

УДК 582.736:615:322:577.21



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВ НА ПРИМЕРЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ В ПРЕДЕЛАХ РОДА *HEDYSARUM L.*

Д.Р. Имачуева¹, Ф.К. Серебряная², Э.М. Мачс³, В.В. Коцеруба³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дагестанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина 1

² Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, 11

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 2

E-mail: djakag01@gmail.com

Получено 04.10.2021

После рецензирования 30.11.2021

Принята к печати 05.12.2021

Актуальной задачей в фармакогнозии на данный момент является применение всевозможных методов ДНК-анализа для идентификации растительного сырья, выявления фальсификатов, генетически модифицированных сельскохозяйственных культур и продуктов.

Цель. Изучить возможность применения молекулярно-генетических методов исследований при анализе рода *Hedysarum L.* для идентификации лекарственного растительного сырья. В данной статье представлены результаты применения молекулярно-генетических методов исследования при анализе рода *Hedysarum L.* флоры Северного Кавказа.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы видов рода *Hedysarum L.*, собранные на территории Северного Кавказа: *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (фаза плодоношения на территории Карачаево-Черкесской Республики); *Hedysarum grandiflorum* Pall. (фаза плодоношения в Волгоградской области); *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. (фаза цветения в Республике Дагестан). Секвенирование маркерного участка ITS1-5.8S-ITS2 гена 5.8S рибосомой РНК проводили по методу Сэнгера на генетическом анализаторе AbiPrism 3130 на базе лаборатории биосистематики и цитологии Ботанического института имени В.Л. Комарова РАН.

Результаты. На основе сравнительного изучения маркерного участка ядерного рибосомного гена 5.8S рРНК были идентифицированы маркерные нуклеотидные замены *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Была построена наиболее вероятная вторичная структура 5.8S рРНК. Показано, что на основании проведенного анализа можно составить прогноз дополнительных сырьевых источников мангиферина и других групп ксантонов при использовании молекулярных данных, на примере секции *Obscura*.

Заключение. На основании полученных данных можно сделать заключение о том, что в пределах секции *Obscura* можно подтвердить морфологическую классификацию рода *Hedysarum L.*

Ключевые слова: *Hedysarum*; *Hedysarum caucasicum*; *Hedysarum daghestanicum*; *Hedysarum grandiflorum*; секвенирование; ген 5.8S рРНК

Список сокращений: рРНК – рибосомная рибонуклеиновая кислота; тРНК – транскрипционная рибонуклеиновая кислота; РНКаза – Рибонуклеаза; СТАВ – гексадецилтриметиламмоний бромид; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота.

Для цитирования: Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная, Э.М. Мачс, В.В. Коцеруба. Использование методов секвенирования для идентификации видов на примере филогенетических связей в пределах рода *Hedysarum L.* *Фармация и фармакология.* 2021;9(6):506-518. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-506-518

© Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная, Э.М. Мачс, В.В. Коцеруба, 2021

For citation: D.R. Imachueva, F.K. Serebryanaya, E.M. Machs, V.V. Kotseruba. Use of sequencing methods for species identification exemplified by phylogenetic relationships within genus *Hedysarum L.* *Pharmacy & Pharmacology.* 2021;9(6):506-518. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-506-518

USE OF SEQUENCING METHODS FOR SPECIES IDENTIFICATION EXEMPLIFIED BY PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS WITHIN GENUS *HEDYSARUM* L.

D.R. Imachueva¹, F.K. Serebryanaya², E.M. Machs³, V.V. Kotseruba³

¹Dagestanian State Medical University

1, Lenin Sq., Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia, 367000

²Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical University

11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

³Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences

2, Prof. Popov Str., St. Petersburg, Russia, 197376

E-mail: djakag01@gmail.com

Received 04 Oct 2021

After peer review 30 Nov 2021

Accepted 05 Dec 2021

At the moment, a relevant objective in pharmacognosy, is the use of all kinds of the DNA analysis methods for identifying plant materials, detecting counterfeits, genetically modified crops and products.

The aim of the research is to study the possibility of using molecular genetic research methods in the analysis of the genus *Hedysarum* L., for the identification of medicinal plant materials. This article presents the results of the application of molecular genetic research methods in the analysis of the genus *Hedysarum* L. in the flora of the North Caucasus.

Materials and methods. The study material was the samples of the genus *Hedysarum* L. species collected in the North Caucasus: *Hedysarum caucasicum* M. Bieb. (in the fruiting phase in the territory of the Karachay-Cherkess Republic); *Hedysarum grandiflorum* Pall. (in the fruiting phase in the Volgograd region); *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. (in the flowering phase in the Republic of Dagestan). Sequencing of the ITS1-5.8S-ITS2 marker region of gene 5.8S by the RNA ribosome was carried out according to the Sanger method on the AbiPrism 3130 genetic analyzer at the laboratory of biosystematics and cytology of Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences.

Results. Based on a comparative study of the marker region of the nuclear ribosomal gene 5.8S rRNA, marker nucleotide substitutions of *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. have been identified. The most probable secondary structure of 5.8S rRNA has been constructed. It has been shown that based on the analysis performed, it is possible to predict additional raw material sources of mangiferin and other groups of xanthones using the molecular data exemplified by the *Obscura* section.

Conclusion. Based on the data obtained, it can be concluded that the morphological classification of the genus *Hedysarum* L. can be confirmed within the *Obscura* section.

Keywords: *Hedysarum*; *Hedysarum caucasicum*; *Hedysarum daghestanicum*; *Hedysarum grandiflorum*; sequencing; 5.8S rRNA gene

Abbreviations: rRNA – ribosomal ribonucleic acid; tRNA – transfer ribonucleic acid; RNase – ribonuclease; CTAB – cetyltrimethylammonium bromide; DNA – deoxyribonucleic acid.

ВВЕДЕНИЕ

Наряду с известными методами фармакогно- стического анализа в последние годы вводится перспективный молекулярно-генетический метод исследования [1–5, 20]. Методы молекулярной фармакогнозии занимают достаточно прочное положение при составлении нормативной документации на лекарственное растительное сырье, а также при исследовании филогенетических связей среди близких видов и в пределах разновидностей¹. Для некоторых таксонов, к примеру семейства бобовых, определены полные хлоропластные геномы, включая 115 генов, состоящих из 79 белок-кодирующих генов (68,7%), 31 тРНК генов (26,96%) и 5 рРНК (4,35%) [6]. Хлоропластные геномы являются потенциальными источниками генетических маркеров для проведения филогенети-

ческих исследований, генетического разнообразия и молекулярной идентификации. [7]. Методы молекулярных исследований широко применяются для исследования представителей семейства *Fabaceae*, среди них *Glycine max* (L.) Merr., *V. radiata* var. *radiata*, *V. angularis* var. *angulari*, *Phaseolus vulgaris* L., *Cicer arietinum*, *Arachis hypogaea*, *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*, *Hedysarum polybotrys* [8–11].

Что касается изучения рода *Hedysarum* L., то следует отметить работы Chennaoui H., Marghali S., Marrakchi M., Trifi-Farah N., в которых были изучены филогенетические связи в пределах рода *Hedysarum* L. на основе морфологических и биохимических признаков² [12–14]. Молекулярно-генетическими исследованиями на основе сравнительного анализа рибосомных генов видов рода копеечник, произрастающих

¹ Lu-qi H. Molecular Pharmacognosy. 2 Ed. / Springer Nature Singapore Pte Ltd. & Shanghai Scientific & Technic Publish, 2019. – 303 p. DOI: 10.1007/978-981-32-9034-1.

² Bojnanský V., Fargašová A. Atlas of Seeds and Fruits of Central and East-European Flora: The Carpathian Mountains Region // Dordrecht: Springer, 2007. – 1046 p.

на территории Юго-Восточной Азии, занимались Nafisi H., Ranjbar M., Wojciechowski M. и др. [15, 16].

Были изучены виды *H. chalyrakanicum* и *H. theinum*, для которых авторами отмечен выраженный полиморфизм внутренних транскрибируемых спейсеров ITS гена 5.8S рПНК и признаки филогенетического родства со средиземноморскими видами рода. Отмечается связь между азиатскими и европейскими видами *H. chalyrakanicum* и *H. gmelinii*, которые относятся к родственным секциям *Subacaulia* и *Multicaulia* [17–19].

Кроме известных зарубежных авторов, немалый вклад для рода *Hedysarum* L. внесли отечественные авторы, среди которых И.А. Шанцер и Н.А. Супрун, которые изучали генетическую изменчивость *H. grandiflorum* Pall., *H. biebersteinii* и *H. argyrophyllum* [4, 20–23]. Для изучения генетического полиморфизма *Hedysarum* L. использовали анализ ISSR маркеров, что позволило проанализировать более 100 фрагментов ДНК [24–27].

ЦЕЛЬ. Определение возможности использования молекулярно-генетического метода при проведении комплексных фармакогностических исследований, изучить внутри- и межпопуляционную изменчивость трех видов рода копеечник, собранных на территории Северного Кавказа (*Hedysarum caucasicum* Bieb.(H₁), *Hedysarum grandiflorum* Pall.(H₂), *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.(H₃)), определить возможные филогенетические связи между видами рода копеечник.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы видов рода копеечник, собранные на территории Северного Кавказа: *H. caucasicum* Bieb., собранный в фазу плодоношения в 2017 году на территории КЧР, Домбайский участок ущелья Алибек; *H. grandiflorum* Pall., фаза плодоношения в 2018 году в Волгоградской области, Иловлинском районе, селения Кондраши; *H. daghestanicum* Rupr. ex. Boiss, фаза цветения в 2015 году в республике Дагестан, селения Анди [28]. В настоящей работе секвенирование проводили по методу Сэнгера, определяя последовательность ITS1-5.8S-ITS2 рПНК [29]. Секвенирование последовательностей ДНК проводили на генетическом анализаторе AbiPrism 3130 (Applied Biosystems, США) на базе лаборатории Биосистематики и цитологии БИН РАН.

Анализ последовательностей ДНК выполняли с помощью программ MEGA 10.0, USA. Выделение геномной ДНК производилось СТАВ методом из листьев гербарных образцов. Для амплификации использовали реактивы Dream Taq PCR Master Mix (Thermo Scientific, США). Полимеразная цепная реакция была проведена на амплификаторе C1000 Thermal Cycler (Bio-Red, США). Параметры циклов амплификации: 3 мин 98°C; 35 циклов: (1 мин 98°C; 30 секунд 54°C; 30 секунд 72°C); 10 мин 72°C.

Для секвенирования использовался набор Big Dye Terminator Kit v.2.0 (Perkin Elmer Life Sciences, Inc., США) и секвенатор ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, Великобритания). Выделение ДНК проводили с помощью методики СТАВ из листьев гербарных образцов или листьев и включала следующие стадии: листья исследуемых образцов измельчали в тонкий порошок в те-

чение 10 секунд используя гомогенизатор TissueLyser (QIAGEN, США). Добавляли 700 мкл предварительно нагретого экстракционного буфера EB, энергично встряхивали; инкубировали при 65°C в течение 1, 2 или более часов; очищали равным объемом смеси хлороформ: спирт изоамиловый (24:1), встряхивали в течение 5 минут и центрифугировали образцы в течение 10 мин при комнатной температуре при 14000 об/мин. Верхнюю фазу переносили в новую пробирку объемом 1,5 мл, осаждали ДНК с помощью 2/3 объема изопропанола (5 мин при комнатной температуре); центрифугировали при комнатной температуре в течение 10 минут при 14000 об/мин; удаляли супернатант и дважды промывали осадок с помощью Wash Buffer (WB). Осадок высушивали на воздухе и растворяли в 300 мкл ТЕ-буфера; добавляли 3 мкл РНКазы (10 мг/мл) и инкубировали 30 мин при 37°C. Доводили концентрацию 2М раствором натрия хлорида; повторно осаждали, добавив 2 объема спирта этилового 96%, промывали 500 мкл спирта этилового 70%, высушивали гранулы на воздухе и растворяли в ТЕ-буфере. Для прямого ПЦР-анализа использовался Phire Plant Direct PCR Master Mix (Thermo Scientific, США), непосредственно предназначенный для листьев и семян растений без предварительной очистки ДНК.

Для очистки амплифицированных фрагментов ДНК использовали стандартный метод электрофореза в агарозном слое. Контроль проводили визуально с помощью УФ-трансиллюминатора, так как полосы окрашенной флуоресцентными красителями ДНК, формируемые молекулами одного размера при продвижении через поры геля, видны в УФ-свете. В качестве красителя ДНК применяли этидия бромид ($\lambda_{max} = 590$ нм), который интеркалирует в молекулы ДНК (встраиваются между соседними парами нуклеотидов). Интенсивность такой флуоресценции в 20 раз выше. Полосу геля, содержащую необходимый фрагмент ДНК, вырезали. Для выделения ДНК из геля использовали набор «QIAquick Gel Extraction Kit» (QIAGEN, США).

Секвенирован маркерный участок ITS1-5.8S-ITS2 гена 5.8S рПНК у представителей рода *Hedysarum*. Филогенетическая реконструкция была основана на сравнении этого маркерного участка секвенированных образцов разного географического происхождения и данных из Genbank NCB³. Для построения филогенетических деревьев был использован метод максимального правдоподобия в программе MEGA 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Было проведено сравнительное молекулярное изучение образцов *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss, *Hedysarum grandiflorum* Pall., представленных во флоре Кавказа. Проведено сравнение последовательностей ITS1–5.8S–ITS2 гена 5.8S рПНК у *Hedysarum caucasicum* с данными, представленными в Genbank⁴ [30–34]. Полученное филогенетическое древо показано на рисунке 2.

³ GenBank Overview. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>.

⁴ Там же.

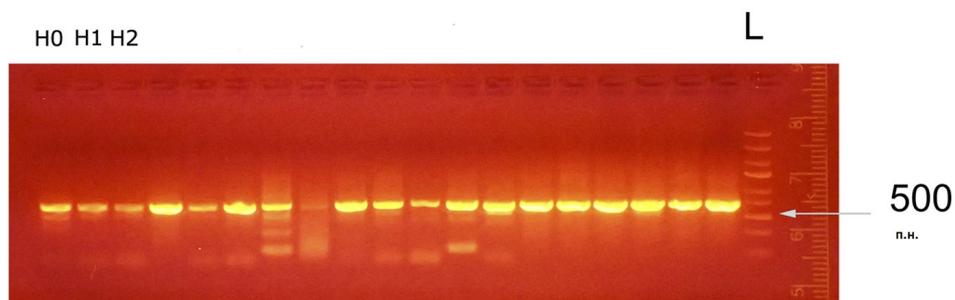


Рисунок 1 – Результаты окрашивания ДНК в УФ-свете (краситель этидия бромид)

Примечание: H₀ – *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss; H₁ – *Hedysarum caucasicum* M. Bieb.; H₂ – *Hedysarum grandiflorum* Pall.

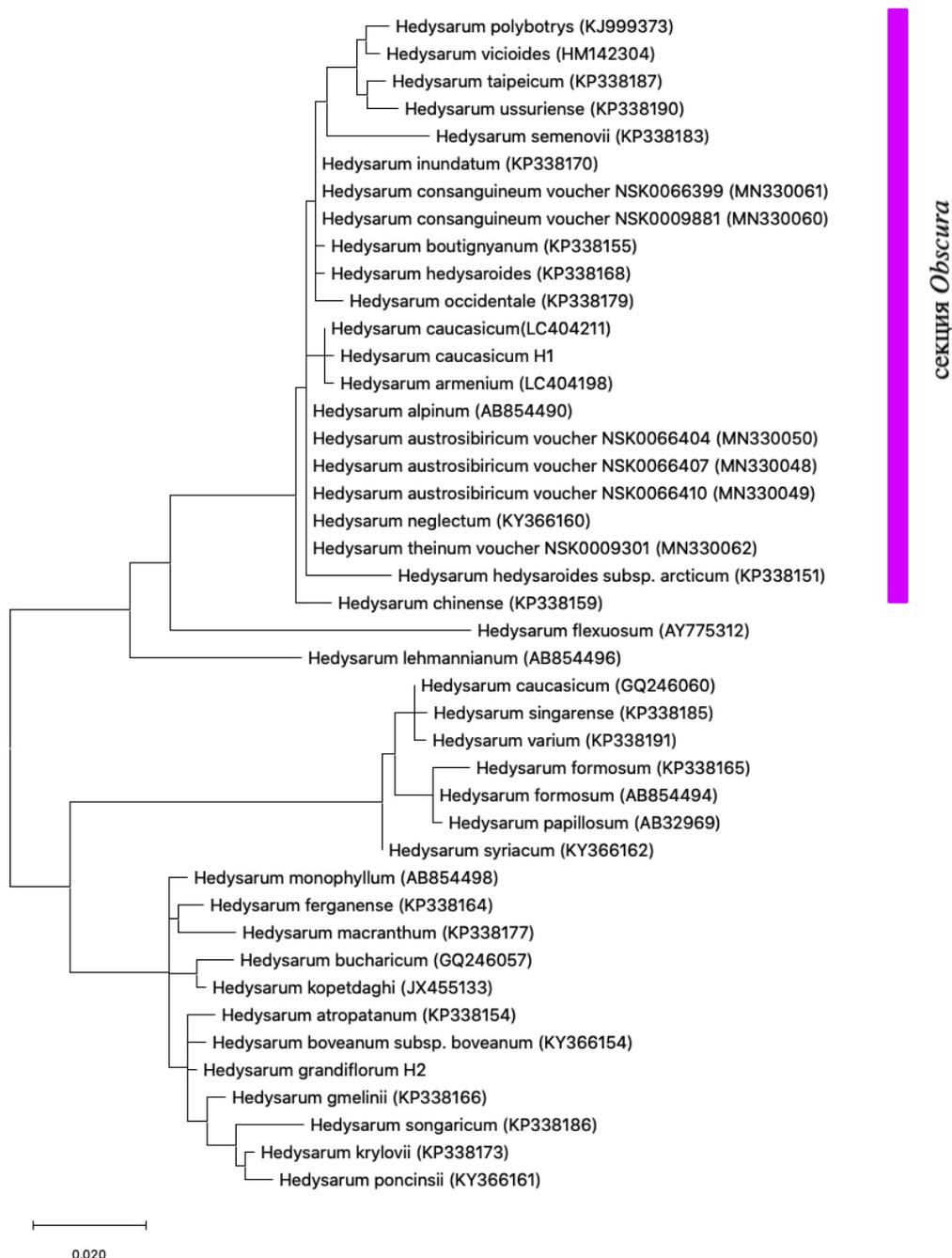


Рисунок 2 – Филогенетические взаимоотношения видов рода *Hedysarum* L.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика морфологических и эколого-фитоценологических признаков видов рода *Hedysarum* L. из филогенетического дерева, произрастающих на территории Российской Федерации

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценологический тип
Секция 2. <i>Spinosissima</i>				
1	Копеечник изгибистый <i>Hedysarum</i> <i>flexuosum</i> L. ^{5,6}	Однолетнее растение; стебель крепкий, ветвистый, 50–120 см; листья с 2–5-парными листочками, Прилистники крупные, свободные; листочки 2–5-парные, почти округлые или продолговато-яйцевидные, снизу рассеянно-пушистые, 15–22 мм длиной.	Цветоносы коротко прижато-волосистые; соцветия удлинённые; венчик пурпуровый или розовый, длиной 10–12 мм, завязь волосистая.	Склоны, луга, на глубоких глинистых почвах; до 100 м.
Секция 3. <i>Obscura</i>				
2	Копеечник арктический <i>Hedysarum arcticum</i> B. Fedtsch. ⁷	Многолетнее растение; стебель крепкий, голый, 20–35 см высотой; прилистники многочисленные, сросшиеся между собой; листочки в числе 4–9-парные, продолговато-эллиптические, сверху голые, снизу опушенные по жилкам и краям или почти голые, 12–20 мм длиной.	Цветоносы пазушные, кисти в начале цветения сжатые, 4–7 см длиной; цветки в количестве 5–30, несколько поникающие, лиловые, фиолетово-красные.	В арктической и прилегающей лесной зоне в тундрах, на песчаных островах, в листовенничном редколесье, приречных кустарниковых зарослях; в высокогорном поясе.
3	Копеечник затопляемый <i>Hedysarum inundatum</i> Turcz. ^{8,9,10}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, голые, 20–40 см высотой; листья сложные, листочки 5–9-парные, продолговато-эллиптические, прилистники светло-бурые, длиной 8–12 см.	Цветоносы верхушечные; кисти 4–6 см; цветки в количестве 24–35, слегка поникающие; прицветники светло-бурые, линейно-ланцетные, венчик 16–20 мм длиной, розово-лиловый.	По галечникам и утесам в субальпийской и высокогорной зонах, зоны горных хребтов.
4	Копеечник южносибирский родственный <i>Hedysarum consanguineum</i> DC. ^{11,12}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, коротко-пушистые или почти голые, 20–45 см высотой; листья зеленые, образующие 2–4 междоузлия; прилистники многочисленные, сросшиеся, короткие, бурые; листочки 4–8-парные, почти голые или прижато коротко-волосистые.	Цветоносы верхушечные, кисти 10–18 см длиной; цветки в количестве 27–30, горизонтальные или поникающие; чашечка коротко-колокольчатая, пушистая, зубцы ланцетно-шиловидные; венчик 17–19 мм длиной, розово-лиловый.	По долинам рек и болотистым лесам. В высокогорном поясе на альпийских, субальпийских лугах, каменистых россыпях, в тундре.
5	Копеечник южносибирский <i>Hedysarum austrosibiricum</i> B. Fedtsch. ^{13,14}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, крепкие, голые, 20–40 см, прилистники сросшиеся в основании стеблей; листочки в числе 4–9 пар, продолговато-эллиптические, сверху голые, снизу по средней жилке и краям едва опушенные, 15–25 мм длиной, 7–10 мм шириной.	Цветки лиловые, фиолетово-лиловые, по 15–30 цветков в пустых кистях, удлинённых при плодах до 10–15 см; прицветники ланцетные, желто-бурые, почти достигающие зубцов чашечки.	В высокогорном поясе на лесных, альпийских и субальпийских лугах, в тундре, на щебнисто-лишайниковых гольцах

⁵ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*. — М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1948. — Т. 13. — С. 259–319.

⁶ Castroviejo S., et al. Flora Iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares / *Leguminosae* VII(II) (partim). — Madrid: Real Jardín Botánico. — 2000. — 1121 p.

⁷ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

⁸ Там же.

⁹ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян. — Красноярск: ФГАОУ ВО СФУ. — 2016. — 593 с.

¹⁰ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*) / Под ред. А.В. Положиной, Л.И. Малышевой. — Новосибирск: Наука. — 1994. — Т. 9. — 280 с.

¹¹ Там же.

¹² Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

¹³ Там же.

¹⁴ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*)

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценологический тип
6	Копеечник копеечниковый <i>Hedysarum hedysaroides</i> L. ¹⁵	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, голые, 30–60 см; прилистники бурые, нижние почти полностью сросшиеся между собой, верхние – частично сросшиеся, с ланцетовидно-вытянутыми свободными концами; листочки 6–9 парные, с редкими волосками 12–20 мм длиной.	Цветоносы длиннее листьев; кисти негустые, удлиненные; цветки многочисленные, 30–40 шт., поникающие, темно-фиолетовые; чашечка с косым оттобом, зубцы ланцетные или шиловидные.	По горным лугам в верхних частях лесной зоны.
7	Копеечник забытый <i>Hedysarum neglectum</i> Ldb. ^{16,17,18}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, голые или коротко-пушистые, 25–60 см, прилистники многочисленные, короткие, бурые, сросшиеся; листья черешковые, листочки 4–10-парные, продолговато-эллиптические, с обеих сторон прижато опушенные, 17–22 мм длиной.	Цветоносы верхушечные; кисть рыхлая, прицветники бурые, линейно-ланцетные, голые или мало-опушенные; чашечка коротко-колокольчатая, коротко-пушистая; венчик лиловый, пурпурно-лиловый	В высокогорном поясе, спускается в лесной; на субальпийских, альпийских, лесных лугах, каменистых склонах, в разреженных лиственничных лесах
8	Копеечник кавказский <i>Hedysarum caucasicum</i> M. Bieb. ^{19,20}	Многолетнее растение; стебли прямые, облиственные, 30–60 см, листочки 7–12-парные, эллиптические или яйцевидно-продолговатые, с остроконечием на верхушке, 12–16 мм длиной [13].	Цветоносы длиннее листьев; кисти на длинных ножках, в 1,5–2 раза длиннее листьев, не очень густые; венчик темно-пурпуровый или малиновый [13].	Высокогорные луга, 1500–3500 м., на субальпийских и альпийских лугах, на моренах, на осыпях, кривоветных, уступы скал [13].
9	Копеечник Семенова <i>Hedysarum Semenovii</i> Rgl. et Herd. ^{21,22,23}	Многолетнее растение; стебли одиночные, реже в числе 2–3, прямостоячие, бороздчатые, голые или рассеянно волосистые, 50–120 см высотой; прилистники крупные, между собой сросшиеся, бурые, самые нижние безлистные, стеблеобъемлющие; листья коротко черешковые, черешки их, как и ось листа, прижато-волосистые; листочки 4–8-парные, округлые или округло-яйцевидные, нежные, сверху голые, снизу рассеянно, полуприжатоволосистые, 15–35 мм длиной.	Цветоносы пазушные, прижато-волосистые; кисти продолговатые, многоцветковые, густые; прицветники ланцетные, бурые, 4–6 мм длиной; чашечка ширококолокольчатая, 5–6 мм длиной; слетка скошенная, голая или слабо волосистая; венчик желтый	Растет на травянистых склонах, в поясе елового леса.
10	Копеечник альпийский <i>Hedysarum alpinum</i> L. ^{24,25,26}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, голые или в верхней части опушены короткими и слегка курчавыми волосками, 40–120 см высотой; листья сложные непарноперистые; листочки 6–11-парные, продолговато-яйцевидные, 15–30 мм длиной.	Соцветия длинные, густые кисти; цветки в количестве 20–30, розовые, лилово-розовые, в вышущем состоянии фиолетовые, в кистях 5–15 см длиной; чашечка 3,5–4,5 мм, опушена короткими слетка курчавыми волосками; венчик 13–15 мм длиной, завязь голая или опушенная.	На лесных лугах, в березовых и сосновых лесах, по склонам и на береговых обрывах.

¹⁵ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.¹⁶ Там же.¹⁷ Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Flora of China (*Fabaceae*). – Beijing: Science Press, 2010. – Vol. 10. – 577 p.¹⁸ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*), 1994.¹⁹ Там же.²⁰ Гроссгейм А.А. Флора Кавказа. – М.: Изд-во АН СССР, 1952. – Т. V. – 454 с.²¹ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.²² Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян. Красноярск: ФГАУ ВО СФУ, 2016. 593 с.²³ Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Flora of China (*Fabaceae*), 2010.²⁴ Там же.²⁵ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.²⁶ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*), 1994.

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценоотический тип
11	Копеечник горошковидный <i>Hedysarum viscioides</i> Turcz. ^{27,28}	Многолетнее растение; стебель голый, 50–120 см высотой; прилистники сросшиеся в виде влагалища; листочки 8–9-парные, линейно-продолговатые, сверху голые, снизу по средней жилке и краям едва опушенные.	Кисти рыхловатые, 15–20 см длиной; цветки в количестве 10–30; чашечка голая; венчик бледно-желтый, 10–12 мм длиной.	В долинах рек, на лугах, приречных галечниках, в листовидных и сосновых лесах.
12	Копеечник уссурийский <i>Hedysarum ussuricense</i> I.Schischk&Kom. ^{29,30}	Многолетнее растение с толстым, деревянистым, длинно-стержневым корнем; стебли многочисленные, до 50 см высотой; листья непарноперистые; листочки 3–5-парные, продолговато-яйцевидные, почти голые, 10–20 мм длиной.	Цветки беловато-желтые, многочисленные (до 20), в рыхлом, однобоком, кистевидном соцветии, на длинном цветоносе, превышающем листья.	Растет на известняковых скалах и открытых каменистых склонах до 700 м над уровнем моря. Местами образует заросли. Облигатный кальцефил.
13	Копеечник чайный <i>Hedysarum theinum</i> Krasnob. ^{31,32}	Многолетнее травянистое растение; стебли бороздчатые, голые или слабо прижато-волосистые, 80 см, прилистники бурые, сросшиеся между собой, крупные, чешуевидные; листочки 2–5-парные, короткочерешковые, эллиптические или яйцевидно-эллиптические, сверху голые.	Пурпурно-лиловые цветки собраны по 15–30 штук в рыхлые кисти.	Копеечник забытый растет на альпийских и субальпийских лугах, на травянистых и каменистых склонах, в арчевниках и на галечниках рек.
14	Копеечник армянский <i>Hedysarum armenium</i> Boiss. et Tchih. ³³	Многолетнее травянистое растение; стебли прямостоячие, укороченные, 10–30 см, прилистники светло-коричневые, широкие; листочки 10–13-парные, эллиптические или продолговато-эллиптические, темно-зелёные, длиной 8–12 мм [13].	Кисти густые, по 20–30 цветков; венчик 15-16 мм длиной, темно-пурпуровый, завязь опушенная [13].	На горных лугах, на высоте 2100–3000 м [13].
Секция 4. <i>Multicaulia</i>				
15	Копеечник красивый <i>Hedysarum formosum</i> Fisch. et Mey. ^{34,35}	Многолетнее травянистое растение; стебли плотные, до 5 мм в диаметре, прямостоячие, слегка извилистые, ветвистые, 40–70 см; прилистники крупные, ланцетные, нижние сросшиеся, верхние обычно свободные; листочки 6–10-парные, эллиптические, сверху голые, снизу опушены [13].	Кисти удлинённые; зубцы чашечки из ланцетного основания шиловидные; венчик желтый, 13-15 мм длиной, бледный [13].	Солонцеватые степи [13].
16	Копеечник азербайджанский <i>Hedysarum atropatanum</i> Vge. ex Boiss. ^{36,37}	Многолетнее растение; стебли белые, рассеяно серебристо-волосистые 30–40 см, прилистники бело-перепончатые, прижато-волосистые, коротко-треугольные; листочки 6–10-парные, округло-эллиптические или продолговатые, густо покрытые прижатыми серебристыми волосками с обеих сторон, 10–12 мм длиной [13].	Кисти удлинённые, по 10–15 цветков; чашечка колокольчатая, зубцы ее из узколанцетного основания шиловидные, кверху голые; венчик розово-фиолетовый, 15–18 мм длиной [13].	На глинистых сланцах [13].

²⁷ Там же.²⁸ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.²⁹ Там же.³⁰ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян, 2016.³¹ Флора Сибири *Fabaceae (Leguminosae)*, 1994.³² Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.³³ Там же.³⁴ Там же.³⁵ Гроссгейм А.А. Флора Кавказа, 1952.³⁶ Там же.³⁷ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценотический тип
17	Копеечник копетдагский <i>Hedysarum kopetdaghi</i> Boriss. ³⁸	Многолетнее растение; многостебельное, 25–35 см, прилистники перепончатые, листочки 5–7-парные, продолговато-эллиптические, на верхушках тупые, с коротким остроконечием, к основанию округло-клиновидные, с двух сторон прижатое волосистые, 15–30 мм длиной.	Соцветие-кисть, цветки на коротких цветоножках; прицветники нитевидные, перепончатые, до 5 мм длиной, чашечка широко колокольчатая, венчик фиолетовый.	На травянистых склонах гор, на высоте 1800–2000 м.
18	Копеечник пестрый <i>Hedysarum varium</i> Willd. ^{39,40}	Многолетнее растение; стебли восходящие, многочисленны, ветвистые, 20–40 см, прилистники срощенные, прижатые волосистые; листочки 3–5-парные, продолговатые или эллиптические, сверху голые, снизу пушистые [13].	Кисти густые, равные листьям или длиннее их; венчик желтый; лодочка на верхушке фиолетовая [13].	Сухой склон [13].
19	Копеечник Гмелина <i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb. ^{41,42}	Многолетнее растение; стебли немногочисленные, почти прямые, опушенные, с прижатыми волосками, внизу 2–3 мм в диаметре, прилистники перепончатые, срощенные, листочки 5–11-парные, продолговатые, снизу волосистые, сверху иногда голые, 7–30 мм длиной.	Цветонос длиннее листьев; кисти 15–30-цветковые, густые, под конец удлиненные; прицветники ланцетные, чашечка прижато-волосистая; венчик розово-пурпурный.	По луговым и каменистым степям.
20	Копеечник Джунгарский <i>Hedysarum songaricum</i> Bong. ^{43,44}	Многолетнее растение; стебли хорошо развитые, многочисленны, почти голые, 25–60 см; прилистники пленчатые, нижние срощенные при основании, слегка окрашенные, волосистые; листочки 5–8-парные, ланцетные или продолговато-эллиптические, сверху голые, около 20 мм длиной.	Кисти многоцветковые, продолговатые; прицветники пленчатые, ланцетовидные; чашечка колокольчатая, с ланцетно-шиловидными зубцами, венчик розово-фиолетовый.	Растет в степях, на щебнистых и мелкоземлистых склонах в среднем и нижнем поясах гор.
21	Копеечник азербайджанский <i>Hedysarum atropatanum</i> Vge. ex Boiss. ⁴⁵	Многолетнее растение; стебли ветвистые, серебристо-волосистые; прилистники бело-перепончатые, прижатые волосистые; листья короткочерешковые; листочки 4–6-парные, округло-эллиптические или продолговатые, длиной 10–12 мм.	Кисти удлиненные, по 10–15 цветков; чашечка колокольчатая, венчик 14–15 мм длиной розово-фиолетовый.	На глинистых сланцах.
Секция 5. <i>Subacaulia</i>				
22	Копеечник Лемана <i>Hedysarum Lehmannianum</i> Vge. ⁴⁶	Многолетнее растение; стебли неразвитые, прижатые-волосистые, 15–35 см; прилистники продолговато-ланцетные, бурые, между собой срощенные, прижатые-волосистые; листочки 7–12-парные, продолговато-эллиптические, снизу густо прижатые-волосистые, сверху опушенные, 10–18 мм длиной.	Кисти довольно скатые, многоцветковые; цветки в количестве 12–20, чашечка оттопырено-волосистая, зубцы ланцетно-шиловидные; венчик пурпуровый.	На каменистых горных склонах, по кустарникам в субальпийских степях.
23	Копеечник однолисточковый <i>Hedysarum monophyllum</i> Boriss. ⁴⁷	Многолетнее растение, 5–12 см, шелковисто-волосистое; прилистники черепитчато расположены при основании листьев, шелковистые от прижатых волосков; листочки простые, прикорневые, с округло-яйцевидной пластинкой, шелковистые от прижатых волосков, на верхушке округлые или островатые, иногда выемчатые, у основания округлые, 10–40 мм длиной.	соцветие округло-головчатое, компактное, прицветники яйцевидные, снаружи беловолосистые, чашечка ширококолокольчатая, венчик сухой, желтоватый.	На каменистых и глинистых склонах гор, на высоте до 2500 м.

³⁸ Там же³⁹ Там же.⁴⁰ Гроссгейм А.А. Флора Кавказа, 1952.⁴¹ Флора Сибири *Favosae* (*Leguminosae*), 1994.⁴² Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.⁴³ Там же.⁴⁴ Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Flora of China, 2010.⁴⁵ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.⁴⁶ Там же.⁴⁷ Там же

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценотический тип
24	Копеечник крупноцветковый <i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall. ⁴⁸	Многолетнее растение; стебли неразветвленные, реже – сильно укороченные, прилистники крупные, кожистые, перепончатые, сросшиеся, бурые, рассеянно-волосистые; листочки 1–4-парные, яйцевидные или широкоэллиптические, снизу густо серебристо-шелковистые, 20–30 мм длиной [13].	Кисти многоцветковые, с отклоненными цветками; прицветники ланцетные, светло-бурые, волосистые, чашечка колокольчатая; венчик желтый или пурпурово-фиолетовый [13].	Лесостепь, каменистые и тимьянниковые степи, щебнистые и глинисто-известняковые склоны, известняках, меловых степях, на обнажениях мела и мергеля [13].
25	Копеечник ферганский <i>Hedysarum ferganense</i> Korsh. ^{49,50}	Многолетнее растение; стебли почти неразветвленные 10–30 см, листочки 4–7-парные, продолговатые или эллиптические, покрытые короткими белыми, прижатыми волосками; на верхней поверхности листочков опушение менее густое, 10–18 мм длиной.	Прицветники буроватые, ланцетные; кисть густая; чашечка колокольчатая, зубцы ее линейные, в 2–3 раза длиннее трубки, покрытые прижатыми или несколько отпыренными волосками; венчик лилово-фиолетовый.	На горных лугах, на каменистых и щебнистых склонах.
26	Копеечник Понсена <i>Hedysarum Ponsensii</i> B.Franchet. ⁵¹	Многолетнее растение; стебли неразветвленные, густо бело-войлочное, 5–10 см, прилистники бело-перепончатые, со слабой примесью коричневатой окраски; листочки 3–4-парные, продолговато-обратнояйцевидные, 5–7 мм длиной.	Кисть сжатая, головчатая; чашечка колокольчатая, зубцы ее линейно-нитевидные, покрыты отстоящими волосками; венчик темно-фиолетовый.	Степи, 2800–3200 м.
27	Копеечник Крылова <i>Hedysarum Krylovi</i> Sumn. ^{52,53}	Многолетнее растение; прилистники белые, пленчатые, прижато-волосистые; листочки 3–7-парные, продолговато-ланцетные, голые или с немногим прижатыми волосками, на нижней серебристые, 10–23 мм длиной.	Соцветие многоцветковое, продолговатое, реже яйцевидные, прицветники почти равны трубке чашечки; цветки пурпуровые.	На солонцеватых степях и щебнистых террасах.
28	<i>Hedysarum</i> Копеечник дагестанский <i>dagestanicum</i> Rupr. ex Boiss. ^{54,55,56,57}	Многолетнее растение; серого цвета от прижатого опушения; прилистники сросшиеся; листья с обеих сторон покрыты шелковистым опушением; листочки 2–3-парные, продолговато-яйцевидно-ланцетные, острые, верхушечный листочек более крупный, длиной до 18 мм [13].	Кисти немногочетковые, густые; цветки крупные, кремово-белые или фиолетовые [13].	Известковые и сухие травянистые склоны, каменистые места, от 800 до 1500 м над у.м. [13].
Секция б. <i>Crinifera</i>				
29	Копеечник крупноцветный <i>Hedysarum macranthum</i> Freyn. et Sint. ⁵⁸	Многолетнее растение; бесстебельное или почти бесстебельное, 20–30 см; прилистники шелковистые, сросшиеся между собою, ланцетные; листочки 5–7-парные.	Цветоносы длиннее листьев, длиннозаостренные; прицветники, волосистые, чашечка широко колокольчатая.	На каменистых и щебнистых склонах.
30	Копеечник бухарский <i>Hedysarum bucharicum</i> B.Fedtsch. ⁵⁹	Многолетнее растение; стебли тонкие, восходящие, прижато-волосистые; прилистники бледные, сросшиеся основаниями, треугольно-ланцетные; листочки 5–8-парные, продолговато-ланцетные, 14–18 мм длиной.	Кисти негустые; цветки в количестве 12–25; прицветники неоппадающие; венчик ярко-фиолетовый.	Гипсы и известняки, среди арчового редколесья, и полинно-разнотравных сообществах.

⁴⁸ Там же.⁴⁹ Там же.⁵⁰ Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Flora of China, 2010.⁵¹ Там же.⁵² Там же.⁵³ Флора Сибири *Fabaceae (Leguminosae)*, 1994.⁵⁴ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян, 2016.⁵⁵ Литвинская С.А., Муртазалиев Р.А. Флора Северного Кавказа: Атлас-определитель. – Москва: Фитон XXI, 2013. – 688 с.⁵⁶ Гроссгейм А.А. Флора Кавказа, 1952.⁵⁷ Галушко А.И. Флора Северного Кавказа: определитель в 3-х т. – Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского университета, 1980. – Т. 2. – 352 с.⁵⁸ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян, 2016.⁵⁹ Там же.

Таблица 2 – Хромосомные числа видов рода *Hedysarum* L.

№	Название вида ^{60,61,62,63}	Номер в GenBank ⁶⁴	Хромосомный набор
Секция 1. <i>Fruticosa</i>			
1.	<i>Hedysarum fruticosum</i> Pall.[13]	–	2n=16
Секция 2. <i>Spinosissima</i>			
2.	<i>Hedysarum flexuosum</i> L.	AY775312	2n=16
Секция 3. <i>Obscura</i>			
3.	<i>Hedysarum arcticum</i> B. Fedtsch.	KP338151	2n=14
4.	<i>Hedysarum inundatum</i> Turcz.	KP338170	2n=8, 2n=28
5.	<i>Hedysarum consanguineum</i> DC.	NSK0066399 (MN330061); NSK0009881 (MN330060)	2n=14
6.	<i>Hedysarum austrosibiricum</i> B. Fedtsch.	NSK0066407 (MN330048); NSK0066410 (MN330049); NSK0066404 (MN330050)	2n=14
7.	<i>Hedysarum hedysaroides</i> L. [16]	KP338168	2n=14
8.	<i>Hedysarum neglectum</i> Ldb.	KY366160	2n=14
9.	<i>Hedysarum caucasicum</i> M. Bieb.	GQ246060; LC404211; RC – исследуемый объект	2n=14
10.	<i>Hedysarum Semenovii</i> Rgl. et Herd.	KP338183	–
11.	<i>Hedysarum alpinum</i> L.	AB854490	2n=14
12.	<i>Hedysarum vicioides</i> Turcz.	HM142304	2n=14
13.	<i>Hedysarum ussuriense</i> I. Schischk & Kom.	KP338190	2n=16
14.	<i>Hedysarum theinum</i> Krasnob.	NSK0009301 (MN330062)	–
Секция 4. <i>Multicaulia</i>			
15.	<i>Hedysarum formosum</i> Fisch. et Mey.	AB854494; KP338165	–
16.	<i>Hedysarum atropatanum</i> Bge. ex Boiss.	KP338154	–
17.	<i>Hedysarum kopetdaghi</i> Boriss.	JX455133	–
18.	<i>Hedysarum varium</i> Willd.	KP338191	–
19.	<i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb. [15]	KP338166	2n=28
20.	<i>Hedysarum songaricum</i> Bong.	KP338186	–
Секция 5. <i>Subacaulia</i>			
21.	<i>Hedysarum Lehmannianum</i> Bge.	AB854496	–
22.	<i>Hedysarum monophyllum</i> Boriss.	AB854498	–
23.	<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	исследуемый объект	–
24.	<i>Hedysarum ferganense</i> Korsh.	KP338164	–
25.	<i>Hedysarum setigerum</i> Turcz.	–	2n=28, 32, 48
26.	<i>Hedysarum Poncinsii</i> B. Franchet.	KY366161	–
27.	<i>Hedysarum Krylovii</i> Sumn.	KP338173	–
Секция 6. <i>Crinifera</i>			
28.	<i>Hedysarum macranthum</i> Freyn. Et Sint.	KP338177	2n=16
29.	<i>Hedysarum bucharicum</i> B. Fedtsch.	GQ246057	–

Таблица 3 – Содержание ксантонов в различных видах рода *Hedysarum* L.

№	Название вида	Сумма ксантонов
Секция 3. <i>Obscura</i>		
1.	<i>Hedysarum austrosibiricum</i> B.Fedtsch.	3,0
2.	<i>Hedysarum neglectum</i> Ldb.	3,6
3.	<i>Hedysarum flavescens</i> Rgl. et Schmalh.	5,5
4.	<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	4,0
5.	<i>Hedysarum alpinum</i> L.	6,0
6.	<i>Hedysarum theinum</i> Krasnob.	3,1
Секция 4. <i>Multicaulia</i>		
7.	<i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb.	1,2

Часть исследованных нами видов формирует хорошо поддерживаемые клады, что можно сказать о видах, отнесенных к секции *Obscura*. В результате исследований проведен комплексный эколого-морфологический и молекулярно-генетический анализ, позволяющий провести корреляцию между морфоло-

гическими, эколого-фитоценоотическими, молекулярно-генетическими показателями. Из 309 видов рода копеечник, который относится к семейству *Fabaceae*, на территории Российской Федерации произрастает 29 видов, во флоре Кавказа встречается 17 видов.

Род *Hedysarum* L. включает в себя 6 секций: *Fruticosa*,

⁶⁰ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян, 2016.

⁶¹ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*), 1994.

⁶² Болховских З.В., Гриф В.Г., Захарьева О.И., Матвеева Т.С. Хромосомные числа цветковых растений. – Л.: Наука, 1969. – 927 с.

⁶³ Castroviejo S., et al. Flora Iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares / *Leguminosae* VII(II) (partim), 2000.

⁶⁴ GenBank. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>.

Spinossissima, *Obscura*, *Multicaulia*, *Subacaulia*, *Crinifera*. Приведены такие морфологические показатели, как жизненная форма, особенности строения листьев, элементы строения генеративных органов (цветок и плод). Кроме того, для каждого вида указываются эколого-фитоценотические характеристики, включая особенности произрастания и высотный уровень (таблица 1).

При анализе полученных данных следует отметить предполагаемую корреляцию между ареалом произрастания высокогорных видов, обитающих преимущественно на скалах, галечниках, осыпях, в субальпийском и альпийском поясе с увлажненным типом почвы и пурпуровой или розово-фиолетовой окраской лепестков венчика. Примерами могут служить такие виды, как: *Hedysarum flexuosum* L., *Hedysarum arcticum* B. Fedtsch., *Hedysarum inundatum* Turcz., *Hedysarum austrosibiricum* B. Fedtsch., *Hedysarum hedysaroides* L., *Hedysarum neglectum* Ldb., *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum alpinum* L., *Hedysarum theinum* Krasnob., *Hedysarum kopetdaghi* Boriss., *Hedysarum songaricum* Bong.

При этом можно выделить группу желто-цветковых копеечников, произрастающих преимущественно на солонцеватых, сухих известняковых склонах с низким уровнем увлажненности почвы, на галечниках, на глинистых сланцах. Данные виды можно отнести к группе кальцефилов, среди них *Hedysarum Semenovii* Rgl. et Herd., *Hedysarum vicioides* Turcz., *Hedysarum ussuriense* I. Schischk. & Kom., *Hedysarum formosum* Fisch. et Mey., *Hedysarum varium* Willd., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Проведен анализ хромосомных чисел видов рода *Hedysarum* [35, 36]. Результаты приведены в таблице 2.

Изучен химический состав видов рода *Hedysarum* L. на предмет накопления основной маркерной группы биологически активных веществ – ксантонового гликозида мангиферина [37–40]. Результаты приведены в таблице 3.

Исходя из вышесказанного, можно сделать заключение, что для видов секции *Obscura* характерно максимальное накопление ксантоновых гликозидов, преимущественно мангиферина. Так, для *Hedysarum alpinum* L. содержание составило 6,0%; *Hedysarum flavescens* Rgl. et Schmalh – 5,5%; *Hedysarum theinum* Krasnob. – 3,1%.

На основании проведенных исследований можно предположить несколько направлений филогенетических закономерностей, касающихся корреляции между химическим составом основных групп биологически активных веществ, участвующих в метаболизме данного рода, в том числе маркерного ксантонового гликозида мангиферина, и изменением окраски лепестков венчика. Отдельным направлением можно считать возможную корреляцию эколого-фитоценотической характеристики произрастания видов и накопления основных групп ксантонов. Результатом проведенного молекулярного анализа может служить предположение о том, что можно составить прогноз дополнительных сырьевых источников мангиферина и других групп ксантонов из представителей секции *Obscura*. Анализ филогенетических взаимоотношений видов представителей данной

секции рода *Hedysarum* L. подтверждает морфологическую классификацию данного рода.

Для секции *Obscura*, к которой относятся более 20 видов, в том числе изученный нами копеечник кавказский, характерны схожие морфологические и эколого-фитоценотические показатели. По данным GenBank⁶⁵ практически все указанные виды относятся к данной секции, что полностью подтверждает соответствие классического таксономического и молекулярно-генетического метода. Для данной секции характерно значительное накопление мангиферина – от 3,0 до 6,0%. В надземной части копеечника кавказского нами обнаружено до 4,0% суммы ксантонов в пересчете на мангиферин. Следует отметить, что данная группа видов произрастает преимущественно в альпийском и субальпийском поясе и имеет характерную фиолетово-пурпурную окраску лепестков венчика.

Для секции *Subcaulia*, к которой относятся 22 вида, характерны аридные местообитания, сухие каменистые известняковые склоны. Данная группа кальцефильна, имеет преимущественно желтую окраску лепестков венчика. Представители данной секции, в том числе копеечник крупноцветковый, накапливают незначительное количество ксантонов – от 0,05 до 0,1%.

При анализе полученных данных хотелось бы отметить, что наблюдаемая корреляция на примере представителей рода *Hedysarum* позволяет не только установить степень филогенетического родства различных таксонов [8, 9, 40–45], но и представить совокупность хемотаксономических признаков, характерных для определенных видов на примере семейства *Fabaceae*, что в дальнейшем может быть использовано при проведении фармакогностических исследований и разработке нормативной документации на лекарственное растительное сырье.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены предварительные результаты, позволяющие провести комплексную идентификацию изученных образцов 3-х видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.), произрастающих в различных высокогорных участках Северного Кавказа. Представлены предварительные результаты применения молекулярно-генетических методов исследований при анализе рода *Hedysarum* L., впервые идентифицированы нуклеотидные замены в последовательности гена 5.8S рРНК трех видов рода *Hedysarum* L., представлено филогенетическое древо рода копеечник.

Следует отметить, что наблюдаемая корреляция накопления вторичных метаболитов ксантонового ряда и эколого-фитоценотической характеристики могут послужить в дальнейшем для выделения видов секции *Obscura* для поиска дополнительных сырьевых источников мангиферина и его производных, обладающих выраженной противовирусной активностью.

Полученные данные могут быть в дальнейшем использованы при составлении нормативной документации на лекарственное растительное сырье с учетом развития современной молекулярной фармакогнозии.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках Государственного задания № АААА-А18-118040290161-3 и гранта СПбГУ, грант № 60256916.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.Р. Имачуева – постановка эксперимента, обсуждение результатов; Ф.К. Серебряная – руководство проектом, сбор растительного материала, обсуждение результатов; Э.М. Мачс – постановка эксперимента, обсуждение результатов; В.В. Коцеруба – руководство проектом, обсуждение результатов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гончаров М.Ю., Пovyдыш М.Н., Яковлев Г.П. Молекулярная филогения трибы *Vaphieae* (*Fabaceae*) на основании анализа последовательностей гена МАТК // Ботаника в современном мире. Труды XIV Съезда Русского ботанического общества и конференции «Ботаника в современном мире» (г. Махачкала, 18–23 июня 2018 г.). – Махачкала: АЛЕФ, 2018. – Т. 1. – С. 26–28.
2. Пovyдыш М.Н., Гончаров М.Ю., Яковлев Г.П., Родионов А.В. Молекулярно-генетические методы в фармакогнозии // Фармация. – 2007. – №6. – С. 47–48.
3. Родионов А.В., Ким Е.С., Носов Н.Н., Райко М.П., Мачс Э.М., Пунина Е.О. Молекулярно-филогенетическое исследование видов рода *Colpodium sensu lato* (*Poaee*, *Roaceae*) // Экологическая генетика. – 2008. – Т.6, №4. – С. 34–46. DOI: 10.17816/ecogen6434-46.
4. Супрун Н.А. Шанцер И.А. Генетическая изменчивость видов родства *Hedysarum grandiflorum* Pall. (*Fabaceae*) по данным ISSR маркирования // Бюл. Глав. бот. сада. – 2012. – Т. 198, №4. – С. 41–48.
5. Филюшин М.А., Кочиева Е.З. Анализ варибельности гена 5.8S рРНК у представителей третьей эволюционной группы рода *Allium* // Генетика. – 2014. – Т. 50, №10. – С. 1263–1268.
6. Jin Z., Jiang W., Yi D., Pang Y. The complete chloroplast genome sequence of *Sainfoin* (*Onobrychis vicifolia*) // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol. 6, No.2. – P. 496–498. DOI: 10.1080/23802359.2020.1871439.
7. Wei F., Tang D., Wei K. et al. The complete chloroplast genome sequence of the medicinal plant *Sophora tonkinensis* // Sci. Rep. – 2020. – Vol. 10. – Art No.12473. DOI:10.1038/s41598-020-69549-z.
8. Varshney R.K., Pandey M.K., Bohra A., Singh V.K., Thudi M., Saxena R.K. Toward the sequence-based breeding in legumes in the post-genome sequencing era // Theor. Appl. Genet. – 2019. – Vol. 132, No.3. – P. 797–816. DOI: 10.1007/s00122-018-3252-x.
9. Ha J., Lee S.H. Updates on Legume Genome Sequencing // Methods Mol. Biol. – 2020. – Vol. 2107. – P. 1–18. DOI: 10.1007/978-1-0716-0235-5_1.
10. Jiao M.L., Li Z.Y., Zhang F.S., Qin X.M. [Comparison between *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and *Hedysarum polybotrys* based on ITS sequences and metabolomics] // Yao Xue Xue Bao. – 2015. – Vol. 50, No.12. – P. 1625–1631. Chinese.
11. Hong Z., Liao X., Ye Y., Zhang N., Yang Z., Zhu W., Gao W., Sharbrough J., Tembrock L.R., Xu D., Wu Z. A complete mitochondrial genome for fragrant Chinese rosewood (*Dalbergia odorifera*, *Fabaceae*) with comparative analyses of genome structure and intergenomic sequence transfers // BMC Genomics. – 2021. – Vol. 22, No.1. – Art. No.672. DOI: 10.1186/s12864-021-07967-7.
12. Ahangarian S., Kazempour-Osaloo Sh., Maassoumi A.A. Molecular phylogeny of the tribe *Hedysareae* with special reference to *Onobrychis* (*Fabaceae*) as inferred from nrDNA ITS sequences // Iran. J. Bot. – 2007. – Vol. 13, No.2. – P. 64–74.
13. Cao J.N., Han C.R., Yang Y.C. Characterization of the complete chloroplast genome of *Hedysarum polybotrys* var. *alaschanicum* (*Fabaceae*) and its phylogeny // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol.6, No.11. – P. 3312–3313. DOI: 10.1080/23802359.2021.1994900.
14. Chennaoui H., Marghali S., Marrakchi M., Trifi-Farah N. Phylogenetic relationships in the North African genus *Hedysarum* as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // Genetic Resources and Crop Evolution. 2007. – Vol. 54, No.2. – P. 389–397. DOI:10.1007/s10722-006-0001-9.
15. Zhou Z., Yu M., Ding G., Gao G., He Y. Diversity and structural differences of bacterial microbial communities in rhizocompartments of desert leguminous plants // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, No.12. – e0241057. DOI: 10.1371/journal.pone.0241057.
16. Liu P.L., Wen J., Duan L., Arslan E., Ertugrul K., Chang Z.Y. *Hedysarum* L. (*Fabaceae: Hedysareae*) Is Not Monophyletic – Evidence from Phylogenetic Analyses Based on Five Nuclear and Five Plastid Sequences // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, No.1. – e0170596. DOI: 10.1371/journal.pone.0170596.
17. Hufnagel B., Marques A., Soriano A. et al. High-quality genome sequence of white lupin provides insight into soil exploration and seed quality // Nat. Commun. – 2020. – Vol. 11. – Art. No.492. DOI: 10.1038/s41467-019-14197-9.
18. Beghalem H., Aliliche K., Landoulsi A. Identification and sequence analysis of putative *Sulla* species nod factor receptor // Microb. Pathog. – 2018. – Vol. 117. – P. 88–92. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.01.048.
19. Karudapuram S., Larson S. Identification of *Hedysarum* varieties using amplified fragment length polymorphism on a capillary electrophoresis system // J. Biomol. Tech. – 2005. – Vol. 16, No.4. – P. 318–326.
20. Nazish T., Shabbir G., Ali A., Sami-Ul-Allah S., Naeem M., Javed M., Batool S., Arshad H., Hussain S.B., Aslam K., Seher R., Tahir M., Baber M. Molecular diversity of Pakistani mango (*Mangifera indica* L.) varieties based on microsatellite markers // Genet. Mol. Res. – 2017. – Vol. 16, No.2. DOI: 10.4238/gmr16029560.
21. Aliliche K., Beghalem H., Landoulsi A., Chriki A. Molecular phylogenetic analysis of *Rhizobium sullae* isolated from Algerian *Hedysarum flexuosum* // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2016. – Vol. 109, No.7. – P. 897–906. DOI: 10.1007/s10482-016-0688-3.
22. Ávila Robledillo L., Neumann P., Koblížková A., Novák P., Vrbová I., Macas J. Extraordinary Sequence Diversity and Promiscuity of Centromeric Satellites in the *Legume Tribe Fabaeae* // Mol. Biol. Evol. – 2020. – Vol. 37, No.8. – P. 2341–2356. DOI: 10.1093/molbev/msaa090.
23. Choi I.S., Schwarz E.N., Ruhlman T.A., Khiyami M.A., Sabir J.S.M., Hajarrah N.H., Sabir M.J., Rabah S.O., Jansen R.K. Fluctuations in *Fabaceae* mitochondrial genome size and

- content are both ancient and recent // BMC Plant. Biol. – 2019. – Vol. 19, No.1. – Art. No.448. DOI: 10.1186/s12870-019-2064-8.
24. Yan H., Ji Z.J., Jiao Y.S., Wang E.T., Chen W.F., Guo B.L., Chen W.X. Genetic diversity and distribution of rhizobia associated with the medicinal legumes *Astragalus spp.* and *Hedysarum polybotrys* in agricultural soils // Syst. Appl. Microbiol. – 2016. – Vol. 39, No.2. – P. 141–149. DOI: 10.1016/j.syapm.2016.01.004.
 25. Obala J., Saxena R.K., Singh V.K., Kumar C.V.S., Saxena K.B., Tongoon P., Sibiyi J., Varshney R.K. Development of sequence-based markers for seed protein content in pigeonpea // Mol. Genet. Genomics. – 2019. – Vol. 294, No.1. – P. 57–68. DOI: 10.1007/s00438-018-1484-8.
 26. Zhou Z., Yu M., Ding G., Gao G., He Y., Wang G. Effects of *Hedysarum leguminosum* plants on soil bacterial communities in the Mu Us Desert, northwest China // Ecol. Evol. – 2020. – Vol. 10, No.20. – P. 11423–11439. DOI: 10.1002/ece3.6779.
 27. Koenen E.J.M., Ojeda D.I., Steeves R., Migliore J., Bakker F.T., Wieringa J.J., Kidner C., Hardy O.J., Pennington R.T., Bruneau A., Hughes C.E. Large-scale genomic sequence data resolve the deepest divergences in the legume phylogeny and support a near-simultaneous evolutionary origin of all six subfamilies // New Phytol. – 2020. – Vol. 225, No.3. – P. 1355–1369. DOI: 10.1111/nph.16290.
 28. Имачуева Д.Р., Серебряная Ф.К. Современное состояние изученности растений рода Копеечник (*Hedysarum L.*) флоры Кавказа // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, №6. – С. 4–32. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-6-4-32.
 29. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochem. Bull. – 1987. – Vol. 19. – P. 11–15.
 30. Sablok G., Rosselli R., Seeman T., van Velzen R., Polone E., Giacomini A., La Porta N., Geurts R., Muresu R., Squartini A. Draft Genome Sequence of the Nitrogen-Fixing *Rhizobium sllae* Type Strain IS123T Focusing on the Key Genes for Symbiosis with its Host *Hedysarum coronarium L.* // Front. Microbiol. – 2017. – Vol. 8. – Art. No.1348. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01348.
 31. de Diego-Diaz B, Treu L, Campanaro S, da Silva Duarte V, Basaglia M, Favaro L, Casella S, Squartini A. Genome Sequence of *Rhizobium sllae* HCNT1 Isolated from *Hedysarum coronarium* Nodules and Featuring Peculiar Denitrification Phenotypes // Genome Announc. – 2018. – Vol. 6; No.4. – e01518–17. DOI: 10.1128/genomeA.01518-17.
 32. Nafisi H., Kazempour-Osaloo Sh., Mozaffarian V., Schneeweiss G.M. Molecular phylogeny and divergence times of the genus *Hedysarum (Fabaceae)* with special reference to section *Multicaulia* in Southwest Asia // Plant Systematics and Evolution. – 2019. – Vol. 305. – P. 1001–1017. DOI: 10.1007/s00606-019-01620-3.
 33. Jones S., Cowan G., MacFarlane S., Mukoye B., Mangeni B.C., Were H., Torrance L. RNA sequence analysis of diseased groundnut (*Arachis hypogaea*) reveals the full genome of groundnut rosette assistor virus (GRAV) // Virus Res. – 2020. – Vol. 277. – Art. No.197837. DOI: 10.1016/j.virusres.2019.197837.
 34. Fu X., Ji X., Wang B., Duan L. The complete chloroplast genome of leguminous forage *Onobrychis viciifolia* // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol. 6, No.3. – P. 898–899. DOI: 10.1080/23802359.2021.1886017.
 35. Павлова Н.С., Пробатова Н.С., Соколовская А.П. Таксономический обзор семейства *Fabaceae*, числа хромосом и распространение на советском Дальнем Востоке // Комаровские чтения. – 1989. – Вып. 26. – С. 20–47.
 36. Кривенко Д.А., Казановский С.Г., Степанцова Н.В., Верхозина А.В., Алексеенко А.Л. Числа хромосом некоторых видов цветковых растений Байкальской Сибири // Turczaninowia. – 2012. – Т. 15, №1. – С. 98–107.
 37. Кукушкина Т.А., Высочина Г.И., Карнаухова Н.А., Селютина И.Ю. Содержание мангиферина и суммы ксантонов в растениях некоторых дикорастущих и интродуцированных видов *Hedysarum (Fabaceae)* // Растительные ресурсы. – 2011. – Вып. 1. – С. 99–105.
 38. Неретина О.В., Громова А.С., Луцкий В.И., Семенов А.А. Компонентный состав видов рода *Hedysarum (Fabaceae)* // Растительные ресурсы. – 2004. – Т. 40, №4. – С. 111–138.
 39. Аслануков А.К., Айрапетова А.Ю., Серебряная Ф.К. Идентификация и количественное определение суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* Vieb.) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Изд-во: Пятигорская ГФА. – 2009. – Вып. 64. – С. 11–13.
 40. Высочина Г. И., Кукушкина Т.А. Биологически активные вещества некоторых видов рода *Hedysarum L.* // Растительные ресурсы. – 2011. – №4. – С. 251–258.
 41. Nie L.Y., Wang A.H., Duan L., Chen H.F., Wang F.G. The complete chloroplast genome of Plateau herb *Chesneya acaulis (Fabaceae)* // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol. 6, No.2. – P. 641–642. DOI: 10.1080/23802359.2021.1878955.
 42. Jin Z., Jiang W., Yi D., Pang Y. The complete chloroplast genome sequence of *Sainfoin (Onobrychis viciifolia)* // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol. 6, No.2. – P. 496–498. DOI: 10.1080/23802359.2020.1871439.
 43. Wojciechowski M.F. *Astragalus (Fabaceae)*: a molecular phylogenetic perspective // Brittonia. – 2005. – Vol. 57, No.4. – P. 382–396. DOI: 10.1663/0007-196X(2005)057[0382:AFAMPP]2.0.CO;2.
 44. Nafisi H., Kazempour-Osaloo Sh., Mozaffarian V., Amini-Rad M. *Hedysarum almutense (Fabaceae-Hedysareae)*, a new species from Iran, and its phylogenetic position based on molecular data // Turk. J. Bot. – 2019. – Vol. 43, No.3. – P. 386–394. DOI: 10.3906/bot-1806-50.
 45. Liu Y., Du H., Li P., Shen Y., Peng H., Liu S., Zhou G.A., Zhang H., Liu Z., Shi M., Huang X., Li Y., Zhang M., Wang Z., Zhu B., Han B., Liang C., Tian Z. Pan-Genome of Wild and Cultivated Soybeans // Cell. – 2020. – Vol. 182, No.1. – P. 162–176. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.023.

АВТОРЫ

Имачуева Джавгарат Руслановна – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармации ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8953-3158. E-mail: djakag01@gmail.com

Серебряная Фатима Казбековна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9409-9344. E-mail: f.k.serebryanaya@pmedpharm.ru

Мачс Эдуард Модрисович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биосистематики и цитологии ФГБУН БИН РАН. ORCID ID: 0000-0001-9347-5379. E-mail: edw.mach@gmail.com

Коцербуа Виолетта Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биосистематики и цитологии ФГБУН БИН РАН. ORCID ID: 0000-0003-1872-2223. E-mail: VKotseruba@binran.r