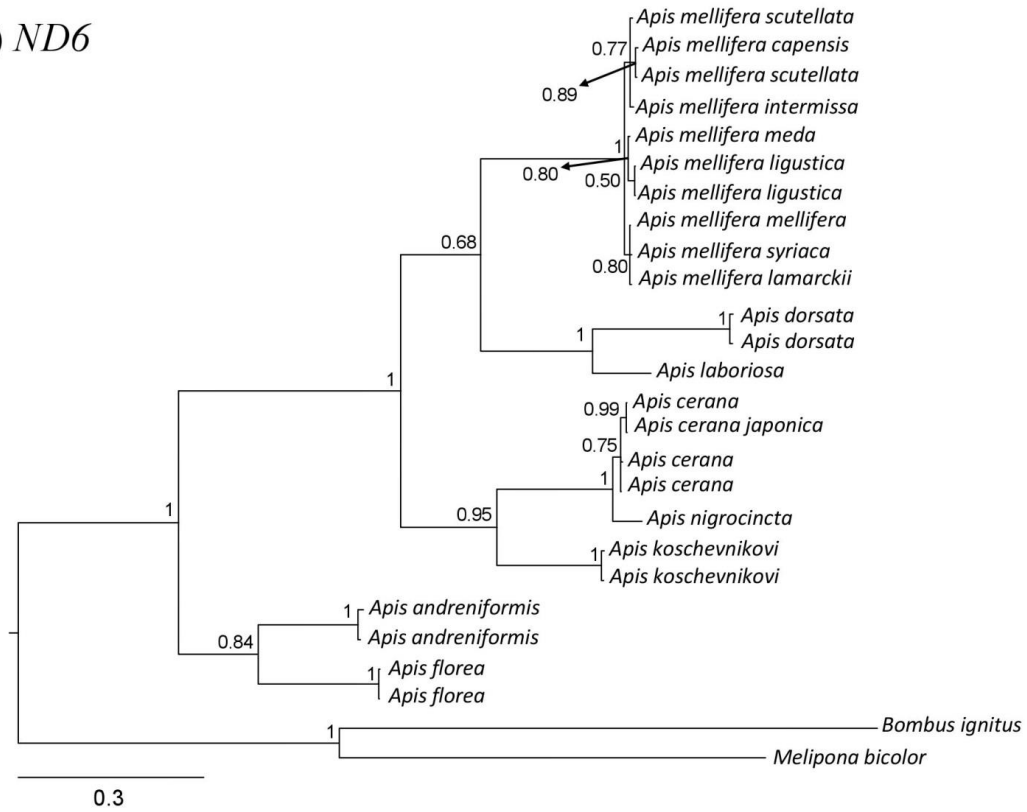


(F) ND5

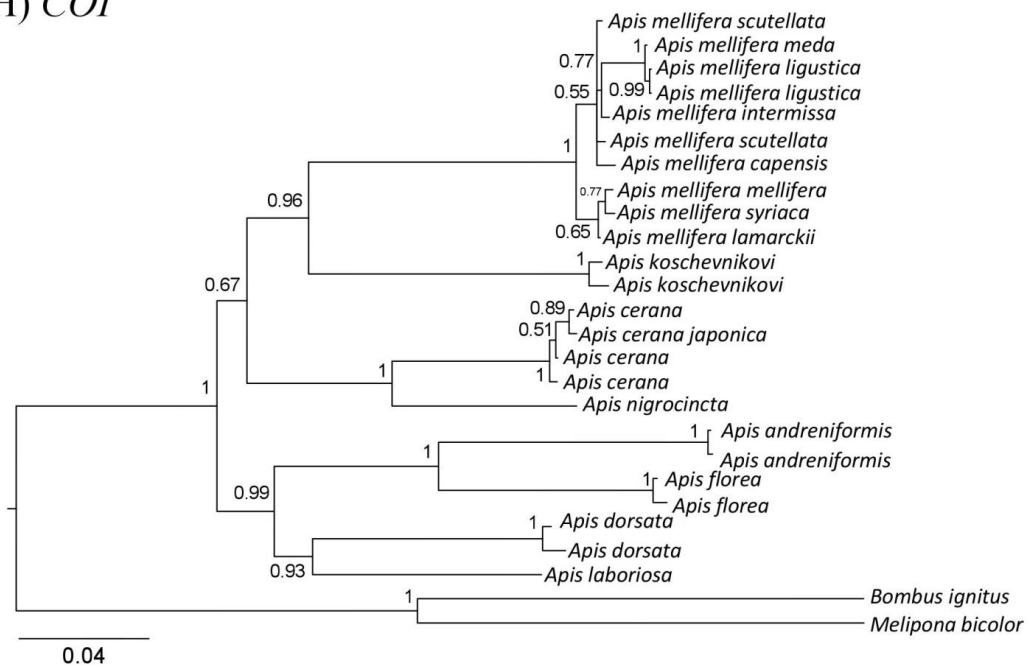


Supplementary Material Figure S5. Continued (3/8)

(G) *ND6*

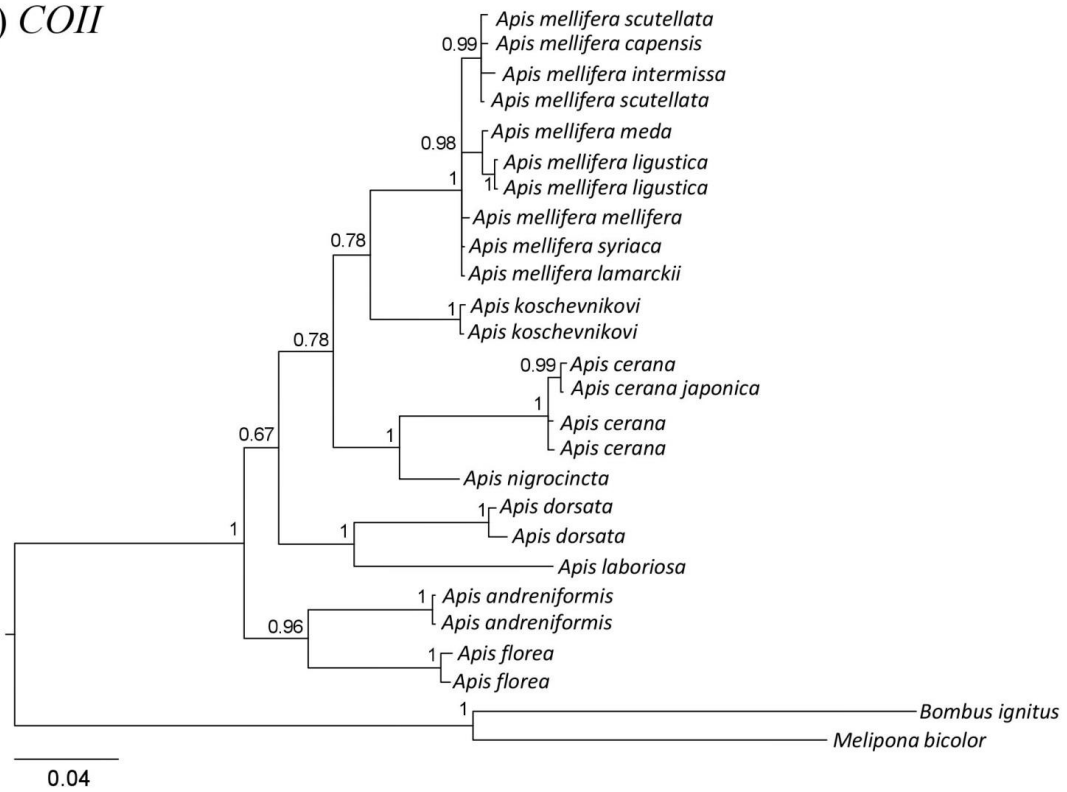


(H) *COI*

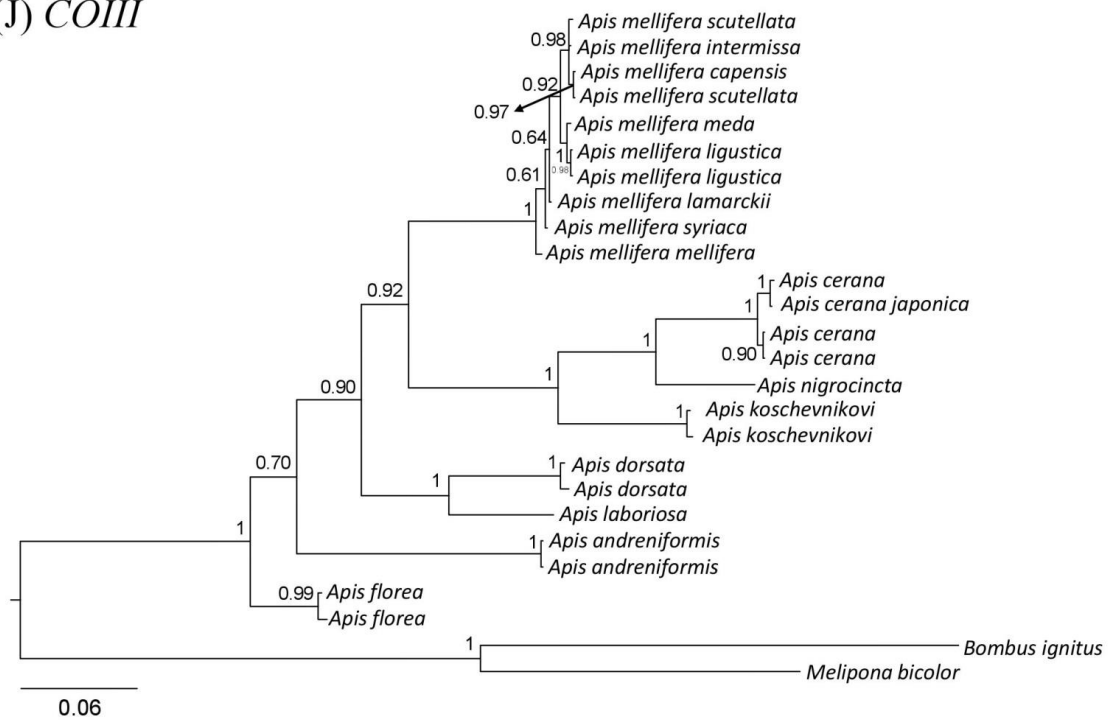


Supplementary Material Figure S5. Continued (4/8)

(I) *COII*

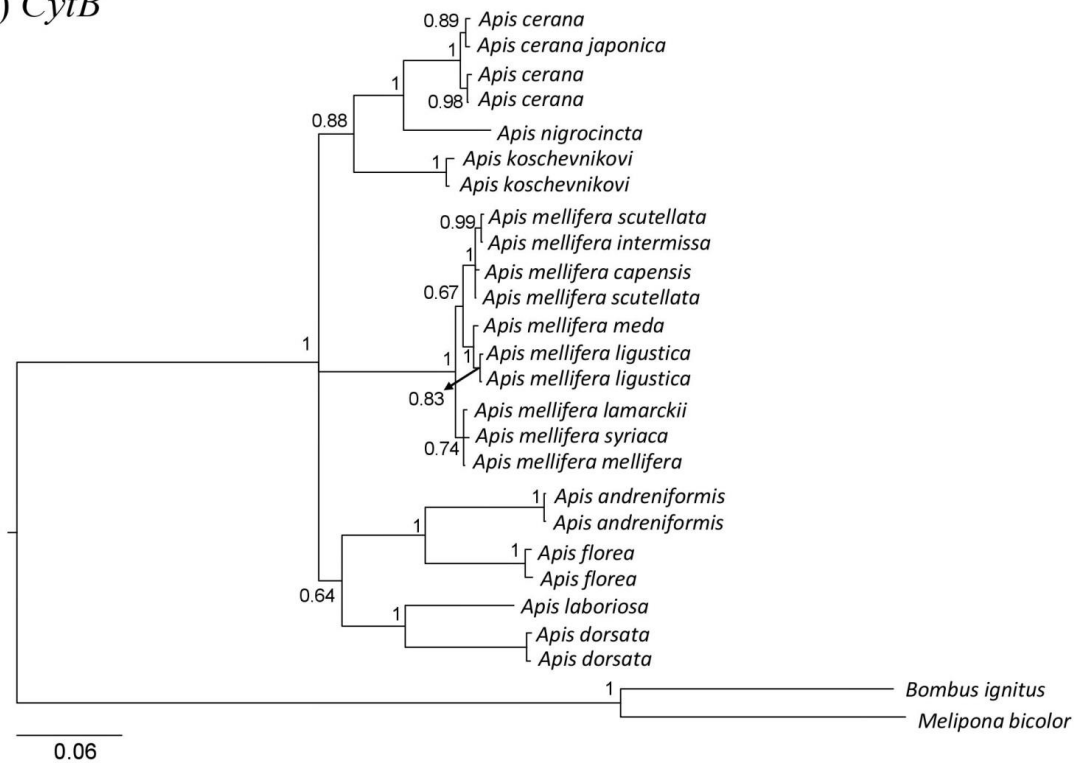


(J) *COIII*

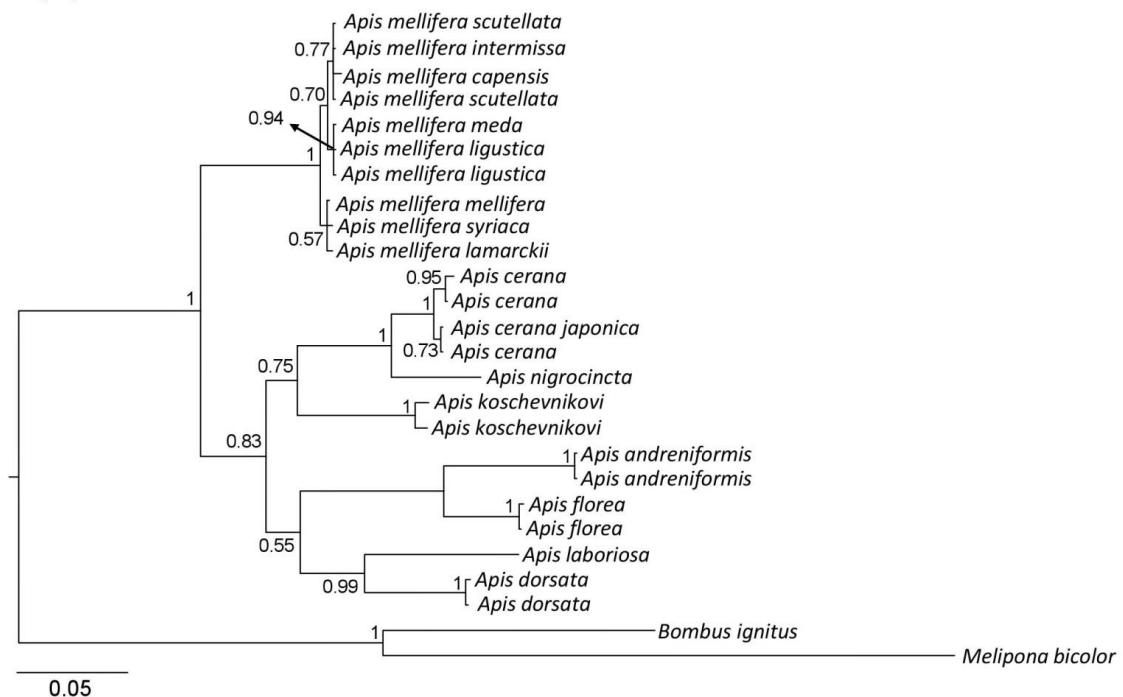


Supplementary Material Figure S5. Continued (5/8)

(K) *CytB*

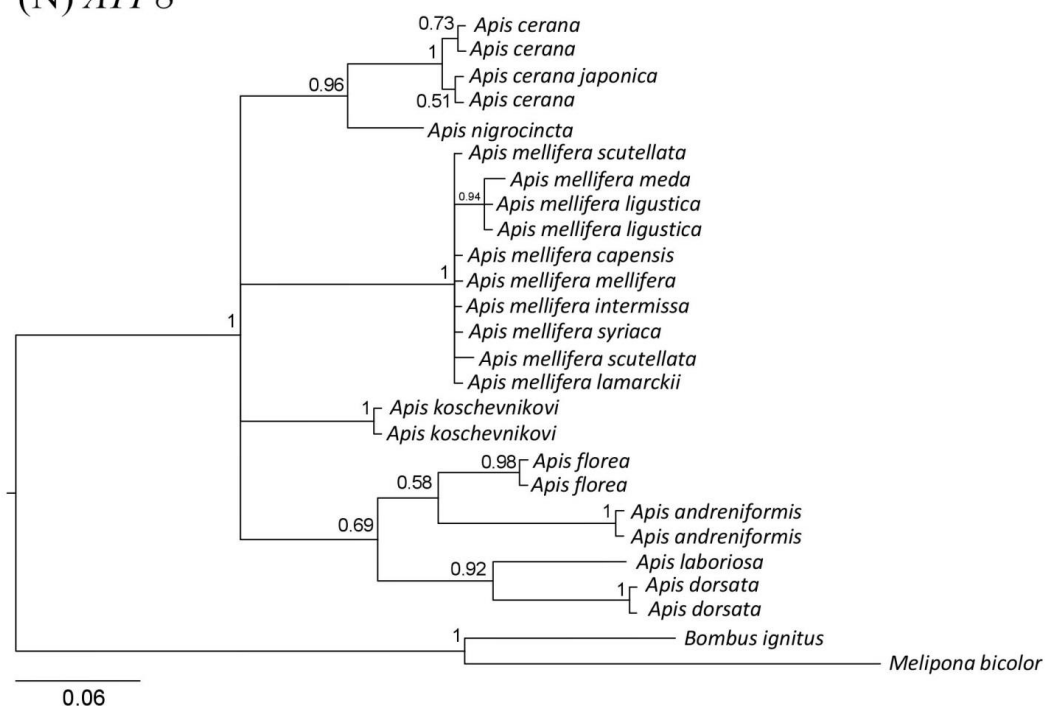


(L) *ATP6*

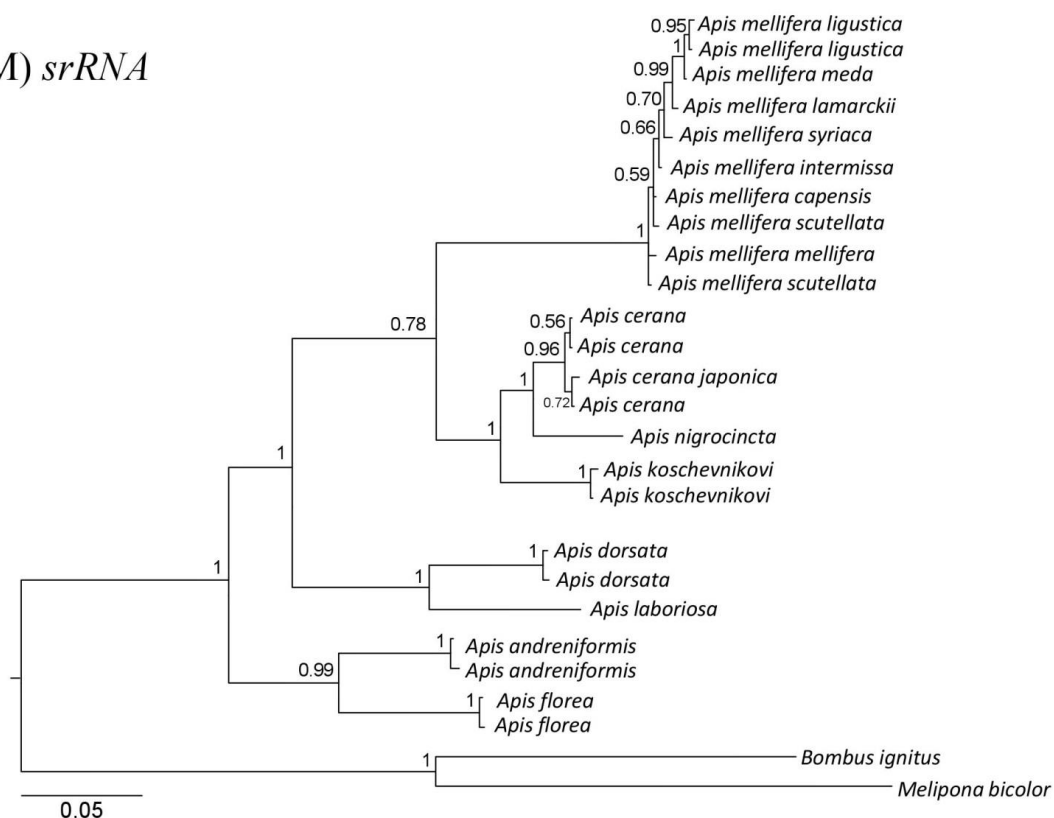


Supplementary Material Figure S5. Continued (6/8)

(N) *ATP8*

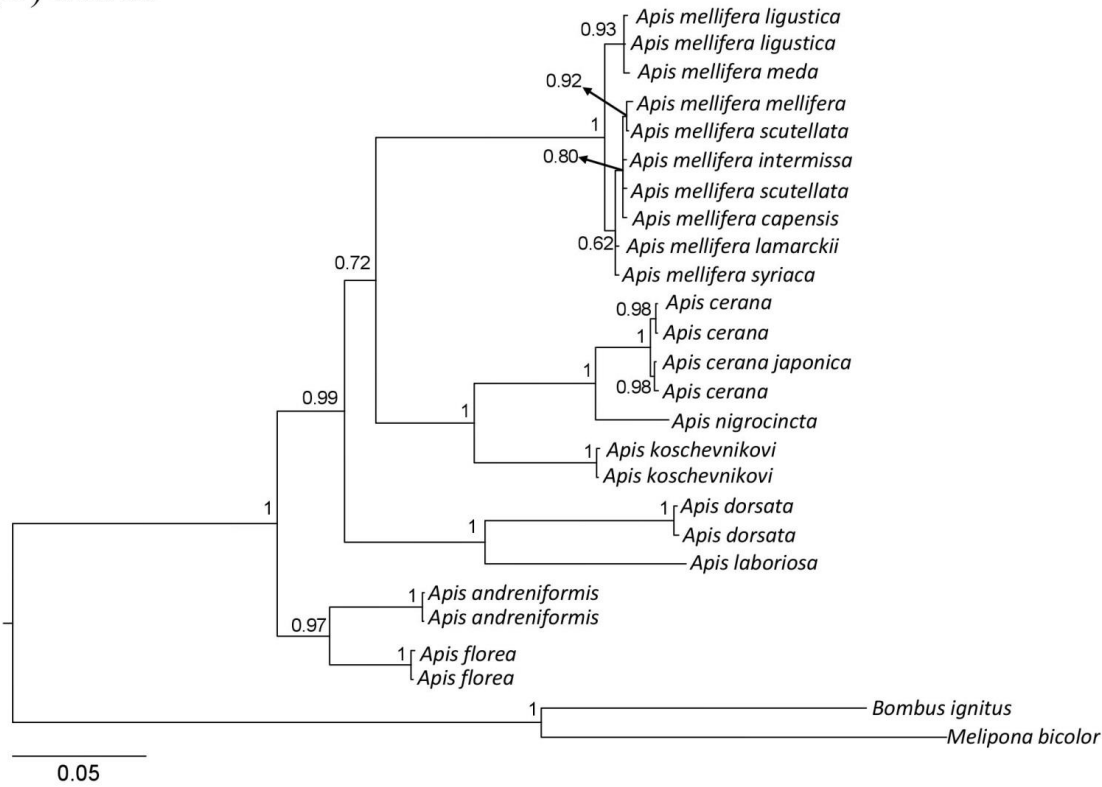


(M) *srRNA*



Supplementary Material Figure S5. Continued (7/8)

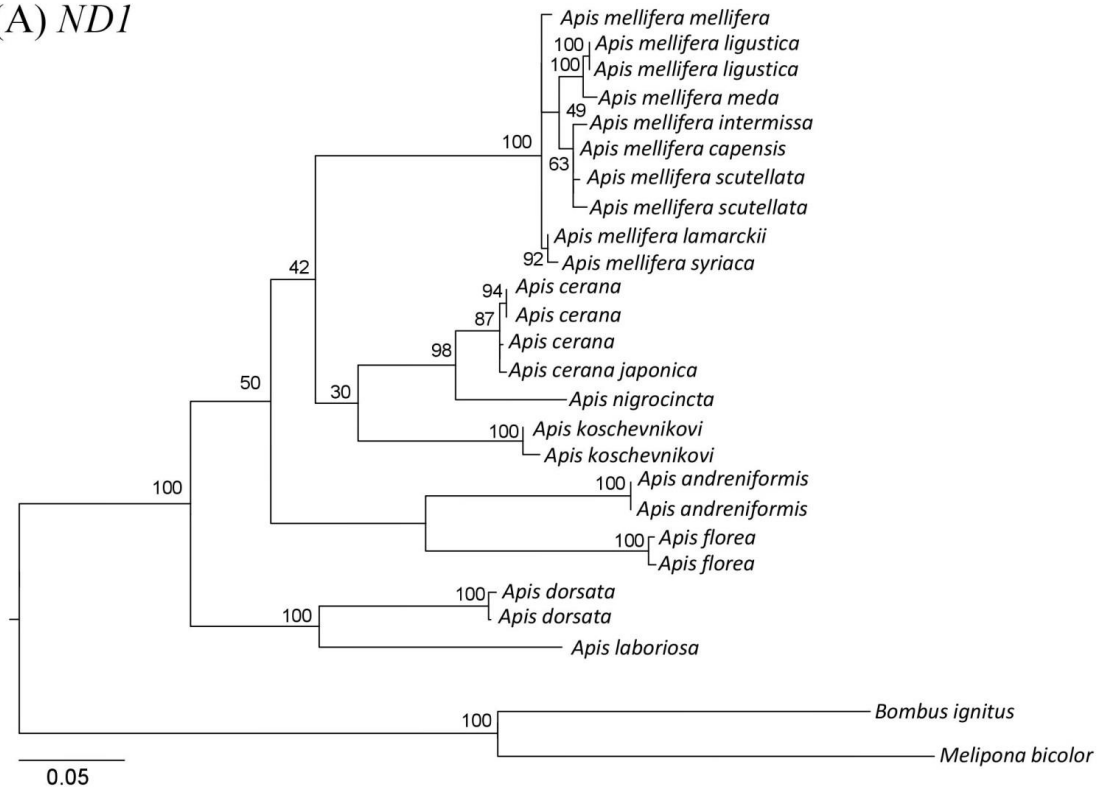
(O) *lrRNA*



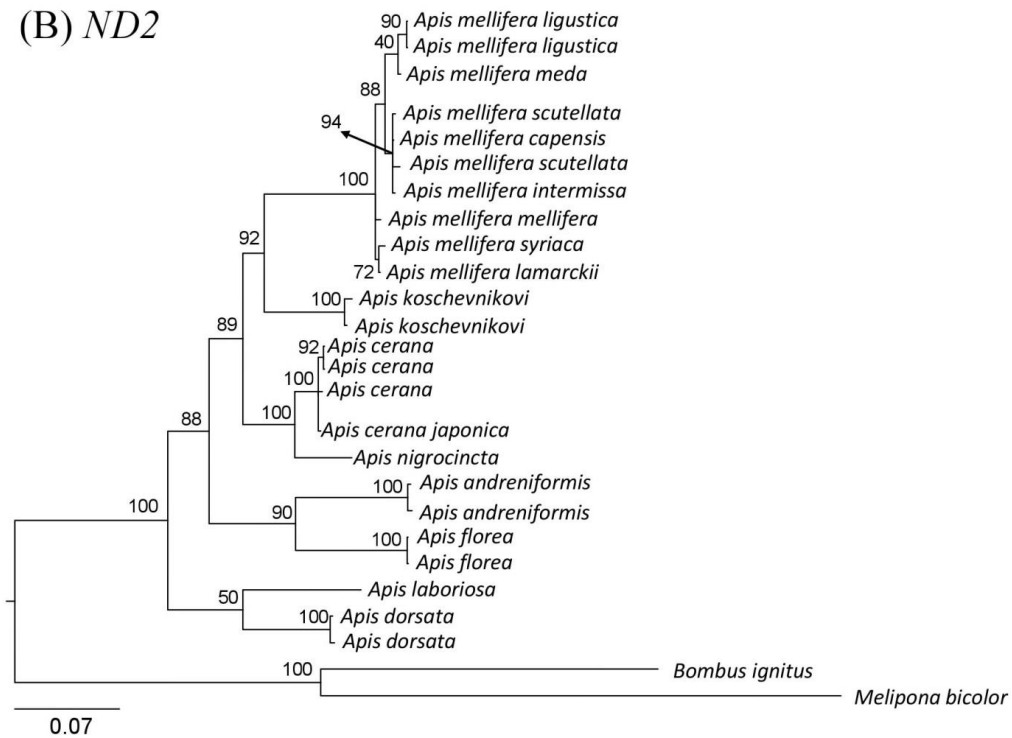
Supplementary Material Figure S5. Continued (8/8)

Figure S5. Bayesian inference phylograms of *Apis* using individual mitochondrial genes. (a) *ND1*, (b) *ND2*, (c) *ND3*, (d) *ND4*, (e) *ND4L*, (f) *ND5*, (g) *ND6*, (h) *COI*, (i) *COII*, (j) *COIII*, (k) *ATP8*, (l) *ATP6*, (m) *12S rRNA*, (n) *16S rRNA*, and (o) *CytB*. One species of Bombini and Meliponini was used as an outgroup. Numbers at each node specify Bayesian posterior probability. The scale bar indicates the number of substitutions per site.

(A) *ND1*

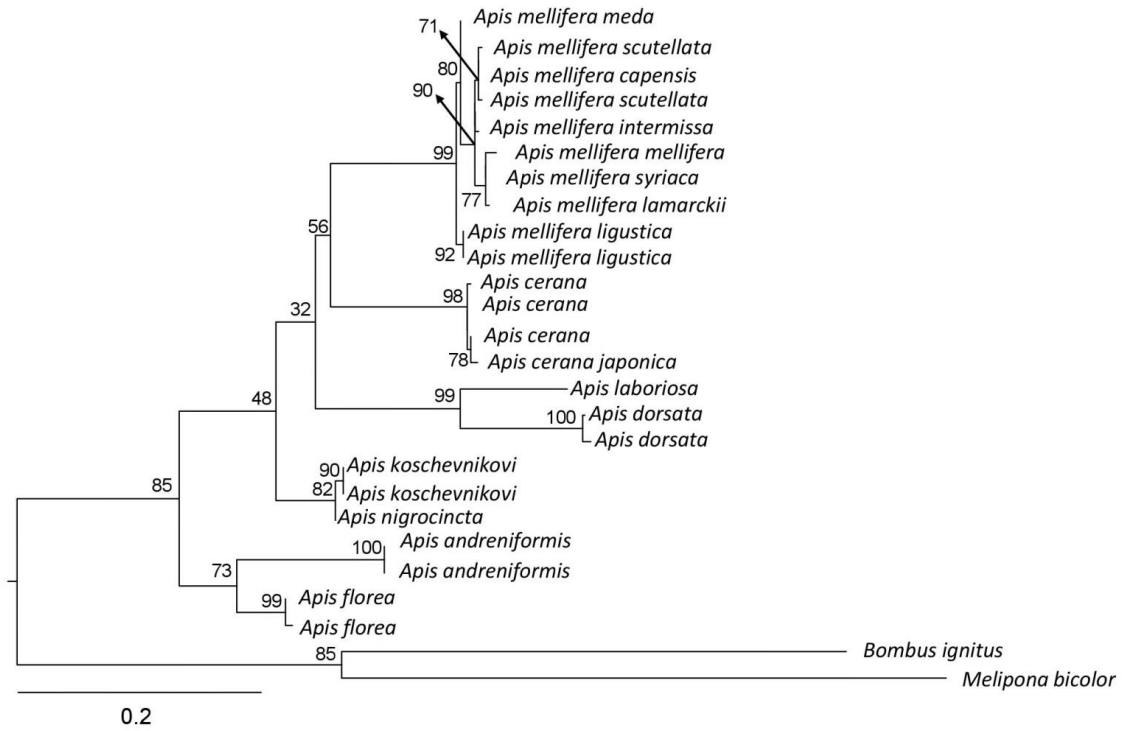


(B) *ND2*

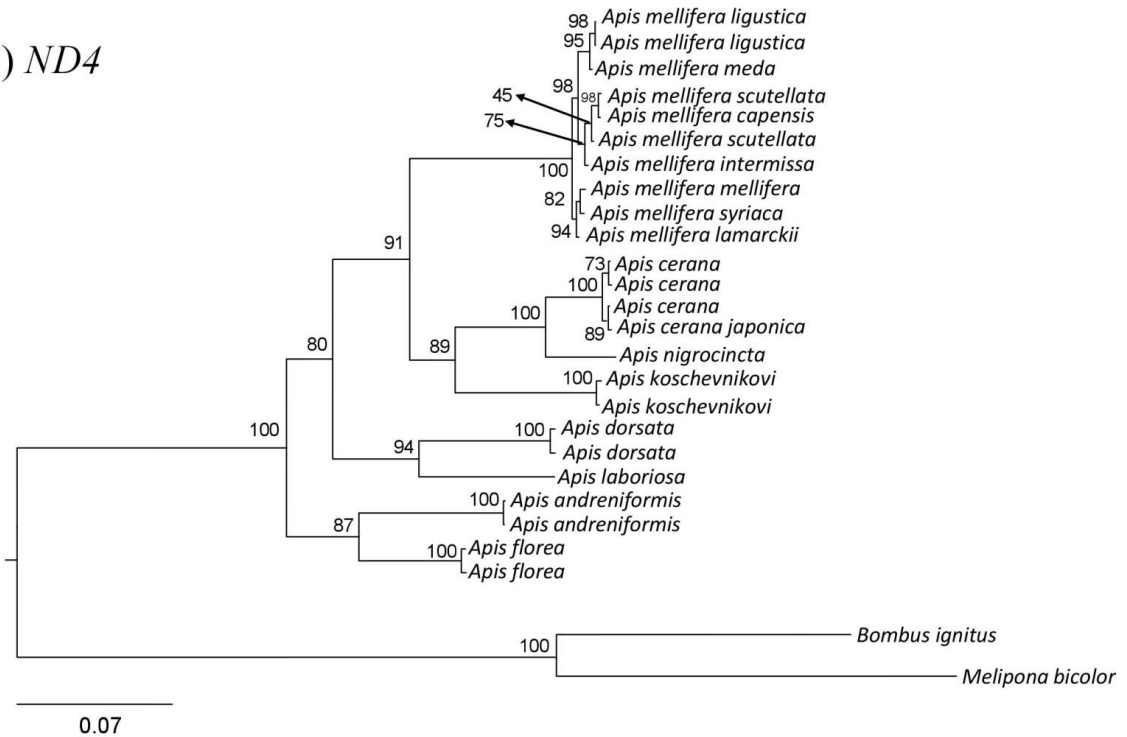


Supplementary Material Figure S6. Continued (1/8)

(C) *ND3*

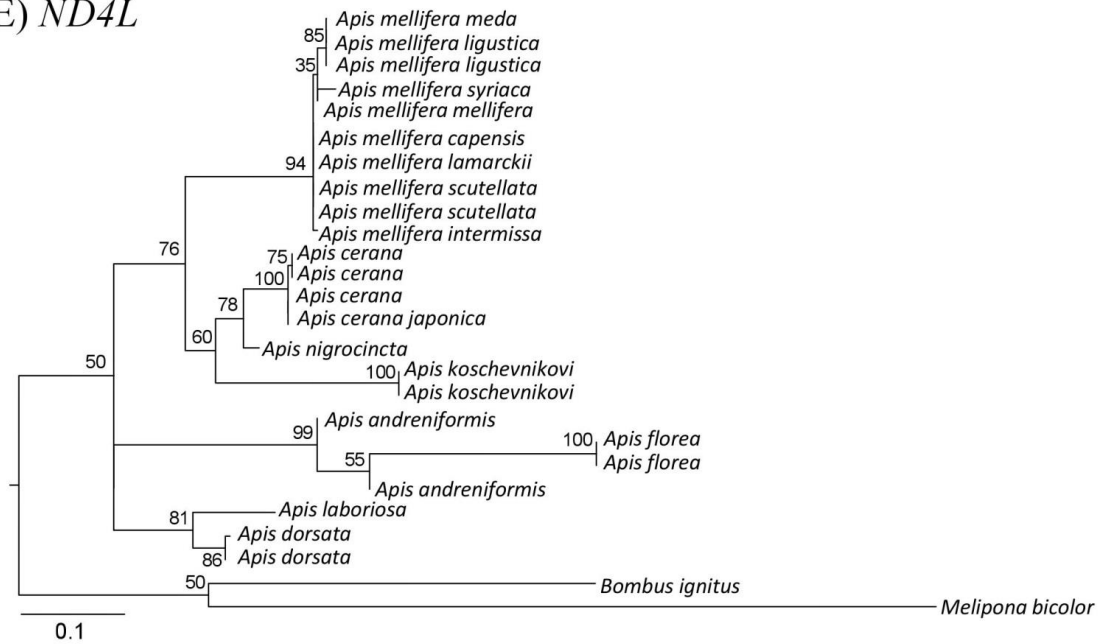


(D) *ND4*

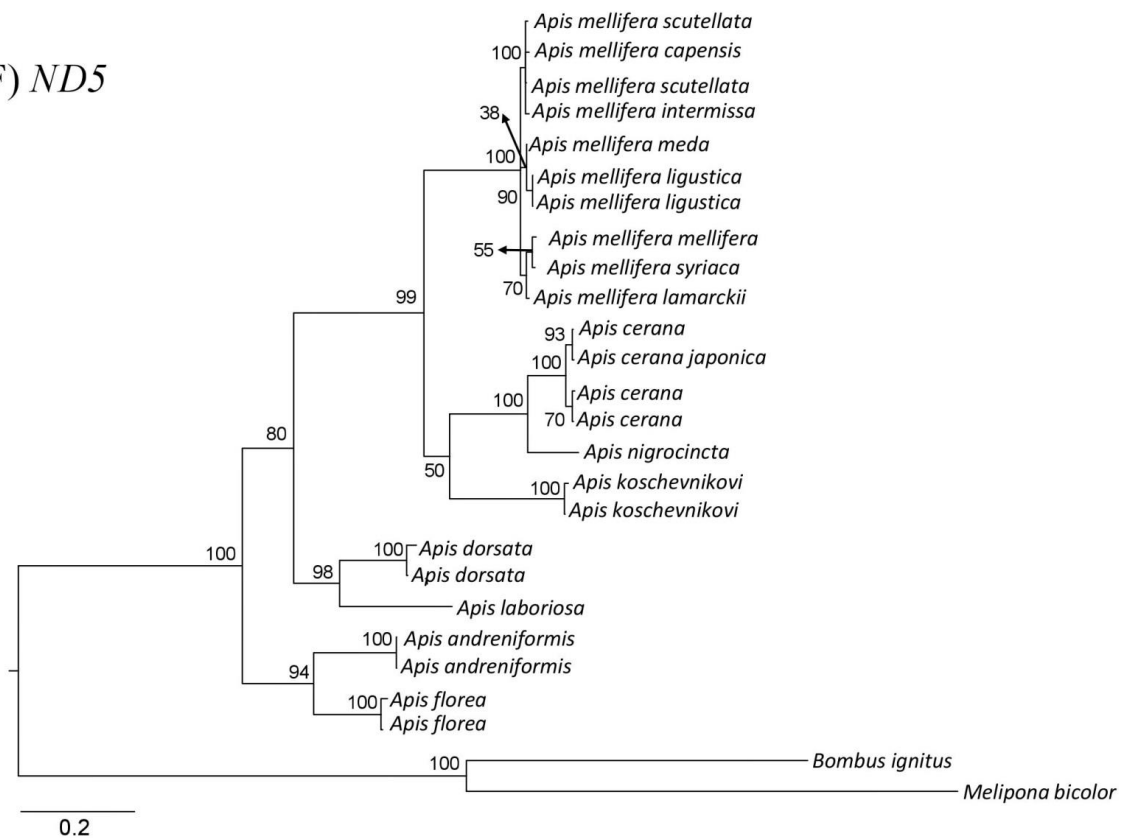


Supplementary Material Figure S6. Continued (2/8)

(E) *ND4L*

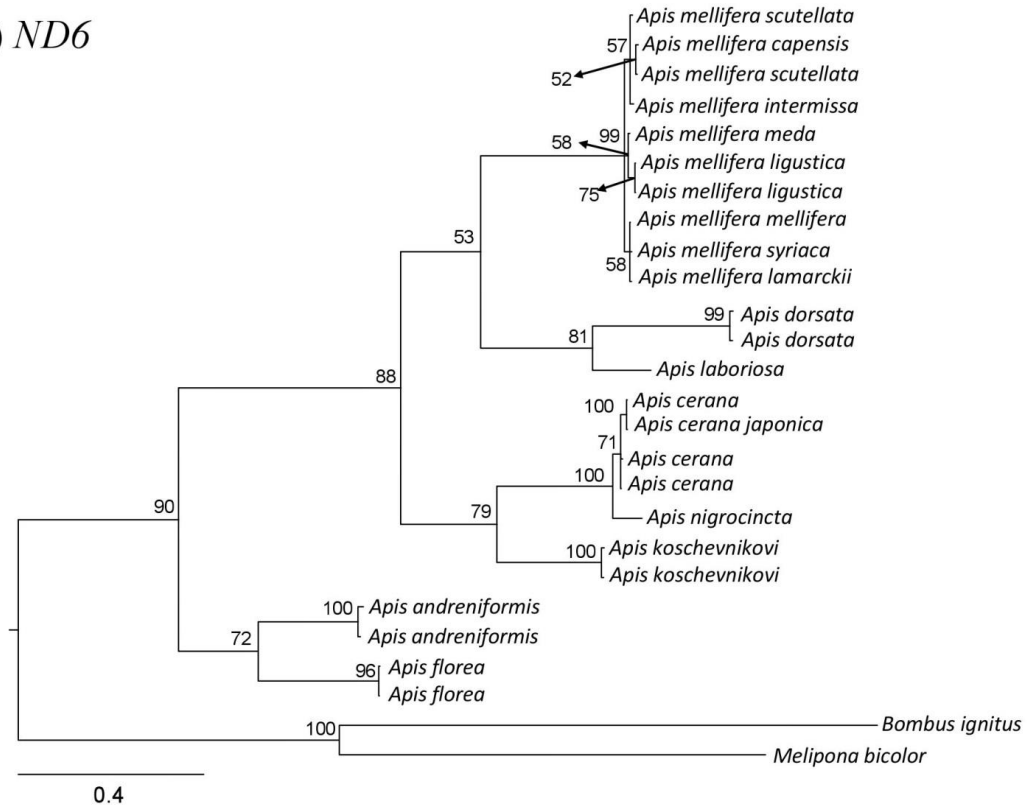


(F) *ND5*

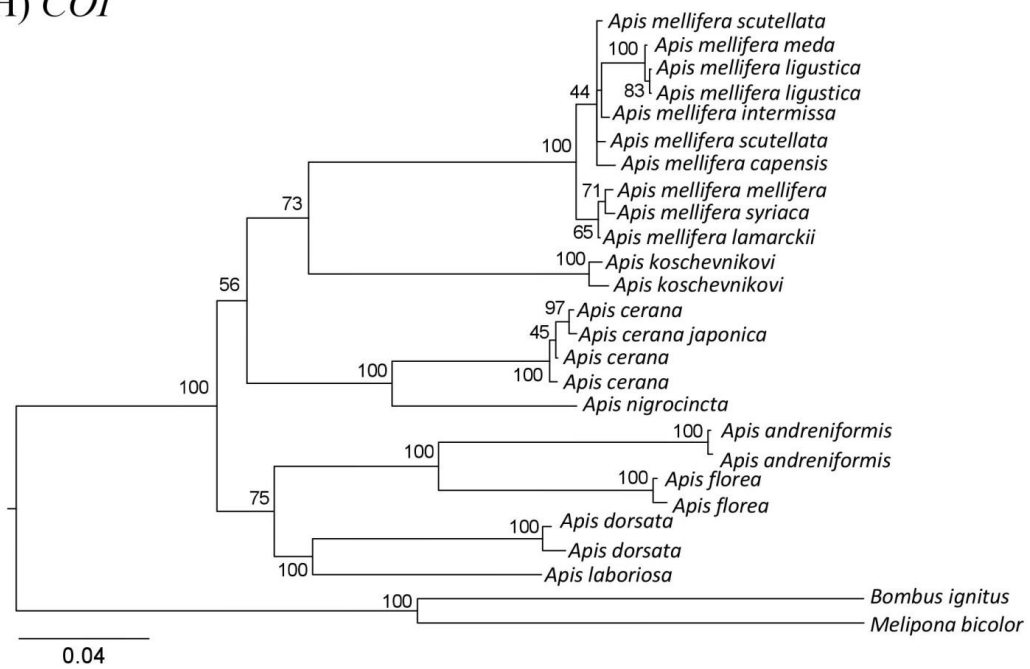


Supplementary Material Figure S6. Continued (3/8)

(G) *ND6*

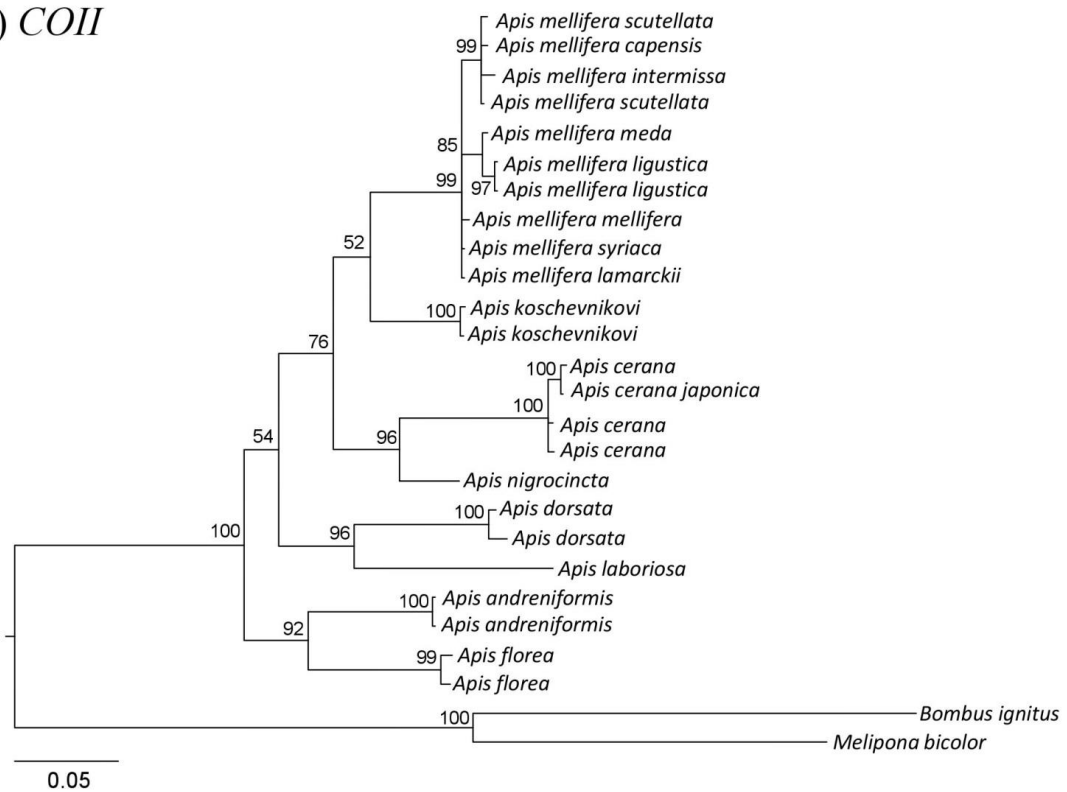


(H) *COI*

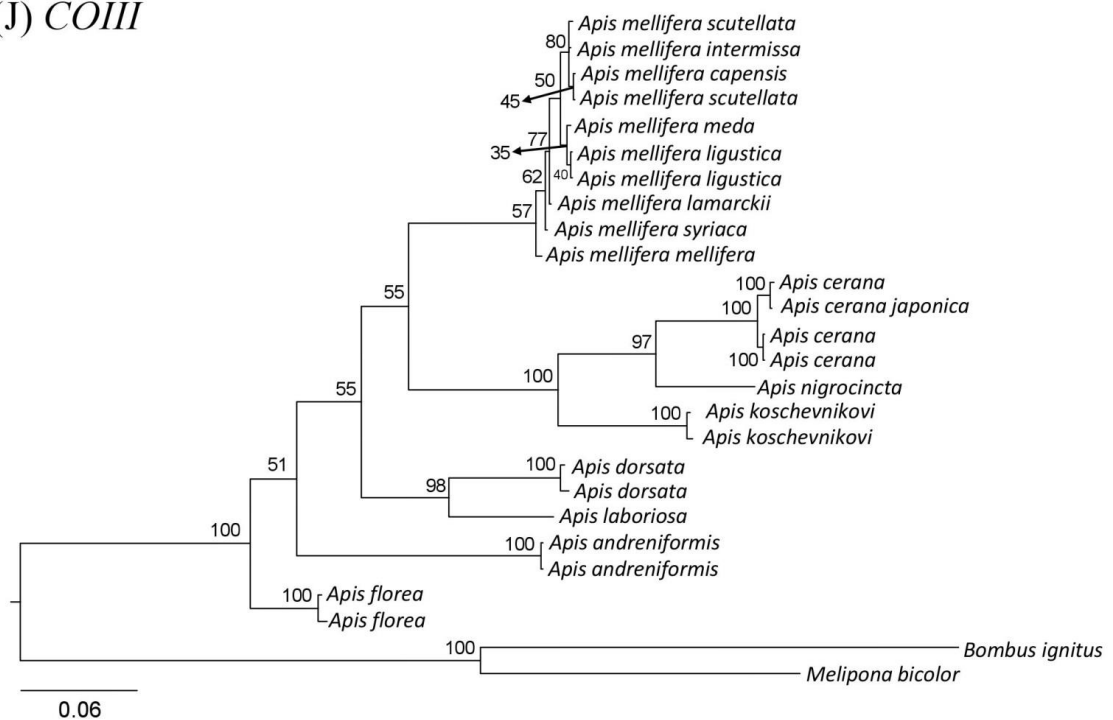


Supplementary Material Figure S6. Continued (4/8)

(I) *COII*

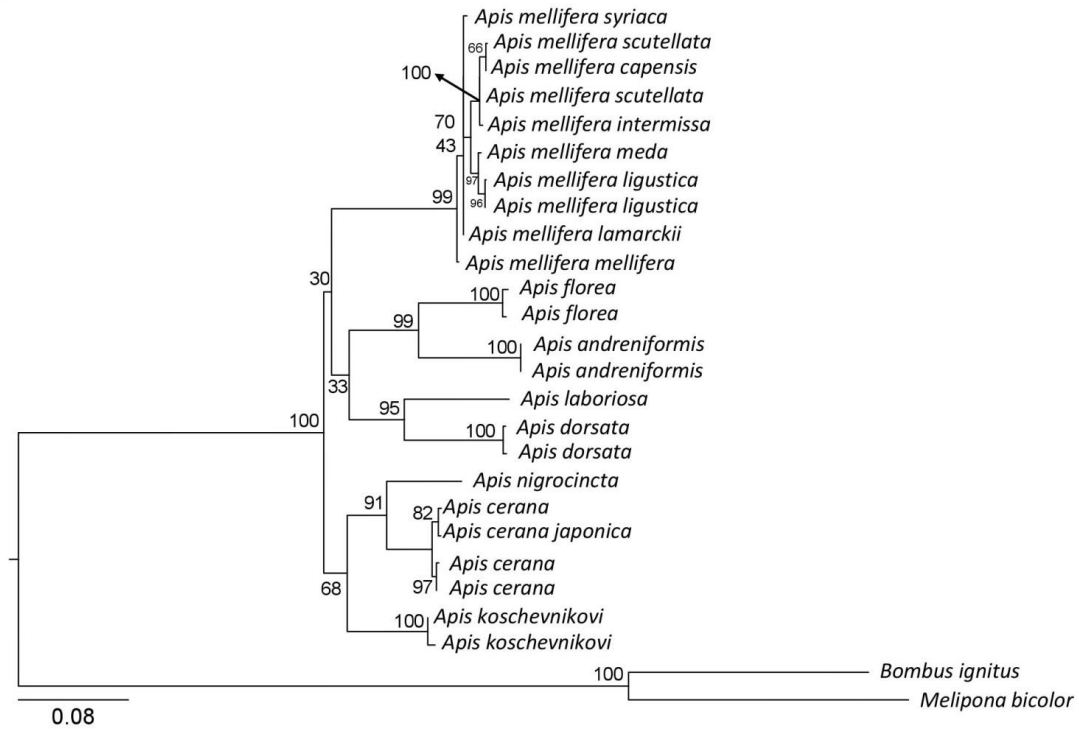


(J) *COIII*

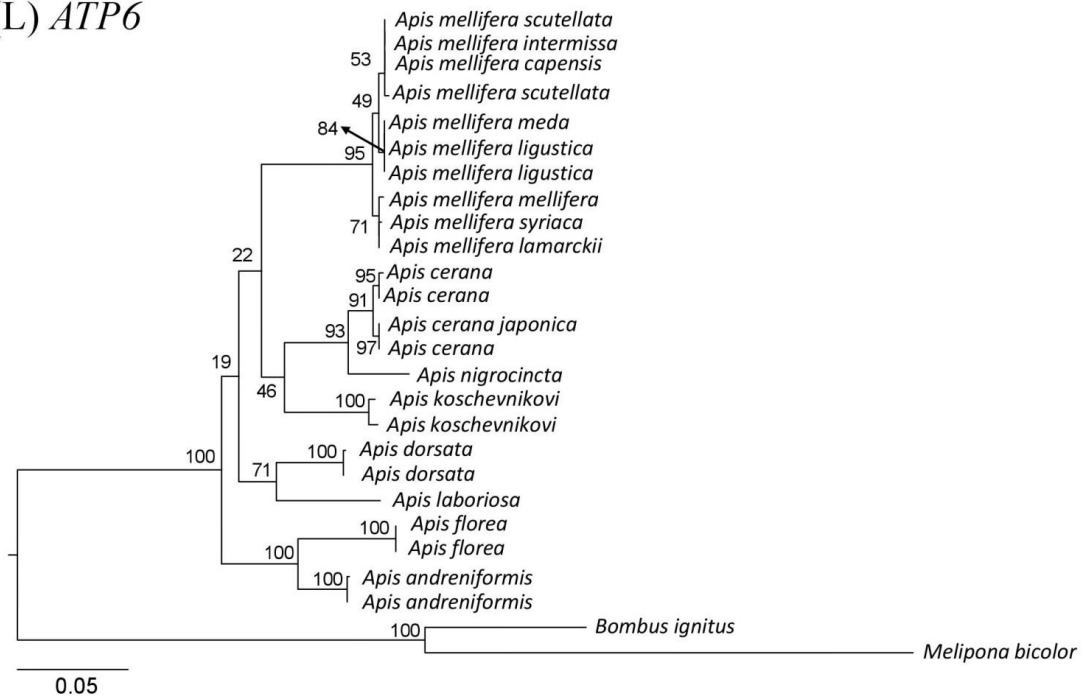


Supplementary Material Figure S6. Continued (5/8)

(K) *CytB*

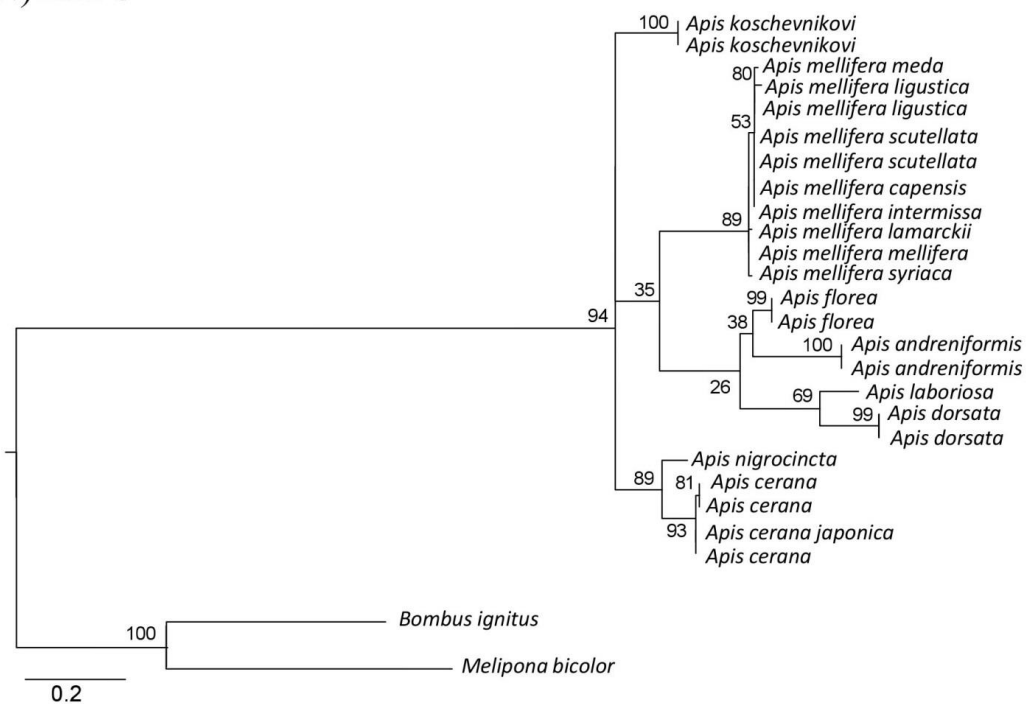


(L) *ATP6*

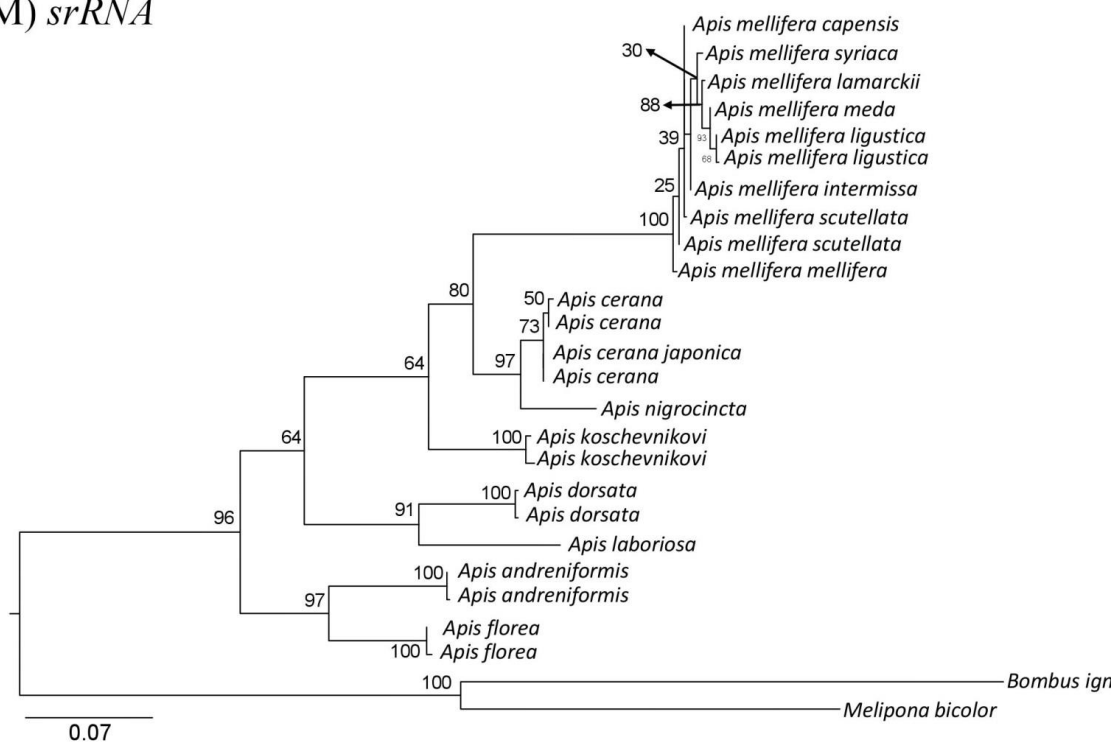


Supplementary Material Figure S6. Continued (6/8)

(N) *ATP8*

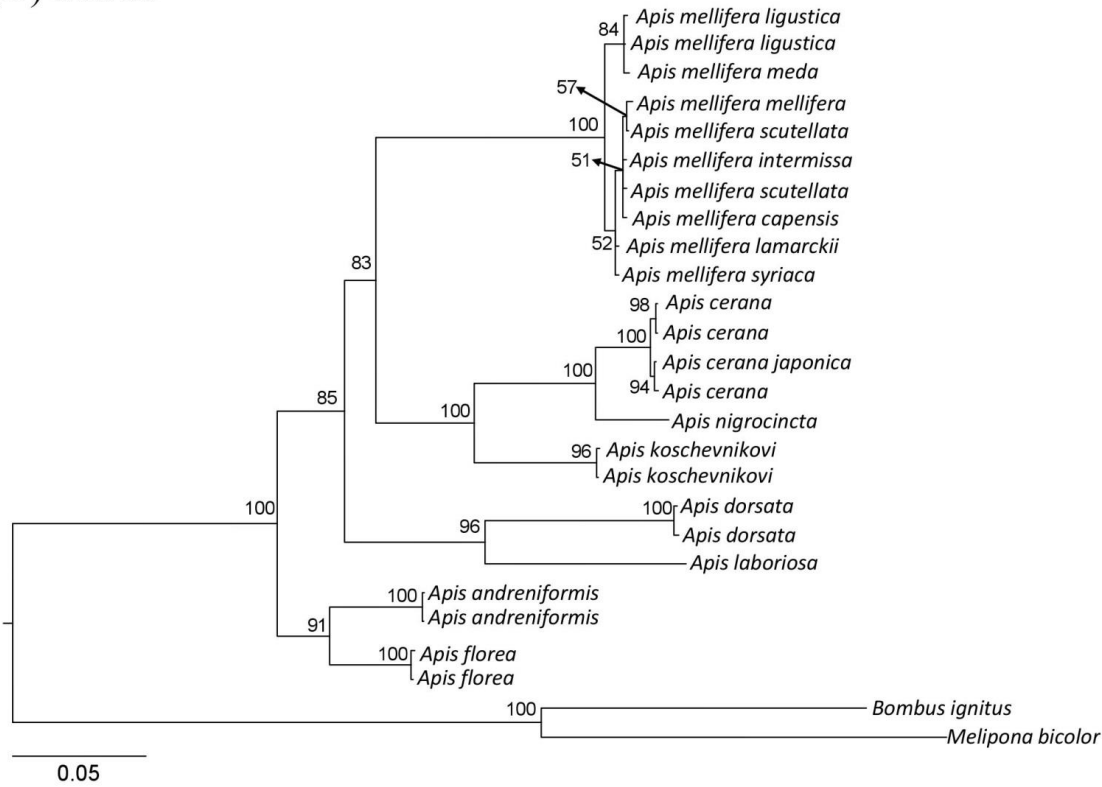


(M) *srRNA*



Supplementary Material Figure S6. Continued (7/8)

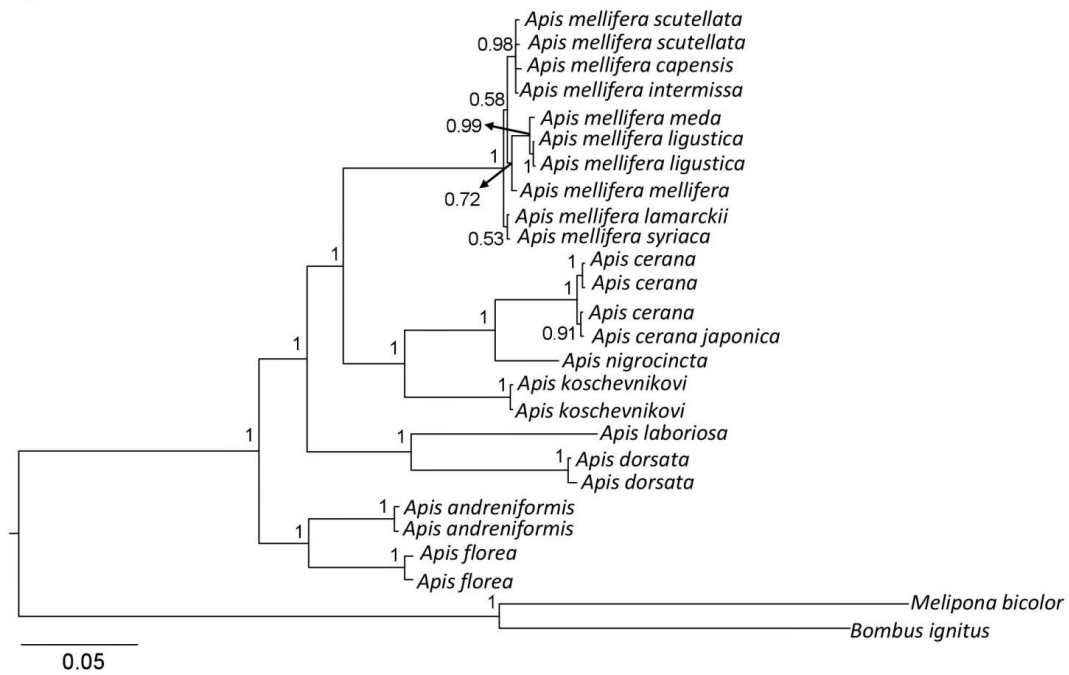
(O) *lrRNA*



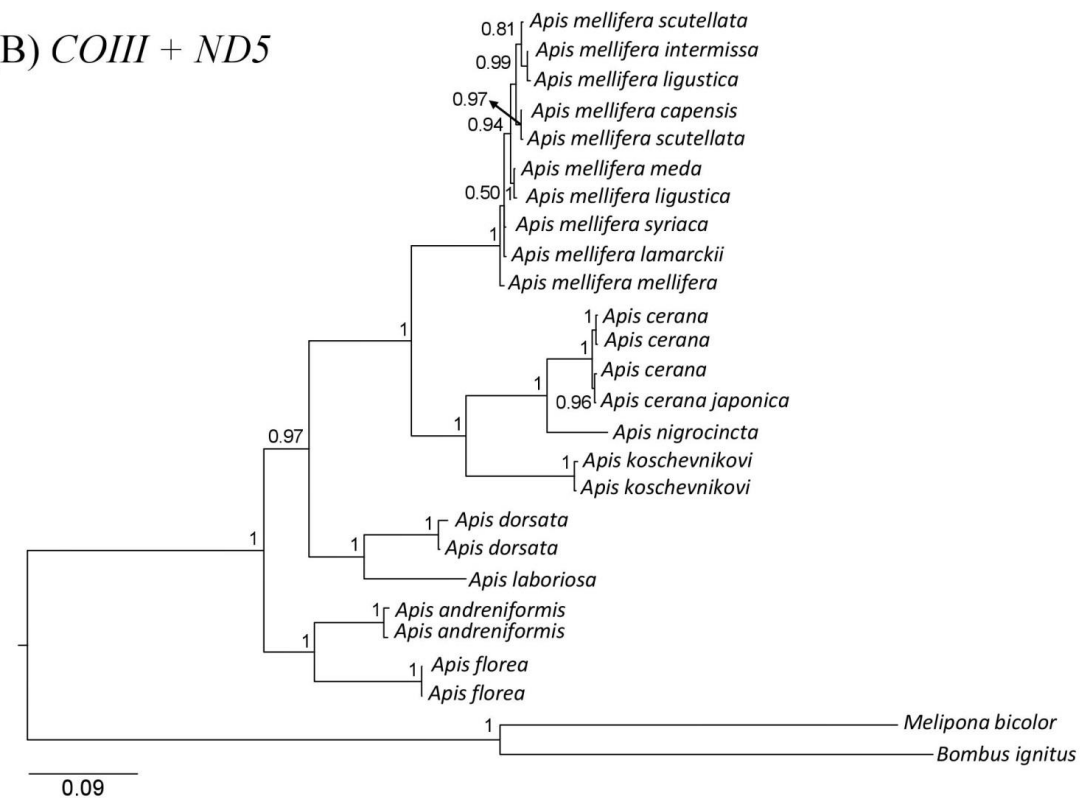
Supplementary Material Figure S6. Continued (8/8)

Figure S6. Maximum-likelihood phylograms of *Apis* using individual mitochondrial genes. (a) *ND1*, (b) *ND2*, (c) *ND3*, (d) *ND4*, (e) *ND4L*, (f) *ND5*, (g) *ND6*, (h) *COI*, (i) *COII*, (j) *COIII*, (k) *ATP8*, (l) *ATP6*, (m) *12S rRNA*, (n) *16S rRNA*, and (o) *CytB*. One species of Bombini and Meliponini was used as an outgroup. Numbers at each node specify bootstrap percentage of 1,000 replicates. The scale bar indicates the number of substitutions per site.

(A) *COII* + *lrRNA*

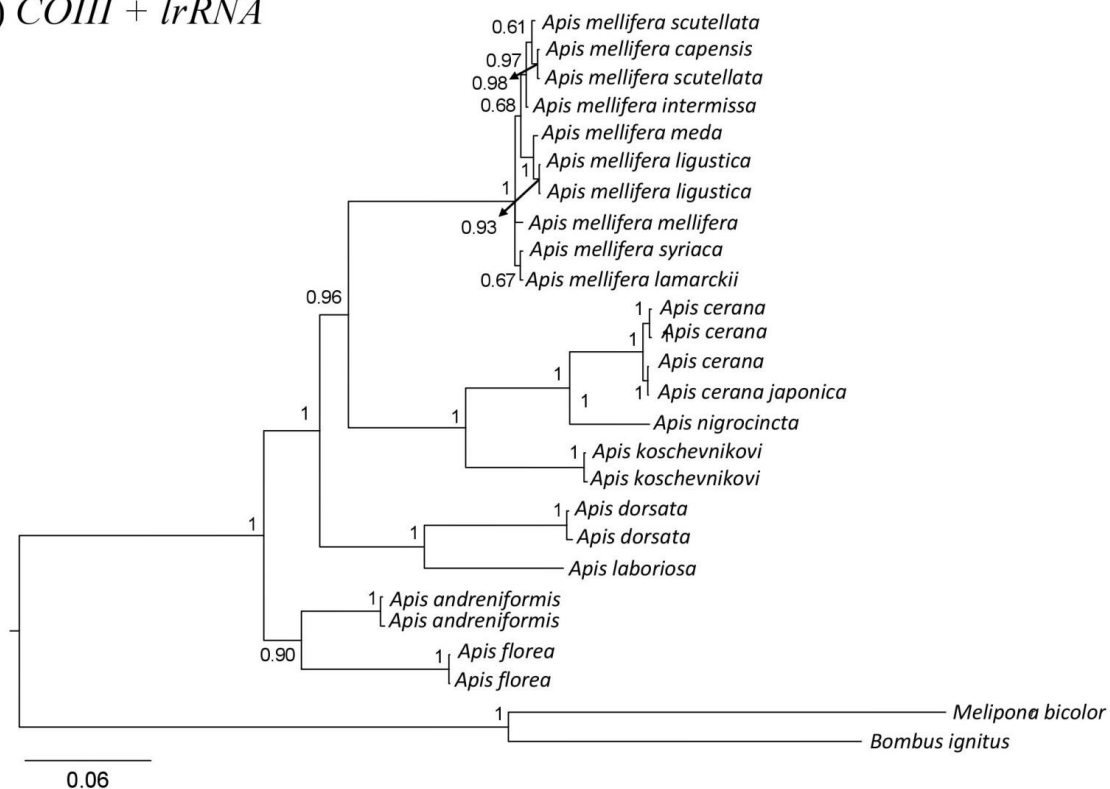


(B) *COIII* + *ND5*

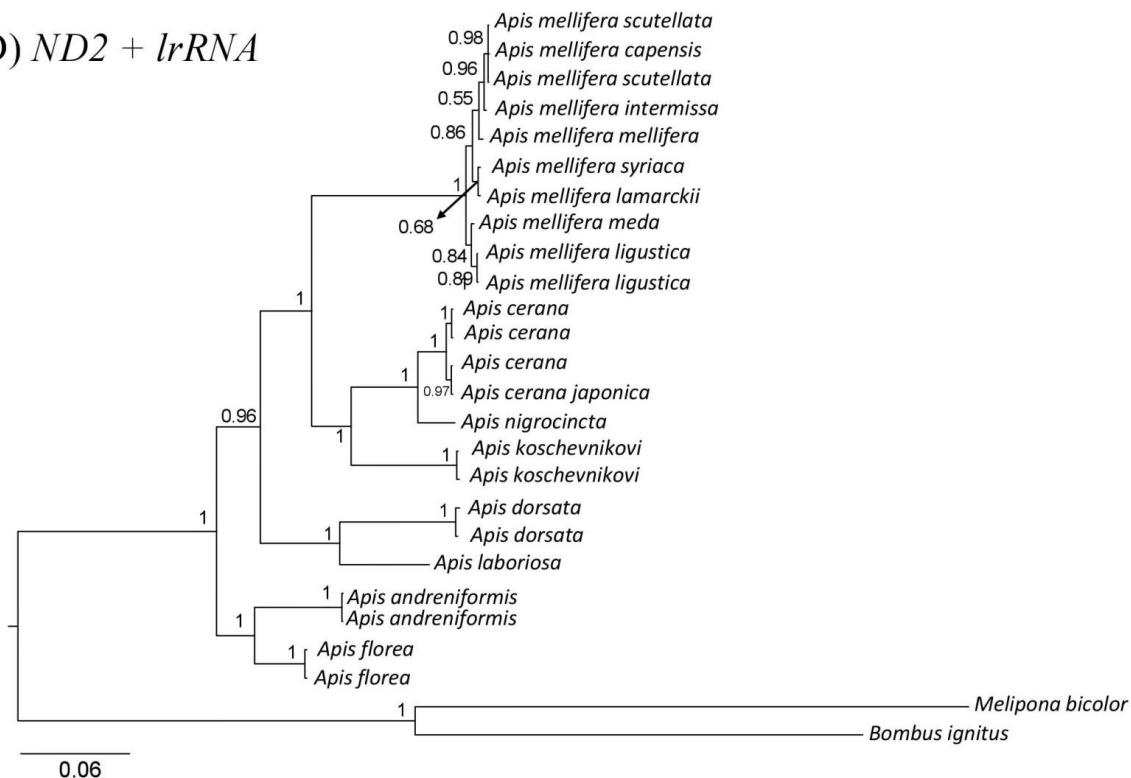


Supplementary Material Figure S7. Continued (1/5)

(C) *COIII* + *lrRNA*

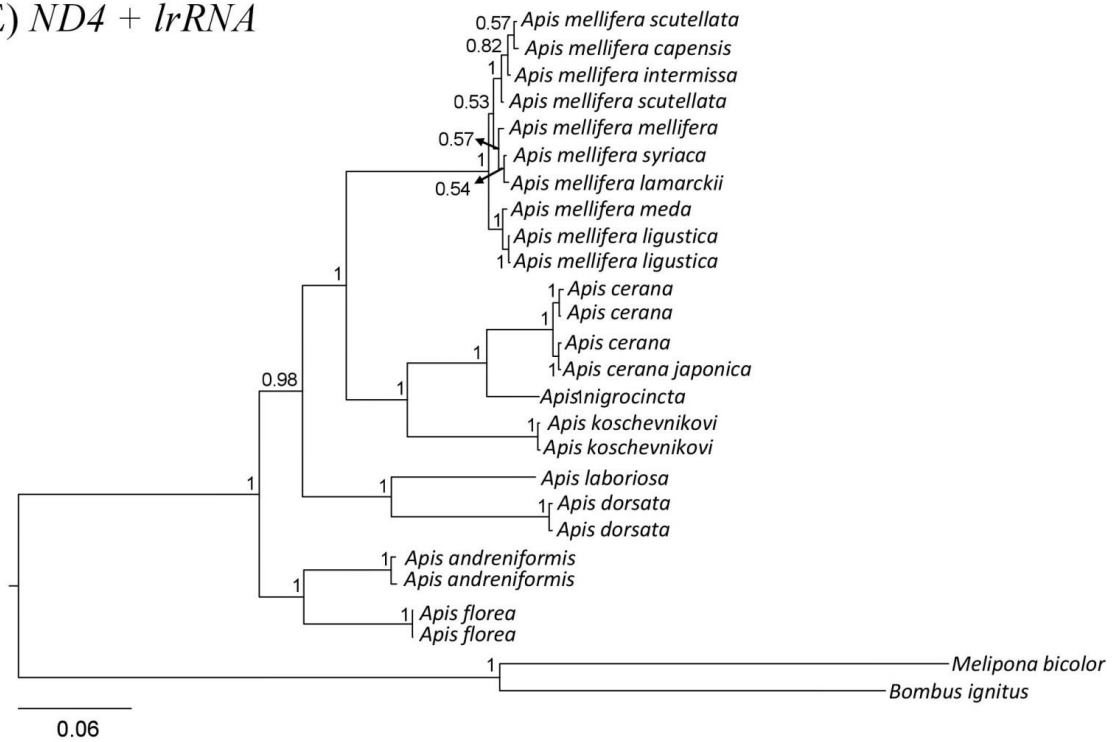


(D) *ND2* + *lrRNA*

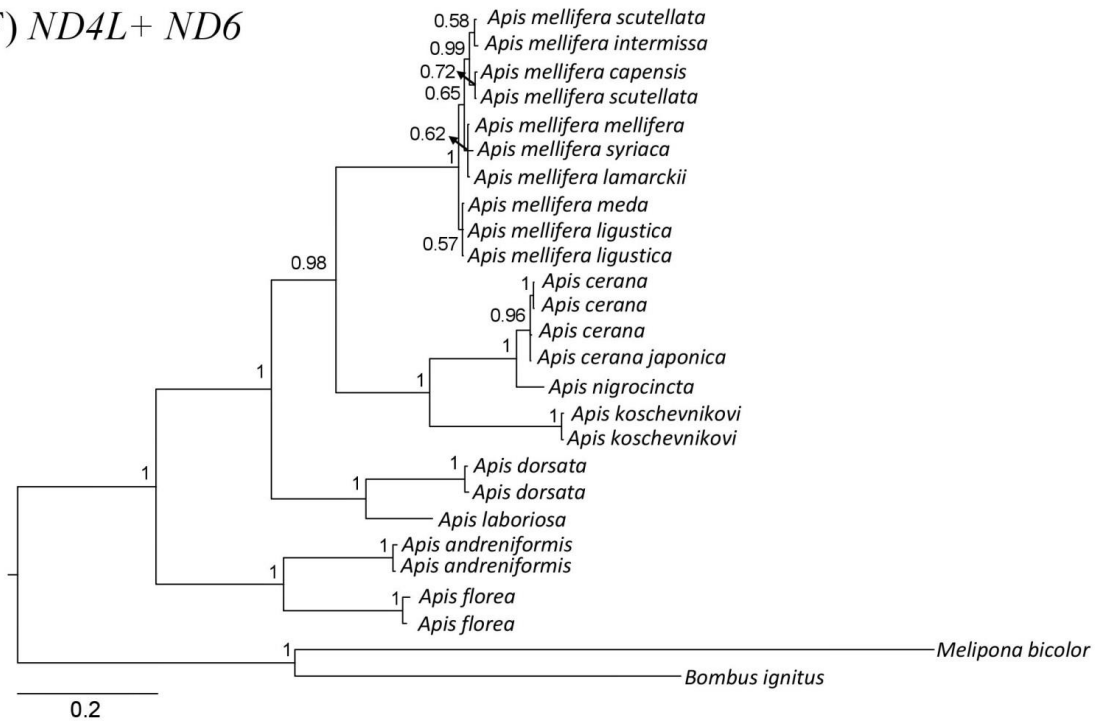


Supplementary Material Figure S7. Continued (2/5)

(E) *ND4 + lrRNA*

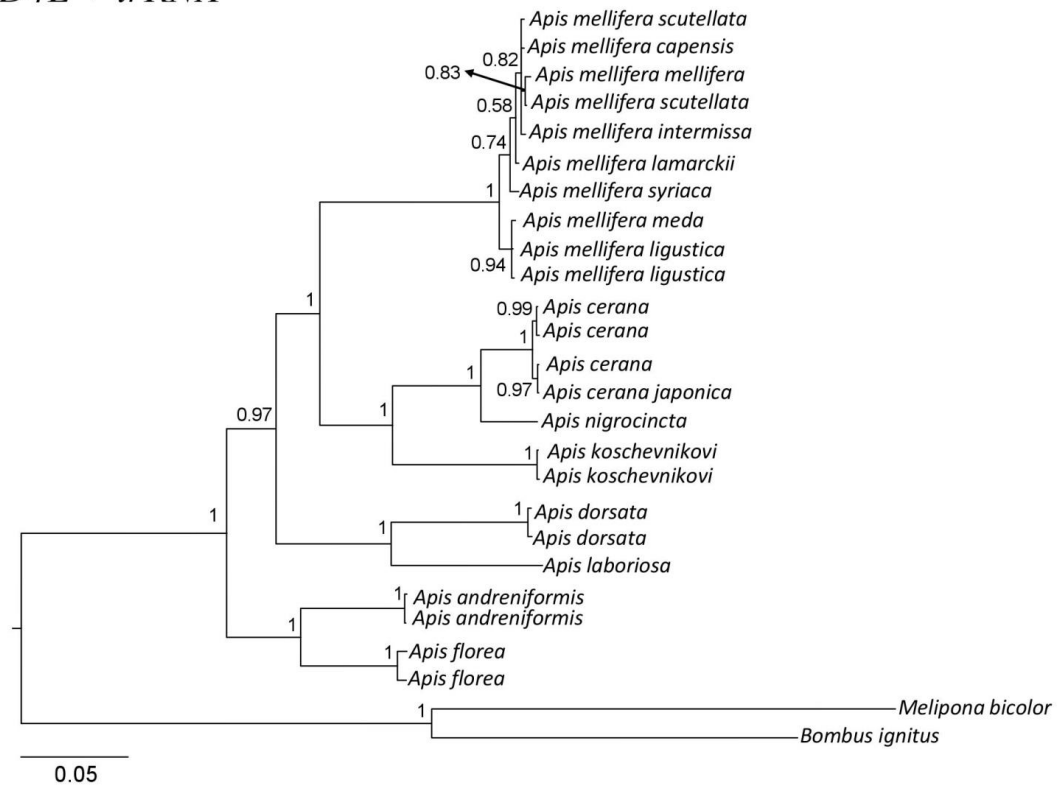


(F) *ND4L + ND6*

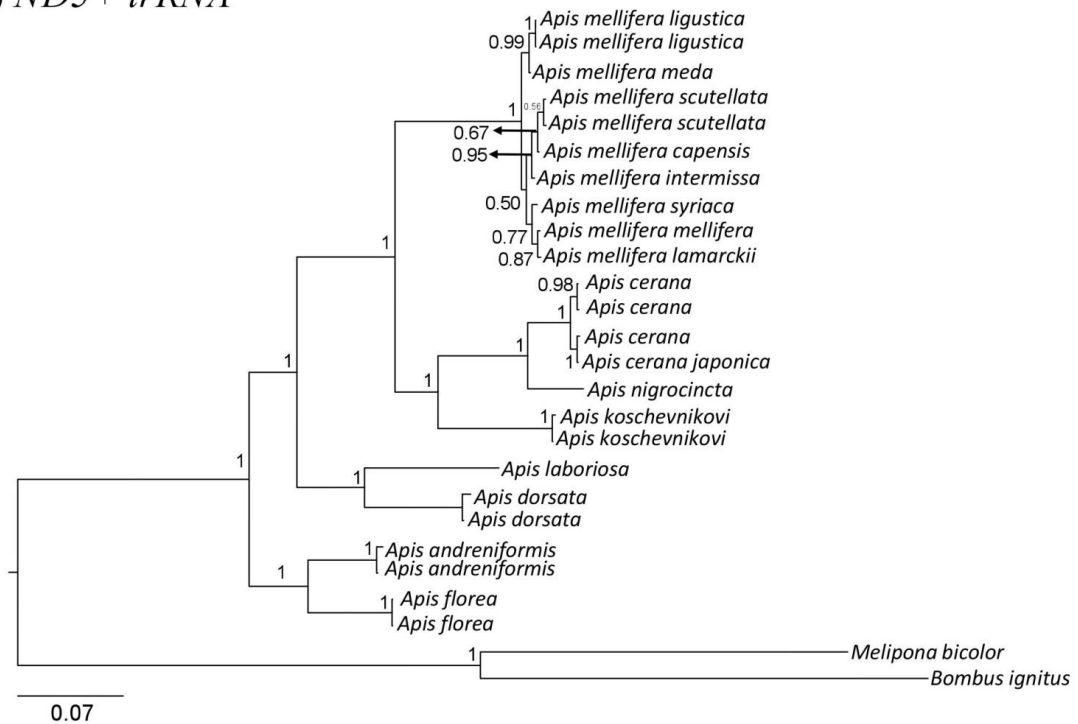


Supplementary Material Figure S7. Continued (3/5)

(R) *ND4L + lrRNA*

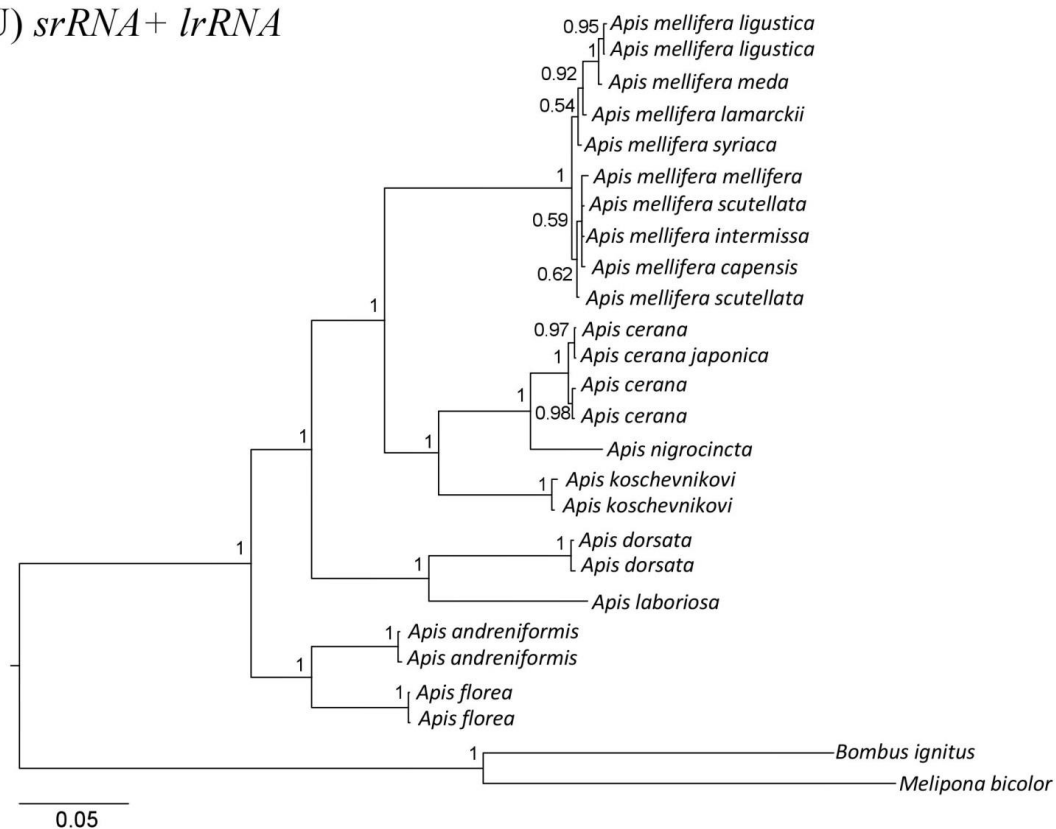


(T) *ND5 + lrRNA*



Supplementary Material Figure S7. Continued (4/5)

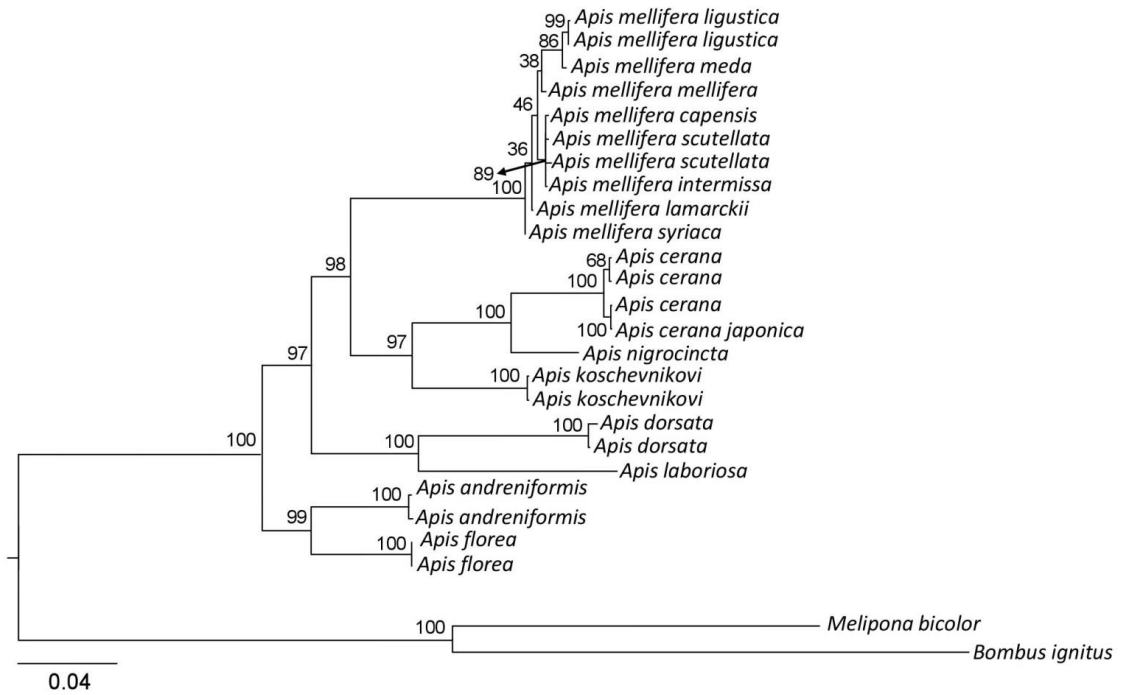
(U) *srRNA* + *lrRNA*



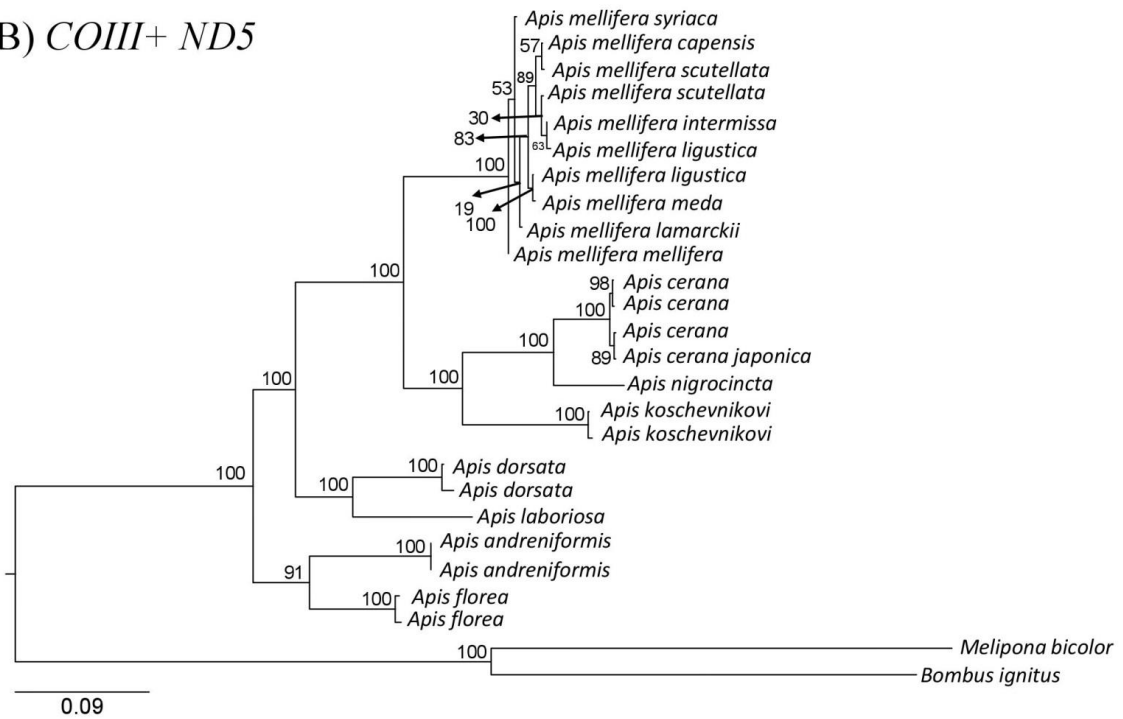
Supplementary Material Figure S7. Continued (5/5)

Figure S7. Bayesian inference phylograms of *Apis* using two mitochondrial gene combinations. (a) *COII* + *IrRNA*, (b) *COIII* + *ND5*, (c) *COIII* + *IrRNA*, (d) *ND2* + *IrRNA*, (e) *ND4* + *IrRNA*, (f) *ND4L* + *ND6*, (g) *ND4L* + *IrRNA*, (h) *ND5* + *IrRNA*, and (i) *srRNA* + *IrRNA*. One species of Bombini and Meliponini was used as an outgroup. The numbers at each node specify Bayesian posterior probability. The scale bar indicates the number of substitutions per site.

(A) *COII* + *lrRNA*

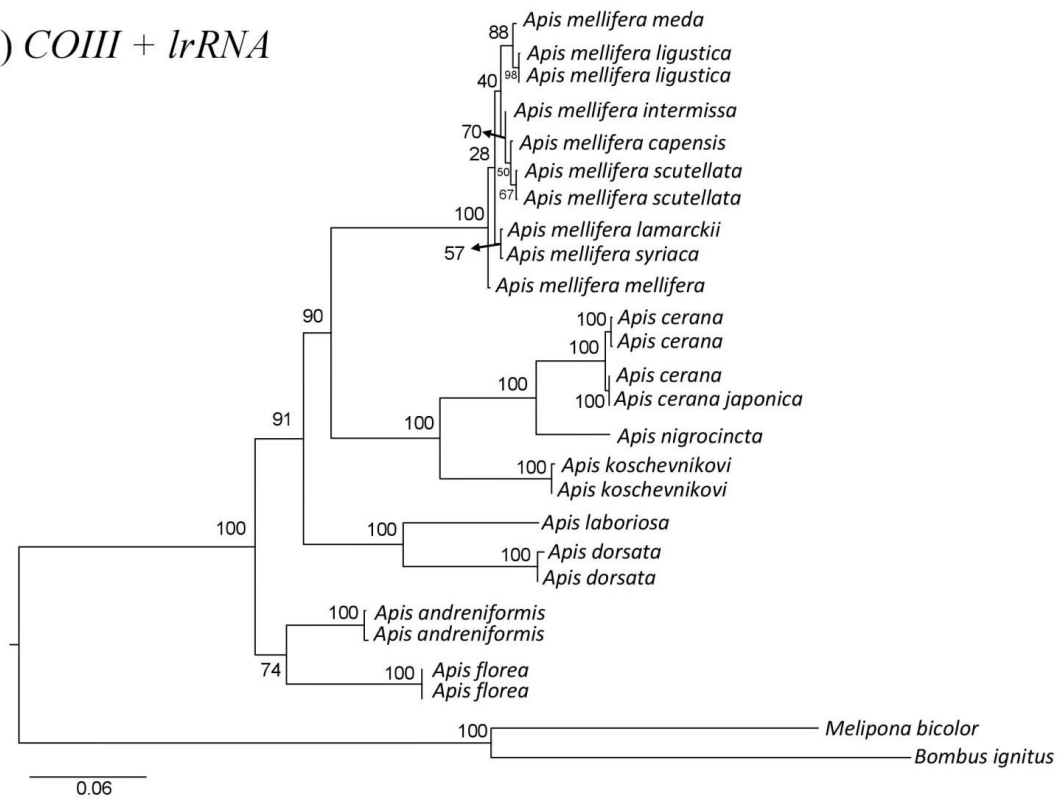


(B) *COIII* + *ND5*

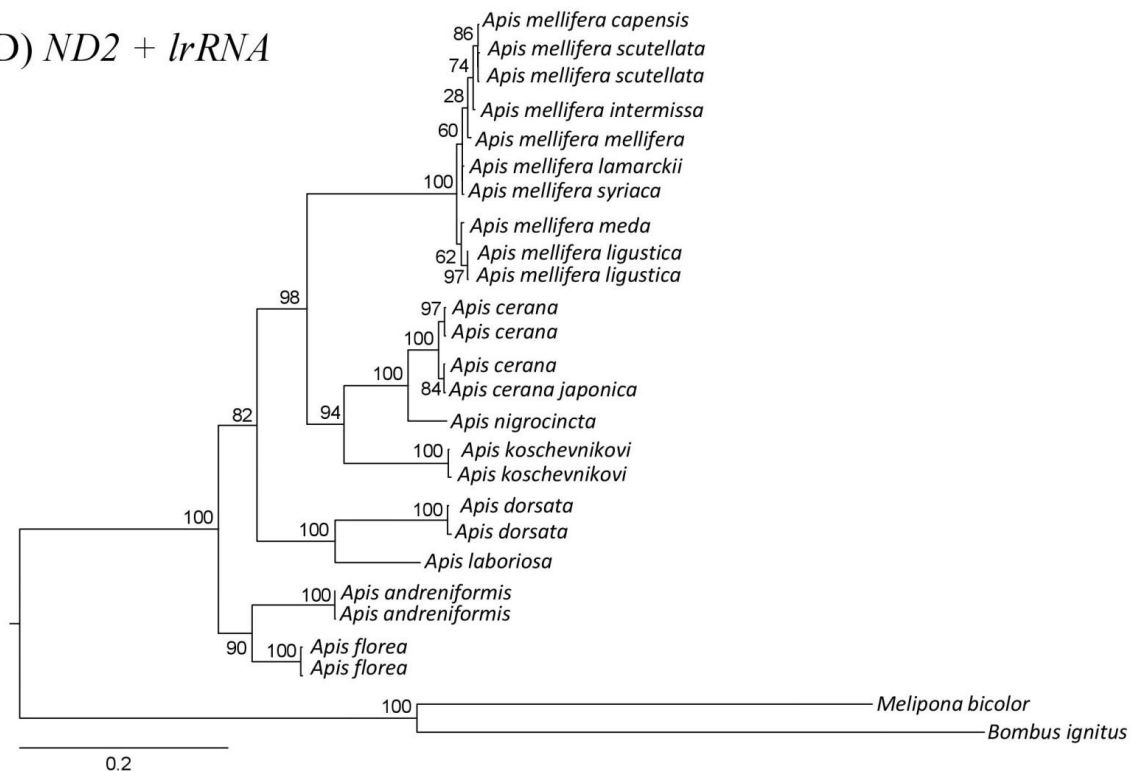


Supplementary Material Figure S8. Continued (1/5)

(C) *COIII + lrRNA*

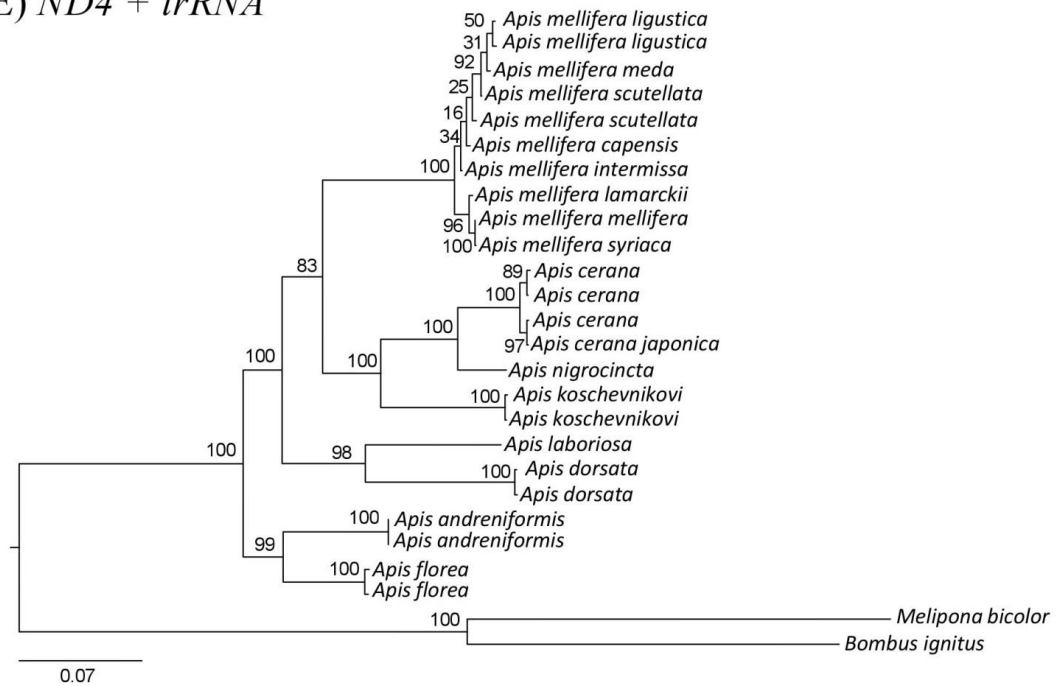


(D) *ND2 + lrRNA*

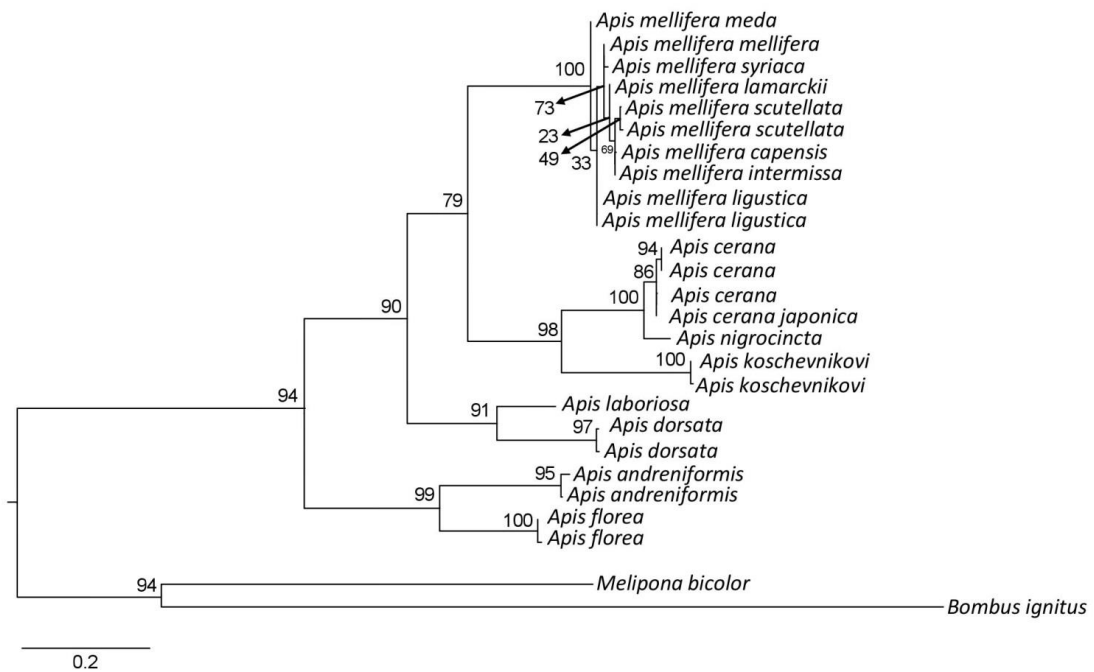


Supplementary Material Figure S8. Continued (2/5)

(E) *ND4 + lrRNA*

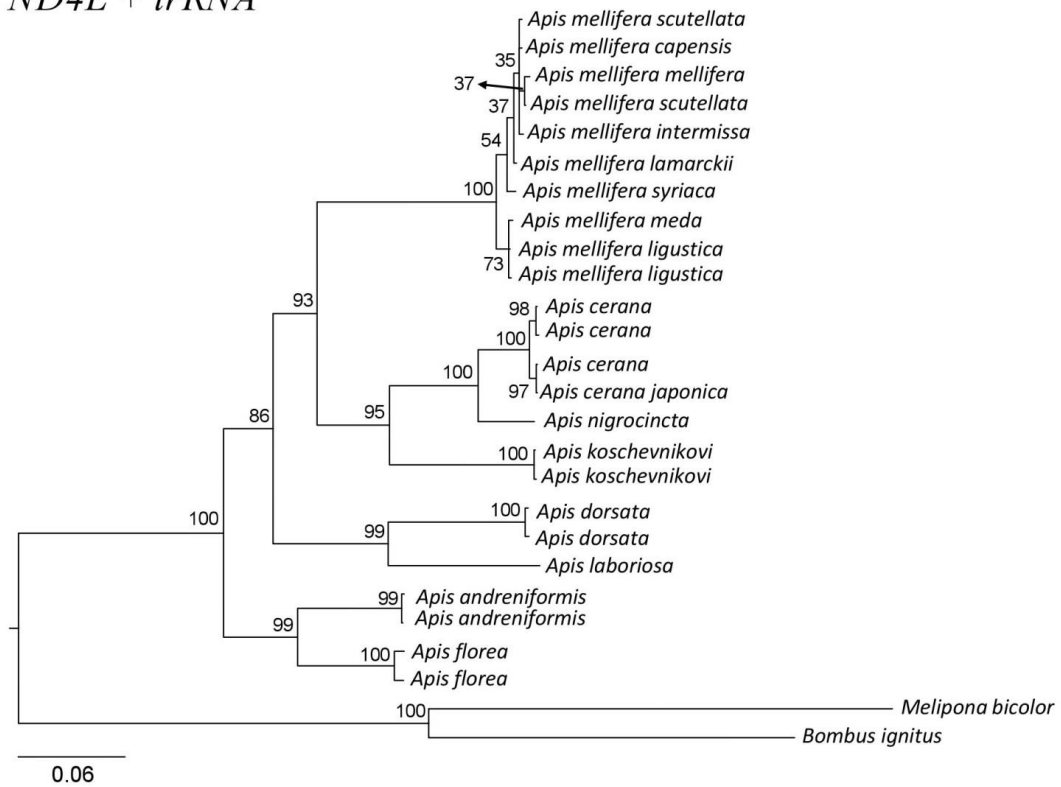


(F) *ND4L + ND6*

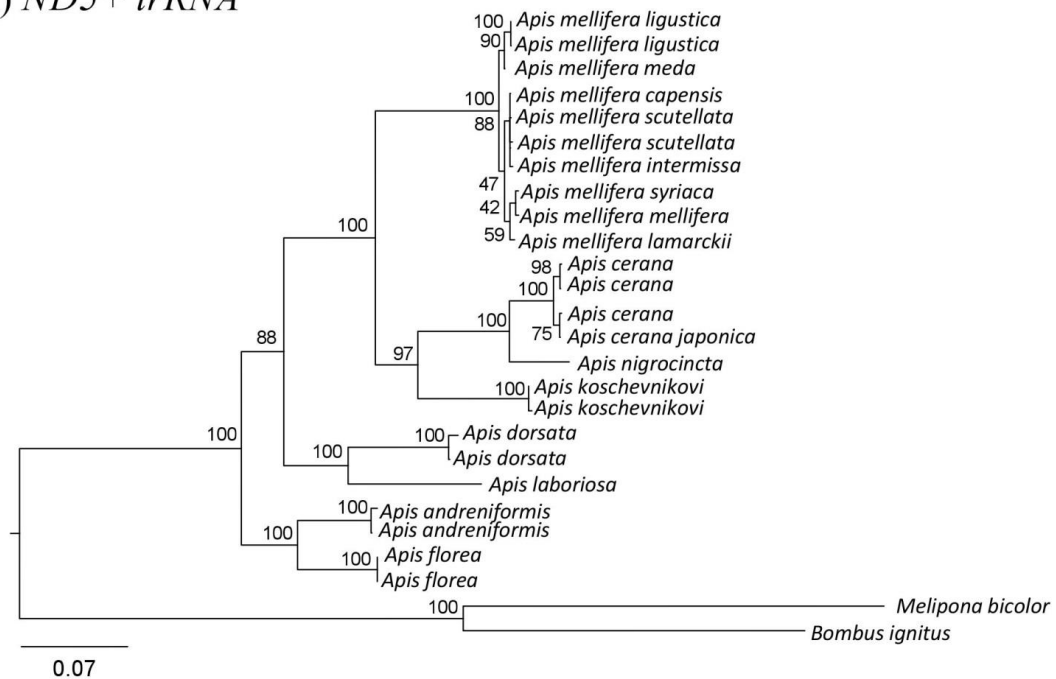


Supplementary Material Figure S8. Continued (3/5)

(G) *ND4L + lrRNA*

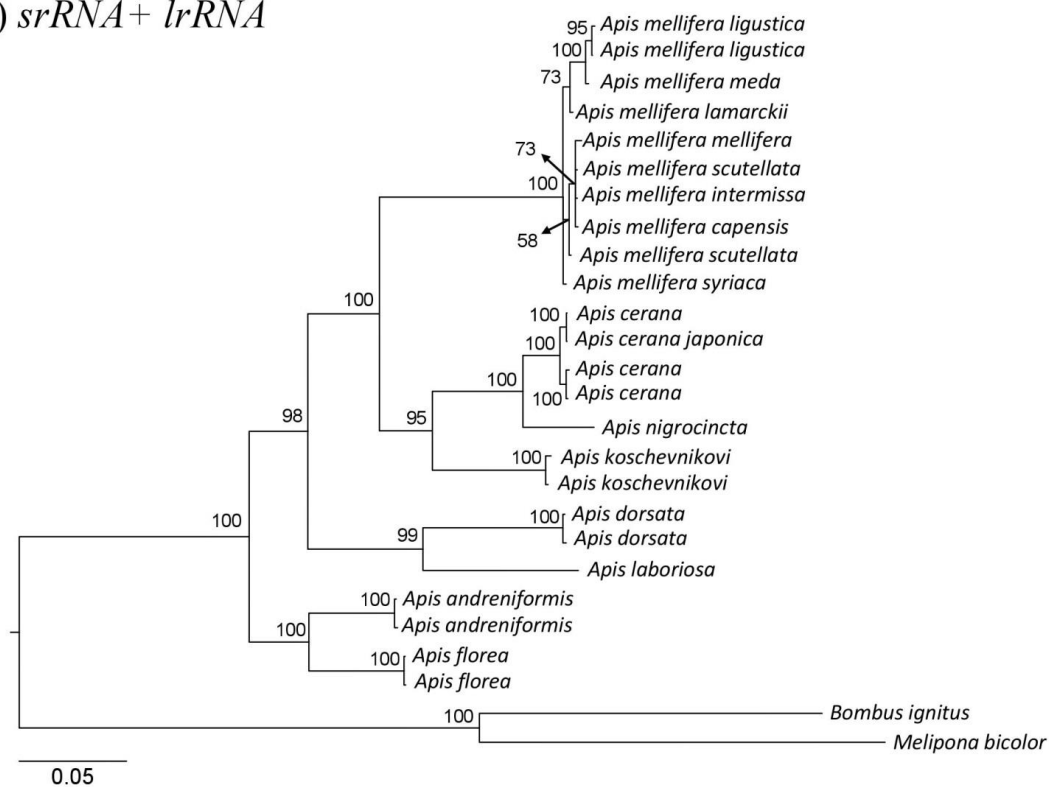


(H) *ND5 + lrRNA*



Supplementary Material Figure S8. Continued (4/5)

(I) *srRNA* + *lrRNA*



Supplementary Material Figure S8. Continued (5/5)

Figure S8. Maximum-likelihood phylograms of *Apis* using two mitochondrial gene combinations (a) *COII* + *IrRNA*, (b) *COIII* + *ND5*, (c) *COIII* + *IrRNA*, (d) *ND2* + *IrRNA*, (e) *ND4* + *IrRNA*, (f) *ND4L* + *ND6*, (g) *ND4L* + *IrRNA*, (h) *ND5* + *IrRNA*, and (i) *srRNA* + *IrRNA*. One species of Bombini and Meliponini was used as an outgroup. Numbers at each node specify bootstrap percentage of 1,000 replicates. The scale bar indicates the number of substitutions per site.