## **ЗООЛОГИЯ**

# ZOOLOGY

УДК 595.799

doi: 10.21685/2307-9150-2025-1-1

# Идентификация криптических видов Bombus lucorum-complex и Bombus terrestris в Пензенской области с помощью метода полимеразной цепной реакции – полиморфизма длины фрагментов рестрикции

Г. С. Потапов<sup>1</sup>, Г. В. Бовыкина<sup>2</sup>, О. А. Полумордвинов<sup>3</sup>, Т. Г. Стойко<sup>4</sup>

1,2 Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н. П. Лаверова УрО РАН, Архангельск, Россия

<sup>3,4</sup>Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

<sup>1</sup>grigorij-potapov@yandex.ru, <sup>2</sup>galka.bovickina@gmail.com, <sup>3</sup>entomol-penza@yandex.ru, <sup>4</sup>tgstojko@mail.ru

Аннотация. Актуальность и цели. Изучение распространения криптических видов Bombus lucorum-complex является одной из наиболее трудных задач в региональных энтомологических исследованиях. В Пензенской области имеются сведения только о двух видах шмелей B. terrestris и B. lucorum, не подтвержденные молекулярно-генетическими методами, а В. cryptarum не был зарегистрирован. В то же время разработан метод упрощенной молекулярной идентификации видов ПЦР-ПДРФ, позволивший на Европейском Севере России детально изучить распространение шмелей трех видов. Преимущество данного метода в том, что при его применении не требуется дорогостоящее секвенирование ДНК. Целью исследования явилась идентификация видов Bombus lucorum-complex и B. terrestris на территории Пензенской области с использованием метода ПЦР-ПДРФ анализа. Материалы и методы. Подробное описание ПЦР-ПДРФ метода представлено ранее, в работе Bovykina et al., 2024. Изучено 10 экземпляров, сделаны фото внешнего вида шмелей (вид сбоку) и центральной части заднего края второго тергита брюшка. Результаты. На территории Пензенской области подтверждено обитание B. terrestris, B. cryptarum и B. lucorum. В коллекции появились эталонные образцы этих видов, рассмотрена их биотопическая приуроченность, а также проанализированы морфологические признаки. Выводы. В результате проведенного анализа подтверждено наличие в Пензенской области шмелей B. terrestris, В. cryptarum и В. lucorum. Морфологические признаки эталонных экземпляров являются образцом для идентификации остальных шмелей в коллекции.

**Ключевые слова**: криптические виды, шмели, *Bombus lucorum*-complex, *Bombus cryptarum*, метод ПЦР–ПДРФ, Пензенская область

Для цитирования: Потапов Г. С., Бовыкина Г. В., Полумордвинов О. А., Стойко Т. Г. Идентификация криптических видов *Bombus lucorum*-complex и *Bombus terrestris* в Пензенской области с помощью метода полимеразной цепной реакции — полиморфизма длины фрагментов рестрикции // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2025. № 1. С. 3–10. doi: 10.21685/2307-9150-2025-1-1

<sup>©</sup> Потапов Г. С., Бовыкина Г. В., Полумордвинов О. А., Стойко Т. Г., 2025. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License / This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License.

# Identification the cryptic species of *Bombus lucorum*-complex and *Bombus terrestris* in Penza region using the PCR-RFLP method

G.S. Potapov<sup>1</sup>, G.V. Bovykina<sup>2</sup>, O.A. Polumordvinov<sup>3</sup>, T.G. Stojko<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup>N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia

<sup>3,4</sup>Penza State University, Penza, Russia

<sup>1</sup>grigorij-potapov@yandex.ru, <sup>2</sup>galka.bovickina@gmail.com, <sup>3</sup>entomol-penza@yandex.ru, <sup>4</sup>tgstojko@mail.ru

Abstract. Background. Studying the distribution the cryptic species of Bombus lucorumcomplex is one of the most difficult tasks in regional entomological research. In Penza region there is information about only two species of bumblebees B. terrestris and B. lucorum, not confirmed by molecular genetic methods, and the species B. cryptarum has not been registered. At the same time, a simplified molecular identification method PCR-RFLP of species has been developed, which made it possible to study in detail the distribution of three bumblebee species in the European North of Russia. The advantage of this method is that it does not require expensive DNA sequencing. The aim of the study was to identify the species Bombus lucorum-complex and B. terrestris in Penza region using the PCR-RFLP analysis method. Materials and methods. A detailed description of the PCR-RFLP method was presented earlier in the work of Bovykina et al., 2024. Ten specimens were studied, and photographs of the bumblebees' external appearance (side view) and the central part of the posterior edge of the 2<sup>nd</sup> tergite of the abdomen were taken. Results. The presence of B. terrestris, B. cryptarum and B. lucorum has been confirmed in Penza Region. Reference samples of these species have appeared in the collection, their biotopic preference has been considered, and their morphological features have been analyzed. Conclusions. As a result of the analysis, the presence of B. terrestris, B. cryptarum and B. lucorum bumblebees in Penza region was confirmed. The morphological features of the reference specimens are a model for identifying the remaining bumblebees in the collection.

**Keywords**: cryptic species, bumblebees, *Bombus lucorum*-complex, *Bombus cryptarum*, PCR-RFLP method, Penza region

**For citation**: Potapov G.S., Bovykina G.V., Polumordvinov O.A., Stojko T.G. Identification the cryptic species of *Bombus lucorum*-complex and *Bombus terrestris* in Penza region using the PCR–RFLP method. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2025;(1):3–10. (In Russ.). doi: 10.21685/2307-9150-2025-1-1

#### Введение

Изучение распространения криптических видов *Bombus lucorum*-complex (*B. lucorum* (Linnaeus 1761), *B. cryptarum* (Fabricius 1775) и *B. magnus* Vogt 1911) является одной из наиболее трудных задач в региональных энтомологических исследованиях [1, 2]. Основная причина этого заключается в значительной сложности, а нередко и невозможности их достоверной идентификации только по морфологическим признакам. Если крупные репродуктивные самки в ряде случаев возможно точно идентифицировать, то этого нельзя сделать с рабочими особями и самцами [2, 3]. Кроме видов *Bombus lucorum*-complex определенную сложность доставляет идентификация и *B. terrestris* (Linnaeus 1758) [2]. Однако проведение ДНК-баркодинга с этой целью в большинстве случаев невозможно по финансовым причинам и возникающим трудозатратам.

В итоге к настоящему времени подробные сведения о распространении и экологии данных видов существуют только для некоторых регионов Европы [1, 2, 4, 5].

В Пензенской области имеются сведения о наличии на территории региона только *В. terrestris* и *В. lucorum* [6–9]. *В. cryptarum* в исследуемом регионе не был зарегистрирован [2, 10]. Однако находки *В. terrestris* и *В. lucorum* на территории Пензенской области не были подтверждены молекулярно-генетическими методами. В то же время на Европейском Севере России, в Архангельской области, Республике Карелия и Мурманской области с помощью метода упрощенной молекулярной идентификации — анализа полиморфизма длины фрагментов рестрикции (ПДРФ) ПЦР-продуктов — детально изучено распространение *В. terrestris*, *В. lucorum* и *В. cryptarum* на территории региона [11, 12]. Преимущество данного метода заключается в его экономичности (не требуется проведение секвенирование ДНК).

Цель настоящей работы — идентификация видов *Bombus lucorum*-complex и *B. terrestris* на территории Пензенской области с использованием метода ПДРФ-анализа.

#### Материалы и методы

Из 18 образцов шмелей, собранных в Пензенской области и находящихся в коллекции Педагогического института им. В. Г. Белинского Пензенского государственного университета, методом ПДРФ-анализа изучено 10 экземпляров (табл. 1). Подробное описание данного метода представлено в ранее опубликованных исследованиях [11].

Таблица 1 Список экземпляров *Bombus lucorum*-complex и *B. terrestris* из Пензенской области, идентифицированных с помощью ПДРФ-анализа

Вид	Место сбора	Каста	Коорди- наты	Дата сбора	Коллектор
1	2	3	4	5	6
1. B. terrestris	Каменский р-н, с. Новая Есинеевка, огород	0+	53.2240, 43.8255	02.V.2002	О. А. Полу- мордвинов
2. B. terrestris	Каменский р-н, с. Новая Есинеевка, луг	0,	53.2240, 43.8255	17.VIII.2002	О. А. Полу- мордвинов
3. B. terrestris	Колышлейский р-н, ГПЗ «Островцовская лесостепь», степь	+0	52.8271 44.4289	16.V.2012	Т.В.Добро- любова
4. B. terrestris	г. Пенза, мкр. Победа, луг в лесу	9	53.2519, 45.1074	20.V.1975	Р. К. Бояров
5. B. terrestris	г. Никольск, цветник	9	53.7202, 46.0888	21.V.2014	Н. Е. Добро- любов
6. B. cryptarum	г. Пенза, мкр. Западная Поляна, лес	9	53.1874, 44.9790	10.V.1974	Р. К. Бояров
7. B. cryptarum	Пензенский р-н, с. Большая Елань, остепненный овраг	Ϋ́	53.0781, 44.6986	27.VII.2003	Т. Г. Стойко

#### Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6
8. B. cryptarum	ГПЗ «Кунчеровская	9	52.8373, 46.3231	29.V.2013	Т.В.Добро- любова
9. B. lucorum	лесостепь», степь Кузнецкий р-н, р. Белая, урочище «Шалкеев Кордон», торфяной луг	ğ	52.9743, 46.8625	23.VIII.2005	Е. А. Заикина
10. B. lucorum	Кузнецкий р-н, р. Белая, урочище «Шалкеев кордон», луг в лесу	ð	52.9743, 46.8625	07.VIII.2024	О. А. Полу- мордвинов

#### Результаты

В ходе проведения исследования на территории Пензенской области подтверждено наличие *В. terrestris*, *В. cryptarum* и *В. lucorum*. В связи с тем, что при идентификации экземпляров шмелей использовался метод генетической диагностики (ПДРФ-анализ), в коллекции появились эталонные образцы этих видов. Несмотря на то, что исследовано ограниченное число экземпляров шмелей (10), можно предварительно рассмотреть их биотопическую приуроченность на территории Пензенской области. *В. terrestris* распространен в регионе достаточно широко (от Каменского до Никольского р-ов) и в различных типах биотопов: на лугах, в лесу, в степи и в населенных пунктах (рис. 1, табл. 1). *В. cryptarum* отмечен в лесу, на остепненных склонах оврага и на степном участке заповедника «Приволжская лесостепь». *В. lucorum* найден на востоке области в Кузнецком р-не в пойме р. Белая, на лугу и в смешанном лесу (урочище «Шалкеев кордон»).

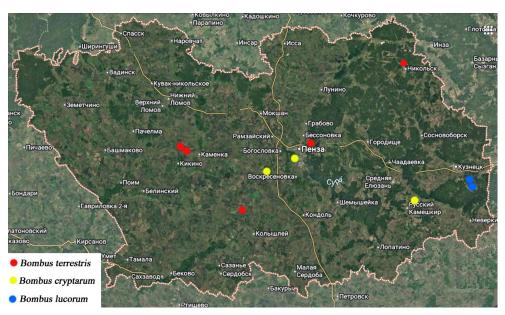


Рис. 1. Карта Пензенской области. Красными точками обозначены находки *Bombus terrestris*, желтыми —  $B.\ cryptarum$ , голубыми —  $B.\ lucorum$ 

На рис. 2 показаны морфологические признаки эталонных по результатам генетического анализа экземпляров B. terrestris, B. cryptarum и B. lucorum — оттенки и выраженность желтых волосков на передней части спинки и втором тергите, а также характер шагреневости центральной части заднего края второго тергита. У B. terrestris (рис. 2, I-5) волоски на передней части спинки яично-желтые, темнее, чем у двух других видов, а у некоторых особей почти исчезают. Второй тергит в центрально-апикальной области гладкий и блестящий. Кутикула нечерепитчатая или очень слабо выражена черепитчатая. У B. cryptarum (рис. 2, 6-8) на передней части спинки полоска светло-желтых волосков широкая. Центрально-апикальная область второго тергита с густой пунктировкой и четко выраженными краями, поскольку обрамлена сильно черепитчатой и матовой кутикулой. У B. lucorum второй тергит в центрально-апикальной области с мелкими, неглубокими и редко расположенными точками, кутикула слегка черепитчатая и матовая, покрыта штриховкой.



Рис. 2. Внешний вид шмелей (вид сбоку) и центральная часть заднего края второго тергита брюшка: *Bombus terrestris* (1-5); *B. cryptarum* (6-8) и *B. lucorum* (9-10)

#### Заключение

В результате проведенного генетического анализа подтверждено обитание в Пензенской области шмелей трех видов — B. terrestris, B. cryptarum и B. lucorum. Описанные морфологические признаки эталонных по результатам генетического анализа экземпляров могут быть использованы при идентификации вновь изучаемых шмелей в коллекции и по результатам натурных исследований.

#### Список литературы

- 1. Scriven J. J., Woodall L. C., Tinsley M. C. [et al.]. Revealing the hidden niches of cryptic bumblebees in Great Britain: Implications for conservation // Biological Conservation. 2015. Vol. 182. P. 126–133. doi: 10.1016/j.biocon.2014.11.027
- 2. Rasmont P., Ghisbain G., Terzo M. Hymenoptera of Europe 3. Bumblebees of Europe and neighbouring regions. Verrières-le-Buisson: N.A.P Editions, 2021. 631 p.
- 3. Bossert S. Recognition and identification of species in the *Bombus lucorum*-complex A review and outlook // Deutsche Entomologische Zeitschrift. 2015. Vol. 62, № 1. P. 19–28. doi: 10.3897/dez.62.9000
- 4. Pamilo P., Tengö J., Rasmont P. [et al.]. Pheromonal and enzyme genetic characteristics of the *Bombus lucorum* species complex in Northern Europe // Entomologica Fennica. 1997. Vol. 7. P. 187–194.

- 5. Murray T. E., Fitzpatrick Ú., Brown M. J. F., Paxton R. J. Cryptic species diversity in a widespread bumble bee complex revealed using mitochondrial DNA RFLPs // Conservation Genetics. 2008. Vol. 9. P. 653–666. doi: 10.1007/s10592-007-9394-z
- 6. Ефремова З. А. Шмели Поволжья: учеб. пособие к спецкурсу. Ульяновск: УГПИ им. И. Н. Ульянова, 1991. 92 с.
- 7. Стойко Т. Г., Аникин С. Н. Коллекция шмелей и шмелей-кукушек (*Bombus*, *Psithyrus*) кафедры зоологии и экологии Пензенского педагогического университета / Фауна и экология животных : межвуз. сб. науч. тр. Пенза : Пенз. гос. пед. ин-т им. В. Г. Белинского, 2002. Вып. 3. С. 48–51.
- 8. Шибаев С. В., Полумордвинов О. А. Обзор фауны перепончатокрылых (Insecta, Hymenoptera) Пензенской области // Известия ПГПУ им. В. Г. Белинского. 2012. № 29. С. 274–279.
- 9. Добролюбова Т. В. Шмели (Hymenoptera: Apidae, Bombini) Пензенской области и роль Государственного заповедника «Приволжская лесостепь» в их охране // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2015. № 2. С. 42–54.
- Левченко Т. В. Материалы по фауне пчел (Hymenoptera: Apoidea) Московской области.
   Семейство Аріdae. Род *Bombus* Latreille, 1802 // Эверсманния. Энтомологические исследования в России и соседних регионах. 2012. Вып. 31–32. С. 72–88.
- 11. Bovykina G. V., Potapov G. S., Kolosova Yu. S., Kondakov A. V. RCR-RFLP approach for identification of cryptic species of *Bombus lucorum*-complex in Northern European Russia // Ecologica Montenegrina. 2024. Vol. 77. P. 132–145. doi: 10.37828/em.2024.77.14
- 12. Bovykina G. V., Potapov G. S., Kolosova Yu. S., Kondakov A. V. The distribution of cryptic species of the *Bombus lucorum*-complex in Russian Eastern Fennoscandia // Ecologica Montenegrina. 2025. Vol. 83. P. 166–174. doi: 10.37828/em.2025.83.17

#### References

- 1. Scriven J.J., Woodall L.C., Tinsley M.C. et al. Revealing the hidden niches of cryptic bumblebees in Great Britain: Implications for conservation. *Biological Conservation*. 2015;182:126–133. doi: 10.1016/j.biocon.2014.11.027
- 2. Rasmont P., Ghisbain G., Terzo M. *Hymenoptera of Europe 3. Bumblebees of Europe and neighbouring regions*. Verrières-le-Buisson: N.A.P Editions, 2021:631.
- 3. Bossert S. Recognition and identification of species in the *Bombus lucorum*-complex A review and outlook. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*. 2015;62(1):19–28. doi: 10.3897/dez.62.9000
- 4. Pamilo P., Tengö J., Rasmont P. et al. Pheromonal and enzyme genetic characteristics of the *Bombus lucorum* species complex in Northern Europe. *Entomologica Fennica*. 1997;7:187–194.
- 5. Murray T.E., Fitzpatrick Ú., Brown M.J.F., Paxton R.J. Cryptic species diversity in a widespread bumble bee complex revealed using mitochondrial DNA RFLPs. *Conservation Genetics*. 2008;9:653–666. doi: 10.1007/s10592-007-9394-z
- 6. Efremova Z.A. Shmeli Povolzh'ya: ucheb. posobie k spetskursu = Bumblebees of the Volga region: textbook. manual for the special course. Ul'yanovsk: UGPI im. I.N. Ul'yanova, 1991:92. (In Russ.)
- 7. Stoyko T.G., Anikin S.N. Kollektsiya shmeley i shmeley-kukushek (Bombus, Psithyrus) kafedry zoologii i ekologii Penzenskogo pedagogicheskogo universiteta / Fauna i ekologiya zhivotnykh: mezhvuz. sb. nauch. tr. = Collection of bumblebees and cuckoo bumblebees (Bombus, Psitnorus) of the Department of Zoology and Ecology of Penza Pedagogical University/ Fauna and ecology of animals: intercollegiate proceedings. Penza: Penz. gos. ped. in-t im. V.G. Belinskogo, 2002;(3):48–51. (In Russ.)
- 8. Shibaev S.V., Polumordvinov O.A. Review of the Hymenoptera Fauna (Insecta, Hymenoptera) of Penza region. *Izvestiya PGPU im. V.G. Belinskogo* = Proceedings of Penza State Pedagogical University named after V.G. Belinskiy. 2012;(29):274–279. (In Russ.)

- 9. Dobrolyubova T.V. Bumblebees (Hymenoptera: Apidae, Bombini) of Penza region and the role of the State Nature Reserve "Privolzhskaya Lesostep" in their protection. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki* = University proceedings. Volga region. Natural sciences. 2015;(2):42–54. (In Russ.)
- Levchenko T.V. Materials on the fauna of bees (Hymenoptera: Apoidea) of Moscow region.
   Apidae. Class Bombus Latreille, 1802. Eversmanniya. Entomologicheskie issledovaniya v Rossii i sosednikh regionakh = Eversmannia. Entomological research in Russia and neighboring regions. 2012;(31–32):72–88. (In Russ.)
- Bovykina G.V., Potapov G.S., Kolosova Yu.S., Kondakov A.V. RCR-RFLP approach for identification of cryptic species of *Bombus lucorum*-complex in Northern European Russia. *Ecologica Montenegrina*. 2024;77:132–145. doi: 10.37828/em.2024.77.14
- 12. Bovykina G.V., Potapov G.S., Kolosova Yu.S., Kondakov A.V. The distribution of cryptic species of the *Bombus lucorum*-complex in Russian Eastern Fennoscandia. *Ecologica Montenegrina*. 2025;83:166–174. doi: 10.37828/em.2025.83.17

#### Информация об авторах / Information about the authors

#### Григорий Сергеевич Потапов

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии популяций и сообществ,

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н. П. Лаверова УрО РАН (Россия, г. Архангельск, пр-т Никольский, 20) E-mail: grigorij-potapov@yandex.ru

#### Галина Владимировна Бовыкина

младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н. П. Лаверова УрО РАН (Россия, г. Архангельск, пр-т Никольский, 20) E-mail: galka.bovickina@gmail.com

#### Олег Александрович Полумордвинов

старший лаборант, лектор музея, кафедра зоологии и экологии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40) E-mail: entomol-penza@yandex.ru

#### Тамара Григорьевна Стойко

кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры зоологии и экологии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40) E-mail: tgstojko@mail.ru

#### Grigory S. Potapov

Candidate of biological sciences, leading researcher of the laboratory of ecology of populations and communities, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, (20 Nikolskiy avenue, Arkhangelsk, Russia)

#### Galina V. Bovykina

Junior researcher, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, (20 Nikolskiy avenue, Arkhangelsk, Russia)

#### Oleg A. Polumordvinov

Senior laboratory assistant, museum lecturer, sub-department of zoology and ecology, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

### Tamara G. Stojko

Candidate of biological sciences, associate professor, associate professor of the sub-department of zoology and ecology, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia) Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 05.04.2025

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 28.04.2025

Принята к публикации / Accepted 07.05.2025