

УДК 582.594.2, 581.[95+91], 577.212.3

УТОЧНЕНИЕ СЕВЕРНОЙ ГРАНИЦЫ АРЕАЛА *DACTYLORHIZA BALTICA* (KLINGE) ORLOVA (ORCHIDACEAE)

Т.И. Варлыгина¹, Г.В. Дегтярева², С.В. Ефимов³, Т.Х. Самигуллин⁴,
Е.И. Терентьева⁵

В г. Мурманск в 2016 г. были найдены и обследованы локальные популяции *Dactylorhiza baltica* и *D. maculata*. Поскольку *D. baltica* относится к сложным гибридогенным видам и никогда ранее для Мурманской обл. не указывалась, то для подтверждения находки традиционное определение вида по морфологическим признакам использовано нами в сочетании с молекулярным анализом внутренних транстрибуемых спейсеров (ITS 1,2) участка 18S – 26S ядерной рибосомной ДНК. В построенных молекулярно-филогенетических деревьях образцы *D. baltica* формируют отдельный высоко поддержанный кластер. Полученные с помощью молекулярных методов результаты подтвердили, что в г. Мурманск нами обнаружено самое северное для европейской части России местонахождение *D. baltica*.

Ключевые слова: *Dactylorhiza*, Orchidaceae, Мурманская область, филогения, ITS.

В настоящее время в роде *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski (сем. Orchidaceae) идут процессы активного видообразования (Аверьянов, 1979; Pillon et al., 2006; Devos et al., 2006; Shipunov, Efimov, 2015; Филиппов, Андропова, 2017) с выраженной экологической и географической изменчивостью. Род насчитывает около 50–70 видов, распространенных в странах с умеренным и бореальным климатом. Центром биоразнообразия рода *Dactylorhiza* является Западная Европа, и по мере продвижения на восток число видов этого рода сокращается. Большинство видов общепризнаны (Невский, 1935; Аверьянов, 2000; Vermeulen и др., 1947), однако их объем не всегда одинаков в понимании разных авторов, а определение порой вызывает значительные трудности из-за наличия растений, имеющих промежуточные морфологические признаки.

Виды рода *Dactylorhiza* из секции *Dactylorhiza* часто скрещиваются между собой, образуя многочисленные гибриды. Считают, что *Dactylorhiza baltica* (Klinge) Orlova представляет собой стабилизированный гибридогенный вид. Одни авторы полагают, что *D. baltica* происходит от гибриди-

зации *D. fuchsii* (Druce) Soó × *D. majalis* (Rchb.) Rauschert (Цвелёв, 2000), другие исследователи на основе изучения генетического полиморфизма (Ефимов, 2012) или использования молекулярных методов (Shipunov et al., 2005) отмечают гибридогенное происхождение *D. baltica* от другой пары видов *D. fuchsii* × *D. incarnata* (L.) Soó.

Ареал *D. baltica* на территории России состоит из двух частей, расположенных в Европейской России (Смолянинова, 1976) и в Сибири (Иванова, 1987), хотя есть мнение, что в Сибири этот вид отсутствует (Куликов, Филиппов, 1999). В любом случае азиатская часть ареала нуждается в проверке (Вахрамеева и др., 2014). В Европейской России вид распространен преимущественно в лесной зоне от самых западных регионов до Южного Урала. Северная граница ареала вида в европейской части проходит по Ленинградской, Вологодской и Архангельской областям (Вахрамеева и др., 2014). Для Мурманской обл. вид ранее не указывался (Флора Мурманской области, 1954; Красная книга Мурманской области, 2014). Найденное нами местонахождение *D. baltica* расположено значительно севернее основного ареала вида, за полярным

¹ Варлыгина Татьяна Ивановна – ст. науч. сотр. Ботанического сада Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (tat-varlygina@yandex.ru); ² Дегтярева Галина Викторовна – вед. науч. сотр. Ботанического сада Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (degavi@mail.ru); ³ Ефимов Сергей Владимирович – ст. науч. сотр. Ботанического сада Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (efimov-msu@yandex.ru); ⁴ Самигуллин Тагир Халафович – ст. науч. сотр. НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского (tagrai@mail.ru); ⁵ Терентьева Елена Игоревна – ст. науч. сотр. Ботанического сада Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (el.terenteva@mail.ru).

кругом. *D. baltica* занесена в Красную книгу РФ (2008).

В данной работе для уточнения таксономического статуса видов рода *Dactylorhiza*, найденных в ходе экспедиции по Мурманской обл. (2016 г.), был использован традиционный анализ морфологических признаков в сочетании с молекулярными методами.

Материалы и методы

Растительный материал *D. baltica* собран летом 2016 г. в г. Мурманск.

В исследуемой популяции были взяты фрагменты вегетативных и генеративных частей растений для молекулярных исследований в целях уточнения их таксономического статуса. В анализ были также включены гербарные образцы, хранящиеся в гербариях MW и МНА (Приложение). Для молекулярно-филогенетического анализа нами были определены ядерные последовательности межгенного участка (ITS1-5,8S-ITS2) транскрибируемого рибосомного оперона, так как уровень его эволюционной изменчивости попадает в рамки, подходящие для идентификации таксонов и установления родственных отношений на уровне родов и видов (Baldwin et al., 1995; Cheng et al., 2016). Выделение ДНК, амплификация и секвенирование участка (ITS1-5,8S-ITS2) проводили согласно методике, описанной в работе Valiejo-Roman et al. (2002). Полученные амплификаты были просеквенированы с двух цепей. При просмотре хроматограмм участка (ITS1-5,8S-ITS2) в программе (Chromas Lite 2.3) у анализируемых видов не было отмечено двойных пиков и расхождений при прочтении нуклеотидных последовательностей, просеквенированных с прямого и обратного праймеров.

Вновь полученные нуклеотидные последовательности видов рода *Dactylorhiza* аннотированы в GenBank (Приложение).

Все ITS-последовательности анализируемых видов выравнивали в программе MUSCLE (Edgar, 2004). Просмотр результатов выравнивания нуклеотидных последовательностей и последующую ручную доработку выполняли в программе BioEdit version 5.0.9. (Hall, 1999). Набор из 42 выравненных нуклеотидных последовательностей ITS 1,2 ярдНК содержит 642 позиции, из которых 576 – консервативные, 36 – парсимонно-информативные и 30 – парсимонно-неинформативные. Молекулярно-филогенетические деревья были построены по ITS-последовательностям двумя способами – методом Mr. Bayes 3.1 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003) и методом максимальной экономии PAUP* 4.0b8 (Swofford, 2003). Полученные

топологии деревьев не идентичны, но конгруэнтны в основных узлах. В статье мы приводим строгое консенсусное молекулярно-филогенетическое дерево, построенное методом максимальной экономии (рис. 1).

Результаты и обсуждение

Летом 2016 г. в рамках проекта «Ковчег» сотрудниками ботанического сада и биологического факультета МГУ проведена экспедиция по изучению редких видов растений Мурманской обл. (сем. Orchidaceae). В г. Мурманск 7 июля на склоне холма от Спасо-Преображенского собора в сторону Семёновского озера на сыром злаково-разнотравном лугу были найдены и обследованы локальные популяции двух видов: *Dactylorhiza baltica*, которая впервые обнаружена в Мурманской обл. (7.VII 2016, Варлыгина Т.И., Дегтярева Г.В., Ефимов С.В., Терентьева Е.И.) (рис. 2), а также *D. maculata* (L.) Soó. Ближайшие находки пальчатокоренника балтийского отмечены значительно южнее – в Ленинградской, Вологодской и Архангельской областях (Вахрамеева и др., 2014). В последнее десятилетие отмечено расширение ареала этого вида в европейской части России, в том числе и в северных регионах – находки в Архангельской обл. и на юге Республики Карелия (Ефимов, 2018). На севере Мурманской обл. встречается только один из родительских видов (*D. fuchsii*), а *D. incarnata* отсутствует, поэтому образование здесь спонтанного гибрида представляется маловероятным. Поскольку семена орхидных очень мелкие, пылевидные, то более вероятен, по нашему мнению, занос семян ветром или на оперении перелетных птиц.

Фрагмент популяции *D. baltica*, обнаруженный нами на холме, насчитывал 10 особей (8 генеративных в фазе цветения и две имматурные). Растения встречались рассеянно по 1–3 экз. Молодые особи располагались вблизи генеративных. Основная часть популяции этого вида была обнаружена на сыром разнотравном лугу вдоль ручья, протекающего у подножья холма, на котором стоит храм. Обследовать ее нам не представилось возможным.

Растения были определены нами по морфологическим признакам, в том числе по тем признакам, которые не учтены в работе (Shipunov и др., 2005) – наличие полого стебля, форма губы цветка и форма пятен на листьях. У найденных нами генеративных особей высота растений достигала 200–470 мм. Они имели длину соцветия 50–80 мм, длину листа 140–175 мм, ширину листа 35–40 мм, длину шпорца 6–7 мм, длину губы 6–9 мм и ширину губы 7,5–12 мм, что соответствует данным,

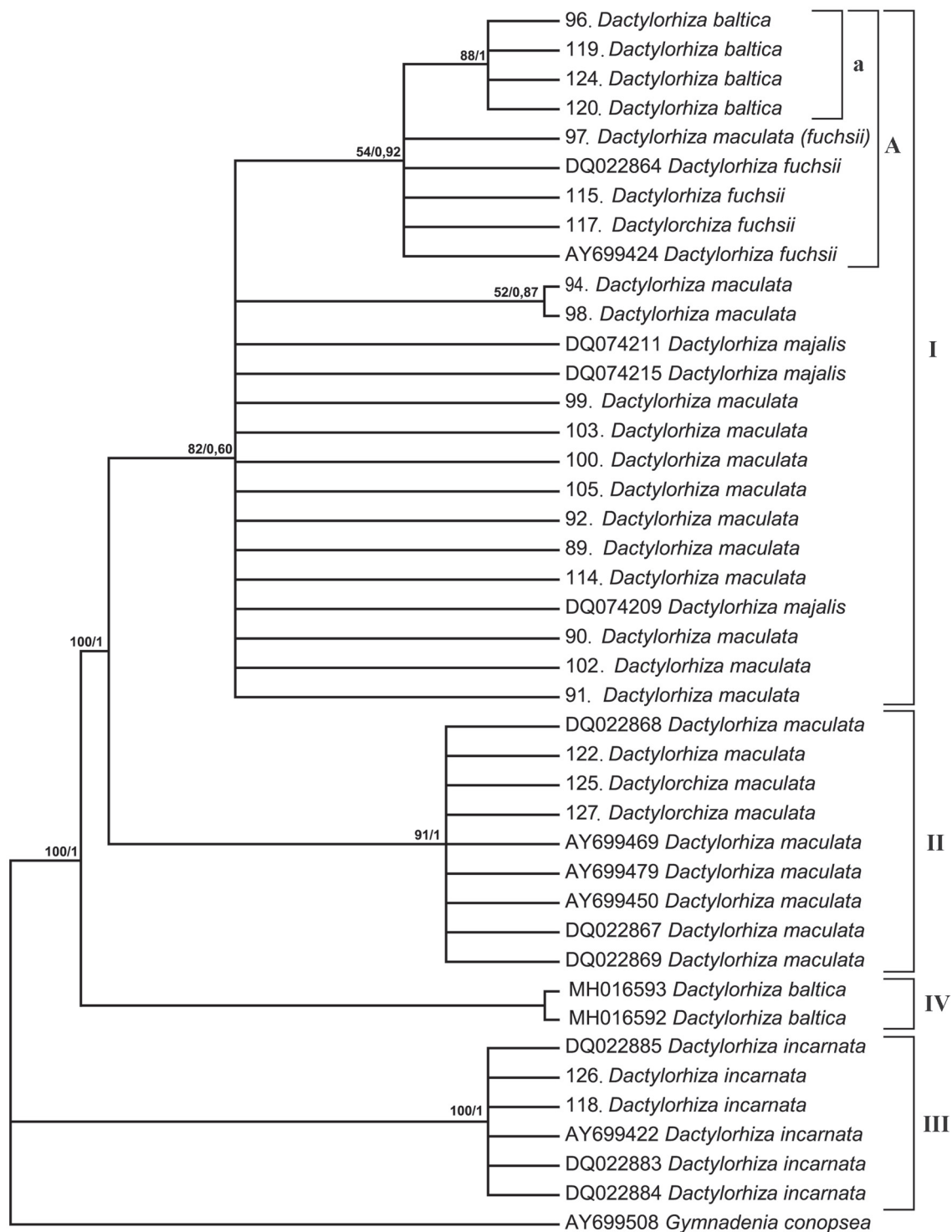


Рис. 1. Строгое консенсусное дерево, полученное из 51 равнооптимального дерева, построенного методом максимальной экономии. Цифрами указаны значения поддержки ветвей (булстреп-поддержка для максимальной экономии и постериорные вероятности для байесовского анализа соответственно)



Рис. 1. *Dactylorhiza baltica* (Klinge) Orlova в черте г. Мурманск

приведенным в таблице статьи по *D. baltica* в Европейской России (Shipunov и др., 2005).

Для более точной оценки видовой принадлежности найденных растений в анализ были включены образцы *D. maculata*, собранные в этом же месте, а также образцы *Dactylorhiza* из 6 популяций, найденных в других районах Мурманской обл. (п-ов Рыбачий, Турий мыс, окрестности пос. Варзуга). Кроме того, для молекулярно-филогенетического анализа из базы данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) были дополнительно взяты 15 нуклеотидных последовательностей (ITS 1, 2) четырех видов рода *Dactylorhiza* (*D. maculata*, *D. majalis*, *D. fuchsii*, *D. incarnata*) (Приложение). Выборку таксонов для молекулярного анализа осуществляли, опираясь на предыдущие работы (Цвелёв, 2000; Ефимов, 2012; Shipunov et al., 2005). В качестве внешней группы был использован вид *Gymnadenia conopsea* (L.)R. Br. – таксон, близкий к роду *Dactylorhiza*.

В построенном нами филогенетическом дереве виды рода *Dactylorhiza* формируют 4 хорошо поддержанные клады (I, II, III и IV), что подтверж-

дает их естественность (рис. 2). В состав клады I входят все образцы, собранные на территории Мурманской обл., гербарные образцы (114, 115, 117, 120, 121, 124) и 5 образцов из базы данных GenBank. В клады II и III входят образцы из европейских популяций (данные GenBank) и гербарные образцы, собранные в европейской части России (Приложение).

Клада II представлена образцами *D. maculata*, а в состав клады III входят образцы *D. incarnata*. (рис. 1).

При сравнении ITS-последовательностей всех анализируемых таксонов рода *Dactylorhiza* для образцов клады I были выявлены синапоморфные замены, которые отличают их от таксонов клад II, III и IV.

В кладе I образцы видов *D. baltica* и *D. fuchsii* формируют субкладу А. Все проанализированные образцы *D. baltica* (96, 119, 120, 124) сгруппировались вместе и образовали высоко поддерживанный компактный кластер а в субкладе А (рис. 1). Нуклеотидные последовательности (ITS) этих образцов идентичны и имеют замены, которые маркируют положение образцов *D. baltica* в

этом кластере. Образцы *D. fuchsii* (115, 117, DQ 022864, AY699424) занимают сестринскую позицию к группе образцов *D. baltica*, это указывает на их близкородственные отношения и хорошо согласуется с морфологическими данными. Образец 97, найденный на п-ове Рыбачий, на правом берегу р. Скорбеевка в сырой западине среди кустарничковой тундры был определен в природе как *D. maculata*, но по результатам анализа ITS последовательностей данный образец вошел в группу к *D. fuchsii*. Полученный результат требует дальнейших морфологических исследований.

Все образцы *D. maculata*, собранные на территории Мурманской обл., гербарный образец 114 (собранный в Архангельской обл., Устьянский р-н) и образцы *D. majalis* (данные GB) входят в кладу I и занимают базальное положение к образцам субклады A.

Таким образом, результаты морфологического и сравнительного молекулярно-филогенетического

Работа выполнена в рамках госзадания МГУ им. М. В. Ломоносова № АААА-А16-116021660049-0: сбор материала на территории Мурманской области; при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00029): анализ материала морфологическими методами, молекулярно-филогенетический анализ.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Список видов, ITS-последовательности которых использованы при построении молекулярно-филогенетического дерева

***D. baltica* (96)** г. Мурманск, склон холма от Спасо-Преображенского собора в сторону Семёновского озера, на разнотравно-злаковом лугу, 7.07.2016, Т.И. Варлыгина и др., (MW0568629), MN135946; ***D. baltica* (119)** Калужская обл., Козельский р-н, Национальный парк «Угра», 27.06.2003, Я.В. Косенко, М.Д. Логачева и др., (MW0295297), MN135947; ***D. baltica* (120)** Московская обл., Национальный парк «Лосиный остров», заболоченный молодой березняк, 18.06.2012, С. Майоров, (MW0295308), MN135948; ***D. baltica* (124)** Московская обл., Талдомский р-н, дер. Дмитровка, 7.07.2008, А.В. Щербаков, (MW0295306), MN135949; ***D. fuchsii* (115)** Владимирская область, Вязниковский р-н, близ дер. Юрышкино, 26.06.1971, В.Н. Тихомиров, № 5210, (MW0295415), MN135955; ***D. fuchsii* (117)** Владимирская обл., Вязниковский р-н, окрестности дер. Илевники 13.06.1971, В.Н. Тихомиров, № 5156, (MW0295417), MN135956; ***D. incarnata* (118)**

го анализа подтвердили принадлежность собранных образцов к виду *D. baltica*.

Обнаруженную нами в результате исследований в г. Мурманск локальную популяцию в настоящее время можно считать самым северным местонахождением вида в европейской части России.

Между кладами II и III, которые сформированы образцами *D. maculata* и *D. incarnata*, два образца *D. baltica* из базы данных GenBank сгруппированы вместе и образуют самостоятельную, высоко поддержанную кладу IV. Это подтверждает предположение группы авторов (Кириллова и др., 2018), что данные образцы не относятся к *D. baltica*, которая представляет собой стабилизированный гибридогенный вид, возникший при гибридизации *D. fuchsii* × *D. majalis* (Цвелёв, 2000) или *D. fuchsii* × *D. incarnata* (Ефимов, 2012; Shipunov et al., 2005). На основании вышеизложенного можно заключить, что образцы из клады IV требуют дальнейшего изучения.

Владимирская обл., Собинский р-н, дер. Коростылево, 20.06.1971, В.С. Новиков, № 6162, (MW0295733), MN135957; ***D. incarnata* (126)** Владимирская обл., дер. Дубенки, 4.06.1972, В.Н. Тихомиров, № 10272, (MW0295737), MN135958; ***D. maculata* (89)** Мурманская обл., Терский р-н, Соловецкий остров на р. Варзуга в окрестности пос. Варзуга, на разнотравно-злаковом лугу по берегу реки, 1.07.2016, Т.И. Варлыгина и др., образец 4, (MW0568638), MN135959; ***D. maculata* (90)** Мурманская обл., Терский р-н, Соловецкий остров на р. Варзуга в окрестности пос. Варзуга, на разнотравно-злаковом лугу по берегу реки, 1.07.2016, Т.И. Варлыгина и др., образец 7, (MW0568637), MN135960; ***D. maculata* (91)** Мурманская обл., Терский р-н, Соловецкий остров на р. Варзуга в окрестности пос. Варзуга, на разнотравно-злаковом лугу по берегу реки, 1.07.2016, Т.И. Варлыгина и др., образец 2, (MW0568636), MN135950; ***D. maculata* (92)** Мурманская обл., Терский р-н, Соловецкий остров на р. Варзуга в окрестности пос. Варзуга, на разнотравно-злаковом лугу по берегу реки, 1.07.2016, Т.И. Варлыгина и

др., образец 5, (MW0568638), MN135961; ***D. maculata* (94)** Мурманская обл., окрестности пос. Варзуга, дорога к Святому источнику, 2.07.2016, Т.И. Варлыгина и др., образец 11, (MW0568635), MN135962; ***D. maculata* (98)** г. Мурманск, вдоль шоссе по ул. Челюскинцев, по берегу ручья около дренажного желоба, в ивняке, 7.07.2017, Т.И. Варлыгина и др., образец 17, (MW0568631), MN135963; ***D. maculata* (99)** г. Мурманск, вдоль шоссе по ул. Челюскинцев, по берегу ручья около дренажного желоба, в ивняке, 7.07.2016, Т.И. Варлыгина и др., образец 15, (MW0568631), MN135952; ***D. maculata* (100)** Мурманская обл., Печенегский р-н, п-ов Рыбачий, по берегу ручья, впадающего в р. Скорбеевка, 9.07.2017, Т.И. Варлыгина и др., образец 18, (MW0568632), MN135964; ***D. maculata* (102)** Мурманская обл., Терский р-н, Кандалакшский государственный природный заповедник, у кордона Турий мыс, по краю леса, возле ручья, 5.07.2017, Т.И. Варлыгина и др., образец 14, (MW0568634), MN135953; ***D. maculata* (103)** Мурманская обл., Терский р-н, окрестности пос. Варзуга, дорога к Святому источнику, 2.07.2016, Т.И. Варлыгина и др., образец 12, (MW0568635), MN135954; ***D. maculata* (105)** Мурманская обл., Печенегский р-н, п-ов Рыбачий, правый берег р. Скорбеевка, возле водопада, 9.07.2016, Т.И. Варлыгина

и др., образец 22, (MW0568633), MN135965; ***D. maculata* (114)** Архангельская обл., Устьянский р-н, 21.07.1996, В.В. Неронов, (MW0296106), MN135966; ***D. maculata* (122)** Владимирская обл., Гусь-Хрустальный, 1.07.1972, В.Н. Тихомиров, Т.В. Лаврова, № 13700 (MW0296243), MN135967; ***D. maculata* (125)** Рязанская обл., Касимовский р-н, 3 км западнее с. Лубяники, 15.07.1977, № 13699, (MW0296247), MN135968, В. Тихомиров, Н. Никонорова; ***D. maculata* (127)** Московская обл., Талдомский р-н, 16.07.2011, Е.Л. Железная, № 283 [МНА], MN135969; ***D. maculata (fuchsii)* (97)** Мурманская обл., Печенегский р-н, п-ов Рыбачий, правый берег р. Скорбеевка, возле водопада, 9.07.2016, Т.И. Варлыгина и др., образец 21, (MW0568633), MN135951.

Образцы из базы данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>).

D. baltica MH016592; ***D. baltica*** MH016593; ***D. fuchsii*** AY699424; ***D. fuchsii*** DQ022864; ***D. majalis*** DQ074211; ***D. majalis*** DQ074209; ***D. majalis*** DQ074215; ***D. maculata*** DQ022867; ***D. maculata*** DQ022868; ***D. maculata*** DQ022869; ***D. maculata*** AY699460; ***D. maculata*** AY699469; ***D. maculata*** AY699479; ***D. incarnata*** DQ022885; ***D. incarnata*** DQ022883; ***D. incarnata*** DQ022884; ***D. incarnata*** AY699422; ***Gymnadenia conopsea*** AY699508.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ
[REFERENCES]

- Аверьянов Л.В. О внутривидовой структуре таксона *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó. s.l. сем. Orchidaceae // Бот. журн. 1979. Т. 64, № 4. С. 572–582 [Aver'yanov L.V. O vnutrividovoi strukture taksona *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó. s.l. sem. Orchidaceae // Bot. zhurn. 1979. T. 64. № 4. S. 572–582].
- Аверьянов Л.В. Орхидные (Orchidaceae) Средней России // Turczaninowia, 2000. Т. 1. № 1. С. 30–53 [Aver'yanov L.V. Orkhidnye (Orchidaceae) Srednei Rossii // Turczaninowia, 2000. T. 1. № 1. S. 30–53].
- Вахрамеева М.Г., Варлыгина Т.И., Татаренко И.В. Орхидные России (биология, экология и охрана). М., 2014. 437 с. [Vakhrameeva M.G., Varlygina T.I., Tatarenko I.V. Orkhidnye Rossii (biologiya, ekologiya i okhrana). M., 2014. 437 s.].
- Ефимов П.Г. Исследования генетического полиморфизма *Dactylorhiza baltica*, *D. fuchsii* и *D. incarnata* (Orchidaceae) из северо-запада Европейской части России методом ISSR // Бот. журн. 2012. Т. 97, № 6. С. 751–760 [Efimov P.G. Issledovaniya geneticheskogo polimorfizma *Dactylorhiza baltica*, *D. fuchsii* i *D. incarnata* (Orchidaceae) iz severo-zapada Evropeiskoi chasti Rossii metodom ISSR // Bot. zhurn. 2012. T. 97, № 6. S. 751–760].
- Ефимов П.Г. Пальчатокоренник балтийский / Красная книга Ленинградской области: Объекты растительного мира / Под ред. Д.В. Гельтман. СПб., 2018. С. 751–752 [Efimov P.G. Pal'chatokorennik baltiiskii / Krasnaya kniga Leningradskoi oblasti: Ob'ekty rastitel'nogo mira / Pod red. D.V. Gel'tman. Spb., 2018. S. 751–752].
- Иванова Е.В. Семейство Orchidaceae // Флора Сибири. Новосибирск, 1987. С. 125–147 [Ivanova E.V. Semeistvo Orchidaceae // Flora Sibiri. Novosibirsk, 1987. S. 125–147].
- Кириллова И.А., Кириллов Д.В., Шадрин Д.М. Морфологический и молекулярно-генетический подходы к изучению рода *Dactylorhiza* в Республике Коми // Вестн. Томского государственного университета. Биология. 2018. № 43. С. 44–65 [Kirillova I.A., Kirillov D.V., Shadrin D.M. Morfologicheskii i

- molekulyarno-geneticheskii podkhody k izucheniyu roda *Dactylorhiza* v Respublike Komi // Vestn. Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya. 2018. № 43. S. 44–65].
- Красная книга Мурманской области. Изд. 2-е, перераб. и доп. / Отв. ред. Н.А. Константинова, А.С. Корякин, О.А. Макарова, В.В. Бианки. Кемерово, 2014. 584 с. [Krasnaya kniga Murmanskoi oblasti. Izd. 2-e, pererab. i dop. / Отв. ред. N.A. Konstantinova, A.S. Koryakin, O.A. Makarova, V.V. Bianki. Кемерово, 2014. 584 s.].
- Красная книга Российской Федерации. В 2 кн. / гл. ред. Ю. П. Трутнев. Кн. 2. Растения и грибы / Под ред. Р.В. Камелин, В.С. Новиков. М., 2008. 855 с. [Krasnaya kniga Rossiiskoi Federatsii. V 2 kn. / gl. red. Yu. P. Trutnev. Кн. 2. Rasteniya i griby / Pod red. R.V. Kamelin, V.S. Novikov. М., 2008. 855 s.].
- Куликов П.В., Филиппов Е.Г. О наличии *Dactylorhiza baltica* (Klinge) Orlova во флорах Урала и Западной Сибири // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1999. Т. 104. Вып. 2. С. 29–33 [Kulikov P.V., Filippov E.G. O nalichii *Dactylorhiza baltica* (Klinge) Orlova vo florakh Urala i Zapadnoi Sibiri // Byul. MOIP. Otd. biol. 1999. T. 104. Vyp. 2. S. 29–33].
- Невский С.А. Семейство Ятрышниковые – Orchidaceae // Флора СССР. Л., 1935. Т. 4. С. 589–730 [Nevskii S.A. Semeistvo Yatryshnikovye – Orchidaceae // Flora SSSR. L., 1935. T. 4. S. 589–730].
- Смольянинова Л.А. Семейство Orchidaceae – Ятрышниковые // Флора Европейской части СССР. Т. 2. С. 10–59 [Smol'yaninova L.A. Semeistvo Orchidaceae – Yatryshnikovye // Flora Evropeiskoi chasti SSSR. T. 2. S. 10–59].
- Филиппов Е.Г., Андропова Е.В. Генетическая структура популяций и естественная гибридизация *Dactylorhiza salina* и *D. incarnata* (Orchidaceae) // Генетика, 2017. Т. 53. № 3. С. 310–323 [Filippov E.G., Andronova E.V. Geneticheskaya struktura populyatsii i estestvennaya gibridizatsiya *Dactylorhiza salina* i *D. incarnata* (Orchidaceae) // Genetika, 2017. T. 53. № 3. S. 310–323].
- Флора Мурманской области. 1954. М.-Л., Т. 2. 288 с. [Flora Murmanskoi oblasti. 1954. М.-Л., Т. 2. 288 s.].
- Цвелёв Н.Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области). СПб., 2000. 781 с. [Tsvetlev N.N. Opredelitel' sosudistykh rastenii Severo-Zapadnoi Rossii (Leningradskaya, Pskovskaya i Novgorodskaya oblasti). SPb., 2000. 781 s.].
- Baldwin B.G., Sanderson M.J., Porter J.M., Wojciechowski M.F., Campbell C.S., Donoghue M.J. The ITS region of nuclear ribosomal DNA – a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny // Annals of the Missouri Botanical Garden. 1995. Vol. 82. P. 247–277.
- Cheng T., Xu C., Lei L., Li C., Zhang Y., Zhou S. Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity phylogeny // Molecular Ecology Resources. 2016. Vol. 16. P. 138–149.
- Devos N., Raspe O., Oh Sang-Hun, Tyteca D., Jacquemart A.L. The evolution of *Dactylorhiza* (Orchidaceae) allotetraploid complex: Insights from nrDNA sequences and cpDNA PCR-RFLP data // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2006. Vol. 38. P. 767–778.
- Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // Nucleic Acids Research. 2004. Vol. 32. P. 1792–1797.
- Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium. 1999. Ser. 41. P. 95–98.
- Pillon Y., Fay M.F., Shipunov A.B., Chase M.W. Species diversity versus phylogenetic diversity: A practical study in the taxonomically difficult genus *Dactylorhiza* (Orchidaceae) // Biological conservation. 2006. Vol. 129. P. 4–13.
- Ronquist F.R., Huelsenbeck J.P. Mr BAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // Bioinformatics. 2003. N 19. P. 1572–1574.
- Shipunov A.B., Fay M.F., Chase M.W. Evolution of *Dactylorhiza baltica* (Orchidaceae) in European Russia: evidence from molecular markers and morphology // Botanical Journal of the Linnean Society. 2005. P. 147–164.
- Shipunov A.B., Efimov P.G. “Northern tetraploids” clarified: A study of dactylorchids (*Dactylorhiza*, Orchidaceae) from North European Russia // Flora – Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants. 2015. Vol. 215. P. 40–45.
- Swofford D.L. PAUP* version 4.0. Sunderland, Massachusetts: Inc. Publishers, Sinauer Associates, 2003.
- Valiejo-Roman C.M., Terentieva E.I., Samigullin T.H., Pimenov M.G. Relationships among genera in *Saniculoideae* (Umbelliferae) and connected taxa inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // Taxon. 2002. Vol. 51. P. 91–101.
- Vermeulen P. Studies on *Dactylorchis*: F. Schoturius and Jens. Utrecht, 1947. 180 s.

Поступила в редакцию / Received 15.07.2019

Принята к публикации / Accepted 19.01.2020

**UPDATE OF THE NORTHERN BORDER OF AREAL *DACTYLORHIZA*
BALTICA (KLINGE) ORLOVA (ORCHIDACEAE)**

T.I. Varlygina¹, G.V. Degtjareva², S.V. Efimov³, T.H. Samigullin⁴, E.I. Terentjeva⁵

During investigation of vegetation in the Murmansk, small local populations of *Dactylorhiza baltica* and *D. maculata* have been found and examined. As species of genus *Dactylorhiza* cannot be easily distinguished using morphological methods due to high intraspecific variability of morphological traits, for more precise assessment of species authenticity of the found plants, the traditional analysis of morphological features has been used in combination with the molecular-genetic analysis (ITS 1,2) of 18S – 26S nuclear ribosomal DNA. In plotted dendrograms, samples of *D. baltica* form a separate, highly supported cluster, which also agrees with morphological traits. The obtained results suggest that the small local population revealed in the Murmansk corresponds to the northernmost point of *D. baltica* area distribution.

Keywords: *Dactylorhiza*, Orchidaceae, Murmansk region, phylogeny, ITS.

Acknowledgements. The work has been implemented within the frames of the government business for M.V. Lomonosov MSU № AAAA-A16-116021660049-0: the material has been collected in the territory of Murmansk Region; at financial support of RSF grant № 14-50-00029: material has been analyzed using morphological methods, molecular-phylogenetic analysis has been performed.

¹ Varlygina Tatyana Ivanovna, Botanical Garden, Moscow State University (tatvarlygina@yandex.ru); ² Degtjareva Galina Viktorovna, Botanical Garden, Moscow State University (degavi@mail.ru); ³ Efimov Sergey Vladimirovich, Botanical Garden, Moscow State University (efimov-msu@yandex.ru); ⁴ Samigullin Tagir Chalafovich, Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University (tagrai@mail.ru); ⁵ Terentjeva Elena Igorevna, Botanical Garden, Moscow State University (el.terentjeva@mail.ru).