

Т.М. Брагина^{1, 2*}, Д.Т. Конысбаева³, М.М. Рулёва¹, М.А. Бобренко¹

¹Костанайский региональный университет им. А. Байтурсынова, Казахстан;

²Азово-Черноморский филиал ФГБНУ ВНИРО («АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Россия;

³Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, Нур-Султан, Казахстан

*Автор для корреспонденции: tm_bragina@mail.ru

Уточнение видовой принадлежности некоторых видов щелкунов (*Coleoptera: Elateridae*) на основе молекулярно-генетического анализа

В статье приведены сведения об апробации современных методов и уточнений видовой принадлежности почвообитающих личинок щелкунов (проволочников) на основе молекулярно-генетического анализа (ДНК-баркодирования). Впервые получены данные по полной идентичности определенных ДНК-последовательностей ряда видов щелкунов (*Coleoptera: Elateridae*), обитающих на территории Костанайской области (Казахстан), — опасных вредителей сельскохозяйственных культур. В то же время в мировом генетическом банке (GenBank) не обнаружены идентичные ДНК-последовательности расшифрованных нуклеотидных последовательностей ДНК для ряда изученных экземпляров. Основой для настоящего исследования послужили материалы, собранные в 2018 г. в подзоне обыкновенных черноземов на супесчаных почвах (Мендыкаринский район). Отбор личинок проводился методом стандартных почвенно-зоологических проб. Фиксация и хранение отобранных личинок щелкунов осуществлялись по методике подготовки образцов для молекулярно-генетического анализа с фиксацией в 96 %-ном спирте. После традиционного определения таксономического положения собранных экземпляров идентификация видов происходила методами генетического анализа по нуклеотидной последовательности гена субъединицы I цитохром С оксидазы (COI). Работы были проведены в ДНК-лаборатории Музея естественной истории Университета г. Осло (Норвегия). Сборка и расшифровка нуклеотидных последовательностей ДНК исследуемых образцов велись с помощью программ «CodonCodeAligner» и «MEGA-X». В результате исследований удалось выявить полную идентичность ДНК-последовательностей нескольких массовых видов щелкунов, тогда как ряд расшифрованных ДНК-последовательностей модельных экземпляров отсутствовал в генетическом банке, что требует пополнения его новыми данными.

Ключевые слова: щелкуны, жесткокрылые, личинки, вредители, генетический анализ, ДНК-баркодирование, Костанайская область, Казахстан.

Введение

Развитие молекулярно-генетических методов изучения живой биоты ставит задачи пополнения генетического банка и данных о биологическом разнообразии. Несомненный интерес представляет изучение ДНК-последовательностей важных в научном и практическом отношении видов. Щелкуны (*Coleoptera, Elateridae*) — семейство жесткокрылых, включающее в мировой фауне более 12000 видов [1]. Почвообитающие личинки многих видов щелкунов с твердыми покровами известны под названием проволочники. Они повреждают подземные части сельскохозяйственных и древесных культур. Другие виды щелкунов играют существенную роль в жизни экосистем в роли деструкторов растительных остатков, ксилофагов, некрофагов или хищников, регулирующих численность беспозвоночных [2–6].

Данные о фауне, экологии и распространении щелкунов Казахстана приводятся в работах Е.Л. Гурьевой, Г.Г. Джилкебаевой, Г.Ж. Ормановой, Н.Г. Скопина, Р.С. Тугушевой и других исследователей [5–9]. Сведения по фауне щелкунов Костанайской области имеются в ряде работ Т.М. Брагиной [10–13]. В составе фауны щелкунов, личинки которых обитают в почве, зарегистрировано 15 видов из 8 родов [11–14].

Целью данной работы было апробирование методов молекулярной идентификации насекомых, которые позволяют определить принадлежность тестируемых образцов к определенному таксону с помощью коротких генетических маркеров в ДНК, называемых штрих-кодированием ДНК. Штриховое кодирование применительно к идентификации зоологических объектов показывает, что митохон-

дриальная геноцитохромоксидаза I (ИСП) может служить ядром глобальной системы биологической идентификации животных [15].

Методы и материалы

Для генетического анализа было отобрано 16 личинок шелкоунов из различных по экологическим условиям и уровню хозяйственного освоения модельных участков на территории Мендыкаринского района Костанайской области: (подзона обыкновенных черноземов, супеси): 1) залежь 5 лет; 2) залежь 32 года; 3) пшеничное поле; 4) целинный степной участок. Отбор личинок проводился методом стандартных почвенно-зоологических проб [16]. После изъятия из почвы личинки помещались в 96 %-ный этиловый спирт. После двух-трех замен фиксирующей жидкости этикетированные образцы были помещены в морозильную камеру. Генетический анализ проводился методом ДНК-баркодирования в лаборатории Музея естественной истории Университета г. Осло (Норвегия). Для подготовки образцов и молекулярно-генетического анализа было выполнено семь последовательных этапов: 1) морфологическая идентификация видов; 2) экстракция ДНК, часть 1; 3) экстракция ДНК, часть 2; 4) ПЦР, Taq-полимераза; 5) гель-электрофорез; 6) очистка; 7) подготовка образцов для секвенирования в StarSEQ. Таксоны приводятся по классификации, принятой в Зоологическом институте РАН [11]. Сборка и расшифровка нуклеотидных последовательностей ДНК исследуемых образцов проводились с помощью программ «CodonCodeAligner» и «MEGA-X». Более подробно методика проведения генетического анализа описана в ранее опубликованных материалах [14].

Результаты и обсуждение

Из образцов от 16 собранных экземпляров личинок шелкоунов (проволочников) методом генетического анализа было идентифицировано 3 вида шелкоунов, являющихся типичными обитателями степной зоны: *Selatosomus latus* (3 экз.), *Agriotes sputator* (1 экз.), *Hemicrepidius niger* (2 экз.). Краткое описание подтвержденных видов приведено ниже:

1. *Selatosomus (Selatosomus) latus* (Fabricius, 1801) — Широкий шелкоун.

Материал: Костанайская область, Мендыкаринский район, залежь 5 лет, 28.V.2018, 1 экз.; Костанайская область, Мендыкаринский район, пшеничное поле, 22.V.2018, 1 экз.; Костанайская область, Мендыкаринский район, целина, 27.V.2018, 1 экз.

Широко распространен в равнинной части Казахстана (кроме пустынь), заходит в горные степи. На Севере Казахстана отмечается повсеместно. В лесостепи обитает в открытых биотопах; в степях как в открытых местообитаниях с наиболее благоприятным режимом увлажнения, так и под пологом древесной растительности. Зона наибольшей вредоносности — степные и сухостепные районы Западно-Казахстанской, Костанайской, Акмолинской, Павлодарской, Карагандинской, Восточно-Казахстанской областей (повреждает самые разные культуры, особенно кукурузу, ячмень, пшеницу, картофель).

2. *Agriotes (Agriotes) lineatus* (Linnaeus, 1758) — Посевной полосатый шелкоун.

Материал: Костанайская область, Мендыкаринский район, залежь 5 лет, 28.V.2018, 1 экз.

Обитает в лесостепной и степной зонах, а также в горных степях Казахстана. Массовый вредитель на пашне. Повреждает многие сельскохозяйственные культуры — полевые, хлебные, огородные, многолетние травы, семена, всходы, а также молодые саженцы в садах.

3. *Hemicrepidius niger* (Linnaeus, 1758) = *Athous niger* (Linnaeus, 1758) — Черный шелкоун.

Материал: Костанайская область, Мендыкаринский район, залежь 30 лет, 25.V.2018, 1 экз.; Костанайская область, Мендыкаринский район, целина, 27.V.2018, 1 экз.

Распространен преимущественно в лесной и лесостепной зонах Северной и Центральной Европы, в Европейской части стран СНГ (кроме Крайнего Севера и юга), Западной Сибири (до лесотундры), встречается на севере Казахстана. Личинки всеядные, часто наносят вред сельскохозяйственным культурам.

Идентификация шелкоунов по личинкам осуществлялась по нуклеотидной последовательности гена субъединицы I цитохром С оксидазы (COI). Следует заметить, что ген COI кодируется митохондриальной молекулой ДНК (мтДНК). Результаты секвенирования материала были подвергнуты биоинформатическому анализу, в ходе которого нуклеотидная последовательность ДНК, полученная в процессе секвенирования, сравнивалась с различными нуклеотидными последовательностями ДНК, хранящимися в международных базах данных (Генбанке) [16] (см. табл.). При совпадении нуклео-

тидной последовательности анализируемого вида с видом, внесенным в базу Генбанка, подтверждается вид живого организма.

По девяти экземплярам не были найдены совпадения с ДНК-последовательностями в генетическом банке. Это, вероятно, указывает на отсутствие расшифрованных генетических последовательностей проанализированных видов в базе данных мирового Генетического банка, что требует дальнейших исследований и регистрации идентифицированных видов. Материалы только одного экземпляра не были расшифрованы и ДНК-последовательности не получены (см. табл.).

Т а б л и ц а

Виды шелкоунов и опорные последовательности (GenBank)

№ п/п	Дата сбора	Название вида	Длина последовательности (bp)	Данные опорной последовательности (GenBank)		
				LOCUS	Длина (bp)	Авторы
1	28.05.2018	<i>Selatosomus latus</i> F.	673	MG230720	658	Douglas H.B., Kundrata R., Janosikova D. and Bocak L.
2	22.05.2018	<i>Selatosomus latus</i> F.	657			
3	27.05.2018	<i>Selatosomus latus</i> F.	658			
4	25.05.2018	<i>Hemicrepidius niger</i> L.	471	KM447295	594	Hendrich L., Moriniere J., Haszprunar, G., Hebert P.D., Hausmann A., Kohler F. and Balke M.
5	27.05.2018	<i>Hemicrepidius niger</i> L.	661	KU914016	658	Rulik B. and Ahrens D.
6	28.05.2018	<i>Agriotes lineatus</i> L.	658	CV160923	695	Hughes J., Longhorn S.J., Papadopoulou A., Theodorides K., de Riva A., Meijia-Chang M., Foster P.G. and Vogler A.P.

Было показано, что для ДНК-баркодирования достаточно малого количества биоматериала для подтверждения точности определения вида (двух одинаковых последовательностей не существует, ошибка исключена). Из недостатков молекулярно-генетических методов следует указать на дорогую стоимость проведения анализа и отсутствие данных в Генбанке по отдельным видам, как, например, по целому ряду проанализированных видов.

Заключение

На основе методов молекулярно-генетического анализа (ДНК-штрихкодирование) были получены данные по полной идентичности ДНК-последовательностей трех видов шелкоунов, обитающих на территории Костанайской области (Казахстан): *Selatosomus (Selatosomus) latus* (Fabricius, 1801), *Agriotes (Agriotes) lineatus* (Linnaeus, 1758) и *Hemicrepidius niger* (Linnaeus, 1758), личинки которых являются опасными вредителями сельскохозяйственных культур. Нуклеотидная последовательность ДНК девяти экземпляров шелкоунов расшифрована, но идентичные ДНК-последовательности в имеющейся базе данных не обнаружены. Это указывает на отсутствие информации по данным видам, что требует дальнейших исследований и пополнения базы в мировом Генбанке. Наиболее продуктивным является сочетание сравнительно-морфологических методов изучения биологического разнообразия и молекулярно-генетических исследований и расшифровка полного генома организмов.

Благодарность

Авторы благодарят всех лиц, оказавших помощь при выполнении полевых исследований и обработке материалов. Данное исследование проводилось в ходе выполнения инициативной научно-исследовательской работы «Оценка влияния землепользования и изменений климата на сообщества почвенных беспозвоночных (мезофауна)» (зарегистрирована в АО НЦГНТЭ, № 0119РКИ0195) и выполнения международного научного проекта «Инновации для устойчивого использования сельскохозяйственных ресурсов и адаптации климата в засушливых степях Казахстана и Юго-Западной Сибири (ReKKS)». Работы по ДНК-баркодированию насекомых проходили в молекулярно-генетической лаборатории Музея естественной истории Университета г. Осло (Норвегия) в период научной стажировки авторов (01.02. – 15.02.2019 г.) в рамках проекта «Training the new generation of entomologists in

DNA-based molecular and genomic methods — international network (EntoMol)» (№ проекта CREA-2015/10069).

Список литературы

- 1 Tarnawski D. A world catalogue of *Ctenicerini* Fleutiaux, 1936 (*Coleoptera: Elateridae: Athoinae*) / D. Tarnawski // Genus. Wrocław. — 1996. — Vol. 7, No. 4. — P. 587–663.
- 2 Агроэкологический атлас России и сопредельных территорий: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения [Электронный ресурс]. — 2008. — Режим доступа: <http://www.agroatlas.ru> (дата обращения: 06.04.2020).
- 3 Гурьева Е.Л. Щелкуны / Е.Л. Гурьева // Биоконплексные исследования в Казахстане. — Л.: Наука, 1969. — Ч. 1. — С. 396–398.
- 4 Джилкибаева Г.Г. Материалы к изучению щелкунов и их биологии в Алма-Атинской области / Г.Г. Джилкибаева // Изв. АН КазССР. Сер. зоол. — 1950. — Вып. 9. — С. 103–107.
- 5 Долин В.Г. Определитель личинок жуков-щелкунов фауны СССР / В.Г. Долин. — Киев: Урожай, 1978. — 126 с.
- 6 Скопин Н.Г. Хрущи, проволочники и ложнопроволочники целинных земель севера Акмолинской области / Н.Г. Скопин // Тр. Ин-та зоол. АН КазССР. — 1958. — Т. VIII. — С. 138–145.
- 7 Орманова Г.Ж. Таксономический состав жуков-щелкунов (*Coleoptera, Elateridae*) Казахстана / Г.Ж. Орманова // Фауна Казахстана и сопредельных стран на рубеже веков: материалы Междунар. конф. — Алматы: КазНУ, 2004. — С. 177, 178.
- 8 Орманова Г.Ж. Экология фоновых видов жуков-щелкунов (*Coleoptera, Elateridae*) Казахстана / Г.Ж. Орманова // Вестн. КазНУ. Сер. экол. — 2009. — № (26). — С. 40–44.
- 9 Тугушева Р.С. Предварительные данные по фауне щелкунов (*Coleoptera, Elateridae*) Казахстана / Р.С. Тугушева // Тр. Ин-та зоол. АН КазССР. — 1968. — Т. 30. — С. 149–156.
- 10 Брагина Т.М. Анализ биологического разнообразия степей Наурзумского заповедника на примере фауны почвенных беспозвоночных / Т.М. Брагина // Вопросы степеведения. — 2005. — Т. 5. — С. 46–53.
- 11 Брагина Т.М. Фауна и распределение щелкунов (*Coleoptera, Elateridae*) в экосистемах Наурзумского заповедника / Т.М. Брагина // КМПИ жаршысы. — 2012. — № 3 (27). — С. 85–88.
- 12 Брагина Т.М. Население щелкунов (*Coleoptera: Elateridae*) почвенно-подстилочного яруса природных экосистем Северного Тургая / Т.М. Брагина // XVII Всерос. совещ. по почвенной зоологии: материалы Междунар. конф. — Сыктывкар; М., 2014. — С. 39–41.
- 13 Брагина Т.М. Природные условия и животный мир государственного природного резервата «Алтын Дала» / Т.М. Брагина, Е.А. Брагин. — Костанай: Костанайполиграфия, 2017. — 236 с.
- 14 Bragina T.M. The experience in application of molecular genetics methods for insects species identification / T.M. Bragina, M.A. Bobrenko, M.M. Rulyova // КМПИ жаршысы. — 2020. — № 2 (58) — С. 61–67.
- 15 Hebert P.D.N. Biological identifications through DNA barcodes / P.D.N. Hebert, A. Cywinska, S.L. Ball, J.R. de Waard // Proc. R. Soc. — 2003. — Vol. 270. — P. 313–322.
- 16 Сайт Зоологического института РАН. Жуки [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.zin.ru/ANIMALIA/COLEOPTERA> (дата обращения: 01.06.2020).

Т.М. Брагина, Д.Т. Конысбаева, М.М. Рулёва, М.А. Бобренко

Молекулалық-генетикалық талдау негізінде шыртылдақтардың (*Coleoptera: Elateridae*) кейбір түрлерінің түрлік тиістілігін анықтау

Мақалада молекулярлық-генетикалық талдау (ДНҚ-баркодтау) негізінде топырақта тіршілік ететін шыртылдақтар (ызылдауық коңыздар) дернәсілдерінің түрлік тиістілігін нақтылау және заманауи әдістерді апробациялау туралы мәліметтер келтірілген. Алғаш рет Қостанай облысының (Қазақстан) аумағында мекендейтін ауыл шаруашылығы дақылдарының қауіпті зиянкестері — шыртылдақтардың (*Coleoptera: Elateridae*) бірқатар түрлерінің белгілі ДНҚ-тізбегінің толық сәйкестігі бойынша деректер алынды. Сонымен бірге, әлемдік генетикалық банкте (GenBank) зерттелген бірқатар үлгілер үшін ДНҚ-ның декодталған нуклеотид тізбегінің бірдей ДНҚ тізбегі табылған жоқ. Бұл зерттеудің негізі 2018 жылы құмды сазды топырақтардағы кәдімгі кара топырақтар аймағында жиналған материалдар болды (Мендіқара ауданы). Дернәсілдерді іріктеу стандартты топырақ-зоологиялық үлгілер әдісімен жүргізілді. Шыртылдақтардың таңдалған дернәсілдерін бекіту және сақтау молекулалық-генетикалық талдау үшін үлгілерді дайындау әдісі бойынша 96 %-дық спиртке бекіту арқылы жүргізілді. Жиналған даналардың таксономиялық жағдайын дәстүрлі түрде анықтағаннан кейін түрлерді сәйкестендіру цитохром С оксидазасы I суббірлік генинің нуклеотидтік реттілігі (COI) бойынша генетикалық талдау әдістерімен жүзеге асырылды. Жұмыстар табиғи тарих мұражайының (Осло университеті, Норвегия) ДНҚ зертханасында жүргізілді. Зерттелетін үлгілердің ДНҚ нуклеотидтік тізбегін құрастыру және декодтау «CodonCodeAligner» және «MEGA-X» бағдарламалары арқылы жүргізілді. Зерттеулер

нәтижесінде, шыртылдақтардың бірнеше көпшілік түрлерінің ДНҚ-тізбектілігінің толық сәйкестілігін анықтауға мүмкіндік туды, алайда модельдік даналардың шифрленген ДНҚ тізбектілігінің бірқатары генбанкте болған жоқ, бұл, өз кезегінде, оны жаңа деректермен толықтыруды талап етеді.

Кілт сөздер: шыртылдақтар, қатты қанаттылар, дернәсілдер, зиянкестер, генетикалық талдау, ДНҚ-баркодтау, Қостанай облысы, Қазақстан.

T.M. Bragina, D.T. Konysbayeva, M.M. Rulyova, M.A. Bobrenko

The refinement of species affiliation of some click beetles (Coleoptera: Elateridae) based on the molecular genetic analysis

The article is devoted to data on the approbation of modern methods and the refinement of species affiliation of soil-inhabiting larvae of click beetles (wireworm) based on the molecular genetic analysis (DNA-barcoding). For the first time, data obtained on the complete identity of certain DNA sequences of a number of species of click beetles living in the Kostanay Region (Kazakhstan) — dangerous pests of agricultural crops. At the same time, the World genetic bank (GenBank) did not find identical DNA sequences of decoded DNA nucleotide sequences for a number of studied specimens. The basis for this study was the materials collected in 2018 in the subzone of ordinary black earth on sandy loam soils (Mendykarsky district). The selection of larvae was carried out by the method of standard soil-zoological samples. The fixation and storage of the selected click beetles larvae was carried out according to the method of preparing samples for molecular genetic analysis with fixation in 96 % alcohol. After the classic identification of the taxonomic position of the collected specimens, the species were identified by genetic analysis on the nucleotide sequence of the cytochrome C oxidase I subunit gene (COI). The assembly and decoding of the DNA nucleotide sequences of the studied samples were carried out using the programs «Codon Code Aligner» and «MEGA-X». As a result of the work carried out in the DNA laboratory of the Museum of Natural History (University of Oslo, Norway), it was possible to identify the complete identity of the DNA sequences of several mass species of click beetles, while a number of decoded DNA sequences of model specimens were absent in the genetic bank, which requires replenishment in it with new data.

Keywords: click beetles, coleopterans, larvae, pests, genetic analysis, DNA-barcoding, Kostanay Region, Kazakhstan.

References

- 1 Tarnawski, D. (1996). A World catalogue of *Ctenicerini* Fleutiaux, 1936 (Coleoptera: Elateridae: Athoinae). *Genus. Wrocław*, 7(4), 587–663.
- 2 Ahrokolohicheskii atlas Rossii i sopredelnykh territorii: ekonomicheski znachimye rasteniia, ikh bolezni, vrediteli i sornye rasteniia [Agroecological atlas of Russia and adjacent territories: economically significant plants, their diseases, pests and weeds] (2008). *www.agroatlas.ru* Retrieved from: <http://www.agroatlas.ru> [in Russian].
- 3 Guryeva, Ye.L. (1969). Shchelkuny [Shchelkuns]. *Biokompleksnye issledovaniia v Kazakhstane — Biocomplex study in Kazakhstan*. Leningrad: Nauka [in Russian].
- 4 Dzhilkibayeva, G.G. (1950). Materialy k izucheniiu shchelkunov i ikh biolohii v Alma-Atinskoi oblasti [Materials to the study shchelkuns and their biology in Alma-Ata region]. *Izvestiia AN KazSSR. Seriiia zoolohicheskaiia — Bulletin of KazSSR. Series zoological*, 1, 103–107 [in Russian].
- 5 Dolin, V.G. (1978). *Opredelitel lichinok zhukov-shchelkunov fauny SSSR [Determinant of nags-shelkuns of fauna of USSR]*. Kiev: Urozhai [in Russian].
- 6 Skopin, N.G. (1958). Khrushchi, provolochniki i lozhnoprovolochniki tselinnykh zemel severa Akmolinskoi oblasti [The beetles, wireworms and monopropellant virgin lands of the North of Akmola region]. *Trudy Instituta zoolohii AN KazSSR — Bulletin of Institute of Zoology of AS KazSSR*, 8, 138–145 [in Russian].
- 7 Ormanova, G.Zh. (2004). Taksonomicheskii sostav zhukov-shchelkunov (Coleoptera, Elateridae) Kazakhstana [Taxonomic composition of click beetles (Coleoptera, Elateridae) of Kazakhstan]. Proceedings from Fauna of Kazakhstan and adjacent countries on the borders of century: *Mezhdunarodnaia konferentsiia — International conference*. (p. 177, 178). Almaty: al-Farabi KazNU [in Russian].
- 8 Ormanova, G.Zh. (2009). Ekolohiia fonovykh vidov zhukov-shchelkunov (Coleoptera, Elateridae) Kazakhstana [Ecology of background species of click beetles (Coleoptera, Elateridae) of Kazakhstan]. *Vestnik Kazakhskoho natsionalnogo universiteta. Seriiia ecolohicheskaiia — Bulletin of KazNU. Series ecological*, 26, 40–44 [in Russian].
- 9 Tugusheva, R.S. Predvaritelnye dannye po faune shchelkunov (Coleoptera, Elateridae) Kazakhstana [Preliminary data on the fauna of click beetles (Coleoptera, Elateridae) of Kazakhstan]. *Trudy Instituta zoolohii AN KazSSR — Materials of Institute of Zoology*, 30, 149–156 [in Russian].
- 10 Bragina, T.M. (2005). Analiz biolohicheskoho raznoobraziiia stepei Naurzumskoho zapovednika na primere fauny pochvennykh bespozvonochnykh [Analysis of the biological diversity of the steppes of the Naurzum reserve on the example of the fauna of soil invertebrates]. *Voprosy stepovedeniia — Questions of steppe study*, 5, 46–53 [in Russian].

- 11 Bragina, T.M. (2012). Fauna i raspredelenie shchelkunov (*Coleoptera, Elateridae*) v ekosistemakh Naurzumskoĥo zapovednika [Fauna and distribution of nutcrackers (*Coleoptera, Elateridae*) in ecological systems of Naurzum reserve]. *KMPI zharshysy — Bulletin of KSPI*, 3 (27), 85–88 [in Russian].
- 12 Bragina, T.M. (2014). Naselenie shchelkunov (*Coleoptera: Elateridae*) pochvenno-podstilochnoĥo yarusy prirodnykh ekosistem Severnoĥo Turĥaia [The population of beetles (*Coleoptera: Elateridae*) of the soil-litter layer of the natural ecosystems of the Northern Turgay]. Proceedings from XVII All-Russian Meeting on soil zoology: *Mezhdunarodnaia konferentsiia — International conference*. Syktyvkar, Moscow (p. 39–41) [in Russian].
- 13 Bragina, T.M., & Bragin, Ye.A. (2017). *Prirodnye uslovia i zhivotnyi mir ĥosudarstvennoĥo prirodnogo rezervata «Altyn Dala»* [Natural conditions and animal world of natural reserve area Altyn Dala]. Kostanay: Kostanaipolihrafiia [in Russian].
- 14 Bragina, T.M., Bobrenko, M.A., & Rulyova, M.M. (2020). The experience in application of molecular genetic methods for insect species identification. *KMPI zharshysy — Bulletin of KSPI*, 2 (58), 61–67.
- 15 Hebert, P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., & de Waard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc.*, 270, 313–322.
- 16 Sait Zoolohicheskoho instituta RAN. Zhuki [Web Site of Zoological Institute of RAS. Beetles] (2020). www.zin.ru retrieved from <https://www.zin.ru/ANIMALIA/COLEOPTERA> [in Russian].